

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TINA SEVNIK

**DOLOČANJE SEDIMENTACIJE ERITROCITOV V PRIMERJAVI Z
DOLOČITVIJO SERUMSKEGA C-REAKTIVNEGA PROTEINA IN
ŠTEVILA LEVKOCITOV ZA UGOTAVLJANJE PRISOTNOSTI
VNETJA IN OKUŽBE**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TINA SEVNIK

**DOLOČANJE SEDIMENTACIJE ERITROCITOV V PRIMERJAVI Z
DOLOČITVIJO SERUMSKEGA C-REAKTIVNEGA PROTEINA IN
ŠTEVILA LEVKOCITOV ZA UGOTAVLJANJE PRISOTNOSTI
VNETJA IN OKUŽBE**

**DETERMINATION OF ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE
IN COMPARISON TO THE DETERMINATION OF C-REACTIVE
PROTEIN AND LEUCOCYTES AS A TOOL FOR ESTABLISHING
THE PRESENCE OF INFLAMMATION AND INFECTION.**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo sem opravljala pod vodstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem., v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana.

Zahvala

Za strokovno vodstvo, pomoč in nasvete se zahvaljujem mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju. Hvala Marku Krošlju za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Želim se zahvaliti tudi kolektivu sodelavcev Specializiranega hematološkega laboratorija v Kliničnem centru Ljubljana za svetovanje in strokovno pomoč pri delu.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Ljubljana, junij 2010

Tina Sevnik

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Albin Kristl, mag. farm.

Članica diplomske komisije: doc. dr. Nataša Karas Kuželički, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

1. UVOD	1
1.1. Vnetje.....	3
1.2. Namen vnetja.....	3
1.3. Znaki vnetja.....	4
1.4. Vnetne celice	4
1.4.3. Povzročitelji vnetja.....	5
1.4.4. Prednosti in slabosti vnetij.....	5
1.4.5. Mediatorji vnetja	6
1.4.6. Klinične in histološke oblike vnetij.....	6
1.4.6.1. Akutno vnetje	7
2.7.1.1 Posledice akutnih vnetij.....	8
1.4.7. Kronično vnetje	8
1.5. Diagnostične laboratorijske metode	9
1.5.1. Bela krvna slika.....	9
1.5.2. Proteini akutne faze	10
1.5.2.1. Sistemske reakcije akutne faze.....	10
1.5.2.2. Proteini akutne faze (CRP).....	10
1.5.3. Eritrociti	13
1.5.3.1. Eritropoeza eritrocitov	15
1.5.3.2. Vloga eritrocitov in hemoglobin	15
1.5.3.3. Oblika in velikost eritrocitov.....	16
1.5.3.4. Bolezni eritrocitov	16
1.6. Sedimentacija eritrocitov	17
1.6.1. Zgodovinski pregled.....	18
1.6.2. Dejavniki, ki vplivajo na HSE	19
1.6.2.1. Vpliv beljakovin plazme:	19
1.6.2.2. Vpliv viskoznosti plazme:.....	19
1.6.2.3. Vpliv eritrocitov:	20

1.6.2.4. Vpliv fizikalnih spremenljivk:.....	20
1.6.3. Diagnostični pomen HSE.....	21
1.6.3.1. Zmerno pospešena HSE.....	21
1.6.3.2. Močnejše ali močno pospešena HSE	23
1.6.4. HSE pri anemijah	24
1.7. Metode	25
1.7.1. Način določanja HSE.....	25
1.7.2. Način določanja CRP.....	28
1.7.2.1. Vzorec za določitev CRP in naročanje	29
1.7.3. Hematološki analizatorji	29
1.7.3.1. Hematološki analizator Beckman coulter lh 750.....	30
2. NAMEN DELA	32
3. EKSPERIMENTALNI DEL.....	33
3.1. Opis metod.....	33
3.2. Statistična analiza.....	34
3.3. Predstavitev skupine pacientov.....	34
4. REZULTATI.....	36
4.1. Predstavitev ženske populacije	36
4.2. Predstavitev moške populacije.....	37
4.3. Korelacija med SR in CRP ter levkociti	38
4.4. Vrednosti CRP, SR in LKC pri zdravljenju	43
5. RAZPRAVA	44
6. SKLEP.....	46
7. LITERATURA	47

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Prikaz prednosti in slabosti vnetij.....	5
Preglednica II: Interpretacija CRP.....	12
Preglednica III: Delež obolenj z vrednostmi HSE nad 100 mm/h	24
Preglednica IV: Elektronsko naročanje CRP.....	29
Preglednica V: Število pacientk glede na vrednosti CRP.....	36
Preglednica VI: Število pacientk glede na vrednosti levkocitov	36
Preglednica VII: Število pacientk glede vrednosti SR.....	37
Preglednica VIII: Število pacientov glede na vrednosti CRP	37
Preglednica IX: Število pacientov glede na vrednosti levkocitov	37
Preglednica X: Število pacientov glede na vrednosti SR	37

KAZALO SLIK

Slika 1: Zgradba CRP	11
Slika 2: Krvne celice	14
Slika 3: Eritrociti	14
Slika 4: Bikonkavna oblika eritrocita in molekula hemoglobina.....	15
Slika 5: Sedimentacija eritrocitov	17
Slika 6: Prikaz pacientov z vrednostjo HSE pri različnih obolenjih.	24
Slika 7: Pipete za sedimentacijo.....	25
Slika 8: Postopek merjenja sedimentacije eritrocitov	26
Slika 9: Hematološki analizator Coulter LH 750.....	31
Slika 10: Prikaz števila pacientov po spolu	34
Slika 11: Prikaz števila pacientov po oddelkih	35
Slika 12: Predstavitev števila pacientov po desetletjih rojstva	35
Slika 13: Prikaz korelacije med SR in CRP brez vnetja, ženske	38
Slika 14: Prikaz korelacije med SR in CRP pri virusnem vnetju, ženske	38
Slika 15: Prikaz korelacije med SR in CRP pri bakterijskem vnetju, ženske.....	39
Slika 16: Prikaz korelacije med SR in CRP, brez vnetja, moški	39
Slika 17: Prikaz korelacije med SR in CRP, virusno vnetje, moški	39
Slika 18: Prikaz korelacije med SR in CRP, bakterijsko vnetje, moški1	40
Slika 19: Prikaz korelacije med SR in CRP za infekcijsko kliniko, korelacija	40
Slika 20: Prikaz korelacije med SR in CRP za dermatovenerološko kliniko	41
Slika 21: Prikaz korelacije med SR in CRP za psihiatrično kliniko	41
Slika 22: Prikaz korelacije med SR in LKC za infekcijsko kliniko	41
Slika 23: Prikaz korelacije med SR in LKC za dermatonevrološko kliniko	42
Slika 24: Prikaz korelacije med SR in LKC za psihiatrično kliniko	42
Slika 25: Vrednosti SR, CRP in LKC pri zdravljenju.....	43

POVZETEK

Hitrost sedimentacije eritrocitov, koncentracija C-reaktivnega proteina in število levkocitov v krvi so osnovni indikatorji vnetnih stanj. Primerjali smo vrednosti sedimentacije eritrocitov in C-reaktivnega proteina pri pacientih iz različnih klinik. Ugotovili smo, da med sedimentacijo eritrocitov in C-reaktivnim proteinom ne obstaja korelacija, ko smo obravnavali paciente z različno naravo obolenj. Posebej smo obravnavali rezultate pacientov iz infekcijske klinike, kjer smo predpostavljali vnetna stanja. Ugotovili smo visoko korelacijo med določitvijo sedimentacije eritrocitov in C-reaktivnega proteina. Ugotovili smo tudi, da je korelacija med sedimentacijo eritrocitov in številom levkocitov, tudi pri pacientih, pri katerih pričakujemo vnetna stanja, slaba. Pri spremljanju časovnega poteka zdravljenja infekcije smo ugotovili, da je C-reaktivni protein boljši indikator uspešnosti zdravljenja kot sedimentacija eritrocitov.

ABSTRACT

Erythrocyte sedimentation rate, concentration of C-Reactive Protein and number of leucocytes in human blood are basic indicators for inflammatory states. Comparison between values of erythrocyte sedimentation rate and concentration of C-Reactive Protein for number of patients from different clinics was performed. It was found that between erythrocyte sedimentation rate and concentration of C-Reactive Protein there was no correlation in the case of the different states of health. After separation of the results from patients from infection clinic, where inflammatory states were expected, the correlation between erythrocyte sedimentation rate and concentration of C-Reactive Protein was high. Correlation between erythrocyte sedimentation rate and number of leucocytes was low even at patients where inflammation was expected. C-Reactive Protein is by monitoring of the treatment inflammation much better indicator in comparison to erythrocyte sedimentation rate.

SEZNAM OKRAJŠAV

Oznaka:	Opis:
Ag	<i>Antigen</i>
CRP	<i>C-reaktivni protein</i>
EDTA	<i>Etil-diaminotetraocetna kislina</i>
Hb	<i>Hemoglobin</i>
Hs CRP	<i>Visoko občutljivi CRP</i>
HSE	<i>Hitrost sedimentacije eritrocitov</i>
ICSH	<i>Mednarodni svet za standardizacijo v hematologiji</i>
IFN-γ	<i>Interferon gama</i>
IgM	<i>Imunoglobulin razreda M</i>
IL	<i>Interlevkin</i>
LKC	<i>Levkociti</i>
MIP	<i>Makrofagni inflamatorni protein</i>
NCCLS	<i>Nacionalni odbor za klinične laboratorijske standarde</i>
PAF	<i>Proteini akutne faze vnetja</i>
Pt	<i>Protitelo</i>
PVE	<i>Povprečni volumen eritrocitov</i>
RBCs	<i>Rdeče krvne celice</i>
SR	<i>Hitrost sedimentacije</i>
SLE	<i>Sistemski lupus eritematozus</i>
TNF-α	<i>Provnetni citokin, tumorje nekrotizirajoči faktor</i>
VSE	<i>Volumen stisnjenih eritrocitov ali hematokrit</i>
WBCs	<i>Bele krvne celice</i>

1. UVOD

Človeški obstoj se zrcali v mnogih letih prilagajanja in selekcije, v katerih se je razvil obrambni imunski sistem. Sistem, ki se prilagaja in razvija, omogoča telesu obrambo pred različnimi grožnjami iz okolja in znotraj telesa. Kadarkoli je človek ogrožen, ne glede na to, ali to ogroženost spremljajo različni mikroorganizmi ali maligne celice, imunski sistem to nevarnost spozna in odgovori z aktivacijo posebnih celic. Aktivacija celic sproži mobilizacijo številnih drugih celic, kar sproži zelo močno obrambno reakcijo. Telo si v času obrambe pridobi izkušnje ter imunski spomin, kar s pridom izkoristi pri ponovnem napadu nanj. Telo se torej nenehno brani pred škodljivimi dejavniki ter nam s tem omogoča preživetje.

Sodoben način življenja nam prinaša vse bolj stresno okolje, v katerem delamo in živimo, zato so različne bolezni pogosti rezultat oziroma odziv nanje. Vse to lahko privede do telesnega neravnovesja, ki ga telo izgublja tekom življenja.

Predvsem je pomembno, da spremembe, ki jih začutimo, pravočasno odkrijemo in se z njimi soočimo. Zelo pogost vzrok različnih obolenj so vnetja, ki jih spremljajo povišana temperatura, bolečine v žrelu in sklepih, rdečina ali bolečina. Vzroki so lahko različni in lahko različno dolgo ostajajo v telesu. Zdravila, ki omenjene nevšečnosti blažijo, pogosto vodijo v ozdravitev ali pa tudi ne. V tem primeru gre za resno bolezen, ki jo je potrebno raziskati in določiti natančno diagnozo, ki je prvi korak za uspešno zdravljenje.

Bolnika torej spremlja vrsta preiskav tekom njegovega zdravljenja. Natančne meritve, pri katerih mora bolnik upoštevati določena navodila, vodijo do ugotovitve vzroka in vrste bolezni. Zdravnik se nato odloči, kakšen bo potek zdravljenja, t. j. izbere ustrezno zdravilo, spremlja koncentracijo posameznih parametrov že med samim zdravljenjem ter končno oceni, ali je bila terapija uspešna ali ne.

Vsaka bolezen ima določene karakteristike, ki se odražajo v količini, masi, koncentraciji, izgledu določenih bioloških vzorcev. Najpogosteje preiskovan biološki vzorec je kri, s katero naredimo osnovno preiskavo, t. j. krvno sliko oz. hemogram, odlikuje jo dejstvo, da lahko zdravniki iz nje dobijo veliko koristnih podatkov, ki jih usmerjajo pri poznavanju različnih bolezni.

Vrednosti bioloških vzorcev, katerih referenčne vrednosti niso v mejah intervala, nakazujejo na patološke spremembe. Vsaka preiskava ima točno določen pomen za bolezen. Pri vnetjih je zelo pomembno spremljanje koncentracije proteinov akutne faze vnetja ter spremljanje hitrosti sedimentacije eritrocitov. Te preiskave imajo ključni pomen za diagnostiko.

1.1. VNETJE

Vnetje je lokalna reakcija na poškodovano tkivo, sprožijo jo lahko različni škodljivi dejavniki. Fiziološki pomen vnetne reakcije je odstranitev vnetnega agensa in reparacija prizadetega tkiva. V začetni fazi samega vnetja se poveča prehajanje plazme in belih krvničk iz krvnega obtoka skozi žilno steno v intersticij tkiva, ki je poškodovano. V vnetni odgovor so vključeni imunski sistem, lokalno žilje ter tkivne celice (1).

Vnetje je zelo pogosto obolenje, pri katerem sta anamneza in klinični pregled bolnika osnovni orodji pri ugotavljanju vnetnega stanja. Najpomembnejši znaki, ki nakazujejo vnetno stanje, so: povišana telesna temperatura, mrzlica, potenje, hujšanje ter znaki, ki so posledica prizadetosti organa – kašelj, bolečina v žrelu in bolečine v sklepih. Ti izsledki se dopolnijo z izvidi osnovnih laboratorijskih preiskav, pri katerih se lahko okvirno ugotovi vzrok vnetnega dogajanja.

Velikokrat so za razjasnitev le-teh potrebne bolj usmerjene diagnostične metode in testi, kot so:

- sedimentacija eritrocitov,
- bela krvna slika,
- proteini akutne faze (2).

1.2. NAMEN VNETJA

Namen vnetja je odstraniti ali uničiti škodljivi dejavnik ali oboje ali vsaj preprečiti njegovo širjenje.

Vnetje je obrambna reakcija, ni bolezen, ampak del naravne telesne obrambe z namenom zdravilnega učinka. Vnetje omogoča, da se odstranijo škodljivi deli tkiva, ki se nato obnovijo z istovrstnimi tkivi ali zabrazgotinijo oz. nadomestijo z vezivom. Brez vnetja ni obrambe pred infekcijo, ni celjenja ran, okužbe bi se nekontrolirano širile. Telo torej odgovori z vnetjem na različne dražljaje, ki so si po delovanju podobni.

1.3. ZNAKI VNETJA

Rdečina (rubor)

V nekaj minutah po poškodbi tkiva se žile razširijo, kar sproži povečan dotok krvi v tkivo. Povečan volumen krvi povzroči vročino in rdečino.

Oteklina in nabrekanje tkiva (tumor)

Nabiranje tekočine v ekstracelularnem prostoru (edem) in migracija vnetnih celic v poškodovano območje. Po določenem času k nabrekanju tkiva prispeva tudi formacija novega vezivnega tkiva.

Toplota (calor)

Lokalno segrevanje tkiva, ki je posledica hiperemije (povečan krvni pretok) in metabolnih sprememb, samo v perifernih delih telesa (koža).

Bolečina (dolor)

Bolečina zaradi draženja živčnih končičev pri raztegovanju tkiva zaradi edemov. Bolečino inducirajo nekateri kemični mediatorji akutnega vnetja (bradikinin, prostaglandini, serotonin).

Omejena funkcija prizadetega telesa

Premikanje vnetnega področja je zavestno in refleksno zavrto zaradi spremljajoče bolečin (3).

1.4. VNETNE CELICE

Pri vnetju so soudeležene celice za:

- nespecifično obrambo s sposobnostjo fagocitoze in ubijanja mikroorganizmov,
- specifično obrambo v okviru imunskega odziva: T in B limfociti,

- resorbcijo vnetnega eksudata in obnovo (reparacijo ali regeneracijo): makrofagi, endotelne celice in fibroblasti, ki tvorijo granulacijsko tkivo (4).

1.4.3. POVZROČITELJI VNETJA

Vnetje lahko povzročajo:

- okužbe z različnimi mikroorganizmi (bakterije in njihovi toksini, virusi, paraziti glive),
- fizikalni dejavniki (elektrika, vročina, mraz, ultravijolična svetloba in druga sevanja),
- endogeni vzroki (motnje prekrvavitve, hormonske motnje, nekroza tkiva, holesterolni in uratni kristali, preobčutljivostne reakcije),
- kemikalije (strupene snovi v gobah, strupeni plini, kisline, zdravila, droge, svinec) (5).

1.4.4. PREDNOSTI IN SLABOSTI VNETIJ

Preglednica I: Prikaz prednosti in slabosti vnetij

PREDNOSTI	SLABOSTI
lokalizacija, izolacija vnetišča	oteklina, bolečina, moteno delovanje
nevtralizacija toksičnih snovi	ruptura ali razpoka votlih organov (slepič)
uničenje ali omejitev mikrobov	krvavitve
celjenje	obilno brazgotinjenje
	širjenje vnetja s propadom okolnih tkiv

1.4.5. MEDIATORJI VNETJA

Kemični posredniki – mediatorji vnetja omogočajo postopno razvijanje vnetnega odziva.

Večinoma pri samem nastanku vnetja kemično posredujejo mediatorji, ki izvirajo iz:

- **vnetnih celic** (histamin in heparin iz mastocitov in bazofilcev, serotonin in trombocitni dejavnik – (PAF) iz trombocitov, slednji še iz granulocitov, makrofagov in endotelijskih celic, proteaze iz nevtrofilnih granulocitov, histaminaza iz nevtrofilnih granulocitov, dejavnik tumorske nekroze – (TNF), interleukini – (IL) ter kemikini iz makrofagov itd.
- **plazme** (npr. kininski in komplementarni sistem, C-reaktivni protein),
- **poškodovanega oziroma odmrlega tkiva** (kinini, encimi iz trebušne slinavke).

Različni mediatorji vplivajo na posamezne stopnje vnetja z različno močjo in vnetni odziv pospešujejo ali umirjajo (5).

1.4.6. KLINIČNE IN HISTOLOŠKE OBLIKE VNETIJ

Osnovne histopatološke oblike vnetij so: kataralno, eksudacijsko (ki se deli na: serozno, fibrinsko, hemoragično, purulentno-gnojno-supurativno), alteracijsko oziroma nekrozantno (vključno z ulceroznim), proliferacijsko in fibroprodukcijsko vnetje (vključno z granulomskim).

Če se na sluznicah poveča izločanje sluzi, govorimo o kataralnem vnetju. Za eksudacijska in nekrozantna vnetja je značilno, da hitro nastajajo in se razvijajo. Eksudacija je posledica razširjenja krvnih žil in povečane prepustnosti (permeabilnost) venul in kapilar, na začetku vključuje prehajanje plazemskih sestavin, pozneje pa tudi levkocitov in eritrocitov na mestu tkivne poškodbe. Eksudacijsko vnetje vključuje več podvrst, ki se med sabo razlikujejo glede na vrsto snovi in celic, ki prehajajo preko kapilar. Za blago povečano prepustnost je značilno prehajanje albuminov v intersticij ali telesne votline. Albumini potegnejo za sabo tudi tekočino, ki tvori vnetni edem, ki ga imenujemo transudat, z gostoto pod $1,016\text{g/dm}^3$. V tem primeru gre za serozno vnetje. Pri srednje povečani

prepustnosti, z gostoto nad $1,016 \text{ g/dm}^3$ prehajajo skozi žilne stene tudi globulini in fibrinogen, ki se spremeni v fibrin (fibrinsko vnetje). Pri hemoragičnem in gnojnem oz. purulentnem vnetju, kjer je prepustnost izjemno povečana, izstopajo tudi eritrociti in nevtrofilni granulociti. Nekrozantna vnetja lahko na površinah puščajo razjede (erozije, ulkuse). Torej, kadar prevladuje poškodba tkiva, govorimo o alteracijskem vnetju, če prevladuje eksudacija, govorimo o eksudacijskem vnetju, in v primeru razrasti vnetnega granulacijskega tkiva in veziva govorimo o proliferacijskem oz. produkcijskem vnetju.

Klinično glede na trajanje vnetja ločimo:

- akutno,
- subakutno in
- kronično (5).

1.4.6.1. AKUTNO VNETHJE

Za akutno vnetje je značilen kratek potek (od nekaj dni do dva ali tri tedne). Žile se v nekaj minutah po poškodbi tkiva takoj razširijo, kar povzroči povečan dotok krvi v tkivo. Ker se volumen krvi poveča, to povzroči bolečino in rdečino. Ob tem se poveča tudi prepustnost postkapilarnih venul, kar povzroči oteklino in včasih tudi izstopanje levkocitov, kar prispeva k nabrekanju in pordečitvi tkiva. V času, ko tekočina izstopi iz krvnega obtoka, se aktivirajo kininski, strjevalni in fibrinolitični sistemi. Spremembe žilja, ki se pojavijo, nastanejo zaradi neposrednega učinka plazemskih encimskih mediatorjev.

Po vaskularnih spremembah se po nekaj urah nevtrofilci prilepijo na endotelijske celice in potujejo iz krvi v tkivne prostore. Naloga nevtrofilcev je, da fagocitirajo patogene mikrobe in sproščajo mediatorje, ki prispevajo k vnetju. Med mediatorje sodita makrofagna inflamatorna proteina (MIP-1a in MIP-1b), to sta kemokina, ki pritegujeta makrofage v vnetišče.

Aktivirani makrofagi izločajo tri citokine (IL-1, IL-6 in TNF- α), ki povzročajo številne lokalne in sistemske spremembe pri akutnem vnetju. Naloga teh citokinov je, da povečajo prepustnost žil in povzročijo strjevanje. TNF- α med drugim aktivira tudi makrofage in nevtrofilce ter okrepi njihovo fagocitno aktivnost.

Pri večini akutnih vnetij velikokrat sodelujejo le celice nespecifične obrambe: nevtrofilni granulociti, fagociti in naravne celice ubijalke. Naloga teh celic je, da fagocitirajo in ubijejo določene mikroorganizme.

2.7.1.1 POSLEDICE AKUTNIH VNETHJ

Posledice akutnih vnetij so:

- resolucija (ozdravitev),
- supuracija (zagnojitev),
- reparacija (nadomestitev propadlega tkiva),
- fibroza (brazgotinjenje),
- kronično vnetje (dejavnik ni izginil, perzistira) (4).

1.4.7. KRONIČNO VNETHJE

Za kronično vnetje je značilen dolgotrajen potek, več mesecev ali celo let. Njegov nastanek sproži dolgotrajna navzočnost antigena. Nekateri mikroorganizmi imajo namreč takšne komponente celične stene, da se uprejo fagocitozi in s tem sprožijo nastanek kroničnega vnetja ter obsežno okvaro tkiva. Za kronično vnetje je značilno nakopičenje in aktivacija makrofagov, pojavlja se ob avtoimunskih boleznih. Kronični aktivirani makrofagi sproščajo citokine, ki spodbujajo razmnoževanje fibroblastov in nastanek kolagena. Najpomembnejša citokina sta IFN- γ , ki aktivira makrofage, in TNF- α , ki prispeva k propadanju tkiva. Na kraju kroničnega vnetja se razvije tudi fibroza, imenovana granulom, ki je sestavljena iz aktiviranih makrofagov v središču, kjer so obdani z aktiviranimi limfociti. Za središče granuloma so značilne tudi večjedrne celice velikanke, ki nastanejo z zlitjem aktiviranih makrofagov. Celice velikanke so obdane s spremenjenimi makrofagi, imenovanimi epiteloidne celice (4).

Granulomsko vnetje je posebna oblika kroničnega vnetja, pri katerem pride do zbiranja spremenjenih makrofagov in limfocitov v tvorbo, ki se imenujejo granulomi, za katerega je

značilno, da se okoli središča, ki ga predstavlja mrtvina, razporejajo vnetne celice v koncentričnih plasteh, ki poizkušajo osamiti škodljivi dejavnik. Bistvena sestavina granulomov so makrofagi (6).

1.5. DIAGNOSTIČNE LABORATORIJSKE METODE

Parametri, ki jih običajno spremljamo pri vnetju, so:

- bela krvna slika,
- proteini akutne faze,
- sedimentacija eritrocitov.

1.5.1. BELA KRVNA SLIKA

Krvna slika je ena od najpomembnejših preiskav, saj omogoča vpogled v število in stanje celic, ki so v krvi. Med belo krvno sliko sodijo število levkocitov in delež posameznih vrst levkocitov oz. absolutno število posameznih vrst levkocitov (diferencialna bela krvna slika). Levkociti se preštejejo v komori z mikroskopom ali pa to opravi elektronski števec – analizator. Rezultat izrazimo s številom levkocitov oz. s številčno koncentracijo v litru krvi ($10^9/L$).

Diferencialna bela krvna slika je podatek v odstotkih o deležu posameznih vrst levkocitov. Za oceno je potrebno pogledati najmanj 200 celic v krvnem razmazu. Absolutno število dobimo tako, da število vseh levkocitov pomnožimo z deležem za posamezno vrsto. Rezultat izrazimo s številom v litru krvi ($10^9/L$).

Njihova naloga je varovanje telesa pred okužbami. Za levkocite znašajo mejne vrednosti od $4-10 \times 10^9/L$, delijo se na tri vrste: granulociti, monociti in limfociti. Granulociti so levkociti, ki so dobili ime po značilnih granulacijah v citoplazmi, glede na to se delijo na nevtrofilce, eozinofilce in bazofilce.

Levkocitoza je stanje povečane koncentracije levkocitov (nevtrofilci, eozinofilci, bazofilci in limfociti). Levkopenija je stanje zmanjšane koncentracije levkocitov, ki je posledica zmanjšanja števila nevtrofilcev ali limfocitov ali obojih (7).

1.5.2. PROTEINI AKUTNE FAZE

1.5.2.1. SISTEMSKE REAKCIJE AKUTNE FAZE

Reakcija akutne faze vnetja je obrambni odgovor organizma, usmerjen proti škodljivim dejavnikom v telesu. Namen te reakcije je omejiti okvare, odstraniti ali uničiti škodljivi dejavnik, vzdrževanje vitalnih funkcij organizma in kontrola same obrambe organizma. Odziv spremljajo: povečana telesna temperatura, povečana sinteza hormonov, povečano nastajanje levkocitov in izdelovanje številnih proteinov akutne faze v jetrih. Ker se temperatura telesa pri tem poveča, se tako prepreči razmnoževanje številnih mikrobov, prav tako pa se pri tem okrepi tudi imunski odziv nanje (4, 6).

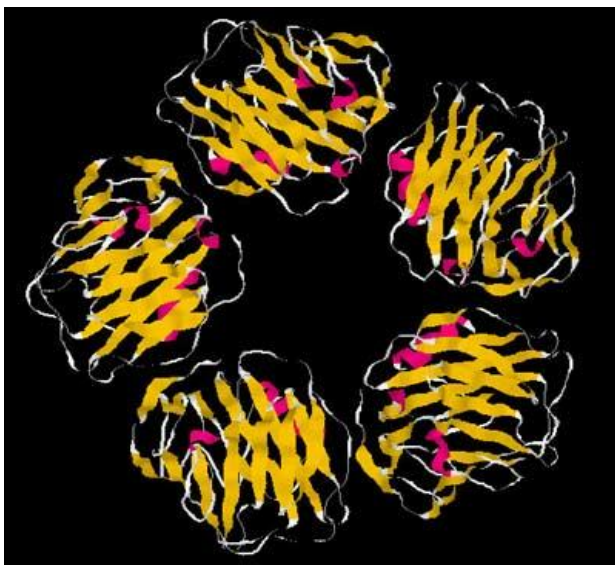
1.5.2.2. PROTEINI AKUTNE FAZE (CRP)

CRP je v klinični praksi eden najpomembnejših proteinov akutne faze vnetja, uvrščamo ga med serumske proteine γ -frakcije, z molekulsko maso 105.000 g/mol, proizvaja se v hepatocitih, pod vplivom vnetnih citokinov. Sestavlja ga pet istovetnih nekovalentno povezanih peptidov (slika 1). Pri zdravih ljudeh je prisoten v zelo nizkih koncentracijah. Služi kot marker vnetnega dogajanja in za spremljanje poteka zdravljenja. V organizmu povzroči aktivacijo komplemента po klasični poti, pospeši fagocitozo in zavira agregacijo trombocitov. Njegova koncentracija se znatno poveča pri poškodbah tkiva, zaradi bakterijske infekcije in po operacijah. Vrednosti se povečajo že po 6 do 12 urah po začetku vnetnega procesa in doseže največjo vrednost po 48 urah, povišan ostane še nekaj dni, vrh pa doseže veliko prej kot drugi pokazatelji vnetja (4, 8).

Določanje CRP-ja je široko uporabljeno v diagnostiki in pri spremljanju različnih vnetnih procesov. CRP se pri virusnih okužbah praviloma ne poveča, kar je dober znak za

razlikovanje med bakterijskimi in virusnimi infekcijami. Pri blagem vnetju in pri večini virusnih okužb se koncentracija CRP poviša med 10 in 40 mg/L, pri bakterijskih okužbah pa so vrednosti večinoma višje in se gibljejo med 40 in 200 mg/L, pri najbolj izraženih bakterijskih okužbah pa celo med 150 in 200 mg/L. CRP se uporablja tudi za oceno tveganja srčno-žilne bolezni (9).

Koncentracija CRP se lahko pri uspešni antimikrobni terapiji zniža v enem dnevu približno za polovico, kar omogoča uspešno spremljanje poteka bolezni in odziv pacienta na terapijo. Morebitne infekcije in komplikacije, ki nastanejo pri operacijah, lahko uspešno spremljajo z merjenjem CRP (10).



Slika 1: Zgradba CRP

Prednosti CRP v zdravniški praksi:

- visok in hiter porast CRP pri bakterijskih infekcijah,
- pri virusnih okužbah praviloma ni povišanja CRP,
- spremljanje koncentracije CRP pri antibiotičnem zdravljenju.

Visok CRP je značilen za:

- bakterijski pielonefritis,
- bakterijsko pljučnico,

- meningitis.

Nizek CRP je značilen za:

- cistitis,
- virusno pljučnico,
- virusni meningoencefalitis.

Vrednosti CRP

Preglednica II: Interpretacija CRP

Vrednost CRP	Stanje	Rezultat	Izjeme
Pod 5 mg/L	Normalna vrednost	Z veliko gotovostjo izključuje invazivno bakterijsko okužbo.	Novorojenčki prvih 6–12 ur po začetku okužbe
6–99 mg/L	Povišane vrednosti	Sum na lokalni bakterijski proces ali bakteriemijo	
Nad 100 mg/L	Povišane vrednosti	Sum na invazivno bakterijsko okužbo ali septikemijo	

Koncentracija CRP pri različnih patoloških stanjih:

Pri *bakterijskih* infekcijah v mg/L:

- septični artritis 80 do >200
- meningitis 80 do >200
- pljučnica 80 do >200
- pielonefritis 60 do >200
- tonzilitis 30–60
- vnetje srednjega ušesa 10–40
- infekcije zgornjega dela dihalnih poti 10–40

Pri *virusnih* infekcijah v mg/L:

- pljučnica 10–20
- meningitis 10–20
- infekcije zgornjega dela dihalnih poti 10
- influenza 10–20
- prehlad 10

Pri *neinfekcijskih* vnetnih boleznih mg/L:

- revmatoidni artritis 30 do > 200
- SLE 10–20
- Polimialgija Reumatica 10–30
- akutni pankreatitis 10–30

Pri *nekrozah* mg/L:

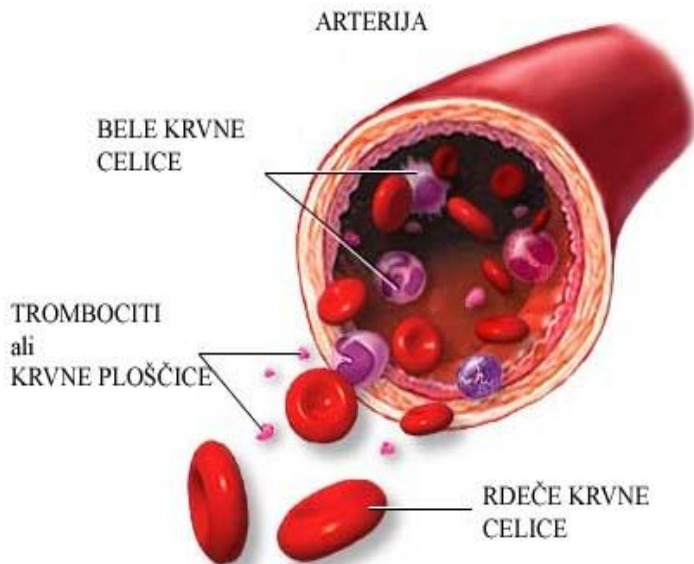
- miokardialni infarkt 10–30
- rakava obolenja 10–40 (10).

1.5.3. ERITROCITI

Kri je nekoliko slano in lepljivo tekoče tkivo, sestavljeno iz številnih vrst specializiranih celic in tekoče medceličnine (rumenkasta krvna plazma). V telesu odraslega človeka se v obtočilnem ali cirkulacijskem sistemu stalno pretaka okoli 5 do 6 litrov krvi. Med organi prenaša kri molekule hranilnih snovi, ki jih uporabljajo celice, dihalne pline, hormone, odpadne produkte, protitelesa in soli.

Človeška kri je sestavljena iz krvnih celic: rdeče krvničke ali eritrociti (red blood cells – RBCs ali erythrocytes), belih krvničk ali levkocitov (white blood cells – WBCs ali leukocytes), krvnih ploščic ali trombocitov (platelets ali thrombocytes); krvne plazme (voda, anorganski elektroliti in beljakovine, od katerih je največ fibrinogena) ter krvnega seruma (voda, beljakovine, maščoba, ogljikovi hidrati, hormoni, minerali, encimi,

vitamini). Krvničke z jedri imenujemo tudi krvne celice, krvničke brez jeder pa krvna telesa. Na sliki 2 je prikazan prerez arterije s posameznimi krvnimi celicami.



Slika 2: Krvne celice

Izraz za eritrocite izhaja iz grščine: erythros za rdeče in kytos za votlino, danes celica. Prvi jih je leta 1658 opisal Nizozemec Jan Swammerdam z uporabo zgodnjega mikroskopa. Eritrociti (slika 3) so v krvi najštevilnejše zrele celice rdeče vrste, brez jedra. Služijo skladiščenju barvila hemoglobina, ki omogoča vezavo in prenos kisika, hkrati pa daje krvi rdečo barvo (11).



Slika 3: Eritrociti

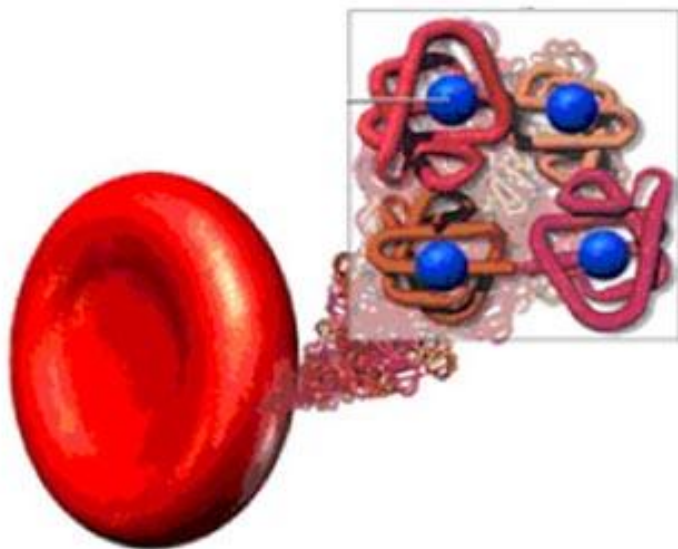
1.5.3.1. ERITROPOEZA ERITROCITOV

Proces, pri katerem nastajajo eritrociti, se imenuje eritropoeza. Novi eritrociti neprestano nastajajo v rdečem kostnem mozgu v velikih ploščatih kosteh in v teku razvoja izgubijo jedro. Število eritrocitov v krvi uravnava eritropoetin, to je glikoprotein z molekulsko maso 36 kD, ki nastaja v ledvicah.

Eritropoeza vključuje dva procesa, ki potekata hkrati: delitev (proliferacija) in dozorevanje (diferenciacija) (7).

1.5.3.2. VLOGA ERITROCITOV IN HEMOGLOBIN

Glavna sestavina eritrocitov je hemoglobin (Hb), ki tvori 98 % vseh beljakovin v citoplazmi. Eritrociti služijo skladiščenju barvila hemoglobina, ki omogoča vezavo kisika in prenašanje le-tega v celice, posredno pa sodelujejo tudi pri transportu ogljikovega dioksida iz tkiv (slika 4) (7).



Slika 4: Bikonkavna oblika eritrocita in molekula hemoglobina

1.5.3.3. OBLIKA IN VELIKOST ERITROCITOV

Eritrociti sesalcev imajo značilno, z obeh strani nekoliko vderto ploščato tako imenovano bikonkavno obliko – diskocit (slika 4). Celice so fleksibilne, da se lahko prilagodijo tankim kapilaram, kjer odložijo kisik. Eritrociti sesalcev so krogelni, razen pri družini kamel Camelidae, kjer so ovalne oblike.

V velikih arterijah se eritrociti včasih pojavijo v kopicah, v ravninah, eni ob drugih. Situacija je znana kot rouleaux formacija. Pojavi se ob povečanju ravni določenih beljakovin v krvnem serumu ali ob vnetjih.

Premer tipičnega človeškega eritrocita je 6–8 μm . Je manjši od večine ostalih človeških celic. Canham in Burton sta leta 1968 z merjenjem 1000 celic določila naslednje povprečne vrednosti: premer celice 8 μm , površina 136 μm^2 in prostornina 107 μm^3 . Tipični eritrocit vsebuje okoli 270 milijonov molekul hemoglobina. Število eritrocitov na 1 mm^3 oziroma 1 μl krvi je pri ženski okoli 4–5 milijonov in pri moškem okoli 5–6 milijonov. Vrednost se spreminja glede na več dejavnikov. Na primer ljudje, ki živijo na višji nadmorski višini, kjer je koncentracija kisika manjša, imajo v krvi tudi več kot 8×10^6 eritrocitov v enem μl krvi. Rdeče krvničke so torej mnogo številčnejše od drugih krvnih celic (11).

1.5.3.4. BOLEZNI ERITROCITOV

O anemiji ali slabokrvnosti govorimo, kadar je zmanjšana celotna masa eritrocitov v krvnem obtoku. Posledično se zmanjša sposobnost krvi za prenos kisika. Normalno je pri odraslem moškem od 140 do 180 g hemoglobina v litru krvi, pri odrasli ženski pa od 120 do 160 g.

Anemije običajno razvrščamo po načinu nastanka ali na osnovi povprečnega volumna eritrocitov (PVE), kjer jih morfološko razdelimo na: makrocitne, mikrocitne in normocitne (7).

Kadar obstaja vidna razlika v velikosti med eritrociti, govorimo o anizocitozi.

Eritrocite večje od 9 mikrometrov, imenujemo makrocite, pojav pa makrocitoza.

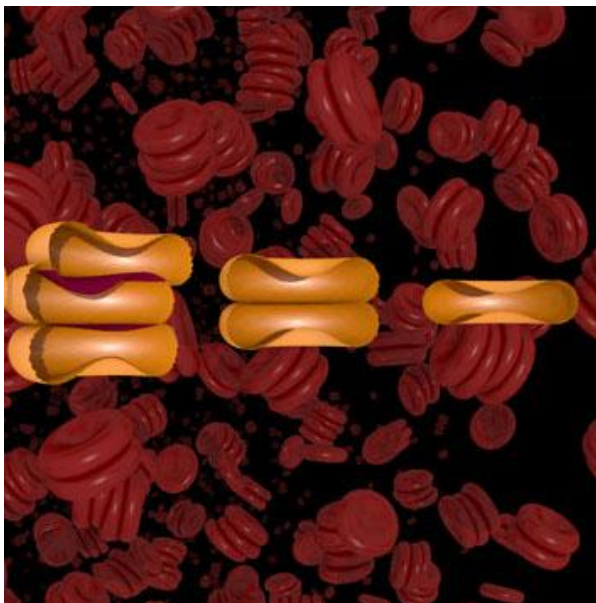
Mikrocite imenujemo eritrocite, ki imajo premer manjši od 6 mikrometrov, tak pojav pa imenujemo mikrocitoza, ki je značilna za anemijo zaradi pomanjkanja železa.

Izrazito velike makrocite, ki imajo ovalno obliko, imenujemo megalocite, ki so značilni za megaloblastno anemijo.

Spremembe v obliki eritrocitov imenujemo poikilocitoza. V primeru, da prevladuje v razmazu določena sprememba oblike eritrocitov, pa stanje imenujemo po njej (7).

1.6. SEDIMENTACIJA ERITROCITOV

Če v navpično postavljene graduirane pipete doziramo kri in ji dodamo sredstvo proti strjevanju, tako da ostane tekoča, se bodo čez čas zaradi teže eritrociti pričeli posedati. Ta pojav imenujemo sedimentacija eritrocitov (slika 5) in je indikator številnih vnetnih stanj.



Slika 5: Sedimentacija eritrocitov

Ugotavljanje hitrosti sedimentacije eritrocitov (HSE, v angleščini Erythrocyte Sedimentation Rate) in vitro je ena najstarejših laboratorijskih preiskav krvi. Izraz »hitrost sedimentacije eritrocitov« je tradicionalni izraz, čeprav dejansko merimo višino stolpca bistre raztopine nad usedlino po določenem času. Rezultat izrazimo kot mm/h. Postopek je enostaven in ga lahko izvede zdravnik sam.

HSE je odvisen od številnih dejavnikov in je zato diagnostično omejen. Normalna vrednost za sedimentacijo eritrocitov je pri zdravem moškem 2 do 10 mm v eni uri in 10 do 20 mm v dveh urah. Pri zdravi ženski je 3 do 12 mm v eni uri in 12 do 25 mm v dveh urah.

Kadar je izrazito pospešena, gre verjetno za neko bolezensko stanje, ne pa za določeno bolezen. Ugotovljena HSE nam koristi pri načrtovanju nadaljnjih preiskav, če pri tem upoštevamo tudi klinično sliko (13).

1.6.1. ZGODOVINSKI PREGLED

Zgodovina merjenja eritrocitne sedimentacije je že zelo dolga. Možno je, da so že zdravniki stare Grčije in Rima ter renesanse opazili spremembe sedimentacije krvi in jo uporabljali v terapevtske namene.

Prvi podrobnejši opis sedimentacije eritrocitov je opisal poljski zdravnik Edmund Faustyn Biernacki (1866–1911). Opazil je, da se hitrost sedimentacije spreminja glede na različna patološka stanja, predvsem vnetna stanja, kot so: revma, anemija, kronični nefritis, uremija, tuberkuloza, pljučnica in gripa.

V letu 1918 se je z merjenjem sedimentacije ukvarjal Šved Robin Fahreus, ki je veliko prispeval k široki uvedbi metode in njeni uporabi v klinični praksi. Standardne tehnike meritve je uvedel Westergreen sredi dvajsetih let prejšnjega stoletja. Določil je eksperimentalne pogoje za izvedbo meritve, za preprečitev koagulacije je vzorcu dodal heparin. Njegova tehnika še danes predstavlja osnovo za referenčni postopek. Mnogi avtorji so raziskovali vplive različnih sestavin plazme na hitrost sedimentacije.

V letu 1957 je Skeggs razvil avtomatizirano opremo za merjenje HSE.

Od tridesetih let prejšnjega stoletja dalje predstavlja meritev HSE pomemben prispevek v diagnostiki različnih obolenj (14).

1.6.2. DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA HSE

1.6.2.1. VPLIV BELJAKOVIN PLAZME:

Eritrociti se zaradi svoje gostote v navpičnih cevkah in težnosti, ki jo imajo, hitro sesedajo (sedimentirajo), medtem ko plazma zaradi manjše gostote deluje zaviralno, torej v nasprotni smeri.

Vzrok, da se eritrociti medsebojno odbijajo, je negativen elektrostatičen naboj na njihovi membrani. Naboj na membrani lahko premagajo nesimetrične beljakovinske molekule z večjo molekulsko maso in se tako prilepijo na površino eritrocita. Eritrociti se zato približajo in zlepijo v skupke, t. i. agregate, ki nastanejo v začetku sedimentacije eritrocitov. Njihova masa je glede na površino eritrocita relativno večja, zato povzroči hitrejše sesedanje in pospešeno HSE. Eritrocitne agregate povzročajo beljakovine, kot so: fibrinogen, alfa-makroglobulin, C-reaktivni protein in imunoglobulini, predvsem iz razreda IgM. Nasprotno pa albumin onemogoča vezavo drugih beljakovin z večjo molekulsko maso, kar zavre agregacijo eritrocitov in s tem upočasni HSE.

Najmočnejše vplivajo na HSE beljakovinski odnosi v plazmi. Koncentracija beljakovin plazme se spremeni pri poškodbi tkiva ali kot reakcija na vnetje. Na HSE vpliva tudi koncentracija lipoproteinov v plazmi, predvsem hilomikronov (13).

1.6.2.2. VPLIV VISKOZNOSTI PLAZME:

HSE je direktno odvisna od viskoznosti plazme. Viskoznost plazme povzroča predvsem koncentracija beljakovin plazme: večja je koncentracija beljakovin, večja je viskoznost plazme. Porast makromolekularnih beljakovin poveča nastanek »rulo« oblik oz. skupkov in s tem HSE (15).

1.6.2.3. VPLIV ERITROCITOV:

Za HSE sta pomembni tudi lastnost in število eritrocitov. Povečano število eritrocitov (policitemija) povzroči upočasnitev HSE pod 4 mm. HSE se pri zmanjšanju števila eritrocitov, torej pri anemijah, na splošno pospeši. Na to pa vpliva tudi povprečni volumen eritrocitov in njihova oblika. V primeru večjega povprečnega volumna eritrocitov (PVE), kar je značilno za makrocitne anemije, se HSE pospeši. Obratno je pri mikrocitnih anemijah.

Na HSE vpliva tudi oblika eritrocitov. Pri poikilocitozi agregati ne nastajajo v tolikšni meri, kot bi sicer in HSE se upočasni. Primer so srpasti eritrociti pri homozigotni hemoglobinopatiji Prav tako se HSE lahko upočasni zaradi velikega števila levkocitov (levkemije).

Glukokortikoidi in povečana koncentracija žolčnih kislin v krvi pri zapori žolčnih odvodnih poti imajo prav tako zaviralni vpliv na HSE. Pod vplivom infuzije heparina in dekstrana pa se HSE pospeši.

Učinkovit nastanek »rulo« oblik oz. skupkov je odvisen od normalne oblike in presnovne aktivnosti eritrocitov. Anizocitoza in poikilocitoza zmanjšajo sposobnost nastanka »rulo« oblik.

Na sedimentacijo vpliva tudi hematokrit, manjši kot je, večji so agregati eritrocitov. Nastanek večjih agregatov poveča HSE (13).

1.6.2.4. VPLIV FIZIKALNIH SPREMENLJIVK:

Na rezultat HSE vplivajo tudi pogoji, pod katerimi izvajamo samo analizo. Navpična lega steklene cevke je zelo pomemben dejavnik pri merjenju, kajti rahel odklon od navpične lege poveča HSE. Že pri nagibu 10 stopinj se HSE lahko celo podvoji. Najvišje vrednosti dobimo pri nagibu 66 stopinj. Tedaj je v desetih minutah prav tolikšna kot v vertikalnem položaju po eni uri.

Delovna miza v laboratoriju, na kateri izvajamo samo analizo, mora biti popolnoma ravna. Temperatura v laboratoriju ne sme biti nižja od 18 stopinj Celzija. HSE se lahko močno

poveča, in sicer pri temperaturi nad 37 stopinj Celzija, zaradi zmanjšanja viskoznosti plazme. Rezultat je potrebno odčitati po eni uri.

Pipete ne smejo biti izpostavljene soncu. Na meritev vplivajo tudi tresljaji, ki povzročajo zmanjšanje HSE, ker ovirajo nastanek »rulo« oblik oz. skupkov (15).

1.6.3. DIAGNOSTIČNI POMEN HSE

Pospešena HSE ni specifičen znak kake določene bolezni, vsekakor pa je zelo pomemben dejavnik pri diferencialni diagnozi, če jo ocenjujemo skupaj s fizikalnim pregledom bolnika, upoštevajoč tudi ustrezne parametre v sklopu drugih preiskav.

HSE lahko razdelimo glede na stopnjo hitrosti (velja za osebe, mlajše od 50 let), in sicer:

- zmerno pospešena HSE (do 70 mm),
- močnejše pospešena HSE (od 70 do 100 mm),
- močno pospešena HSE (nad 100 mm).

HSE se največkrat pospeši pri bolezenskih stanjih, kot so: razna vnetja in rakave novotvorbe (npr. rak prostate), pospeši pa se lahko tudi zaradi nekroze tkiva iz drugih vzrokov (npr. infarkt srčne mišice) (13).

Pri oceni moramo upoštevati bolnikovo starost, ker je tako na primer pri osemdesetletniku HSE do 40 mm še vedno v normalnem območju. Upoštevati moramo tudi to, da se HSE ne pospeši že v začetku akutnega vnetja ali nekroze tkiva, temveč šele nekaj časa za tem.

1.6.3.1. ZMerno POSPEŠENA HSE

Zmerno pospešeno sedimentacijo imajo lahko osebe, ki ne kažejo bolezenskih znakov in so klinično zdrave. Povišana vrednost se namreč odkrije povsem naključno, največkrat pri sistematskih pregledih. Pri tem so izsledki drugih preiskav (npr. običajni pregled seča,

krvna slika, koncentracija kreatinina v serumu itd.) v normalnem območju. V tem primeru se preverijo anamnestični podatki.

Pri tem se mora upoštevati, da je morda preiskovana oseba nedavno prebolela kakšno akutno vnetje (npr. pljučnico), ne da bi se zdravila in poiskala zdravniško pomoč. HSE se namreč ne vrne v normalno stanje takoj po okrevanju. Rentgenska slika pljuč je v tem primeru zelo koristna in potrebna preiskava, v kateri se lahko ugotovijo znaki prebolele pljučnice v resorpciji ali celo znake klinično prikrite pljučne tuberkuloze.

HSE se v takem primeru ponovno izmeri po dveh do štirih tednih. Če je še vedno pospešena, ali celo bolj kot prej, se izvede elektroforeza seruma, s katero se ugotovi, ali je v serumu monoklonski imunoglobulin (m-Ig) določenega razreda. Prisotnost monoklonskega imunoglobulina je znak difuznega plazmocitoma, to je oblika krvnega raka, ki izvira iz rakavo spremenjenih limfocitov B oz plazmatk (podvrsta levkocitov). Zdrave plazmatke proizvajajo protitelesa, rakasto spremenjene plazmatke pa namesto protiteles izločajo vrsto proteina, t.i. monoklonski imunoglobulin, ki ne ščiti telesa pred bakterijami in virusi, zato so te v organizmu pogostejše. Rakasto spremenjene plazmatke se kopičijo v kostnem mozgu, kjer izpodrivajo zdrave krvotvorne matične celice.

M-Ig vpliva na HSE in jo pospeši, kar je odvisno od njegove koncentracije v serumu. Ta pojav se imenuje monoklonska hiperimunoglobulinemija neodrejenega pomena; neodrejenega pomena zato, ker je nadaljnji potek bolezni lahko različen in ga v začetku ni mogoče predvideti. Pogost je predvsem pri starejših osebah. Bolniki, ki imajo monoklonsko hiperimunoglobulinemijo, so nadzorovani sprva na tri mesece, po letu dni pa na šest mesecev, pri tem se določa koncentracija m-Ig v serumu. V primeru, če koncentracija preseže 30 g/l, se izvedejo dodatne preiskave, ki pokažejo morebitni difuzni plazmocitom.

Če pri osebah m-Ig ni prisoten, se lahko v elektroforeznem vzorcu pojavijo druge spremembe, ki usmerjajo v določeno diagnostično smer. Povečana koncentracija globulina-alfa 2 je lahko vzrok kakšnega prekritega vnetja.

Koncentracija poliklonalnih imunoglobulinov se lahko pri kroničnih okužbah, jetrni cirozi, kroničnem aktivnem hepatitisu, sarkoidozi in boleznih veziva poveča. Če sta izsledek elektroforeze seruma pri klinično zdravih osebah in zmerno pospešena HSE negativen, nadaljne neciljane preiskave niso utemeljene.

Pri zmerno pospešeni ali celo močnejše pospešeni HSE in jasnih spremembah v elektroforeznem vzorcu seruma so utemeljene nadaljnje preiskave v smeri, ki jo te nakazujejo (13).

1.6.3.2. MOČNEJE ALI MOČNO POSPEŠENA HSE

Močno pospešeni HSE je potrebno posvetiti veliko pozornosti. Če rezultati preiskav pokažejo vrednost HSE nad 100 mm/h, so tudi klinične preiskave enostavnih laboratorijskih preiskav le redko normalne. V primeru močno pospešene HSE preiskavo ponovimo po dveh do štirih tednih. Možnosti, da se pri ponovni preiskavi odkrijejo vzroki pospešene HSE, so različne. Najpogostejši vzroki so maligni neoplazmi, posebno mielomi; vnetne bolezni; bolezni ledvic; temporalni artritis, za katerega so značilni glavobol, hitra utrudljivost in bolečina v čeljustnih mišicah pri žvečenju in govorjenju, motnje vida in hujšanje (preglednica III). Temporalna arterija je na dotik lahko boleča, zadebeljena ali vozličasta in brez pulznega vala. Zgodnje odkrivanje temporalnega artritisa je pomembno zaradi zdravljenja z glukokortikoidi, s katerimi lahko preprečimo morebitni razvoj slepote. Med infekcijami so najbolj pogoste infekcije pljuč (bakterijska pneumonia, pljučni absces, tuberkuloza). Bolezni ledvic vključujejo kronični ledvični zastoj kot posledica hipertenzije ali diabetesa. Maligna obolenja so pljučni karcinom, metastaze, rak jajčnikov in prostate, Waldenstromova makroglobulinemija. Vnetja vključujejo še bolezni kolagena, pankreatitis in revmatoidni artritis.

HSE se pospeši predvsem pri razširjenih novotvorbah in sekundarnih spremembah, kot so nekroza tkiva in vnetja, medtem ko je pri rakavih novotvorbah HSE lahko v normalnem območju. Pri močno pospešeni HSE gre lahko za razsevke predvsem v kosteh. V tem primeru je koristno določiti aktivnost alkalne fosfataze seruma in pregled barvanega razmaza periferne krvi. Pri razsevkah v kosteh oz. v kostnem mozgu so v krvi pogosto odkriti nezreli granulociti in predvsem eritroblasti.

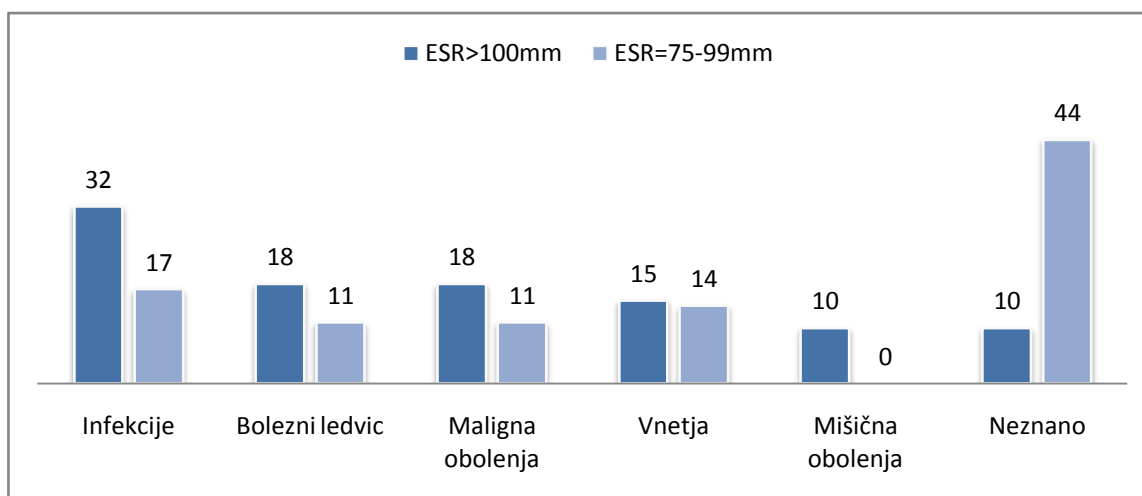
Močnejše ali močno pospešena HSE je pogosto posledica kakšnega aktivnega vnetja.

HSE se torej lahko uporabi kot indikator obolenj pri starostnikih brez specifičnih simptomov, kot presejalni test infekcij v pediatriji, ortopediji in ginekologiji, v diagnostiki

in spremljanju začasnih artritsov in drugih revmatičnih obolenj ter za spremljanje pacientov z Hodgkinovim limfomom, ki so v procesu zdravljenja. HSE ima tudi vlogo napovedovalca vrnitve bolezni Hodgkinovega limfoma (13).

Preglednica III: Delež obolenj z vrednostmi HSE nad 100 mm/h

Patologija	Pacienti (število in procent) s HSE > 100 mm/h	
	Zacharski(1967)	Fincher(1986)
Infekcije	20 (7,9 %)	14 (33,3 %)
Bolezni ledvic	22 (8,7 %)	7 (16,7 %)
Maligna obolenja	150 (59,5 %)	7 (16,7 %)
Vnetja	43 (17,1 %)	6 (14,3 %)
Mišična obolenja	9 (3,6 %)	4 (9,5 %)
Neznano	8 (3,2 %)	4 (9,5 %)



Slika 6: Prikaz pacientov z vrednostjo HSE pri različnih obolenjih.

1.6.4. HSE PRI ANEMIJAH

HSE je pri anemijah bolj ali manj pospešena zaradi manjšega števila eritrocitov. Pri tem sta pomembna povprečni volumen eritrocitov in njihova oblika. Zaradi manjšega povprečnega

volumna eritrocitov (PVE) se HSE pri anemiji zaradi pomanjkanja železa ne pospeši, če ni drugega vzroka, ki bi vplival v nasprotni smeri.

Če gre za močnejše mesečne krvavitve ali krvavitve iz rodil izven mesečnega perila in očitno pospešeno HSE, je vzrok morebitno vnetje organov v mali medenici (16).

1.7. METODE

1.7.1. NAČIN DOLOČANJA HSE

HSE določamo na dva načina, in sicer na Westergreenov in Wintrobov način.

Westergreenov način je najstarejši način merjenja eritrocitne sedimentacije. Vzorec krvi se odvzame z venopunkcijo. Uporabljajo se navpično postavljene pipete, dolge 300 mm, z notranjim premerom 2,5 mm, ki so do višine 200 mm graduirane od zgoraj navzdol v presledkih po 1 mm (slika 7). Za preprečitev koagulacije se vzorcu doda antikoagulant. Kot antikoagulant se uporablja natrijev citrat, ki je z vensko krvjo v razmerju 1:5.



Slika 7: Pipete za sedimentacijo

Postopek poteka tako, da v dvomililitrsko sterilno, suho brizgo vsrkamo 0,4 ml 3,8 % sterilne raztopine natrijevega citrata in odvezamemo zraven še 1,6 ml krvi iz vene, ki ne sme biti predolgo podvezana. Količina krvi in antikoagulant morata biti v pravilnem razmerju. Odvzeta kri se mora dobro premešati s citratom.

Citratno kri prenesemo v suho sterilno epruveto, od koder jo odpipetiramo v suho pipeto po Westergreenu do zareze pri 0 (slika 8).



Slika 8: Postopek merjenja sedimentacije eritrocitov

Rezultat odčitamo po eni uri, in sicer odčitamo razdaljo od meniskusa plazme do roba eritrocitnega stolpca; če je potrebno, pa še enkrat po dveh urah. Pri močno pospešeni sedimentaciji odčitavamo rezultat vsakih 15 minut.

Rezultat izrazimo: HSE (Westergreen 1h) = x mm.

Pri sobni temperaturi izvedemo analizo v dveh urah po odvzemu, če pa hranimo vzorec pri 4 stopinjah Celzija, pa v šestih urah. V primeru, če sedimentacije ne nastavimo takoj po odvzemu, moramo epruveto s krvjo premešati, preden jo napolnimo v pipeto. Previsoke vrednosti lahko dobimo v primeru, če vzorec stoji več kot pol ure.

Sedimentacijo eritrocitov lahko izvajamo tudi tako, da v čisto suho epruveto doziramo najprej 0,4 ml 3,8 % raztopine natrijevega citrata, ki ni nujno sterilna, in dodamo točno 1,6 ml krvi.

Pri odvzemu moramo upoštevati točno količino citratne raztopine, kajti če je uporabimo premalo, dobimo na videz pospešeno sedimentacijo, zaradi povečane koagulacije krvi, če pa je damo preveč, dobimo dozdevno znižan rezultat, manjša koagulacija.

Kadarkoli kri v brizgi ali v epruveti ali v Westergreenovi pipeti koagulira, moramo postopek ponoviti. To se lahko zgodi v primeru, kadar pri odčitanju rezultata opazimo v krvi fibrin zaradi premajhne količine citrata ali pa kri ni bila zadosti premešana s citratno raztopino. Delci se hitreje sesedajo tudi pri previsoki temperaturi, zato so rezultati poleti lahko višji kot v zimskih mesecih.

Pri sedimentaciji opazujemo tudi barvo in bistrino plazme, ki je odvisna od različnih bolezenskih stanj. Pri nefrozi in sladkorni bolezni je plazma mlečnato kalna, lipemična, pri perniciozni anemiji je slamnato rumena, pri hiposiderozah bleda, pri zlatenicah rumeno zelena, pri hemolizi pa je plazma vinsko rdeča.

V zgornjem delu stolpca sesedlih celic se naberejo levkociti, ki jih vidimo v sivkasto belem sloju, ki je izrazitejši pri levkocitozah.

Sedimentacijo lahko izmerimo v katerem koli dnevnem času, saj ni odvisna od metabolizma.

Pri **Wintrobovem** načinu se uporabljajo pipete, ki so na enem koncu zaprte, dolge 110 mm, z notranjim premerom 2,5 mm in z označeno skalo od 0 do 100 mm. Kot antikoagulant so najprej uporabljali mešanico amonijevega in kalijevega oksalata, danes pa se uporablja kalijev EDTA. Vrednost HSE se odčita po eni uri. Prednost Wintrobovega načina določanja HSE je, da epruvete kasneje lahko centrifugiramo in določimo VSE (15).

V laboratorijih se uporabljajo različne prirejene rutinske metode določanja HSE. Metode se med seboj razlikujejo po količini vzorca, velikosti pipet, razmerju med antikoagulantom in vzorcem krvi, časom merjenja in drugimi parametri. Okrepile so se tudi zahteve po odpravi stika laboratorijskega osebja s potencialno kužnimi materiali. Na tržišču so se pojavili tudi avtomati z možnostjo analiziranja večjega števila vzorcev in avtomatskim odčitavanjem višine stolpca z optičnimi metodami.

Določanja HSE ne moremo kalibrirati. Ne glede na način izvedbe analize morajo biti rezultati primerljivi tako znotraj laboratorija kot med laboratoriji. Obvladovanje kakovosti meritev je izvedljivo z uporabo referenčne metode in primerjavo rezultatov rutinske metode z rezultati referenčne metode. Mednarodni svet za standardizacijo v hematologiji (International Council for Standardization in Haematology – ICSH) je definiral tako metodo kot točno opisano tehniko, ki omogoča dovolj točno in natančno merjenje, s katerim presojamo verodostojnost rutinskih laboratorijskih metod.

Pri originalni ICSH referenčni metodi uporabljajo štiri volumne krvi in en volumen citrata v pipeti dolžine (300 ± 1.5 mm), z notranjim premerom (2.55 ± 0.15 mm). Pri tem načinu se uporabljajo Westergreen-katzove pipete, ki morajo biti steklene, ravne in brezbarvne, da lahko opazujemo spremembe v vzorcu. Za namene medsebojne primerjave metod je ICSH

predlagal referenčno metodo, ki se izvaja na nerazredčenih vzorcih krvi z vrednostjo hematokrita 0.35 ali manj pri standardnih pogojih. Tem nerazredčenim vzorcem krvi se doda antikoagulant EDTA (razredčenje manj kot 1 %), brez razredčenja s citratnim antikoagulantom. Ta metoda omogoča laboratorijem, da si pripravijo lasten referenčni material za določanja HSE, za preverjanje rezultatov rutinskih metod oziroma za obvladovanje kakovosti.

Leta 1983 je Nacionalni odbor za standarde za klinične laboratorije (National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS) opisal referenčni način po Westergreenu. Ta referenčni način se razlikuje od referenčnega načina, ki ga je opisal ICSH po tem, da se kot antikoagulant uporablja kalijev EDTA namesto natrijevega citrata. Razlikuje se tudi po premeru pipete, ki je v tem primeru (2.65 ± 0.15 mm).

Rezultati rutinskih metod so sprejemljivi, kadar se med seboj ujemajo znotraj vnaprej določenih kriterijev, ki so: odstopanje od prave vrednosti in natančnost (17).

1.7.2. NAČIN DOLOČANJA CRP

Načini izvajanja metod so glede na lokacijo uporabe različne. Manjša natančnost in večja specifičnost je zadovoljiva pri merjenju rezultatov v urgentnem laboratoriju ali v ambulanti, medtem ko so na oddelku običajno zadovoljivi časi znotraj nekaj ur (9).

CRP se določa imunokemijsko: $\text{Ag (CRP)} + \text{Pt} \rightarrow \text{Ag-Pt}$.

CRP reagira kot antigen z anti-CRP protitelesi. Nastanejo imunski kompleksi, katerih količina je sorazmerna s koncentracijo CRP v vzorcu. Količino imunskih kompleksov se meri turbidimetrično, kjer merimo intenziteto prepuščene svetlobe (izračun absorbance) ter nefelometrično, kjer merimo intenziteto sipane svetlobe. Koncentracija CRP se določa s pomočjo umeritvene krivulje, ki se pripravi iz izmerjenih absorbanc standardnih vzorcev (18).

Za določitev tveganja za razvoj srčno-žilnih bolezni so razvili metode za nizke koncentracije CRP. Imenujemo jih hsCRP (High sensitivity CRP), odlikujeta jih velika občutljivost in natančnost. Prva generacija testa hsCRP je temeljila na tehniki ELISA, to je

biokemijska metoda, ki se uporablja v imunologiji za detekcijo protiteles ali antigenov v vzorcu. Druga in tretja generacija testa uporabljata avtomatizirani imunoturbodimetrično in imunoluminometrično metodo.

To je biokemijska metoda, ki se uporablja v imunologiji za detekcijo protiteles ali antigenov v vzorcu (9).

1.7.2.1. VZOREC ZA DOLOČITEV CRP IN NAROČANJE

Preglednica IV: Elektronsko naročanje CRP

Vzorec	Serum
Priporočen odvzem	5 ml – epruveta brez dodatkov (rdeč zamašek)
Najmanjša količina vzorca	250 µl seruma
Čas za izvedbo preiskave	od 30 minut do 1 delovni dan (glede na stopnjo nujnosti)
Posebnosti	za pediatrične vzorce uporaba mikro epruvete z volumnom 400 µl.
Referenčne vrednosti	do 5 mg/l

1.7.3. HEMATOLOŠKI ANALIZATORJI

Hematološki analizatorji omogočajo avtomatiziran pregled krvnih celic. Štejejo krvne celice in merijo njihove lastnosti s pomočjo električnih in optičnih načinov detekcije ali pa s kombinacijo obeh načinov. Analizator ne razlikuje celic, ki so morfološko spremenjene, zato je potrebno narediti razmaz venske krvi, s katerim ugotovimo spremembe v velikosti, obliki in številu krvnih celic (7).

1.7.3.1. HEMATOLOŠKI ANALIZATOR BECKMAN COULTER LH 750

Hematološki analizator Coulter LH 750 uporablja dva načina merjenja hematoloških parametrov:

- z merjenjem upornosti merimo volumen in štejemo bele in rdeče krvne celice ter trombocite,
- z VCS (V:Volume, C: Conductivity, S: Scatter) pretočno citometrijo določamo diferencialno belo krvno sliko, retikulocite in limfocitne podvrste,
 - fotometrično določa koncentracijo hemoglobina v vzorcu.

MERJENJE ŠTEVILA IN VELIKOSTI CELIC

Analizator šteje in meri velikost celic tako, da meri spremembe v električni upornosti, ko celica v prevodnem mediju potuje skozi odprtino pretočne celice aparata. Celice, ki so susoendirane v prevodnem mediju deljejo kot izolatorji, zaradi lipidnega dvosloja. Med potovanjem celic skozi odprtino naraste upornost med elektrodama, potopljenima v celični suspenziji, ki sta na vsaki strani odprtine. Pri tem celica sproži impulz, število impulzov pomeni število celic, jakost impulza pa velikost celice.

VCS TEHNOLOGIJA

Z VCS (V:Volume, C: Conductivity, S: Scatter) tehnologijo aparat določi diferencialno krvno sliko. VCS tehnologija uporablja nizkofrekvenčni tok za ugotavljanje volumna celice, visokofrekvenčni tok pa zaznava notranjo zgradbo celice z merjenjem spremembe v prevodnosti. Laserska svetloba se sipa na površini celice in v citoplazmi iz česar aparat prepozna obliko in površinsko zgradbo celice ter granuliranost citoplazme.

MERJENJE VOLUMNA

Volumen celic se merim z nizkofrekvenčnim tokom, pri katerem se meri sprememba upora, ki določa velikost celice. Celice so suspendirane v prevodnem mediju in se obnašajo

kot izolatorji ter tako nudijo uporabo nizkofrekvenčnemu toku. Celica potuje preko odprtine in nadomesti volume prevodnega medija z lastnim volumenom. Upornost se poveča in napetost pade. Spremembo napetosti zazna kot impulz, ki je sorazmeren velikosti celice.

Hematološki analizator Coulter LH 750 (slika 9) deluje po naslednjih korakih:

- vsrkavanje vzorca, mešanje in redčenje,
- elektro-optične analize z uporabo VCS tehnologije,
- določanje volumna celic z nizkofrekvenčnim tokom,
- določanje prevodnosti z visokofrekvenčnim tokom,
- merjenje sipane svetlobe (light scattering), ki uporablja vir svetlobe – helij – neonski laser,
- zbiranje, shranjevanje in obdelava podatkov,
- analiza in prikaz podatkov (19).



Slika 9: Hematološki analizator Beckman Coulter LH 750

2. NAMEN DELA

Sedimentacija eritrocitov je ena od prvih ali celo prva laboratorijska analiza krvi, ki se je začela uporabljati v moderni medicini. Njeno merjenje ima ključni pomen pri ugotavljanju vnetnih procesov. Določanje sedimentacije eritrocitov je hiter, enostaven in poceni test, dolgo časa je bila edina preiskava, poleg določitve števila levkocitov, za ugotavljanje prisotnosti vnetja. Cilj diplomske naloge bo, da ugotovimo, ali nam določitev sedimentacije eritrocitov (SR) z gotovostjo pove, ali gre za patološki proces in kakšna je korelacija med SR, C-reaktivnim proteinom (CRP) in številom levkocitov (LKC). V ta namen bomo izbrali skupino pacientov iz Kliničnega centra Ljubljana ter zbrali podatke o SR, CRP in LKC. Pridobljeni podatki nam bodo pokazali karakteristične vrednosti posameznih parametrov pri določeni vrsti vnetja. Ugotovili bomo torej, ali je merjenje sedimentacije eritrocitov lahko edini in zanesljivi test, s katerim opredelimo vnetja.

3. EKSPERIMENTALNI DEL

3.1. OPIS METOD

V delu je zajeta skupina pacientov, katerim so bile določene vrednosti levkocitov, sedimentacije eritrocitov in C-reaktivnega proteina.

Vse določitve so bile izvedene v Urgentnem laboratoriju Kliničnega centra Ljubljana, po naslednjih metodah:

Sedimentacija eritrocitov (Avtomatizirano določanje na analizatorju Test 1)

Meritev poteka iz K₃EDTA krvi brez predhodnega redčenja, sama tehnologija določanja je fotometrična kinetična analiza. Kri se aspirira direktno v merilno kapilaro, kjer jo analizira žarek infrardeče svetlobe (950 nm). Izhodne signale zaznava fotodiodni detektor. Izmerjena intenziteta svetlobe je sorazmerna koncentraciji eritrocitnih agregatov v kapilari. V eni sekundi aparat za vsak vzorec opravi 1000 meritev, nato iz rezultatov izriše sedimentacijsko krivuljo, ki se z matematičnim algoritmom pretvori v Westergrenovo metodo, zato so rezultati med sabo primerljivi.

Metode se ne da kalibrirati. Pred analizo se vzorci v analizatorju premešajo ter vstavijo v kaseto. Za analizo je potrebno 350 µl krvi pri prvem vzorcu in 175 µl pri ostalih vzorcih (20).

C-reaktivni protein (Imuniturbidimetrično določanje na analizatorju Advia 1800)

Koncentracija C-reaktivnega proteina se lahko izmeri v serumu ali plazmi imunoturbidimetrično, na osnovi lateksnih delcev. CRP reagira kot Ag z anti-CRP protitelesi s katerimi so oplašeni delci lateksa. Nastanejo imunski kompleksi, katerih količina je sorazmerna s koncentracijo CRP v vzorcu. Količina imunskih kompleksov se izmeri turbidimetrično pri 340 nm (18).

Levkociti (Štetje levkocitov na analizatorju Beckman Coulter)

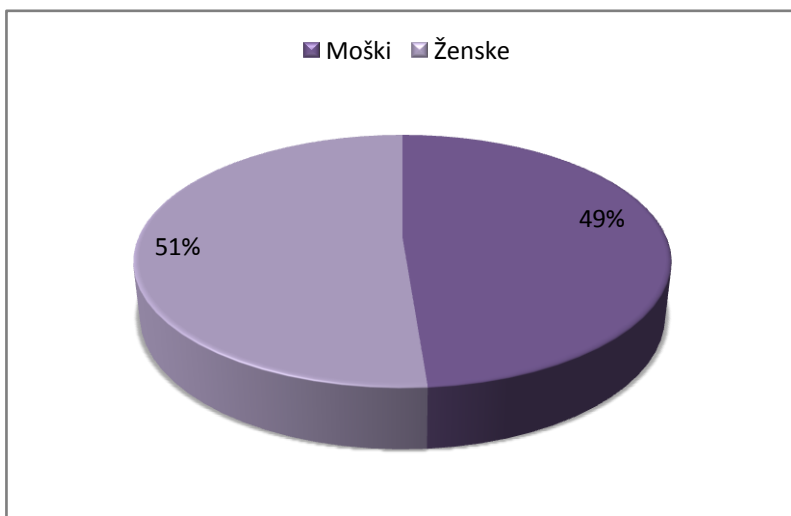
3.2. STATISTIČNA ANALIZA

Analiza podatkov je bila narejena v programu excel, kjer smo računali korelacije med izbranimi parametri. Uporabili smo Pearsonov koeficient korelacije, to je številna mera, ki predstavlja velikost linearne povezanosti spremenljivk x in y (21).

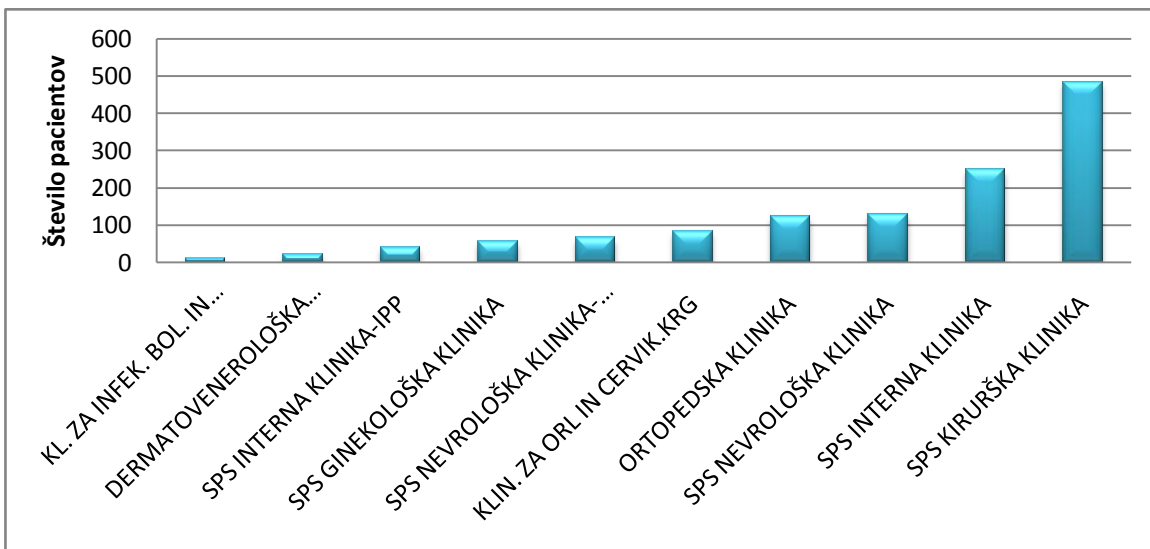
3.3. PREDSTAVITEV SKUPINE PACIENTOV

Podatki so zajemali različne oddelke Univerzitetnega Kliničnega centra Ljubljana. Meritve so bile izvedene pred pričetkom zdravljenja. Vključenih je bilo 1368 preiskovancev, od tega je bilo 701 (51,24 %) žensk in 667 (48,76 %) moških (slika 10). Izbirali smo torej tako med žensko kot tudi moško populacijo ter jih glede na spol razdelili v dve skupini. Največ pacientov je bilo rojenih med letom 1922 do 1952, najmanj pa po letu 1985, povprečna starost je bila 53 let. Najmlajši preiskovanec je bil star 3 leta, najstarejši je imel 100 let. Kirurška klinika je imela največje število pacientov, sledijo ji interna klinika, nevrološka in ortopedska klinika (slika 11).

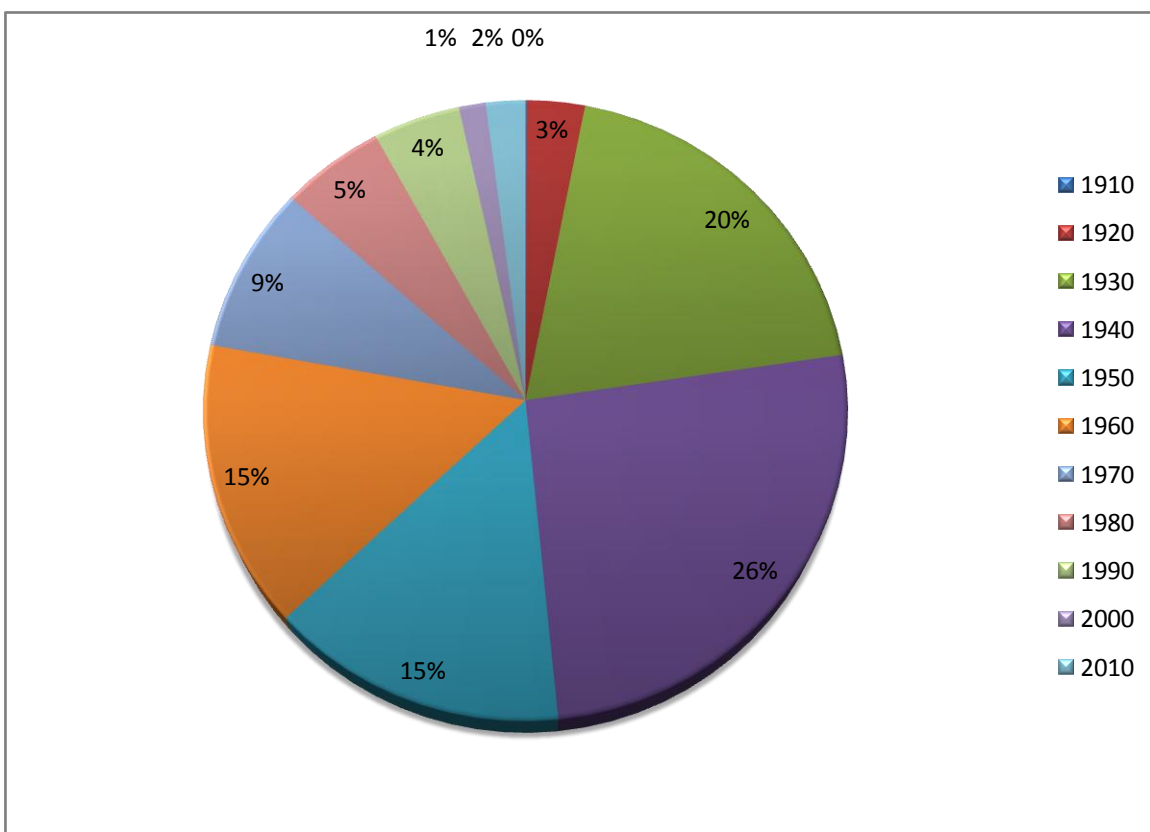
Iz porazdelitve po starostnih skupinah smo videli, da je večje število obravnavanih pacientov starejših od šestdeset let, torej je šlo za paciente rojene med letoma 1940–1950. Sledi jim skupina rojenih preiskovancev med letom 1960 in 1990, najmanj pa so zastopani pacienti, rojeni med letoma 1910 in 1920 ter po letu 2000 (slika 12).



Slika 10: Prikaz števila pacientov po spolu



Slika 11: Prikaz števila pacientov po oddelkih



Slika 12: Predstavitev števila pacientov po desetletjih rojstva

4. REZULTATI

Paciente smo razdelili glede na spol. Dobljene vrednosti CRP, SR in LKC smo razvrstili glede na razmejitvene vrednosti. Izhajali smo iz dejstva, da vrednost CRP-ja določa vrsto vnetja. Ugotavljali smo število pacientk oziroma pacientov, pri katerih ne predpostavljamo vnetja, pri katerih predpostavljamo virusno vnetje in pri katerih predpostavljamo bakterijsko vnetje. Za SR in LKC smo ugotavljali število pacientk/pacientov z normalnimi, zvišanimi in znižanimi vrednostmi. Rezultati so prikazani za žensko populacijo v preglednicah V, VI, VII in za moško populacijo v preglednicah VIII, IX, X.

4.1. PREDSTAVITEV ŽENSKE POPULACIJE

Preglednica V: Število pacientk glede na vrednosti CRP

Razmejitvene vrednosti za S-CRP:		
Vrednost	Stanje	Število pacientk
CRP ≤ 3 mg/L	Normalno (ni vnetja)	57
CRP od 4 do 80 mg/L	Povišano (virusno vnetje)	496
CRP > 81 mg/L	Povišano (bakterijsko vnetje)	148

Preglednica VI: Število pacientk glede na vrednosti LKC

Razmejitvene vrednosti za K-Lkci:		
Vrednost	Stanje	Število pacintk
K-Lkci < 4 *10 ⁹ /L	Znižano	10
K-Lkci od 4 do 10 *10 ⁹ /L	Normalno	485
K-Lkci > 10 *10 ⁹ /L	Povišano	206

Preglednica VII: Število pacientk glede vrednosti SR

Razmejitvene vrednosti za SR:		
Vrednost	Stanje	Število pacientk
SR 2 do 12 mm/h	Normalno	44
SR \geq 13 mm/h	Povišano	657

4.2. PREDSTAVITEV MOŠKE POPULACIJE*Preglednica VIII: Število pacientov glede na vrednosti CRP*

Vrednost	Stanje	Število pacientov
CRP \leq 3 mg/L	Ni vnetja	68
CRP od 4 do 80 mg/L	Virusno vnetje	467
CRP $>$ 81 mg/L	Bakterijsko vnetje	132

Preglednica IX: Število pacientov glede na vrednosti LKC

Vrednost	Stanje	Število pacientov
K-Lkci $<$ $4 \cdot 10^9$ /L	Znižano	10
K-Lkci od 4 do $10 \cdot 10^9$ /L	Normalno	466
K-Lkci $>$ $10 \cdot 10^9$ /L	Povišano	191

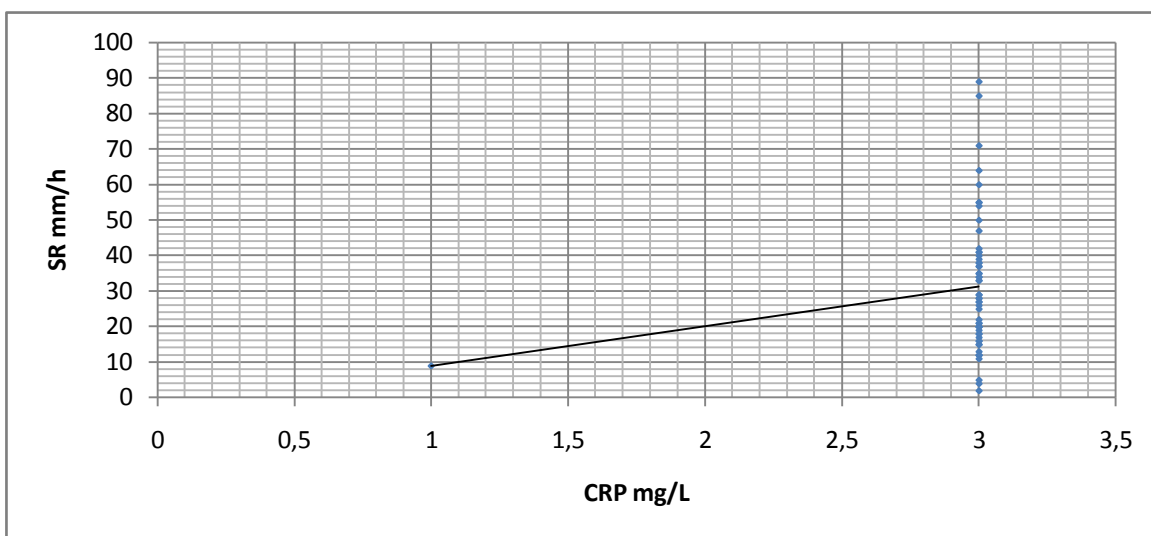
Preglednica X: Število pacientov glede na vrednosti SR

Vrednost	Stanje	Število pacientov
SR 2 do 10 mm/h	Normalno	46
SR \geq 11 mm/h	Povišano	621

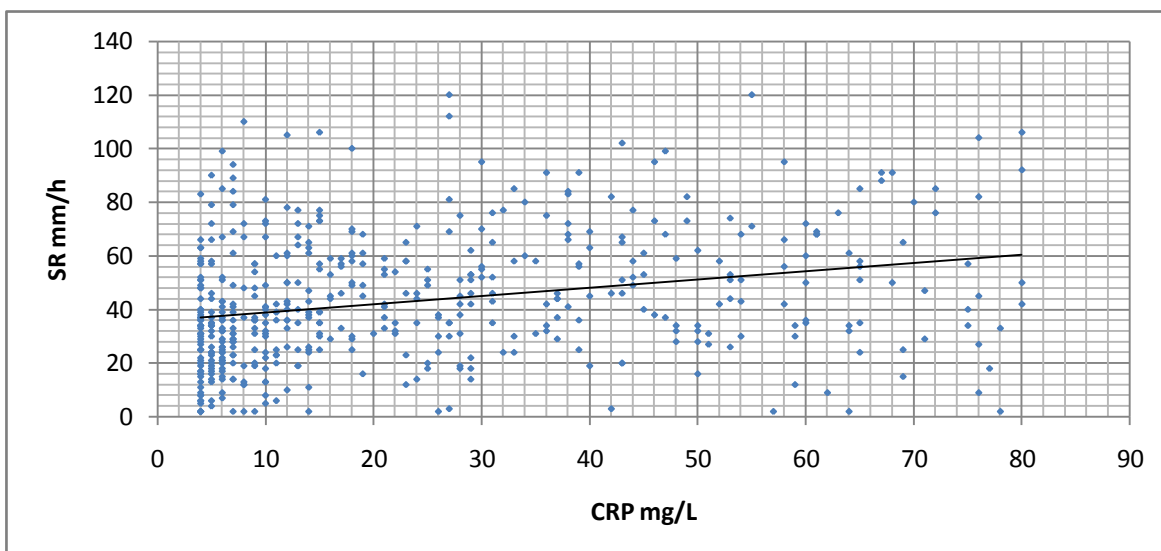
Ugotovili smo, da pri največjem številu pacientov pričakujemo virusno vnetje (CRP od 4 do 80 mg/L).

4.3. KORELACIJA MED SR IN CRP TER LEVKOCITI

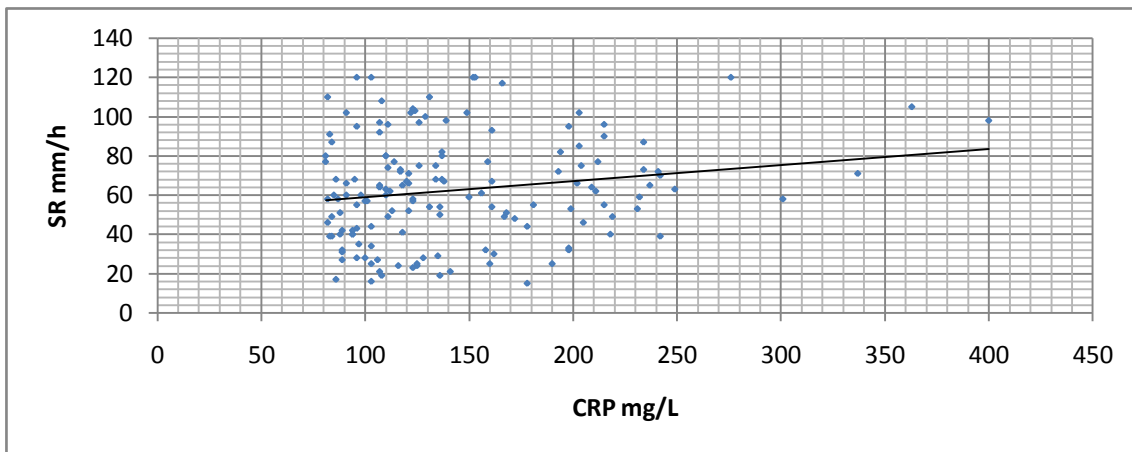
V nadaljevanju smo ovrednotili korelacijo med SR in CRP ter LKC. Na podlagi rezultatov CRP smo opredelili vnetja glede na: ni vnetja ($CRP \leq 3$ mg/L), virusno vnetje (CRP od 4 do 80 mg/L) in bakterijsko vnetje ($CRP \geq 81$ mg/L). Zbrane podatke smo vnesli v diagrame korelacije med SR in CRP. Rezultati so prikazani na slikah 13 do 18.



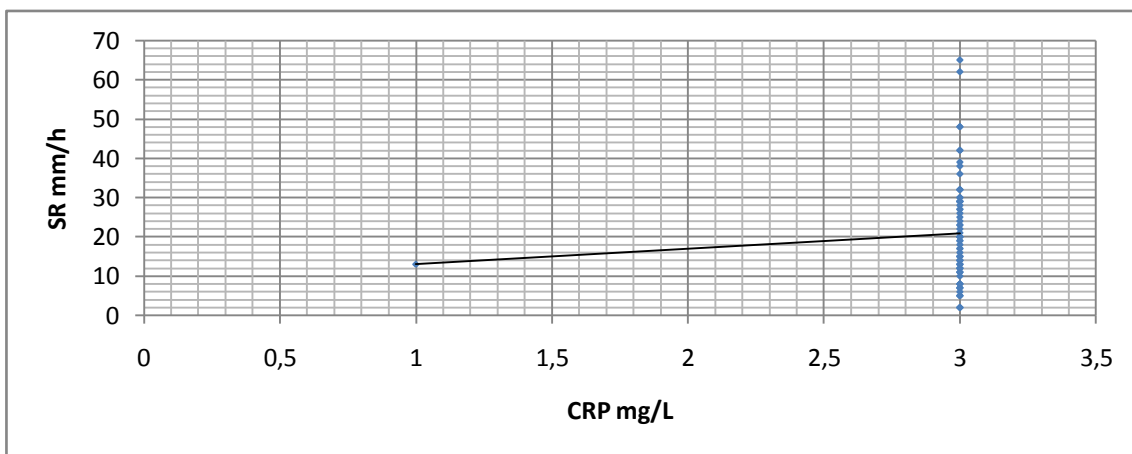
Slika 13: Prikaz korelacije med SR in CRP brez vnetja, ženske, korelacija $r=0,16$



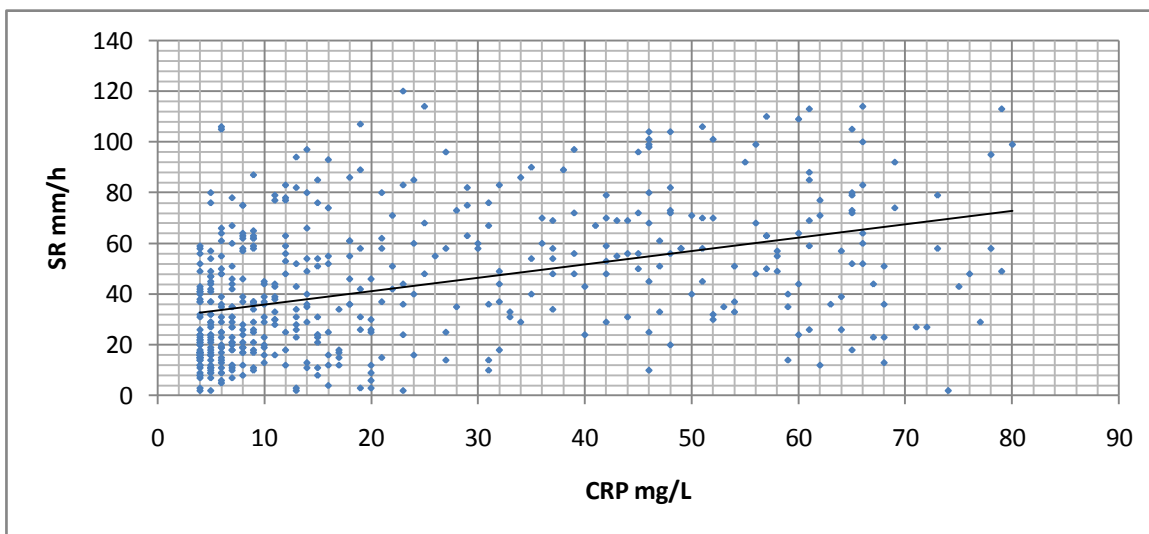
Slika 14: Prikaz korelacije med SR in CRP pri virusnem vnetju, ženske, korelacija $r=0,27$



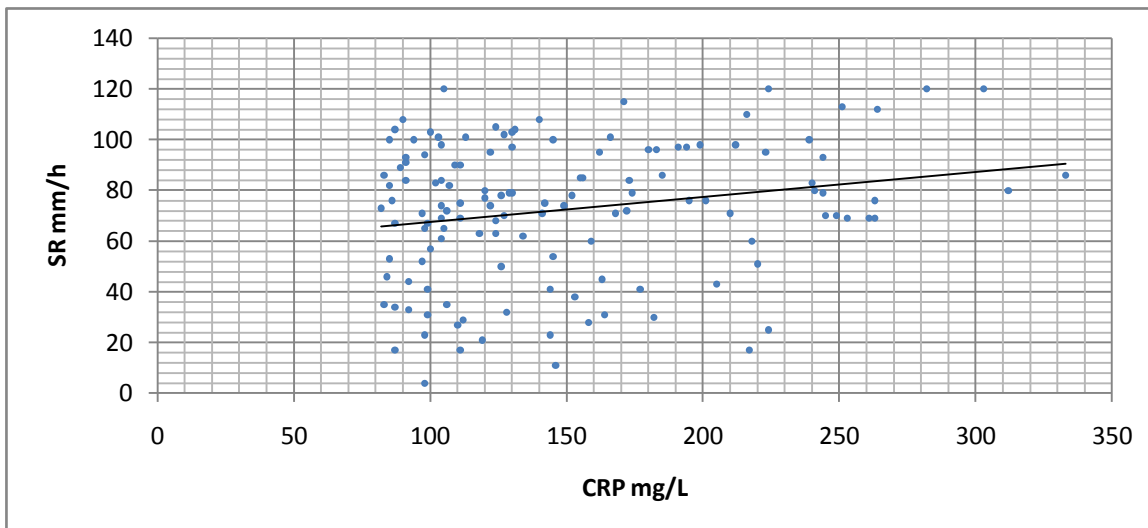
Slika 15: Prikaz korelacije med SR in CRP pri bakterijskem vnetju, ženske, korelacija $r=0,18$



Slika 16: Prikaz korelacije med SR in CRP, brez vnetja, moški, korelacija $r=0,07$



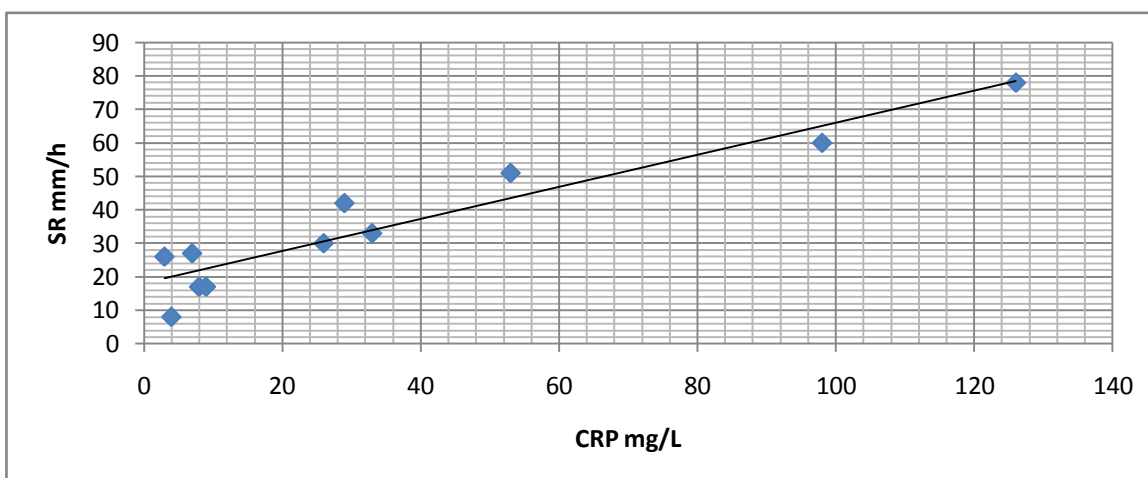
Slika 17: Prikaz korelacije med SR in CRP, virusno vnetje, moški, korelacija $r=0,43$



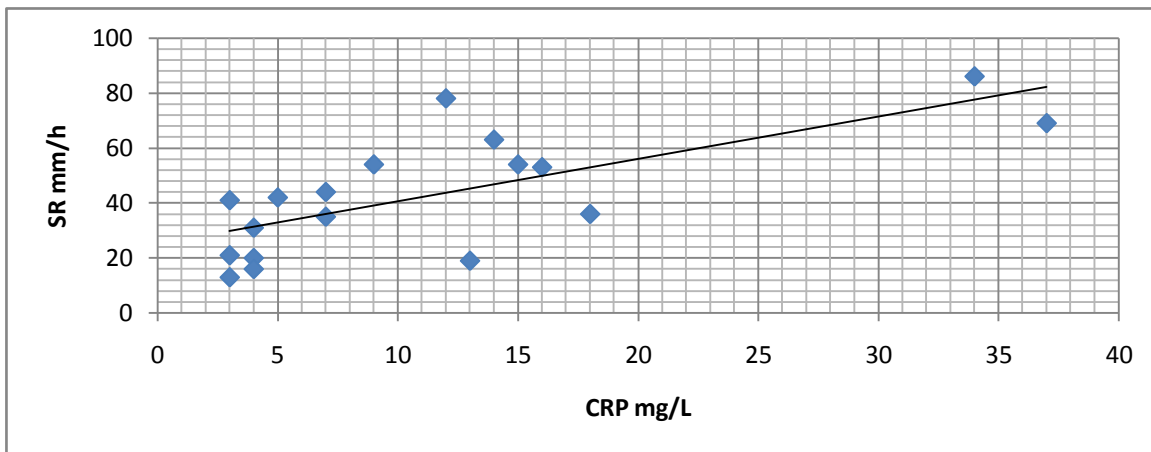
Slika 18: Prikaz korelacije med SR in CRP, bakterijsko vnetje, moški, korelacija $r=0,21$

Iz diagramov vidimo, da med sedimentacijo eritrocitov in C-reaktivnim proteinom praktično ni korelacije, kadar upoštevamo rezultate različnih obolenj. Prav tako vidimo, da med žensko in moško populacijo ni bistvene razlike.

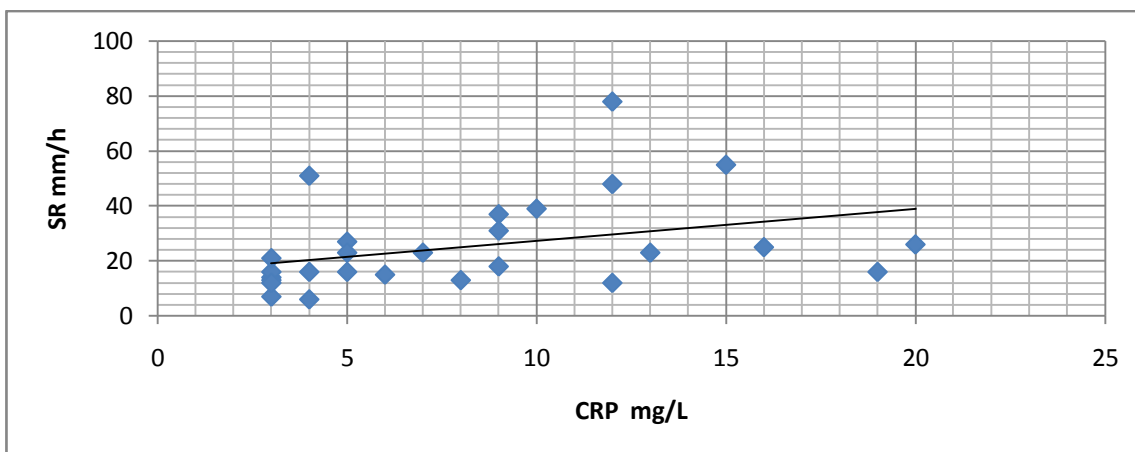
V nadaljevanju smo izbrali podatke iz infektivne klinike, kjer pričakujemo vnetna obolenja. Za primerjavo smo uporabili podatke iz dermatonevrološke klinike, kjer so lahko prisotna različna vnetna in nevnetna obolenja, ter psihiatrično kliniko, kjer predpostavljamo fizično zdrave osebe. Podatki zajemajo žensko in moško populacijo. Na slikah 19–21 so prikazane korelacije med SR in CRP, na slikah 22–24 pa korelacije med SR in LKC.



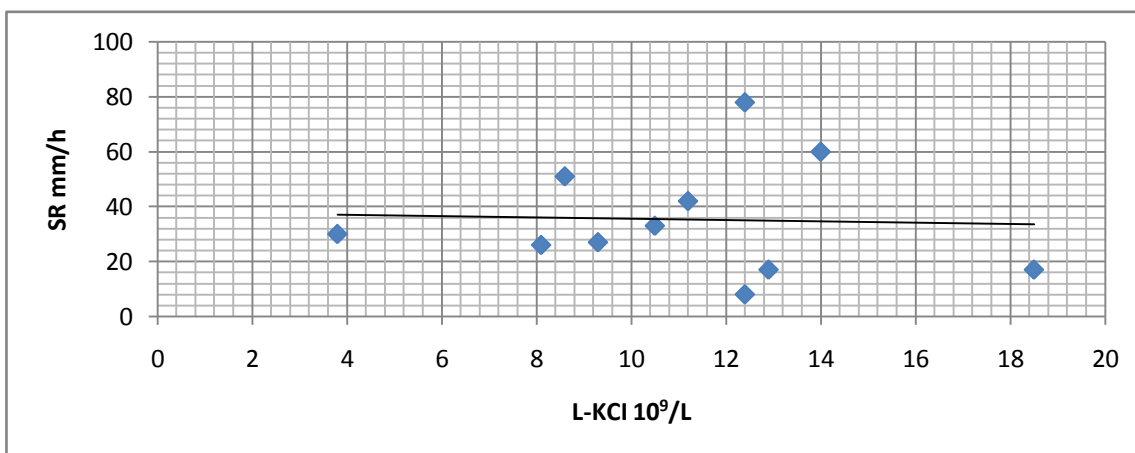
Slika 19: Prikaz korelacije med SR in CRP za infektivno kliniko, korelacija $r=0,95$



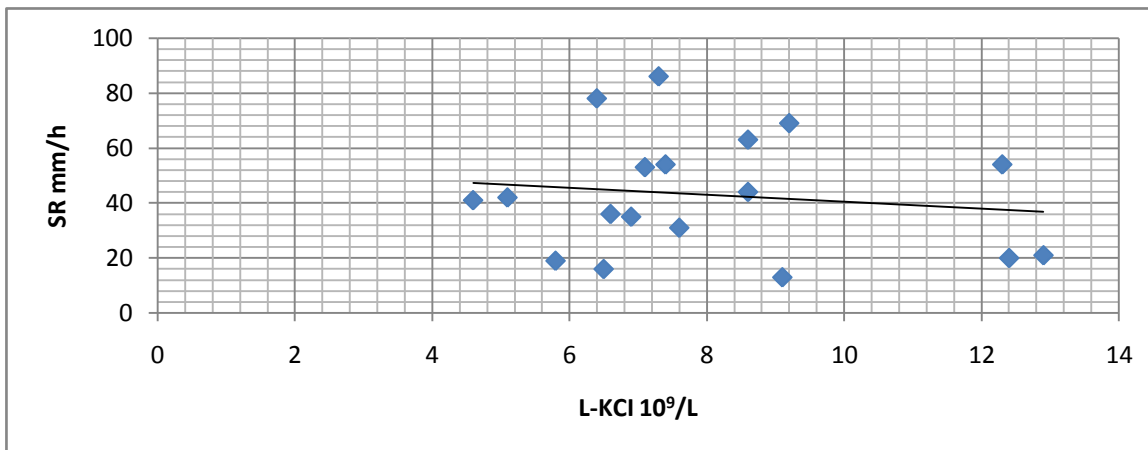
Slika 20: Prikaz korelacije med SR in CRP za dermatovenerološko kliniko, korelacija $r=0,71$



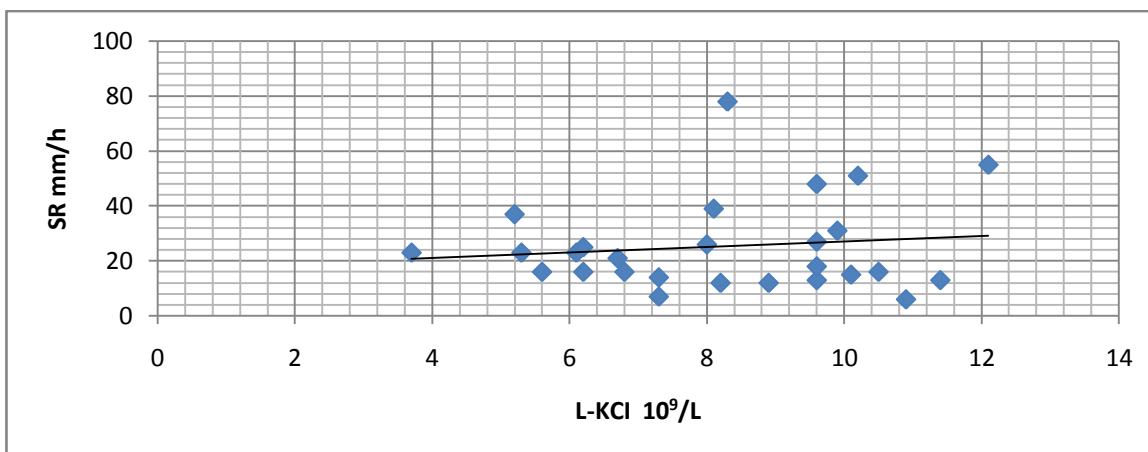
Slika 21: Prikaz korelacije med SR in CRP za psihiatrično kliniko, korelacija $r=0,36$



Slika 22: Prikaz korelacije med SR in LKC za infektivno kliniko, korelacija $r= -0,04$



Slika 23: Prikaz korelacije med SR in LKC za dermatonevrolško kliniko, korelacija $r = -0,14$



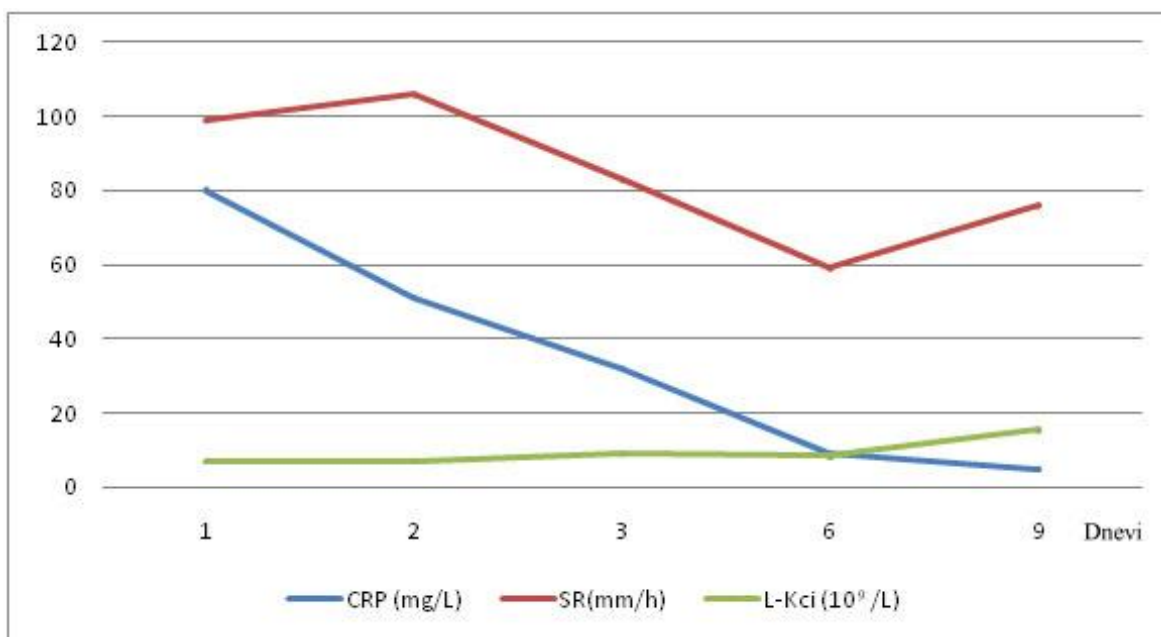
Slika 24: Prikaz korelacije med SR in LKC za psihiatrično kliniko, korelacija $r=0,13$

Iz diagramov vidimo, da je pri infekcijski kliniki, kjer pričakujemo vnetna stanja, zveza med SR in CRP linearna z visokim koeficientom korelacije ($r=0,95$). Pri dermatovenerološki kliniki je korelacija slabša ($r=0,71$), iz česar lahko sklepamo, da so prisotna tako vnetna kot nevnetna obolenja. Pri psihiatrični kliniki ne moremo govoriti o korelaciji ($r=0,36$).

Iz diagramov vidimo tudi, da pri infekcijski in dermatovenerološki kliniki z naraščanjem SR LKC rahlo padajo, vendar o korelaciji ne moremo govoriti ($r = -0,04$ oziroma $r = -0,14$), med tem ko pri psihiatrični kliniki rahlo naraščajo, vendar tudi tu ne obstaja korelacija ($r=0,13$).

4.4. VREDNOSTI CRP, SR IN LKC PRI ZDRAVLJENJU

Na voljo smo imeli podatke o vrednostih SR, CRP in LKC za bolnike med zdravljenjem na intenzivnem oddelku. Na sliki 25 so prikazani rezultati merjenja SR, CRP in LKC tekom devetih dni.



Slika 25: Vrednosti SR, CRP in LKC pri zdravljenju

Iz diagrama vidimo, da pri zdravljenju vrednost CRP mnogo hitreje pada kot vrednost SR, kar pomeni, da je CRP boljši pokazatelj uspešnosti zdravljenja vnetnih procesov. Vsebnosti levkocitov se v času zdravljenja niso bistveno spreminjale.

5. RAZPRAVA

V diplomskem delu smo obravnavali osnovne laboratorijske preiskave – določanje sedimentacije eritrocitov (SR), C-reaktwnega proteina (CRP) in levkocitov (LKC).

Sedimentacija eritrocitov je bila sprva edina preiskava, poleg določitve števila levkocitov, za ugotavljanje prisotnosti vnetja oziroma okužbe. Koncentracija C-reaktivnega proteina na grobo opredeli, za kakšno vnetno stanje gre.

Pri skupini pacientov iz Kliničnega centra Ljubljana smo primerjali hitrost sedimentacije eritrocitov, število levkocitov ter koncentracijo C-reaktivnega proteina. Analiza podatkov je zajemala 1368 preiskovancev Kliničnega centra Ljubljana. Paciente smo razdelili v dve skupini, na moško in žensko populacijo. Moško populacijo je predstavljalo 667 pacientov, žensko populacijo pa 701 pacientka.

Največje število pacientov naj bi glede na razmejitvene vrednosti CRP imelo virusno vnetje. Večina pacientov je imela povišane tudi vrednosti SR, levkocite pa v mejah normale.

Zveza med SR in CRP, kadar upoštevamo rezultate iz vseh obravnavanih klinik, je pokazala, da med SR in CRP ne obstaja korelacija.

V mnogih primerih je bila sedimentacija povišana tudi, kadar je vrednost CRP pokazala, da vnetja ni. Tudi v primerih, kadar je vrednost CRP kazala na virusno vnetje, so bile vrednosti SR povišane ali znižane. Podobno sliko smo dobili pri bakterijskem vnetju. Povišane vrednosti SR in CRP kažejo na možnost različnih obolenj, za katera pa ni nujno, da izvirajo iz vnetja.

Vnetna obolenja lahko pričakujemo pri pacientih iz infekcijske klinike, zato smo rezultate meritev CRP, SR in LKC obravnavali posebej. Za primerjavo smo vključili še dermatovenerološko kliniko, kjer lahko pričakujemo vnetna kot tudi nevnetna stanja in psihiatrično kliniko, kjer predpostavljamo fizično zdrave osebe. Ugotovili smo, da je pri infekcijski kliniki korelacija med SR in CRP visoka, pri dermatovenerološki kliniki je nizka, medtem ko je pri psihiatrični ni. Med SR in LKC pri vseh treh obravnavanih klinikah ni korelacije.

Pri spremljanju časovnega poteka zdravljenja smo ugotovili, da je CRP najboljši indikator poteka zdravljenja. Naše ugotovitve se ujemajo z nedavno objavljenim člankom z naslovom Laboratorijske preiskave vnetja v rokah zdravnika družinske medicine (2), kjer so opisani osnovni laboratorijski testi, s katerimi želi zdravnik pridobiti informacije o stopnji, vrsti in trajanju vnetnega procesa. V njem je tudi omenjeno, da je merjenje CRP najbolj zanesljiv parameter za opredelitev vnetja v primerjavi z merjenjem levkocitov in sedimentacije eritrocitov. Prav tako je bilo v strokovnem prispevku z naslovom Pomen prokalcitonina pri prepoznavanju bakterijske okužbe (22) ugotovljeno, da je bil CRP vključno s prokalcitoninom prav tako omenjen kot dober pokazatelj bakterijske okužbe. Prokalcitonin je namreč novejši označevalec vnetja in je v primerjavi s CRP občutljivejši in bolj specifičen za diagnozo bakterijske okužbe.

Poleg ugotovitev osnovnih laboratorijskih preiskav sta za ugotavljanje vnetnega dogajanja posebno pomembni skrbna anamneza in klinični pregled bolnika. Značilni znaki vnetja so: povišana telesna temperatura, mrzlica, potenje, bolečine v žrelu in bolečine v sklepu. Pri potrditvi vrste vnetja si zdravnik dodatno pomaga s kliničnimi mikrobiološkimi in tudi dodatnimi laboratorijskimi preiskavami.

6. SKLEP

Namen diplomske naloge je bila primerjava določanja hitrosti sedimentacije eritrocitov in koncentracije C-reaktivnega proteina ter števila levkocitov pri ugotavljanju prisotnosti vnetja in okužb.

Obravnavali smo zvezo med hitrostjo sedimentacije eritrocitov in C-reaktivnim proteinom in ugotovili, da je pri neselektivnem izboru pacientov, z različnim izvorom bolezni, ne glede na koncentracijo CRP, SR lahko povišana ali znižana. Linearno zvezo z visoko korelacijo med CRP in SR smo dobili le v primerih, kjer smo pričakovali vnetna stanja.

Med CRP in LKC ni bilo korelacije, prav tako tudi ne med SR in LKC. Iz tega lahko sklepamo, da LKC tudi pri vnetnih stanjih ni odločujoč pokazatelj obolenja.

Z večjim številom preiskav in ugotavljanjem medsebojne povezave bi morda lahko ugotovili razmerje med vrednostima SR in CRP oziroma mejne vrednosti tega razmerja za določena vnetna stanja. To bi lahko bil dodaten pripomoček pri diagnosticiranju.

Ugotovili smo tudi, da je CRP boljši pokazatelj uspešnosti zdravljenja vnetnih procesov kot SR.

Za opredelitev bolezenskega stanja, so poleg omenjenih laboratorijskih preiskav potrebne še druge preiskave in predvsem klinična slika preiskovanca.

7. LITERATURA

1. Vnetje: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Vnetje> (dostopno 10. 01. 2010)
2. Laboratorijske preiskave vnetja v rokah zdravnika družinske medicine: <http://www.drmed-mb.org/zbornik/fajdiga/2001/Bojc.htm> (dostopno 15. 01.2010)
3. Vnetje: <http://www.mf.uni-mb.si/slike/Gradivo/patologija-seminarji/...Vnetje.doc>
4. Vozelj M: Temelji imunologije, 2. in 16. poglavje, DZS, d.d., 1.izdaja, Ljubljana 2000: 32–37, 343–348.
5. Cerar A., Luzar B., Rott T., Zidar N.: Patologija, Komisija za založništvo in Inštitut za patologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, 3. izdaja, Ljubljana 2006: 37– 40.
6. Lothar T., Whicher J.: Clinical laboratory diagnostics : Use and assessment of clinical laboratory results, 19.1 Inflammatory reaction, 19.3 C-reactive protein, 1.ed, Frankfurt/Main: Th-Books-Verl.-Ges; 1998: 689–702.
7. Pretnar J., Kralj J., Podgornik H., Pajič T., Žontar D.: Bolezni krvi in krvotvornih organov; Poglavje 12; Interna medicina, glavni urednik Kocjančič A., Mravlje F., 3 izdaja, Littera Picta, d.o.o., 2005: 1173–1195.
8. Osredkar J., Poredoš P.: 51.Tavčarjevi dnevi, Zbornik prispevkov: C-reaktivni protein: Od odkritja do napovedovalca žilnih bolezni, november 2009: 157.
9. Osredkar J., Poredoš P.: 51. Tavčarjevi dnevi, Zbornik prispevkov: C-reaktivni protein: Od odkritja do napovedovalca žilnih bolezni, november 2009: 157–158.
10. CRP v zdravniški praksi: http://www.dr-gorkic.si/pdf/CRP_konc.pdf
11. Ravnikar N.: Seminar: Fizikalni izobraževanje, Oblika eritrocitov, November 2007: 2–5.
12. Pretnar J., Glonar L.: Srednje izobraževanje, Laboratorijska dela v zdravstvu, hematologija, Ljubljana 1987: 26–31.
13. Bohinjec J.: Strokovni prispevek: Hitrost sedimentacije eritrocitov in njen diagnostični pomen, Zdrav Vestn 1993; 62: 397–400.
14. C. Franzini, R. Mozzi: Biomedica Source Books 15, ESR in the 2000 era, Biomedica s.r.l.,Via C. Farini, 81, Milano, 2003; 13: 1–4.
15. Irena Medvešek: Diplomsko delo: Načini sedimentacije eritrocitov, Ljubljana 1997: 8–12.

16. Bohinjec J.: Strokovni prispevek: Hitrost sedimentacije eritrocitov in njen diagnostični pomen, Zdrav Vestn 1993; 62: 400.
17. B S Bull, M.Caswell, J.M. Jou, A. Kallner, J.A. Koepke, S.M. Lewis, M. W. Rampling, J. Stuart: ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate, International Council for standardization in Haematology (Expert Panel on Blood Rheology), J Clin Pathol 1993; 46: 198–203.
18. Marc J.: Navodila in dnevniki za vaje iz klinične biokemije 2, Fakulteta za farmacijo, 3. izdaja, Ljubljana 2008:17.
19. AccuteFlex™ Technology, Detailed principles of operation, Reference manual, Miami 1999.
20. Plebani et al. The Test1 automated system: a new method for measuring ESR. Am j Clin Pathol. 1998;110:334-340.
21. Pearsonov koeficient: <http://www.ljudmila.org/matej/statistika/mva.html> (dostopno 11. 04. 2010)
22. Gaberšček L., Voga G., Krivec B., Skale R., Parežnik R., Podbregar M.: Strokovni prispevek: Pomen prokalcitonina pri prepoznavanju bakterijske okužbe, Zdrav Vestn 2001; 70: 5-11.