

## KREV

Krev se skládá ze složky tekuté (plazmy) a buněčné (erytrocyty, leukocyty, trombocyty). Jejich vzájemný poměr vyjadřuje **hematokrit**. Nejčastěji uváděné fyziologické hodnoty jsou u muže:  $44 \pm 5 \%$ , u ženy:  $39 \pm 5 \%$ .

Buněčná složka se diferencuje ze společné kmenové buňky. Zatímco krvetvorba fetálního období je vázána především na parenchymové orgány (játra, slezina), po narození nabývá na významu kostní dřeň, která se postupně stává hlavním místem krvetvorby. Největší část - 3/4 kostní dřeň - tvoří bílou krevní řadu, zbytek produkuje erytrocyty a trombocyty (životnost bílých krvinek se počítá na hodiny až dny, trombocytů na 8 – 12 dnů, erytrocytů na 120 dnů). Nejvyšší krvetvornou aktivitu si po celý život udržuje kostní dřeň těla obratlů.

**Erytrocyty** jsou bezjaderné buňky, které obsahují krevní barvivo - **hemoglobin**. Hlavní funkcí hemoglobinu je vázat nejenom kyslík za vzniku oxyhemoglobinu, ale i oxid uhličitý za vzniku karboxylhemoglobinu. Samotná skutečnost - přítomnost fyziologických hladin hemoglobinu v krvi (u muže 133 – 177 g/l, u ženy 117 – 157 g/l, u dětí v závislosti na věku 115 – 180 g/l) nemusí zajistit tkáním dostatečný přísun kyslíku. Příčiny mohou být: 1. zvýšená afinita hemoglobinu k jiným chemickým sloučeninám na úkor vazby s kyslíkem (karboxylhemoglobin, či karboxyhemoglobin - vazba hemoglobinu s CO, či methemoglobin při oxidaci  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  hemoglobinu), 2. patologicky změněný hemoglobin – např. u srpkovité anemie, 3. posun disociační křivky pro kyslík doprava (Bohrův efekt – podrobně viz skriptu Z. Wilhelm a kol.: Stručný přehled lékařské fyziologie pro bakalářské studijní programy, reedice 2010).

**Klinické poznámky:** 1 g hemoglobinu váže 1,34 ml kyslíku. Při průměrné hodnotě hemoglobinu 150 g/l krve přenese jeden litr krve = 0,20 litru kyslíku. Snížení koncentrace hemoglobinu v krvi (anemie) vede ke snížení transportní funkce erytrocytů pro kyslík.

Z důvodů diferenciálně diagnostických je proto dobré stanovit množství hemoglobinu na jeden erytrocyt – tzv. barvivový index. Příčiny nižší koncentrace hemoglobinu (pokud nepramení ze zvýšených ztrát vnějším či vnitřním krvácením), mohou být důsledkem např. sníženého obsahu železa, kyseliny listové, vitamínu  $\text{B}_{12}$ , kyseliny pantothenové i jejich kombinacemi. Pro odpovídající substituční léčbu je u život neohrožující anémie důležité určit typ anemie a teprve potom cíleně substituovat chybějící složku. Například u sideropenické anemie nemusí být nález poklesu hladin železa v plazmě. Vzhledem k rozložení zásob železa v organismu bychom měli k vyloučení falešně negativního výsledku stanovit současně s koncentrací železa i koncentraci transportního proteinu transferinu (tzn. vazebnou kapacitu séra pro železo) a koncentraci feritinu. Zvýšení transferinu při současné "fyziologické hladině" železa v plazmě ukazuje na celkově snížené množství železa v organismu a na nutnost jeho doplnění (zásoby organismu jsou vyčerpány, substituce by měla probíhat nejméně po dobu 6 - 8 týdnů!). K orientační diagnostice anemie se v ambulantní praxi užívá oddálení dolního víčka u vyšetřované osoby a kontrola sytosti zbarvení oční spojivky.

Pro stimulaci erytropoézy má velký význam snížení parciálního tlaku kyslíku –  $\text{pO}_2$  v cirkulující arteriální krvi a ve tkáních (při barometrickém tlaku 760 mm Hg a zastoupení kyslíku v okolní atmosféře necelých 21% je parciální tlak kyslíku -  $\text{O}_2$  roven 21 % ze 760, tedy zaokrouhleně 160 mm Hg). Pokles  $\text{pO}_2$  v organismu, ať už jsou příčiny jakékoliv (výšková hypoxie, chronická plicní onemocnění apod.) zvýší produkci erytropoetinu v ledvinách. Erytropoetin má přímo stimulující účinek na erytropoézu a zvýší tak nejenom počet erytrocytů, ale i koncentraci hemoglobinu.

**Klinické poznámky:** Substituce erytropoetinem se dnes využívá i před plánovaným chirurgickým zákrokem, kde se dá předpokládat větší ztráta krve (např. náhrada kyčelního

kloubu), v hematologii, u dialyzovaných pacientů. Podání erythropoetinu vede nejenom ke zvýšení počtu erytrocytů a ke zvýšení koncentrace hemoglobinu, ale i k vyšší nabídce kyslíku periferním tkáním. Na druhé straně zvýšené hodnoty hemoglobinu a erytrocytů nacházíme jako výsledek kompenzačních mechanismů při nižším  $pO_2$ , tedy u lidí, žijících či pohybujících se ve vyšších nadmořských výškách (horolezci), ale také u nemocných s chronickým plicním onemocněním. Tito lidé se vyznačují typickými červenými tvářemi i zarudlými očními spojivkami. Zvýšený počet erytrocytů ale současně zvyšuje viskozitu krve a tedy periferní odpor. Takto může dojít k přetěžování kardiovaskulárního systému, ať už srdce jako pumpy, nebo cév, kdy vlastnosti endotelu - zejména žilního řečiště - se mění a snadněji dochází ke vzniku tromboflebitid či flebotrombóz. V případě postižení hlubokého žilního systému hrozí život ohrožující vznik plicní embolie. Erythropoetin a jeho podání je vedle jasných indikací také zneužíván některými vrcholovými sportovci. Z těchto důvodů se u sportovců (např. cyklistů) provádějí namátkové kontroly, kdy se stanovuje hematokrit. Hodnoty nad 0,50 /l jsou brány jako pozitivní a důkaz dopingů.

Podle přítomnosti a nepřítomnosti příslušných aglutinogenů rozlišujeme krev na jednotlivé krevní skupiny A, B, AB a 0 podle Landsteinerova (1900). Protilátky proti aglutinogenům se nacházejí v plazmě podle komplementárního klíče (tabulka 1.1). Pro jednoduchost a názornost uvádíme pouze hlavní krevní skupiny. Již v samotném systému ABO existuje řada podskupin (např.  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_1B$ ,  $A_2B$ ) a variant (např.  $A_3$ ,  $A_x$ ,  $A_0$ ,  $A_4$ ). Velký význam - zejména pro transplantologii - má systém membránových antigenů leukocytů, značených HLA. HLA systém je podrobně studován zejména v imunologii (autoimunní onemocnění), v populační genetice, v případech paternitních sporů. Rozlišení vlastních a cizích buněk na příkladu erytrocytů je dáno přítomností antigenů - aglutinogenů na povrchu erytrocytární membrány (aglutinogen A, aglutinogen B).

**Tabulka č. 1.1 Určení krevní skupiny na základě aglutinace v testovacích sérech**

Krevní skupina	Testovací séra		
	anti B	anti A	anti AB
A	-	+	+
B	+	-	+
AB	+	+	+
0	-	-	-

Podání krve nesouhlasné krevní skupiny vyvolá imunologickou reakci mezi aglutinogenem a protilátkou. Výsledkem pak je nejenom imunologická reakce, ale i následná hemolýza erytrocytů. Tyto děje mohou velmi významně poškodit ledvinné tubuly a následně i funkci ledviny.

**Tabulka č. 1.2 Zastoupení krevních skupin v naší populaci**

Zastoupení krevních skupin v naší populaci v %			
A	B	AB	0
44	12	6	38

**Klinické poznámky:** Přítomnost antigenu Rh (85 % populace je Rh<sup>+</sup>) na plazmatické membráně erytrocytu a jeho znalost má význam především v těhotenství (objev - Wiener 1940). Je geneticky kódován přítomností alely velké D v genotypu tří alel BCD. Nepřítomnost tohoto antigenu u matky a naopak jeho přítomnost u plodu může vést ke zvýšené tvorbě protilátek v těle matky proti vlastnímu plodu v intrauteriním období. Toto riziko je vyšší zejména u druhého těhotenství, protože v průběhu prvního porodu téměř vždy dochází k přímé sensibilizaci (smísení obou krví) organismu matky erytrocyty plodu. Výsledkem takové reakce je **fetální erythroblastóza**, kdy dochází k průniku zmnožených protilátek třídy IgG placentou do těla plodu s následnou hemolýzou a smrtí plodu (**morbus hemolyticus neonatorum**).

Z preventivních důvodů se proto sleduje Rh faktor těhotných žen a v případě Rh negativity se sleduje v průběhu těhotenství i titer protilátek matky. Po porodu, kdy plod má Rh<sup>+</sup> a matka Rh<sup>-</sup>, podává se z profylaktických důvodů injekčně do 24 hodin tzv. anti-D sérum. Sérum váže protilátky, jež vznikly v průběhu těhotenství či krátce po porodu v těle matky. Podání anti-D séra ve výše zmiňovaném případě musí následovat po každém těhotenství. Zvýšený počet erytrocytů u plodu a redukce počtu erytrocytů v období po narození vede u některých dětí k tzv. **novorozenecké žloutence** (fyziologická hyperbilirubinémie – icterus neonatorum). Příčinou je snížená aktivita jaterního enzymu glukuronyltransferázy, která nestačí zvládat konjugaci bilirubinu při zvýšeném rozpadu červených krvinek po narození (tato forma bilirubinu je rozpustná ve vodě a není nebezpečná, na rozdíl od nekonjugované formy rozpustné v tucích s možností prostupovat membránami, usazovat se nenávratně v buňkách). Léčba lehčích forem se omezuje na vystavení organismu modrému světlu (tvorba izomerů odpadního produktu degradace hemoglobinu-bilirubinu ve vodě rozpustných – ulehčí se játrům). Nejtěžší případy se musí řešit výměnnou krevní transfúzí. Zajímavý je výskyt ikteru kojených dětí. Vzniká přibližně u 10 % kojených dětí, kdy výrazné projevy žloutenky přetrvávají i několik týdnů. Za příčinu se považuje zvýšená enterální resorpce bilirubinu v důsledku nedostatečného kalorického přísunu a zvýšeného obsahu volných mastných kyselin v mléce.

Funkční testování každého jednotlivého erytrocytu organismem probíhá při každém průchodu kapilárou převážně retikuloendotelového systému. Erytrocyt, jehož průměr je větší než kapilára se musí doslova propasírovat jejím zúženým průsvitem. Dochází k významné deformaci erytrocytu, která je - v případě funkční, neporušené červené krvinky - reverzibilní. V opačném případě dochází k poškození membrány erytrocytu a k následné hemolýze. Úbytek elasticity membrány je fyziologicky spojen se stárnutím erytrocytu. Funkční zkouškou erytrocytů in vitro je stanovení **osmotické rezistence** erytrocytu (při testování erytrocytů např. v hypoosmolárním roztoku). Zatímco minimální osmotická rezistence erytrocytů je hodnotou, kdy se poprvé projeví hemolýza několika prvních erytrocytů (projeví se růžovým zabarvením původně nažloutlé vrstvy nad sloupcem klesajících červených krvinek ve zkumavce), maximální osmotická rezistence je hodnotou, při níž ještě několik posledních erytrocytů nehemolyzovalo v roztoku s nižší koncentrací NaCl než je fyziologický roztok (viz praktikum). V tomto případě je vzorek téměř čirý, přetrvává ve vzorku ale oblast v dolní části zkumavky připomínající zamlžení. Rozsah mezi minimální a maximální osmotickou rezistencí se označuje jako **rezistenční šíře**. Fyziologická hodnota rezistentní šíře je 0,46 – 0,30% roztoku NaCl. Vedle osmotické hemolýzy, popsané výše, rozlišujeme též **fyzikální hemolýzu** (např. RTG záření, vliv teploty), **chemickou hemolýzu** (např. vliv léků), **imunologickou** (inkompatibilita krevních skupin). Se zvýšeným sklonem k hemolýze erytrocytů se setkáváme u polycytemie, srpkovité anémie, kongenitální sférocytózy (podmíněna geneticky), při podání farmak (éter, chloroform), při infúzní léčbě, u imunologických interakcí a u enzymopatií.

Skutečnost, že krevní elementy jsou v každé části periferního krevního oběhu stejnoměrně zastoupeny, je projevem tzv. **suspenzní krevní stability**. Převrácenou hodnotou suspenzní stability krevní je pak **sedimentační rychlost erytrocytů**. Každý erytrocyt je obklopen dvojrstvou elektrických nábojů (**Helmholtzova elektrická dvojrstva**), která nedovoluje shlukování, napomáhá jejich rozptýlení a vznášení se v krevní plazmě. Na velikost rozdílu potenciálu mezi krvinkami a krevní plazmou mají především vliv krevní bílkoviny, a to nejen jejich absolutní množství, ale i jejich poměrné zastoupení (albumino/globulinový poměr). Také rozdílný počet erytrocytů, hladina fibrinogenu, změna pH i zastoupení lipidů v krvi významně ovlivňují hodnoty sedimentace. Z výše uvedeného je patrné, že sedimentace erytrocytů je nespecifické vyšetření, po kterém musí následovat diferenciací diagnostická rozvaha možných příčin odchýlné sedimentace.