

ĆWICZENIE 2: HEMATOLOGIA

Krwinki czerwone

Opracowali: dr Michał Bulc, dr Katarzyna Palus, prof. Sławomir Gonkowski, prof. Jarosław Całka

Erytrocyty informacje ogólne

- ❖ Krwinki czerwone – erytrocyty stanowią objętościowo główny składnik morfotyczny krwi. Są komórkami pozbawionymi jądra i organelli komórkowych, krążącymi w krwiobiegu przez okres od 60 do 120 dni.
- ❖ Główną funkcją erytrocytów jest przenoszenie tlenu udział w transporcie dwutlenku węgla głównie w formie jonu wodorowęglowego.
- ❖ Erytrocyty dzięki zawartej w niej hemoglobinie stanowią również jeden z układów buforowych krwi.
- ❖ Krwinki czerwone większości gatunków ssaków mają charakterystyczny kształt dwuwklęsłego dysku. Kształt ten jest dobrze widoczny u psa słabiej u konia i kota. Natomiast erytrocyty małych przeżuwaczy mają bardziej płaską powierzchnię. Taki kształt zapewnia krwince lepszy stosunek powierzchni do objętości niż kształt kulisty co zapewnia lepsze warunki do wymiany gazowej i umożliwia większą odkształcalność.
- ❖ Cechą charakterystyczną erytrocytów jest również obecność silnie rozbudowanego szkieletu podbłonowego odpowiedzialnego za zmianę kształtu tych krwinek oraz warunkującego możliwość zakotwiczenia wielu enzymów wewnątrz komórkowych.
- ❖ Erytrocyty innych kręgowców niż ssaki zawierają jądro komórkowe.
- ❖ Pierwszą gromadą wśród strunowców u których pojawiły się krwinki czerwone są smoczkouste.

Erytrocyty, czyli krwinki czerwone oceniane są pod mikroskopem ze względu na kształt, wielkość oraz barwność.

I. KSZTAŁT KRWINEK CZERWONYCH

Erytrocyty w warunkach fizjologicznych są okrągłe, z przejaśnieniem w środkowej części komórki. W stanach patologicznych lub pod wpływem czynników środowiskowych mogą jednak przybierać różne kształty.

Wyróżnia się:

-**sferocyty**- są małe, kuliste, grube, silnie barwiące się, charakterystyczne dla wrodzonej niedokrwistości hemolitycznej;

-**owalocyty**, inaczej **eliptocyty** - o kształcie owalnym. O owalocytozie mówi się gdy tego typu krwinki przekraczają 25 % wszystkich erytrocytów. Owalocytoza może być wrodzona (rzadko) lub nabyta (np. przy niedoborze wit. B12);

-**akantocyty** - posiadają kolczaste wypustki rozłożone nierównomiernie, w mniejszej ilości niż echinocyty, występują w przebiegu marskości i zapalenia wątroby oraz zmniejszenia ilości β lipoprotein osocza.

- **lakrymocyty** – kształt kropel łez (występują przy zwłóknieniu szpiku i w przebiegu niektórych niedokrwistości hemolitycznych);

Kształty erytrocytów c. d.:

-**drepanocyty** – komórki sierpowate charakterystyczne dla niedokrwistości sierpowatokrwinkowej (anemii sierpowatej – wrodzonej niedokrwistości spowodowanej nieprawidłową budową hemoglobiny);

-**echinocyty** – krwinki z regularnie położonymi wypustkami w ilości 10-30 (tzw. krwinki karbowane). Często spotykane przy błędach polegających na zakłóceniu równowagi osmotycznej podczas wykonywania rozmazu.

Występowanie in vivo może świadczyć o mocznicy lub chorobach wątroby.

Występują też po podaniu heparyny; jako ciekawostkę można wspomnieć, że echinocyty występują u ludzi przebywających w stanie nieważkości a więc u kosmonautów. Po powrocie na ziemię stopniowo zanikają;

-**erytrocyty tarczowate** – target cell (w przejaśnieniu środkowym mają kroplę hemoglobiny barwiącej się na czerwono). Ich występowanie jest uwarunkowane genetycznie, może być także objawem żółtaczki mechanicznej, niedokrwistości niedoborowej, licznie występują też po splenektomii;

Kształty erytrocytów c. d.:

- **schistocyty** – fragmenty krwinek. Ich powstawanie nie jest do końca wyjaśnione. Szczególnie duże ich ilości towarzyszą chorobom, w których występuje zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego – DIC;
- **kodocyty** – erytrocyty o kształcie dzwonu, występują w przebiegu anemii niedobarwliwych.
- **stomatocyty** -erytrocyty z jednostronnym wgłębieniem, w kształcie kubka, mają bardzo charakterystyczne środkowe przejaśnienie przypominające kształtem otwarte usta (stąd nazwa).Występują w przebiegu wrodzonych i nabytych niedokrwistości hemolitycznych podczas których dochodzi do szybszego rozpadu erytrocytów.
- **dakriocyty** –krwinki przypominające kształtem chińską porcelanową łyżeczkę, pojawiają się w przebiegu talasemii.
- **leptocyty** – krwinki czerwone o niezmiernie cienkiej błonie komórkowej
- **knizocyty** – erytrocyty mające 3 wklęsłości
- **keratocyty** – krwinki czerwone przypominające złączone komórki naskórka o kształcie nieregularnym.

Kształty erytrocytów c. d.:

We krwi ssaków z rodziny *Camelidae* (wielbłądy, lamy) erytrocyty mają fizjologicznie kształt eliptyczny. Taki kształt zapewnia krwinkom większą oporność osmotyczną i chroni błonę komórkową przed pęknięciem. Wynika to z faktu, że dorosłe wielbłądy potrafią 130 litrów wody w ciągu 10 minut. Tak duża ilość wody przekłada się na wzrost objętości osocza, a co za tym idzie wzmożone wnikanie wody do cytoplazmy krwinek czerwonych. Wówczas kształt eliptyczny, który przekłada się na zwiększenie objętości krwinki czerwonej znacznie lepiej zapobiega uszkodzeniu błony komórkowej.

Występowanie w krwi erytrocytów o różnym kształcie określa się mianem **poikilocytozy.**

II. WIELKOŚĆ ERYTROCYTÓW

Ze względu na wielkość krwinki czerwone określane są jako:

- **normocyty** - o prawidłowej wielkości. Fizjologicznie erytrocyty kóz i owiec charakteryzują się znacznie mniejszą wielkością niż pozostałych ssaków;
- **mikrocyty** - o mniejszych rozmiarach niż krwinki prawidłowe o średnicy poniżej 6 μm .
- **makrocyty** - o większych rozmiarach od krwinek prawidłowych.

Wyróżnia się dwa rodzaje mikrocytów:

- **mikrosferocyty** – napęczniałe okrągłe, bez środkowego przejaśnienia. Charakteryzują się krótkim czasem życia i małą odpornością na hemolizę, występują tylko u psów
- **mikrocyty niesferocytowe** - wyglądem zbliżone do erytrocytów prawidłowych, ale cieńsze i z mniejszą ilością hemoglobiny. Występują przy niedoborach żelaza lub zaburzeniach gospodarki tym metalem.

Podział makrocytów:

-**makrocyty megalocytowe (megalocyty)** eryocyty olbrzymie (średnica powyżej 12 μm). Występują przy chorobach wątroby, w niektórych postaciach anemii, przy zaburzeniach procesu erytropoezy;

- **makrocyty niemegalocytowe** – mniejsze od megalocytów, występują przy chorobach trzustki, nerek, niektórych typach niedokrwistości;

-**leptocyty (planocyty)** - komórki spłaszczone, z dużym przejaśnieniem w środkowej części;

-**makrocyty będące wyrazem niedojrzałości** -najczęściej są to retikulocyty lub krwinki czerwone obojętnochłonne (erytroblasty). We krwi obwodowej występują w stanach wzmożonej erytropoezy (np. po obfitych krwotokach).

Występowanie w krwi erytrocytów o różnej wielkości określa się mianem anizocytozy.

III. BARWLIWOŚĆ KRWINEK CZERWONYCH

Prawidłowe erytrocyty określane są jako komórki normochromiczne lub ortochromatyczne.

Zmiany w barwliwości krwinek czerwonych:

-**hipochromia** - tzw. niedobarwliwość- zbyt mała zawartość hemoglobiny w krwince. Występuje zwiększony obszar przejaśnienia w centralnej części krwinki (do ponad 1/3 jej powierzchni). W skrajnych przypadkach krwinki wybarwione są tylko na obwodzie i przypominają obrączki (w takim przypadku krwinki nazywa się **anulocytami**);

-**hiperchromia**, tzw. nadbarwliwość - zbyt duża zawartość hemoglobiny w krwince. Nie widoczne jest przejaśnienie.

Polichromatofilia – wielobarwliwość erytrocytów. Widoczna jest w postaci różnobarwnych grudek w cytoplazmie. Może wskazywać na niedojrzałość erytrocytów, bądź być objawem zatrucia metalami ciężkimi (zwłaszcza ołowiem). Występuje również w przebiegu niektórych typów białaczki..

Inne nieprawidłowości krwinek czerwonych

Erytroblastoza – występowania w rozmazie jądrzastych krwinek czerwonych. W przypadku nielicznych erytroblastów podaje się ich liczbę w stosunku do 100 krwinek białych np. 4 erytroblasty na 100 krwinek białych. W przypadku ich znacznej liczby podaje się je w jednostkach objętości np. w litrze krwi lub w % w stosunku do wszystkich krwinek jądrzastych.

Ciałka Howell – Jolly’ego – są to pozostałości jądra erytroblastu w postaci drobnych różowych, pojedynczych lub podwójnych kulek. Występują w przebiegu ciężkich niedokrwistości lub żółtaczce hemolitycznej.

Pierścienie Cabota – nitkowate twory stanowiące pozostałość po błonie jądra erytroblastu występują w niedokrwistościach, białaczkach i zatruciu ołowiem.

Ciałka Hainza – grudki zdenaturowanej hemoglobiny zlokalizowane głównie pod błoną komórkową najczęściej pojawiają się przy zatruciach. U psów po spożyciu cebuli, czosnku, cynku a także przy zatruciu paracetamolem. Szczególnie wrażliwe na tworzenie tych tworów są erytrocyty kotów ze względu na dużą ilość grup –SH pojawiają się pod wpływem tych samych substancji co u psów.

We wnętrzu krwinek czerwonych można ponadto znaleźć różnego rodzaju **Pasożyty** jak : *Babesia sp.*, *Theileria sp.*, *Anaplasma sp.*, *Trypanosoma sp.*, *Toxoplasma sp.*

Metabolizm erytrocytów

Głównym źródłem energii dla erytrocytów jest glukoza, która wnika do wnętrza komórki przez transporter dla glukozy typu I (GLUT I). Należy pamiętać, że erytrocyty świń nie posiadają tego transportera dlatego głównym źródłem energii jest u nich inozyna.

Glukoza w obrębie cytoplazmy ulega przemianom w procesie glikolizy oraz w cyklu pentozofosforanowym.

Glikoliza ma charakter beztlenowy a jej końcowym produktem jest mleczan. Cechą charakterystyczną jest szlak bisfosfoglicerynianowy (cykl Rapoport – Leuberinga). Na skutek działania mutazy bisfosfoglicerynianowej powstaje 2,3 bisfosfoglicerynian (2,3-BPG). Związek ten hamuje wiązanie tlenu z hemoglobina łączy się z deoksyhemoglobina i stabilizuje ją. Krwinki czerwone człowieka, konia, psa i świni mają wysokie stężenie 2,3-BPG podczas gdy erytrocyty kota, krów i owiec mają niskie stężenie tego związku.

Cykl pentozofosforanowy dostarcza krwince równoważników redukujących NADPH. Kluczowym enzymem w przebiegu przemian glukozy jest dehydrogenaza glukozy -6-fosforanowa (G-6-P). Niedobór tego enzymu jest jedną z najczęstszych enzymopatii na świecie. Brak tego enzymu powoduje zmniejszone stężenie równoważników redukcyjnych w krwince co prowadzi do przyspieszonej hemolizy. Jednym z następstw wywołanych przez brak tego enzymu określana jest schorzenie określane jako fawizm. Występuje on po spożyciu nasion bobu, które zawierają związki utleniające powodujące rozwój ostrego kryzysu hemolitycznego. Podobnie hemoliza może nastąpić również po spożyciu niektórych leków.

Ochrona krwinki czerwonej przed działaniem reaktywnych form tlenu

Erytrocyt przenosząc tlen jest narażony na działanie jego reaktywnych form. Przede wszystkim anionorodnika ponadtlenkowego oraz nadtlenu wodoru. Głównym źródłem tych rodników jest samoutlenianie żelaza z formy Fe^{2+} do Fe^{3+} , a więc przejście oksyhemoglobiny w methemoglobinę czemu towarzyszy uwolnienie anionorodnika ponadtlenkowego. Rodnik ten następnie może ulegać dysmutacji do tlenu i nadtlenu wodoru lub reaguje ze składnikami cytoplazmy i błony komórkowej erytrocytu.

Methemoglobina nie ma możliwości transportować tlenu fizjologicznie dzięki mechanizmom obronnym jej ilość nie przekracza 5 %. Zwiększenie ponad tą normę określane jest jako methemoglobinemia. Objawy kliniczne tego schorzenia są skutkiem niedotlenienia tkanek, gdy jej poziom przekracza 50 % występuje letarg i ataksja przy przekroczeniu poziomu 80 % dochodzi do śpiączki i zgonu. Na schorzenie to mogą być narażone przeżuwacze, na skutek spożycia roślin nazwożonych związkami azotowymi. Azotyny mają silne właściwości utleniające w stosunku do żelaza hemoglobiny. W leczeniu stosuje się związki redukujące np. błękit metylenowy.

Enzymatyczne sposoby obrony erytrocytu przed reaktywnymi formami tlenu

Reduktaza methemoglobiny

Enzym ten redukuje methemoglobinę do hemoglobiny do swojego działania potrzebuje NADH i jest głównym enzymem chroniącym krwinkę przed powstawaniem methemoglobiny. Podobne właściwości wykazuje reductaza cytochromu b5 oraz diaforaza NADPH.

Ochrona krwinki czerwonej przed działaniem reaktywnych form tlenu cd

Dysmutaza ponadtlenkowa:

Enzym ten przeprowadza dysmutację anionorodnika ponadtlenkowego do swojego działania wymaga miedzi oraz cynku. W wyniku tej reakcji powstaje nadtlenek wodoru.

Katalaza:

Enzym ten rozkłada powstający w opisanej powyżej reakcji nadtlenek wodoru do wody i tlenu. Dodatkowo enzym ten ma zdolność rozkładania nadtlenu wodoru powstającego w innych tkankach oraz odgrywa pewną rolę w metabolizmie etanolu. Postuluje się, że osoby o zwiększonej aktywności katalazy mają skłonności do nadmiernego spożywania napojów alkoholowych.

Glutation

Tripeptyd ten odgrywa istotną rolę w ochronie erytrocytów przed działaniem nadtlenu wodoru. Występuje w krwi w dwóch formach zredukowanej GSH oraz utlenionej GSSG. Mechanizm działania glutationu polega na przeprowadzaniu reakcji rozkładu nadtlenu wodoru do wody. W reakcji tej glutation zredukowany przy udziale enzymu peroksydazy glutationu rozkłada ten związek ulegając przekształceniu w glutation utleniony. Dla prawidłowego funkcjonowania tego układu enzymatycznego jest utrzymanie glutationu w formie zredukowanej. Za proces ten odpowiedzialny jest inny enzym reduktaza glutationu, która redukuje formę utlenioną do zredukowanej. Dodatkowo do prawidłowego przebiegu reakcji w tym układzie potrzebny jest selen NADPH oraz dinukleotyd flawinowo – adeninowy.

Tradycyjnie oznaczanie liczby krwinek czerwonych (RBC) wykonuje się przy pomocy metody komorowej bezpośredniego liczenia przy użyciu hemocytometru (stolika, szkiełka, komory) do liczenia krwinek. Istnieje kilka rodzajów hemocytometru, a mianowicie Bürkera, Thoma, Neubauera, Fuchsa-Roenthala

Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania oznaczenia:

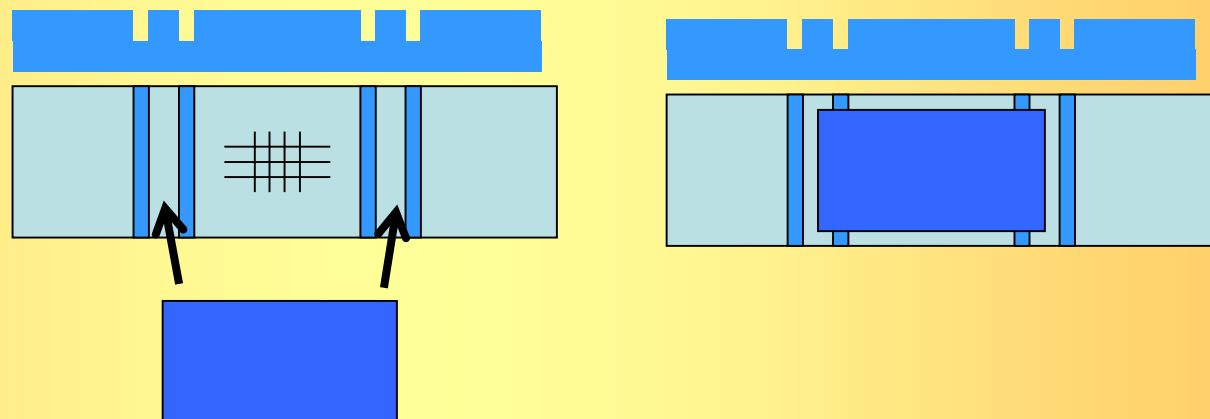
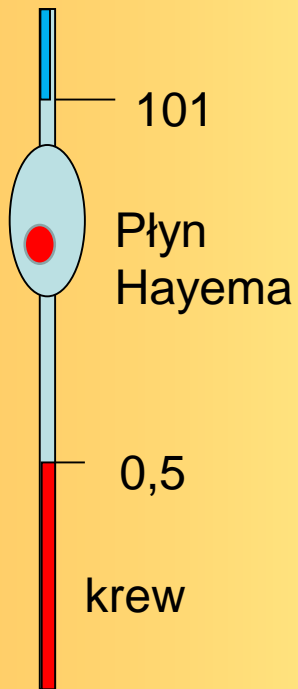
1. Krew włośniczkowa lub żylna z dodatkiem antykoagulantu
2. Hemocytometr Bürkera
3. Płyn rozcieńczający Hayema
(2,5 g $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ + 0,5 g NaCl + 0,25 g HgCl_2 rozpuszczone w 100ml H_2O dest.)
4. Mieszalnik Potaina z czerwoną perełką
5. Mikroskop

Wykonanie oznaczenia liczby krwinek czerwonych

1. Wypełnić mieszalnik krwią do poziomu 0,5, uzupełnić płynem Hayema do poziomu 101. W ten sposób uzyskuje się 200-krotne rozcieńczenie badanej krwi.

2. Mieszać krew w mieszalniku przez ok. 3 minuty.

3. Stolik do liczenia krwinek przygotować poprzez nałożenie szkiełka nakrywkowego na jego boczne bloczki (wyniosłości).



4. Ustawić w mikroskopie obiektyw x10, umieścić komorę na stoliku mikroskopu tak, aby widoczna była znajdująca się na niej siateczka.

5. Nakropić mieszaninę krwi i płynu Hayema w miejscu zaznaczonym czerwoną strzałką.

6. Liczyć krwinki na tle 80 małych kwadratów (o boku 1/20 mm). Pod uwagę bierze się krwinki znajdujące się wewnątrz kwadratu oraz te leżące na górnych i lewych liniach. Nie liczyć komórek znajdujących się na dolnych i prawych liniach kwadratu.

7. Liczbę krwinek w 1 mm³ obliczyć według wzoru

$$a \times b \times 4000$$

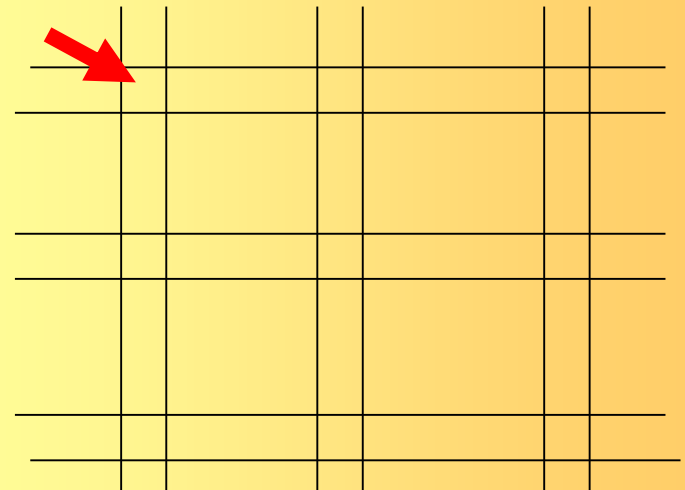
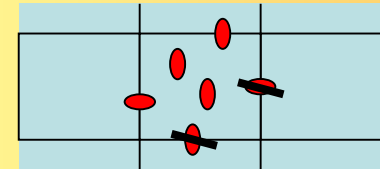
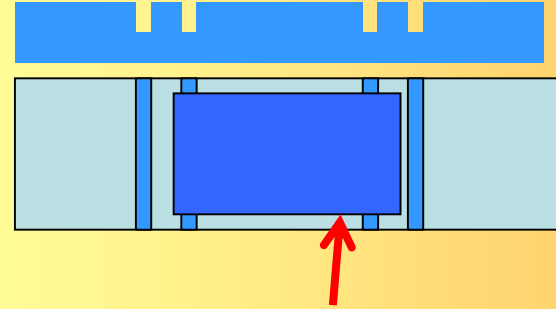
n

a – liczba krwinek czerwonych na tle 80 kwadratów

b- rozcieńczenie krwi

n-liczba zliczonych kwadratów

4000 – współczynnik wynikający z budowy komory Bürkera



Fizjologiczna liczba krwinek czerwonych

LUDZIE

Płeć	Zakres wartości prawidłowych (w różnych jednostkach)
Kobiety	3.500.000 - 5.200.000/mm ³ , 3.5 - 5.2 x 10 ¹² /l
Mężczyźni	3.900.000 - 5.700.000/mm ³ , 3.9 - 5.7 x 10 ¹² /l

INNE GATUNKI

gatunek	Jednostki SI [10 ¹² /l]	Jednostki tradycyjne [mln/mm ³]
Koń	5,5-10,0	5,5-10,0
Bydło	5,0-7,0	5,0-7,0
Owce	8,0-13,0	8,0-13,0
Kozy	7,0-15,0	7,0-15,0
Świnie	5,0-8,0	5,0-8,0
Psy	5,5-8,0	5,5-8,0
Koty	6,5-10,0	6,5-10,0
Króliki	4,0-9,0	4,0-9,0
Świnki morskie	4,5-6,4	4,5-6,4
Chomiki syryjskie	6,0-9,0	6,0-9,0

Ze względu na stosunkowo niewielką średnicę krwinek u małych przeżuwaczy (owce, kozy) ilość erytrocytów u tych gatunków znacznie przekracza ilość 10 mln w mm³

Wg. „Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii” Anna Winnicka, wyd. SGGW

Wzrost liczby krwinek czerwonych ponad normę to **nadkrwistość** natomiast ich obniżenie poniżej dolnej granicy normy **niedokrwistość**, czyli anemia.

Zwiększenie liczby krwinek czerwonych może być spowodowane przez:

- odwodnienie
- niektóre choroby nowotworowe
- wodonercze
- niewydolność serca i płuc
- długotrwałe niedotlenienie
- torbielowatość nerek
- leczenie kortykosteroidami

Liczba krwinek czerwonych zależy też od warunków fizjologicznych, takich jak:

- wiek
- płeć
- dieta
- zmęczenie organizmu
- miejsce życia (więcej krwinek podczas pobytu na dużych wysokościach)

Zmniejszenie liczby krwinek czerwonych może być spowodowane przez:

- niedokrwistości (pokrwotoczna, aplastyczna, hemolityczna, z niedoborów)
- przewodnienie
- późny okres ciąży
- Pasożyty krwi
- choroby nerek
- zaburzenia endokrynologiczne

Hemoglobina to białko złożone z grupy prostetycznej zwanej hemem, pochodnej porfiryny (protoporfiryna IX) związanej z atomem dwuwartościowego żelaza i białka prostego - globiny. Na cząsteczkę hemoglobiny przypadają cztery hemy (każda z nich może przyłączyć cząsteczkę tlenu) i cztery globiny (składającej się z czterech łańcuchów: dwóch alfa i dwóch beta).

Należy pamiętać, że przyłączenie tlenu do hemoglobiny nie powoduje zmiany wartościowości żelaza dlatego proces ten nazywamy **utlenowaniem**.

W zależności od typu podjednostek ułatwiających przyłączenie i rozprowadzenie tlenu wyróżnia się kilka rodzajów hemoglobiny. Rodzaje te mogą występować w warunkach fizjologicznych lub patologicznych.

W globinach ludzkich opisano pięć rodzajów łańcuchów polipeptydowych, które określono symbolami α , β , γ , δ , ϵ .

Rodzaje hemoglobiny występujące w warunkach fizjologicznych:

- a) **HbA1** - to oznaczenie prawidłowej hemoglobiny, składa się z dwóch łańcuchów α i dwóch łańcuchów β .
- b) **HbA2** - prawidłowa hemoglobina, stanowiąca od 1,5. 3% . całkowitej hemoglobiny, zbudowana jest z dwóch łańcuchów α i dwóch łańcuchów δ .
- c) **HbF** - tzw. hemoglobina płodowa, która ma większe powinowactwo do tlenu niż HbA, dzięki czemu jest w stanie pobrać tlen z krwi matki przez łożysko i uwolnić go w tkankach płodu. Występuje też u osobników dorosłych, gdzie stanowi do 2% całej hemoglobiny. Składa się z dwóch łańcuchów α i dwóch łańcuchów γ . Hemoglobina płodowa charakteryzuje się znacznie mniejszym stężeniem 2,3-BPG niż hemoglobina HbA1 dzięki temu ma większe powinowactwo do tlenu przy niższych ciśnieniach parcjalnych tego gazu. Erytrocyty płodowe psa, konia i świni nie zawierają hemoglobiny płodowej F tylko hemoglobinę osobników dorosłych ale o znacznie mniejszym stężeniu 2,3-BFG. U wszystkich gatunków zwierząt z wyjątkiem kota hemoglobiny płodów mają większe powinowactwo do tlenu niż hemoglobiny osobników dorosłych. U kotów jest to rekompensowane inną budową łożyska.
- d) **hemoglobina glikowana (HbA1c)**, powstaje w wyniku nieenzymatycznego przyłączenia cukrów redukujących do reszt aminowych globiny. Reakcja ta jest powolna i zależy od ilości glukozy we krwi. Fizjologicznie stanowi 4-6% całej hemoglobiny. Jej stężenie jest wykorzystywane do monitorowania pacjentów z cukrzycą.
- e) **produkty przejściowe pomiędzy HbA i HbA1c**, w których glukoza jest połączona odwracalnie, stanowiące 6-8% całej hemoglobiny

Rola hemoglobiny w transporcie gazów

Podstawową funkcją hemoglobiny jest transport tlenu z płuc do tkanek. W warunkach prawidłowych 1 g hemoglobiny może związać 1,34 ml tlenu, a więc w 100 ml krwi tętniczej wypełni wysyczonej tlenem znajduje się 20 ml tlenu.

Na powinowactwo tlenowe hemoglobiny wpływa kilka czynników:

Ciśnienie parcjalne tlenu w pęcherzykach płucnych, wzrost ciśnienia parcjalnego powoduje wzrost powinowactwa tlenu do hemoglobiny.

Stężenie jonów H^+ , wpływ tych jonów na wiązanie hemoglobiny z tlenem określa się **efektem Bohra**. W tkankach obwodowych, gdzie stężenie H^+ jest większe dochodzi do zmniejszenia powinowactwa tlenowego hemoglobiny co ułatwia oddysocjowanie tlenu i oddawanie go tkankom. Mówimy wówczas o przesunięciu krzywej dysocjacji hemoglobiny w lewo.

Temperatura, podwyższenie temperatury zmniejsza powinowactwo tlenowe hemoglobiny co jest fizjologicznie korzystne ponieważ wzrost temperatury zwiększa tempo przemian metabolicznych tkanek, a tym samym ich zapotrzebowanie na tlen.

2,3 bisfosfoglicerynian, u większości ssaków zmniejsza powinowactwo tlenowe hemoglobiny. Podobny efekt wywiera ATP.

Nieprawidłowe formy hemoglobiny powstają w przebiegu zmian (zwykle mutacji punktowych, delecji) w genach kodujących białko globinę, co znajduje swoje odzwierciedlenie w zmianach aminokwasów tworzących to białko. Zmiany te mogą dotyczyć struktury hemoglobiny, jej funkcji, szybkości powstawania i/lub stabilności.

•**Rodzaje hemoglobiny nieprawidłowej:**

HbS odpowiada m.in. za anemię sierpowatą, jedną z wrodzonych chorób krwi.

- Hemoglobina typu Chesapeake
- Hemoglobina typu Bristol
- Hemoglobina typu Sydney
- Hemoglobina typu Hikari
- Hemoglobina typu Milwaukee
- Hemoglobina typu Lepore

Nazwę hemoglobiny patologicznej tworzy się od nazwy miejscowości, z której pochodził pacjent ze zdiagnozowaną hemoglobinopatią.

- Hemoglobina patologiczna może mieć też charakter ilościowy, który sprowadza się do zmian w długości poszczególnych łańcuchów globiny lub nawet ich ubytku. Obecność tak zmienionych hemoglobin prowadzi do rozwoju schorzenia zwanego **talasemią**. W zależności od rodzaju łańcucha, którego dotyczy zmiana wyróżniamy **talasemie α lub β** .
- Konsekwencją hemoglobinopatii jest zwiększona podatność krwinek na hemolizę co znacznie skraca ich okres życia. Dodatkowo patologiczne hemoglobiny znacznie łatwiej ulegają przekształceniu w methemoglobinę.
- Ponadto wyróżniamy hemoglobiny powstałe w wyniku przyłączenia do tlenu innych związków niż tlen. **Hemoglobina tlenkowowęglowa** (zawiera tlenek węgla HbCO), **tlenek azotu** (HbNO), **siarkowodór** (SHb), **jonem cyjankowym** (CyjanHb).

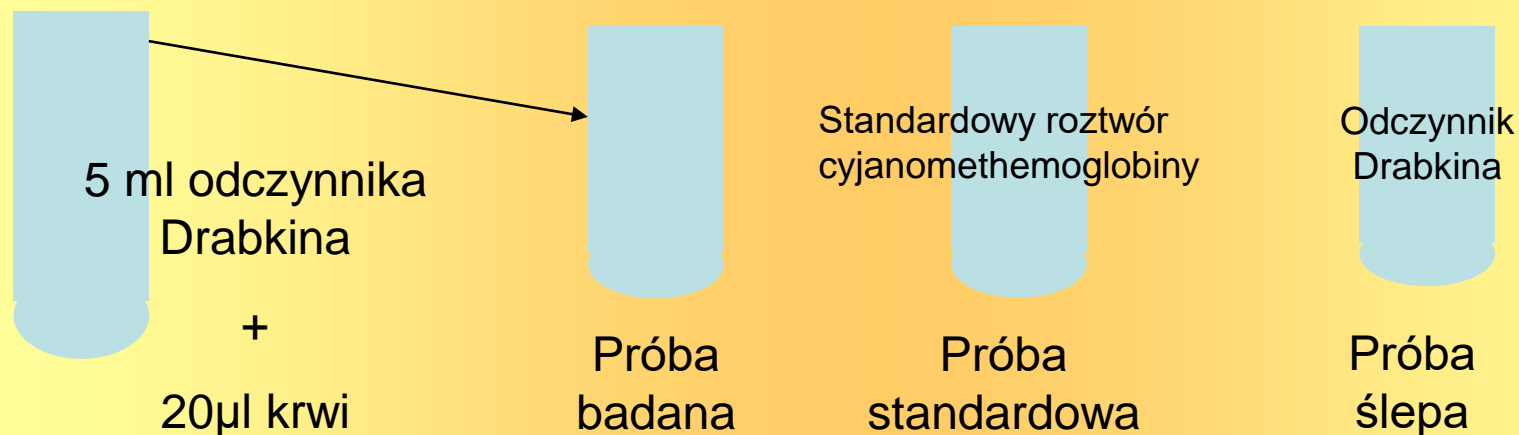
Oznaczanie zawartości hemoglobiny we krwi metodą spektrofotometryczną- wykonanie

Zasada oznaczenia: Badany roztwór (w tym wypadku cyjanomethemoglobina) pochłania pewne składniki światła białego, dlatego ich brak świadczy o obecności danego związku w roztworze),

Potrzebne urządzenia i odczynniki:

1. Krew
2. Odczynnik Drabkina (0,03% $K_3[Fe(CN)_6]$, 0,1% $NaHCO_3$, 0,005% KCN).
3. Wzorcowy roztwór cyjanomethemoglobiny
4. Pipety
5. Spektrofotometr
6. Probówka

1. Wykonać próbę badaną: w tym celu do probówki z 5 ml odczynnika Drabkina dodać 20 μ l krwi
2. Odczekać 5 minut i zawartość probówki przelać do kuwety spektrofotometru
3. Wyzerować spektrofotometr wobec próby ślepej, a następnie oznaczyć absorbancję próby badanej i próby standardowej (Długość fali - 540)



4. Uzyskane wartości podstawiamy do wzoru:

$$\text{Hb (g/dl)} = \frac{\text{Absorbancja próby badanej}}{\text{Absorbancja próby standardowej}} \times \text{współczynnik (z etykiety roztworu standardowego)}$$

Wartości prawidłowe u ludzi Prawidłowe stężenie hemoglobiny waha się w granicach 11,0-17,5 g/dl. .

U kobiet poziom hemoglobiny mieści się między 11,5-16,0 g/dl (7,2-10,0 mmol/l)

U mężczyzn wynosi 12,5-18,0 g/dl (7,8-11,3 mmol/l)

U małych dzieci utrzymuje się na 14,2-19,6 g/dl (8,8-12,2 mmol/l).

Wartości prawidłowe u wybranych gatunków zwierząt (g/dl):

Psy 12,1-20,3

Koty 9,3-15,9

Konie 10,0-18,0

Bydło 10,0-15,0

Podwyższone wartości mogą być wynikiem:

- odwodnienia
- nadmiernej produkcji krwinek czerwonych w szpiku kostnym,
- chorób płuc.

Przyczyną obniżonych wartości natomiast mogą być:

- niedobór żelaza,
- wrodzone defekty hemoglobiny,
- upośledzenie czynności szpiku,
- marskość wątroby, przejawiająca się jej zbliżnowacaniem,
- krwawienia,
- niedobory witamin i składników mineralnych,
- choroby nerek,
- choroby przewlekłe,
- choroby nowotworowe, upośledzające czynność szpiku.

Wskaźniki czerwonekrwinkowe

1. Średnia masa hemoglobiny w krwince – MCH (ang. mean corpuscular hemoglobin lub mean cell hemoglobin)

Wskaźnik ten pozwala określić średnią masę hemoglobiny w pojedynczej krwince czerwonej.

MCH wylicza się wg następującego wzoru, gdzie Hb to stężenie hemoglobiny, a RBC to liczba krwinek czerwonych:

$$\text{MCH w pg (pikogramach)} = \frac{\text{Hb (g/dl)} \times 10}{\text{RBC (w 1 litrze)}}$$

Norma wynosi u ludzi wynosi 27-31 pikogramów (kobiety) i 27-34 pikogramów (mężczyźni). MCH pomaga ustalić przyczyny niedokrwistości (czy jest ona skutkiem niedoboru żelaza, kwasu foliowego czy witaminy B12).

Wzrost średniej zawartości hemoglobiny w krwince czerwonej może wystąpić:

- w niedokrwistościach makrocytowych zwłaszcza megaloblastycznych,
- przy sferocytozie, czyli przewadze małych, okrągłych, równomiernie wybarwionych erytrocytów bez środkowego przejaśnienia, które są mniej wytrzymałe, mniej elastyczne i łatwiej ulegają hemolizie. Sferocytoza może być wrodzona (uwarunkowania genetyczne) lub wynikać z aktywności uczulonych przez przeciwciała makrofagów, które usuwają część błony erytrocytu. Sferocytozę stwierdza się np. w przebiegu malarii.

Zmniejszenie średniej zawartości hemoglobiny w krwince czerwonej może być spowodowany przez:

- zaburzenia wodno-elektrolitowe typu przewodnienia hipotonicznego,
- niedokrwistości niedobarwliwe, niedoborowe z niedoboru żelaza np. w przebiegu choroby nowotworowej.

2. Średnia objętość krwinki czerwonej (MCV)

Wyliczana na podstawie hematokrytu (Hct) i liczby erytrocytów (RBC) wg. wzoru:

$$\text{MCV (w femtolitr fl = 1 mikrolitr sześcienny)} = \frac{\text{Hct (\%)} \times 10}{\text{RBC (w 1 litrze)}}$$

Wartości fizjologiczne: kobiety 81-99 fl, mężczyźni 80-94 fl, dzieci: 80-100 fl. Wartości poniżej 80 fl. Świadczą o mikrocytozie, a powyżej 100 fl o makrocytozie.

Obniżenie MCV (poniżej 70 fl) może świadczyć o:

- niedoborze żelaza,
- talasemii (niedokrwistości tarczowatokrwinkowej będącej wynikiem ilościowych zaburzeń syntezy hemoglobiny, spowodowanych wrodzonym defektem biosyntezy łańcuchów globiny),
- niedokrwistości syderoblastycznej (zaburzenia syntezy hemu),
- chorobach przewlekłych,
- nadmiernej utracie wody lub jej niewystarczającym spożyciu.

Podwyższenie MCV może być wynikiem:

- niedokrwistości z niedoboru witaminy B12 lub kwasu foliowego, które stanowią 50% wszystkich niedokrwistości (w przebiegu np. zapalenia bądź niewydolności wątroby, w chorobie alkoholowej, mielodysplazji oraz niedoczynności tarczycy),
- chemioterapii,
- ostrego krwotoku lub hemolizy (masywnego niszczenia krwinek czerwonych).

3. Średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej (MCHC)(ang. mean corpuscular hemoglobin concentration, wyliczane według wzoru:

$$\text{MCHC (\% lub g/dl)} = \frac{\text{Hb (g/dl)} \times 10}{\text{Hct (\%)}}$$

Norma wynosi 32-37 g/dl.

MCHC powyżej normy może świadczyć o sferocytocie lub hipertonicznym odwodnieniu.

Obniżony wskaźnik MCHC może wskazywać na zaburzenia wodno-elektrolitowe, retikulocytozę lub być wynikiem niedokrwistości spowodowanej niedoborem żelaza.

4. Wskaźnik rozkładu erytrocytów („Red cell Disstribution Width” - RDW)

Jest to współczynnik zmienności średniej objętości krwinki czerwonej (określający różnice w wielkości poszczególnych krwinek), obliczany wg. Wzoru, gdzie SD to odchylenie standardowe objętości krwinek czerwonych, a MCV to średnia objętość krwinki czerwonej:

$$\text{RDW} = \frac{\text{SD}}{\text{MCV}} \times 100\%$$

Norma wynosi waha się pomiędzy 11 a 14,5%, a stan taki nazywamy względną homogennością erytrocytów.

Podwyższenie RDW oznacza dużą różnorodność wielkości erytrocytów (anizocytoza) i może świadczyć o niedokrwistości. **Podwyższona wartość RWD występuje także** po transfuzjach, w przebiegu chorób wątroby, niewydolności nerek, w chorobie alkoholowej oraz w przewlekłych procesach zapalnych.

MCV w krwince jest poniżej normy krwinkę nazywa się mikrocytem

MCV w granicach normy to normocyt

MCV większe niż norma, krwinkę nazywamy makrocytem

MCHC poniżej normy, krwinkę nazywamy hypochromiczną

MCHC w granicach normy krwinkę nazywamy normochromiczną

MCHC większe niż norma, krwinkę nazywamy hyperchromiczną

DZIĘKUJĘ
ZA
UWAGĘ