

CVIČENIE č. 3

Meno, odbor: Samuel Nalevanko, 3FBb

Dátum: 24. 02. 2020

Téma: Fyziológia krvi

Úloha/y:

1. Vyhodnotiť diferenciálny rozpočet leukocytov v krvi potkana.
2. Stanovenie krvných skupín.

Princíp: **Diferenciálny rozpočet:** Pri určovaní typu leukocytov z diferenciálneho rozpočtu je nutné, aby sa krvný náter prechádzal meandrovite po celej dĺžke, keďže leukocyty nie sú rovnomerne rozložené. Monocyty a eozinofily (väčšie) sa zhromažďujú na okrajoch, keďže pri tvorbe krvného náteru vďaka ich veľkosti ľahšie prešli pomedzi menšie krvné telieska. Zvyšné menšie leukocyty sa nachádzajú skôr v strednej časti náteru.

Fyziologická norma:

TYP LEUKOCYTU	Neutrofil	Lymfocyt	Monocyt	Eozinofil	Bazofil
POČET [%]	18 – 36	62 – 75	1 – 6	1 – 4	0 – 1

Tab. 1: Fyziologická norma leukocytov v krvi potkana

Krvné skupiny: Sú vrodené vlastnosti červených krviniek, ktoré sú rozpoznávané špecifickými protilátkami. Podstatou krvných skupín je existencia antigénu a protilátky. Antigen predstavuje látku, ktorá v organizme vyvolá tvorbu protilátok, a protilátka je molekula syntetizovaná na antigénny podnet. Najznámejšie systémy krvných skupín sú AB0 a Rh faktor.

AB0 systém: V membráne erytrocytov sa nachádzajú glykoproteíny, tzv. antigény. V sére sa nachádzajú protilátky, proti antigénom, ktoré nie sú na erytrocytoch daného jedinca. Z dôvodu zhlukovania erytrocytov (aglutinácia), sa tieto protilátky nazývajú aglutiníny. Na základe tohto systému rozlišujeme krvné skupiny A, B, 0 a AB.

Známe diagnostické antisérum	Neznáme vyšetrené erytrocyty			
Anti- A	+	-	-	+
Anti- B	-	+	-	+
Anti- AB	+	+	-	+

Výsledok vyšetrenia – krvná skupina: **A** **B** **0** **AB**

Tab. 2: Princíp fungovania diagnostických antisér (+ vznik zrazeniny, - bez zrazeniny)

Rh systém: Obsahuje 6 základných antigénov, pričom najdôležitejší je antigén D. Tie erytrocyty, ktoré na svojej membráne tento antigén obsahujú, tak sú Rh-pozitívne, naopak erytrocyty, ktoré antigén neobsahujú sú Rh-negatívne.

Materiál: **Úloha 1:** Trvalé preparáty krvných náterov potkana, mikroskop s imerzným objektívom, imerzný olej, pomôcky na mikroskopovanie

Úloha 2: Krv, sterilné ihly, mikropipeta, krvné séra- anti A, anti B, anti AB, anti D, podložné sklíčka, farebná pastelka na popis sklíčka, vata, benzín-alkohol, mikroskop a pomôcky na mikroskopovanie

Postup: **Úloha 1:**

- v mieste najtenšieho náteru sme nakvapkali imerzný olej a ponorili doň objektív
- krvný náter sme pozorovali pri 1000-násobnom zväčšení
- biele krvinky sme diferencovali a zapisovali do tabuľky podľa pokynov (v každom z 10 stĺpcov 10 buniek)
- pozorovali sme veľkosť a tvar bunky, jadra, cytoplazmu a granuláciu

Úloha 2:

- na podložné sklíčko s označením A, B, AB a D sme kvapli čerstvé štandardné antiséra zodpovedajúce písmenám na sklíčku (napr. antisérum A na plochu sklíčka s označením A)
- benzín-alkoholom sme dezinfikovali bruško prsta a následne sme ho prepichli sterilnou ihlou
- mikropipetou sme odobrali kvapku krvi a preniesli sme ju do antiséra (do každého antiséra 1 kvapka, ktorá bola v porovnaní menšia ako kvapka antiséra)
- dávali sme pozor, aby sme antiséra nezmiešali, a nezhodnotili tým stanovenie krvných skupín
- voľným okom a pomocou mikroskopu sme skontrolovali, či došlo k aglutinácii krviniek

Výsledky:**Úloha 1:**

TYP LEUKOCYTU	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Σ [%]
neutrofil (tyčka)	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	2
neutrofil (segment)	1	5	4	2	4	3	2	1	2	2	26
eozinofil	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2
bazofil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lymfocyt	9	5	4	4	6	6	7	7	6	7	61
monocyt	-	-	2	2	-	-	1	2	1	1	9

Tab. 3: Počet jednotlivých nájdených leukocytov

Úloha 2:

Známe diagnostické antisérum	Neznáme vyšetrené erytrocyty
Anti- A	+
Anti- B	-
Anti- AB	+
Anti- D	-

Tab. 4: Vyhodnotenie krvného testu (+ vznik zrazeniny, - bez zrazeniny)



Obr. 1: Vyhodnotenie krvného testu

Diskusia:**Úloha 1:**

Preparát som začal pozorovať až od polovice, z dôvodu zlej priehľadnosti na začiatku, kde krv nebola dôkladne roztretá, a teda všetky krvné telieska sa navzájom prekryvali a bolo problematické dané bunky identifikovať. Celkové zafarbenie preparátu bolo veľmi tmavé, a bolo potrebné zvýšiť jas aby sa leukocyty dali rozpoznávať. Taktiež z porovnania fyziologickej normy leukocytov (Tab. 1) a nami napočítanými leukocytmi (Tab. 3) si môžeme všimnúť miernu odchýlku v počte monocytov. Mierny nárast mohla spôsobiť začínajúca infekcia u potkana, ale aj ľudský faktor, teda chyba pri pozorovaní a nesprávne

určenie bunky. Z dôvodu, že som v preparáte nepozoroval žiaden bazofil som pozoroval ešte jeden preparát, aby som sa naučil túto bunku správne určiť.

Úloha 2:

Pri určovaní mojej krvnej skupiny bolo potrebné pozorovať aglutináciu krvi v príslušných antiserách a vyhodnotiť pozorovanie na základe Tab. 2. Z Obr. 1 si môžeme všimnúť, že aglutinácia bola zreteľne viditeľná aj voľným okom, a teda nebolo nutné používať mikroskop. Pri určovaní Rh faktora sa zdalo, že nastala jemná aglutinácia, avšak po prezretí v mikroskope bola vylúčená.

Záver:

Úloha 1:

Na tomto cvičení sme sa oboznámili s rozpoznávaním leukocytov v potkanej krvi. Preparát sme pozorovali meandrovite podľa návodu, aby bolo možné nájsť všetky druhy leukocytov. Najpočetnejšie boli lymfocyty, z celkového počtu tvorili **61%**. Pozorované lymfocyty mali veľké jadro, ktoré vyplňalo takmer celý objem bunky, a teda okolitá cytoplazma bola len veľmi tenká. Lymfocyty boli o niečo menšie ako granulocyty. Ďalej sme pozorovali monocyty, ktorých zastúpenie bolo **9%**. Sú to najväčšie leukocyty s obličkovitým jadrom a svetlou cytoplazmou, teda boli ľahko rozpoznateľné. Z granulocytov boli neutrofily v zastúpení **28%**, kde 2% tvorili tyčky (nezrelé formy) a 26% segmenty (zrelé formy). Neutrofily mali málo denznú cytoplazmu a nevýraznú granuláciu. Jadro bolo tvaru medzikružia, prípadne stočeného medzikružia v tvare osmičky, a teda boli ľahko rozpoznateľné. Tyčky mali jadro v tvare medzikružia bez zárezov. Eozinofily boli v preparáte **2%** so svetloružovou granulovanou cytoplazmou a jadrom v tvare kruhu. Bazofily sme v rámci 100 nájdenných buniek nepozorovali, avšak pozorovaný bazofil na druhom preparáte mal denznú tmavofialovú granulovanú cytoplazmu, a teda bolo problematické pozorovať jadro. Všetky granulocyty si boli veľkosťou podobné.

Úloha 2:

Na základe aglutinácie krvi v príslušných sérach (Obr. 1, Tab. 4) sa zistilo, že moja krvná skupina je A-. Tento výsledok bol prekvapivý, keďže som očakával výslednú skupinu A+.

1.) Krvná skupina 0- predstavuje univerzálneho darcu a krvná skupina AB+ predstavuje univerzálneho príjemcu.

2.) Ďalší systém, ktorý poznám je MN systém, kde sa krvné skupiny rozdeľujú na M, N a MN.

3.) Dedičnosť krvných skupín pri systéme AB0 predstavuje autozómovú dedičnosť s kodominanciou, a pri systéme Rh autozómovú dedičnosť s úplnou dominanciou.