МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Н. В. Григорова

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ФІЗІОЛОГІЇ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

Лабораторний практикум
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра
спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія»

Затверджено
Вченою радою ЗНУ
Протокол № від

Запоріжжя
2023

УДК : 612+591.1] (076.5)

Г831

Григорова Н. В. Великий практикум з фізіології людини та тварин : лабораторний практикум для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія». Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2023. 123 с.

Лабораторний практикум містить теоретичні відомості за темою занять, опис методик дослідження, процедури проведення лабораторних даних та контрольні питання.

Лабораторні роботи містять практичні завдання для засвоєння фізіологічних методів дослідження складових плазми та формених елементів крові, способів визначення груп крові та резус-фактора. По завершенню кожної роботи пропонується заповнити таблиці, побудувати графіки, проаналізувати отримані результати, зробити висновки. Для оцінки результатів досліджень, практичні рекомендації містять оцінювальні таблиці, літературні дані у вигляді таблиць та рисунків.

Практикум призначений для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія».

Рецензент

М. М. Малько, к.б.н., доцент кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Відповідальний за випуск

О. Г. Кущ, д.б.н., професор, завідувач кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

ЗМІСТ

ВСТУП……4
ВИМОГИ ДО ОХОРОНИ ПРАЦІ ПРИ ВИКОНАННІ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ З ВЕЛИКОГО ПРАКТИКУМУ……7
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1. КРОВ ЯК ВНУТРІШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ ОРГАНІЗМУ ……13
Тема 1. Фізико-хімічні властивості крові та прояви їх порушень ..…13
Тема 2. Склад плазми крові та значення її елементів ……29
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2. ФІЗІОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ ЕРИТРОЦИТІВ...35
Тема 3. Морфо-функціональна характеристика еритроцитів. Сполуки гемоглобіну та його функції ……..35
Тема 4. Якісні та кількісні зміни еритроцитів..…….....51
Тема 5. Анемії..…….....60
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3. ФІЗІОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ ЛЕЙКОЦИТІВ...70
Тема 6. Морфо-функціональна характеристика лейкоцитів……70
Тема 7. Лейкоцитози, лейкопенії та лейкози ...…….....82
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 4. ГЕМОСТАЗ І ПЕРЕЛИВАННЯ КРОВІ ….....90
Тема 8. Судинно-тромбоцитарний гемостаз і його порушення……...90
Тема 9. Коагуляційний гемостаз, фібриноліз і їх порушення……..94
Тема 10. Групи крові……...……104
ПИТАННЯ ДО ПОТОЧНОГО ТА ПІДСУМКОВОГО КОНТРОЛЮ……..116
ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА……...……119
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА….……...……..120
ІНФОРМАЦІЙНІ РЕСУРСИ……..122

ВСТУП

Курс «Великий практикум з фізіології людини та тварин» належить до циклу дисциплін професійної підготовки. Він відповідає навчальному плану за спеціальністю «Біологія» (спеціалізація «Фізіологія людини і тварин»). Видання цього лабораторного практикуму викликано дефіцитом подібних видань українською мовою, що спрямовані на дослідження гематологічних показників.

Кров, як відомо, характеризується відносною сталістю складу та фізико-хімічних властивостей. Кров забезпечує взаємозв'язок різних анатомічних структур організму. Слід пам'ятати, що кров – це всього лише дзеркало, що відбиває процеси в кровотворних органах, головним з яких є кістковий мозок. Зміни складу крові можуть бути як обумовлені власно захворюваннями органів кровотворення, так і носять реактивний характер, тобто можуть виникати у відповідь на різні патологічні процеси з боку інших органів і систем. До гематологічних відносять хвороби, в основі яких лежать розлади та неоплазії клітин крові, а також порушення гемостазу, які супроводжуються переважно кровотечами.

Кров є унікальною комунікаційною тканиною, яка бере участь практично у всіх реакціях організму (адаптаційних, компенсаторних, патологічних). При багатьох патологічних станах спостерігаються різкі зсуви в хімізмі крові. Внаслідок цього клінічний аналіз крові відіграє дуже важливу роль в обстеженні хворого. Розуміти механізми формування нормального складу крові периферичної крові та причини її патологічних змін, а також вміти проводити збір крові, визначати та аналізувати функціональний стан організму, спираючись на гематологічні показники, необхідно біологу спеціалізації «Фізіологія людини та тварин». Знання складових частин крові и допустимих відхилень від норми її показників важливо для біолога, тому що дозволяє використовувати їх у майбутньому як у професійній діяльності, так і в науковій сфері.

Даний курс тісно пов'язаний з іншими дисциплінами, що необхідні студенту для забезпечення повного розуміння механізмів функціонування організму як у стані відносного спокою, так і при дії чинників, що викликають зміни у системах регуляції та запускають процеси адаптації до нових умов. Основою для вивчення лабораторного практикуму є знання та вміння, набуті у процесі вивчення таких дисциплін, як «Гематологія», «Анатомія людини», «Фізіологія людини і тварин», «Біохімія», «Цитологія», «Гістологія», «Біологія індивідуального розвитку», «Генетика». Начальна дисципліна «Великий практикум з фізіології людини та тварин» має тісні зв'язки з курсом «Основи медичних знань».

Отримані під час вивчення курсу знання можуть бути використані і для написання курсових та дипломних робіт, які за рахунок організації навчального процесу, який передбачає проведення наукової і навчально-дослідницької роботи студентів. Особливо це стосується завдань з підвищеною

складністю, в яких передбачається обов'язковий аналіз результатів експериментів і пояснення механізму змін, що наступили, навичок і відомостей у клінічній лабораторній діагностиці.

Метою вивчення навчальної дисципліни «Великий практикум з фізіології людини та тварин» є актуалізація та закріплення знань про фізіологію крові та удосконалення набутих вмінь і навичок при роботі з основними компонентами крові – плазмою та форменими елементами.

Основними **завданнями** вивчення дисципліни «Великий практикум з фізіології людини та тварин» є:

- актуалізація знань про роль складових крові в підтриманні гомеостазу в організмі;
- засвоєння знань про клінічні, функціональні, метаболічні порушення і зміни червоної крові при різних видах анемії;
- ознайомлення з показниками змін кількісного та якісного складу лейкоцитів, характерних гематологічних ознак видів лейкозів;
- поглиблення знань про прояви, причини та механізми порушення зсідання крові в умовах норми та патології;
- засвоєння знань про системи антигенів еритроцитів та принципи гемотрансфузії;
- вироблення умінь при проведенні збору, реєстрації й аналізу гематологічних показників за допомогою відповідних методів і технологічних засобів у лабораторних умовах;
- набуття навичок при оцінюванні стану фізіологічних функцій організму та механізмів їх регуляції на підставі якісних и кількісних показників крові;
- вироблення умінь застосування методів дослідження функцій системи крові.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми студент повинен набути таких компетентностей: планувати, виконувати, аналізувати дані і презентувати результати експериментальних досліджень в галузі біології; спілкуватися усно і письмово з професійних питань з використанням наукових термінів, прийнятих у фаховому середовищі, державною та іноземною мовами; застосовувати моделі, методи і дані фізики, хімії, екології, математики у процесі навчання та забезпечення професійної діяльності; знати та розуміти основні терміни, концепції, теорії і закони в галузі біологічних наук і на межі предметних галузей; дотримуватися положень біологічної етики, правил біологічної безпеки і біологічного захисту у процесі навчання та професійній діяльності; прогнозувати функціональний стан організму людини за поточними показниками його функціонування; розробляти рекомендації щодо оптимізації функціонального стану людини і тварин; здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях; здатність до пошуку, оброблення та аналізу інформації з різних джерел; здатність спілкуватися державною мовою як усно так і письмово; здатність вчитися і оволодівати сучасними знаннями; здатність до абстрактного мислення, аналізу і синтезу; здатність працювати в команді; здатність здійснювати збір, реєстрацію і аналіз даних за допомогою відповідних

методів і технологічних засобів у польових і лабораторних умовах; здатність до аналізу будови, функцій, процесів життєдіяльності, онто- та філогенезу живих організмів; здатність демонструвати знання про фізіологічні механізми підтримки гомеостазу; здатність демонструвати знання про функціональні системи та структуру поведінкового акту.

Лабораторний практикум містить сучасні теоретичні відомості за темою занять, практичні завдання для засвоєння фізіологічних методів дослідження складових плазми та формених елементів крові, способів визначення груп крові та резус-фактора. По завершенню кожної роботи пропонується заповнити таблиці, побудувати графіки, проаналізувати отримані результати, зробити висновки. Оцінити результати досліджень дають змогу відповідні оцінювальні таблиці, літературні дані у вигляді таблиць і рисунків.

ВИМОГИ ДО ОХОРОНИ ПРАЦІ ПРИ ВИКОНАННІ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ З ВЕЛИКОГО ПРАКТИКУМУ

1. Загальні вимоги

1.1. З метою запобігання нещасним випадкам у навчальній лабораторії, досліди треба проводити акуратно, уважно та з достатнім знайомством із приладами, інструментами, властивостями речовин і правилами безпеки робіт.

1.2. Основні небезпечні виробничі фактори при виконанні лабораторних робіт – це електроприлади, хімічні і біологічні матеріали, а також легкозаймисті й пожежонебезпечні реактиви та матеріали. За правилами техніки безпеки всі досліди проводяться в присутності викладача або лаборанта.

1.3. Студенти, лаборанти та викладачі повинні бути в спеціальному одязі (халат з бавовняної тканини, захисні окуляри, гумові рукавички) в залежності від виду роботи, що безпосередньо виконується під час лабораторної роботи.

1.4. Всі міри обережності при роботі з хімічними речовинами повинні бути спрямовані на попередження можливості їх проникнення до організму людини через легені, шкіру та рот.

1.5. Студентам працювати на електрообладнанні дозволяється тільки в присутності досвідченого співробітника (викладача або лаборанта).

1.6. Відповідальна за лабораторію особа повинна систематично слідкувати за справністю електричної апаратури, яка використовується в навчальному процесі й науково-дослідній роботі (ФЕКи, СФи, електроплити, муфельна піч, сушильна шафа та інше). При виявленні пошкоджень негайно повідомляє відповідного фахівця та контролює своєчасний її ремонт.

1.7. Самостійний ремонт електрообладнання студентам, лаборантам та викладачам забороняється.

1.8. Забороняється користуватися (з навчальною чи науковою метою) несправним електроустаткуванням.

1.9. Профілактичний огляд і ремонт електроустаткування (електроплити, муфельна піч, сушильна шафа та інше), яке використовується в навчальному процесі, роблять тільки відповідні фахівці.

1.10. У кабінеті або лабораторії треба використовувати електронагрівальні прилади закритого типу та інше електричне обладнання тільки заводського виготовлення. При експлуатації слід користуватися паспортом та інструкцією заводу-виробника.

1.11. Усі електронагрівальні прилади повинні мати теплоізоляцію знизу і з боку стін. Як теплоізоляцію можна використати керамічні плитки та інші негорючі матеріали з малою теплопровідністю.

1.12. Подання струму через загальний рубильник до робочих місць і вимикання його після закінчення робіт виконує лише викладач або лаборант.

1.13. Штепсельні розетки і встановлене обладнання можуть перебувати під струмом під час проведення дослідів. Після закінчення експерименту подача струму негайно припиняється.

1.14. Усі прилади, в яких це передбачено, повинні бути заземлені.

2. Вимоги безпеки перед початком роботи

2.1. Особи, що працюють на електрообладнанні (лаборанти, викладачі, студенти), перед кожним використанням проводять перевірку відсутності видимих пошкоджень заземлення, ушкоджень ізоляції електропроводу та електровилки. При виявленні пошкоджень негайно повідомляють керівника робіт, а лаборант – відповідного фахівця.

2.2. Уважно ознайомитись із завданням, правилами безпеки робіт на електрообладнанні, з хімічними речовинами та матеріалами.

2.3. Перевірити роботу штучного освітлення (настільну лампу, підвісні та настінні світильники) шляхом включення вимикачів.

2.4. Упевнитись в наявності засобів гасіння вогню і надання першої допомоги.

3. Вимоги безпеки під час виконання робіт

3.1. При роботі з кров'ю необхідно:

- суворо дотримуватися інструкції з охорони праці при роботі з кров'ю, та правил особистої гігієни;

- користуватися засобами індивідуального захисту.

3.2. При роботі зі скляним посудом необхідно стежити за його цілісністю.

3.3. Під час роботи з концентрованими кислотами, аміаком, органічними розчинниками слід бути особливо обережним, роботу виконувати обов'язково у витяжній шафі.

3.4. При роботі з їдкими та отруйними речовинами:

- луги, кислоти та інші їдкі й отруйні речовини необхідно набирати у піпетку тільки за допомогою гумової груші, неприпустимо засмоктувати їдкі й отруйні речовини в піпетку ротом;

- усі роботи слід виконувати у гумових рукавичках.

3.5. У випадку забруднення кров'ю

- без ушкодження шкіри: обробити місце забруднення одним із дезінфектантів (70% спирт, 3% перекис водню), промити водою з милом і вдруге обробити спиртом;

- з порушенням цілісності шкіри (укол, поріз): потерпілий повинен зняти рукавички робочою поверхнею усередину, видавити кров із рани, ушкоджене місце обробити одним із дезінфектантів (70% спирт, 5% настойка йоду при порізах, 3% перекис водню), ретельно вимити руки з милом під проточною водою, потім протерти їх 70% спиртом, на рану накласти пластир, надіти напальчник, припинити роботу з кров`ю, повідомити викладача;

- слизових оболонок: ротової порожнини – прополоскати 70% спиртом, порожнини носа – закапати 30% р-ном альбуциду, очей – промити водою, закапати 30% р-ном альбуциду.

3.6. Приступаючи до роботи з діючими установками, необхідно:

- включати електрообладнання тільки в присутності досвідченого співробітника (викладача або лаборанта);

- з питаннями, що виникають з приводу роботи приладу, звертатися до викладача або лаборанта.

3.7. Необхідно припинити роботу на електрообладнанні при:

- появі диму або специфічного запаху, характерного для ізоляції, що горить;

- появі навіть слабої дії електроструму;

- появі підвищеного шуму, стуку, вібрації тощо;

- при раптовому припиненні роботи електроустаткування (зникнення напруги, заклинення частин приладу, що рухаються (центрифуга тощо)), воно повинно бути вимкнено вимикачем.

3.8. Про всі виявлені несправності електрообладнання під час роботи необхідно негайно повідомляти лаборанта або керівника робіт.

3.9. Не перевіряйте наявність напруги пальцями і не торкайтеся струмоведучих частин електроприладів.

3.10. Під час перенесення електроустаткування з одного робочого місця на інше, а також під час перерви у роботі електрообладнання повинно бути відключене від електромережі.

3.11. Не залишайте без нагляду електроустаткування, яке підключене до електромережі.

4. Вимоги безпеки після закінчення роботи

4.1. Привести в порядок робоче місце.

4.2 Після закінчення дослідів, забруднений хімічний посуд обережно скласти у спеціальну посудину чи підноси, хімічний посуд, а хімічні речовини прибрати у відповідне для них місце.

4.3. Обробити руки дезінфікуючим розчином і вимити водою з милом.

4.4. Вимкнути всі електроспоживачі.

4.5. Зачинити вікна, кватирки, перевірити чи закриті водопровідні крани, вимкнути вентиляцію та освітлення.

4.6. Зачинити приміщення і при необхідності здати його під охорону та залишити ключі черговому швейцару.

4.7. В разі виявлення недоліків повідомити про них керівника підрозділу або відповідну службу (коменданта, енергетика, механіка, службу охорони).

5. Вимоги безпеки в аварійних ситуаціях

5.1. При виникненні аварійних ситуацій необхідно уміти відповідно діяти:

- при припиненні подачі електроенергії або при спалахуванні електропроводки в середині апаратури необхідно вимкнути електроживлення обладнання, вимкнувши вилку шнура живлення;

- при пожежі діяти відповідно до «Інструкції з пожежної безпеки», при необхідності викликати пожежну службу, ДСНС (тел. 101);

- у разі нещасного випадку: надати потерпілому першу медичну допомогу, викликати медичного співробітника, повідомити керівника, у разі необхідності викликати швидку медичну допомогу (тел. 103).

5.2. При виникненні інших аварійних ситуацій повідомити керівника робіт та діяти за його розпорядженнями.

6. Перша допомога у разі отруєння аміаком

6.1. Ознаки отруєння: подразнення слизових оболонок, сльозотеча і запалення очей, сильний кашель, жар у горлі. Крім того, у потерпілого з'являються нудота і приступи задухи.

6.2. Перша допомога: при отруєнні через вживання рідини з аміаком дати випити велику кількість води з додаванням у неї оцтової кислоти, викликати блювання, дати молока, яєчний білок; при отруєнні внаслідок вдихання амоніаку вивести потерпілого на свіже повітря, вдихати з ватки пари розведеної оцтової кислоти.

7. Отруєння кислотами та лугами

7.1. Видалити речовини з шлунка: 2-3 разове промивання водою (дають випити 4-5 стаканів теплої води, і потім викликають блювання натисканням пальця на корінь язика).

7.2. З метою нейтралізації виконують промивання 1% розчином лимонної або оцтової кислоти – при потраплянні лугу, або жженої магнезії – при потраплянні кислот.

7.3. Використовувати гідрокарбонат натрію (соду) для нейтралізації кислот у шлунку неможна.

7.4. Промивання шлунку можна поєднувати з прийняттям всередину активованого вугілля у вигляді кашки (2-3 столові ложки), розчином крохмалю, яєчного білка.

7.5. Після промивання шлунку, для зменшення болю, можна пити воду з шматочками льоду, їсти морозиво, на живіт покласти пузир з льодом.

8. Перша допомога при хімічних опіках шкіри

8.1. Уражену ділянку шкіри треба промити великою кількістю прохолодної води протягом 15-20 хв.

8.2. Забороняється обробляти опечені місця ватним тампоном.

8.3. Промивають розчином питної соди (2% гідрокарбонат натрію) при потраплянні кислоти, або розчином оцтової або лимонної кислоти (1-2% розчин) при потраплянні лугу.

8.4. Знову промивають водою та накладають марлеву пов’язку з фурациліном.

8.5. Необхідно пам’ятати, що при опіках кислотою безпосередньо після опіку видно ділянку і важкість ураження. Спостерігається почервоніння, у важчих випадках – омертвіння тканини і в подальшому – відторгнення омертвілої тканини.

8.6. Необхідно пам’ятати, що при опіках кислота безпосередньо пошкоджує тканини, до яких дотикається, а луг просочується між клітинами і спричиняє руйнівну дію на саму тканину.

9. Перша допомога при ураженні електричним струмом

9.1. Надаючи допомогу, не можна доторкатися голими руками до людини, яка знаходиться під дією струму. Насамперед, потрібно відключити установку (устаткування), якої торкається постраждалий або вимкнути рубильник, який постачає струм до електроприладу.

9.2. При неможливості відключення всієї електроустановки, необхідно відокремити постраждалого від струмоведучих частин, використовуючи сухі предмети, що не проводять електричний струм (дошки, одяг, стілець й ін.), або перерубати провід сокирою із сухою рукояткою.

9.3. При відокремленні потерпілого від струмоведучих частин, треба діяти однією рукою.

9.4. Надаючи першу медичну допомогу постраждалого укласти на спину на тверду поверхню й перевірити наявність подиху і пульсу.

9.5. Якщо постраждалий у свідомості (збережені основні життєві функції), необхідно забезпечити йому повний спокій та свіже повітря.

9.6. При порушенні або припиненні дихання та серцевої діяльності – виконувати штучне дихання й масаж серця (навіть якщо людина здається мертвою) до прибуття швидкої допомоги та передачі постраждалого до рук медиків.

10. Правила проведення штучного дихання та непрямого масажу серця

10.1. Вкласти постраждалого на поверхню у горизонтальне положення.

10.2. Переконатися у відсутності у порожнині рота постраждалого блювотних мас, запалого язика, так як це утрудняє проведення штучного дихання. У разі западання язика, його необхідно зафіксувати, забезпечивши прохід повітря у легені постраждалого.

10.3. Відвести голову постраждалого максимально назад та зажати пальцями ніс (або губи).

10.4. Зробити глибокий вдих, притиснути свої губи до губ (носа) постраждалого та швидко видихнути повітря йому до рота (носа).

10.5. Вдихи слід проводити з частотою 12-18 разів на хвилину.

10.6. З метою гігієни рекомендується рот постраждалого прикрити шматком тонкої тканини (носовичком, бинтом, косинкою тощо).

10.7. У разі пошкодження обличчя постраждалого та неможливості проведення штучного дихання «із легенів в легені», треба застосувати засіб стиснення та розширення грудної клітки шляхом складання та притискання рук постраждалого до його грудної клітини з їх наступним розведенням у боки.

10.8. Непрямий масаж серця здійснюється у разі його зупинки. При цьому виконується ритмічне стиснення серця між грудиною та хребтом.

10.9. На нижню частину грудини покласти руку внутрішнім боком зап'ястя, на яку додатково натискати накладеною зверху другою рукою. Частота натискань складає 60 разів на хвилину. Ступінь стиснення повинен бути таким, аби грудина зміщалася вглиб на 4-5 см.

10.10. Масаж серця доцільно проводити паралельно з штучним диханням, для чого після 2-3 штучних вдихів виконати 15 натискань на грудину.

10.11. При правильному масажі серця під час натискання на грудину буде відчуватися легкий поштовх сонної артерії та спостерігатися звуження зіниць, а також зміна кольору шкіри обличчя та губ, з'являться самостійні подихи.

11. Вимоги до проведення занять під час дистанційного форми навчання

11.1. Основною платформою для проведення занять з дисципліни «Великий практикум з фізіології людини та тварин» у дистанційному режимі є

система електронного забезпечення навчання ЗНУ – Moodle. Відповідний теоретичний матеріал, методичні рекомендації до виконання практичних занять, поточні та підсумкові контрольні завдання розміщені на сторінці дисципліни в Moodle, що можна знайти за посиланням: https://moodle.znu.edu.ua/course/view.php?id=5064. Практичні заняття проводяться у форматі відеоконференцій Zoom, під час яких відбувається опитування студентів, демонстрація дослідів у вигляді навчальних відеороликів, обговорення методичних аспектів постановки експериментів і розв'язування ситуаційних задач.

11.2. При використанні приладів з екранними пристроями незалежно від їхнього типу та моделі необхідно очистити їх від пилу й інших забруднень.

11.3. Оглянути робочий стіл та прибрати речі, що не стосуються виконуваної роботи.

11.4. Регулярно дезінфікувати робочі поверхні.

11.5. Площа, що припадає на працюючого з дисплеєм, повинна бути не менше 6,0 м2, відстань між робочими місцями повинна бути не менше 1,5 м у ряду, і не менше 1,25 м між рядками. Допустимі рівні температури повітря в дисплейних залах +22 ^{0}C – +24 ^{0}C і швидкості руху повітря не менше 0,2 м/с.

11.6. Щоб запобігти впливу шкідливих променів нетреба сідати ближче до екрану ніж 50-70 см, це високочастотні електромагнітні випромінювання, що виникають в процесі одержання зображення на екрані монітору.

11.7. Провітрювати приміщення щогодинно не менше ніж 10 хв.

11.8. Так як робота з комп'ютером є роботою з тривалим перебуванням в фіксованій позі, рекомендується виконувати під час перерви фізичні вправи та вправи для очей.

11.9. Обов'язково реагувати на сигнали повітряної тривоги, під час повітряної небезпеки, артилерійського та ракетного обстрілу слід перебувати в укриттях або безпечних місцях.

11.10. При виникненні аварійної або небезпечної ситуації, негайно повідомити про це керівнику заняття для відповідного реагування.

11.11. По закінченню заняття відключити від електричної мережі екранні пристрої, привести робоче місце у чистий, охайний первинний стан.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1. КРОВ ЯК ВНУТРІШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ ОРГАНІЗМУ

Лабораторна робота №1
Тема: Фізико-хімічні властивості крові та прояви їх порушень

Мета: Вивчити фізіологічні функції крові. Засвоїти склад, кількість та основні показники крові людини. З'ясувати фізико-хімічні властивості крові. Ідентифікувати види змін об'єму циркулюючої крові. Визначити межі коливань осмотичного тиску плазми крові, при яких ще зберігається цілісність оболонки еритроцитів і лейкоцитів, і дати оцінку стійкості оболонки цих видів клітин. Дослідити механічну резистентність еритроцитів. Визначити швидкість осідання еритроцитів.

Матеріали та обладнання: 5 звичайних лабораторних пробірок, 25 центрифужних або аглютинаційних пробірок об'ємом 10 мл, штативи для пробірок, гумові груші, піпетки, мікропіпетки, мікроскоп, лічильні камери Горяєва, піпетка від гемометра Салі, чотири змішувача для еритроцитів, предметні та шліфувальні скельця, скарифікатори, вата, прилад Панченкова, центрифуга на 500 і 2300 об/хв, 96% спирт етиловий, фізіологічний розчин, кров, свіжа або консервована 5% розчином цитрату натрію, 1 і 3% розчини хлориду натрію, 2,8 і 5% розчини цитрату натрію, 0,5% розчин желатини, рідина Локка (1 л дистильованої води, 9 г хлориду натрію, 0,42 г хлориду калію, 0,24 г хлориду кальцію та 0,2 г бікарбонату натрію), барвник для розведення крові (1,5 мл 1% розчину генціанового фіолетового, 1 мл розчину концентрованої оцтової кислоти, 20 мл дистильованої води), 0,1 н розчин соляної кислоти, дистильована вода.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Уявлення про систему крові.
2. Фізіологічні функції крові.
3. Склад крові людини. Уявлення про гематокрит, або гематокритне число.
4. Загальна кількість крові в організмі людини: норма, стани, що викликаються змінами цього показника.
5. Осмотичний тиск крові.
6. Онкотичний тиск крові.
7. Колоїдна стабільність крові.
8. Суспензійні властивості крові.
9. Активна реакція крові.
10. В'язкість крові.
11. Питома вага (щільність) крові.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Клітини організму омиваються низькою рідин. Кров, лімфа, тканинна, спинномозкова, плевральна, суглобова та інші рідини утворюють внутрішнє середовище організму. Ці рідини утворюються з плазми крові шляхом її фільтрації через капілярні судини системи кровообігу. Вони грають роль амортизатора при різких зовнішніх змінах і забезпечують виживання клітин; крім того, вони є засобом транспортування поживних речовин і продуктів розпаду. «Дзеркалом організму» назвав Клод Бернар кров, яка є складовою внутрішнього середовища.

Уявлення про систему крові створено фізіологом Г. Ф. Лангом у 1939 році. Він виділив наступні її основні компоненти:

1) периферична кров, що циркулює по судинах;

2) органи кровотворення;

3) органи кроворуйнування;

4) регуляторний нейрогуморальний апарат.

Функціональна система крові є ієрархією підсистем регуляції (О. К. Гаврилов і співав., 1985): якісного і кількісного складу клітин крові; фізико-хімічного складу плазми крові; агрегатного стану крові; газового балансу. Ієрархічно побудована, кров як система має високу міцність по відношенню до зовнішніх і внутрішніх впливів.

Система крові на впливу факторів середовища реагує набором специфічних і неспецифічних компонентів. Наприклад, гіпоксичний стрес різної етіології включає активацію біосинтетичних процесів в нирках, збільшує продукцію еритропоетину, простагландинів, стероїдних гормонів, серотоніну (Н. В. Васильєв і співав., 1992), що активують еритропоез, що веде до кількісної та якісної перебудови еритрону на всіх рівнях його структурної організації (В. Чернігівський, О. І. Мойсеєва, 1982; Ю.М. Захаров, А. Г. Рассохін, 2002; Є. А. Ліпунова і співав., 2004). Гомеостатична регуляція спрямована на досягнення оптимального рівня константи, максимально відхилилася від свого середнього значення. Закономірності відхилень гомеостатичних констант підкоряються правилам фону (спрямованість і величина зміни константи залежить від вихідних, фонових значень) і гіперкомпенсації (нове значення константи, досягнуте внаслідок гомеостазування, не ідентичне, а перевищує фонове).

Розрізняють два типи гомеостатичної регуляції: регуляція по відхиленню, якщо фактор діє на систему вперше, і випереджальна гомеостатична регуляція, що виникає при повторних впливах фактора, і запам'ятовування системою його параметрів. На субклітинному і клітинному рівнях переважає регуляція за відхиленням. Таким шляхом регулюються внутрішньоклітинний pH, осмотичний тиск і обсяг клітини, ендо- та екзоцитоз, стан іонних каналів. На системному рівні обидва типи регуляції рівноправні; на організменому – переважає випереджальна регуляція.

У червоному кістковому мозку хребта і плоских кісток зосереджена основна маса кровотворних елементів, що беруть участь у вищих хребетних тварин в утворенні клітин крові.

Тимус (вилочкова залоза) є центральним органом імуногенезу; в ньому відбувається диференціювання Т-лімфоцитів, що беруть участь в клітинних реакціях імунітету.

Селезінка, лімфатичні вузли, як і тимус, відповідальні за вироблення імунітету. Наприклад, селезінка бере участь в синтезі імуноглобулінів, руйнуванні клітин крові, їх депонування.

У печінці синтезуються білки плазми і компоненти системи згортання крові, руйнуються еритроцити і утилізується гемоглобін, депонуються мінеральні елементи й антианемічні фактори.

Кров, що тече по судинах, завдяки виконанню нею ряду важливих функцій, образно називають «рікою життя» або «носієм життя». Застосовувати кров в цілющих і оздоровчих цілях люди намагалися з давніх-давен. Згадки про це є ще в віршах римського поета Овідія (сучасника Ісуса Христа). Гіппократ рекомендував хворим пити кров здорових людей. Патриції Стародавнього Риму пили кров вмираючих гладіаторів з метою омолодження. Кров застосовували місцево для лікування ран. Вважалося, що переливання крові відважних і добрих людей робить інших великодушними і мужніми. А кров молодих і здорових – омолоджує і оздоровлює. У 1492 році папа римський Інокентій VIII, пригнічений старістю, що невпинно насувається, наказав влити собі кров трьох юнаків. Результат був сумний – померли і донори і папа.

2. Функції крові:

1) транспортна – полягає в транспорті різних речовин в межах організму. З нею пов'язані всі інші функції;

2) дихальна – доставка кисню від легенів до тканин, вуглекислого газу від тканин до легень;

3) трофічна – перенесення поживних речовин від органів, в яких вони всмоктуються або зберігаються, до споживають тканинам;

4) видільна – транспорт метаболітів від тканин до органів виділення;

5) регуляторна – перенесення біологічно активних речовин від органів їх утворення або зберігання до органів-мішеней;

6) терморегуляторна – розподіл тепла, що утворюється в тканинах-термогенераторах тепла і його віддача в зовнішнє середовище;

7) захисна; а) участь деяких клітин і білків крові в створенні імунітету (*immunitas*, лат. – звільнення від чого-небудь), під яким розуміють здатність захищатися від генетично чужорідних тіл і речовин; б) запобігання організму від крововтрати завдяки здатності крові до згортання;

8) спеціальнотрофічна – засвоєння білків крові при голодуванні;

9) інформаційна – здійснення креаторних зв'язків за рахунок транспорту макромолекул. Інформація адресована генетичного апарату клітин. Це забезпечує збереження структури органів і тканин;

10) гомеостатична – участь у підтримці гомеостазу.

3. Кров складається з рідкої частини плазми і зважених у ній формених елементів: еритроцитів, або червоних кров’яних тілець, лейкоцитів, або білих кров’яних тілець і тромбоцитів, або кров’яних пластинок. На частку формених елементів припадає 40-45%, на частку плазми – 55-60% від об’єму крові.

Колір крові визначається наявністю в еритроцитах особливого білка – гемоглобіну. Артеріальна кров характеризується яскраво-червоним забарвленням, що залежить від вмісту в ній гемоглобіну, насиченого киснем (оксигемоглобін). Венозна кров має темно-червоне з синюватим відтінком забарвлення, що пояснюється наявністю в ній не тільки окисленого, але і відновленого гемоглобіну. Чим активніший орган і чим більше віддав кисню тканинам гемоглобін, тим темнішою виглядає венозна кров.

В організмі в стані спокою до 45-50% усієї маси крові знаходиться в кров'яних депо (селезінці, печінці, легенях і підшкірному судинному сплетенні), що є резервуарами крові. У селезінці кров може бути майже повністю виключена з циркуляції, а в печінці та судинному сплетенні шкіри кров циркулює в 10-20 разів повільніше, ніж інших судинах. Після великих втрат крові, при м’язовій роботі, підвищенні температурі тіла кров з депо надходить до загального кров’яного русла. Кров’яні депо забезпечують підтримання постійної кількості крові в організмі.

Оновлення плазми крові відбувається протягом двох тижнів. Кров відноситься до тканин, що швидко відновлюються. Фізіологічна регенерація формених елементів крові здійснюється за рахунок руйнування старих клітин і утворення нових органами кровотворення. Головним з них у людини та інших ссавців є кістковий мозок. У людини червоний, або кровотворний, кістковий мозок розташований в основному в тазових кістках і в довгих трубчастих кістках. Основним фільтром крові є селезінка (червона пульпа), що здійснює в тому числі і імунологічний контроль (біла пульпа).

Гематокритне число, або гематокрит, – це кількість формених елементів крові у відсотках від загального об'єму крові (у нормі дорівнює 40-45). Нормальні величини гематокриту та, відповідно клітинних елементів називають нормоцитемією. Збільшення об'єму, що займають клітини крові, зветься поліцитемією, а зменшення – олігоцитемією.

4. Кількість крові в організмі людини становить 5-9% від маси тіла і віку. У новонароджених кров становить 15-20%, немовлят – 13% від маси тіла. З семирічного віку, кількість крові – 6-8%, як і в дорослих, що відповідає 4,5-6 л. Кожен день ця кількість крові проходить через серце більше 1000 разів. Кров, що нагнітається серцем, рухається по судинам зі швидкістю 11 м/с, тобто 40 км/год. Кровотік – це суцільний потік щільністю 1,06 г/см3. Він розходиться по мережі кровоносних судин, яка містить у собі великі вени і артерії, що багаторазово розгалужуються і поступово зменшуються до розмірів крихітних капілярів. Через найтонші стінки капілярів легко просочуються різні речовини, завдяки тому в живих тканинах відбувається безперервний обмін: кров віддає клітинам організму речовини, що підтримують життя, і виводяться продукти розпаду.

Протяжність кровоносної системи людини може доходити до 100 000 кілометрів і для її заповнення потрібно 200 000 літрів, тобто по 2 літри крові на один кілометр, тоді як наш організм має лише 5-7 літрів. Тобто, кровоносна система людини заповнена на 1/40000 її потенційного обсягу. Величина загального об'єму крові може зазнавати значних і тривалих відхилень в залежності від ступеня тренованості, кліматичних і гормональних чинників. Так, у осіб, які займаються певними видами спорту, обсяг крові може перевищувати 7 літрів. Короткочасні зміни обсягу крові спостерігаються при переході у вертикальне положення і при м'язовому навантаженні.

Нормальні величини загальної кількості крові звуться нормоволемією. До змін загальної кількості крові належать стани гіперволемії (збільшення) та гіповолемії (зменшення).

Гіперволемія проста – коли при збільшенні загального об'єму крові зберігається нормальне співвідношення між об'ємами формених елементів крові та плазми. Спостерігається в ранній термін після переливання великої кількості крові, при інтенсивному фізичному навантаженні, при інтенсивному надходженні депонованої крові та тканинної рідини в судинне русло (при високій температурі).

Гіперволемія олігоцитемічна – коли збільшення загального об'єму крові пов'язано зі збільшенням об'єму плазми крові (гідремія). Спостерігається при порушеннях виведення рідини з організму (дифузний гломерулонефрит, гостра та хронічна ниркова недостатність), при серцевій недостатності в період сходження набряків, при сходженні ниркових набряків, після введення кровозамінних рідин (тимчасова гіперволемія).

Гіперволемія поліцитемічна – коли збільшення загального об'єму крові пов'язано з переважним збільшенням кількості еритроцитів. Спостерігається при гіпоксіях різного ґенезу – у мешканців високогір'я, у хворих на емфізему легень та вроджені вади серця. При еритремії – одному з варіантів хронічного лейкозу, що характеризується підвищеною продукцією еритроцитів, яка обумовлена дефектом клітини-попередниці мієлопоезу, об'єм циркулюючої крові може підвищуватися до 60% за рахунок збільшення маси еритроцитів.

Гіповолемія проста – коли при зменшенні загального об'єму крові пропорційно зменшується кількість плазми та клітинних елементів. Спостерігається в ранній термін після крововтрати.

Гіповолемія олігоцитемічна – при якій зменшення загального об'єму крові пов'язано зі зменшенням кількості еритроцитів. Спостерігається після гострої крововтрати, при анеміях, коли об'єм крові відновлюється за рахунок надходження в судинне русло тканинної рідини (олігоцитемічна нормоволемія).

Гіповолемія поліцитемічна – коли зменшення загального об'єму крові пов'язано зі зменшенням об'єму її плазми, при цьому має місце відносне збільшення вмісту еритроцитів у 1 мкл, згущення та підвищення в'язкості крові. Розвивається при зневодненні організму (профузні діарея та блювота, перегрівання організму, інтенсивне потовиділення, набряк легень, опіковий шок).

5. Осмотичний тиск – тиск, що забезпечує перехід розчинника через напівпроникну мембрану від менш концентрованого розчину до більш концентрованого розчину.

Осмотичний тиск крові залежить від концентрації у плазмі крові молекул, розчинених у ній речовин (електролітів і неелектролітів), і являє собою суму осмотичних тисків інгредієнтів, які в ній містяться. Понад 60% осмотичного тиску створюється хлористим натрієм, а всього на частку неорганічних електролітів припадає до 96% від загального осмотичного тиску. Осмотичний тиск крові дорівнює 7,6 атм з можливим діапазоном коливань 7,3-8,0 атм. Температура замерзання крові нижче нуля на 0,56-0,58 °С, що відповідає 7,6 атм.

Розчин, який має однаковий осмотичний тиск з кров'ю, зветься ізотонічним (0,85-0,9% розчин хлориду натрію). Розчин з більш високим осмотичним тиском, ніж осмотичний тиск крові, зветься гіпертонічним, а той, що має більш низькі значення – гіпотонічним.

У гіпотонічних розчинах відбувається осмотичний гемоліз.

Гемоліз – руйнування оболонки еритроцитів, яке супроводжується виходом з них гемоглобіну в плазму крові, що забарвлюється при цьому в червоний колір і стає прозорою («лакова кров»).

Мірою осмотичної стійкості (резистентності) еритроцитів є концентрація NaCl у розчині, при якому відбувається гемоліз. У нормі гемоліз починається при 0,5-0,4% концентрації NaCl (мінімальна резистентність). При такій концентрації NaCl руйнуються найменш стійкі еритроцити. У 0,3-0,34% розчині NaCl (максимальна резистентність) руйнуються всі еритроцити.

Зменшення осмотичної резистентності еритроцитів спостерігається при гемолітичній хворобі новонароджених, спадковому мікросфероцитозі, а також (у меншому ступені вираженості) при токсикозах, бронхопневмоніях, гемобластозах і цирозах печінки.

Збільшення осмотичної резистентності еритроцитів спостерігається при механічній жовтяниці, поліцитемії, залізодефіцитній анемії, гемоглобінозі S і після масивних крововтрат.

Крім осмотичного гемолізу розрізняють також:

- фізіологічний (природній), який відбувається в організмі постійно, він полягає в природному руйнуванні клітин при завершенні життєвого циклу еритроцитів тривалістю120-130 діб;

- хімічний гемоліз, що відбувається під впливом речовин, які руйнують білково-ліпідну оболонку еритроцитів (ефір, хлороформ, алкоголь, бензол, жовчні кислоти, сапоніни та ін.);

- механічний гемоліз, що виникає при сильних механічних впливах на кров, наприклад, сильному струшуванні ампули з кров'ю;

- термічний гемоліз, який спостерігається при заморожуванні та розморожуванні крові;

- біологічний гемоліз, що розвивається при переливанні несумісної крові, укусах деяких змій, під впливом імунних гемолізинів і т. д.

Гемоліз також буває внутрішньоклітинний і внутрішньосудинний. Внутрішньоклітинний гемоліз (80-90 % еритроцитів) – гемоліз, при якому еритроцити захоплюються макрофагами селезінки, купферовськими клітинами, макрофагами кісткового мозку. За добу утилізується 6-8 г гемоглобіну. Гем перетворюється в жовчний пігмент білірубін.

Внутрішньосудинний гемоліз (10-20 % еритроцитів) – гемоліз, при якому вміст клітини виходить у плазму: димери гемоглобіну зв'язуються гаптоглобіном і транспортуються в печінку для руйнування.

6. Онкотичний тиск – це осмотичний тиск, який створюється білками в колоїдному розчині, тому його звуть ще колоїдно-осмотичним. Осмотичний тиск забезпечує утримання води в крові.

Між кров'ю та тканинною рідиною існує градієнт концентрації білка, та відповідно, градієнт концентрації осмотичного тиску обумовлений поганою проникністю гістогематичних бар'єрів, а також вимиванням білків з позаклітинного середовища потоком лімфи. Величина онкотичного тиску плазми крові становить в середньому 25-30 мм рт. ст., а в тканинній рідині – 4-5 мм рт. ст., то градієнт тиску дорівнює 20-25 мм рт. ст. Онкотичний тиск плазми створюється переважно альбумінами, найбільшою фракцією білків крові, молекула яких менша за інші білки, а моляльна концентрація майже в 6 разів більша.

Зниження вмісту білків у плазмі крові призводить до втрати води плазмою та набряку тканин, а збільшення – до затримки води в крові.

7. Колоїдна стабільність плазми крові обумовлена характером гідратації білкових молекул і наявністю на їх поверхні подвійного електричного шару іонів, які створюють поверхневий, або фі-потенціал. Частиною фі-потенціалу є електрокінетичний (дзета) потенціал. Дзета-потенціал – це потенціал на межі між колоїдною частинкою, здібною до руху в електричному полі, та навколишньою рідиною, тобто потенціал поверхні ковзання частки в колоїдному розчині. Наявність дзета-потенціалу на межі ковзання усіх дисперсних частинок формує на них однойменні заряди та електростатичні сили відштовхування, що забезпечує стійкість колоїдного розчину та запобігає агрегації. Чим вище абсолютне значення цього потенціалу, тим більше сили відштовхування білкових частинок одна від іншої. Таким чином, дзета-потенціал є мірою стійкості колоїдного розчину. Величина цього потенціалу суттєво вище в альбумінів плазми, ніж у інших білків. Оскільки альбумінів у плазмі значно більше, то колоїдна стабільність плазми крові переважно визначається цими білками, які забезпечують колоїдна стійкість не тільки інших білків, але й вуглеводів і ліпідів.

8. З колоїдною стабільністю білків плазми пов'язані й суспензійні властивості крові, тобто підтримання клітинних елементів у зваженому стані. Величина суспензійних властивостей крові може бути оцінена за швидкістю осідання еритроцитів у нерухомому об'ємі крові. Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) – неспецифічний лабораторний показник крові, що відображає співвідношення фракцій білків плазми; зміна ШОЕ може слугувати непрямою ознакою поточного запального або іншого патологічного процесу.

Проба ґрунтується на здатності еритроцитів у позбавленій можливості згортання крові осідати під дією гравітації.

Таким чином, чим вище вміст альбумінів у порівнянні з іншими, менш стабільними колоїдними частками, тим більша й суспензійна здатність крові, оскільки альбуміни адсорбуються на поверхні еритроцитів. Навпаки, при підвищенні в крові рівня глобулінів, фібриногену, інших крупномолекулярних і нестабільних у колоїдному розчині білків, швидкість осідання еритроцитів наростає, тобто суспензійні властивості крові падають.

У нормі ШОЕ у чоловіків 4-10 мм/год, а у жінок – 5-12 мм/год.

При багатьох захворюваннях величина ШОЕ може змінюватися та залежати від наступних факторів:

1) від зміни співвідношення різних фракцій білків крові. Збільшення вмісту великодисперсних білків (глобуліни, фібриноген) при запальних процесах і деяких інфекційних захворюваннях викликає зміни ШОЕ: зарядженні великодисперсні білки, адсорбовані на негативно заряджених еритроцитах, зменшують їх поверхневий заряд і сприяють тим самим зближенню та більш швидкому осіданню еритроцитів;

2) від об'єму, числа та діаметру еритроцитів. Збільшення уповільнює, а зменшення прискорює ШОЕ;

3) від вмісту холестерину та лецитину. Холестерин, адсорбуючись на еритроцитах, пришвидшує, а лецитин, навпаки, уповільнює ШОЕ.

4) від зміни відносної щільності еритроцитів. При гіперкапнії (асфіксія, серцева недостатність) ШОЕ уповільнюється внаслідок збільшення діаметру еритроцитів та зменшення їх відносної щільності.

5) від в'язкості крові. Гідремія призводить до прискорення ШОЕ; зі збільшенням в'язкості крові (зневоднення) ШОЕ уповільнюється.

У фізіологічних умовах ШОЕ збільшується при вагітності (у другій половині) та при інтенсивній фізичній роботі.

Значний вплив на ШОЕ здійснює прийом деяких лікарських препаратів і терапевтичні заходи. Так, пришвидшення ШОЕ відмічається при специфічній та неспецифічній подразнюючій терапії, вакцинотерапії, переливанні крові, тривалому прийомі соди і т. д.

Уповільнення ШОЕ спостерігається при прийомі саліцилових, ртутних і кальцієвих препаратів, діуретиків, снодійних і протималярійних засобів.

9. Кров має слаболужну реакцію, її pH в артеріальному руслі – 7,4, венозному – 7,35, всередині клітин коливається в межах 7,0-7,2. Крайні межі, сумісні з життям, – 7,0-7,8. Для запобігання різких зсувів pH у крові функціонує чотири буферні системи: карбонатна, фосфатна, білкова, гемоглобінова. Кожна з них включає слабку кислоту і одну з її солей.

Карбонатна буферна система складається з вугільної кислоти (H_2CO_3), бікарбонатів натрію і калію ($NaHCO_3$, $KHCO_3$). Це головний буфер крові. Система функціонує так: при надходженні в плазму крові сильнішої кислоти, ніж вугільна, аніони сильної кислоти взаємодіють з катіонами натрію й утворюють нейтральну сіль. У той же час іони водню з'єднуються з аніонами HCO_3^-. При цьому виникає малодисоційована вугільна кислота.

Під дією ферменту карбоангідрази, що є в еритроцитах, вона розпадається на CO_2 і H_2O. Вуглекислий газ виділяється легенями і змін реакції крові не спостерігається. При потраплянні в кров основ вони вступають в реакцію з вугільною кислотою. Утворюються при цьому бікарбонати та вода. Реакція знов лишається постійною.

Фосфатна буферна система є сумішшю одно- і двозаміщеного фосфатнокислого натрію (NaH_2PO_4 і Na_2HPO_4). Перший слабо дисоціює і має властивості слабкої кислоти, другий має властивості слабкої основи. Кислоти й основи, які потрапляють у кров, взаємодіють з одним з компонентів системи, тому pH крові зберігається.

Білкова буферна система – протеїн/протеїнат нейтралізує кислоти та луги завдяки наявності амфотерних властивостей: з кислотами вони вступають у реакцію як основи, з основами – як кислоти.

Гемоглобінова буферна система. Система гемоглобін-оксигемоглобін має буферну дію тому, що оксигемоглобін у 80 разів кисліший відновленого. Перехід окисленої форми в редуковану попереджає зсув pH крові в кислий бік під час контакту її з тканинами, де вона збагачується H_2CO_3. Утворення оксигемоглобіну в легеневих капілярах запобігає зсуву реакції крові в лужний бік за рахунок переходу CO_2 і Cl^- з еритроцитіву плазму крові і утворення $NaHCO_3$. Легені регулюють виділення CO_2 і поглинання O_2.

10. В'язкість – це здібність здійснювати опір течії рідини при переміщенні одних часток відносно інших за рахунок внутрішнього тертя.

У зв'язку з цим, в'язкість крові являє собою складний ефект взаємовідносин між водою та макромолекулами з одного боку, плазмою та форменими елементами – з іншого. Тому в'язкість плазми та в'язкість цільної крові суттєво відрізняються: в'язкість плазми в 1,8-2,5 рази вища, ніж води, а в'язкість цільної крові вища за в'язкість води в 4-5 разів. Чим більше в плазмі крові міститься великодисперсних білків, тим вища в'язкість плазми. При збільшенні кількості еритроцитів та особливо гематокриту, в'язкість крові різко зростає. Підвищенню в'язкості сприяє і зниження суспензійних властивостей крові, коли еритроцити починають утворювати агрегати. При цьому відмічається позитивний зворотній зв’язок – підвищення в'язкості, в свою чергу, підсилює агрегацію еритроцитів, що може призвести до порочного кола. Оскільки кров є неоднорідною рідиною, то вона належить до неньютоновських рідин, яким властива структурна в'язкість, тому що зниження тиску потоку, наприклад, артеріального тиску, підвищує в'язкість крові, а при підвищенні тиску через руйнування структурованості системи – в'язкість знижується.

Ще однією особливістю крові є наявність ефекту Фареуса-Ліндквіста. В однорідній ньютонівській рідині, згідно закону Пуазейля, зі зменшенням діаметру трубки підвищується в'язкість. Кров, яка є неоднорідною неньютонівською рідиною, веде себе інакше. Зі зменшенням радіуса капілярів менше 150 мкм в'язкість крові починає знижуватись. Ефект Фареуса-Ліндквіста полегшує рух крові в капілярах кровоносного русла. Механізм цього ефекту пов’язаний з утворенням пристінкового шару плазми,

в'язкість якої нижче, ніж у цільної крові, та міграцією еритроцитів у осьовий потік. Зі зменшенням діаметру судин товщина пристінкового шару не змінюється. Еритроцитів, що рухаються по вузьким судинам крові, стає відносно шару плазми все менше, тому що частина з них затримується при входженні крові у вузькі судини, еритроцити, що перебувають в своєму потоці, рухаються швидше та час перебування їх у вузькій судині зменшується.

В'язкість крові знаходиться в прямо пропорційній залежності від загального периферичного опору кровотоку.

Причина в'язкості крові зі зниженими показниками – зниження кількості еритроцитів. Цей процес може спостерігатися при недокрів'ї, дисфункції нирок і при нестачі білка в крові. Також подібне порушення спостерігається при зниженій згортання крові, в період виношування дитини, а ще при анемії. Кількість еритроцитів (так само як і в'язкість крові) знижується при тривалій терапії гепарином або аспірином.

Зменшення в'язкості крові призводить до того, що вона активно тече по кровоносних судинах. Якщо зниження в'язкості супроводжується порушеннями згортання, у пацієнта можуть з'являтися кровотечі різного типу, які важко піддаються зупинці. У хворих можуть виникати підшкірні кровотечі, крововиливи в суглоби та інші аналогічні порушення.

Вкрай рідко люди з'являються на світ вже з синдромом надмірного в'язкості. У більшій частині випадків збільшення густини крові провокується різними патологічними станами, що протікають в організмі. Хвороби можуть змінювати кількість білків, еритроцитів і плазми крові, збільшуючи в'язкість крові. Серед таких недуг проблеми в діяльності шкт, спровоковані харчовими отруєннями токсичними. В'язкість крові людини може зростати при збільшенні об’єму вуглекислого газу в крові, що характерно для гіпоксії. Також подібне порушення може пояснюватися патологічним збільшенням кількості еритроцитів у крові (поліцитемією), лейкоз (рак крові), надлишком білка в крові (макроглобулінемією Вальденстрема), цукровий діабет і дисфункцією надниркових залоз. Є дані, що в'язкість крові може збільшуватися при гепатиті, вагітності, при хімічних та термічних опіках і варикозному розширенні вен.

Згущення крові відбувається при нестачі вологи в організмі, при недостатньо правильному харчуванні, споживання екологічно забруднених продуктів. Також подібна патологія може провокуватися ушкодженням судин, сильними кислотами, дефіцитом мінеральних і вітамінних речовин, гіперфункцією селезінки та ін.

11. Питома вага крові у здорової людини середнього віку складає 1,052-1,064 та залежить від кількості еритроцитів, вмісту в них гемоглобіну, складу плазми. У чоловіків питома вага вище, ніж у жінок за рахунок різного вмісту еритроцитів.

Питома вага еритроцитів (1,094-1,107) суттєво вище, ніж у плазми крові (1,024-1,030), тому у всіх випадках підвищення гематокриту, наприклад, при згущенні крові через втрати рідини при потовиділенні в умовах важкої фізичної роботи та високої температури середовища, відмічається збільшення питомої ваги крові.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Визначення характеру змін об'єму циркулюючої крові.

Проаналізувати зміни об'єму циркулюючої крові, зображені на рис. 1.1 під номерами 2-9 (№ 1 – проста нормоволемія, або норма), та назвати патологічні стани, що їм відповідають.



Заштрихована частина смужок відповідає гематокриту, а їх загальна довжина – загальному об’єму крові.

Рисунок 1.1. Зміни об’єму циркулюючої крові

Завдання 2. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів макроскопічним методом Лімбека та Ріб’єра.

Принцип методу. Резистентність еритроцитів – це здатність оболонки еритроцитів протистояти руйнівній дії низького осмотичного тиску розчину, в якому знаходяться еритроцити. Унаслідок таких впливів може виникнути гемоліз – тобто руйнування оболонки еритроцитів. Для практичної медицини важливо визначити осмотичну резистентність, що характеризує фізико-хімічні властивості еритроцитів, насамперед еластичність та щільність їх оболонки, що неоднакові у старих і молодих клітин. Осмотичний гемоліз еритроцитів у нормі має певні параметри, які дуже розширюються при різноманітних порушеннях функції червоного кісткового мозку.

Досліджують резистентність мембрани еритроцитів відносно гіпотонічних розчинів натрію хлориду. При концентрації 0,48-0,46% у нормі настає гемоліз лише найменш стійких еритроцитів (мінімальна резистентність). Візуальне визначення рівня мінімальної резистентності – це перші, ледь вловимі сліди гемолізу еритроцитів, тобто поява в розчині легкого відтінку рожевого або жовтого.

У разі подальшого зменшення концентрації натрію хлориду починається гемоліз і стійкіших еритроцитів. У 0,34-0,32% розчині натрію хлориду руйнуються навіть найстійкіші еритроцити (максимальна резистентність). Розчин стає прозорим, схожим на лак (так званий лаковий розчин). Інтервал

між верхньою та нижньою межами резистентності називається амплітудою резистентності.

Клінічне значення. Зменшення осмотичної резистентності еритроцитів спостерігається при гемолітичній хворобі новонароджених, спадковому мікросфероцитозі, а також (у меншому ступені вираженості) при токсикозах, бронхопневмоніях, гемобластозах і цирозах печінки.

Збільшення осмотичної резистентності еритроцитів спостерігається при механічній жовтяниці, поліцитемії, залізодефіцитній анемії, гемоглобінозі S і після масивної крововтрати.

Хід проведення. З 1% розчину хлориду натрію в центрифужних або аглютинаційних пробірках виготовити ряд розведень за схемою (табл. 1.1):

Таблиця 1.1 – Розведення 1% розчину хлориду натрію

№ пробірки	Кількість мл 1% NaCl	Кількість мл дистильованої води	Одержана концентрація розчину
1	0,70	0,30	0,7%
2	0,68	0,32	0,68%
3	0,66	0,34	0,66%
4	0,64	0,36	0,64%
5	0,62	0,38	0,62%
6	0,60	0,40	0,6%
7	0,58	0,42	0,58%
8	0,56	0,44	0,56%
9	0,54	0,46	0,54%
10	0,52	0,48	0,52%
11	0,50	0,50	0,5%
12	0,48	0,52	0,48%
13	0,46	0,54	0,46%
14	0,44	0,56	0,44%
15	0,42	0,58	0,42%
16	0,40	0,60	0,4%
17	0,38	0,62	0,38%
18	0,36	0,64	0,36%
19	0,34	0,66	0,34%
20	0,32	0,68	0,32%
21	0,30	0,70	0,3%
22	0,28	0,72	0,28%
23	0,24	0,76	0,24%

У кожну пробірку додати по 1 краплі свіжої або дефібринованої крові. Кров краще набирати піпеткою від гемометра Салі та вводити в кожну пробірку по 20 мкл. Вміст пробірок обережно перемішати до рівномірного забарвлення і залишити на 1 годину в штативі при кімнатній температурі. Через 1 годину, не

збовтуючи вмісту пробірок, подивитись, де спостерігається руйнування оболонки еритроцитів (гемоліз). Стан крові оцінити за ступенем забарвлення розчину натрію хлориду, що міститься над осілими еритроцитами у пробірках.

Якщо візуально важко визначити результати дослідження, то потрібно провести центрифугування вмісту в пробірках впродовж 3 хв при 2300 об/хв.

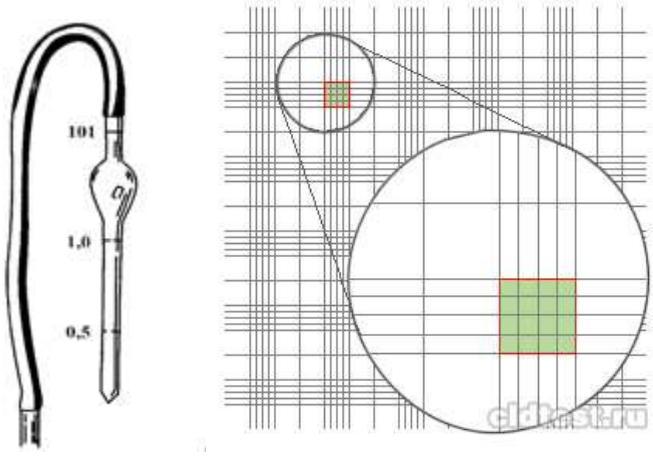
Оформити протокол досліду. Записати значення мінімальної та максимальної резистентності еритроцитів. Розрахувати її амплітуду. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів мікроскопічним методом Яновського.

Принцип методу. Підрахунок у лічильній камері кількості еритроцитів, які залишаються в гіпотонічних розчинах.

Хід проведення. Використовувати три розчини хлориду натрію різної концентрації: 0,5% розчин, в якому гемоліз нормальної крові можливий, 0,4% розчин, в якому в звичайних умовах гемоліз достатньо виражений, і проміжний 0,46% розчин.

Досліджувану кров набрати в чотири змішувача для еритроцитів до мітки «0,5» і в трьох з них розвести кров зазначеними вище розчинами, а в четвертому – 3% розчином хлориду натрію до мітки «101» (розведення 1 : 200). Під малим збільшенням мікроскопу (об’єктив – 8×, окуляр – 15×) у затемненому полі зору (з прикритою діафрагмою і трохи опущеним конденсором) підрахувати кількість еритроцитів у 5 великих квадратах по діагоналі сітки Горяєва (рис. 1.2).



А Б

А – змішувач (меланжер) для підрахунку еритроцитів; Б – лічильна сітка камери Горяєва (у збільшеному вигляді продемонстровано великий квадрат, поділений на 16 малих квадратів).

Рисунок 1.2. Обладнання для підрахунку кількості еритроцитів

За результатами підрахунку в лічильній камері обчислити процент стійких еритроцитів по відношенню до загальної кількості їх у 1 мкл крові, для чого провести підрахунок еритроцитів у 3 % розчині.

Оформити протокол досліду. Записати отримані результати. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення механічної резистентності еритроцитів методом Мармонта та Біанкі.

Принцип методу. Еритроцити травмуються механічно не до повного руйнування, а тільки до розпаду їх на окремі фрагменти.

Клінічне значення. Дослідження механічної резистентності еритроцитів має особливе значення при надбаних формах гемолітичної анемії, при яких, як відомо, зміни осмотичної резистентності часто не можуть бути виявлені без інкубації. Механічна резистентність знижена у хворих на гіпер- і гіпохромні анемії, для яких у розпал хвороби характерні сплощена форма еритроцитів і підвищена осмотична резистентність. У хворих з вродженим сфероцитозом розпад еритроцитів на фрагменти не спостерігається.

Хід проведення. Кров взяти в кількості 1 мл (можна взяти з пальця) та стабілізувати її сумішшю 2,8% розчину цитрату натрію, 0,5% розчину желатини та рідини Локка (по 2 мл кожного). Потім кров потрібно центрифугувати 5 хв при 500 об/хв (не більше). Уламки еритроцитів, які при цьому утворюються, спливають у верхній шар розведеної плазми. Останню злити в іншу пробірку, знову центрифугувати також 5 хв при 500 об/хв. Фрагменти осідають на дно. З осаду приготувати мазки.

На свіжих препаратах серед маси еритроцитів, які збереглися, знайти фрагменти різної величини та форми: дрібні, великі, округлі, безформні, передстадії фрагментації, які залишаються ще з'єднаними з еритроцитами, що розпадаються. У забарвлених препаратах кількість фрагментів у мазках крові для підрахунку ступеня розпаду краще підраховувати по відношенню до 1000 еритроцитів, тобто в проміле (‰).

У нормі кількість фрагментів, які утворюються, не перевищує 0,75-3‰.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 5. Визначення осмотичної резистентності лейкоцитів методом Педерціні, модифікованим Кучерою та співавторами.

Принцип методу. Зменшення через певні проміжки часу кількості лейкоцитів у крові, змішаною з гіпотонічним розчином хлориду натрію.

Клінічне значення. При сепсисі, пневмонії стрептококової етіології, анемії Бірмера виявлено зниження осмотичної стійкості полінуклеарів з подальшою нормалізацією в період клінічної ремісії. Підвищення осмотичної резистентності полінуклеарів відмічено при грипозних пневмоніях та в окремих випадках при злоякісних новоутвореннях.

Хід проведення. Кров, взяту з пальця в кількості 0,1 мл, ретельно перемішати в пробірці з 0,9 мл 0,2% розчину хлориду натрію. Перед кожним підрахунком розведену кров розмішати, до 0,1 мл її додати 0,1 мл барвників і після повторного розмішування заповнити лічильну камеру. Підрахунок формених елементів провести відразу після взяття крові та через 30, 60, 120 і 180 хв. Кінцеве розведення буде 20-кратне.

При визначенні у здорових людей осмотичної стійкості лейкоцитів по відношенню до 0,2% розчину хлориду натрію через 30, 60, 120 і 180 хв незруйнованими відповідно залишаються в середньому 94, 82, 43 і 26% полінуклеарів і 86, 68, 42, 25 % мононуклерів. При значних зсувах формули вліво спостерігається швидке набухання й округлення ядра паличкоядерних і юних нейтрофілів у гіпотонічному розчині, що може призвести до помилкового зарахування цих клітин до групи мононуклеарів.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 6. Визначення швидкості осідання еритроцитів методом Панченкова.

Принцип методу. Кров є одночасно справжнім колоїдним розчином і суспензією. Частки речовин, суспендовані у рідкому середовищі, випробовують на дію протилежно спрямованих сил: сили тяги, що забезпечує осідання часток, та дифузії, за рахунок якої частки колоїдів перемішуються.

Встановлено, що швидкість осідання частки прямо пропорційна квадрату її радіуса та різниці щільності суспендованої речовини й розчинника, а також зворотно пропорційна в'язкості розчинника. Велике значення мають і заряди часток, що містяться в розчині.

Формені елементи, суспендовані в розчині колоїдів плазми та міцно зв'язані з ними зарядами, осідатимуть у стабілізованій крові за рахунок посилення їх агломерації. При цьому кров розділиться на 2 шари: верхній – плазма та нижній – формені елементи.

Клінічне значення. Співвідношення холестерину й лецитину в плазмі, вміст жовчних пігментів та жовчних кислот, зміна в'язкості, pH, властивості еритроцитів, кількість гемоглобіну тощо впливають на швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ).

Головними ж чинниками, від яких залежить ШОЕ, вважають якісні та кількісні зміни білків у плазмі. Так, збільшення кількості великодисперсних білків (глобулінів) призводить до підвищення ШОЕ, а зменшення їх концентрації та збільшення вмісту альбумінів зумовлює її зниження.

ШОЕ дає деяке уявлення про співвідношення між білками плазми та їх електростатичну взаємодію з еритроцитами крові.

У фізіологічних умовах ШОЕ збільшується при вагітності (у другій половині) та при інтенсивній фізичній роботі.

Значний вплив на ШОЕ здійснює прийом деяких лікарських препаратів і терапевтичні заходи. Так, пришвидшення ШОЕ відмічається при специфічній та неспецифічній подразнюючій терапії, вакцинотерапії, переливанні

крові, тривалому прийомі соди і т. д.

Уповільнення ШОЕ спостерігається при прийомі саліцилових, ртутних і кальцієвих препаратів, діуретиків, снодійних і протималярійних засобів.

Хід проведення. Прилад Панченкова складається з дерев'яного або пластмасового штатива з гніздами і скляних капілярів з мітками 0, К, Р. Мітки 0 і К знаходяться на одному рівні – 100 мм від кінця піпетки (рис. 1.3).

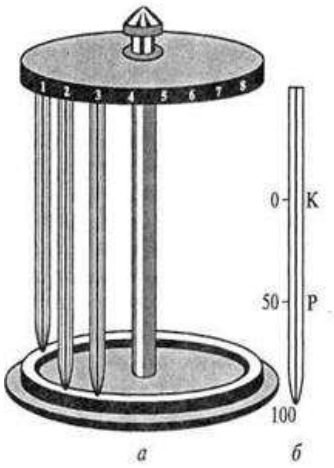


Рисунок 1.3. Прилад (апарат) Панченкова: а – загальний вигляд, б – капіляр

Кров донора, змішану з 5 % розчином натрію цитрату у співвідношенні 4:1, перемішати й набрати її до відмітки К за допомогою груші. Для цього на початку роботи капіляр змочити 5 % розчином цитрату натрію. Потім розчин набрати до мітки Р (50 мм), перенести його на предметне скло. Після чого в цей же капіляр до мітки К двічі набрати кров. Для попадання крові в капіляр кінчик його потрібно приставити до краплі крові, а сам капіляр потрібно тримати майже горизонтально, тоді кров набирається в капіляр швидше. Набрану кров видути на те саме предметне скло в розчин цитрату натрію. Суміш, яка утворилася, потрібно ретельно перемішати, набрати в піпетку та знов видути на предметне скло. Повторити декілька разів. Потім стабілізовану кров набрати в піпетку до мітки 0 і поставити в штатив. Для забору суміші потрібно капіляр перевести в горизонтальне положення, а кінчик його приставити до суміші, що знаходиться на предметному склі. Капіляр слід перевести у вертикальне положення, попередньо зажавши верхній отвір великим пальцем, і поставити в одне з гнізд апарата Панченкова. Верхній кінець капіляра можна відкрити тільки тоді, коли його нижній кінець щільно придавить гумову прокладку, що є в апараті Панченкова. Верхню частину капіляра також слід ретельно закріпити в апараті. Через 30 хв. та 1 год. визначити рівень осілих еритроцитів у капілярі. Швидкість осідання еритроцитів визначають за висотою стовпчика плазми, який знаходиться над осадом крові (у мм).

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Чим характеризуються стани, викликані збільшенням в організмі загальної кількості крові?
2. Що собою являє дзета-потенціал?
3. Чи відповідають нормі межі зміни осмотичного тиску, за яких зберігається цілісність оболонки еритроцитів?
4. Про що може свідчити підвищення (чи зниження) меж резистентності?
5. Які бувають види гемолізу?
6. Про які зміни у складі плазми крові свідчить підвищення ШОЕ?

Лабораторна робота №2
Тема: Склад плазми крові та значення її елементів

Мета: Знати електролітний склад плазми крові, азотовмісну частину плазми небілкової природи та безазотисті органічні та біологічно активні речовини плазми крові. Сформувати уявлення про фізіологічне значення, нормальні показники білкових фракцій крові та причини їх змін загальної кількості крові. Вивчити види змін концентрації білка в крові. Визначити кальцій по кольоровій реакції з мурексидом у присутності гліцерину. Провести диспротеїнемічні тести.

Матеріали та обладнання: сироватка крові або плазма з гепаринизованої крові, піпетки, штатив із пробірками, мірні колби на 100 мл, вата, гумові груші, 96% спирт етиловий, дистильована вода, мурексидгліцериновий реактив: 20 мг мурексиду розчинити в 10 мл 4 н КОН, 1 мл цього розчину змішати з 20 мл суміші, що складається з 10 мл води та 10 мл гліцерину; основний калібрувальний розчин, який містить кальцій у концентрації 25 ммоль/л, приготувати, розчинивши 250 мг карбонату кальцію в 5 мл 1н соляної кислоти, розчин перенести в мірну колбу місткістю 100 мл і довести водою до мітки, для консервації додати 2 краплі хлороформу; робочі калібрувальні розчини, що готують з основного калібрувального розчину. 1 г/л розчин (0,1 г двохлористої ртуті розчинити у воді в мірній колбі місткістю 100 мл), 0,5% розчин хлориду кальцію (можна використовувати 10% ампульований розчин цього реагенту, який потрібно розвести в 10 разів).

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Електролітний склад плазми крові.
2. Азотовмісна частина плазми небілкової природи.
3. Безазотисті органічні та біологічно активні речовини плазми крові.
4. Білки плазми крові в нормі та порушення їх складу.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Електроліти – не будь-які речовини в крові, а тільки ті, які можуть існувати в організмі у формі солей, кислот або лугів. Вони розпадаються й утворюють дрібні частинки з протилежними зарядами:

- негативні аніони (хлориди, бікарбонати, фосфати, органічні кислоти);
- позитивні катіони (натрій, кальцій, калій, магній).

Усі біохімічні процеси супроводжуються зміною електричної провідності. Розташуванням електролітів пояснюються біоелектричні процеси. Частина з них знаходиться всередині клітин, інші – в міжклітинному просторі. Вони утворюють і підтримують електричний потенціал.

Електролітний склад плазми крові важливий для підтримання її осмотичного тиску, кислотно-лужного складу, функцій клітинних елементів крові та судинної стінки, активності ферментів, процесів зсідання крові, а також фібринолізу. Оскільки плазма крові постійно обмінюється електролітами з мікросередовищем клітин, вміст у ній електролітів у значній мірі визначає й фундаментальні властивості клітинних елементів органів – збудливість і скоротливість, секреторну активність і проникність мембран, біоенергетичні процеси.

У плазмі міститься й велика кількість мікроелементів. Як мінімум 15 мікроелементів, наприклад, мідь, кобальт, марганець, цинк, хром і т.д., відіграють важливу роль у процесах метаболізму клітин і забезпеченні їх функцій, оскільки входять до складу ферментів, каталізують їх дію, беруть участь у процесах утворення клітин крові та гемоглобіну.

2. Азотовмісна частина плазми небілкової природи – це проміжні продукти обміну білка. Вони складають залишковий азот. Основні його компоненти – азот сечовини, амінокислот, сечовини, сечової кислоти, креатину, креатиніну, індикану. Середній вміст у крові – 14,3-28,6 ммоль/л. При деяких патологічних станах вміст залишкового азоту в крові підвищується, розвивається азотемія.

У залежності від причин вона поділяється на ретенційну та продукційну. Ретенційна азотемія настає внаслідок недостатнього виділення з сечею азотовмісних продуктів при нормальному надходженні їх в кровоносне русло. Продукційна азотемія розвивається при надлишковому надходженні азотовмісних продуктів в кров внаслідок підсиленого розпаду тканинних білків, наприклад, зі злоякісної пухлини. Функція нирок, як правило, при цьому не порушена.

У залежності від локалізації вона поділяється на ниркову та позаниркову. Ниркова азотемія – послаблення екскреторної функції нирок (підвищення вмісту сечовини). Позаниркова азотемія – важка недостатність кровообігу, зниження артеріального тиску, зменшення ниркового кровотоку.

Безазотисті органічні речовини – це глюкоза, вміст якої в крові 3,3-5,5 ммоль/л; молочна, піровиноградна кислоти, ліпіди (фосфоліпіди, жирні кислоти, лецитин). У склад органічних речовин плазми входять також біологічно активні речовини – ферменти, вітаміни, гормони.

Ферменти сироватки (плазми) крові умовно поділяють на три групи:

1) індикаторні (клітинні, маркерні) ферменти – локалізовані в клітинах тканин, потрапляють у кров у результаті фізіологічного старіння та руйнації клітин або в результаті підвищення проникливості клітинних мембран. У крові міститься декілька десятків індикаторних ферментів. У нормі клітинні ферменти у крові мають невелику активність та не виконують специфічних функцій. При надходженні у кров вони інактивуються протеазами сироватки і тканин. Активність цих ферментів зростає при ураженні органів, під час потужної руйнації клітинних мембран. Ферменти цієї групи поділяють на неспецифічні та органоспецифічні.

Неспецифічні індикаторні ферменти каталізують універсальні реакції метаболізму та локалізовані в більшості органів і тканин. Органоспецифічні ферменти містяться лише в тих органах і тканинах, де відбуваються специфічні реакції, властиві лише для клітин цього органа. Саме тому підвищення активності цих ферментів у крові свідчить про органну локалізацію патологічного процесу;

2) секреторні (плазмоспецифічні) ферменти – синтезуються в печінці, виділяються у кров, де виконують певні фізіологічні функції (ферменти системи згортання крові, фібринолізу, холінестераза, церулоплазмін, протеази ренін-ангіотензинової та калікреїнової систем тощо);

3) екскреторні ферменти – синтезуються в печінці, підшлунковій залозі, слизовій оболонці кишечника. Поява цих ферментів у крові пов’язана з природною руйнацією клітинних структур, у яких вони утворюються (лужна фосфатаза, лейцинамінопептидаза, ентерокіназа, ГГТП, трипсин, ліпаза та ін.).

Виділяють декілька типів зміни активності ферментів у крові: гіперферментемія, гіпоферментемія та дисферментемія.

Гіперферментемія – підвищення активності ферментів у сироватці крові. Це може бути наслідком: 1) надходження ферментів у кров з пошкоджених органів і тканин; 2) підвищення каталітичної активності ферментів як безпосередньо у пошкодженому органі, так і при надходженні в кров’яне русло.

Гіпоферментемія – зниження активності ферментів крові, що є результатом пригнічення синтезу ферментів у тканинах. Цей вид зміни активності ферментів характерний лише для окремих ферментів, наприклад, для холінестерази.

Дисферментемія – цей тип характеризує появу деяких ферментів у крові, активність яких у нормі відсутня. Такі зміни можуть бути характерні для деяких органоспецифічних ферментів, наприклад, сорбітолдегідрогенази, фруктозомонофосфатальдолази та ін.

4. Білки плазми крові – це динамічна система, яка перебуває в рівновазі з білками тканин. Їх кількісний та якісний склад відображає стан білкового обміну в цілому організмі. У плазмі крові міститься більше 300 різних білків.

Функції білків крові:

- підтримують колоїдно-осмотичний (онкотичний) тиск крові;
- беруть участь у функціонуванні згортальної та антизгортальної систем крові;
- беруть участь у підтримці сталості pH (буферні властивості);
- визначають в'язкість крові;
- беруть участь в транспорті різних сполук (гормонів, ліпідів, жирних кислот, пігментів, мінеральних речовин, жиророзчинних вітамінів);
- є носіями природного та набутого імунітету;
- пластичний матеріал для синтезу білків тканин.

Основна маса білків плазми крові синтезується в печінці – це альбуміни (10-16 г/доб), α-глобуліни, частина β-глобулінів, фібриноген, компоненти системи згортання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори). У клітинах імунної системи синтезується більша частина β- та γ-глобулінів. Загальна кількість білків плазми становить 65-85 г/л. Можливі добові коливання в межах 10-20 г/л. У новонароджених кількість загального білка в крові 50-60 г/л. До 3 років це значення досягає нормального рівня.

Важливе значення також має визначення альбумін-глобулінового коефіцієнта (А/Г коефіцієнт, або білковий коефіцієнт). У нормі співвідношення кількості альбумінів до кількості глобулінів становить: А/Г = 1,2-2,0. Зменшення цього значення можливе як за рахунок збільшення концентрації альбумінів, так і в разі підвищення кількості глобулінів крові.

Частка альбумінів – 40-50 г/л (52-65% загального білка). Глобуліни – це гетерогенна суміш білкових молекул, в якій виділяють α-, β- та γ-глобуліни. кожна з цих фракцій містить специфічні білки, які виконують певні біохімічні функції. нормальне значення концентрації глобулінів у сироватці крові 20-30 г/л. α-глобуліни містять глікопротеїни (2/3 всієї глюкози плазми циркулює в складі глікопротеїнів), а також інгібітори протеаз, транспортні білки для гормонів, вітамінів, мікроелементів. За допомогою електрофорезу на папері виділяють дві фракції: α - ((4,5±0,2) г/л) та α_2-глобуліни ((5,6±0,2) г/л). β-глобуліни містять ¾ усіх ліпідів плазми крові. До складу цієї фракції входять трансферин, гемопексин, β_2-мікроглобулін, ліпопротеїди низької щільності, компоненти системи комплементу (C_3). γ-глобуліни містять основну масу антитіл (імуноглобулінів), що забезпечують гуморальну захисну реакцію організму. Відомо 5 класів імуноглобулінів (Ig): Ig G, Ig M, Ig A, Ig D, Ig E.

Зміна концентрації білка може мати відносний і абсолютний характер і залежить від об'єму циркулюючої крові, може супроводжуватись як зменшенням концентрації загального білка (гіпопротеїнемія), так і збільшенням (гіперпротеїнемія). Гіпопротеїнемія практично завжди пов'язана зі зниженням концентрації альбумінів крові (гіпоальбумінемія), гіперпротеїнемія є результатом підвищення концентрації глобулінів (гіперглобулінемія). Диспротеїнемії – це зміни співвідношення окремих білкових фракцій при нормальному вмісті загального білка. Парапротеїнемія обумовлена наявністю патологічних імуноглобулінів PIg, які секретуються пухлинними клітинами системи В-лімфоцитів та в нормі не виявляються.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Визначення кальцію по кольоровій реакції з мурексидом у присутності гліцерину.

Клінічне значення. Вміст кальцію в сироватці підвищується при масивних руйнуваннях кісток, гіперпаратиреоїдизмі, гіпервітамінозі D. Він зменшується при порушенні всмоктування в кишечнику внаслідок стеатореї або гіповітамінозі D, а також при деяких тубулопатіях і, головним чином, при недостатності прищитоподібних залоз.

Хід проведення. У 0,3 мл води внести 0,1 мл досліджуваної сироватки, потім туди додати 3 мл мурексидгліцеринового реактиву, перемішати та через 5 хв фотометрувати в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см при довжині хвилі 490 нм проти холостої проби, в якій замість досліджуваної сироватки взяти воду. Одночасно поставити калібрувальну пробу, в якій замість сироватки взяти 0,1 мл калібрувального розчину (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Приготування робочих калібрувальних розчинів, які містять кальцій

Основний калібрувальний розчин 25 ммоль/л Са, мл	Вода, мл	Концентрація кальцію, ммоль/л
6,0	до 100	1,5
8,0	» 100	2,0
10,0	» 100	2,5
12,0	» 100	3,0
14,0	» 100	3,5

Розрахунок провести за калібрувальним графіком.

Примітка. Деякі сорти скла можуть вилуджуватися, віддаючи в розчин солі кальцію, тому лабораторний посуд, особливо пробірки, бажано попередньо прокип’ятити в соляній кислоті. Визначення бажано проводити в сироватці або плазмі крові, отриманій з гепаринизованої крові, тому що щавлева, лимонна кислоти та інші коагулянти, що зв’язують кальцій, можуть завадити визначенню.

Нормальні величини: 2,3–2,75 ммоль/л (9–11 мг у 100 мл крові).

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 2. Проведення сулемової проби на лабільність білків сироватки крові (уніфікований метод).

Принцип методу. Сулема в присутності дрібнодисперсних колоїдів (білків) утворює колоїдальний розчин солей ртуті. Порушення дисперсності

білкових фракцій сироватки крові викликає осадження грубодисперсних часток.

Клініко-діагностичне значення проби витікає з її колоїдно-осмотичної сутності, обумовленою зміною співвідношення альбуміни-глобуліни (вірогідно, за рахунок абсолютного чи відносного збільшення β- і γ- глобулінів – найбільш грубодисперсних фракцій). Можна припустити, що позитивний результат викликається появою в крові парапротеїнів (таката-протеїнів). Позитивна проба Таката зустрічається при ряді патологічних станів: захворюваннях печінки (при хворобі Боткіна сулемова проба складає приблизно 1 мл, повертаючись до норми при одужанні), хронічному нефриті, нефрозі, пневмонії, туберкульозі легень, мієломі, інфекційних захворюваннях і т.д. Слід пам'ятати, що позитивна реакція без підвищення температури хворого частіше за все свідчить про ураження печінки. Позитивна реакція, що супроводжується підвищеною температурою тіла хворого, зустрічається, головним чином, при хронічних інфекційних хворобах і є вираженням неспецифічного подразнення ретикуло-ендотеліальної системи.

До 0,5 мл сироватки крові додати 1 мл 154 ммоль/л розчину хлориду натрію та титрувати 1 г/л розчином сулеми. Після появи початково зворотного помутніння титрувати з мікробюретки або піпетки на 2 мл повільно з інтервалом 20-30 с до стійкого помутніння (через вертикальний шар рідини не можна прочитати газетний текст). Результати сулемової реакції виразити в кількості міллілітрів розчину сулеми, що було витрачено на титрування.

Нормальні величини: 1,6–2,2 мл сулеми. Якщо на титрування пішло менша кількість сулеми, реакцію слід розцінювати як позитивну.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 3. Проведення коагуляційної проби Вельтмана (уніфікований метод).

Клініко-діагностичне значення. Результати коагуляційної проби Вельтмана можуть бути патологічними при захворюваннях печінки, а також при інших захворюваннях, які супроводжуються диспротеїнеміями. Тому їх слід оцінювати в поєднанні з іншими лабораторними тестами та клінічними симптомами. У пробі Вельтмана коагуляція білків настає при додаванні меншої кількості розчину хлориду кальцію при паренхіматозному ураженні печінки, малярії. Коагуляція при додаванні більшої кількості розчину хлориду кальцію спостерігається при ревматизмі, туберкульозі легень.

Хід проведення. До 0,1 мл сироватки додати 4,9 мл води. Перемішати, перекидаючи пробірку (при цьому її можна закривати великим пальцем) і додати 0,1 мл 0,5% хлориду кальцію, стряхнути та нагріти пробірку над полум'ям до одноразового закипання суміші. Охолодити пробірку та розглянути її на світло. Якщо пластівців немає, тоді в цю саму пробірку додати ще 0,1 мл хлориду кальцію та знов кип'ятити. Процедуру повторювати, доки не випадуть пластівці. Результати оцінити шляхом підрахунку загальної кількості хлориду кальцію, що пішла на реакцію.

Нормальні величини. У нормі коагуляція настає при додаванні 0,4–0,5 мл розчину хлориду кальцію.

Примітка: сироватка для дослідження повинна бути свіжою (зберігається не більше 24 год від моменту взяття).

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Які речовини є електролітами та яку роль вони відіграють в організмі?
2. При яких захворюваннях змінюється вміст кальцію в крові?
3. На чому ґрунтується проведення проб на лабільність білків?
4. У чому полягає колоїдно-хімічна сутність коагуляційних проб?
5. Назвіть причини отримання позитивної сулемової реакції.
6. Про розвиток яких хвороб свідчить коагуляція білків при додаванні меншої кількості розчину хлориду кальцію?

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2. ФІЗІОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ ЕРИТРОЦИТІВ

Лабораторна робота №3
Тема: Морфофункціональна характеристика еритроцитів. Сполуки гемоглобіну та його функції

Мета: Засвоїти морфофункціональну характеристику еритроцитів. Вивчити структуру, властивості та сполуки гемоглобіну. З'ясувати шляхи надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну. Визначити кількість еритроцитів і гемоглобіну в периферичній крові. Провести розрахунок індексів еритроцитів. Підрахувати кількість ретикулоцитів у мазку крові. Отримати кристали геміну та вивчити їх під мікроскопом.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильна камера Горяєва, штатив, піпетки, гемометр Салі (гемометр ГС-3), вологі камери (чашки Петрі з вологим фільтрувальним папером), скарифікатори, вата, гумова груша, предметні скельця, покривні скельця, спиртівка, 96% етиловий спирт, дистильована вода, фізіологічний розчин, 3%-й розчин хлориду натрію, 0,1 н розчин соляної кислоти, 1,2% спиртовий розчин діаманткрезилового синього.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Структура еритроцитів.
2. Функції еритроцитів.
3. Гемоглобін: будова, властивості.
4. Сполуки гемоглобіну.
5. Надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Еритроцити (червоні кров'яні тільця) – без'ядерні плоскі клітини, що мають форму двоввігнутого диска (лінзи). Діаметр еритроцита в нормі коливається від 5 до 9 мкм, у середньому складає 7,2-8 мкм. Найбільша товщина клітини – 2,4 мкм, мінімальна – 1 мкм. Середній діаметр на висушених препаратах 7,55 мкм. Об'єм еритроцитів досягає 85-90 мкм^3, а поверхня – близько 145 мкм^2. Таке співвідношення площі до об'єму сприяє деформуванню еритроцитів. Зменшення співвідношення поверхня/об'єм еритроцита, яке спостерігається при збільшенні об'єму еритроцита, придбанні ним сферичної форми при надлишковому надходженні в еритроцит води, робить його менш деформованим. Це призводить до швидкого руйнування еритроцита. Більшу роль у підтримці форми й деформування еритроцитів відіграють ліпіди їхніх мембран, які представлені фосфоліпідами (гліцерофосфоліпідами, сфінголіпідами), гліколіпідами, холестерином. Збільшення співвідношення холестерини-фосфоліпіди в мембрані збільшує її в'язкість, зменшує плинність й еластичність мембрани. У результаті знижується здатність до деформації еритроцита. Посилення окислювання ненасичених жирних кислот фосфоліпідів мембрани перекисом водню (H_2O_2) або супероксидними радикалами (O_2) викликає гемоліз еритроцитів, ушкодження молекули гемоглобіну еритроцита. Утворений в еритроциті глютатіон, а також антиоксиданти (α-токоферол та ін.) захищають компоненти еритроцита від даного ушкодження.

Еритроцит – гнучка еластична структура, що змінює свою форму при проходженні крізь капіляри тіла. Плазматична мембрана – важливий органоїд еритроцита. Вона виконує функції механічної оболонки з регульованими фізичними властивостями та одночасно «координатора» роботи клітини в залежності від фізичних і хімічних сигналів, які надходять до неї, відграючи, таким чином, ключову роль в детермінації гомеостазу та функціональної здібності клітини.

Структура плазматичної мембрани така сама, як у ядерних клітин. У еритроцита є тільки поверхневий цитоскелет – стійка до дії детергентів сполука білків, які з'єднані між собою та утворюють своєрідну сітку уздовж внутрішньої поверхні мембрани, обернену до цитоплазми. Цей цитоскелет звуть ще скелетом мембрани завдяки його розташуванню та ще тому, що він зміцнює в основному мембрану, забезпечуючи єдність її ліпідного шару, в той же час надаючи мембрані внутрішню рухливість та гнучкість.

У еритроцита немає цитоскелету у вигляді мікротрубочок і мікрофіламентів, які з'єднують мембрану та компоненти цитоплазми, а також немає білків цитоскелету тубуліна та віментина. Спектрин та анкірин – це білки цитоскелету еритроцита, що відіграють важливу роль в підтриманні форми еритроцита. Зі змінами цитоскелету еритроцита пов'язані деякі форми гемолітичних анемій.

Цитоскелет еритроцита відіграє, можливо, важливу роль в його здібності до деформації. Дисковидний еритроцит може легко пройти крізь міліпоровий фільтр завтовшки 3 мкм, увійти в мікропіпетку діаметром 2,5-3 мкм. За

100-120 діб перебування в організмі здібність еритроцита до деформації знижується. З віком знижується стійкість еритроцитів до осмотичного гемолізу, в меншій мірі до механічної травми. Сфероцит (кругла клітина) під час старіння, як і сфероцит при патології, що мають понижені властивості до деформації, не можуть проходити крізь міліпорові фільтри 3 мкм, затримуються вони й селезінкою. Можливо, зниження деформованості з віком еритроцита та сферуляція клітини пов'язані зі змінами цитоскелету. У старого еритроцита виявляється агрегація спектрина та гемоглобіну, тобто, можливо, та сполука, що припускали як обов'язкову структуру еритроцита та назвали гемоліпостроматином.

Крім білків спектрину та анкірину, в мембрані та цитоскелеті еритроцитів є рецепторні білки – глікопротеїди, каталітичні білки – ферменти, що відіграють роль у транспорті іонів і утворюють канали в мембрані. Одним з важливих глікопротеїдів є глікофорин, який міститься як на зовнішній, так і на внутрішній поверхнях мембран еритроцитів. Глікофорин містить значну кількість сіалових кислот і має значний негативний заряд, який відштовхує один від одного еритроцити. У мембрані глікофорин розташовується нерівномірно, утворює ділянки, що виступають з мембрани та є носіями імунологічних детермінант, тобто рецепторами для вірусів і ділянками для прикріплення аглютинінів.

Na^+K^+-залежна АТФ-аза забезпечує активний транспорт Na^+ з еритроцитів і K^+ в його цитоплазму. Ca^{2+}-залежна АТФ-аза забезпечує виведення Ca^{2+} з еритроцита. Карбоангідраза – фермент, який міститься в еритроциті та каталізує реакцію синтезу вугільної кислоти з води та вуглекислого газу, після чого еритроцит транспортує її у вигляді бікарбонату до легень.

На відміну від мембран інших клітин організму мембрана еритроцитів легко проникна для аніонів $HCO3^-$, CL^-, а також для O^{2-}, CO_2, H^+, OH^-, тоді як мало проникна для катіонів K^+ і Na^+. Проникність для аніонів приблизно в 1 млн. разів вища, ніж для катіонів. Товщина мембрани еритроцитів коливається від 1 до 2 нм.

Гіалоплазма еритроцита при електронній мікроскопії виглядає електронно-щільною, містить численні гранули гемоглобіну розміром 4-5 нм.

Вміст еритроцита: 60% води та 40% сухого залишку. Інші клітини організму містять значно більше води – 75% та більше.

Сухий залишок еритроцита: 90-95% – гемоглобін, 5-10% – різноманітні білки, глюкоза, ліпіди та мінеральні речовини.

2. Зрілі еритроцити не здібні до синтезу нуклеїнових кислот і гемоглобіну. Для них характерний відносно низький рівень обміну, що забезпечує їм тривалий період життя (100-120 діб). На більш ранніх стадіях розвитку еритроцита (ретикулоцит) у цитоплазмі можна виявити залишки структур клітин-попередниць (мітохондрії та ін.).

Форми еритроцитів периферичної крові:

а) 85% еритроцитів – дискоцити, є також дискоцити з одним виростом;

б) дискоцити з одним гребенем, дискоцит з численними виростами;

в) еритроцити у вигляді тутової ягоди, еритроцит у вигляді спущеного м'яча;

г) куполоподібний еритроцит, сферичний еритроцит;

д) дистрофічно змінений еритроцит.

Функції еритроцитів:

1) транспорт дихальних газів;

2) підтримання буферної іоноводної рівноваги;

3) забезпечення імунного гомеостазу за рахунок взаємодії з циркулюючими імунними комплексами через Fc-рецептори клітинних мембран. Серед них виділяють субпопуляцію – еритроцити-супресори, що пригнічують імунну відповідь;

4) забезпечення креаторних зв'язків;

5) підтримання реологічних властивостей крові;

6) забезпечення групової приналежності крові;

7) участь у процесах коагуляції та фібринолізу;

8) ферментативна (еритроцити є носіями різноманітних ферментів (холінестерази, вугільна ангідраза, фосфатаза).

3. Гемоглобін (від грец. *haema* – кров і лат. *globus* – куля) належить до числа важливих дихальних білків, які здійснюють транспорт O_2 і CO_2. Гемоглобін – основний компонент крові усіх хребетних і деяких безхребетних тварин. У кожному еритроциті близько 28 млн молекул гемоглобіну.

Гемоглобін – складний протеїн, належить до складу хромопротеїдів (гемопротеїдів), складається із залізовмісних груп гема та білкового залишку – глобіну. На частку гема припадає 4%, на білкову частку – 96%. Молекулярна маса гемоглобіну складає 64500 Д. Динамічна взаємодія гема з глобіном надає гемоглобіну унікальні властивості, необхідні для зворотного процесу транспорту кисню.

Гем – це комплексна сполука протопорфірину IX із залізом. Він вкрай нестійкий і легко перетворюється або в гематин з окисненням двовалентного заліза до тривалентного та приєднанням до останнього OH^--групи, або в гемін, який містить замість OH^- іонізований хлор.

Гемоглобін (Hb) – це олігомерний білок, який складається з чотирьох субодиниць, або протомерів. Кожна субодиниця містить гем, що зв’язаний з білковою частиною через залишок гістидину. До складу молекули Hb входять по два поліпептидних ланцюги різних видів. Так, основний гемоглобін дорослої людини – HbA_1 (95-98% усього гемоглобіну) – містить два α- та два β-ланцюги ($\alpha_2\beta_2$). Також у крові міститься HbA_2 ($\alpha_2\delta_2$), вміст якого становить 2-3%, фетальний гемоглобін HbF ($\alpha_2\gamma_2$), кількість якого – 0,1-2%. Частина HbA_1 глікозильована – це глікозильований гемоглобін HbA_{1c}, який утворюється в результаті неферментативного глікування гемоглобіну залишками глюкози. Нормальна концентрація HbA1c – 4-7%.

У чоловіків концентрація гемоглобіну в нормі становить 130–160 г/л, у жінок – 120-150 г/л.

4. До заліза, яке міститься в молекулі Hb, приєднується кисень – утворюється оксигемоглобін – HbO_2 (валентність заліза не змінюється, воно

залишається двовалентним). У вигляді HbO_2 транспортується значна частина кисню.

Інтенсивність утворення HbO_2 залежить від парціального тиску крові, значення pH, концентрації CO_2 та вмісту 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ). Різниця парціального тиску O_2 між альвеолярним повітрям та міжклітинною рідиною, куди кисень потрапляє з крові, дорівнює 65 мм рт. ст. Ця значна різниця забезпечує перехід кисню із альвеол у кров і далі – в міжклітинну рідину.

Зв'язування гемоглобіну з різними лігандами, такими, як H^+ (при зниженні pH) та CO_2 призводить до конформаційних змін у молекулі гемоглобіну і змінює спорідненість Hb до кисню. У тканинах CO_2 витісняє O_2 з гемоглобіну, в легенях, навпаки, кисень витісняє CO_2 з крові в альвеолярне повітря. Це явище відоме під назвою ефект Бора. Цей ефект також бере участь у регуляції pH крові. У капілярах тканин відбувається приєднання протона до гемоглобіну, і, таким чином, це запобігає закисненню середовища. Крім того, в тканинах збільшення кількості H^+ (при утворенні вугільної кислоти із CO_2) знижує спорідненість Hb до кисню. У капілярах легень, навпаки, протон вивільняється, і O_2 зв'язується з Hb.

2,3-ДФГ – метаболіт, який утворюється з 1,3-ДФГ (проміжний продукт гліколізу) та знижує спорідненість гемоглобіну до кисню, що сприяє вивільненню O2 у тканинах.

Гемоглобін, який віддає кисень, має назву дезоксигемоглобін, або відновлений гемоглобін (HHb).

Приєднання вуглекислого газу призводить до утворення карбгемоглобіну $HbCO_2$ (CO_2 з'єднується з N-кінцевими групами гемоглобіну). У складі цього похідного транспортується до 20% CO_2.

Молекула гемоглобіну може утворювати комплекси з іншими газами. Так, комплекс гемоглобіну з чадним газом – карбоксигемоглобін (HbCO) є міцною сполукою. Спорідненість Hb до CO у 200 разів вище, ніж до кисню, тому утворення карбоксигемоглобіну блокує утворення оксигемоглобіну і транспорт кисню. Саме тому навіть незначні кількості чадного газу в повітрі є небезпечними для життя. У крові людини, яка живе у місті, концентрація карбоксигемоглобіну становить менше ніж 2%. У крові людей, які палять, ця концентрація зростає до 10%.

При деяких патологічних станах, наприклад при отруєннях потужними окисниками (перманганат калію, бертолетова сіль, сульфаніламідні препарати та ін.), залізо у складі гему окислюється до тривалентного стану – утворюється метгемоглобін MetHb. Цей похідний гемоглобіну не може зв'язувати кисень. У нормі в еритроцитах міститься до 2% метгемоглобіну, який утворюється в результаті аутоокиснення. Така незначна кількість не пригнічує газообміну. Накопиченню метгемоглобіну перешкоджає функціонування ферменту метгемоглобінредуктази, яка відновлює MetHb.

Метгемоглобінемія (підвищення концентрації MetHb) може мати спадковий характер (при дефіциті метгемоглобін редуктази) та розвиватися

внаслідок надходження в організм значної кількості окисників – нітритів, аніліну, нітробензолу та ін. (розвивається гостра токсична метгемоглобінемія).

У скелетних м’язах і міокарді знаходиться м’язовий гемоглобін, що має назву міоглобін. Його простетична група ідентична гемоглобіну крові, але білкова частина – глобін – має меншу молекулярну масу. Майже 14% загальної кількості кисню в організмі зв’язує міоглобін людини. Ця властивість міоглобіну відіграє важливу роль у постачанні м’язів, які працюють.

Основні функції гемоглобіну:

1) дихальна функція;

2) буферна функція.

Виконання зазначених функцій гемоглобіном можливе лише при збереженні цілісності еритроцитів, тому що при гемолізі еритроцитів і виході гемоглобіну в плазму крові він швидко виводиться з організму за рахунок фагоцитозу клітинами мононуклеарної фагоцитуючої системи, а також через швидке виведення нирками.

Один моль гемоглобіну може зв'язати до 4 молей кисню, а 1 г гемоглобіну – 1,34 мл кисню. Киснева ємність крові – це максимальна кількість кисню, що може бути зв’язана 1 мл крові. Насичення гемоглобіну киснем складає 96-98%. Зв'язування киснем відбувається в процесі так званої оксигенації, а не справжнього окиснення. Залізо в оксигемоглобіні залишається двовалентним.

При виконанні дихальної функції молекула гемоглобіну змінює свої розміри подібно до грудної клітки під час дихання. Це слугувало підставою для того, щоб назвати гемоглобін «дихаючою молекулою», або «молекулярними легенями».

Співвідношення між кількістю гемоглобіну та оксигемоглобіну визначається в значній мірі парціальним напруженням кисню в крові, хоча при цьому й не спостерігається лінійна залежність. Це співвідношення виражається у вигляді кривої дисоціації оксигемоглобіну.

Участь гемоглобіну в регуляції pH (буферна функція) крові пов'язана з його роллю в транспорті кисню та вуглекислого газу, а також властивостями його як білка, що є амфолітом.

5. Синтез гемоглобіну здійснюється шляхом синхронної продукції гема та поліпептидних ланцюгів глобіну з подальшим утворенням остаточної молекули. Синтез гемоглобіну починається в нормоцитах. По мірі подальшого дозрівання еритроїдної клітини, зменшення кількості полісом у цитоплазмі знижується й синтез гемоглобіну. У ретикулоцитах ще можливий синтез гемоглобіну на рибосомно-цитоплазматичному рівні. Зрілі еритроцити не синтезують гемоглобін. Процес синтезу гемоглобіну при еритропоезі (процесі утворення еритроцитів) пов’язаний зі споживанням ендогенного заліза.

Важливу роль в обміні відіграють наступні білкові сполуки: трансферин (сидерофілин), феритин і гемосидерин.

Трансферин – специфічний білок, який міститься в плазмі крові, β-глобулін з молекулярною масою близько 80000 Д. Він виконує транспортну функцію, забезпечуючи переніс заліза зі слизової оболонки кишечника та

синусів паренхіми селезінки в кістковий мозок, де утилізується в процесі еритропоезу.

Феритин – водорозчинний комплекс гідроксиду заліза з білком апоферитином. Молекулярна маса феритину складає близько 460000 Д, вміст заліза – приблизно 2% від його маси.

Гемосидерин близький за складом до феритину, вміст у ньому заліза складає приблизно 30% від загальної маси молекули. Основними місцями депонування гемосидерину є кістковий мозок, печінка та селезінка. В організмі здорової людини міститься в цілому близько 3-5 г ендогенного заліза, причому в фонді еритрону (еритроцити разом із кровотворною тканиною) приблизно 60-70%, залізо запасів (феритину та гемосидерину внутрішніх органів) складає 30-40 %. У складі трансферину міститься близько 3-4 мг заліза, у ферментах різних органів і тканин є ще приблизно 150 мг заліза.

Абсорбція заліза епітеліальними клітками шлунково-кишкового тракту підсилюється при збільшенні концентрації трансферину в слизовій кишечнику, еритропоетичній активності кісткового мозку й знижується при збільшенні концентрації заліза в клітинах слизової оболонки кишечнику. Абсорбція Fe^{++} у кишечнику більше ефективна, ніж Fe^{+++} і речовини, що підтримують двовалентну форму заліза, його розчинність – аскорбінова кислота, фруктоза, амінокислоти (цистеїн, метіонін), прискорюють абсорбцію заліза. Важливою умовою абсорбції заліза в кишечнику є його біодоступність. Наприклад, залізо, що входить до складу гема (м'ясні продукти, кров'яна ковбаса) краще всмоктується в кишечнику, ніж залізо з їжі рослинного походження.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

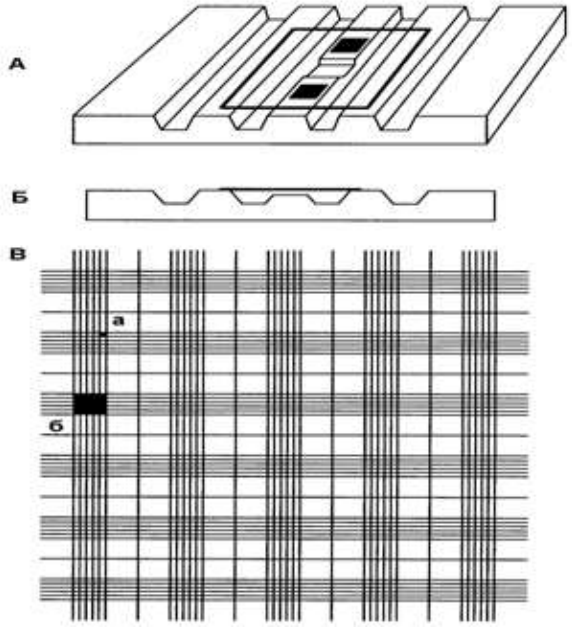
Завдання 1. Визначення кількості еритроцитів у 1 мкл крові.

Принцип методу. В якості одного з уніфікованих методів використовують підрахунок еритроцитів у лічильній камері. Підрахунок кількості еритроцитів проводять під мікроскопом у певній кількості квадратів лічильної камери і перераховують на 1 л крові, виходячи з об’єму квадратів і розведення крові.

Клінічне значення. Зниження числа еритроцитів в крові є одним з основних критеріїв анемії. Ступінь еритропенії може варіювати при різних формах анемії. Підвищення кількості еритроцитів – еритроцитоз, може бути зумовлений багатьма причинами. Абсолютні еритроцитози супроводжують обструктивні захворювання легень, вади серця, захворювання центральної нервової системи. Відносні еритроцитози пов'язані з порушенням гемоконцентрації і характеризуються нормальним об'ємом циркулюючих еритроцитів при зниженні маси циркулюючої крові і маси циркулюючої плазми.

Будова камери Горяєва. Лічильна камера складається з товстого прямокутного (предметного) скла, в центральній частині якого нанесено дві сітки Горяєва, що розмежовані глибокою поперечною канавкою. Збоку від сіток

розташовані скляні прямокутні пластинки, до яких притирається шліфоване накривне скельце. Сітка Горяєва складається з 225 великих квадратів. Частину з них розділено вертикально і горизонтально на 16 малих квадратів, які чергуються з квадратами, що поділені тільки горизонтальними або вертикальними лініями, і з чистими квадратами, без ліній. Глибина камери дорівнює 1/10 мм, бік малого квадрата – 1/20 мм, отже, об'єм одного малого квадрата становить 1/4000 мм^3 (рис. 3.1).



А, Б – зовнішній вигляд камери Горяєва; В – лічильна сітка камери: а – малий квадрат; б – великий квадрат.

Рисунок 3.1. Камера Горяєва

Хід проведення. У чисту суху пробірку відміряти піпеткою 4 мл 3%-го розчину хлориду натрію. З проколотого скарифікатором пальця в піпетку від гемометра Салі відібрати 20 мкл крові (до позначки на піпетці) і внести її в розчин у пробірці. Кілька разів промити розчином піпетку (втягуючи розчин у піпетку і видуваючи його у пробірку). Перемішати рідину в пробірці, стукаючи пальцем по її дну, щоб еритроцити розподілилися в рідині рівномірно. Кров розведена у 200 разів.

Потім заповнити камеру суспензією еритроцитів. Для цього піпеткою або скляною паличкою нанести краплю розведеної крові на середню пластинку біля краю покривного скла. Після заповнення камери вичекати 1-2 хв (доки осядуть формені елементи) і почати підрахунок при малому збільшенні мікроскопу в затемненому полі зору (з прикритою діафрагмою і трохи опущеним конденсором). Рахувати еритроцити у 5 великих або 80 малих квадратах (5×16 = 80 малих квадратів), розташованих по діагоналі, оскільки розподіл клітин у камері може бути нерівномірним. Для цього під мікроскопом відшукати верхній великий квадрат (поділений на 16 малих), підрахувати кількість

еритроцитів у ньому, потім пересунути камеру по діагоналі вниз і направо, до наступного квадрата і т.д.

Підрахунку підлягають всі еритроцити в межах маленького квадрата, а також ті, що знаходяться на лівій і верхній його лініях або торкаються до них з обох боків (правило Єгорова). Еритроцити на правій і нижній лініях і ті, що торкаються до них, не враховуються – це буде зроблено в наступному квадраті (рис. 3.2).

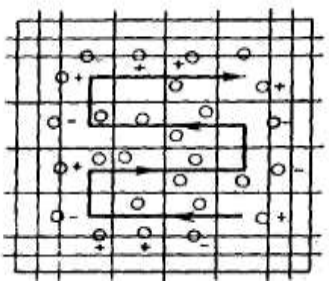


Рисунок 3.2. Підрахунок еритроцитів у сітці Горяєва за правилом Єгорова

Кількість еритроцитів у 1 мкл крові розрахувати за формулою 2.1:

$$E = \frac{A \times 4000 \times B}{Б}, \qquad (3.1),$$

де E – кількість еритроцитів у 1 мкл крові; A – кількість еритроцитів, виявлених у певній кількості малих квадратів; $Б$ – кількість малих квадратів, у яких пораховано еритроцити; B – ступінь розведення крові; 4000 – множник для перерахунку кількості еритроцитів на 1 мкл. Об'єм малого квадрата дорівнює 1/4000 мм^3 або 1/4000 мкл.

Помноживши його на 4000, звести до об'єму 1 мм^3 або 1 мкл крові. Приклад розрахунку: у 5 великих (80 малих) квадратах нараховано 448 еритроцитів, кров розведена у 200 разів. Число еритроцитів дорівнює:

$$\frac{448 \times 4000 \times 200}{80} = 4{,}48 \text{млн/мкл}.$$

Оформити протокол досліду. Записати отримані значення кількості еритроцитів у 1 мкл крові. Зробити висновки.

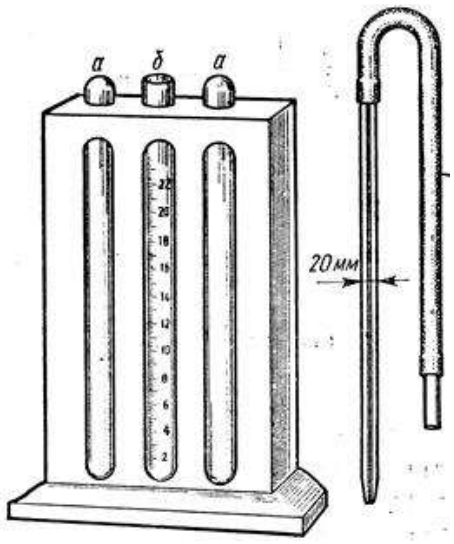
Завдання 2. Визначення концентрації гемоглобіну в крові гемометром ГС-3.

Принцип методу. Визначення гемоглобіну гемометром Салі ґрунтується на колориметрії солянокислого гематину, що утворюється при змішуванні крові з соляною кислотою. При цьому червонуватий колір рідини стає бурим. Розчин розводять дистильованою водою до кольору стандарту з відомою

концентрацією гемоглобіну.

Клінічне значення. Зниження концентрації гемоглобіну в крові є основним симптомом при гострій крововтраті або анемії: гіпопластичній, гемолітичній, B_{12}-дефіцитній. Підвищення концентрації гемоглобіну в крові може спостерігатися при мієлопроліферативних захворюваннях і при симптоматичних еритроцитозах.

Будова гемометра ГС-3 (гемометра Салі). Гемометр ГС-3 складається з пластмасового корпусу з трьома гніздами, задню стінку зроблено з матового скла. У два крайні гнізда вставлено запаяні пробірки, які містять кольоровий розчин солянокислого гематину. Середня відкрита градуйована пробірка призначена для досліджуваної крові. На ній нанесено дві шкали: одна показує концентрацію гемоглобіну в г% (градуювання від 2 до 23 г%), друга – відносних одиницях (градуювання до 140). 16,7 г% гемоглобіну прийнято за 100 одиниць. На всі три пробірки гемометра нанесено контрольні кругові позначки, які при аналізі мають бути на одному рівні. До приладу додано капіляр-піпетку на 20 мкл (0,02 мл) крові, скляні палички та очну піпетку (рис. 3.3).



а – запаяні пробірки зі стандартом, б – градуйована пробірка.

Рисунок 3.3. Гемометр Салі

Хід проведення. У градуйовану пробірку гемометра Салі очною піпеткою налити 0,1 н розчин соляної кислоти до позначки «10». Потім взяти кров із судини в капіляр до позначки (20 мкл), обітерти кінчик капіляра ватою, занурюють його у пробірку і видути кров на дно пробірки так, щоб верхній шар соляної кислоти залишився непофарбованим. Не виймаючи піпетку, промити її розчином соляної кислоти з верхнього шару, а потім дистильованою водою, видути її у пробірку. Після цього вміст пробірки перемішати, постукуючи пальцем по дну, поставити пробірку в середнє гніздо гемометра на 5-10 хв. Це час, необхідний для повного перетворення гемоглобіну на солянокислий

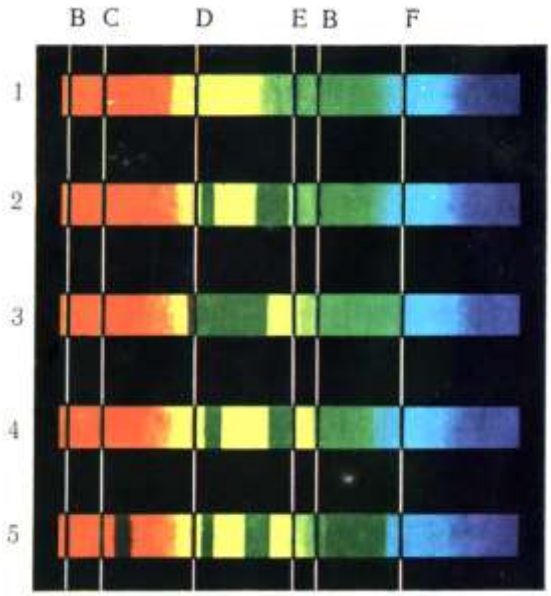
гематин. Потім у пробірку по краплі додати очною піпеткою дистильовану воду доки колір розчину не стане однаковим із стандартом. Додаючи воду, розчин перемішати скляною паличкою. Провести відлік по градуйованій шкалі пробірки. Цифра на рівні нижнього меніска одержаного розчину по шкалі грампроценти (г%) вказує на абсолютний вміст гемоглобіну (кількість гемоглобіну в 100 г крові). Друга шкала вказує на відносний вміст гемоглобіну – кількість гемоглобіну даної крові, виражена у відсотках до верхньої межі норми (16,7 г%).

Оформити протокол, записати одержані результати. Зробити висновки щодо вмісту гемоглобіну в крові, виходячи з показників норми (абсолютний вміст гемоглобіну в крові чоловіків – 14,0-16,0 г% і жінок – 12,0-14,0 г%; відносний вміст гемоглобіну в крові чоловіків – 80-90 % і жінок – 70-80 %).

Завдання 3. Якісне визначення сполук гемоглобіну.

Принцип методу. Гемоглобін взаємодіє з киснем, утворюючи оксигемоглобін: Hb+O2 ↔ HbO2. Оксид вуглецю має більшу спорідненість до гемоглобіну, ніж кисень: HbO_2+CO ↔ HbCO+O_2.

Цим пояснюється висока токсичність окису вуглецю. Проте, оскільки ця реакція зворотна, є можливість витіснити CO, помістивши хворого в атмосферу, збагачену киснем. У здорових людей гемоглобін в крові знаходитися, головним чином, у вигляді оксигемоглобіну, карбогемоглобіну і в невеликій кількості – метгемоглобіну, карбоксигемоглобіну (рис. 3.4).



1 – сонячний спектр; 2 – оксигемоглобін; 3 – гемоглобін; 4 – карбоксигемоглобін; 5 – метгемоглобін.

Рисунок 3.4. Спектри поглинання гемоглобіну та його похідних

Гемоглобін і його похідні являють собою забарвлені сполуки і мають характерні спектри поглинання у видимій області При спектральному аналізі HbO_2 має 2 смуги поглинання в зеленій (578) і жовтої області (540). Смуги поглинання HbCO розташовані подібним чином, але дещо зрушені в короткохвильову область. Hb дає одну широку смугу поглинання (смугу Стокса – 554). Метгемоглобін дає смугу поглинання в червоній області (637).

Спектри поглинання гемоглобіну та його похідних зарисувати в зошит.

Завдання 4. Розрахунок колірного показника крові.

Принцип методу. Співвідношення між кількістю гемоглобіну крові та числом еритроцитів називають колірним показником. Колірний показник (КП) дозволяє оцінити ступінь насичення еритроцитів гемоглобіном.

Клінічне значення. Обчислення колірного показника має діагностичне значення при захворюваннях крові. За величиною колірного показника прийнято ділити анемії на гіпохромні, нормохромні і гіперхромні. Гіпохромні анемії (з колірним показником менше 0,85) широко поширені і спостерігаються насамперед при дефіциті заліза, викликаному різними причинами. Особливо вираженою гіпохромії (0,6-0,5 і нижче) характеризуються залізодефіцитні анемії, обумовлені хронічними крововтратами. Менш виражена гіпохромія еритроцитів (0,7-0,8) спостерігається при залізодефіцитної анемії вагітних, при інфекціях, пухлинах. підвищення колірного показника – гіперхромія – є характерною ознакою B_{12}-дефіцитних і фолієводефіцитних анемій. Особливо виражена гіперхромія еритроцитів (1,2-1,3) при рецидивах анемії Аддісона-Бірмера. Нормохромні анемії спостерігаються при деяких гемолітичних формах недокрів'я, гострих крововтратах, лейкозах, які супроводжують цироз печінки.

Хід проведення. Колірний показник розрахувати його за формулою 3.2:

$$КП = \frac{\text{встановлена кількість гемоглобіну} \times \text{встановлена кількість еритроцитів}}{\text{нормальна кількість гемоглобіну} \times \text{нормальна кількість еритроцитів}}.$$

Наприклад, якщо в крові знайдено 80% гемоглобіну та 4 млн/мкл еритроцитів, то колірний показник крові буде дорівнювати:

$$\frac{80}{100} \div \frac{4000000}{5000000} = \frac{80 \times 5000000}{100 \times 4000000} = \frac{8 \times 5}{10 \times 4} = 1.$$

На практиці колірний показник можна вираховувати діленням встановленої кількості гемоглобіну на три перші цифри встановленого числа еритроцитів та множенням отриманого на 5.

У патології колірний показник може бути вище одиниці (гіперхромазія) або нижче одиниці (гіпохромазія). У нормі він складає 0,8-1,0.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 5. Визначення середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті.

Принцип методу. Показник відображає абсолютний вміст гемоглобіну в одному еритроциті в пікограмах (пг).

Клінічне значення. Зниження відображає гіпохромію та спостерігається при залізодефіцитних анеміях, підвищення має місце при макроцитарних і, особливо, мегалоцитарних анеміях.

Хід проведення. Визначити шляхом ділення концентрації гемоглобіну в 1 мкл крові на число еритроцитів в тому ж об'ємі.

Приклад: концентрація гемоглобіну в крові дорівнює 12 г / 100 мл, кількість еритроцитів в 1 мкл крові – 4 000 000.

$$12\text{ г \%} = 12000\text{ мг / 100 мл} = 12\text{ мг в 1 мкл} = 120000000\text{ пг } (1\text{пг} = \frac{1}{1000000000}\text{ мг}).$$

Середній вміст гемоглобіну = $\frac{120000000\text{пг}}{4000000} = 30$ пг, тобто практично треба вміст гемоглобіну в г / 100 мл помножити на 10 і розділити на число мільйонів еритроцитів в крові. Розрахунок показника можна зробити по номограмі (за Мазоном). У сучасних гематологічних автоматах цей показник (MCH) визначають розрахунковим шляхом. Нормальні величини складають 24-33 пг.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 6. Визначення середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті.

Принцип методу. Показник відображає ступінь насичення еритроцита гемоглобіном в процентах.У нормі на 100 мл крові припадає 42 мл еритроцитів, а вміст гемоглобіну на 100 мл становить 14,5 г гемоглобіну.

Клінічне значення. Зниження показника відображає абсолютну гіпохромію і є характерним для залізодефіцитних анемій. Чутливість цього індексу еритроцитів при залізодефіцитних анеміях становить 85%. Зниження показника виявлено так само при макроцитарних і особливо мегалоцитарних анеміях, коли обсяг еритроцитів, збільшений непропорційно більше значно порівняно зі збільшенням насичення еритроцитів гемоглобіном.

1. MCH – Mean Corpuscular Hemoglobin.
2. MCHC – Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration.
3. MCV – Mean Corpuscular Volume.

Хід проведення. Середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті розрахувати за формулою 3.3:

Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті = (Hb, г на 100 мл / загальний об'єм еритроцитів, мл на 100 мл) × 100 (3.3).

Враховуючи, що 42 мл еритроцитів містять 14,5 г гемоглобіну, скласти просту пропорцію та отримати результат: 100 мл еритроцитів містять 34,5 г гемоглобіну.

Можна обчислити шляхом ділення концентрації гемоглобіну в г / 100 мл на гематокритну величину і множення на 100.

Приклад: концентрація гемоглобіну 12 г / 100 мл, гематокрит 40 об.%.

Середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті розрахувати за формулою 3.4:

$$(\text{МСНС})^2 = \frac{12}{40} * 100 = 30\% \qquad (3.4).$$

Можна легко розрахувати, використовуючи номограму за Мазоном (рис. 3.5). Показник включений в програму сучасних гематологічних автоматів.

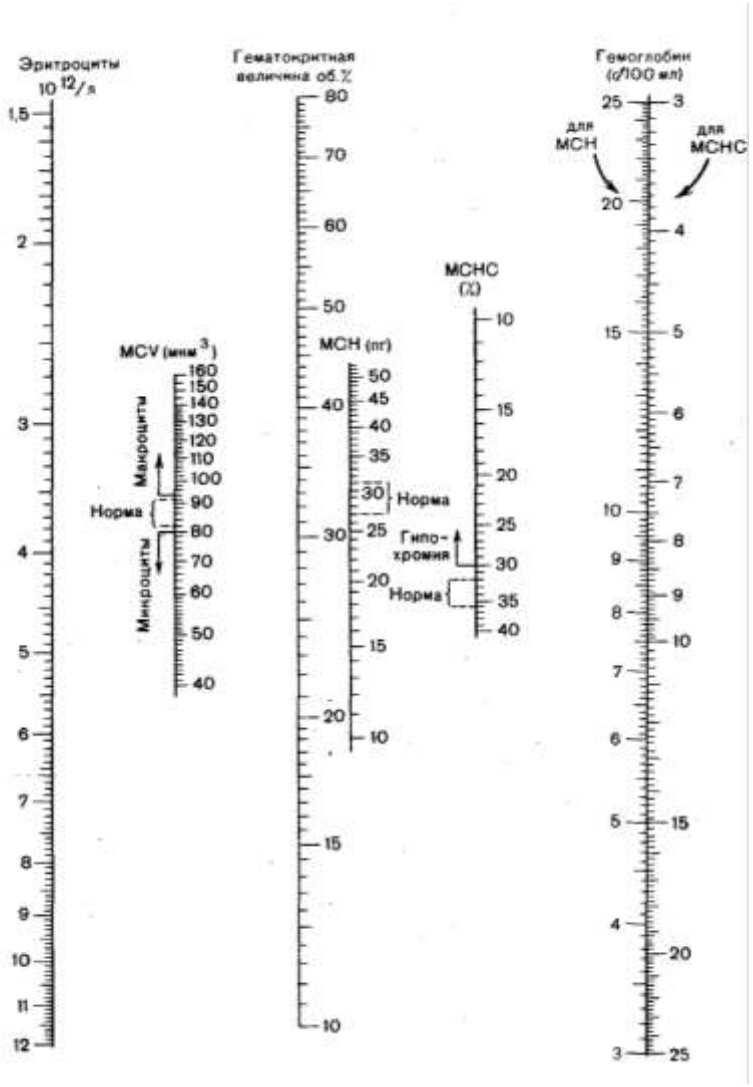


Рисунок 3.5. Номограма для обчислення індексів еритроцитів за Мазоном

Нормальні величини МСНС коливається в межах 30-38%. Величина найбільш константна, насичення вище 38% не буває.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 7. Визначення середнього об'єму еритроцитів.

Принцип методу. Показник є важливим при діагностиці різних форм недокрів'я.

Клінічне значення. Підвищення показника спостерігається при макроцитарних і мегалоцитарних анеміях, особливо високе значення відмічається при B_{12}-дефіцитних анеміях. Зниження показника відзначається при мікроцитарних анеміях.

Хід проведення. Обчислити шляхом ділення гематокритної величини на загальну кількість еритроцитів у крові. Середній обсяг еритроцитів $(MCV)^3$ виражають у кубічних мікронах або кубічних мікрометрах.

Приклад: гематокрит – 40 об.% (або 0,40 мм^3, або 400 000 000 мкм^3); еритроцити – 4 500 000 в 1 мкл. Розрахувати за формулою 3.5:

$$MCV = \frac{400000000 мкм^3}{4500000} = \frac{4000}{450} = 88 мкм^3 \qquad (3.5).$$

Практично для обчислення показника треба величину гематокриту поділити на число еритроцитів в мільйонах і помножити на 10.

Можна розрахунок вести по номограмі.

У програмі сучасних гематологічних комплексів і автоматів цей параметр визначають або кондуктометрично (вітчизняний гематологічний комплекс КГ-2), або розрахунковим шляхом. Нормальні величини складають 75-95 мкм^3.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 8. Підрахунок кількості ретикулоцитів у мазку крові.

Принцип методу. Виявлення зернисто-сітчастої субстанції еритроцитів при забарвлені лужним барвником з подальшим підрахунком їх у мазку крові.

Клінічне значення. Ретикулоцити – молоді еритроцити. В умовах стимуляції еритропоезу при анемії кількість ретикулоцитів у периферичній крові збільшується. Зменшення кількості ретикулоцитів або відсутність їх свідчить про пригнічення або припинення еритропоезу.

Хід проведення. *Приготування мазка крові*. Для виявлення ретикулоцитів використати прижиттєве забарвлення їх у нефіксованому вологому мазку крові. При забарвленні на предметному склі нанести на нього попередньо тонкий шар барвника – діаманткрезилового синього (1,2 % розчин в абсолютному спирті). Потім зробити на цьому склі звичайний мазок крові та швидко помістити його у вологу камеру (чашка Петрі з вологим фільтрувальним папером) на 10 хв. За цей час сухий барвник, попередньо нанесений на предметне скло, забарвлює еритроцити, особливо їх базофільні елементи, які є в молодих еритроцитах. Базофільні елементи клітини випадають у вигляді сіточки (ретикулуму) або зерен. Після забарвлення протягом 10 хв у вологій камері мазок вийняти і висушити його на повітрі, а потім дослідити під мікроскопом при імерсійному

збільшенні з піднятим конденсором. При забарвленні таким методом еритроцити стають зеленими або жовто-зеленими, а зернисто-ретикулярна субстанція – темно-синьою.

Підрахунок кількості ретикулоцитів. Переглядаючи мазок, порахувати в обмеженому полі зору еритроцити (до 1000) і визначити кількість ретикулоцитів у цьому ж полі зору у відсотках (%). Обмеження поля зору досягти вкладанням усередину окуляра вирізаної з паперу діафрагми.

Нормальний вміст їх у крові дорослих людей – 0,5-4%; у новонароджених – 2,8-6%; у дітей 6 міс. – 1,4%; 1 року – 0,9%.

У протоколі роботи зарисувати ретикулоцити, навести результати підрахунку їх кількості і зробити висновок про інтенсивність еритропоезу в обстеженої людини.

Завдання 9. Отримання кристалів геміну та вивчення їх під мікроскопом.

Принцип методу. Гемоглобін крові в присутності концентрованої оцтової кислоти та хлориду натрію переходить у сполуку, що називається гемін. У геміні залізо тривалентне та пов'язане з хлором. Практично для отримання кристалів геміну додається тільки концентрована оцтова кислота, або іони Na^+ та Cl^- завжди є в плазмі крові.

Клінічне значення. Гемін має характерну форму кристалів (рис. 3.6), що дозволяє використовувати цю реакцію в практиці судової медицини для виявлення плям крові.

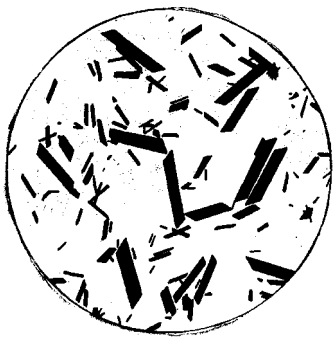


Рисунок 3.6. Кристали геміну під мікроскопом

Хід проведення. Помістити краплю крові на край предметного скла та розподілити її по всій поверхні тонким шаром. Для цього друге предметне скло приставити коротким краєм до краплі крові так, щоб між двома скельцями утворився гострий кут. Зробити мазок крові, переміщуючи друге скло по поверхні першого.

Підсушити мазок на повітрі (без нагріву). Зішкребти підсушену кров, залишивши її на тому ж склі. Додати 1-2 краплі концентрованої оцтової кислоти, ретельно перемішати, накрити покривним склом та дуже повільно, обережно нагрівати отриману суміш, проносячи скло над полум'ям спиртівки.

Знайти кристали геміну, що утворилися, при малому збільшенні, а потім розглянути їх при великому збільшенні. Зарисувати форму кристалів у зошит.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Опишіть будову камери Горяєва.
2. Як практично можна визначити рівень гемоглобіну в крові?
3. Про що свідчить зниження колірного показника в крові?
4. Опишіть спектри поглинання гемоглобіну у видимій області світла.
5. В яких випадках використовується номограма за Мазоном?
6. На що вказує зменшення кількості ретикулоцитів у мазку крові?

Лабораторна робота №4
Тема: Якісні та кількісні зміни еритроцитів

Мета: Вивчити види еритроцитів, аномальні за розміром, забарвленням і формою, вміти розпізнавати їх на мазках периферичної крові, сформувати уявлення про причини та захворювання, при яких спостерігаються дані патології. Знати види кількісних змін еритроцитів і стани, що вони супроводжують.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Зміни розміру еритроцитів (анізоцитоз).
2. Зміни форми еритроцитів (пойкілоцитоз).
3. Анізохромія еритроцитів, причини та захворювання, при яких спостерігається дана патологія.
4. Елементи патологічної регенерації клітин червоного паростка.
5. Кількісні зміни еритроцитів.

1. Анізоцитоз еритроцитів – це присутність в крові еритроцитів, що розрізняються за розміром. Анізоцитоз еритроцитів у загальному аналізі крові свідчить про те, що розмір кров'яних частинок відрізняється від стандартного. Нормальний розмір еритроцитів становить 7,2-8,0 мкм. Допускається присутність в крові невеликого числа (порівняно з загальною кількістю) тілець нестандартного розміру. У середньому ця величина становить 30%. Тобто вважається нормою, якщо в крові 15% клітин мають розмір, менший, порівняно зі стандартним, а 15% тілець мають більший, ніж у них, діаметр. Еритроцити, менші за діаметром (<6,9 мкм) називаються мікроцитами. Великі по діаметру еритроцити поділяються ще на дві групи: 1) макроцити: 8мкм<d<12мкм; 2) мегалоцити: d>12мкм. Якщо клітини крові значно відрізняються за розміром від припустимої величини, буде поставлений діагноз «Підвищений анізоцитоз еритроцитів».

Судячи з того, клітини яких розмірів переважають у крові, розрізняють мікроцитоз, змішаний тип і макроцитоз. Анізоцитоз змішаного типу займає проміжне місце між мікро- і макроцитозом, так як при ньому в крові присутні і дрібні, і великі кров'яні тіла. Наприклад, анізоцитоз змішаного типу з

переважанням мікроцитів означає, що в крові розміри частинок неоднорідні, але більшість складають дрібні по діаметру.

Для позначення ступеня гетерогенності існує спеціальний індекс – RDW («ширина розподілу червоних клітин») або індекс анізоцитозу еритроцитів. Тобто, RDW показує неоднорідність розмірів популяції еритроцитів у досліджуваному зразку.

Виділяють два типи показників RDW-CV і RDW-SD. Перший показник RDW-CV показує відсотковий розподіл клітин за величиною. Другий RDW-SD відображає їх стандартне відхилення, тобто різницю за розміром між найменшим і найбільшим еритроцитом у зразку крові.

Визначення індексу RDW-CV проводиться гематологічним аналізатором автоматично за спеціальною формулою, в якій враховується середній об’єм еритроцитів MCV крові і середньоквадратичне відхилення від MCV. Розрахований таким чином показник прийнято позначати у відсотках. Норма RDW-CV 11-15%. RDW-CV напряму залежить від значення середнього об'єму еритроцитів MCV, тому, якщо більшість з клітин у популяції будуть малими (як при мікроцитозі), показник RDW-CV залишиться в межах норми. RDW-CV менш чутливий до присутності невеликої популяції мікроцитів, макроцитів або ретикулоцитів, але краще відображає загальні зміни в розмірі еритроцитів при макроцитарній або мікроцитарній анемії.

Також в результатах аналізу крові можна зустріти і абревіатуру RDW-SD. Цей показник визначається за іншою методикою і не залежить від середнього об’єму еритроцитів. Визначення RDW-SD являє собою пряме вимірювання ширини еритроцитарної гістограми на рівні 20% висоти кривої, висота RBC-гістограми приймається за 100%. Вимірюється RDW-SD у фл (фемтолітрах) і відображає різницю між максимальним і мінімальним об’ємом клітин еритроцитів у досліджуваному зразку. Норма RDW-SD 35-60 фл. RDW-SD є більш чутливим показником при появі у популяції еритроцитів невеликої кількості макроцитів і мікроцитів, так як вимірює нижню частину кривої розподілу еритроцитів за об'ємом. Також цей показник буде швидше змінюватися при ретикулоцитозі, оскільки буде спостерігатися уширення основи еритроцитарної гістограми.

2. Пойкілоцитоз – це термін, який може з’являтися на картині крові і означає збільшення кількості циркулюючих в крові пойкілоцитів, які є еритроцитами, що мають аномальну форму. Еритроцити мають округлу форму, плоскі і мають більш світлу центральну область в центрі за рахунок розподілу гемоглобіну. Через зміни в мембрані еритроцитів можуть відбуватися зміни їх форми, внаслідок чого циркулюють еритроцити різної форми, що може заважати їх функції.

Основними пойкілоцитами, виявленими при мікроскопічній оцінці крові, є дрепаноцити, дакриоцити, еліпоцити та кодоцити, які часто з’являються при анеміях, тому важливо їх ідентифікувати, щоб анемію можна було диференціювати, що дозволяє діагностувати та почати лікування більше підходить. Мікроскопічно можна спостерігати пойкилоцити з мазка крові, які є:

- сфероцити, в яких еритроцити круглі і менші, ніж нормальні

еритроцити;

- дакриоцити, які є еритроцитами з формою сліз або краплі;

- акантоцит, в якій еритроцити мають спікулярну форму, яка може бути схожа на форму кришки скляної пляшки;

- кодоцити, що є еритроцитами в цільовому форматі за рахунок розподілу гемоглобіну;

- еліптоцити, в яких еритроцити мають овальну форму;

- дрепаноцити, які є серпоподібними еритроцитами і які з'являються переважно при серповидноклітинній анемії;

- стоматоцити, які є еритроцитами, які мають вузьку область в центрі, схожу на рот;

- шизоцити, в яких еритроцити мають невизначену форму.

У звіті про гемограму, якщо під час мікроскопічного дослідження виявлено пойкілоцитоз, у звіті зазначено наявність виявлених пойкілоцитів. Ідентифікація пойкілоцитів важлива для того, щоб лікар міг перевірити загальний стан людини і, відповідно до спостереженої зміни, міг вказати на виконання інших тестів, щоб завершити діагностику та розпочати лікування після цього.

Пойкілоцити з'являються як наслідок змін, пов’язаних з еритроцитами, таких як біохімічні зміни мембрани цих клітин, обмінні зміни ферментів, аномалії, пов'язані з гемоглобіном та старінням еритроцитів. Ці зміни можуть статися при декількох захворюваннях, в результаті яких пойкілоцитоз є основною ситуацією:

3. Анізохромія в загальному аналізі крові – це стан, при якому спостерігається нерівномірність фарбування еритроцитів. Це пов'язано з вмістом у них гемоглобіну. Чим його більше в червоних клітинах крові, тим вони більш яскравого кольору. Ті ж еритроцити, які містять недостатню кількість гемоглобіну, виглядають блідіше. В аналізі крові такий показників визначається як колірний.

Головною функцією еритроцитів є транспортування кисню з легенів у тканині організму. Чим більше гемоглобіну містять дані клітини крові, тим швидше відбувається насичення організму киснем. Але в усьому має бути міра. Тому фахівці виділили оптимальний вміст гемоглобіну в еритроцитах, що дозволяє забезпечити максимально ефективну роботу всього організму. Відхилення від нормальних показників може говорити про наявність патологічних процесів.

Анізохромія в загальному аналізі крові може проявлятися у вигляді нормохромії, гіпохромії та гіперхромії. Розглянемо ці явища докладніше:

1) нормохромія є станом норми, при якому еритроцити мають рівномірно рожеве фарбування з невеликою плямою світлого кольору посередині;

2) гіпохромія – зниження рівня гемоглобіну в еритроцитах. При цьому відбувається порушення доставки кисню до тканин, що призводить до гіпоксії органів. Як правило, анізохромія в загальному аналізі крові такого типу свідчить про анемію. У даний час фахівці виділяють три ступені гіпохромії:

а) середня частина кров 'яної клітини значно світліша за показник норми;

б) червоним кольором пофарбована тільки периферія еритроциту;

в) еритроцит залишається світлим, спостерігається лише почервоніння мембрани клітини.

3) гіперхромія – тип анізохромії крові, який свідчить про перенасичення еритроцитів гемоглобіном. Кров'яна клітина має яскраво-червоний колір без просвітлення в середині. Сам еритроцит збільшено в розмірах. Даний стан є досить небезпечним, оскільки може призводити до розвитку небезпечних станів через те, що клітини стають не здатні виконувати свою транспортну функцію.

Анізохромія в нормі може бути присутньою і у абсолютно здорової людини, але відсоток нерівномірно пофарбованих клітин настільки малий, що вони практично не виявляються за допомогою аналізу крові.

Причинами гіпохромії є: 1) анемії – основна причина розвитку даного стану. Вони можуть бути декількох видів: залізодефіцитна, залізонасичена (в організмі концентрація заліза знаходиться в межах норми, але під впливом певних факторів воно погано всмоктується клітинами) і залізоперерозподільна (розвивається при руйнуванні еритроцитів під впливом різних патологічних процесів); 2) кровотечі; 3) вагітність і підлітковий вік; 4) захворювання шлунково-кишкового тракту; 5) хронічні хвороби (наприклад, бронхіт або вада серця); 6) хронічні гнійні запальні процеси, що відбуваються в організмі; 7) неправильне харчування з браком білка; 8) прийом деяких лікарських препаратів; 9) отруєння.

Причинами гіперхромії є: 1) дефіцит вітаміну В12 і фолієвої кислоти; 2) кишкові захворювання; 3) вроджені захворювання; 4) спадковий фактор; 5) злоякісні утворення шлунка або легенів; 6) гепатити; 7) наявність глистів; 10) захворювання крові; 11) патологічні стани нирок; 12) наслідки променевої або хіміотерапії, що застосовуються при лікуванні лейкозів; 13) порушення нормального функціонування кісткового мозку.

До виявлення анізохромії в загальному аналізі крові людина може помітити у себе симптоми, які вказують на розвиток даного патологічного стану. До них належать: 1) швидка стомлюваність; 2) зниження концентрації уваги; 3) занепад сил; 4) перепади настрою; 5) запаморочення; 6) учнівське серцебиття без видимих на те причин; 7) задишка; 8) головний біль; 8) шум у вухах; 9) блідість шкірних покривів; 10) порушення сну; 11) підвищена чутливість шкіри; 12) випадання волосся; 13) оніміння кінцівок; 14) втрата нюху і смаку.

4. При зміні типу кровотворення з еритробластичного на мегалобластичний у крові з’являються так звані клітини патологічної регенерації: а) мегалобласти – дуже великі клітини (діаметром 12–15 мкм) з базофільною, поліхроматофільною або ацидофільною цитоплазмою, що містять велике, зазвичай ексцентрично розташоване ядро з ніжною хроматиновою ґраткою; б) мегалоцити – без’ядерні клітини, які утворюються при дозріванні мегалобластів. Мають діаметр 10–12 мкм і більше, зазвичай інтенсивно забарвлені, злегка овальної форми, без властивого еритроцитам просвітління в центральній частині.

Включення в еритроцитах є результатом патологічної регенерації клітин червоного паростка. При мегалобластичному типі еритропоезу в еритроцитах визначаються кільця Кебота, тільця Жоллі, пилинки Вейденрейха, основним компонентом яких є ДНК. Тільця Жоллі – утворення розміром 1–2 мкм, які є залишками ядерної субстанції; кільця Кебота – залишки ядерної оболонки, що мають форму кільця або вісімки; тільця Гайнца – преципітати денатурованого гемоглобіну; базофільна зернистість – скупчення базофільної речовини цитоплазми, що свідчать про токсичне ураження червоного кісткового мозку.

5. Кількісні зміни еритроцитів можуть носити фізіологічний, компенсаторний або патологічний характер, проявлятися у вигляді збільшення (понад 6×10^{12}/л) або зменшення кількості (понад $3{,}7\times10^{12}$/л) еритроцитів у периферичній крові.

Еритроцитоз – стан, який характеризується збільшенням кількості еритроцитів у периферичній крові. У відповідності до механізмів розвитку цього стану розрізняють відносний та абсолютний еритроцитоз.

Відносний еритроцитоз виникає в тому випадку, коли збільшується кількість еритроцитів в одиниці об'єму крові в зв'язку зі згущенням крові, але еритропоез не активується. Це може бути при фізичному навантаженні, а також опіках, коли виникає виражена плазмовтрата крізь ранову поверхню, при нестримній блювоті у випадку кишкової непрохідності, токсикозі вагітності, при діареях, які супроводжують холеру, дизентерію та інші кишкові інфекції.

Абсолютний еритроцитоз – стан, який характеризується збільшенням кількості еритроцитів у периферичній крові внаслідок підсилення еритропоезу.

Абсолютний еритроцитоз буває двох видів:

- компенсаторний еритроцитоз, який забезпечує розвиток компенсаторно-пристосувапьних реакцій в умовах патології, наприклад при серцевій недостатності, у здорових людей – мешканців високогірних районів у зв'язку з хронічною гіпоксією та стимуляцією еритропоезу;

- патологічний еритроцитоз, який не забезпечує адаптаційних реакцій, має місце при пухлинному ураженні нирок, надниркових залоз, гіпофіза, що супроводжується підсиленням продукції гуморальних і гормональних факторів.

Еритропенія – стан, який характеризується зменшенням кількості еритроцитів у периферичній крові. У відповідності до механізмів розвитку еритропенії можуть носити відносний та абсолютний характер.

Відносна еритропенія обумовлена збільшенням надходження рідини в організм, розжиженням крові, що викликає зменшення кількості еритроцитів в одиниці об'єму крові при збереженому еритропоезі.

Абсолютна еритропенія пов'язана з різними патологічними факторами: пригніченням еритропоезу, підсиленням руйнування еритроцитів або з підсиленою крововтратою, що призводить до зменшення вмісту еритроцитів у периферичній крові.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Вивчення аномальних за розміром видів еритроцитів.

Таблиця 4.1 – Види аномальних за розміром еритроцитів

Вид змін	Зображення	Характеристика
Шизоцитоз		Наявність у мазках крові еритроцитів з діаметром … мкм. Патологічні стани:
Мікроцитоз		Наявність в мазках крові еритроцитів з діаметром … мкм. Патологічні стани:
Макроцитоз		Наявність в мазках крові еритроцитів з діаметром … мкм. Патологічні стани:
Мегалоцитоз		Наявність в мазках крові еритроцитів з діаметром … мкм. Патологічні стани:

Заповнити таблицю 4.1: зарисувати зовнішній вигляд аномальних еритроцитів, вказати їх розмір і патологічні стани, при яких ці клітини зустрічаються.

Завдання 2. Вивчення аномальних за формою видів еритроцитів.

Таблиця 4.2 – Види аномальних за формою еритроцитів

Зміна форми еритроцита	Зображення	Характеристика
Сфероцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Мікросферо-цити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Овалоцити (еліптоцити)		Особливості морфології: Зустрічаються при:

Стоматоцити (гідроцити)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Дрепаноцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Конвертопо-дібні еритроцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Мішенеподібні еритроцити (кодоцити)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Акантоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Ехіноцити (еритроцити у вигляді «морського їжака»)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Кератоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Дакріоцити – сльозоподібні еритроцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Хвостаті еритроцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Ахромоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Анулоцити, планоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Шистоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
«Bizzard»-форми		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Клітини - «жетони»		Особливості морфології: Зустрічаються при:
«Монетні стовпчики»		Особливості морфології: Зустрічаються при:

Заповнити таблицю 4.2: зарисувати зовнішній вигляд аномальних за формою еритроцитів, вказати особливості їх морфології і патологічні стани, при яких ці клітини зустрічаються.

Завдання 3. Вивчення елементів патологічної регенерації.

Таблиця 4.3 – Елементи патологічної регенерації

Включення	Зображення	Характеристика
Кільця Кебота		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Тільця Жоллі		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Порошинки Вейденрейха		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Базофільна зернистість		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Тільця Гейнця-Ерліха		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Гранули гемосидерину		Особливості морфології: Зустрічаються при:

Завдання 4. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. У хворого М., 39 років, з хронічною дихальною недостатністю при загальному аналізі в крові виявлено:

Аналіз крові при надходженні:

Еритроцити	$6{,}6 \times 10^{12}$/л
Гемоглобін	182 г/л
Ретикулоцити	3,7%
Колірний показник	розрахувати
Лейкоцити	$7{,}2 \times 10^{9}$/л
базофіли	0,5%
еозинофіли	2%
нейтрофіли:	
– юні	0%
– паличкоядерні	6%
– сегментоядерні	62%
лімфоцити	25%
моноцити	4,5%
Тромбоцити	200×10^{9}/л
У мазку незначний анізоцитоз	

1. Визначте характер змін периферичної крові в даному випадку.
2. Який патогенез цих змін?

Ситуаційна задача № 2. Хворий Т., 54 років, протягом останніх 6-8 міс скаржиться на частий головний біль, пов'язаний з підвищенням артеріального тиску. Він перебуває на диспансерному обліку з приводу артеріальної гіпертензії.

При дослідженні крові під час оформлення санаторно-курортної карти виявлено:

Аналіз крові при надходженні:

Еритроцити	$7{,}1\times10^{12}$/л
Гемоглобін	178 г/л
Ретикулоцити	4,8%
Колірний показник	розрахувати
Лейкоцити	$15{,}6 \times 10^{9}$/л
базофіли	1%
еозинофіли	6%
нейтрофіли:	
– юні	2%
– паличкоядерні	11%
– сегментоядерні	62%
лімфоцити	14%
моноцити	4%
Тромбоцити	490×10^{9}/л
Насичення артеріальної крові киснем становить 96%.	

1. Для якої патології системи крові характерні подібні зміни?
2. З якою метою хворому проведено дослідження напруги кисню в крові?
3. Яка ймовірна причина підвищення артеріального тиску в даному випадку?

Ситуаційна задача № 3. 50-річний хворий, що страждає на артеріальну гіпертензію, звернувся з приводу підвищення температури до 38-39 °С протягом 3 тижнів. Антибактеріальна терапія цефотаксимом була неефективною. При амбулаторному обстеженні виявлено підвищення в крові кількості еритроцитів і рівня гемоглобіну. Анамнез хворого без особливостей. Не курить, алкоголем не зловживає. Протягом 2 років спостерігалося підвищення артеріального тиску до 170/100 мм рт. ст. Лікується гіпотензивними препаратами без вираженого ефекту. З боку внутрішніх органів – без особливостей.

Аналіз крові при надходженні:

Еритроцити	6,5 $\times 10^{12}$/л
Гемоглобін	170 г/л
Колірний показник	розрахувати
Лейкоцити	9×10^{9}/л
базофіли	0%
еозинофіли	2%
нейтрофіли:	
– юні	2%
– паличкоядерні	6%
– сегментоядерні	64%
лімфоцити	26%
моноцити	2%
Тромбоцити	250×10^{9}/л
ШОЕ	5 мм/год
При розгляді попередніх аналізів крові звертає на себе увагу тенденція до збільшення кількості еритроцитів протягом останніх декількох місяців. Загальний аналіз сечі: відносна щільність – 1018, білок – 0,66‰, еритроцити – 10-15 у полі зору, лейкоцити – 2-3 у полі зору. При рентгенографії органів грудної клітини патології не виявлено. УЗД нирок – збільшення розмірів лівої нирки, невеликий конкремент. Проведена комп'ютерна томографія.	

1. Визначте характер змін периферичної крові в даному випадку.
2. Який патогенез цих змін?

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Назвіть види аномальних за розміром еритроцитів.
2. Які форми еритроцитів належать до аномальних?
3. Про що свідчить збільшення кількості регенеративних форм еритроцитів у периферичній крові?
4. Охарактеризуйте елементи патологічної регенерації.
5. При яких хворобах спостерігається анізохромія еритроцитів?
6. Чим відрізняються абсолютний еритроцитоз від відносного?

Лабораторна робота №5
Тема: Анемії

Мета: Розглянути етіологію, класифікацію, характеристику різних видів анемій та вміти їх диференціювати. Знати картину крові при цих видах патології крові.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Анемії: визначення, етіологія та класифікація.
2. Постгеморагічні анемії.
3. Гемолітичні анемії.
4. Анемії внаслідок порушення кровотворення.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Анемія, або недокрів'я, – патологічний стан, що характеризується зниженням концентрації гемоглобіну і в переважній кількості випадків числа еритроцитів в одиниці об'єму крові. При важких формах анемій в крові можуть з'являтися патологічні форми еритроцитів.

Етіологія анемій включає гострі та хронічні кровотечі, інфекції, запалення, інтоксикації (солями важких металів), глистяні інвазії, злоякісні пухлини, авітамінози, захворювання ендокринної системи, нирок, печінки, шлунка, підшлункової залози. Анемії часто розвиваються при лейкозах, особливо при гострих їх формах, при променевій хворобі. Крім того, велику роль відіграють патологічна спадковість та порушення імунної реактивності організму.

Загальними симптомами для всіх форм анемій, виникнення яких пов'язане з основною ланкою патогенезу недокрів'я – гіпоксією, є блідість шкірних покривів та слизових оболонок, задишка, серцебиття, а також скарги на запаморочення, головний біль, шум у вухах, неприємні відчуття в області серця, різка загальна слабкість і швидка втомлюваність. У легких випадках недокрів'я загальні симптоми можуть бути відсутні, так як компенсаторні механізми (посилення еритропоезу, активація функцій серцево-судинної та дихальної систем) забезпечують фізіологічну потребу тканин киснем.

Класифікація анемій. В основу існуючих класифікацій анемій покладені морфологію еритроцита, здібність кісткового мозку до регенерації, патологічні ознаки захворювання з урахуванням важливих етіологічних факторів.

За механізмом розвитку виділяють три основні види анемій: внаслідок крововтрати (постгеморагічні); внаслідок підвищеного гемолізу еритроцитів (гемолітичні); внаслідок порушення кровотворення.

Морфологічними критеріями, що покладені в основу класифікацій анемій, є величини колірного показника (КП), середнього діаметра еритроцитів (СДЕ) та тип кровотворення.

За колірним показником анемії поділяються на гіпохромні (КП = 0,8 та нижче), нормохромні (КП = 0,9-1,0) та гіперхромні (КП вище 1,0).

За величиною СДЕ розрізняють мікроцитарні (СДЕ нижче 7,2 мкм), нормоцитарні (СДЕ в межах 7,2-8,0 мкм) та макроцитарні анемії (СДЕ вище 8,1 мкм). В групу макроцитарних анемій входять і мегалоцитарні анемії (мегалобластичні), при яких СДЕ перевищує 9,0 мкм.

За типом кровотворення анемії можна розділити на дві групи: з нормобластичним типом кровотворення (нормальний еритропоез:

еритробласт —> пронормобласт —> нормобласт базофільний —> нормобласт поліфроматофільний —> нормобласт оксифільний —> еритроцит) та з мегалобластичним типом кровотворення (промегалобласт —> мегалобласт базофільний —> мегалобласт поліхроматофільний —> мегалобласт оксифільний —> мегалоцит).

За здібністю кісткового мозку до регенерації розрізняють анемії регенераторні (з достатньою функцією кісткового мозку), гіпорегенераторні (зниження регенераторної функції кісткового мозку) та арегенераторні (гіпо- та апластичні) – з різким пригніченням процесів еритропоезу. Оцінити функціональний стан кісткового мозку при анеміях допомагають лейко-еритробластичні співвідношення, які можливо визначити на мазках кісткового мозку при підрахунку мієлограм. У нормі співвідношення складає 4:1, при анеміях з достатньою функцією кісткового мозку знижується до 1:1 або навіть 1:2-1:3, при важких формах недокрів'я може доходити до 1:8. Показником достатньої регенеративної здатності кісткового мозку слугує ретикулоцитоз, що розвивається. У нормі на суправітально забарвлених мазках периферичної крові виявляється 5-10% ретикулоцитів (розрахунок ведеться на 1000% еритроцитів), при анеміях з достатньою функцією кісткового мозку їх кількість може збільшуватись до 50-100% та вище, при арегенераторних анеміях ретикулоцити виявляються у вигляді поодиноких екземплярів або зовсім відсутні.

Анемія завжди являє собою частковий симптом якого-небудь загального захворювання і в зв'язку з цим анемії розділяють на гіпохромні, нормохромні та гіперхромні.

2. Розрізняють гостру та хронічну постгеморагічну анемію. Гостра розвивається внаслідок масивних крововтрат від травм, кровотеч шлункових, маточний, при розриві фаллопієвої труби при позаматковій вагітності. Відразу знижується маса циркулюючої крові, вміст еритроцитів та гемоглобіну. КП близький до 1, показник гематокриту не знижується. Через 1-2 дні маса крові відновлюється за рахунок надходження тканинної рідини. До 4-5 дня підсилюється функція кісткового мозку і в крові збільшується вміст молодих форм еритроцитів (поліхроматофілів, ретикулоцитів, нормобластів). Анемія протікає по типу регенераторної. Процес утворення еритроцитів випереджає їх дозрівання із-за дефіциту заліза (гіпохромний характер анемії). КП знижений. Розвивається нейтрофільний лейкоцитоз зі зсувом вліво.

Хронічна постгеморагічна анемія розвивається внаслідок невеликих повторних кровотеч (виразки, легеневі, ниркові, носові та інші кровотечі). Протікає по типу гіпохромної, залізодефіцитної анемії. У мазках крові анізоцитоз, пойкілоцитоз, анізохромія еритроцитів, мікроцити. Виявляється лейкопенія за рахунок нейтропенії, інколи зі зсувом вліво.

Загальна ознака таких анемій – скорочення тривалості життя еритроцитів. Механізм розвитку цього виду анемій пов'язаний з підвищеним руйнуванням (гемолізом) еритроцитів периферичної крові або з загибеллю дозріваючих клітин еритроїдного ряду в кістковому мозку. Гемоліз еритроцитів може відбуватись внутрішньоклітинно, як звичайний фізіологічний, або

безпосередньо в судинах. Головна ознака внутрішньоклітинного гемолізу – збільшення селезінки (спленомегалія), внутрішньосудинного руйнування – поява гемоглобіну в сечі (гемоглобінурія), що супроводжується зміною її забарвлення майже до чорного кольору. В обох випадках в крові накопичується велика кількість непрямого білірубіну, що проявляється жовтяницею. Гемолітичні анемії, пов'язані зі збільшеною загибеллю еритроцитів периферичної крові, відносяться до групи регенераторних анемій з нормобластичним типом еритропоезу.

3. У залежності від причин виникнення розрізняють спадкові та набуті гемолітичні анемії. Спадкові гемолітичні анемії діляться на три великі групи:

1) мембранопатії еритроцитів з характерною морфологією клітин (сфероцитоз, еліптоцитоз, стоматоцитоз та інші);

2) ензимопенічні (ферментопенічні) анемії, або еритроцитарні ензимопатії (пов'язані з дефіцитом ферментів ПФЦ-глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та інші; пов'язані з дефіцитом ферментів гліколізу – піруваткінази та інші; пов'язані з порушенням метаболізму нуклеотидів – дефіцит піримідин-5-нуклеотидази та інші);

3) гемоглобінопатії («якісні» гемоглобінопатії – HbS, C, D, E та інші та «кількісні» гемоглобінопатії – таласемії).

Мембранопатії. Основна їх патогенна ланка – генетичний дефект білково-ліпідної структури мембрани еритроцитів, що призводить до зміни форми та пластичності клітин. У результаті порушується здатність еритроцитів деформуватись у вузьких ділянках кровотоку. Найбільш часто зустрічається хвороба Мінковського-Шоффара, що супроводжується дефіцитом АТФ-ази, внаслідок чого підвищується проникність мембрани для іонів Na, скорочується тривалість життя еритроцитів до 12-14 днів, у вигляді сфероцитів.

Ензимопатії. У світі 1/20 людства – носії дефіциту ферменту глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази. При її дефіциті блокується реакція окиснення глюкозо-6-фосфату в пентозо-фосфатному циклі (ПФЦ), внаслідок чого зменшується утворення відновленої форми глютатіону, що запобігає окисненню SH-групи глобіну та мембрани еритроцитів. Аномалія передається з Х-хромосомою, тому серед хворих переважають чоловіки. Клінічні прояви, що розвиваються по типу гострої гемолітичної кризи, спостерігаються при вживанні ліків з окислювальними властивостями, при вживанні в їжу кінських бобів стручкових рослин (фавізм), на фоні вірусного гепатиту та грипу.

Гемоглобінопатії (гемоглобінози). Пов'язані зі спадковими порушеннями синтезу гемоглобіну. «Якісні» гемоглобінопатії супроводжуються порушенням первинної структури гемоглобіну, «кількісні» характеризуються зниженням швидкості синтезу поліпептидних ланцюгів глобіну.

Гемоглобіноз S виникає з успадкуванням патологічного гемоглобіну S, в якому гідрофільна глютамінова кислота в шостому положенні β-ланцюга глобіну заміщена на гідрофобний валін. Така заміна змінює сумарний заряд гемоглобіну, зменшує його розчинність. При падінні парціального тиску кисню відбувається агрегація (кристалізація) гемоглобіну, що і лежить в основі однієї з важливих ознак гемоглобінозу S – серповидність еритроцитів. Серповидні

еритроцити (або дрепаноцити) збільшують в'язкість крові, сповільнюють кровоток, викликають стаз. Стаз призводить до розвитку гіпоксемії, ще більше збільшуючи утворення цих клітин. У результаті зменшується міцність мембран дрепаноцитів, збільшується їх гемоліз. Важка анемія проявляється лише у гомозиготних по HbS носіїв.

Таласемія (середземноморська анемія). Вона пов'язана з порушенням швидкості синтезу α-, β-, та γ-ланцюгів нормального гемоглобіну A_1 і в залежності від цього розрізняють α-, β-, та γ-таласемію. Недостатній синтез β-ланцюгів призводить до надлишкового утворення α-ланцюгів. Зайві α-ланцюги сприяють появі нестабільного гемоглобіну, який преципітує та випадає в еритроциті у вигляді «тілець включення», надаючи їм форму мішені. Крім того, зайві α-ланцюги взаємодіють з SH-групами мембрани та підвищують її проникність, що веде до підвищеного гемолізу.

Набуті гемолітичні анемії. Виділяють імунні гемолітичні анемії та анемії, що пов'язані з дією прямих гемолізинів та інших пошкоджуючих факторій. Імунні гемолітичні анемії характеризуються утворенням антитіл, дія яких направлена проти антигенів, що знаходяться на поверхні еритроцитів. Автоімунні гемолітичні анемії виникають в результаті утворення антитіл до власних еритроцитів, що може бути пов'язано зі змінами антигенної структури мембрани еритроцитів внаслідок дії різних пошкоджуючих факторів або обумовлено порушеннями в самій імуннокомпетентній системі хворого. Ізоімунні гемолітичні анемії виникають при дії ізоімунних антитіл. До цієї групи анемій відносяться гемолітичні анемії, пов'язані з резус-несумісністю або несумісністю по групі АВО між матір'ю та плодом. Сюди ж відносяться і посттрансфузійні анемії, обумовлені несумісністю по груповій або резус-приналежності. Анемії під дію прямих гемолізинів та інших пошкоджуючих факторів. Ця група анемій об'єднує гемолітичні стани, при яких повноцінні в морфофункціональному відношенні еритроцити руйнуються під дією гемолітичних (свинець, бензол, зміїна та грибна отрути), бактеріальних (токсини гемолітичного стрептокока, стафілокока) та інших факторів.

4. Анемії внаслідок порушення кровотворення – група анемій, об'єднані одним загальним механізмом розвитку, який пов'язаний з порушенням або повним зупиненням еритропоезу в результаті дефіциту речовин, необхідних для здійснення нормального кровотворення, носить назву дефіцитних анемій. Сюди відносять дефіцит мікроелементів (залізо, мідь, кобальт), вітамінів (B_{12}, B_6, B_2, фолієва кислота) та білків.

При заміщенні кістковомозкової порожнини жировою, кістковою або пухлинною тканиною (метастази пухлин в кістковий мозок, лейкоз), а також при дії фізичних (іонізуюча радіація) та хімічних факторів, деяких мікробних токсинів та лікарських препаратів розвиваються анемії внаслідок скорочення платцдарма кровотворення.

Залізодефіцитні анемії складають 80-95% усіх форм недокрів'я. Найбільш часто зустрічаються у дітей молодшого віку, дівчат-підлітків та жінок дітородного віку. Основна патогенетична ланка захворювання – зниження вмісту заліза в сиворотці крові, кістковому мозку та депо. У результаті

порушується синтез гемоглобіну, виникають гіпохромна анемія та трофічні порушення в тканинах, ознаками яких є: сухість, в'ялість шкіри, ломкість нігтів, випадання волосся, атрофія слизової оболонки язика, дисфагія, порушення смаку, м'язова слабкість. На клітинному рівні порушується активність ферментів. Картина крові: гіпохромія (КП<0,85, Hb<110 г/л), кількість еритроцитів, як правило, на вихідному рівні, інколи збільшення ретикулоцитів у периферичній крові, виявляється анізоцитоз з переважанням мікроцитів (важлива морфологічна ознака). У кістковому мозку порушуються процеси гемоглобінізації еритрокаріоцитів, коли збільшується кількість базофільних та поліхроматофільних нормобластів при паралельному зниженні оксифільних форм. У сиворотці крові кількість заліза падає до 5,4-1,8 мкмоль/л (40-30 мкг%) при нормі 12,5-30,4 мкмоль/л (70-170 мкг%). Різко зменшується і залізозв'язуюча здатність сироватки (кількість заліза, яке може зв'язатись з трансферином, в нормі складає 30,6-84,6 мкмоль/л (або 70-470 мкг%). Вміст ферритину знижується до 9-1,5 мкг/л (у нормі 12-300 мкг/л).

B_{12}-дефіцитні та фолієводефіцитні анемії. При дефіциті вітаміну B_{12} і фолієвої кислоти має місце порушення утворення піримідинових або пуринових основ, синтезу ДНК та РНК, розвиваються анемії, що характеризуються наявністю в кістковому мозку мегалобластів. Співпадання дефіциту вітаміну B_{12} та фолієвої кислоти зустрічається рідко, частіше спостерігається ізольований дефіцит вітаміну B_{12}. Дефіцит вітаміну B_{12} є наслідком порушення його всмоктування при зниженні секреції внутрішнього фактора Касла, частіше в результаті атрофії слизової шлунка або відсутності шлунка. B_{12}- та фолієдефіцитні стани розвиваються при вагітності, порушенні всмоктування вітаміну B_{12} в кишечнику, при нестачі надходженні з їжею.

Перніціозна анемія (хвороба Аддисона-Бірмера) пов'язана з вітамінним дефіцитом B_{12}. Частіше розвивається у людей похилого віку. Розрізняють звичайну форму дорослих та вроджену, що характеризується ураженням трьох систем: травної, нервової та системи крові (гіперхромна анемія, перехід на мегалобластичний тип кровотворення). Останній обумовлений різким зниженням активності B_{12}-залежних ензимів, що приймають участь в метаболізмі фолатів, необхідних для синтезу ДНК. Порушення кровотворення пов'язане зі сповільненням темпу мегалобластичного еритропоезу в результаті збільшення часу мітотичного циклу і скорочення числа мітозів: замість трьох мітозів, що характерно нормобластичному еритропоезу, спостерігається один. Термін життя еритроцитів скорочується до 30-40 днів. Розпад мегалобластів, які не встигли перетворитись в еритроцити, разом з їх сповільненою диференціацією призводить до того, що процеси кровотворення не компенсують процеси руйнування крові. Розвивається анемія. Картина крові: гіперхромія (КП = 1,2-1,5), пойкілоцитоз з тенденцією до овалоцитозу, анізоцитоз з вираженим макроцитозом та мегалоцитозом; можуть виявлятись поліхроматофільні та оксифільні мегалобласти, еритроцити з тільцями Жоллі, кільцями Кабо, азурофільною зернистістю. Середній діаметр збільшений (до 8,2-9,5 мкм) та об'єм (до 110-160 фл), лейкопенія з нейтропенією, гіперсегментовані еритроцити, тромбоцитопенія.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. За даними підручників, атласу, таблиць та інших джерел заповнити таблицю 5.1.

Таблиця 5.1 – Морфо-функціональна характеристика деяких анемій

Анемія	Тип кровотворення	КП	Розмір клітин	Здібність кісткового мозку до регенерації	Найбільш характерні патологічні форми еритроцитів	Зміни з боку лейкоцитарного та тромбоцитарного паростка
Гостра постгеморагічна						
Fe-дефіцитна						
B_{12} - і фолієводефіцитна						
Таласемія						
Автоімунна гемолітична						
Апластична						

Охарактеризувати різні види анемій за морфофункціональними ознаками:

I. За типом кровотворення:
1) мегалобластичні:
2) нормобластичні:
II. За колірним показником:
1) гіпохромні:
2) гіперхромні:
3) нормохромні:
III. За розмірами клітин:
1) мікроцитарні:
2) макроцитарні:
3) нормоцитарні:
IV. За здатністю кісткового мозку до регенерації:
1) гіпо- та арегенераторні:
2) регенераторні і гіперрегенераторні:

Завдання 2. Вивчення мазка крові при залізодефіцитній анемії.

Розглянути під мікроскопом при збільшенні 10×90 мазок периферичної крові хворого на залізодефіцитну анемію. Відзначити наявність гіпохромних еритроцитів; невеликий анізо- і пойкілоцитоз.

Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при залізодефіцитній анемії. Позначити цифрами на малюнку і записати під ним назву побачених клітин еритроцитарного ряду. Для малювання використовувати кольорові олівці.

Завдання 3. Вивчення мазка крові при B_{12} - і фолієводефіцитній анемії.

Під мікроскопом при збільшенні 10×90 розглянути мазок крові хворого на B_{12} - і фолієводефіцитну анемію. Звернути увагу на виражений анізоцитоз, пойкілоцитоз (круглі, грушоподібні, овальні еритроцити); анізохромію та гіперхромію, наявність мегалоцитів, еритроцитів з тільцями Жоллі, кільцями Кабо, базофільною пунктацією; а також одиничних мегалобластів і гігантських полісегментоядерних лейкоцитів.

Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при B_{12} - і фолієводефіцитній анемії. Позначити цифрами на малюнку і записати під ним назву побачених клітин еритроцитарного ряду. Для малювання використовувати кольорові олівці.

Завдання 4. Вивчення мазка крові при апластичній анемії.

Розглянути під мікроскопом при збільшенні 10×90 мазок периферичної крові хворого на апластичну анемію. Звернути увагу на тенденцію до панцитопенії, відсутність поліхроматофілії, базофільної зернистості і ретикулоцитів.

Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при апластичній анемії. Позначити цифрами на малюнку і записати під ним назву клітин еритроцитарного ряду. Для малювання використовувати кольорові олівці.

Завдання 5. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. Хворий 66 років скаржиться на серцебиття, загальну слабкість, парестезії, зниження чутливості в ногах, порушення смаку, нюху.

У крові: еритроцити – $2{,}1\times10^{12}$/л, Hb – 84 г/л, КП – 1,2, макроцитоз, полісегментація ядер нейтрофілів.

1. Який тип кровотворення у хворого?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даного стану?

Ситуаційна задача № 2. Чоловік 42 років скаржиться на слабкість, серцебиття, носові кровотечі, поява крововиливів на шкірі. Об'єктивно: стан тяжкий, на шкірі тулуба і кінцівок петехіальні крововиливи, лімфовузли пальпуються, пульс – 116 уд/хв, печінка – +2 см, селезінка не пальпується. У крові: виражена панцитопенія.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 3. Хвора 60 років скаржиться на слабкість, запаморочення, тяжкість у верхній частині живота, парестезії пальців рук і ніг. Об'єктивно: жовтушність шкіри, язик малинового кольору, гладкий. Гепатомегалія.

У крові: Hb – 90 г / л, еритроцити – $2{,}3\times10^{12}$/л, ретикулоцити – 0,2%; КП – 1,2, макроцитоз; тільця Жоллі, кільця Кебота.

1. Про яке захворювання йде мова?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 4. Чоловік 43 років проходить медичний огляд. Об'єктивно: блідість шкіри і слизових оболонок, згладженість сосочків язика, поперечна смугастість нігтів, тріщини в куточках рота, тахікардія.

Вміст гемоглобіну в крові – 90 г/л; анізоцитоз, пойкілоцитоз.

1. Недостатнє надходження якого мікроелементу в організмі є найбільш імовірним причинним фактором даної хвороби?
2. Як зветься ця хвороба?

Ситуаційна задача № 5. Хворий 20 років поступив в хірургічне відділення зі скаргами на кровотечу з різаної рани на правому передпліччі, яке триває протягом 1,5 доби. Турбують загальна слабкість, запаморочення, холодний піт, мерехтіння "мушок" перед очима. Шкіра та видимі слизові оболонки бліді. Пульс – 110 уд/хв, АТ – 100/70 мм рт. ст.

У крові: Hb – 100 г/л, еритроцити – $2{,}5\times10^{12}$/л.

1. Чим обумовлений загальний стан хворого?
2. Про яке захворювання йде мова?

Ситуаційна задача № 6. Хворий 18 років скаржиться на періодичну появу жовтушного забарвлення шкіри, млявість, тяжкість в лівому підребер'ї. Об'єктивно: лімфовузли не збільшені, печінка біля краю реберної дуги, селезінка – +3 см.

У крові: еритроцити – $2{,}7\times10^{12}$/л, Hb – 84 г/л, КП – 0,96, ретикулоцити – 18%, еритрокаріоцити, мікросфероцити. Непрямий білірубін – 32 мкмоль/л. Вміст заліза в сироватці крові – 23,5 ммоль/л.

У сечі – гемосидерин.

1. Який найбільш ймовірний діагноз?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 7. Студентка 20 років під час іспиту втратила свідомість. Росла в багатодітній родині, часто хворіла на гострі респіраторні захворювання. Об'єктивно: шкіра і слизові оболонки бліді, волосся посічені, нігті крихкі.

У крові: еритроцити – $2,7\times10^{12}$/л, Hb – 75 г/л, КП – 0,7, лейкоцити – $3,2\times10^{9}$/л, тромбоцити – 210×10^{9}/л, ШОЕ – 30 мм/год. Залізо сироватки крові – 6 ммоль/л.

1. Який найбільш ймовірний діагноз?
2. Яка основна патогенетична ланка цього захворювання?

Ситуаційна задача № 8. Хворий 42 років скаржиться на біль у попереку, потемніння сечі, загальну слабкість, запаморочення, що виникли після лікування застуди аспірином і ампіциліном. Об'єктивно: блідий, склери субіктеричні. ЧСС – 98 уд/хв. Печінка – +2 см, селезінка – +3 см.

У крові: еритроцити – $2,6\times10^{12}$/л, Hb – 60 г/л, КП – 0,9, лейкоцити – $9,4\times10^{9}$/л, базофіли – 0,5%, еритроцити – 3%, паличкоядерні лейкоцити – 6%, сегментоядерні лейкоцити – 58%, лімфоцити – 25%, моноцити – 7%, ШОЕ – 38 мм/год, ретикулоцити – 24%. Загальний білірубін – 38 ммоль/л.

1. Яке ускладнення виникло у хворого?
2. Яка причина розвитку цієї хвороби?

Ситуаційна задача № 9. Хлопчик 3-х років, родом з Ірану, поступив у стаціонар зі скаргами на слабкість, блідість, жовтушність шкіри, зниження апетиту.

Хлопчик від першої вагітності, що протікала без ускладнень, маса тіла при народженні 3750 г, зріст 52 см. До 7 місяців перебував на грудному вигодовуванні. Голову став тримати з 4,5 місяців, до року не ходив, перші зуби прорізалися в 8 місяців. З анамнезу батьків встановлено, що вони обидва мають анемію, а також анемією страждає дядько батька.

При огляді дитина млява, байдужа до навколишнього світу. Виражена блідість шкіри, іктеричність склер, голова має форму "баштового черепа", монголоїдний тип обличчя (широке запале перенісся, виступаючі виличні кістки), зуби рідко посаджені, виступають вперед. При дослідженні легень патології не виявлено, при дослідженні серця – ніжний систолічний шум на верхівці.

Живіт збільшений в об'ємі, печінка виступає з-під краю реберної дуги на 3 см, селезінка – на 7 см.

В аналізі крові: еритроцити – $1,5\times10^{12}$/л, гемоглобін – 36 г/л, колірний показник – 0,6, ретикулоцити – 16%, лейкоцити – 10×10^{9}/л, еозинофіли – 3%, юні – 6%, паличкоядерні – 11%, сегментоядерні – 38%, моноцити – 2%, лімфоцити – 40%, ШОЕ – 40 мм/год, пойкілоцитоз +++, анізоцитоз +++. Мінімальна осмотична стійкість – 0,56% розчин NaCl, максимальна – 0,24% розчин NaCl.

1. Який найбільш ймовірний діагноз?
2. Яка основна патогенетична ланка цього захворювання?

Ситуаційна задача № 10. Дівчинка 3-х років поступила в стаціонар зі скаргами на блідість, жовтушність, різку слабкість, відчуття тяжкості в лівому підребер'ї.

Дівчинка від першої, вагітності і пологів, що нормально протікали, з 4 місяців відзначена періодично виникає жовтяниця різного ступеня вираженості, що не супроводжується зміною кольору сечі і калу. У матері в анамнезі також відзначаються епізоди жовтяниці. Раніше дівчинку не обстежували.

При огляді загальний стан важкий. Шкірні покриви інтенсивно жовтого забарвлення, склери іктеричні. Легені і серце без патології. Печінка виступає з-під реберної дуги на 3 см, край рівний, гладкий. Селезінка виступає з-під реберної дуги на 7 см, щільна, болюча при пальпації. Сеча солом'яно-жовтого кольору. Стілець оформлений, коричневого кольору. Звертає на себе увагу гетерохромія райдужок, високе стояння ясен, вузькі зубні дуги.

Аналіз крові: еритроцити – $2{,}27\times10^{12}$/л, гемоглобін – 67 г/л, лейкоцити – 8×10^{9}/л, еозинофіли – 1%, паличкоядерні нейтрофіли – 1%, сегментоядерні нейтрофіли – 40%, лімфоцити – 55%, моноцити – 3%, ШОЕ – 30 мм/год, ретикулоцити – 21%, мікросфероцитоз +++.

1. Який Ваш можливий діагноз?
2. Якими патологічними змінами супроводжується ця хвороба?

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. На які групи поділяються анемії за середнім діаметром еритроцитів?
2. Дайте характеристику гемолітичним анеміям.
3. Які кількісні зміни з боку червоної крові (вміст еритроцитів і гемоглобіну) й еритроцитарних індексів (MCV, MCH, RDW) характерні для залізодефіцитної анемії?
4. Який тип кровотворення характерний для B_{12}- та фолієводефіцитної анемії?
5. За якими ознаками відрізняються залізодефіцитна анемія від B_{12}- і фолієводефіцитної анемій?
6. Охарактеризуйте морфологічні зміни еритроцитів при апластичній анемії.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3. ФІЗІОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ ЛЕЙКОЦИТІВ

Лабораторна робота №6
Тема: Морфо-функціональна характеристика лейкоцитів

Мета: Знати загальну характеристику лейкоцитів. З'ясувати структурно-функціональні особливості гранулоцитів і агранулоцитів. Визначити загальну кількість лейкоцитів та еозинофілів у периферичній крові. Приготувати та пофарбувати мазки крові по Романовському-Гімза. Визначити лейкоцитарну формулу, лейкоцитарний профіль та індекс регенерації (ядерного зсуву).

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильні камери Горяєва, меланжер для лейкоцитів, механічний лічильник для визначення лейкоцитарної формули, штатив, піпетки, піпетка від гемометра Салі, знежирені предметні скельця, шліфоване скло, скарифікатори, кювета з містками, пінцети анатомічні, штатив для висушування мазків на повітрі, банка або невисока скляночка для фіксації мазків, гумова груша, вата, 96% етиловий спирт, метиловий спирт, 4%-й розчин оцтової кислоти, підфарбований метиленовим синім, барвник Романовського-Гімзи, 1 % розчин еозину, ацетон, дистильована вода.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Загальна характеристика лейкоцитів.
2. Структурно-функціональні особливості гранулоцитів.
3. Структурно-функціональні особливості агранулоцитів.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Лейкоцити на відміну від еритроцитів – це клітини, що містять ядро, структурна організація яких ідентична іншим клітинам організму. Розміри лейкоцитів варіюють від 4 до 20 мкм. Тривалість життя також досить варіабельна та складає від 4-5 до 20 діб для гранулоцитів і моноцитів, для лімфоцитів – до 100-120 діб. Кількість лейкоцитів у периферичній крові здорової людини коливається від 4×10^9 /л до 9×10^9 /л. Кількість лейкоцитів у периферичній крові не є стабільним показником навіть в умовах фізіологічної норми, вона} зазнає сезонних, добових коливань у відповідності зі змінами балансу гормонів, вітамінів, нервової регуляції лейкопоезу. Збільшення кількості лейкоцитів у крові має назву лейкоцитозу, зменшення – лейкопенії.

Лейкоцити поділяють на 2 групи:

1) гранулоцити (нейтрофільні, еозинофільні, базофільні);

2) агранулоцити (моноцити, лімфоцити).

Лейкограма, або лейкоцитарна формула, – процентне співвідношення різних видів лейкоцитів у крові: нейтрофіли – 46-76%; еозинофіли – 1-5%; базофіли – 0-1%; моноцити – 2-10%; лімфоцити – 18-40%.

Індекс регенерації (нейтрофільний індекс) – це співвідношення молодих (мієлоцитів, метамієлоцитів, паличкоядерних) форм нейтрофільних лейкоцитів до старих (сегментоядерних).

У нормі він дорівнює 0,065. Цей індекс дозволяє судити про стан червоного кісткового мозку. Розрізняють зсуви (зрушення) в лейкоцитарній формулі вліво та вправо. Зсув вліво є наслідком підвищеної функції червоного кісткового мозку та супроводжується збільшенням в крові молодих форм нейтрофілів. Зсув вправо – пониження функції червоного кісткового мозку – характеризується збільшенням вмісту в крові старих форм нейтрофільних лейкоцитів.

Лейкоцити мають наступні фізіологічні властивості, що забезпечують виконання їх функцій:

1) амебоїдна рухливість;

2) міграція (діапедез) – здібність лейкоцитів проникати через стінки неушкоджених капілярів;

3) фагоцитоз.

Функції лейкоцитів:

1) захисна (фагоцитоз мікробів, бактерицидна та антитоксична дія, участь в імунних реакціях, у процесі згортання крові й фібринолізі);

2) регенеративна – сприяє загоєнню ушкоджених тканин;

3) транспортна – лейкоцити є носіями ряду ферментів.

Імунітет – здібність організму захищатися від генетично чужорідних тіл і речовин.

Імунітет буває вроджений і набутим, що розвивається після перенесених інфекційних захворювань, імунізації (щеплень), передачі антитіл плоду або дитині від матері через плаценту або з молозивом. Виділяють також клітинний і гуморальний імунітет. Клітинний імунітет обумовлений активністю Т-лімфоцитів. За рахунок клітинного імунітету знищуються чужорідні антигени на поверхні власних клітин організму, відторгається чужорідна, пересаджена тканина, а також знищуються генетично перероджені клітини власного організму. Гуморальний імунітет обумовлений В-лімфоцитами, які беруть участь у формуванні захисних антитіл проти антигенів і специфічно зв’язуються з ними. Зв'язування антитіл з антигеном полегшує поглинання антигену фагоцитами.

Фагоцитоз – різновид клітинного імунітету, що характеризується розпізнаванням, поглинанням і перетравлюванням фагоцитами різних чужорідних корпускулярних об’єктів і відмираючих клітин. Процес фагоцитозу забезпечується клітинами – фагоцитами при наявності фагоцитабельного об’єкту фагоцитозу в певних умовах середовища. У залежності від локалізації виділяють внутрішньосудинний і тканинний фагоцитоз, який може бути завершеним і незавершеним. Завершений фагоцитоз закінчується повним знищенням чужорідного об’єкту та обумовлює розвиток високої неспецифічної резистентності до дії інфекційних патогенних факторів. Незавершений фагоцитоз не забезпечує протимікробної захисної функції і сприяє генералізації інфекційного процесу.

Усі клітини, що мають здібність до фагоцитозу, поділяються на 2 групи: мікрофаги (нейтрофіли, еозинофіли, базофіли) і макрофаги (моноцити кісткового мозку в крові, вільні та фіксовані макрофаги тканин). Моноцити трансформуються в тканинні макрофаги по мірі їх міграції з кровотоку.

Макрофаги є основними клітинами мононуклеарно-фагоцитуючої системи (МФС). У різних органах і тканинах макрофаги позначають різними термінами. Так, макрофаги сполучної тканини звуться гістіоцитами, печінки – зірчастими ретикулоендотеліоцитами (купферовськими клітинами), легень – альвеолярними макрофагами.

Виділяють декілька стадій фагоцитозу.

1) стадії наближення (хемотаксис) фагоцита до об'єкта фагоцитозу являє собою рух фагоцита за градієнтом хемоаттрактанту (речовини, що викликає хемотаксис). На поверхні фагоцита є велика кількість рецепторів для хемоаттрактантів. Хемоаттрактанти поділяються на цитотоксини, що безпосередньо реагують на фагоцити, і цитотоксигени, що індукують появу ендогенних хемоаттрактантів;

2) стадія атракції включає опсонізацію, розпізнавання та прикріплення фагоцита до об'єкту фагоцитозу. Здійснюється за допомогою опсонінів сироватки крові, що забезпечують активацію фагоцитозу;

3) стадія поглинання часточки – первинно активний енергозалежний процес, який стимулює виробку АТФ і її розпад, гліколіз і глікогеноліз у нейтрофілах, перитонеальних макрофагах і окислювальне фосфорилювання в альвеолярних макрофагах;

4) стадія кілінга (знищення) життєздатних об'єктів і їх перетравлювання здійснюється за допомогою лізосомальних ферментів фагоцитів.

Важлива роль в регуляції фагоцитів відводиться опсонінам – компонентам плазми крові, здібним осаджатися на поверхні чужорідного об'єкта та робити його більш фагоцитабельним. У відсутність опсонінів фагоцитоз може набувати незавершеного характеру.

Розрізняють: 1) термолабільні опсоніни (субкомпоненти Сз, C_4, C_5; α- і β-глобуліни); 2) термостабільні опсоніни – імуноглобуліни IgG_1, IgG_3 і IgM. Наявність у середовищі лейкотоксинів і антифагінів, що виробляються деякими мікробами (наприклад, збудниками анаеробної газової гангрени), здійснюють негативний вплив на процес фагоцитозу внаслідок розвитку негативного хемотаксису фагоцитів, а також порушення їх функціональних властивостей.

2. Базофіли – кругла клітина з діаметром близько 8-10 мкм. Ядро частіше дволопатеве, оточене оболонкою товщиною близько 5 нм. Великі пурпурні гранули заповнюють всю або майже всю цитоплазму та нашаровуються на ядро, що перешкоджає його диференціації. Гранули багаті на гістамін. Вони містять половину гістаміну, який знаходиться в периферичній крові. Клітини містять гепарин та кислі глікозаміноглікани (хондроітинсульфат, дерматансульфат, гепарансульфат).

Функції базофільних гранулоцитів крові і тканин: підтримка кровотоку в дрібних судинах; трофіка тканин і ріст нових капілярів; забезпечення міграції інших лейкоцитів у тканини; захист кишечнику, шкіри і слизових оболонок при інфікуванні гельмінтами і кліщами; участь у формуванні алергічних реакцій. Базофільні гранулоцити здатні до фагоцитозу, міграції з кровоносного русла в тканини і пересуванню в них.

Основні функції – участь в утворенні біологічно активної речовини гістаміну та гепарину, який входить у протизсідальну систему крові.

На забарвлених по Романському мазках крові еозинофіли мають круглу форму, діаметр клітини коливається в межах 12-16 мкм. Ядро звичайно дволопатеве. Цитоплазма злегка оксифільна та майже повністю заповнена специфічною зернистістю. Гранули сприймають яскраво-червоний колір, за своїм виглядом, нагадують кетову ікру. В еозинофілах визначається високий

вміст гістаміну. Містять багато гістаміну, хоча в цьому відношенні поступаються базофілам. Вони мають не тільки здібність зв'язувати та інактувати гістамін, але й гальмують вивільнення гістаміну з базофілів і опасистих клітин.

Роль еозинофілів полягає у запобіганні проникнення антигену в судинне русло, а саме у генералізації імунної відповіді. Область реакції еозинофіли відмежовують за допомогою нейтралізації продуктів обміну речовин (метаболітів), що беруть участь у знищенні антигену. При утворенні великої кількості метаболітів місце реакції відмежовується за допомогою місцевого некрозу і фіброзування, що також є функцією еозинофілів. Таким чином, еозинофіли завершують імунну відповідь на рівні підслизового і підепітеліального шару, захищаючи організм від безлічі недоцільних загальних імунних реакцій на невеликі дози проникаючих чужорідних антигенів. Цей процес еозинофіли здійснюють разом з IgE – антитілами, базофілами, опасистими клітинами, макрофагами, лімфоцитами і комплементом.

При патологічних станах вельми своєрідно проявляються специфічні функції еозинофілів, які полягають у нейтралізації метаболітів і активації процесів фіброзування (утворення фіброзної тканини в місці дефекту).

Мають здібність до фагоцитозу, об'єктом якого можуть бути бактерії, імунні комплекси, продукти розпаду тканин.

Нейтрофіли при забарвленні по Романському виглядають бузковими завдяки наявності в цитоплазмі дрібної зернистості, що сприймає нейтральне забарвлення. Діаметр клітини – 9-12 мкм. Форма клітин округла, овальна, рідко є невеликі випини по краям. Ядро у юних форм бобоподібне, паличкоядерних – ковбасоподібне, сегментоядерних – у вигляді окремих сегментів.

Цитоплазма клітини слабооксифільна. Безпосередньо під плазмолемою цитоплазма бідна органелами, що сприяє утворенню псевдоподій. В іншій частині цитоплазми містяться органели, включення глікогену і численні гранули, до 200, які сприймають і кислі, і основні барвники. Гранули нейтрофілів, як правило, кулястої форми. Електронна густина їх різна. Гранули поділяються на два типи: азурофільні і специфічні.

Азурофільні (неспецифічні, первинні) гранули з електронно-щільною серцевиною діаметром 0,4-0,8 мкм виникають першими. В них містяться катіонні білки, лізоцим, мієлопероксидази. Це система внутрішньоклітинного переварювання сторонніх тіл. Специфічна (вторинна) зернистість з'являється пізніше, становить 80–90% від загальної кількості гранул. У специфічних гранулах (з електронно-прозорим вмістом) діаметром 0,1-0,3 мкм визначається висока активність лужної фосфатази, колагенази, лізоциму, що володіє антибактеріальними властивостями. Ці речовини беруть участь як у внутрішньо, так і в позаклітинних реакціях. Крім того, описані гранули беруть участь в процесах міграції гранулоцита через стінку капілярів.

Наявність в нейтрофільних гранулоцитах гідролітичних і окислювальних ферментів пов'язана з фагоцитарною активністю цих клітин (близько 80% клітин володіють цією властивістю).

Головною функцією є фагоцитоз, тобто здібність поглинати чужорідні тіла (мікробів та продукуємих у їх організмі отрут). При завершеному фагоцитозі нейтрофіл здібний повністю перетравлювати захоплені ним мікроби. При незавершеному фагоцитозі лейкоцит гине, перше ніж встигне перетворити захоплені ним мікробні тіла.

Виділяючи в навколишнє середовище ферменти, які містять в лізосомах, нейтрофіли руйнують мікроби. На поверхні нейтрофілів адсорбуються антитіла і таким чином транспортуються.

Нейтрофіли руйнують бактерії, метаболізуючи кисень з утворенням продуктів, токсичних для поглинених мікроорганізмів. Оксидазний комплекс, що генерує ці продукти, складається з флавіно- і гемовмісного цитохрому b558. У цих реакціях використовується відновлюючий агент нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФН), а стимуляторами їх є глюкозо-6-фосфат дегідрогенази та інші ферменти гексозомонофосфатного шунту.

У результаті клітина генерує супероксид (О2-) і перекис водню (H_20_2), які виділяються у фагосому для знищення бактерій. Лактоферин бере участь в утворенні вільних гідроксильних радикалів, а мієлопероксидаза, використовуючи галоїди як кофактори, – у продукції гіпохлорної кислоти (HOCl) і токсичних хлорамінів.

Нарівні з виробленням токсичних активних форм кисню нейтрофіл володіє й іншими механізмами (засобами) бактерицидної дії: згубне для мікроорганізмів кисле середовище фагосоми; лізоцим, гідролізує мукопептидну клітинну стінку деяких бактерій; вироблення у фагосоми бактерицидних білків (дефензини і перфорини), що змінюють проникність мембран клітин-мішеней.

Моноцит – велика клітина, 12-18 мкм у діаметрі. Ниркоподібне або бобоподібне ядро, значно виражена блідо-блакитна цитоплазма.

Фізіологічні властивості: Здібні до амебоїдного руху, проявляють виражену фагоцитарну та бактерицидну активність. Моноцити з'являються в осередку запалення після нейтрофілів і виявляють максимум активності в кислому середовищі, де нейтрофіли втрачають свою активність.

В осередку запалення моноцити фагоцитують мікроби, а також загиблі лейкоцити, пошкоджені клітини запаленої тканини, беруть участь у формуванні специфічного імунітету.

Активовані моноцити и тканинні макрофаги здійснюють протипухлинний, противірусний, протимікробний, протизаплідний и протипаразитарний імунітет, продукуючи цитотоксини, інтерлейкин (ІЛ-1), фактор некрозу пухлин (ФНП), інтерферон, бере участь у регуляції гемопоезу та в формуванні специфічної імунної відповіді організму.

Малий лімфоцит – це кругла клітина з діаметром 5-8 мкм. Ядро округле, інтенсивно забарвлюється.

Навколо ядра вузька облямівка синьої цитоплазми. Середні та великі лімфоцити відповідно мають діаметр 8-12 і 12-15 мкм. Ядро за структурою нагадує ядро малого лімфоцита, але менш інтенсивно забарвлене. Облямівка цитоплазми у цих лімфоцитів більш ширша, ніж у малого лімфоцита.

Представляють центральну ланку імунної системи організму. Вони відповідають за формування специфічного імунітету, забезпечують захист від усього чужорідного та зберігають генетичну сталість внутрішнього середовища. Мають здібність розрізнювати в організмі «своє» та «чуже». Здійснюють синтез захисних антитіл, лізис чужорідних клітин.

Лімфоцити поділяються на В-клітини, Т-клітини та НК-клітини.

В-лімфоцити розпізнають чужорідні структури (антигени) і виробляють при цьому специфічні антитіла (білкові молекули, спрямовані проти чужорідних структур).

Т-Лімфоцити виконують функцію регуляції імунітету.

Т-хелпери стимулюють вироблення антитіл, а Т-супресори гальмують її.

Т-кілери можуть руйнувати чужорідні структури, помічені антитілами.

Під дією цих клітин можуть бути зруйновані різні бактерії, ракові клітини, клітини інфіковані вірусами.

NK-лімфоцити здійснюють контроль за якістю клітин організму. При цьому NK-Лімфоцити можуть руйнувати клітини, які за своїми властивостями відрізняються від нормальних клітин, наприклад, ракові клітини.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Визначення кількості лейкоцитів у 1 мкл крові.

Принцип методу. Один з методів підрахунку лейкоцитів – це уніфікований метод підрахунку в лічильній камері. Підрахунок кількості лейкоцитів проводять під мікроскопом в певній кількості квадратів в лічильної камері і перераховують на 1 мкл крові, виходячи з обсягів квадратів і розведення крові.

Клінічне значення. Збільшення кількості лейкоцитів у крові – лейкоцитоз, зменшення – лейкопенія. Про наявність лейкоцитозу свідчить вміст лейкоцитів вище 9×10^9/л крові, про лейкопенії – менше 4×10^9/л. Лейкоцитоз і лейкопенія можуть мати абсолютний або відносний характер. Лейкоцитоз спостерігається при запальних процесах, бактеріальних інфекціях, інтоксикаціях, шоці, гострих крововтратах, коматозному стані, гемолітичному кризі, алергічних реакціях. Лейкопенія спостерігається при гіпотонічному стану, зниженні загального тонусу, голодуванні. Лейкопенія може бути наслідком пригнічуючої дії деяких токсинів на дозрівання і виселення лейкоцитів з кровотворних органів, що спостерігається при деяких інфекційних захворюваннях – грипі, кору, черевному тифі, краснусі, інфекційному гепатиті. Лейкопенія може виникати в результаті дії лікарських засобів – антибіотиків, сульфаніламідів, цитостатичних препаратів.

Хід проведення. У пробірку внести 0,4 мл 4%-го розчину оцтової кислоти, підфарбованого метиленовим синім. Додати (піпеткою від гемометра Салі) 20 мкл крові і добре перемішати. Одержують розведення крові у 20 разів. Заповнити камеру Горяєва, як це робили при підрахунку еритроцитів. Оскільки лейкоцитів менше, ніж еритроцитів, то для точності підрахунок проводити в

100 великих квадратах (які не розграфлені на малі), що відповідає 1600 малим квадратам.

Розрахунок зробити за формулою 6.1:

$$Л = \frac{A \times 4000 \times B}{Б}, \quad (6.1),$$

де Л – кількість лейкоцитів в 1 мкл крові; А – полічена кількість лейкоцитів; Б – кількість малих квадратів, у яких підрахували лейкоцити; В – ступінь розведення крові; 4000 – множник для перерахунку кількості еритроцитів на 1 мкл.

Приклад розрахунку: у 100 великих квадратах (1600 малих) підраховано 148 лейкоцитів, кров розведена у 20 разів.

Кількість лейкоцитів дорівнює: $\frac{148 \times 4000 \times 20}{1600} = 7400$ в 1 мкл.

Оформити протокол досліду. Записати отримані значення кількості лейкоцитів у 1 мкл крові. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення кількості еозинофілів у 1 мкл крові.

Хід проведення. У меланжер для підрахунку лейкоцитів (рис. 6.1) набрати периферичну кров до позначки 1 та розбавити до позначки 11 розчином наступного складу: 2,5 мл 1 % розчину еозину; 2,5 мл ацетону, 50 мл дистильованої води. Розчин перед застосуванням профільтрувати.

Вміст меланжера обережно перемішати протягом 3 хв (при сильному струшуванні еозинофіли руйнуються). Перші дві краплі з меланжера зняти ватним тампоном, а третю нанести на сітку камери Горяєва і під мікроскопом з об’єктивом 15 підрахувати кількість еозинофілів (на двох сітках).

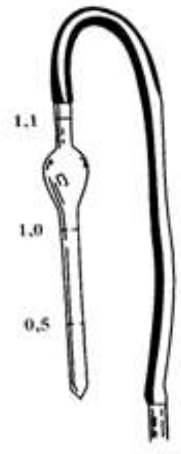


Рисунок 6.1. Змішувач (меланжер) для підрахунку лейкоцитів

Гранули еозинофільних гранулоцитів забарвлюються в чорний колір, цитоплазма – в рожевий. Знайдену цифру перемножте на 100 і поділіть на 18. У результаті отримаєте абсолютні цифри еозинофілів в 1 мкл. Для перерахування в одиниці СІ треба одержану кількість гранулоцитів перемножити на 106 (Г/л).

Оформити протокол досліду. Записати отримані значення кількості еозинофілів у 1 мкл крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Приготування, фіксація та фарбування мазків крові.

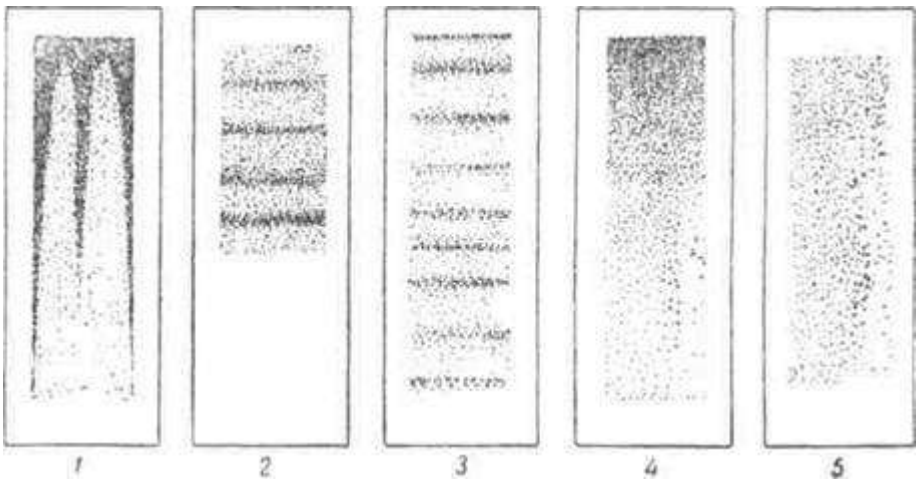
Вимоги до мазків крові:

1. Повинен розпочинатися на 1 см від початку предметного скла і закінчуватися на відстані 2-3 см від його протилежного краю, загальна довжина мазка повинна охоплювати $^1/_2 - ^3/_4$ довжини скла.

2. Бути рівномірної товщини, а не хвилеподібної, гарний мазок більш щільний спочатку, потім поступово щільність зменшується та закінчується у вигляді сліду.

3. Шар крові не повинен досягати краю скла на декілька мм.

Мазки, які перевищують $^3/_4$ довжини предметного скла, бувають дуже товстими; в них еритроцити лежать густим шаром, притиснені один до одного, утворюють монетні стовпчики, що заважає вивченню їх морфології. Мазки менш $^1/_2$ предметного скла занадто тонкі: лейкоцити зустрічаються дуже рідко та деформовані. Коли відсутній вільний від мазка край предметного скла, то більша кількість клітин переміщуються до краю мазка, розподіляючись у ньому нерівномірно. У хвилеподібному мазку розподіл клітин також нерівномірний: товсті ділянки мають більш лімфоцитів, тонкі – моноцитів і сегментоядерних клітин (рис. 6.2).



1 – мазок на погано знежиреному склі; 2 – дуже короткий мазок; 3 – занадто довгий нерівномірний мазок; 4 – занадто товстий мазок; 5 – правильний мазок, тонкий, рівномірний і досить довгий.

Рисунок 6.2. Правильно і неправильно приготовані мазки крові

Хід проведення. Техніка приготування мазка крові:

1. Ретельно знежирити та промити предметне скло: занурити його у розчин хромпіку (суміш $K_2Cr_20_7$ + міцна H_2S0_4) на 24 години, потім промити під проточною водою, протерти насухо та помістити в банку з сумішшю спирт-ефір. Перед використанням висушити.

2. До краплини крові доторкнутися предметним склом так, щоб воно не торкалось пальця. Крапля крові переходить на скло, вона повинна бути діаметром 2-5 мм. Шліфоване скло тримати під кутом 45° на відстані 1-2 мм перед краплиною, утримуючи його великим та вказівним пальцями правої руки. Шліфоване скло зсунути назад так, щоб воно доторкнулось краплі крові і та розпливлася у куті між шліфованим і предметним склом. Швидким рухом руки зробити рух уперед. Шліфоване скло повинно бути вужче, ніж предметне; коли їх ширина однакова, то у шліфованого скла відламати кути, зменшуючи на 1-2 мм (рис. 6.3).

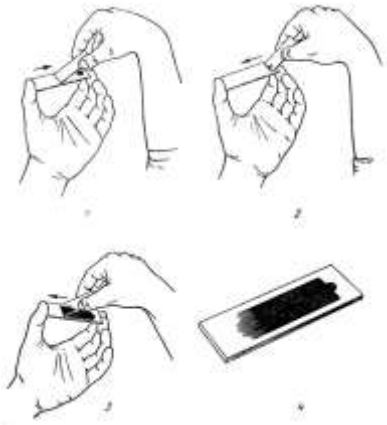


Рисунок 6.3. Етапи приготування мазка крові

Мазки підсушити, зафіксувати за допомогою метилового спирту (3-5 хв) чи етилового спирту (абсолютного – 10-15 хв, 96% – 30 хв). Більш високі результати одержують при фіксуванні метиловим спиртом. Фіксуючу рідину наливають на скло, або скло занурюють у банку з фіксатором.

Після фіксації та підсушування виконати фарбування за методом Романовського-Гімзи. У лабораторіях завжди є готовий розчин цього барвника. Барвник Романовського-Гімзи складається з лужної (азур II) та кислої (еозин) часток. Азур її забарвлює структури клітин у яскраво-синій колір, а еозин у рожево-червоний. Лужні частини клітин зв'язуються та фарбуються кислими барвниками, а кислі – лужними.

Робочий розчин барвника отримати розведенням готового розчину дистильованої води. Вода повинна мати нейтральний рівень pH. Реакцію води визначити гематоксиліновою пробою. У 4-5 мл води кинути крупинку гематоксиліну. Якщо вода має лужну реакцію, то фарбується не пізніше 3-й хв, якщо фарбування починається через 5 хв, або зовсім не відбувається, це

вказує на кислу реакцію води. Якщо вода забарвлюється у рожево-фіолетовий колір через 1-4 хв, тоді вона нейтральна і придатна до споживання.

Робочий розчин барвника приготувати перед фарбуванням. Препарат розташувати мазком униз на 2 скляні палички, покладені на дно чашки Петрі. Барвник підливати під препарат, фарбувати 20-40 хв. Потім мазок промити під струмом води, висушити та мікроскопіювати під масляною імерсією. При фарбуванні за цим методом еритроцити забарвлюються у блідо-рожевий колір, ядра клітин – у синьо-фіолетовий, гранули еозинофілів – у яскраво-червоний, базофілів – у синій, цитоплазма лімфоцитів та моноцитів – у блакитний колір.

Завдання 4. Визначення лейкоцитарної формули.

Хід проведення. Приготувати до роботи світловий мікроскоп. Розглянути мазок при малому збільшенні, потім нанести краплю імерсійного масла, встановити велике збільшення (окуляр – ×7 або ×10, об'єктив – ×90) і підрахувати 100 або 200 лейкоцитів, диференціюючи кількість їх за видами за допомогою 11-клавішного лічильника (рис. 6.4).

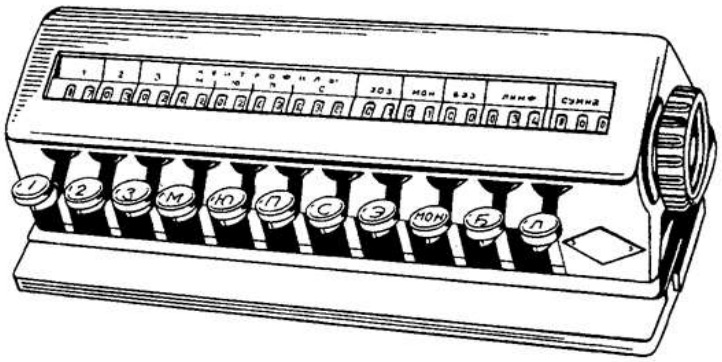


Рисунок 6.4. Механічний лічильник для визначення лейкоцитарної формули

Підрахувати лейкоцити на мазку способом меандрів у чотирьох умовних зонах, розділених поперечної і поздовжньої осьовими лініями, візуально проведеними через центр мазка (рис. 6.5). У кожній зоні треба підрахувати 25% клітин від необхідної кількості (100 або 200).

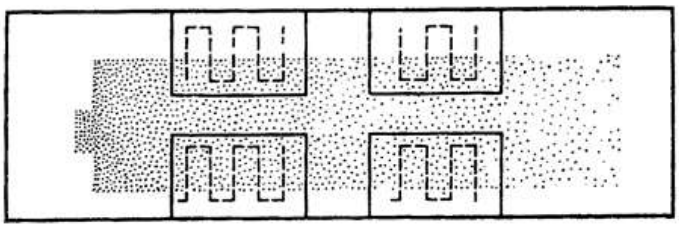


Рисунок 6.5. Підрахунок лейкоцитів способом меандрів у чотирьох умовних зонах крові

Підрахунок на мазку провести наступним чином: підрахувати лейкоцити у 3-4 полях зору вздовж краю мазка, потім у 3-4 полях зору в напрямку до середини мазка; потім підрахувати в 3-4 полях зору паралельно краю мазка і знов повернутися до краю. Такий рух продовжувати доти, доки не будуть підраховані 50 клітин. Тоді на протилежному краю мазка так само підрахувати ще 50 клітин (до суми 100 або 200 клітин). Підрахунок краще робити в найтоншому місці мазка, ближче до кінця, де добре видно структуру клітин.

Нормальні показники лейкоцитарної формули: нейтрофіли – 46-76%; еозинофіли – 1-5%; базофіли – 0-1%; моноцити – 2-10%; лімфоцити – 18-40%.

Оформити протокол досліду. Записати отримані показники лейкоцитарної формули та порівняти їх з табличними даними. Зробити висновки.

Завдання 5. Визначення лейкоцитарного профілю та індексу регенерації (ядерного зсуву).

Хід проведення. Підрахувавши кількість лейкоцитів в 1 мкл крові та знаючи процентне співвідношення елементів білої крові (лейкоцитарна формула), обчислити їх абсолютну кількість у заданому об'ємі (лейкоцитарний профіль).

Формула 6.2 призначена для переводу відносних показників (тобто %) лейкоцитарної формули в абсолютні:

$$\text{Абсолютне значення} = \frac{\%}{100} \times L, \qquad (6.2),$$

де L – кількість лейкоцитів в одиниці об'єму крові (у мкл або л).

Визначення індексу регенерації (ядерного зсуву). Цей показник являє собою відношення суми молодих форм нейтрофілів до зрілих.

Обчислити індекс регенерації за формулою 6.3:

$$\text{Індекс регенерації} = \frac{\%\ М + \%\ Ю + \%\ П}{\%\ С} \qquad (6.3),$$

У нормі він дорівнює 0,065. За індексом регенерації можна судити про віковий склад нейтрофілів. Збільшення цього показника свідчить про активацію мієлопоезу, зниження – про його пригнічення.

Оформити протокол досліду. Записати отримані показники індексу регенерації та порівняти їх з табличними даними. Зробити висновки.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Чому для підрахунку лейкоцитів кров розводять 4 % розчином оцтової кислоти. Для чого цей розчин підфарбовують метиленовим синім?

2. Як практично можна визначити загальну кількість лейкоцитів у крові?
3. Опишіть методику визначення загальної кількості еозинофілів у крові.
4. Які вимоги висуваються до приготовлених мазків?
5. Назвіть основні етапи приготування мазків крові.
6. Яке клінічне значення лейкоцитарного профілю та індексу регенерації (ядерного зсуву)?

Лабораторна робота №7
Тема: Лейкоцитози, лейкопенії та лейкози

Мета: Вивчити зміни якісного та кількісного складу лейкоцитів. Ознайомитися з клінічною оцінкою порушень у системі лейкоцитів. Знати етіологію, класифікацію, характеристику різних видів лейкозів і вміти їх диференціювати.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, імерсійна олія, мазки периферичної крові та кісткового мозку хворих на різні види лейкозів.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Зміни якісного та кількісного складу лейкоцитів.
2. Лейкози: етіологія, класифікація, характеристика видів.
3. Лейкемоїдні реакції.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Патологічні форми лейкоцитів поділяються на регенеративні (виявляються в нормі тільки у кістковому мозку) та дегенеративні (деструктивно змінені) форми. Ознаками дегенерації є: токсогенна зернистість у цитоплазмі нейтрофілів, утворення якої пов’язано з коагуляцією білків під дією інфекційного чи токсичного агента; вакуолізація цитоплазми та (рідше) ядра – ознака жирової дегенерації клітини, найбільш характерна для абсцесів, тяжких форм сепсису, променевої хвороби; анізоцитоз лейкоцитів – поява мікро- та гігантських форм клітин; гіпохроматоз – втрата ядром здатності нормально забарвлюватися, при цьому воно може зберігати чіткі контури (хроматиноліз) або не мати їх (каріоліз); фрагментація – відшнуровування від ядра окремих його фрагментів; пікноз (ущільнення структури хроматину) та рексис ядра – розпад його на окремі, не пов’язані між собою пікнотичні частини; гіперсегментація ядер нейтрофілів (при анемії Аддісона-Бірмера, променевій хворобі та ін.); тільця Князькова-Деле – залишки в цитоплазмі базофілії у вигляді блідо-блакитних грудочок різної форми, що зустрічаються при скарлатині, крупозній пневмонії та ін. інфекціях.

Лейкоцитоз – збільшення загальної кількості лейкоцитів (чи їх окремих форм) за межі верхньої межі норми при фізіологічних і патологічних процесах.

Лейкоцитоз носить тимчасовий характер і зникає разом з причиною, що його обумовлює; це не самостійне захворювання, а реакція кровоносної системи на відповідні етіологічні фактори. У залежності від природи цих факторів розрізняють фізіологічні та патологічні лейкоцитози.

До фізіологічних лейкоцитозів відносять аліментарний (травний), який розвивається через 2-3 години після прийому їжі; міогенний – при м'язовому навантаженні; емоційний – внаслідок психічного збудження; лейкоцитоз новонароджених (протягом перших двох днів життя), вагітних (розвивається з 5-6-го місяця вагітності) та породілля (відмічається до другого тижня після полог). Короткотривалий фізіологічний лейкоцитоз має перерозподільний характер і пов'язаний з виходом в кров'яне русло запасів зрілих лейкоцитів з органів-депо; більш тривалий (новонароджених, вагітних) – зумовлений підвищеною функцією мієлоїдного паростка кісткового мозку.

Серед патологічних лейкоцитозів розрізняють: інфекційний – при пневмонії, менінгіті, скарлатині та ряді інших інфекційних захворювань; запальний (особливо при гнійних запальних процесах) – при різного роду травмах: ураження електричним струмом, дія високої та низької температури і т. ін.; токсогенний – при дії шкідливих речовин як екзогенного (бензол, анілін та ін.), так і ендогенного походження (при уремії, діабетичній комі); постгеморагічний – настає після гострих крововтрат; «новоутворюючий» – при розпаді пухлин; «лейкемічний» – при гострих та хронічних лейкозах. Механізм їх виникнення пов'язаний з підвищенням лейкопоетичної функції кісткового мозку, і лише один вид патологічного лейкоцитозу – «центрогенний» (при шокових станах, епілепсії, агонії; післяопераційний) має перерозподільний характер.

У залежності від збільшення тих чи інших видів лейкоцитів розрізняють нейтрофільний, еозинофільний, базофільний лейкоцитози, лімфоцитоз та моноцитоз.

Нейтрофільний лейкоцитоз (нейтрофілія) – збільшення вмісту нейтрофілів у гемограмі понад 76%. Спостерігається при гострих інфекційних захворюваннях, гнійно-запальних процесах, інфаркті міокарда, укусах, після гострої крововтрати, а також при аліментарному та емоційному фізіологічних лейкоцитозах.

Важливе практичне значення має визначення ступеня ядерного зсуву в лейкоцитарній формулі. За цією ознакою виділяють шість видів нейтрофільного лейкоцитозу:

1) без ядерного зсуву – збільшення кількості зрілих сегментоядерних нейтрофілів на фоні загального лейкоцитозу;

2) з гіпорегенеративним ядерним зсувом вліво – збільшується вміст паличкоядерних форм нейтрофілів (понад 5%) на фоні нейтрофілії; характерний для легкого перебігу ряду інфекцій і запалень;

3) з регенеративним ядерним зсувом вліво – на фоні нейтрофілії та збільшеного вмісту паличкоядерних форм спостерігаються метамієлоцити; загальна кількість лейкоцитів, як правило, збільшується; характерно для гнійно-септичних процесів;

4) з гіперрегенеративним зсувом вліво – характеризується появою в гемограмі ще більш молодих форм лейкоцитів (мієлоцити і навіть окремі промієлоцити та мієлобласти), при цьому еозинофіли часто взагалі відсутні (анеозинофілія). Докладна картина являється тривожним показником, що вказує на несприятливий перебіг інфекційних та гнійно-септичних захворювань;

5) з дегенеративним ядерним зсувом – підвищується вміст паличкоядерних нейтрофілів, що супроводжується появою значної кількості деструктивно змінених сегментоядерних форм (пікноз ядер, токсогенна зернистість і вакуолізація цитоплазми, і т. ін.). Дегенеративний зсув є показником пригнічення функціональної активності кісткового мозку і може мати місце при тяжкому перебігу інфекційних захворюваннях, при ендогенній інтоксикації та ін.;

6) з ядерним зсувом вправо – характеризується появою в гемограмі гіперсегментованих (понад 5 сегментів) нейтрофілів; відмічається при променевій хворобі, злоякісній анемії, проте у ряді випадків може виявлятися і у практично здорових людей.

Еозинофільний лейкоцитоз (еозинофілія) – збільшення вмісту еозинофілів понад 5%. За сучасними уявленнями еозинофілія є своєрідною реакцією організму на надходження в нього чужорідних білків та гістаміну та пов’язана з антисептичною та фагоцитарною функцією еозинофілів.

Розвиток еозинофілії має місце при різноманітних алергічних захворюваннях і синдромах (бронхіальна астма, кропивниця та ін.); при паразитарних захворюваннях (аскаридоз, лямбліоз та ін.), деяких шкірних захворюваннях (псоріаз, екзема), колагенозах (ревматизм, дерматоміозит), гемобластозах (хронічний мієлолейкоз, лімфогранулематоз), деяких ендокринопатіях (гіпофізарна кахексія, мікседема), ряді інфекційних захворювань (скарлатина, сифіліс, туберкульоз), при використанні антибіотиків, сульфаніламідів; описані також спадкові форми еозинофілії.

Базофільний лейкоцитоз (базофілія) – рідкісна форма лейкоцитозу, що зустрічається при хронічному мієлолейкозі, гемолітичних анеміях, гемофілії, а також при вакцинаціях і введенні в організм чужорідного білка.

Моноцитоз – збільшення числа моноцитів понад 8%, є показником розвитку в організмі імунних процесів; характерний для цілого ряду гострих інфекційних і вірусних захворювань (віспа, кір, паротит, краснуха та ін.).

Лімфоцитоз – збільшення вмісту лімфоцитів понад 44%. Фізіологічний лімфоцитоз характерний для дітей Перших 10 років життя, а також відмічається у вегетаріанців і після фізичних навантажень (міогенний). В умовах патології лімфоцитом розвивається при ряді інфекційних захворювань (черевний тиф, паротит, малярія, туберкульоз, сифіліс та ін.), а також при аліментарній дистрофії, бронхіальній астмі та деяких ендокринних розладах (євнухоїдизм, мікседема, акромегалія).

Лейкопенія – зменшення загальної кількості лейкоцитів нижче 4×10^9/л. Найчастіше розвиток лейкопенії пов'язаний зі зменшенням абсолютної кількості нейтрофілів (нейтропенія). Лімфоцитопенія спостерігається при

лімфогранулематозі, пневмонії, сепсисі, колагенозах. Моноцитопенія, еозинопенія хоча і мають суттєве діагностичне значення, не відбиваються на загальній кількості лейкоцитів.

В основі патогенезу лейкопенії (нейтропенії) лежать три основні механізми: 1) пригнічення лейкопоетичної функції кісткового мозку з порушенням продукції лейкоцитів, їх дозрівання та відходу в периферичну кров; 2) підвищене руйнування клітин у судинному руслі; 3) перерозподіл лейкоцитів у судинному руслі/затримка їх у органах-депо.

Розвиток нейтропенії за першим механізмом спостерігається при мієлотоксичній та імунній відповіді різних токсичних речовин і лікарських препаратів, при втраті здібності клітин-попередниць гранулоцитопоезу до диференційовки в клітини нейтрофільного ряду; при метастазах раку в кістковий мозок, дефіциті різних речовин необхідних для гранулоцитопоезу.

Розвиток нейтропенії за другим механізмом спостерігається при переливанні крові (особливо еритроцитарної маси), при автоімунних захворюваннях, лімфомах, пухлинах, лейкозах, при дії обширних запальних процесів, тяжких інфекційних хворобах, при захворюваннях, що супроводжуються гіперспленізмом (збільшення селезінки), цироз печінки, гемолітична хвороба. Розвиток нейтропенії за третім механізмом спостерігається при шоці, неврозах, гострій малярії.

2. Лейкози – пухлина, що починається від родоначальних (стовбурових) кровотворних клітин із первинним ураженням кісткового мозку. В основі лейкозів лежить неконтрольована (безмежна) проліферація клітин із порушенням здібності їх до диференціювання та дозрівання.

До можливих етіологічних факторів лейкозів відносять іонізуючу радіацію, ряд хімічних речовин, віруси. Певне значення в розвитку лейкозів надається генетичним факторам, спадковій і надбаній імунній недостатності, дії бластомогенних метаболітів триптофану та тирозину.

Теорії походження лейкозів:

1) радіаційна теорія: роль іонізуючих випромінювань у виникненні лейкозів доведена в експерименті. Як одноразове (в дозі 2 Гр і вище), так і хронічне (протягом 2-3 місяців) опромінення променями Рентгена в малих дозах може індукувати лейкоз у лабораторних тварин (миші, щури). Захворюваність на мієлолейкоз підвищувалась у мешканців Хіросіми та Нагасакі після атомного вибуху, у рентгенологів і радіологів;

2) теорія хімічного лейкозогенезу: експериментально доведена можливість індукування лейкозів у тварин уведенням канцерогенних речовин (диметилбензантрацен, метилхолантрен та ін.), а також метаболітів триптофану та тирозину. Збільшення ризику захворювання на лейкози відмічається у людей після тривалого контакту з бензолом і летючими органічними розчинниками, лікування цитостатичними препаратами (циклофосфан, хлорбутин, метотрексат);

3) вірусна теорія пов’язує виникнення лейкозів із активацією (під дією радіації і хімічних факторів) латентних лейкозогенних вірусів. У тварин лейкози викликають РНК-вмісні віруси, ДНК-вмісні віруси, що відносять до

герпес-вірусів. Питання про роль вірусів у походженні лейкозів у людини залишається відкритим;

4) генетична теорія. До виникнення лейкозів схиляють хвороби, що характеризуються спонтанними розривами хромосом і нерозходженням соматичних або статевих хромосом (хвороба Дауна, анемія Фанконі, синдроми Кляйнфельтера, Тернера). Відомі випадки сімейних лейкозів, доведена роль етнічних особливостей у розвитку лімфолейкозу. Отримані лінії мишей, у яких частота спонтанних лейкозів – 100%.

Патогенез лейкозів. Згідно мутаційно-клонової теорії походження лейкозів, лейкозогенний фактор викликає мутацію (ушкодження ДНК, порушення генетичного коду) однією із клітин-попередниць гемопоезу II-III класів. У результаті порушується інформація ділення та диференціювання клітин, спостерігається вихід їх з-під контролю регулюючих систем організму. Це призводить до нестримного розмноження певних різновидів клітин. Таким чином, лейкозні клітини, що складають субстрат пухлини, являють собою моноклональне потомство, початково мутувавшої клітини, та зберігають усі притаманні їй ознаки.

За патогенетичним принципом, виходячи з особливостей морфологічної характеристики лейкозних клітин, лейкози поділяють на гострі та хронічні. До гострих лейкозів відносять пухлини з повною зупинкою диференційовки родоначальних кровотворних клітин на якомусь рівні дозрівання; субстрат пухлини складають клітини II, III і IV класів за сучасною схемою кровотворення. У групу хронічних лейкозів входять пухлини з частковою затримкою дозрівання клітин і накопиченням клітин певного ступеня зрілості.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Використовуючи матеріал підручника та інших джерел, заповнити таблицю.

Таблиця 7.1 – Види лейкоцитозів і лейкопеній

Характер змін лейкоцитарної формули (в абсолютних цифрах)	Стани, які найбільш часто зустрічаються, та для яких характерна дана зміна лейкоцитарної формули
Нейтрофілія (нейтрофільний лейкоцитоз)	
Нейтропенія	
Еозинофілія	

Еозинопенія або анеозинофілія	
Лімфоцитоз	
Лімфопенія	
Моноцитоз	
Моноцитопенія	
Агранулоцитоз	

Таблиця 7.2 – Характеристика зсувів лейкоцитарної формули

Тип зсуву лейко-цитар-ної фор-мули	Лейко-цитоз (-пенія)	Абс. нейтро-філія (-пенія)	% п	% ю	Поява мієлоцитів, промієло-цитів, мієлобластів	ІЯЗ	Дегенера-тивні форми лейкоцитів (+/-)

Завдання 3. Вивчення картини крові на мазках крові хворих на мієло- і лімфолейкоз.

Взяти готові мазки периферичної крові хворих на мієло- і лімфолейкоз. Вивчити картину крові під мікроскопом і зробіть висновки про те, які форми лейкоцитів переважають у кожному мазку; охарактеризувати їх. Підрахувати та записати лейкоцитарну формулу.

Завдання 4. Вивчення мазків кісткового мозку хворих на різні види лейкозу.

Взяти готові мазки кісткового мозку хворих на різні види лейкозу. Вивчити картину крові під мікроскопом. Звернути увагу на молоді та зрілі форми лейкоцитів, дегенеративні зміни клітин крові. Зробити висновки про особливості картини кісткового мозку хворих на різні види лейкозу.

Завдання 4. Використовуючи матеріал підручника та інших джерел, заповнити таблицю.

Таблиця 7.3 – Порівняльна характеристика картини крові при гострому та хронічному мієлолейкозі (в розгорнутій стадії)

Вид мієло-лейкозу	Наяв-ність (1) і (або) перева-жання (2) бласт-них клітин	Наявність усіх дозріва-ючих клітин V-класу (+/-)	Лейке-мічний провал (+/-)	Еозино-фільно-базо-фільна асоціація (+/-)	Ph-хромо-сома в кліти-нах мієлоїд-ного ряду (+/-)	Панцито-пенія (+/-)
Гострий						
Хронічний						

Завдання 5. Розв’язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. Хвора 27 років з дитячого віку страждає на бронхіальну астму. Під час чергового нападу була госпіталізована. При дослідженні крові отримані наступні результати: лейкоцити – 7×10^9/л, лейкоцитарна формула:

нейтрофіли – 55% (п. – 4%, с. – 51 %), е. – 18%, лімф. – 22%, мон. – 5%.

1. Чи є еозинофілія підтвердженням бронхіальної астми та чому?
2. Характерний чи лейкоцитоз для неускладненої бронхіальної астми?

Ситуаційна задача № 2. Хворий 25 років знаходиться в клініці з діагнозом: затяжний септичний ендокардит.

Аналіз крові: Hb – 120 г/л, еритроцити – $3{,}6\times10^{12}$/л, лейкоцити – $3{,}8\times10^9$/л, е. – 0%, п. – 1%, с. – 43%, лімф. – 42%, мон. – 14%, ШОЕ – 20 мм на годину.

1. Якого характеру лімфо-і моноцитоз має місце в даному випадку?
2. Чи досягає лейкопенія при даному захворюванні важкого ступеня вираженості (наприклад 1000 в 1 мкл і нижче)?

Ситуаційна задача № 3. Хворий 15 років поступив в підліткове відділення з типовою картиною інфекційного мононуклеозу. Аналіз крові: лейкоцити – $5,4\times10^9$/л, п. – 3%, с. – 12,5%, е. – 17%, лімф. – 60%, мон. – 6,5%, плазматичні клітини – 4:200. У мазку, пофарбованому по Нохта, серед лімфоцитів зустрічаються дрібні лімфоїдні клітини з веретеноподібною цитоплазмою, багато клітин з ядрами моноцитарної структури з 1-2 нуклеолами та базофільною васкуолярізованою цитоплазмою.

1. Що більш характерно для інфекційного мононуклеозу?
2. Якого характеру лімфоцитоз у даного хворого, відносний або абсолютний лімфолейкоз у даного пацієнта?

Ситуаційна задача № 4. Хворий 16 років, учень 9-го класу, вступив у підліткове відділення для обстеження зі скаргами на болі в горлі при ковтанні, кровоточивість ясен, лихоманку, озноб.

Протягом місяця надходження відзначав нездужання, швидку стомлюваність, 1,5 тижні тому з'явилися болі в горлі при ковтанні, температура до 38,5-39 ° С, озноб.

При надходженні: шкірні покриви і видимі слизові оболонки бліді. На шкірі тулуба, слизовій оболонці рота і м'якого піднебіння точкові геморагічні висипання, на мигдалинах некротичні нальоти, виражені явища гінгівіту. Пальпуються шийні і надключичні лімфатичні вузли величиною з квасолю, не спаяні з навколишніми тканинами і шкірою, безболісні. З боку серця, легенів без патології. Печінка виступає з-під краю реберної дуги на 2 см, при пальпації щільна, малоболюча. Селезінка не пальпується. Довжина 13 см.

Аналіз крові: Hb – 78 г/л, еритроцити – $2,52\times10^{12}$/л, кольоровий показник – 0, 96, л. – $22,98\times10^9$/л, б. – 0%, е. – 0%, п. – 1%, с. – 0,5%, лімф. – 3%, бластні клітини – 95,5%, нормобласти – 3:100, ретикулоцити – 1,3%, тромбоцити – 18×10^9/л, ШОЕ – 60 мм на годину.

Мієлограма: кістковий мозок багатий на клітинні елементи, бластні клітини складають 94,7%, мієлоцити – 0,2%, метамієлоцити – 0,2%, п. – 0,2%, с. – 1,8%, лімф. – 1%, еритроцитарний паросток – 1,2%, плазматичні клітини – 0,5%, мегакаріоцити – поодинокі.

1. Який цитологічний варіант гострого лейкозу є в даному випадку?
2. Чим він характеризується?

Ситуаційна задача № 5. Хворий 50 років, фотограф, надійшов до терапевтичного відділення зі скаргами на збільшення лімфатичних вузлів шиї, яке став відзначати протягом останнього місяця.

Об'єктивно: шкірні покриви звичайного забарвлення. Пальпуються збільшені шийні і підщелепні лімфовузли величиною з квасолю і лісовий горіх, тістовато-еластичної консистенції, рухливі, не спаяні між собою і оточуючими тканинами, безболісні. З боку органів опасистої клітини без особливостей. Печінка не збільшена. Чітко пальпується нижній полюс селезінки (довжина – 16 см).

Аналіз крові: Hb – 123 г/л, еритроцити – $4,1\times10^{12}$/л, кол. пок. – 0,9,

лейкоцити – $5,1\times10^9$/л, е. – 0,5%, п. – 1%, с. – 24,5%, мон. – 2%, лімф. – 72%, тромбоцити – $2,1\times10^9$/л, ШОЕ – 17 мм на годину.

Серед лімфоцитів периферичної крові переважає малі вузькоцитоплазменні форми (майже голі ядра), виявляються у великій кількості тіні Боткіна-Гумплехта. Пролімфоцити складають 1,5%.

Мієлограма: кістковий мозок багатий на клітинні елементи. Недиференціійованих бластних клітин – 2,4%, гранулоцитів – 36,4%, еритронормобластів – 7,4%, лімф. – 53,8% (лімфобластів – 2,5%, пролімфоцити – 4,2%, інші – зрілі форми). Мегакаріоцити в достатній кількості, багато з нормальним відшнуруванням.

1. Про яке захворювання можна думати в даному випадку?
2. Чим воно характеризується?

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Про що свідчить наявність регенеративного і гіперрегенеративного зсуву лейкоцитарної формули вліво?
2. Про що свідчить наявність дегенеративного зсуву лейкоцитарної формули вправо?
3. Які форми лейкоцитів належать до патологічних?
4. Охарактеризуйте види нейтрофільного лейкоцитозу.
5. Який основний критерій використовується для поділу лейкозів на гострі та хронічні?
6. За якими ознаками відрізняється мієлолейкоз від лімфолейкозу?

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 4. ГЕМОСТАЗ І ПЕРЕЛИВАННЯ КРОВІ

Лабораторна робота №8
Тема: Судинно-тромбоцитарний гемостаз і його порушення

Мета: Знати структурно-функціональну характеристику тромбоцитів. Визначити кількість тромбоцитів у лічильній камері та мазку крові. Провести манжеточну пробу (пробу з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Леєде. Встановити час кровотечі.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильна камера Горяєва, манжета від апарату для вимірювання артеріального тиску, секундомір, лейкоцитарний меланжер, штатив, мікропіпетки, піпетки, пробірки, гумова груша, предметні скельця, скарифікатори, вологі камери (чашки Петрі з вологим фільтрувальним папером), вата; цитратна або свіжа кров; 96% етиловий спирт, суміш Никифорова (1:1етилового спирту та етилового ефіру), 1% розчину трилону Б, 1% розчин оксалату амонію, 14% розчин сульфату магнію, 0,5% розчин генціанвіолету, імерсійна олія.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Структурно-функціональна характеристика тромбоцитів.
2. Судинно-тромбоцитарний механізм гемостазу в нормі та його порушення.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Тромбоцити, або кров'яні пластинки, – плоскі без'ядерні клітини (діаметр – 2,5 мкм). Їх кількість у крові – $180\text{-}320\times10^9$ /л, або 180000-320000 в 1 мкм.

Неактивовані тромбоцити мають форму диску, діаметром 2,0-4,0 μм і товщиною 0,8-1,2 μм. Тривалість життя тромбоцита у здорових індивідуумів коливається від 7 до 10 днів. При зіткненні з поверхнею, що відрізняється за своїми властивостями від ендотелію, тромбоцит активується, розпластується і у нього з'являється до 10 зазубрин і відростків, які можуть в 5-10 разів перевищувати діаметр тромбоцита. Наявність цих відростків важлива для зупинки кровотечі. Значна частина тромбоцитів депонована в селезінці, печінці, легенях і в разі необхідності надходить в кров. У нормі 2/3 тромбоцитів циркулюють в крові, а 1/3 нагромаджується в селезінці. Основним місцем руйнування тромбоцитів є селезінка і печінка, де вони елімінуються ретикуло-ендотеліальною системою. Постійна втрата тромбоцитів компенсується їх утворенням, у зв'язку з чим проходить обмін тромбоцитів. У випадку підвищеного розпаду пластинок посилюється їх утворення.

Роль тромбоцитів у процесі гемостазу. В процесі гемостазу тромбоцити відіграють ряд важливих функцій: 1) підтримують нормальну структуру і функцію мікросудин, непроникливість судинної стінки для еритроцитів; 2) підтримують спазм судин при їх пошкодженні (завдяки виділенню вазоактивних речовин); 3) забезпечують утворення первинного тромбоцитарного тромбу при пошкодженні судин; 4) беруть участь у процесі зсідання крові (слугують матрицею для активації прокоагулянтів, тобто прискорюють утворення тромбіну); 5) сприяють загоюванню ран.

Участь тромбоцитів у зсіданні крові. Тромбоцити відіграють важливу роль в реалізації "внутрішнього" шляху зсідання крові.

Найважливіші тромбоцитарні (пластинчасті) фактори:

P_1 – тромбоцитарний акцелератор-глобулін;

P_2 – акцелератор тромбіну;

P_3 – тромбопластинчастий фактор, або тромбоцитарний тромбопластин;

P_4 – антигепариновий фактор;

P_5 – фібриноген тромбоцитів;

P_6 – тромбостенін;

P_7 – антифібринолітичний фактор;

P_8 – активатор фібринолізу;

P_9 – фібринстабілізуючий фактор;

P_{10} – вазоконстрикторний фактор (серотонін);

P_{11} – фактор агрегації (АДФ).

2. Зсідання (коагуляція) крові є проявом захисної реакції організму – гемостазу.

Гемостаз – сукупність біологічних процесів, які беруть участь у підтриманні цілісності стінки кровоносних судин і рідкого стану крові та забезпечують запобігання або припинення кровотеч.

Прийнято розрізняти судинно-тромбоцитарний гемостаз та коагуляційний гемостаз (процес згортання крові). У першому випадку мова йде про зупинку кровотечі з дрібних судин з низьким кров'яним тиском, діаметр яких не перевищує 100 мкм, у другому – про боротьбу з крововтратою при пошкодженнях артерій і вен. Такий поділ носить умовний характер, тому що при пошкодженні як дрібних, так і великих кровоносних судин завжди нарівні з утворенням тромбоцитарної пробки здійснюється згортання крові.

Тромбоцити забезпечують утворення первинного тромбоцитарного тромба. Здійснюється цей процес завдяки адгезивно-агрегаційній функції тромбоцитів. Після пошкодження судинної стінки тромбоцити контактують з колагеном, який є основним стимулятором адгезії. Активовані тромбоцити набрякають, утворюють псевдоподії і прикріплюються до субендотеліальних структур. Адгезія тромбоцитів на судинній стінці здійснюється при участі глікопротеїнових рецепторів, розміщених на поверхні тромбоцита.

Ці рецептори мають високий афінітет до адгезивних протеїнів субендотелію – колагену, фактора Віллебранда, фібриногену, вітронектину. Паралельно з адгезією відбувається агрегація тромбоцитів – склеювання тромбоцитів між собою. Агрегація зумовлена стимуляцією тромбоцитів відповідними агоністами. Агоністи діють на специфічні рецептори, розміщені на поверхні тромбоцитів, і через низку біохімічних реакцій зумовлюють утворення агрегатів і секрецію вмісту тромбоцитарних гранул. Колаген і тромбін характеризуються як «сильні» агоністи тому, що можуть викликати звільнення вмісту гранул без попередньої агрегації. Стабілізація тромбоцитарного тромба здійснюється завдяки включенню механізмів зсідання крові. Тромбін утворюється локально на поверхні стимульованих тромбоцитів і пошкоджених ендотеліальних клітин (внутрішній і зовнішній шлях активації системи згортання крові).

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Визначення кількості тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке.

За допомогою мікропіпетки набрати 0,1 мл 1% розчину трилону Б і 0,1 мл крові і швидко перенести в пробірку. Для підрахунку набрати кров з пробірки у лейкоцитарний меланжер (змішувач) до мітки I, потім набрати 1% розчин оксалату амонію до мітки II. Рідини змішати та меланжер залишити на 20 хв для гемолізу еритроцитів. Після цього добре перемішати вміст змішувача протягом 2-3 хв, перші краплі випустити і зарядити лічильну камеру. Так як

тромбоцити осідають повільно, камеру поставити на 10 хв у чашку Петрі з мокрою ваткою на дні. Після цього підрахувати тромбоцити в п'яти великих (80 маленьких) квадратах.

Кількість тромбоцитів (Х) у 1 л крові обчислити за формулою 8.1:

$$X = A \times 10^9, \quad (8.1),$$

де А – кількість тромбоцитів, підрахована в п'яти великих квадратах.

Оформити протокол досліду. Записати результати підрахунку кількості тромбоцитів у лічильній камері. Порівняти отримані значення з нормальними показниками та зробити висновок.

Завдання 2. Визначення кількості тромбоцитів у периферичній крові за методом Фоніо.

Принцип методу. Заснований на запобіганні склеювання тромбоцитів додаванням до крові розчину сульфату магнію і підрахунку їх в пофарбованому мазку.

Хід проведення. Отримати кров у людини з кінчика пальця. Отриману краплю крові змішати з краплею 14% розчину сульфату магнію (нанести попередньо) на предметне скло.

Із отриманої краплі приготувати мазок, висушити, зафіксувати сумішшю Никифорова (5 хв) і забарвити 0,5% розчином генціанвіолету протягом 10-12 хв.

Під імерсійним об’єктивом мікроскопа підрахувати 1000 еритроцитів і всі тромбоцити, які при цьому зустрічаються.

Вміст тромбоцитів Х (Г/л) розрахувати за формулою 8.2:

$$X = Ep \times a, \quad (8.2),$$

де Ер – вміст еритроцитів у крові (Т/л),
а – знайдена кількість тромбоцитів.

Оформити протокол досліду. Записати отримані значення кількості тромбоцитів у крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Охарактеризувати тромбоцитарні індекси (PLT, MPV, PCT, PDW).

Завдання 4. Проведення манжеточної проби (проби з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Леєде.

Клінічне значення. Манжеточна проба позитивна при тромбоцитопеніях, при дисфункції тромбоцитів, спадкових і набутих.

Хід проведення. На внутрішню поверхню верхньої третини передпліччя окреслити коло діаметром 5 см, після чого манжетою від апарату для вимірювання артеріального тиску стиснути плече протягом 5 хв при тиску 90-100 мм рт. ст. Через 5 хв після зняття манжети підрахувати число петехій в окресленому колі (норма – до 10 петехій, слабкопозитивна проба – 11-20 петехій, позитивна – 21-30 петехій, різко позитивна – більше 30).

Оформити протокол досліду. Записати отримані результати проведення значення манжеточної проби. Зробити висновки.

Завдання 5. Визначення часу кровотечі.

Принцип методу. Метод дозволяє визначити стан судин після взаємодії тромбоцитів і судинної стінки. Час кровотечі визначається модифікованим методом Айві.

Клінічне значення. Прогресивне збільшення часу кровотечі спостерігається при зниженні числа тромбоцитів, при первинному порушенні судинної стінки, при якісних порушеннях тромбоцитів, при хворобі Віллебранда.

Хід проведення. Після накладення манжетки на верхню частину плеча і створення в ній тиску 40 мм рт. ст. зробити розріз на шкірі згинальної поверхні передпліччя розміром 1×9 мм за допомогою одноразової матриці. Час кровотечі – час, необхідний для зупинки кровотечі, в нормі становить 3-8,5 хв.

Оформити протокол досліду. Записати отримані результати визначення часу кровотечі. Зробити висновки.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Як практично можна визначити кількість тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке?
2. У чому полягає сутність методу Фоліо по визначенню кількості тромбоцитів у периферичній крові?
3. Про що свідчать тромбоцитарні індекси?
4. Як оцінити результати проведення манжеточної проби Кончаловського-Румпеля-Леєде?
5. Назвіть фактори, що призводять до збільшення часу кровотечі.
6. Як визначити час кровотечі?

Лабораторна робота №9
Тема: Коагуляційний гемостаз, фібриноліз і їх порушення

Мета: Знати коагуляційний механізм гемостазу. Засвоїти механізми антикоагуляції і фібринолізу. Вивчити види порушень в системі гемостазу. Визначити тривалість кровотечі, швидкість зсідання крові та час рекальцинації плазми крові. Ознайомитися з принципом визначення фібриногену В.

Матеріали та обладнання: водяна баня, водяний термометр, секундомір, термостійкий скляний посуд, штатив, піпетки, капіляр Панченкова, запаяна пастерівська піпетка, аглютинаційні пробірки, хімічні пробірки, годинникове скло, чашка Петрі, гумова груша, фільтрувальний папір, предметні скельця, скарифікатори, вата; цитратна або свіжа кров; 96% етиловий спирт, 50% спирт, 5% розчин хлориду кальцію, 10% розчин хлориду натрію, 2% розчин β-нафтолу.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Коагуляційний механізм гемостазу.
2. Антикоагуляційні механізми.
3. Фібриноліз.
4. Порушення зсідання крові: етіологія, патогенез, прояви коагулопатії, гіпо- та гіперкоагуляції.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Процес зсідання крові – ферментативний ланцюговий (каскадний) процес переходу розчинного білка фібриногену в нерозчинний фібрин.

Основні плазмові фактори зсідання крові:

I – фібриноген;

II – протромбін;

III – тканинний тромбопластин;

IV – іони Ca^{2+}.

Фактори з V по XIII – це додаткові фактори, що прискорюють процес зсідання крові, – акцелератори.

Перша за часом фаза – утворення активного кров'яного (або повного) тромбопластину. Він утворюється в результаті взаємодії тромбопластину тромбоцитів та інших речовин, що містяться в кров'яних пластинках, з деякими білками (різні глобуліни) та іншими компонентами плазми крові. Ця взаємодія відбувається під час кровотечі, при якій кров'яні пластинки від зіткнення з краями рани руйнуються і з них в плазму надходять різні речовини, що беруть участь в згортанні крові. У зсіданні крові бере участь також тканинний тромбопластин, що виділяється в плазму крові з тканин при їх пораненні.

Друга фаза полягає в тому, що під впливом активного тромбопластину в присутності іонів кальцію неактивний протромбін плазми крові перетворюється в активний фермент тромбін.

У третій фазі під впливом активного тромбіну фібриноген перетворюється на фібрин – утворюється згусток крові.

Кров людини, що виділилася з організму, згортається через 3-4 хв.

Зсідання крові уповільнюють:

1) охолодження;

2) цитрат і оксалат натрію;

3) гепарин;

4) гладенька поверхня;

5) підвищений вміст вуглекислоти в крові;

6) перемішування крові з концентрованими нейтральними сольовими розчинами, а також лугами;

7) уведення в кров пептонів і альбумоз;

8) гирудин;

9) дикумарин та його похідні;

10) додавання до крові деяких синтетичних фарб.

Зсідання крові прискорюють:

1) тепло;

2) іони Ca^{2+};

3) стикання крові з шорсткою поверхнею;

4) механічні вплив;

5) тромбін;

6) витяжки з мозку та м'язів, багаті на тромбопластин;

7) сечова кислота, жовчні кислоти;

8) желатин та інші речовини.

2. Інгібітори (природні антикоагулянти) – речовини, що містяться в крові, запобігають або уповільнюють процес зсідання крові.

Природні антикоагулянти:

1) первинні (самостійні, що синтезуються в печінці, легенях та інших органах): антитромбін III, антитромбін IV, гепарин;

2) вторинні (утворюються в процесі зсідання крові та фібринолізу): фібрин, XIa, Va, тромбомодулін, фібрин-пептиди, антитромбін IV.

3. Фібриноліз – процес розщеплення фібринового згустку, в результаті якого відбувається відновлення просвіту судини.

Фібринолітична система:

1) плазмін (фібринолізин);

2) активатори плазміногену (профібринолізину):

а) прямої дії: кислі й лужні фосфатази, трипсин, урокіназа, XIIa, стрептокіназа, стафілокіназа,

б) непрямої дії: лізокінази тканин;

3) інгібітори фібринолізу (антиплазміну):

а) антиплазміни, що гальмують дію активного ферменту фібринолізину: антитромбін IV,

б) антиплазміни, що пригнічують перетворення профібринолізину в фібринолізин:

A_2 – антиплазмін,

A_1 – антитрипсин,

A_1 – хімотрипсин,

C_1 – естеразний інгібітор.

4. Порушення в системі гемостазу можуть бути пов'язані зі змінами фібринового, тромбоцитарного, або судинного гемостатичних механізмів і відбуваються в трьох напрямах:

1) зниження зсідальної здатності крові і виникнення геморагічного діатезу (кровоточивість);

2) підвищення зсідальної здатності крові і виникнення тромбофілічного діатезу (підвищення тромбоутворення);

3) виникнення поєднаного стану – тромбогеморагічного синдрому, що супроводжується як підвищеним тромбоутворенням, так і кровоточивістю.

Порушення зсідання крові проявляється зниженням і підвищенням його.

Зниження зсідання крові (гіпокоагуляція) проявляється підвищеною кровоточивістю – повторними кровотечами, крововиливами, які виникають як мимовільно, так і при незначних травмах (геморагічний діатез).

Можливі декілька механізмів виникнення гіпокоагуляції:

1) набуте та спадкове зменшення або спотворення синтезу плазмових і тромбоцитарних факторів зсідання крові та компонентів калікреїн-кінінової системи;

2) пригнічене утворення або підвищене споживання цих факторів;

3) збільшене вироблення ендогенних антикоагулянтів;

4) активізація фібринолітичної системи;

5) передозування антикоагулянтів, фібринолітичних і дефібринуючих препаратів. Усі ці зміни зумовлюють порушення однієї з трьох фаз зсідання крові і ретракції згустку або ж поєднаної зміни їх.

Перша фаза зсідання крові – утворення тромбопластину – порушується при генетично зумовленому дефіциті таких факторів:

VIII – антигемофільного глобуліну А (гемофілія А);

IX – Кристмас-фактора (гемофілія В, що успадковується, як і гемофілія А, рецесивно, зчеплено з Х-хромосомою);

XI – плазмового попередника 3 тромбопластину (гемофілія С);

XII – фактора Хагемана, фактора 3 тромбоцитів (тромбоцитопатія).

Крім того, порушення першої фази виникає, коли є імунні інгібітори факторів VIII і IX – імуноглобуліни класів G і M (при ревматизмі, червоному вовчаку, сепсисі, лейкозі).

Гемофілія – це генетичне захворювання, яке пов'язане з порушенням зсідання крові. Ця патологія відома з давніх часів: ще в II столітті до нашої ери описувалися випадки загибелі хлопчиків від безперервної кровотечі, що виникає після процедури обрізання. Термін «гемофілія» був запропонований у 1828 році і походить від грецьких слів *haima* – кров і *philia* – схильність, тобто, «схильність до кровотеч».

Гемофілію також називають царською хворобою, оскільки ця патологія нерідко зустрічалася серед представників королівської родини. Цікаві факти: королева Вікторія, швидше за все була носієм гемофілії і саме через неї хворобу успадкували інші монархи.

З її дітей один син (Леопольд) сам страждав на гемофілію, а принаймні дві дочки (Аліса і Беатриса) були носіями захворювання, передавши його вже своїм дітям. З кожним поколінням кількість цих жертв збільшувалася, адже в ті часи дбали більше про зміцнення династичних зв'язків і не звертали увагу на зв'язки генетичні.

Вікторія, яка народила 9 дітей, передала свій ген представникам династій, що правили в Великобританії, Німеччині, Росії, Іспанії. Враховуючи те, що її нащадки побралися ще й з монархами Швеції, Данії, Норвегії, Греції, Румунії, «вікторіанське прокляття» у вигляді гемофілії зачепило ледь не кожен королівський двір Європи.

Причини гемофілії. Чому Вікторія була тільки носієм хвороби, але сама не страждала від неї? Справа у тому, що гени, які зумовлюють розвиток гемофілії, зчеплені зі статевою Х-хромосомою, тому захворювання успадковується за рецесивною ознакою по жіночій лінії. Спадковою гемофілією хворіють практично винятково особи чоловічої статі. Жінки є носіями гену гемофілії, які передають захворювання частині своїх синів.

У здорового чоловіка і жінки-носія з однаковою ймовірністю можуть народитися як хворі, так і здорові сини. Від шлюбу чоловіка, хворого на гемофілію зі здоровою жінкою народжуються здорові сини або дочки-носії. Трапляються також і поодинокі випадки гемофілії у дівчаток, народжених від матері-носія і хворого на гемофілію батька.

При дефіциті того чи іншого фактора зсідання своєчасний і адекватний гемостаз стає неможливим. При гемофілії в зв'язку з дефіцитом VIII, IX або інших факторів порушується перша фаза зсідання крові – утворення тромбопластину. При цьому збільшується час зсідання крові; іноді кровотеча не зупиняється протягом декількох годин.

Гемофілія – типи успадкування. Залежно від дефіциту того чи іншого фактора зсідання крові, розрізняють гемофілію А (класичну), гемофілію В (хвороба Кристмаса), гемофілію С та ін.

Класична гемофілія (А) становить переважну більшість (близько 85%) випадків синдрому і пов'язана з дефіцитом VIII фактора зсідання (антигемофільного глобуліну), що призводить до порушення утворення активної тромбокінази.

При гемофілії В, що становить 13% випадків захворювання, у крові бракує IX фактора (плазмового компонента тромбопластину, фактора Кристмаса), який також бере участь в утворенні активної тромбокінази в I фазі зсідання крові.

Гемофілія С зустрічається з частотою 1-2% і обумовлена недостачею XI фактора зсідання крові (попередника тромбопластину).

На інші різновиди гемофілії припадає менше 0,5% випадків; при цьому може відзначатися дефіцит різних плазмових факторів: V (парагемофілія), VII (гіпопроконвертінемія), X (хвороба Стюарта-Прауера) та інші.

Тяжкість клінічного перебігу гемофілії залежить від ступеня недостатності коагуляційної активності плазмових факторів зсідання крові.

При гемофілії важкого ступеня рівень відсутнього фактора становить до 1%, що супроводжується розвитком важкого геморагічного синдрому вже в ранньому дитячому віці. У людини з важкою гемофілією виникають часті крововиливи в м'язи, суглоби, внутрішні органи.

При гемофілії середнього ступеня у дитини рівень плазмового фактора становить 1-5%. Захворювання розвивається в дошкільному віці; геморагічний

синдром виражений помірно, трапляються крововиливи в м'язи і суглоби, гематурія. Загострення трапляються 2-3 рази на рік.

Легка форма гемофілії характеризується рівнем фактора вище ніж 5%. Захворювання виникає в шкільному віці, часто в зв'язку з травмами або операціями. Кровотечі не такі часті й менш інтенсивні.

У новонароджених дітей ознаками гемофілії можуть служити тривала кровотеча з кукси пуповини, підшкірні гематоми, кефалогематоми. Кровотечі у дітей першого року життя можуть бути пов'язані з прорізуванням зубів, хірургічними втручаннями тощо.

Імовірність посттравматичних кровотеч значно зростає, коли дитина з гемофілією починає ходити. Для дітей після року характерні кровотечі з носа, підшкірні і міжм'язові гематоми, крововиливи у великі суглоби. Загострення геморагічного діатезу трапляються після перенесених інфекцій (ГРВІ, вітрянки, краснухи, кору, грипу та ін.). Зважаючи на постійні і тривалі кровотечі, у дітей з гемофілією є анемія різного ступеня вираженості.

Симптоми гемофілії у дітей до 4-х років:

1) кров'яні виділення з пупкової ранки;

2) гематоми, які, маючи спочатку точковий характер, поширюються на різні ділянки тіла і локалізуються як підшкірно, так і на слизових;

3) кровотечі, що виникають після проведення профілактичних щеплень та інших ін'єкцій.

Крім перерахованих вище ознак хвороби, у дітей починаючи з 2-3-річного віку можна спостерігати такі симптоми, як суглобові, а також малі крововиливи капілярів (петехії), які утворюються без причини при невеликих фізичних навантаженнях.

Гемофілія у дітей від 4 років і до шкільного віку найчастіше представлена:

1) частими носовими кровотечами;

2) кровотечами з ясен;

3) наявністю крові в сечі (гематурія);

4) великими синцями (гемартрозами), розвиток і тривалий перебіг яких сприяє появі хронічних контрактур, артропатій;

5) виявленням в калі дитини елементів крові, що свідчить про початкову стадію анемії;

6) прогресуванням кровотеч, локалізованих у внутрішніх органах;

7) можливими крововиливами всередину мозку, що несуть загрозу важкого ураження нервової системи.

Характерною ознакою гемофілії є відтермінований характер кровотечі (розвивається через декілька годин після травми).

Симптоми гемофілії у чоловіків. У зрілому віці захворювання тільки прогресує. Крім уже наявних з дитинства ознак хвороби, до неї додаються нові симптоми, що завдають організму куди більшої шкоди:

1) черевні кровотечі;

2) наявність синців, які свідчать як про підшкірні, так і внутрішньом'язові крововиливи.

3) анемія викликані носовими, шлунково-кишковими кровотечами, виділеннями крові з ясен, а також сечовивідних каналів;

4) крововиливи в кісткову тканину, що призводять до її омертвіння;

5) гангрена і можливий параліч, що утворилися внаслідок гігантських гематом;

6) кровотечі слизової горла, а також гортані;

7) суглобові крововиливи сприяють прогресуванню остеоартрозу, що призводить до інвалідності. Причиною цього є обмеження рухливості суглобів і атрофія м'язів кінцівок.

Симптоматика гемофілії у жінок. Хоча частота появи гемофілії у дівчаток і жінок мала, проте повністю не виключена. Перебіг хвороби має легку форму, а найчастіше бувають такі симптоми:

1) рясні менструальні виділення;

2) кровотечі, що виникають після видалення піднебінних мигдалин або зуба;

3) носові кровотечі;

4) хвороба Віллебранда.

Лікування гемофілії. На жаль, це спадкове захворювання в наш час невиліковне, можна тільки проводити терапію і контролювати періодичні прояви симптомів. Лікування гемофілії доцільно проводити в спеціальних клініках. При цьому пацієнт завжди повинен мати у себе «Книжку хворого на гемофілію», яка містить дані про групу крові пацієнта, його резус-фактор, різновид хвороби і ступінь тяжкості.

Лікування захворювання необхідно починати, перш за все, з визначення його типу. Подальша терапія грунтується на введенні в кров відсутніх факторів зсідання. Їх отримують завдяки донорській крові, а також крові тварин, яких вирощують в певних умовах спеціально для цих цілей. Важливо не допустити передозування фактора, адже це може довести пацієнта до анафілактичного шоку. Відповідно, при типі гемофілії «А» у кров вводиться VIII фактор, при типі «В» – IX фактор і т.д.

Важливо! При гемофілії заборонені внутрішньом'язові, внутрішньошкірні і підшкірні введення. Всі препарати необхідно вводити в вену або перорально. При проведенні будь-яких операцій хворим на гемофілію вводять антигемофільні препарати.

Профілактика гемофілії. Найважливіше місце при боротьбі із захворюванням має профілактика. Сім'ям, де є жінка-носій або хворий на гемофілію чоловік, не рекомендується заводити дітей природним шляхом. Виходом тут буде тільки здійснення процедури ЕКО-запліднення, що проводиться за певних умов.

Людям, хворим на гемофілію, з раннього віку рекомендується уникати травмування різного роду: їм заборонено займатися не тільки фізичною працею, а й брати участь у травматичних видах спорту, таких, як хокей, бокс, футбол і т. д. Зі спортивних дисциплін допустимо тільки плавання.

При цьому захворюванні категорично заборонено приймати протизапальні та знеболювальні препарати, які розріджують кров.

Проводячи профілактику і лікування гемофілію можна частково нейтралізувати, але до кінця позбутися її проявів поки неможливо. Попри це, люди з цим діагнозом при дотриманні приписів лікарів, як правило, доживають до старості.

До слова. Генетичне захворювання гемофілія визнано найдорожчим у світі. Дороге лікування обумовлено високою вартістю медикаментів, які виготовляються з плазми донорської крові. Щорічне лікування одного гемофіліка обходиться приблизно в 12 тисяч доларів.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Визначення тривалості кровотечі (уколочна проба Дуке).

Клінічне значення. Час кровотечі збільшується при тромбоцитопенічних станах, захворюваннях печінки, отруєннях фосфором і хлором. При гемофілії час кровотечі нормальний.

Хід проведення. При уколі кінчика пальця або мочки вуха голкою на глибину 3-4 мм краплю крові, що самостійно виступила, знімати фільтрувальним папером кожні 30 с. Тривалість кровотечі в нормі не перевищує 4 хв.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення тривалості кровотечі. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення швидкості зсідання крові методом Сухарева.

Хід проведення. Кров для дослідження взяти з пальця після видалення першої краплі. У сухий капіляр для визначення швидкості осідання еритроцитів або скляну трубку діаметром 1,5-2,5 мм набрати стовпчик крові висотою 25-30 мм. Кров нахилом капіляра переводять на середину трубки. Тримаючи капіляр двома пальцями, покачати його на 30-45º в обидва боки. Вільне зміщення крові свідчить, що зсідання крові ще не настало. Початок зсідання крові характеризується уповільненням руху крові при нахилі капіляра, на внутрішній стінці капіляра з’являються невеликі згустки. Повне зсідання крові відповідає моменту повної зупинки руху крові. У нормі початок зсідання крові настає в період від 30 с до 2 хв, кінець – від 3 до 5 хв.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення швидкості зсідання крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення швидкості зсідання крові методом Фоніо.

Хід проведення. Приготувати вологу камеру. Для цього в чашку Петрі покласти марлю, змочену водою. Кров для дослідження взяти в кількості 10 крапель на годинникове скло, що помістити у вологу камеру. Кінцем запаяної пастерівської піпетки провести по поверхні крові. Поява перших ниток фібрину вважати початок зсідання, утворення згустку – кінцем зсідання. У

нормі початок зсідання крові спостерігається через 5-8 хв, кінець – через 15-18 хв.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення швидкості зсідання крові. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення часу рекальцинації плазми крові.

Принцип методу. Час рекальцинації плазми (ЧРП), або кальцієвий час, – це тривалість зсідання плазми в присутності кальцію хлориду; характеризує зсідання крові в цілому. У нормі цей час коливається від 60 до 120 с.

Клінічне значення. Зменшення ЧРП свідчить про підвищення зсідання крові, а збільшення ЧРП – про його сповільнення. ЧРП може збільшуватись при гіпокоагуляції внаслідок недостатності вмісту прокоагулянтів чи підвищеного вмісту антикоагулянтів або зменшуватись при гіперкоагуляції через підвищене зсідання крові.

Дослід 1. У пробірку, що міститься на водяній бані або в склянці з водою (при температурі 37-38 ºС), внести 0,1мл цитратної або свіжої крові, через 60 с додати 0,1 мл 5% розчину хлориду кальцію і водночас за секундоміром або секундною стрілкою годинника записати, через який час почав утворюватись згусток, тобто ЧРП.

Дослід 2. Дослідити кров тієї самої людини за аналогічною методикою, але замість 0,1 мл 5 % розчину хлориду кальцію додати в пробірку 0,1мл 10 % розчину хлориду натрію.

Оформити протокол досліду. Записати отримані результати часу рекальцинації плазми крові. Зробити висновок про фактори, які спричиняють зсідання крові, та про наявність патології у обстеженої особи.

Завдання 5. Визначення фібриногену В за методом Каммайна і Лайонса (модифікація Балуди, Русанової, Токарева).

Принцип методу. Додавання до сироватці розчину β-нафтолу при наявності в ній фібриногену В призводить до випадання останнього у вигляді ниток, гранул або згустку.

Клінічне значення. Метод дозволяє досліджувати порушення фази утворення фібрину.

Хід проведення. У 2 аглютинаційні пробірки ввести по 1 мл плазми крові. У першу пробірку (контроль) додати 5 крапель 50% спирту, в другу пробірку (дослід) – 5 крапель 2% розчину β-нафтолу. Пробірки струсити та залишити стояти при кімнатній температурі 10 хв. Потім відзначити результат реакції. Слабопозитивна реакція відзначається при наявності ниток або дрібних пластівців, позитивна – при наявності грубих ниток фібрину; утворення згустку фіксується як різко позитивна реакція, відсутність частинок – негативна реакція.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення фібриногену В. Зробити висновки.

Завдання 6. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. Хлопчик 5 років поступив у приймальне відділення з діагнозом ревматизм, виставленим дільничним лікарем. При надходженні дитина скаржилася на біль, збільшення обсягу та обмеження руху в правому колінному суглобі.

Дитина від другої вагітності з нормальним перебігом і других пологів. З раннього віку страждає носовими кровотечами, після легких травм відзначалися гематоми на тулубі та кінцівках. Батьки дитини та старша сестра здорові, у молодшого 2-річного брата також часті та тривалі носові кровотечі. При огляді стан середньої тяжкості. Зниженого харчування, блідий. На шкірі лівого плеча енхімоз до 6 см в діаметрі. Периферійні лімфовузли не збільшені. Дихання везикулярне, тони серця злегка приглушені, функціональний систолічний шум. Печінка і селезінка не збільшені. Стілець і сечовипускання не порушені. Правий колінний суглоб кулястої форми, руху в ньому обмежені і різко болючі. При пункції правого колінного суглоба отримана гемолізована кров.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 2. Дівчинка 4-х років звернулася до лікаря зі скаргами на болі в животі, гомілковостопному суглобі, крововиливи на тулубі, верхніх і нижніх кінцівках.

Захворювання почалося гостро, через тиждень після перенесеного ГРВІ, гнійного отиту. В анамнезі раннє штучне вигодовування, харчова сенсибілізація. Батьки здорові.

При огляді стан важкий, температура 38,3 °С, дитина неспокійна. Шкіра блідо-рожева, на тулубі, кінцівках, навколо суглобів, сідницях дрібноточковий геморагічний висип.

У місцях тиску одягу геморагії придбали зливний характер. При фізикальному обстеженні легенів і серця змін не виявлено. Живіт м'який, безболісний, печінка і селезінка не збільшені, стілець, сечовипускання в нормі.

Аналіз крові: еритроцити – $3{,}7\times10^{12}$/л, гемоглобін – 112 г/л, колірний показник – 0,9, тромбоцити – 450×10^{9}/л, лейкоцити – $9{,}4\times10^{9}$/л, еозинофіли – 5%, паличкоядерні нейтрофіли – 6%, сегментоядерні нейтрофіли – 56%, лімфоцити – 26%, моноцити – 7%, ШОЕ – 22 мм/год.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 3. Таня К., 3 роки, поступила зі скаргами на болі в животі та геморагічне висипання на руках, ногах, тулуб, сідницях.

Захворіла гостро з появою рясної плямистої висипки червоного кольору. Видимої причини захворювання батьки не відзначили, відомо тільки, що у дівчинки до цього був гнійний отит.

Дівчинка від третьої вагітності, народилася з масою 3250 г, росла і розвивалася нормально. Страждала ексудативним діатезом, рахітом, з надлишкового масою тіла.

Батьки здорові. Старші діти здорові. Стан важкий. На стопах, гомілках, стегнах, плечах і передпліччях геморагії різного ступеня давності. Дихання везикулярне, тони серця ритмічні, ясні, зів рожевий. Є каріозні зуби. Живіт м'який, визначається болючість при натисканні в області пупка. Печінка + 2 см нижче краю реберної дуги, селезінка не пальпується.

Аналіз крови: еритроцити – 4×10^{12}/л, Hb – 118 г/л, КП – 1,0, тромброцити – 480 $\times10^{9}$/л, лейкоцити – $9{,}1\times10^{9}$/л, паличкоядерні нейтрофіли – 6%, сегментоядерні нейтрофіли – 61%, лейкоцити – 26%, моноцити – 7%, ШОЕ – 5 мм/год.

Час зсідання по Лі-Уайту – 3 хв. 30 сек, підвищена реакція згустку. Протромбіновий індекс – 1,2, гематокрит – 0,35, СРП+, протеїнограма: альбуміни – 41%, глобуліни: альфа 1 – 6,9%; альфа 2 – 12,0 %; бета – 13,8%, гама – 25,8%.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Які фази коагуляційного гемостазу? Яка роль зовнішньої і внутрішньої системи зсідання крові?
2. Як утворюється фібрин? Яке значення фібринстабілізуючого фактора?
3. Як відбувається розчинення кров'яного згустку. Яке значення фібринолізу?
4. Нервово-гуморальна регуляція функціональної системи зсідання та антизсідання крові.
5. Які фактори можуть впливати на час рекальцинації плазми?
6. У чому полягає сутність методу Фоліо по визначенню кількості тромбоцитів у периферичній крові?

Лабораторна робота №10
Тема: Групи крові

Мета: Знати системи антигенів еритроцитів. Визначити групу крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток крові та моноклональних тест-реагентів анти-А і анти-В. Виявити в досліджуваній крові наявність або відсутність Д антигену системи Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-D сироватки, Цоліклона анти-D і визначити її резус-приналежність. Вивчити умови та хід проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

Матеріали та обладнання: термостат, секундомір, спеціальні тарілки або планшети для визначення груп крові, скляні палички, штатив, піпетки,

хімічні пробірки, гумова груша, скарифікатори, вата; плазма або сироватка крові; 96% етиловий спирт, стандартні сироватки I, II, III груп крові, Цоліклони анти-А, анти-В і анти-Д, специфічна ізоімунна анти-D сироватка, фізіологічний розчин.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Система АВ0.
2. Резус-фактор (Rh).
3. Інші системи антигенів еритроцитів.
4. Основи переливання крові.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1. Антигенна специфічність властива не тільки ядерним клітинам, але й еритроцитам. Наявність антигенної специфічності еритроцитів визначає групи крові.

Групові антигени (ізоантигени) фіксовані на глікокаліксі мембрани еритроцитів. За своєю природою це гліколіпіди або глікопротеїди. На сьогодні відомо понад 400 ізоантигенів, з яких можна скласти понад 500×10^9 комбінацій, що набагато перевищує населення земної кулі. Наведені числа вказують на те, що за винятком монозиготних близнюків на Землі не існує двох людей з імунологічно абсолютно ідентичною групою крові. Антигенні властивості переважної більшості антигенів настільки слабкі, що вони не виявляються при переливанні крові. Їх потрібно враховувати при трансплантації органів, коли вони діють на імунну систему реципієнта протягом тривалого часу і можуть провокувати вироблення антитіл та відторгнення трансплантата. Саме тому підбір адекватного донора є однією з найскладніших проблем трансплантології.

Біологічне значення поліморфізму груп крові у людини і тварин ще не з'ясовано. Можливо, це є проявом постійно діючої еволюції виду. Принаймні можна стверджувати, що практично кожний індивід імунологічно неповторний і, що надзвичайно важливо, імунна система людини здатна відрізняти «свої» клітини і білки від «чужих».

Найбільше значення мають антигени системи АВ0, існування яких встановлено в 1901-1903 роках австрійським вченим К. Ландштейнером і чеським лікарем Я. Янським. Генетичний локус цієї системи розташований довгому плечі 9-ої хромосоми та представлений генами Н, А, В і 0.

Гени А, В, Н контролюють синтез ферментів – гліколізилтрансфераз, які й формують особливі моносахариди, що створюють антигенну специфічність мембрани еритроцита – А, В, і Н. Їх утворення починається на самих ранніх стадіях формування еритроїдних клітин. Антигени А, В і Н під впливом ферментів утворюються із загальної речовини – попередника – церамідпентасахариду, що складається з 4 цукрів – N-ацетилгалактозаміну, N-ацетилглюкозаміну, L-фрукози й Д-галактози. Спочатку ген Н через контрольований ним ензим формує з даного попередника антиген «Н»

еритроцитів. Цей антиген, у свою чергу, слугує вихідним матеріалом для формування антигенів А і В еритроцитів, тобто кожний з генів А і В через активність контрольованого ними ензиму формує з Н-антигену антигени А або В.

Ген «О» не контролює трансферазу та «Н» антиген залишається незміненим, формуючи групу крові 0 (I). У 20% людей, що мають антиген А, виявлені антигенні відмінності, що формують антигени A_1 й A_2. Антитіла не виробляються проти «свого», тобто присутніх в еритроцитах антигенів – А, В і Н. Однак, антигени А и В широко поширені у тваринному світі, тому після народження людини в його організмі починається формування антитіл проти антигенів А, A_1, A_2 й В, що надходять із їжею, бактеріями. У результаті в їх плазмі з'являються анти-А(α) і анти-В(β) антитіла.

Максимум продукції анти-А(α) і анти-В(β) антитіл припадає на 8-10 річний вік. При цьому вміст у крові анти-А(α) завжди вище анти-В(β). Ці антитіла називаються ізоантитілами, або аглютинінами, оскільки вони викликають склеювання (аглютинацію) еритроцитів, що містять на мембрані відповідні антигени (аглютиногени).

Залежно від вмісту аглютиногенів й аглютинінів у крові конкретної людини в системі АВ0 виділяють 4 основні групи, які позначають цифрами й тими аглютиногенами, які містяться в еритроцитах цієї групи. I (0) – аглютиногени (антигени) в еритроцитах не містяться, в плазмі містяться аглютиніни (антитіла) α та β. II (А) – в еритроцитах аглютиноген А, в плазмі аглютинін β. III (В) – в еритроцитах аглютиноген В, у плазмі аглютинін α. IV (АВ) – в еритроцитах аглютиногени А та В, аглютинінів у плазмі немає.

Аглютиногени (антигени) – це складні поліцукридно-амінокислотні антигенні комплекси, вмонтовані у мембрани еритроцитів, а також інших клітин організму людини. Вони виявляються вже на 7-8-му тижні розвитку плода. Антигени є спадковими, причому А і В – домінантними. Антитіла (аглютиніни) α і β мають білкову природу та представлені в плазмі крові імуноглобулінами М і G. Вони не тільки склеюють еритроцити, але й викликають їхній гемоліз (імуноглобуліни G можуть зв'язувати комплемент, викликаючи гемоліз; імуноглобуліни М – гемолізини). Тому при несумісності груп крові донора (тобто людини, в якої беруть кров для переливання) і реципієнта (якому переливають кров) виникає гемоконфлікт, викликаний аглютинацією й гемолізом еритроцитів, що супроводжується найтяжчими ускладненнями, що закінчуються загибеллю реципієнта. Із сказаного випливає необхідність визначення групи крові людині перед переливанням йому крові.

Географічний розподіл груп крові. Існують певні особливості географічного розподілу груп крові. Так, у Центральній Європі кількісні співвідношення між людьми, що мають різні групи крові, є такими: 40% жителів Центральної Європи мають групу крові I (О), понад 40% – групу II (А), 10% – III (В), і близько 6% – групу IV (АВ). У 90% корінних жителів

Америки відзначена група I (O). Більше 20% населення Центральної Азії мають групу крові III (B).

2. Одним з перших аглютиногенів крові людини, що не входять у систему AB0, був резус-аглютиноген, або резус-фактор, виявлений К. Ландштейнером й А. Вінером в 1940 р. Він був отриманий при введенні крові мавп мака-резус кроликам, у крові яких виробляли відповідні антитіла до еритроцитів мавп. Як виявилося, ця сироватка імунізованих кроликів дає різко позитивну реакцію аглютинації еритроцитів не тільки макак, але й людини. Кров, у якій втримується резус-фактор, називається резус-позитивною, а в якій відсутній – резус-негативною.

Синтез Rh-H2 антигенів еритроцитів контролюється генними локусами короткого плеча 1-ої хромосоми. Rh-антигени представлені на мембрані еритроцитів трьома зв'язаними ділянками: антигенами C (Rh') або c (H^{I}_{2}), E (Rh") або e (H^{II}_{2}) і Д (Rh°) або d. Людина, що має «C»-антиген на мембрані еритроцита, не має «c»-антигену, що має «E» в еритроциті – відсутній «e». Із цих антигенів лише Д є сильним антигеном, тобто здатним імунізувати людину, що його немає. Всі люди, що мають Д-антиген називаються «резус-позитивними» (Rh^{+}), а не мають його – «резус-негативними» (Rh^{-}). Серед європейців 85% людей – резус-позитивні, інші – резус-негативні. У деяких народів, наприклад, евенів, відзначається 100% Rh^{+}-приналежність.

Існують певні особливості географічного розподілу крові за резус-фактором. В індіанців Америки та корінних жителів Полінезії антигену D взагалі немає. Нерівномірно поширений і Rh-фактор серед європейців: найбільше Rh-негативних людей в Англії – 15,6%, а евенки Магадану усі мають Rh-негативну кров.

При переливанні крові резус-позитивного донора резус-негативному реципієнтові в останнього утворяться імунні антитіла (анти-Д). Тому, повторне переливання резус-позитивної крові може викликати гемоконфлікт. Подібна ж ситуація виникає, якщо резус-негативна жінка вагітна резус-позитивним плодом, що успадковує резус-позитивну приналежність від батька. Під час пологів еритроцити плода надходять у кров матері й імунізують її організм (виробляються анти-Д-антитіла). Так, уже 0,25 мл плацентарної крові імунізують організм матері, що спостерігається в 20% резус-негативних матерів.

При наступних вагітностях резус-позитивним плодом анти-Д-антитіла проникають через плацентарний бар'єр, ушкоджують тканини й еритроцити плода, викликаючи викидень, а при народженні дитини – резусну хворобу, або гемолітичну хворобу новонароджених, що характеризується важкою гемолітичною анемією. Для попередження імунізації резус-негативної жінки Д-антигенами плода під час пологів, при абортах їй уводять концентровані анти-Д-антитіла. Вони аглютинують резус-позитивні еритроцити плода, що надходять у її організм, та імунізації не настає. Хоча інші резусні антигени в імунному відношенні слабкіші Д-антигенів, однак і вони при їхньому значному надходженні в організм резус-позитивної людини, можуть викликати антигенні реакції.

Як відомо, при наявності в геномі людини домінантної алелі гена білка резус-фактора D, кров людини буде завжди Rh-позитивною (DD або Dd). Але навіть якщо обоє батьків будуть мати резус-позитивну кров, в них може народитися дитина (з 25% ймовірністю) з Rh-негативною кров'ю (якщо один з батьків буде нести гетерозиготну алель Dd: ♀DD × ♂Dd = 75% Rh^+ 25% Rh^-). Якщо батьки будуть мати генотип, який включає дві домінантних алелі D, то 100% в них народиться дитина з Rh-позитивною кров'ю: ♀DD × ♂DD = 100% Rh.

3. На мембрані еритроцитів, крім антигенів A, B, H, Rh є інші антигени, які визначають їх антигенну специфічність. З них близько 30 зустрічається досить часто. Вони можуть спричинити аглютинацію та гемоліз еритроцитів при переливанні крові. Виділяють понад 20 різних систем крові за наявністю антигенів: Rh, M, S, P, A, Kk та ін. Але більшість з них у природних умовах не мають антитіл. Як і звичайні імунні антитіла, вони утворюються при надходженні в організм антигенів і зумовлюють гемоліз еритроцитів при повторному переливанні крові. Тому при переливанні крові бажано, щоб кров була сумісною не лише за системою AB0, а й за іншими факторами. У реальних умовах повної сумісності досягти неможливо, оскільки тільки з вказаних антигенів можна скласти майже 300 млн комбінацій.

Система Келл-Челлано складається з двох аглютиногенів – К і к, вони утворюють 3 групи крові – КК, кк і Кк. Ця система є у 100% людей.

Система Кідд має два аглютиногени – Jka та Jkb , які утворюють 3 групи крові: зустрічаються або по одному, або обидва аглютиногени: Jka, Jka Jkb, Jkb. Імунні антитіла до них появлялись при дуже частих переливаннях крові, несумісній по цим аглютиногенам.

Система Лютеран також складається з двох аглютиногенів – Lua та Lub, які формують 3 групи крові цієї системи: Lua, Lua Lub та Lub.

Система Даффі має два аглютиніни – Fya та Fyb, які утворюють 3 групи цієї системи: Fya, Fya Fyb та Fyb.

Система Дієго має один аглютиногени Ді. Він знайдений у 36% індійців Південної Америки, по ньому існує 2 групи крові.

Групи крові тварин. Групи крові існують у всіх хребетних тварин. Вже у риб виявлено групи крові, причому різні у різних видів однієї родини: у райдужної форелі – 3 групи, у тайменя – 4; у каліфорнійської сардини знайдено дві системи груп крові. Земноводні та плазуни обстежені значно менше, проте у них виявлено не тільки видові, а й групові (внутрішньовидові) гемаглютиніни. Цікаво, що у деяких амфібій знайдено антиген, ідентичний до D-антигену людини. Птахи мають багато груп крові, у курей їх знайдено більше 10.

Групи крові у ссавців, особливо у свійських тварин, вивчено краще, та у більшості з них також виявлено велику кількість груп крові: у коней – 11, великої рогатої худоби і свиней – 10 різних систем груп крові, у овець – 3 системи груп крові, дві з яких є ідентичними до груп крові у великої рогатої худоби. І лише у людиноподібних мавп групи крові подібні до тих, що є у людей. Так, майже у всіх досліджуваних шимпанзе кількісно переважає група А, виявлено антигени Rh (D і M), але не знайдено антигенів груп крові S, P і Lu.

4. При переливанні необхідно попередити зустріч однойменних аглютиногенів і аглютинінів, інакше може відбутися аглютинація еритроцитів із смертельним кінцем. При цьому у донора (людини, що дає кров) при переливанні крові звичайно звертають увагу на еритроцити з аглютиногенами, що в них містяться, а у реципієнта (людини, якому переливають кров) – на плазму з аглютинінами, що в ній містяться. Тому перед переливанням крові необхідно визначити групу крові, додаючи до неї антисироватки або моноклональні антитіла проти антигенів еритроцитів.

Групу крові встановлюють в залежності від аглютинації.

При відсутності аглютинації з усіма трьома сироватками кров належить до I (O) групи.

При аглютинації з сироватками I та III груп кров належить до II (A) групи.

При аглютинації з сироватками I та II груп кров належить до III (B) групи.

При аглютинації з сироватками I, II, III груп кров належить до IV (AB) групи.

Варіант Б. При використанні сучасних стандартних сироваток I та II груп, які містять відповідно аглютиніни α і β, групу крові встановлюють в залежності від аглютинації за наступним правилом:

При відсутності аглютинації з обома сироватками кров належить до I (O) групи.

При аглютинації з сироваткою I групи кров належить до II (A) групи.

При аглютинації з сироваткою II групи кров належить до III (B) групи.

При аглютинації з сироватками I і II груп кров належить до IV (AB) групи.

За системою АВО необхідно переливати тільки одногрупну кров (за аглютиногенами АВ0). У виключних, екстрених випадках можливе застосування правила Оттенберга: дозволяється переливання крові групи 0αβ (I), що не містить групових аглютиногенів, реципієнтам інших груп. Тому людину з 0αβ (I) групою крові можна назвати відносно універсальним донором. У виключних випадках реципієнтам групи АВ0 (IV), що не має групових аглютинінів, дозволяється переливання крові іншої сумісної групи (відносно універсальний реципієнт), наприклад, донорів I (0 αβ), II (Aβ), III (Bα) груп. Але кількість крові під час переливання в таких випадках повинна бути обмеженою (не більше 200 мл), причому дуже обережно слід переливати таку кров хворим з гострою крововтратою. Дітям можна переливати тільки одногрупну кров.

Будь-яке переливання крові – це складна операція за своєю імунологією. Тому переливати цільну кров треба тільки за життєвими показниками, коли крововтрата перевищує 25% від загального об’єму. Якщо гостра крововтрата менше 25% від загального об’єму, необхідно вводити плазмозамісники (кристалоїди), тому що в даному випадку більш важливо відновлення об’єму. В інших ситуаціях більш доцільно переливати той компонент крові, який необхідний організму. Наприклад, при анемії – еритроцитарну масу, при тромбоцитопенії – тромбоцитарну масу, при інфекціях, септичному шоці – гранулоцити.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ РОБОТИ

Завдання 1. Визначення групи крові людини за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток.

Принцип методу. Групи крові визначають за допомогою стандартних сироваток, що містять відомі аглютиніни.

Клінічне значення. Група крові встановлюється в залежності від наявності аглютинації.

1. Якщо аглютинації немає у всіх трьох краплях сироваток, це свідчить про відсутність аглютиногенів в еритроцитах досліджуваної крові, отже, ця кров належить до 0 (I) групи.

2. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I і III груп, то еритроцити містять аглютиноген А, кров належить до А (II) групи.

3. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I і II груп, то еритроцити містять аглютиноген В, кров належить до В (II) групи.

4. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I, II, III груп, то еритроцити містять як аглютиноген А так і аглютиноген В, кров належить до АВ (IV) групи.

Хід проведення. Групу крові визначити на спеціальних тарілках або планшетах, які маркуються. Під позначенням сироваток помістити по одній краплі стандартних сироваток I, II, III груп крові (приблизно по 0,1 мл); піпетки для кожної сироватки строго індивідуалізовані. Потім палець проколоти скарифікатором (допускається брати кров з мочки вуха або з вени) і маленькі краплі крові (приблизно 0,01 мл; співвідношення кількості стандартної сироватки і крові повинно бути приблизно 10:1) перенести в краплі сироватки окремими скляними паличками (рис. 10.1).

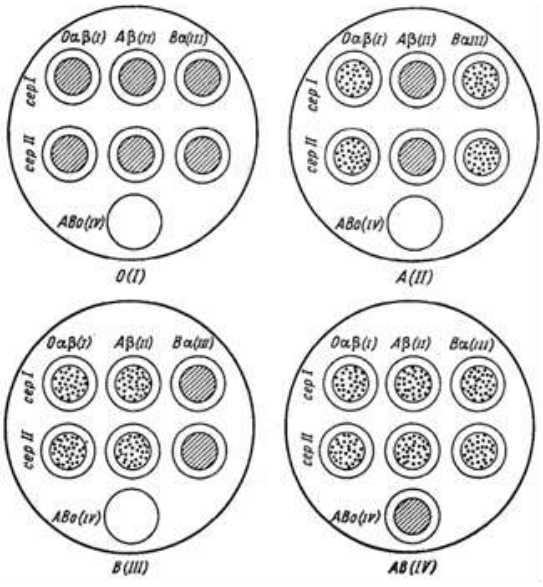


Рисунок 10.1. Результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток

Перемішати кров з сироватками до рівномірного забарвлення, потім на 1-2 хв залишити та знову періодично помішати протягом 5 хвилин. Реакція може бути позитивною – наявність аглютинації, або негативною – відсутність аглютинації. При позитивній реакції у краплі сироватка повністю або майже повністю знебарвлюється, на цьому тлі розрізняються грудочки зі склеєних еритроцитів. При негативній реакції крапля зберігає рівномірний червоний колір без ознак аглютинації

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А і анти-В.

Принцип методу. Цоліклони анти-А і анти-В призначені для визначення групи крові людини за системою АВ0. Визначення групи крові включає виявлення антигенів А і В в еритроцитах. Цоліклони анти-А і анти-В містять специфічні імуноглобуліни класу М, спрямовані проти групоспеціфічних антигенів А і В людини.

Клінічне значення. 1. Аглютинації немає (-) ні з реагентом анти-А, ні з реагентом анти-В. Значить досліджувані еритроцити не містять антигенів А і В і кров належить до групи О (I). Це підтверджується наявністю аглютинінів у плазмі досліджуваної крові за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А (II) і В (III)

2. Аглютинація (+) спостерігається тільки з тест-реагентами анти-А. Отже, досліджувані еритроцити містять тільки антиген А і кров належить до групи А (II). Це підтверджується наявністю аглютинінів β у досліджуваній (сироватці) плазмі за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи В (III).

3. Аглютинація (+) спостерігається тільки з тест-реагентами анти-В. Отже, досліджувані еритроцити містять тільки антиген В і кров належить до групи В (III). Це підтверджується наявністю аглютинінів α в досліджуваній плазмі за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи А (II).

4. Аглютинація (+) спостерігається, як з тест-реагентом анти-А, так і з тест-реагентом анти-В. Отже, досліджувані еритроцити містять обидва антигени (А і В) і кров належить до групи АВ (IV). Це підтверджується відсутністю аглютинінів α і β у досліджуваній плазмі за результатами реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А (II) і В (III).

У разі позитивної реакції аглютинації еритроцитів з обома тест-реагентами анти-А і анти-В необхідно провести додаткове контрольне дослідження даного зразка крові з фізіологічним розчином хлориду натрію. Для цього потрібно змішати одну краплю ізотонічного розчину з маленькою краплею досліджуваної крові в співвідношенні 10:1. Повторюють дослідження наявності антигенів А і В у цій контрольній краплі. При відсутності

аглютинації і в цьому випадку можна бути впевненим, що кров належить до групи АВ (IV).

Тест-реагенти анти-А забарвлені в рожевий колір, а анти-В – у блакитний.

Хід проведення. На білу порцелянову тарілку нанести по одній краплі тест-реагентів анти-А і анти-В під відповідними написами. Поруч з краплями антитіл нанести по одній маленькій краплі досліджуваної крові в співвідношенні 10:1. Змішують кров з реагентами. Спостереження за ходом реакції провести при легкому погойдуванні тарілки протягом 2,5 хв.

Результат реакції у кожній краплі може бути позитивним або негативним. Позитивний результат виражається в аглютинації (склеюванні) еритроцитів. Аглютинати видно неозброєним оком у вигляді дрібних червоних агрегатів, які швидко зливаються і утворюють великі пластівці аж до одного великого аглютинату. При негативній реакції крапля залишається рівномірно забарвленою в червоний колір, аглютинати в ній не виявляються. Аглютинація з тест-реагентами анти-А і анти-В зазвичай настає в перші 3-5 с. Спостереження слід вести 2,5 хв через можливість більш пізнього настання аглютинації з еритроцитами, що містять слабкі різновиди антигенів А і В.

Оцінка результатів аглютинації з тест-реагентами анти-А і анти-В (Цоліклони) наведені на рисунку 2 і в таблиці, в якій також містяться результати визначення аглютинінів у сироватці (плазмі) донорів за допомогою стандартних еритроцитів (рис. 10.2).

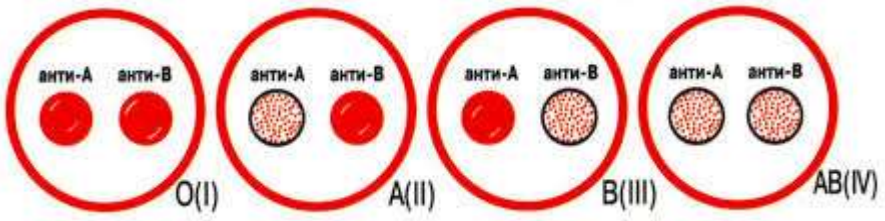


Рисунок 10.2. Результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою Цоліклонів анти-А і анти-В

Таблиця 1.10 – Визначення груп крові людини

	Реакція досліджуваних еритроцитів з Цоліклоном		Реакція досліджуваної сироватки (плазми) зі стандартними еритроцитами групи		Досліджувана кров належить до групи
	Анти-А	Анти-В	А(II)	В(III)	
1	–	–	+	+	0(I)
2	+	–	–	+	A(II)
3	–	+	+	–	B(III)
4	+	+	–	–	AB(IV)

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А й анти-В. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення груп крові за системою Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

Принцип методу. Визначення наявності аглютиногена Rh-фактора в крові необхідно як і визначення групи крові за системою АВ0. Найбільш зручним способом визначення Rh-фактора є методика з використанням специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

Клінічне значення. За наявності аглютинації (позитивний результат) досліджувану кров вважають резус-позитивною; у разі відсутності аглютинації (негативний результат) досліджувану кров вважають резус-негативною.

Хід проведення. На білу тарілку або планшету нанести по краплині антирезусної і контрольної сироваток. Проколоти палець скарифікатором, в обидві краплі внести кров обстежуваного. Через 5 хв фіксувати результат.

При наявності аглютинації еритроцитів з сироваткою антирезус кров резус-позитивна, при відсутності аглютинації – резус-негативна.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення Rh-фактора з використанням специфічної ізоімунної анти-D сироватки. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення груп крові за системою Резус із застосуванням Цоліклона анти-D.

Принцип методу. Моноклональні антитіла Анти-D СУПЕР призначені для виявлення D-антигену системи Резус в еритроцитах людини. Вони застосовуються замість або паралельно з ізоімунною анти-D сироваткою.

Клінічне значення. Висновок про присутність D-резус антигену в досліджуваних еритроцитах роблять при наявності реакції аглютинації. Така кров є резус-позитивною.

Відсутність аглютинації еритроцитів у краплі говорить про те, що в досліджуваній крові немає антигену D. Отже, така кров є резус-негативною.

Для контролю специфічності тест-реагенту в кожну серію досліджень необхідно включати досліди зі стандартними D-позитивними і D-негативними еритроцитами.

Хід проведення. Визначення Rh D-антигену провести в нативній крові, взятій з пальця. На пластину з поверхнею, що змочується, нанести велику краплю тест-реагенту Анти-D СУПЕР. Поруч помістити маленьку краплю досліджуваної крові (у співвідношенні 10:1). Змішати кров з реагентом. Реакція аглютинації починає розвиватися через 10 с, чітко виражена аглютинація настає через 30-60 с. Результати реакції слід враховувати через 3 хв. Пластину після змішування реагенту з кров'ю рекомендується похитувати не відразу, а через 20-30 с, що дозволяє за цей час розвинутися більш повній крупнопелюстковій реакції аглютинації.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення Rh-фактора з використанням Цоліклона анти-D. Зробити висновки.

Завдання 5. Вивчення умов та ходу проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

У даний час переливання крові з урахуванням групової приналежності здійснюється тільки за принципом однойменної групи. В екстрених ситуаціях можливе застосування правила Оттенберга, яке засноване на підборі крові таким чином, щоб не допускати суміщення однойменних аглютиногенів донора і аглютинінів реципієнта (рис. 3.10). У цих випадках порція крові, що вводиться, обмежується кількістю 200 мл.

		Донор			
	Група крові	A	B	AB	0
Реципієнт	A	так	ні	ні	так
	B	ні	так	ні	так
	AB	так	так	так	так
	0	ні	ні	ні	так

		Донор	
	Фактор Rh	Rh^+	Rh^-
Реципієнт	Rh^+	так	так
	Rh^-	ні	ні

Рисунок 10.3. Схематичне зазначення допустимого переливання крові

Принцип методу. Проби, які дозволяють зробити висновок про сумісність переливаємої крові по груповій системі АВ0 і системі резус-фактора, обов'язкові і не замінюють одна одну.

Клінічне значення. Переливання несумісної крові викликає гемотрансфузійний шок, який характеризується важкими клінічними проявами, небезпечними для життя. Одним з механізмів розвитку даного стану є те, що в результаті склеювання еритроцитів при здійсненні реакції антиген-антитіло, звільняються фактори згортання крові і блокуються мікроциркуляторні судини всіх органів і тканин утвореними фібриновими і тромбоцитарними тромбами. Розвивається гостра серцево-судинна недостатність, порушення дихання, гостре порушення функції нирок і печінки.

Запобігти несумісності при переливанні крові, можна шляхом врахування анамнезу та проведення чутливих проб на сумісність.

Пряма проба. Еритроцити донора змішати зі свіжої сироваткою реципієнта при 37^0С. Мета її – визначення в сироватці реципієнта антитіл до еритроцитів донора.

Зворотна проба. Еритроцити реципієнта помістити в сироватку донора при 37^0С. Мета проби – виявлення в крові донора антитіл до еритроцитів реципієнта.

Біологічна проба. Її проводять перед переливанням наступним чином: потрібно струменево перелити 10-15мл крові (еритроцитарної маси, плазми), потім протягом 3 хв спостерігати за станом людини. При відсутності явищ несумісності пробу продовжити. Процедуру слід повторити тричі. Відсутність реакції несумісності після проби дозволяє проводити переливання.

Оформити протокол досліду. Записати результати проведення проб на сумісність крові по груповій системі АВ0 і системі резус-фактора. Зробити висновки.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Як проводять визначення груп крові по системі АВ0 за допомогою стандартних сироваток?
2. Як проводять визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А і анти-В?
3. Як визначають резус-фактор за допомогою специфічної ізоімунної анти-D сироватки?
4. Як визначають резус-фактор за допомогою Цоліклона анти-D?
5. Які причини помилок при визначенні груп крові?
6. Назвіть особливості несумісності груп крові та їх успадкування.

ПИТАННЯ ДО ПОТОЧНОГО ТА ПІДСУМКОВОГО КОНТРОЛЮ

Поточний контроль кожного з чотирьох змістових модулів містить 20 тестових завдань. Підсумковий контроль передбачає виконання індивідуального дослідницького завдання та підсумкової контрольної роботи, в яку входять 5 ситуаційних задач та 20 тестових завдань. Тести виконуються он-лайн на платформі в Moodle.

Теоретичні питання:

1. Фізіологічні функції крові.
2. Склад, кількість та основні показники крові людини.
3. Фізико-хімічні властивості крові.
4. Структура та функції еритроцитів.
5. Гемоглобін: структура, властивості, сполуки.
6. Надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну.
7. Зміни розміру еритроцитів (анізоцитоз).
8. Зміни форми еритроцитів (пойкілоцитоз).
9. Анізохромія еритроцитів, причини та захворювання, при яких спостерігається дана патологія.
10. Елементи патологічної регенерації клітин червоного паростка.
11. Кількісні зміни еритроцитів.
12. Анемії: визначення, етіологія та класифікація.
13. Постгеморагічні анемії.
14. Гемолітичні анемії.
15. Анемії внаслідок порушення кровотворення.
16. Загальна характеристика лейкоцитів.
17. Структурно-функціональні особливості гранулоцитів.
18. Структурно-функціональні особливості агранулоцитів.
19. Зміни якісного та кількісного складу лейкоцитів.
20. Лейкози: етіологія, класифікація, характеристика видів.
21. Лейкемоїдні реакції.
22. Структурно-функціональна характеристика тромбоцитів.
23. Судинно-тромбоцитарний механізм гемостазу.
24. Коагуляційний механізм гемостазу.
25. Антикоагуляційні механізми.
26. Фібриноліз.
27. Порушення зсідання крові: етіологія, патогенез, прояви коагулопатії, гіпо- та гіперкоагуляції.
28. Система АВ0.
29. Резус-фактор (Rh).
30. Інші системи антигенів еритроцитів.
31. Основи переливання крові.

Практичні завдання:

1. Визначення характеру змін об'єму циркулюючої крові.

2. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів макроскопічним методом Лімбека та Ріб'єра.

3. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів мікроскопічним методом Яновського.

4. Визначення механічної резистентності еритроцитів методом Мармонта та Біанкі.

5. Визначення осмотичної резистентності лейкоцитів за методом Педерціні, модифікованим Кучерою та співавторами.

6. Визначення швидкості осідання еритроцитів методом Панченкова.

7. Визначення кальцію по кольоровій реакції з мурексидом у присутності гліцерину.

8. Проведення сулемової проби на лабільність білків сироватки крові (уніфікований метод).

9. Проведення коагуляційної проби Вельтмана (уніфікований метод).

10. Визначення кількості еритроцитів у 1 мкл крові.

11. Визначення кількості гемоглобіну в крові гемометром ГС-3.

12. Взяття крові пробірковим методом для підрахунку загальної кількості еритроцитів у периферичній крові.

13. Якісне визначення сполук гемоглобіну.

14. Розрахунок колірного показника крові.

15. Визначення середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті.

16. Визначення середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті.

17. Визначення середнього об'єму еритроцитів.

18. Підрахунок кількості ретикулоцитів у мазку крові.

19. Отримання кристалів геміну та вивчення їх під мікроскопом.

20. Вивчення аномальних за розміром видів еритроцитів.

21. Вивчення аномальних за формою видів еритроцитів.

22. Вивчення елементів патологічної регенерації.

23. Вивчення мазка крові при залізодефіцитній анемії.

24. Вивчення мазка крові при B_{12} - і фолієводефіцитній анемії.

25. Вивчення мазка крові при апластичній анемії.

26. Визначення кількості лейкоцитів у 1 мкл крові.

27. Визначення кількості еозинофілів у 1 мкл крові.

28. Приготування, фіксація та фарбування мазків крові.

29. Визначення лейкоцитарної формули.

30. Визначення лейкоцитарного профілю та індексу регенерації (ядерного зсуву).

31. Вивчення картини крові на мазках крові хворих на мієло- і лімфолейкоз.

32. Вивчення мазків кісткового мозку хворих на різні види лейкозу.

33. Визначення кількості тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке.

34. Визначення кількості тромбоцитів у периферичній крові за методом Фоніо.

35. Охарактеризувати тромбоцитарні індекси (PLT, MPV, PCT, PDW).

36. Проведення манжеточної проби (проби з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Леєде.

37. Визначення часу кровотечі.

38. Визначення тривалості кровотечі (уколочна проба Дуке).

39. Визначення швидкості зсідання крові методом Сухарева.

40. Визначення швидкості зсідання крові методом Фоніо.

41. Визначення часу рекальцинації плазми крові.

42. Визначення фібриногену В за методом Каммайна і Лайонса (модифікація Балуди, Русанової, Токарева).

43. Визначення групи крові людини за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток.

44. Визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А і анти-В.

45. Визначення груп крові за системою Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

46. Визначення груп крові за системою Резус із застосуванням Цоліклона анти-D.

47. Вивчення умов та ходу проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Видиборець С. В., Гайдукова С. М., Мулярчук О. В. Тромбоцити: структура і функції (лекція). *Сімейна медицина*. 2018. Т. 76, №2. С. 98–102.
2. Гайдукова С. М., Видиборець С. В. Гемостазіологія. Київ : НМАПО імені П.Л. Шупика, 2013. 158 с.
3. Гематологія і переливання крові : міжвідомчий збірник. Вип. 38. Київ : Гордон, 2015. 495 с.
4. Залізодефіцитна анемія : навчальний посібник для студентів і слухачів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації / за заг. ред. проф. Видиборця С. В. Вінниця–Бориспіль : ТОВ «Меркьюрі-Поділля», 2012. 238 с.
5. Козловський Ю. К. Основи реології крові. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2015. №4. С. 176–179.
6. Заневська Л. Й. Реінфузія крові : монографія / Л. Й. Заневська, О. В. Сергієнко, С. М. Гайдукова, С. В. Видиборець. Київ : НМАПО імені П. Л. Шупика, 2013. 158 с.
7. Левицький Е. О. Трепанобіопсія кісткового мозку : довід. із сучас. клінікопатоморфол. діагностики. Житомир : Полісся, 2012. 494 с.
8. Лігоненко О. В., Гірін Л. В. Основи гемотрансфузії. Полтава : ПМДУ, 2002. 68 с.
9. Іонов І. А., Комісова Т. Є., Слюсарєв В. Ф., Шаповалов С. О. Фізіологія крові та внутрішнього середовища : метод. рекомен. Харків : ЧП Петров В. В., 2017.48 с.
10. Мороз Г. І. Лабораторна діагностика гемофілій та хвороби Віллебранда : навчальний посібник для студентів медичних університетів та лікарів-слухачів курсів установ післядипломної освіти / Мороз Г. І., Красівська В. В., Видиборець С. В., Новак В. Л. Київ : НМАПО імені П. Л. Шупика, 2011.75 с.
11. Новак В. Л. Донорська плазма. Препарати плазми крові та їх клінічне застосування : навчальний посібник / В. Л. Новак, П. В. Гриза, С. В. Примак. Львів : ДУ «Ін-т патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. Дніпропетровськ : АРТ-ПРЕС, 2011. 261 с.
12. Профілактика передачі ВІЛ від матері до дитини : навчальний посібник / за ред. Н. Г. Гойди, Н. Я. Жилки. Київ : Імідж-принт, 2008. 222 с.
13. Радіо-біологічні та медико-гігієнічні наслідки Чорнобильської катастрофи: шляхи пізнання та подолання: практичний посібник сімейного лікаря / В. Г. Бебешко, Б. С. Прістер, М. І. Омелянець, О. В. Кучер та співав. Ужгород : ТДВ «Патент», 2017. 504 с.
14. Федоренко І. В. В'язкість крові як елемент визначення ефективної методики обчислення і вимірювання швидкості кровотоку судин людини. *Young Scientist*. 3016. № 8 (35). С. 165–168.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Бульда В. І., Дземан М. І., Радіонова І. О. Гематологічні захворювання в клінічній практиці : навчальний посібник. Київ : Медкнига, 2022. 196 с.
2. Костенко В. О., Акімов Є. О., Єлінська А. М., Ковальова І. О. Патофізіологія системи крові : навчальний посібник. Львів : ТОВ «Магнолія – 2006», 2020. 164 с.
3. Методи дослідження в гематології : навчальний посібник / І. О. Дудченко, Г. А. Фадєєва, В. В. Качковська, О. В. Орловський; за заг. ред. проф. Л. Н. Приступи. Суми : Сумський державний університет, 2019. 55 с.
4. Орлик В. В. Трансфузійна медицина : навчальний посібник. Київ : Медкнига, 2023. 425 с.

Додаткова:

1. Видиборець С. В., Гайдукова С. М., Мулярчук О. В. Тромбоцити: структура і функції (лекція). *Сімейна медицина.* 2018. № 2. С. 98–102.
2. Воробель А. В. Основи гематології : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
3. Гайдукова С. М., Видиборець С. В. Гемостазіологія. Київ : НМАПО імені П. Л. Шупика, 2013. 158 с.
4. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематологія і трансфузіологія / за ред. С. М. Гайдукової. Київ : Три крапки, 2001. 752 с.
6. Гемофілії : навчальний посібник для студентів медичних університетів та лікарів-слухачів курсів установ післядипломної освіти / Мороз Г. І., Видиборець С. В., Гайдукова С. М. і співавт. Київ : НМАПО імені П. Л. Шупика, 2011. 164 с.
7. Залізодефіцитна анемія : навчальний посібник для студентів і слухачів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації / за заг. ред. проф. Видиборця С. В. Вінниця–Бориспіль : ТОВ «Меркьюрі-Поділля», 2012. 238 с.
8. Діагностика та лікування захворювань системи крові : посібник для студентів та лікарів-інтернів / за ред. А. С. Свінціцького. Київ : Медкнига, 2011. 336 с.
9. Клінічна гематологія. Частина 1. Анемії : методичні вказівки для студентів і лікарів-інтернів / упоряд. Л. В. Журавльова, О. О. Янкевич. Харків : ХНМУ, 2015. 44 с.
10. Клінічна трансфузіологія / за ред. В. П. Польового, В. Д. Фундюра, М. Д. Желіби, В. В. Загороднього. Чернівці : Медуніверситет, 2014. 404 с.

11. Левицький Е. О. Трепанобіопсія кісткового мозку : довід. із сучас. клінікопатоморфол. діагностики. Житомир : Полісся, 2012. 494 с.
12. Мороз Г. І. Лабораторна діагностика гемофілій та хвороби Віллебранда : навчальний посібник для студентів медичних університетів та лікарів-слухачів курсів установ післядипломної освіти / Мороз Г. І., Красівська В. В., Видиборець С. В., Новак В. Л. Київ : НМАПО імені П. Л. Шупика, 2011.75 с.
13. Морфологія клітин крові лабораторних тварин і людини : атлас / Запорожан В. М., Напханюк В. К., Горянова Н. О. і співавт. Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2002. 118 с.
14. Новак В. Л. Донорська плазма. Препарати плазми крові та їх клінічне застосування : навчальний посібник / В. Л. Новак, П. В. Гриза, С. В. Примак. Львів : ДУ «Ін-т патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. Дніпропетровськ : АРТ-ПРЕС, 2011. 261 с.
15. Основи клінічної гемостазіології : навчальний посібник для студентів і слухачів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації / за заг. ред. проф. Видиборця С. В. Київ : НМАПО імені П. Л. Шупика, 2012. 192 с.
16. Міщенко І. В., Павленко Г. П., Коковська О. В. Фізіологія системи крові : навчально-методичний посібник для студентів медичних вузів України. Полтава : УМСА, 2019. 210 с.
17. Третяк Н. М. Гематологія. Київ : Зовнішня торгівля, 2005. 240 с.
18. Ho Anthony D., Haas Rainer, Champlin Richard E. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. New York : CRC Press, 2019. 624 p.
19. Mehta Atul B., Gomez Keith. Clinical Hematology: Illustrated Clinical Cases. London : Routledge, 2018. 352 p.
20. Agre Peter. Red Blood Cell Membranes. New York : CRC Press, 2019. 760 p.

ІНФОРМАЦІЙНІ РЕСУРСИ

1. Анемії – хвороби кровотворних органів. URL: https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.15.1
2. Великий практикум з фізіології людини та тварин. URL: https://moodle.znu.edu.ua/course/view.php?id=5064
3. Закон України від 23.06.1995 р. № 239/95-ВР «Про донорство крові та її компонентів» / Верховна Рада України: офіційний веб-портал : Законодавство України [Електронний ресурс]. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/239/95-%D0%B2%D1%80
4. Гематологічне дослідження. URL: http://medbib.in.ua/gematologicheskoe-issledovanie.html
5. Групи крові сільськогосподарських тварин. URL: http://um.co.ua/3/3-13/3-132169.html
6. Кров і кровоносна система. URL: https://stud.com.ua/103866/meditsina/krov_krovonosna_sistema
7. Лейкози. URL: http://medbib.in.ua/leykozyi-44353.html
8. Лейкози – пухлини системи крові. URL: https://lifelib.info/medical/biology_1/432.html
9. Патологічна фізіологія системи крові. URL: http://medbib.in.ua/patologicheskaya-fiziologiya-sistemyi.html
10. Склад і функції крові. Схема кровотворення у тварин. URL: http://medmat.pp.ua/30/37047.html
11. Фізіологія людини. Кров. URL: https://medical-enc.com.ua/krov.htm
12. Фізіологія крові. URL: https://tdmuv.com/cd/norm_fiziolog/html/R4.htm
13. Функції крові, склад крові, плазма крові – Фізіологія людини. URL: https://pidru4niki.com/1494051159787/meditsina/funktsiyi_krovi
14. Хвороби системи крові. URL: http://medbib.in.ua/bolezni-sistemyi-krovi.html
15. The Cochrane Collaboration The Cochrane. URL: http://www.cochrane.org/
16. The French National Authority for Health. URL: http://www.has-sante.fr/
17. The National Health and Medical Research Council (NHMRC). URL: https://www.nhmrc.gov.au
18. Medscape from WebMD. URL: http://www.medscape.com
19. National Comprehensive Cancer Network. URL: https://www.nccn.org/
20. Societies and Associations (EPA/UNEPSA). URL: http://www.epa-unepsa.org/

Навчальне видання
(українською мовою)

Григорова Наталя Володимирівна

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ФІЗІОЛОГІЇ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

Лабораторний практикум
для студентів ступеня вищої освіти бакалавра
спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія»

Рецензент *М. М. Малько*
Відповідальний за випуск *О. Г. Кущ*
Коректор *Н. В. Григорова*