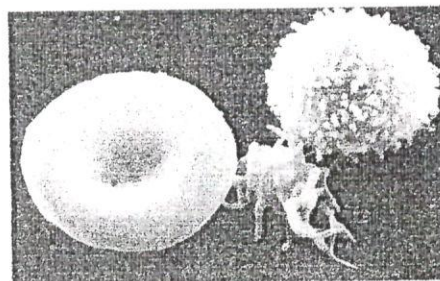


LABORATORIJSKA HEMATOLOGIJA



ŠTO SU HEMATOLOŠKE PRETRAGE?

Laboratorijska hematologija se bavi pretragama krvi. Krv se sastoji od krvnih stanica i krvne tekućine, koja se zove plazma. Krvne stanice su:

- ❖ ERITROCITI – crvene krvne stanice
- ❖ LEUKOCITI – bijele krvne stanice
- ❖ TROMBOCITI – krvne pločice.

Veći dio hematoloških pretraga odnosi se na krvne stanice. Razlikujemo kvantitativne i kvalitativne analize.

Kvantitativne analize su npr. brojčane koncentracije eritrocita, leukocita i trombocita.

Kvalitativne analize nam govore o morfologiji (izgledu) krvnih stanica i stanica krvotvornih organa.

Važno je razlikovati slijedeće kratice :

- ~ E, Erc - eritrocit
- ~ L, Leu – leukocit
- ~ Tr, Trc – trombocit
- ~ Hgb, Hb – hemoglobin
- ~ Htc – hematokrit
- ~ Rtc – retikulocit
- ~ MCV, MCH, MCHC – eritrocitne konstante
- ~ DKS – diferencijalna krvna slika
- ~ CKS – crvena krvna slika: E, Hgb, Htc, MCV, MCH, MCHC
- ~ KS – krvna slika: CKS + L + Tr
- ~ KKS – kompletna krvna slika: KS + DKS
- ~ SE - sedimentacija

Sve ove pretrage danas se rutinski rade na tzv. hematološkim brojačima. To su aparati koji na temelju veličine ili težine pojedinih krvnih stanica izračunavaju njihove vrijednosti.

ANTIKOAGULANSI I SET ZA VAĐENJE KRVI +

Uzorak za hematološke pretrage je krv dobivena vađenjem iz vene. Postupak vađenja venske krvi zove se **venepunkcija**. Ako je za neku pretragu dovoljna manja količina krvi, uzorak može biti i kapilarna krv dobivena ubodom u jagodicu prsta, resicu uha ili petu kod novorođenčadi.

Radno mjesto za vađenje krvi mora biti opremljeno potrebnim priborom:

- sterilne igle za zatvoreni tzv. vakuum sistem
- sterilne injekcijske igle
- različite, sterilne, vakumizirane epruvete
- gumena traka za podvezivanje vene – Esmarchova traka (esmarh)
- vateni tupferi (smotuljci vate)
- dezinfekcijsko sredstvo (70% etanol)
- plastični držač igle (šeširić)
- sterilne rukavice
- olovka za obilježavanje epruveta

To je najosnovniji pribor za vađenje krvi. Prije se je krv vadila pomoću injekcijske igle i šprice, zatim pomoću injekcijske igle direktno u epruvetu, a danas koristimo zatvorene sisteme za vađenje krvi. Takav sistem sastoji se od sterilne igle koja ima oštricu s obje strane, držača igle, te sterilnih epruveta s gumenim čepom. Epruvete su različitih veličina i različit je podtlak u njima, tako da se po veličini podtlaka u jednakim epruvetama dobije uvijek isti volumen krvi. Jedan kraj igle ulazi u venu, a drugim se probode gumeni čep epruvete. Krv će ulaziti u epruvetu sve dok se tlak ne izjednači. Tada krv prestaje teći u epruvetu. Ta epruveta se makne, te se po potrebi stavi druga. Ovakvim je priborom, po današnjim standardima, laboratorijsko osoblje najbolje zaštićeno, jer nema direktnog kontakta s krvlju.

† Hematološke pretrage radimo iz pune krvi. To je upravo onakva krv kakva kola venama. Da bismo dobili punu krv i spriječili njezino zgrušavanje u epruveti, koristimo **antikoagulanse**. To su sredstva koja sprečavaju zgrušavanje krvi.

Najčešći antikoagulansi su: †

- EDTA (etilendiamintetraacetat) kalijeva ili natrijeva sol
- 3,8% natrijev citrat
- heparin

Antikoagulanse možemo podijeliti na tekuće i krute.

Tekući antikoagulansi razrijeđuju uzorak. U laboratorijskoj hematologiji najčešće korišteni tekući antikoagulans je 3,8% natrijev citrat. Nalazi se u vakumiranim epruvetama za pretragu određivanja brzine sedimentacije eritrocita i epruvetama za koagulacijske pretrage (protrombinsko vrijeme, fibrinogen).

Kruti antikoagulansi ne razrijeđuju uzorak. Obično su u obliku praška. To su oksalati, fluoridi i najprikladniji antikoagulans EDTA (etilendiamintetraacetat) kalijeva ili natrijeva sol. Uzorak krvi uzet sa EDTA stabilan je 24 sata ako se čuva na +4°C. Takav uzorak prikladan je za određivanje KKS.

Heparin je također kruti antikoagulans. Prikladan je za kvantitativne pretrage, ali zbog izrazito kiselog karaktera onemogućuje stanicama dobro primanje boje, pa je neprikladan za morfološke analize.

UZIMANJE VENSKE I KAPILARNE KRVI

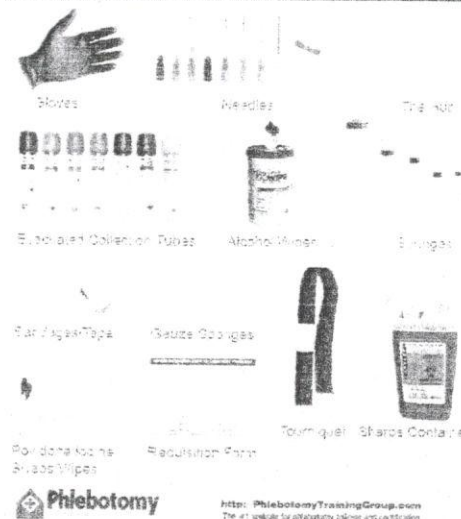
Postupak vađenja venske krvi

Venska krv se dobiva venepunkcijom kubitalne vene, ali se može dobiti i iz bilo koje druge vidljive i dostupne vene. Prije uboda, pacijenta treba umiriti i objasniti mu postupak. Potrebno je provjeriti uputnice za pretrage i identificirati pacijenta. Vađenje krvi se može obaviti kod pacijenta u sjedećem ili ležećem položaju, ali treba znati da kod nekih parametara postoje razlike koje ovise o položaju pacijenta tijekom venepunkcije. Zatim, prema zahtjevu na uputnici, treba pripremiti epruvete i označiti ih.



Stolica za venepunkciju

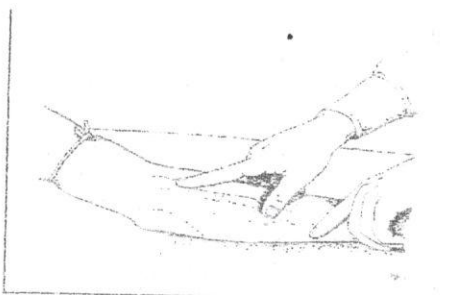
The Equipment Necessary to Perform a Venipuncture



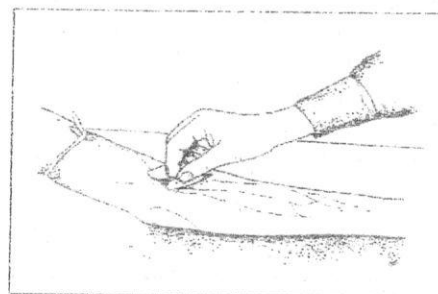
Pribor za venepunkciju

Pacijent mora imati dobar oslonac za ruku iz koje se vadi krv, da se smanji napor koji oslabljuje venu i da tehničar koji vadi krv ima stabilniju podlogu (ruku).

Nakon toga se potraži vena, tj. odabere se mjesto uboda. Pacijent stisne šaku (ne pumpati!), a tehničar jagodicama prstiju napipa venu. Vene koje pulsiraju su elastičnije i tanjih stijenki, pa su bolje za venepunkciju.



Palpiranje vens



Dezinfekcija ubodnog mjesta

Ubojno mjesto se očisti tuferom natopljenim dezinficijensom i ostavi da se osuši. Nakon dezinfekcije, ubodno mjesto se više ne smije dodirivati.

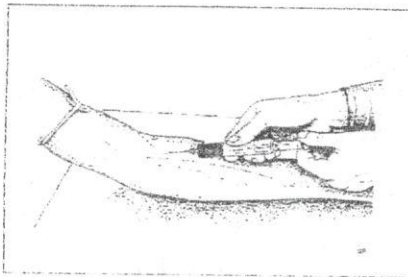
Igla se čvrsto pričvrsti za šeširić.

Ruka se podveže esmarhom otprilike 7-10 cm iznad ubodnog mjesta. Ruka se podvezuje kako se vena ne bi pomicala, te da se napuni krvlju da bi se lakše uočila.

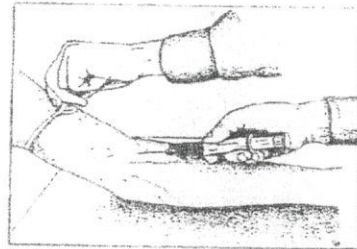
Uzorak krvi ne treba uzimati iz hematoma, a ako drugačije nije moguće treba je uzeti distalno od hematoma i to naznačiti na nalazu.

Sada se ukloni štitnik za iglu.

Igla se postavlja paralelno sa venom, te se lagano, pod kutem od oko 15° uđe u venu. Plastični držač igle (šeširić) treba čvrsto držati zajedno sa iglom sa jednom rukom, dok se sa drugom rukom vacuteiner epruveta postavi u šeširić i pričvrsti na donju stranu igle. Prema potrebi, epruvete se izmjenjuju bez pomicanja igle u veni.



Venepunkcija



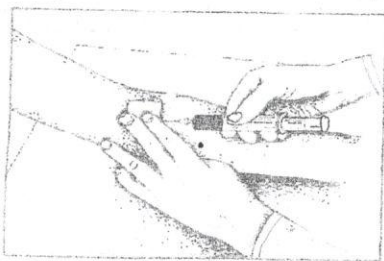
Otpuštanje podveske

Ako je vena pravilno punktirana, krv će poteći u epruvetu. Prestane li krv teći, treba lagano pomaknuti iglu, pazeći da ne izađe skroz van iz vene.

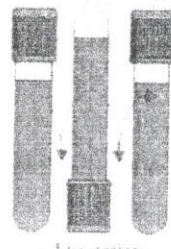
Kad krv počne teći, treba otpustiti Esmarchovu traku.

Nakon što se epruveta napuni, izvući je iz šeširića, te po potrebi staviti ostale epruvete.

+ Podveza (esmarh) se može koristiti najdulje 1 minutu, za određivanje lipida manje od 1 minute, a uopće se ne bi trebala koristiti pri određivanju Ca, Mg i Fe. Nakon što su sve potrebne epruvete napunjene, na ubod stavimo natopljeni tupfer, izvadi se igla i istovremeno se pritisne tupfer na mjesto uboda.



Postavljanje tupfera



Inverzija

Miješanje krvi sa antikoagulansom

Pacijentu treba reći da čvrsto drži tupfer najmanje 5 minuta, bez pogledavanja i trljanja ubodnog mjesta. Ruku je najbolje držati ispruženom. Obavijestiti pacijenta kad će nalaz biti gotov. Ako uzimanje nije uspješno, postupak ponoviti nakon 15 minuta iz druge ruke.

Nakon izvlačenja igle iz vene, na vrh igle stavi se štitnik, te se na taj način pokrivena igla vadi iz šeširića i odlaže u neprobojnu posudu za igle. Postoje šeširići koji imaju mogućnost automatskog izbacivanja igle pritiskom na odgovarajući dio na šeširiću, te se tada igla direktno, bez poklopca, odlaže u otpad.

Epruvete se moraju označiti imenom i prezimenom pacijenta. Epruvete sa antikoagulansom obavezno odmah nakon vađenja promiješati lagano ih okrećući gore - dolje. Epruvete bez antikoagulansa staviti u uspravan položaj, nikako ne miješati!

Neugodna posljedica vađenja krvi za pacijenta može biti nastajanje hematoma. Hematom može nastati ako je tijekom vađenja probodena vena, ako je vena bila predugo podvezana, ako je korištena igla slabije kvalitete, ako je krv vađena iz duboke vene itd.

Standardizirane vacuteiner epruvete za vađenje venske krvi razlikuju se po sadržaju antikoagulansa, volumenu i boji čepa:

- ◇ crveni ili žuti čep → biokemijske pretrage (serum → bez antikoagulansa)
- ◇ ljubičasti čep → hematološke pretrage (puna krv → EDTA)
- ◇ crni čep → sedimentacija (3,8% Na-citrat)
- ◇ plavi čep → koagulacijske pretrage (plazma → 3,8% Na-citrat)
- ◇ sivi čep → glukoza (plazma → fluorid)
- ◇ zeleni čep → biokemijske pretrage (plazma → heparin)

Postupak vađenja kapilarne krvi

Uzimanje uzorka kapilarne krvi preporučuje se iz nedominantne ruke (dešnjaci iz lijeve, ljevaci iz desne), muškarcima iz prstenjaka, ženama i djeci iz srednjeg prsta, a maloj djeci iz pete.

Ubodno mjesto se dezinficira alkoholom, te se pričekava da alkohol ishlapi.

Oštricu lancete treba položiti okomito na jagodicu prsta i kratkim brzim potezom ubosti u prst.

Prvu kap treba odstraniti vatom i pustiti da se slijedeća kapljica slobodno stvara bez suvišnog istiskivanja.

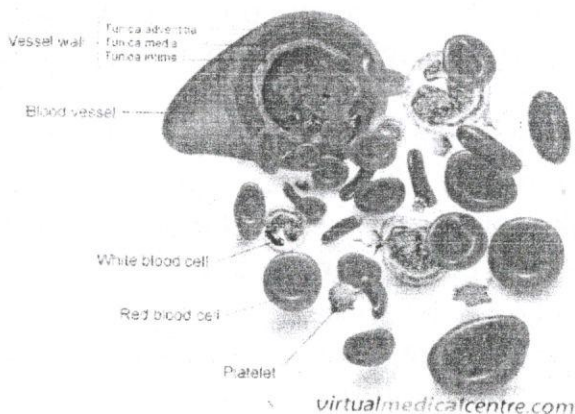
Uzorak krvi treba navući u kapilaru, melanžer ili mikroeprevet.

Nakon završenog skupljanja kapilarne krvi, mjesto uboda treba prekriti vatom natopljenom alkoholom.

KRVNE STANICE

HEMOCITOMETRI

Krvne stanice su: **eritrociti ili crvene krvne stanice**
leukociti ili bijele krvne stanice
trombociti ili krvne pločice.



koriste se hemocitometri

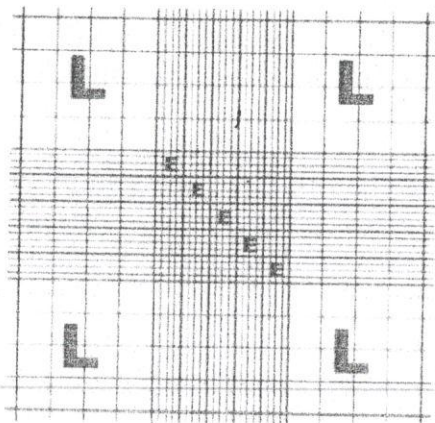
Da bi se odredila brojčana vrijednost krvnih stanica, što je izuzetno važna i česta pretraga, danas nam služe aparati za brojenje krvnih stanica ili brojači. Prije otkrića brojača, eritrociti i leukociti su se brojali u tzv. **hemocitometrima**. To su komorice izrađene iz debelog brušenog stakla. Na središnjem dijelu stakla pomoću dva dublja ureza u znak +, izdvojen je plato na kojem je urezana mrežica točno određenih dimenzija.

Dubina središnjeg platoa je točno 0.1 mm.

Površina mrežice je 9 mm².

Dužina kvadrata mrežice je 3 mm.

Svaka mrežica ima 9 kvadrata.



Eritrociti se broje u središnjem kvadratu, a leukociti u 4 vanjska kvadrata.

Mrežica hemocitometra je različita kod hemocitometara raznih autora. Najčešće se koriste:

Neubauerova komorica,

Bürker-Türkova komorica

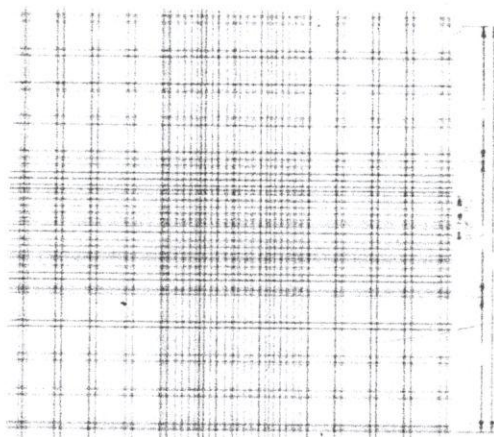
Fuchs-Rosenthalova komorica.

Da ne bi dolazilo do zabuna, na gornjoj površini svake komorice napisano je ime autora, dubina komorice, površina najmanjeg kvadratića za brojenje E i površina najmanjeg kvadratića za brojenje L.

Na nekim komoricama urezana je 1, a ne nekim 2 mrežice.

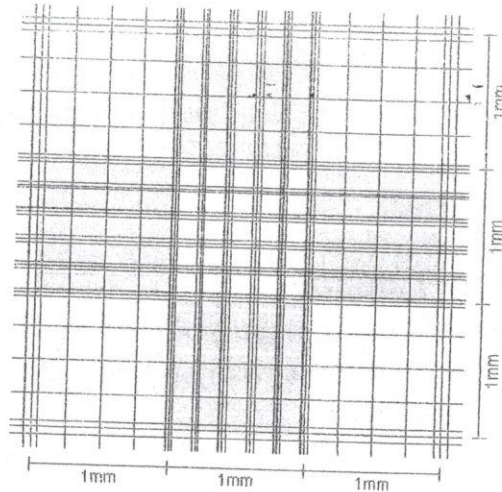
Bürker-Türkova komorica

Vanjski kvadrati omeđeni su trostrukim crtama. Svaki od 4 velika vanjska kvadrata podijeljen je u 16 manjih koji su omeđeni dvostrukim crtama, pa površina svakog od tih 16 iznosi $1/25$ (0.04 mm^2). Kvadrat u središnjem dijelu mrežice podijeljen je u 16 malih kvadrata, a svaki od njih u 16 najmanjih kvadratića površine $1/400$ (0.0025 mm^2).



Neubauerova komorica

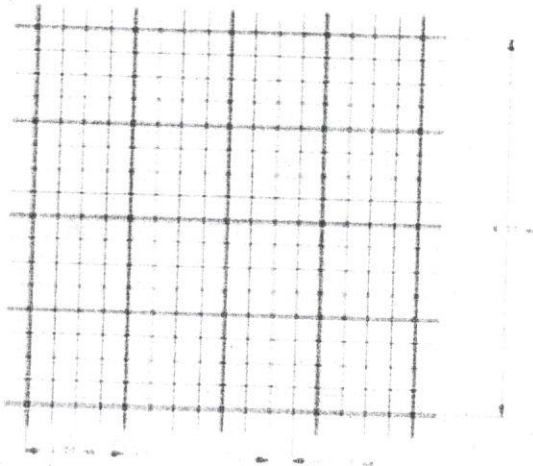
Komorica je obrubljena trostrukom ili jednostrukom crtom. Vanjski kvadrati su podijeljeni jednostrukim crtama u 16 manjih kvadrata, pa površina svakog iznosi $1/16$ (0.0625 mm^2). Središnji veliki kvadrat podijeljen je trostrukim ili dvostrukim crtama u 25 manjih kvadrata čija je površina $1/25$ (0.04 mm^2). Svaki od tih 25 kvadrata podijeljen je u 16 najmanjih kvadratića čija površina iznosi $1/400$ (0.0025 mm^2).



Fuchs-Rosenthalova komorica

Služi za brojenje uzoraka sa manjom brojčanom koncentracijom stanica, npr. za likvore. Dubine je 0.2 mm, površina mrežice je 16 mm^2 , dužina stranice kvadrata je 4 mm. Podijeljena je u 16 kvadrata, a svaki od njih još u 16. Površina najmanjeg kvadratića je $1/256 (0.003906 \text{ mm}^2)$. Volumen komorice je 3.2 mm^3 .

16 mrežice
16 mrežice
16 mrežice



Hemocitometri se pripreme za brojenje tako da se iznad mrežice stavi brušeno pokrovno staklo i to tako da se na mjestu gdje je staklo priljubljeno za komoricu vide koncentrični, obojeni krugovi tzv. Newton-ovi kolutovi.

Komorice i pokrovna stakla se nakon završenog rada operu pod tekućom vodom, te obrišu mekom krpom.

MELANŽERI

Melanžeri su cjevčice sa trbušastim proširenjem, koje se koriste za miješanje krvi sa odgovarajućim otopinama u postupku brojenja krvnih stanica u hemocitometrima.

Razlikuju se 2 vrste melanžera: eritrocitni – za brojanje E
leukocitni – za brojanje L.

Eritrocitni melanžer

Uska kapilara u čijem se kruškolikom proširenju nalazi staklena kuglica crvene boje. Ona omogućuje da se sadržaj u melanžeru ravnomjerno izmiješa, a ujedno služi za lakše prepoznavanje melanžera. Kapilara je od početka do kruškolikog proširenja podijeljena na 10 jednakih dijelova od kojih je 5. dio označen brojem 0.5, a 10. dio brojem 1. Iza proširenja je oznaka 101. Oznake služe da bi se u točnom omjeru navukla krv i odgovarajuća otopina. Za brojanje E krv se razrjeđuje sa izotoničnom otopinom koja štiti E od razaranja i sprječava njihovo sljepljivanje. Otopina za brojanje E zove se **Hayemova otopina**.

Hayemova otopina:

Na-sulfat.....2.5 g
Na-klorid.....0.5 g
Hg(II)-klorid.....0.25 g
dest. H₂O nadopuniti do 100.0 mL

Otopina se čuva na sobnoj temperaturi, stabilna je, no treba znati da je otrovna zbog sadržaja HgCl₂.

Leukocitni melanžer

Sličan je eritrocitnom. Kod njega je kapilara nešto šira, a u kruškolikom proširenju nalazi se bijela kuglica koja također služi za miješanje krvi i otopine i prepoznavanje. Kapilara leukocitnog melanžera od početka do proširenja podijeljena je na 10 jednakih dijelova od kojih je 5. dio označen brojem 0.5, a 10. dio brojem 1. Iza proširenja je oznaka 11. Za brojanje L, koristi se razrijeđena otopina octene kiseline, koja uzrokuje hemolizu E, u kombinaciji sa bojom – gentiana violet, koja oboji jezgre L. Ta otopina zove se **Türkova otopina**.

Türkova otopina:

konc. octena kiselina.....30.0 mL
vodena otopina gentiana violet..... 8.0 mL
dest. H₂O nadopuniti do..... 1000.0 mL

mješavina melanžera
mješavina Erc i oboj jezgre L

ODREĐIVANJE BROJČANE KONCENTRACIJE ERITROCITA

Za određivanje broja E koristi se ili kapilarna krv ili venska vađena sa antikoagulansom (ljubičasti čep – EDTA). Da bi se melanžer uspješno napunio krvlju na njega se stavlja gumena, tanka cjevčica. Na drugom kraju cjevčice nalazi se plastični nastavak pomoću kojeg lakše navlačimo krv i otopinu. Krv se navuče do oznake 0.5.

Vrh melanžera se dobro obriše.

Navuče se Hayemova otopina do oznake 101.

Razrijeđena krv se nalazi u prostoru između 1 i 101, tj. u volumenu 100.

U tom volumenu nalazi se 0.5 volumnih dijelova krvi.

Iz toga proizlazi da je razrjeđenje krvi 1 : 200.

Ako se krv navuče do oznake 1, a Hayem do oznake 101, onda je razrjeđenje 1: 100.

U melanžer se krv i otopina navlače pažljivo, pazeći da se oko kuglice ne stvori zrak. Kad se melanžer napuni, vrh se obriše staničevinom, skine se gumena cjevčica i sadržaj melanžera se promiješa oko 3 minute držeći krajeve melanžera istodobno palcem i kažiprstom. Melanžer se do punjenja komorice stavi u horizontalan položaj.

Prije punjenja komorice, iz melanžera se ispusti 3-4 kapi sadržaja. Ponovno se obriše vrh melanžera, te se u kosom položaju postavi tik uz rub pokrovnog stakalca na komorici i ispusti se 1 kap. Tekućina će ući pod staklo i ako je kap dovoljno velika, potpuno će ispuniti površinu ispod pokrovnice. Ako je kap premala, vidjet će se prazan prostor. Tada komoricu i pokrovno staklo treba oprati, obrisati mekom krpom i ponovo napuniti. Ako je kap prevelika, razlit će se u postranične utore i postupak punjenja treba ponoviti.

Ispravno napunjena komorica se stavlja pod mikroskop, pričekava se da se stanice jednoliko raspodjele i smire oko 1-2 minute. Malim povećanjem (20x) i spuštenim kondenzorom treba pronaći mrežicu komorice i provjeriti da li su E jednoliko raspoređeni. Ako nisu, tj. mogu se vidjeti nakupine E, prazni dijelovi mrežice ili mjehurići zraka, punjenje komorice treba ponoviti. Ako su E jednoliko raspoređeni, povećanje se promijeni na 40x.

Pronađe se središnji kvadrat komorice u kojem se broje E.

Broje se E u 5 srednjih kvadrata koji su smješteni po dijagonali od lijevog, gornjeg do desnog, donjeg kvadrata u Neubauerovoj komorici. U Bürker-Türkovoj koji po dijagonali ima 4 kvadrata, kao 5. uzima se desni gornji kvadrat. Tijekom brojenja treba se držati određenog pravila i brojiti E koji npr. dodiruju lijevi i donji rub kvadrata, a zanemariti one koji dodiruju desni i gornji rub. E se tako broje u 80 najmanjih kvadratića (5 x 16), od kojih je svaki površine 1/400 (0.0025 mm²).

Nakon što su E izbrojani, treba izračunati njihovu brojčanu koncentraciju iz poznatih podataka.

Brojčana koncentracije E je broj E u 1 litri krvi.

Za račun su potrebni podaci:

razrijeđenje	=	1:200.....	faktor = 200
dubina komorice	=	0.1 = 1/10.....	faktor = 10
površina brojenja	=	5 x 16 x 1/400 = 80/400 = 1/5 mm ² ...	faktor = 5
1 L	=	10 ⁶ mm ³	
broj izbrojanih E	=	A	

brojčana konc. E = A x f (razrijeđ.) x f (dub. kom.) x f (pov.broj.) x f (za 1 L)

$$E = A \times 200 \times 10 \times 5$$

$$E = A \times 10\,000 \text{ u } 1 \text{ mm}^3$$

$$E = A \times 10^4 \times 10^6 \text{ u } 1 \text{ L}$$

$$E = A/100 \times 10^{12}/L$$

$$E = \frac{A}{100} \cdot 10^{12}/L$$

$$E = A/100 \cdot 10^{12}/L$$

Referentne vrijednosti eritrocita:

SPOL	DOB	INTERVAL x 10 ¹² /L
muški, ženski	1 – 14 d.	3.90 – 5.50
muški, ženski	15 – 30 d.	3.00 – 5.00
muški, ženski	1 – 2 mj.	2.90 – 4.10
muški, ženski	3 – 5 mj.	3.50 – 4.80
muški, ženski	6 mj. – 7 g.	4.00 – 5.00
muški	8 – 12 g.	4.34 – 5.47
muški	13 – 19 g.	4.43 – 5.88
muški	≥ 20 g.	4.34 – 5.72
ženski	8 – 19 g.	4.07 – 5.42
ženski	≥ 20 g.	3.86 – 5.08

ODREĐIVANJE BROJČANE KONCENTRACIJE LEUKOCITA

Kapilarnu ili vensku krv (izvađenu sa antikoagulansom), treba navući u leukocitni melanžer do oznake 0.5, a Tůrkovu otopinu do oznake 11. Krv je tada razrijeđena u omjeru 1: 20. Točnije određivanje brojčane koncentracije Leu postiže se razrjeđivanjem krvi u omjeru 1:10 (krv se navuče do oznake 1.0, a Tůrkova otopina do oznake 11). Takvo razrjeđenje treba primijeniti kada se očekuje snižena brojčana koncentracija Leu. Smjesa krvi i otopine se u melanžeru miješa najmanje 3 minute. Mrežica hemocitometra se napuni na isti način kao kod brojenja Erc.

Leukociti se broje u 4 vanjska kvadrata hemocitometra, ali površina na kojoj se stanice broje ovisi o vrsti hemocitometra.

U Neubauerovoj komorici, 4 vanjska kvadrata imaju površinu 4 mm^2 (svaki je veličine $1 \times 1 \text{ mm}^2$) i oni su jednostrukim crtama podijeljeni u 16 manjih kvadrata, od kojih svaki ima površinu $1/16 \text{ mm}^2$ (0.0625 mm^2).

U Bůrker-Tůrkovoj komorici, vanjski kvadrati su podijeljeni dvostrukim crtama u 16 manjih kvadrata, od kojih svaki ima površinu $1/25$ (0.04 mm^2). Zbog lakšeg računanja, Leu se izbroje na 50 ovakvih manjih kvadrata – 3 velika vanjska kvadrata i u 4. samo 2 manja kvadrata, ne brojeći stanice koje se nalaze između dvostrukih crta. Površina na kojoj su stanice izbrojene iznosi $50 \times 1/25 = 2 \text{ mm}^2$.

Nakon što su L izbrojani, treba izračunati njihovu brojčanu koncentraciju iz poznatih podataka.

Brojčana koncentracije L je broj L u 1 litri krvi.

Za račun su potrebni podaci:

razrijeđenje	=	1:20.....	faktor = 20
dubina komorice	=	0.1 = 1/10.....	faktor = 10
površina brojenja:			
Neubauerova k.	=	4 mm^2	faktor = $1/4$
Bůrker-Tůrkova k.	=	2 mm^2	faktor = $1/2$
1 L	=	10^6 mm^3	faktor = 10^6
broj izbrojanih Leu	=	A	

brojč. konc. Leu = A x f (razrijeđ.) x f (dub. kom.) x f (pov. brojenja) x f (za 1 L)

Neubauerova komorica:

$$\begin{aligned} \text{Leu} &= A \times 20 \times 10 \times \left(\frac{1}{4}\right) \times 10^6 / \text{L} \\ \text{Leu} &= A \times 200 \times 0.25 \times 10^6 / \text{L} \\ \text{Leu} &= A \times 50 \times 10^6 / \text{L} \end{aligned}$$

Bůrker-Tůrkova komorica:

$$\begin{aligned} \text{Leu} &= A \times 20 \times 10 \times \left(\frac{1}{2}\right) \times 10^6 / \text{L} \\ \text{Leu} &= A \times 100 \times 10^6 / \text{L} \\ \text{Leu} &= A \times 10^8 / \text{L} \end{aligned}$$

$$\text{Leu} = A \times 0.05 \times 10^9/\text{L}$$

ili

$$\text{Leu} = A/20 \times 10^9/\text{L}$$

Neubauerova

$$\text{Leu} = A \times 0.1 \times 10^9/\text{L}$$

ili

$$\text{Leu} = A/10 \times 10^9/\text{L}$$

Birker-Türleova

Referentne vrijednosti leukocita:

SPOL	DOB	INTERVAL X 10 ⁹ /L
muški, ženski	1 – 14 d.	6.2 – 17.8
muški, ženski	15 d. – 1 mj.	6.9 – 19.6
muški, ženski	2 mj. – 2 g.	6.0 – 16.0
muški, ženski	3 – 7 g.	5.0 – 13.0
muški, ženski	8 – 19 g.	4.4 – 11.6
muški, ženski	≥ 20 g.	3.4 – 9.7

HEMATOKRIT

Hematokrit je volumni udio eritrocita u jedinici pune krvi. Može se određivati direktnim ili indirektnim metodama.

Direktne metode su metode centrifugiranja, pri čemu se eritrociti zbiju na najmanji volumen, a da im membrane ostanu neoštećene (ne hemoliziraju). Direktne metode mogu biti makrometode (makrohematokrit) ili mikrometode (mikrohematokrit), ovisno o količini krvi potrebnoj za izvedbu analize.

Kod makrohematokrita 5 mL krvi se stavi u graduiranu epruvetu i centrifugira pola sata na 2000-3000 okretaja/minuti. Nakon toga se direktno s epruvete očita udio eritrocita, tj hematokrit. Metoda je vrlo jednostavna, ali zahtijeva puno krvi, prilično je neprecizna i dugo traje, a hematokrit se ubraja u hitne pretrage.

Zato se puno češće koristi mikrometoda tj. mikrohematokrit. Za ovu analizu potrebna je mikrohematokrit centrifuga koja ima brzinu 10 000 okretaja/minuti, a centrifugalna sila je oko 18 000 G. Centrifugalna sila ovisi o polumjeru centrifuge i o broju okretaja u minuti. Osim mikrohematokrit centrifuge, potrebne su i kapilare u koje navlačimo krv (kapilarnu ili vensku), te čitač hematokrita. Kapilare su obično sa jedne strane označene crvenom bojom radi lakšeg snalaženja, dužine su 6-7 cm, a promjera 1.5 mm. Krv se uvlači u kapilaru na suprotnom kraju od crvenog obojenja.

Indirektnom metodom hematokrit se određuje matematički iz vrijednosti specifične težine krvi i plazme. To je dosta složena analiza koja se danas više ne koristi. Druga, indirektna metoda je određivanje hematokrita pomoću elektronskog brojača. On određuje volumen svakog pojedinačnog Erc, pa iz zbroja pojedinačnih volumena, određuje ukupni volumen Erc koji se nalaze u 1 L krvi.

Referentne vrijednosti hematokrita:

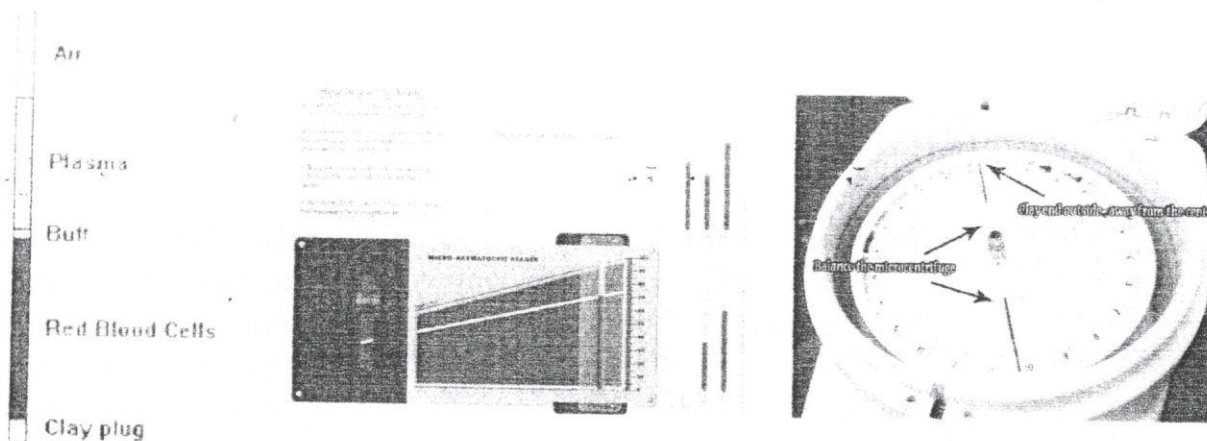
SPOL	DOB	INTERVAL / L/L
muški, ženski	1 – 14 d.	0.391 - 0.585
muški, ženski	15 – 30 d.	0.320 - 0.503
muški, ženski	1 – 2 mj.	0.263 - 0.371
muški, ženski	3 – 5 mj.	0.288 - 0.390
muški, ženski	6 mj. – 7g.	0.320 - 0.404
muški	8 – 12 g.	0.366 - 0.452
muški	13 - 19 g.	0.390 - 0.487
muški	≥ 20 g.	0.415 – 0.530
ženski	8 – 19 g.	0.354 - 0.450
ženski	≥ 20 g.	0.356 – 0.470

Pribor:

- mikrohematokrit kapilare
- plastelin
- mikrohematokrit centrifuga
- čitač za hematokrit

Postupak:

1. Krv (venska ili kapilarna) navlači se u kapilaru na suprotnom kraju od crvenog obojenja i to približno $\frac{3}{4}$ cjevčice. Kapilaru prilikom punjenja treba držati vodoravno. Za svakog pacijenta pune se obavezno 2 kapilare, tj. radi se u duplikatu. Zato treba paziti da se krv u kapilaru navuče približno jednako.
2. Crveni kraj kapilare utisne se u plastelin.
3. Kapilare se stavljaju u ležišta centrifuge na rotoru, jedna nasuprot drugoj sa crveno obilježenim krajem prema van (prema obodu centrifuge).
4. Rotor se dobro pričvrsti sa poklopcem i centrifuga se zatvori.
5. Centrifugirati 3 minute na 10 000 okretaja/minuti.
6. Nakon centrifugiranja, kapilare se pažljivo izvade i postave u čitač tako da se donji rub (crveno obojeni) postavi na donju crtu čitača, te se namjesti gornji rub (do kud doseže plazma) na gornju crtu čitača.
7. Sa strane očitati vrijednost hematokrita.



ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE HEMOGLOBINA

Hemoglobin je glavni sastojak eritrocita. Prenosi kisik iz pluća u tkiva, a ugljik-dioksid iz tkiva u pluća. Također sudjeluje u puferskim sistemima krvi. Sastoji se iz proteinskog dijela – globina i funkcionalne grupe – hema. Globin je sastavljen od 4 polipeptidna lanca, 2 α i 2 β lanca. Na svaki polipeptidni lanac vezan je po jedan hem. Dakle, svaka molekula hemoglobina sadrži 4 hema. Svaki hem sadrži po 1 atom željeza. Na svaki atom željeza može se reverzibilno vezati 1 molekula kisika, što znači da 1 molekula hemoglobina može prenositi 4 molekule kisika. Zbog važnosti poznavanja koncentracije Hgb u krvi, razvijen je veliki broj metoda određivanja. Prema principu određivanja, dijele se u nekoliko grupa:

1. gazometrijske metode u kojima se mjeri količina kisika vezanog za Hgb u uzorku krvi

Krv (uzorak) u plinskoj bireti (Van Slyke-ov aparat) reagira sa kalijevim fericijanidom (K_3FeCN_6) pri čemu nastaje methemoglobin uz otpuštanje kisika. Volumen otpuštenog kisika se mjeri kod poznatog tlaka i temperature, pa se pomoću plinske jednadžbe $pV=nRT$ (gdje je p tlak, V molarni volumen, T temperatura, a R opća plinska konstanta s vrijednošću $8.314 JK^{-1}mol^{-1}$) izračuna množina n , a iz nje broj molekula kisika. Iz broja molekula kisika izračuna se broj molekula Hgb koji je 4 puta manji od broja molekula kisika (1 Hgb veže 4 $\bullet O_2$). Konačno, iz broja molekula Hgb izračunava se koncentracija Hgb u uzorku krvi.

2. metode u kojima se određuje željezo vezano u Hgb

Iz Hgb se oslobodi željezo (kiselom hidrolizom ili oksidacijom sa smjesom dušične, sumporne i perklorne kiseline), te se odredi koncentracija željeza. Iz poznatog odnosa željeza u Hgb (1 Hgb veže 4 Fe; 1 g Hgb sadrži 3.38 mg Fe), izračuna se koncentracija Hgb u uzorku.

Ove dvije metode su vrlo točne, ali zbog dugotrajnog postupka nisu pogodne za rutinsko određivanje Hgb.

3. metode temeljene na principu određivanja specifične težine krvi
Specifična težina krvi u najvećoj mjeri ovisi o količini eritrocita u krvi, a glavni sastojak eritrocita je Hgb. Specifična težina krvi kreće se između 1.048 – 1.068. Potrebno je imati niz otopina CuSO_4 (najčešće se koriste otopine CuSO_4 , jer se gustoća tih otopina pri različitim temperaturama mijenja slično kao gustoća krvi) različite specifične težine od 1.015 - 1.075. Kapi krvi se ispuštaju redom u taj niz otopina. Kap krvi ostaje na površini otopine veće specifične težine od spec. tež. krvi, a tone na dno u otopini manje spec. tež. U otopini CuSO_4 iste specifične težine, kapi krvi lebde u sredini otopine. Iz tako utvrđene specifične težine krvi, računa se koncentracija Hgb. – često prije davanja krvi.
4. kolorimetrijske metode prevođenja Hgb u kiseli hematin
Ova metoda zove se još metoda po Sahliju. Koncentracija Hgb određuje se u malom aparatiću, hemoglobinometru. On je napravljen iz postolja, središnje, graduirane epruvete i po jednim obojenim staklom sa svake strane središnje epruvete. Krv se miješa sa 0.1 M HCl, pa se iz Hgb odvaja hem i oksidira na zraku u kiseli hemin (hematin) koji je smeđe boje. To se radi u srednjoj cjevčici hemoglobinometra koja je baždarena s jedne strane u gramima Hgb, a s druge u relativnim postocima Hgb. Sa svake strane postoji po još jedna cjevčica od obojenog stakla. Kiselina ili dest. voda se dodaje krvi sve dok boja ne bude ista kao na obojenim staklima sa strane. Tada se očita donji meniskus u središnjoj cjevčici.
5. kolorimetrijske metode prevođenja Hgb u cijanmethemoglobin
To su danas standardizirane i najviše korištene metode.

Određivanje vrijednosti hemoglobina metodom po Sahliju

Pribor:

- § hemoglobinometar
- § standardna mikropipeta od 0,02 ml
- § gumena cjevčica
- § kapaljka
- § stakleni štapić
- § 0,1 M HCl

Postupak:

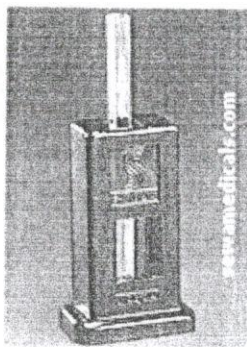
U epruvetu hemoglobinometra, pomoću kapaljke stavi se do oznake 10 % ili 2 g%, 0,1 M HCl. Kapilarna krv se uvuče u mikropipetu nešto iznad oznake 0,02 ml. Vrh mikropipete se obriše vatom ili staničevinom, pri čemu se ujedno, pažljivo izvuče višak krvi iz pipete, točno do oznake 0,02ml. Tada se vrh mikropipete uroni u otopinu 0,1 M HCl koja se nalazi u graduiranoj epruveti i sadržaj iz pipete se ispuše u epruvetu. Kapilara mikropipete se dva do tri puta ispere otopinom u epruveti. Sada se sačeka da prođe 1 – 5 minuta, što je dovoljno vrijeme za hemolizu eritrocita. Nakon toga, krv se razrjeđuje tako da se kapaljkom dodaje otopina HCl ili destilirana voda uz stalno miješanje sadržaja u epruveti staklenim štapićem. Krv se razrjeđuje sve dok se boja u epruveti hemoglobinometra potpuno ne izjednači sa bojom stakla sa strane.

Rezultat se čita direktno na skali graduirane epruvete. Očitava se donji meniskus tekućine u epruveti. Pri očitavanju, hemoglobinometar treba biti okrenut prema izvoru danjeg svjetla, a nikako ne prema umjetnoj rasvjeti. Udaljenost od očiju treba biti kao pri čitanju.

Dobiveni rezultati izražavaju se u postocima ili u gramima. Kod većine hemoglobinometara epruvete su baždarene tako da vrijednost od 100 % odgovara vrijednosti od 16 g hemoglobina na 100 ml krvi.

Vrijednost hemoglobina izražena u gramima pretvara se u postotke ako se grami pomnože sa faktorom 6,25.

Vrijednost hemoglobina izražena u postotku, pretvara se u grame, ako se dobiveni postotak podijeli sa faktorom 6,25.



Određivanje vrijednosti hemoglobina kolorimetrijskom metodom prevođenja hemoglobina u cijanmethemoglobin

Metoda se izvodi u epruveti tako da se krvi doda reagens, nakon čega se mjeri apsorbancija u fotometru.

Iz dobivenih apsorbancija uzorka i standarda, izračuna se koncentracija hemoglobina.

Danas rutinska metoda koja se primjenjuje i u hematološkim brojačima

REFERENTNE VRIJEDNOSTI HEMOGLOBINA:

SPOL	DOB	INTERVAL g/L
muški, ženski	1 – 14 d.	136 – 199
muški, ženski	15 – 30 d.	109 – 169
muški, ženski	1 – 2 mj.	90 – 144
muški, ženski	3 – 5 mj.	100 – 137
muški, ženski	6 mj. – 7g.	109 – 138
muški	8 – 12 g.	121 – 145
muški	13 – 19 g.	129 – 166
muški	≥ 20 g.	138 – 175
ženski	8 – 19 g.	118 – 149
ženski	≥ 20 g.	119 – 157

ERITROCITNE KONSTANTE

Eritrocitne konstante (indeksi, korpuskularne vrijednosti ili Wintrobove konstante) su **računskim** načinom dobivene vrijednosti koje karakteriziraju veličinu eritrocita, te odnos između eritrocita i hemoglobina.

Eritrocitne konstante su:

- **MCV** (**mean corpuscular volume**) → prosječni volumen eritrocita
- **MCH** (**mean corpuscular hemoglobin**) → prosječna količina hemoglobina u pojedinom eritrocitu

- **MCHC** (**mean corpuscular hemoglobin concentration**) → prosječna koncentracija hemoglobina u 1 litri eritrocita

Eritrocitne konstante se izračunavaju iz brojčane koncentracije eritrocita, hematokrita i koncentracije hemoglobina.

MCV - PROSJEČNI VOLUMEN ERITROCITA

- izračunava se dijeljenjem Htc (volumni udio Erc u 1 L krvi) sa brojčanom koncentracijom Erc.(broj Erc u 1 L krvi).
- tako se izračuna prosječni volumen pojedinog eritrocita.
- izražava se u femtolitrama (fL = 10^{-15} L)
- referentne vrijednosti: muški, ženski; ≥ 20 g. = **83.0 – 97.2 fL**

$$\text{MCV} = \frac{\text{Htc (L/L)}}{\text{Erc} \times 10^{12}/\text{L}}$$

$MCV = 10^{-12} L \cdot \frac{10^{15} g}{10^3} = 10^{-15} L$
 $MCH = 10^{-12} g = pg$

MCH – PROSJEČNA KOLIČINA HEMOGLOBINA U POJEDINOM ERITROCITU

- izračunava se dijeljenjem koncentracije Hgb (količina Hgb u 1 L krvi) sa brojčanom koncentracijom Erc (broj Erc u 1 L krvi)
- tako se izračuna onaj dio Hgb koji se nalazi u pojedinom Erc.
- izražava se u pikogramima ($pg = 10^{-12} g$)
- referentne vrijednosti: muški, ženski; $\geq 20 g. = 27.4 - 33.9 pg$

$$MCH = \frac{Hgb (g/L)}{Erc \times 10^{12}/L}$$

MCV fL
 MCH pg
 MCHC g/L

MCHC – PROSJEČNA KONC. HEMOGLOBINA U 1 L ERITROCITA

- izračunava se dijeljenjem koncentracije hemoglobina sa hematokritom.
- tako se izračuna kolika je konc. Hgb u 1 L eritrocita.
- izražava se u g/L
- referentne vrijednosti: muški, ženski; $\geq 20 g. = 320 - 345 g/L$

$$MCHC = \frac{Hgb (g/L)}{Htc (L/L)}$$

SEDIMENTACIJA ERITROCITA

Brzina sedimentacije eritrocita je brzina taloženja eritrocita iz suspenzije krvi i antikoagulansa u kalibriranoj uspravnoj pipeti ili epruveti točno određene visine i promjera tijekom 60 minuta. Mjeri se duljina od početne razine krvi (oznaka 0) do granice krvnih stanica i plazme nakon jednog sata (eventualno 2 sata) mirovanja na sobnoj temperaturi. Pipeta je kalibrirana u milimetrima.

Sedimentacija eritrocita je razdvajanje stanica od plazme zbog razlike u gustoći, a pod utjecajem gravitacije. Gustoća stanica je veća, pa se one talože potiskujući plazmu prema gore.

Tijekom taloženja eritrociti stvaraju tzv. „rouleaux“ (rulo) formacije, koje nastaju slaganjem eritrocita kao novčića jedan na drugi svojom najvećom površinom.

Brzina sedimentacije ovisi o promjeni koncentracija proteina u plazmi. Tako porast koncentracije fibrinogena, imunoglobulina, svih proteina akutne faze

izazivaju povećanje brzine sedimentacije eritrocita. Brzina sedimentacije povećana je, stoga tijekom upalnih procesa i malignih bolesti.

Krv za sedimentaciju vadi se u epruvete sa crnim čepom koje sadrže 3.8% Na-citrat kao antikoagulans.

Pribor:

- § pribor za vađenje krvi
- § epruveta za sedimentaciju
- § pipete za sedimentaciju
- § stalak za sedimentaciju
- § sat ili štoperica

Postupak:

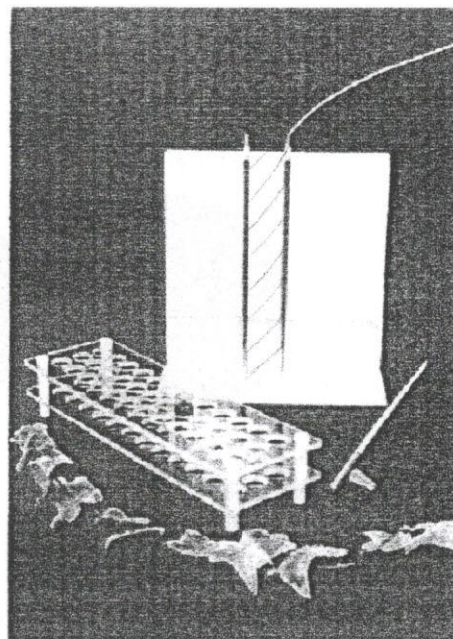
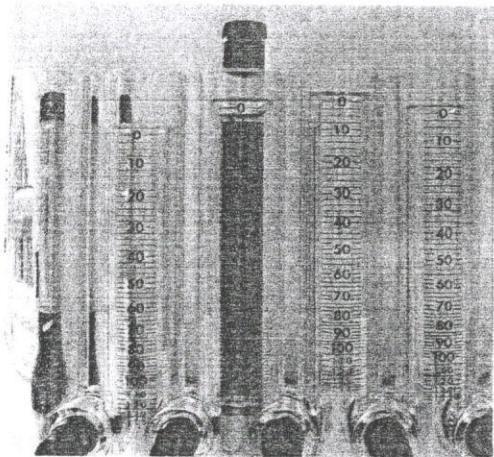
Brzina sedimentacije eritrocita izvodi se modificiranom metodom po Westergreenu.

Izvadi se venska krv u epruvete za sedimentaciju. Nakon što se krv dobro promiješa, pažljivo se skine čep sa epruvete. U epruvetu se uroni pipeta za sedimentaciju do dna. Kapilarnim tlakom pipeta će povući krv do gornje oznake 0. Pipeta i epruveta zajedno se pričvrste u stalak. Tada se namjesti sat da zvoni za točno 60 minuta.

Nakon 60 min. bez micanja ili podizanja stalka očita se visina stupca eritrocita. Osim klasičnih epruveta sa crnim čepom, postoje i dugačke, uske epruvete koje također imaju mali, crni čep i Na-citrat kao antikoagulans. Nakon vađenja krvi, te epruvete se stave u posebni stalak koji je građuiran u mm. Potrebno je, pomoću vijaka, podesiti visinu stupca izvađene krvi na 0 mm i nakon 1 sata, direktno sa stalka se očita sedimentacija, tj. visina stupca eritrocita.

REFERENTNE VRIJEDNOSTI:

SPOL	DOB	INTERVAL (mm/sat)
muški, ženski	1 dan – 7 g.	0 – 20
muški	8 – 14 g.	2 – 21
muški	15 – 19 g.	2 – 12
muški	20 – 50 g.	2 – 13
muški	> 50 g.	3 – 23
ženski	8 – 19 g.	2 – 20
ženski	20 – 50 g.	4 – 24
ženski	> 50 g.	5 – 28



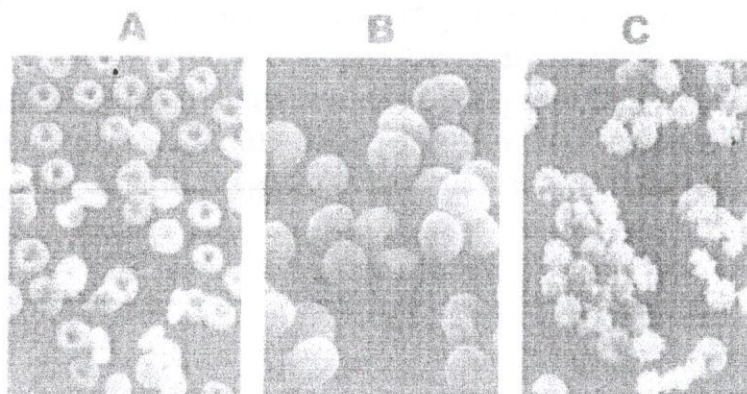
OSMOTSKA REZISTENCIJA ERITROCITA

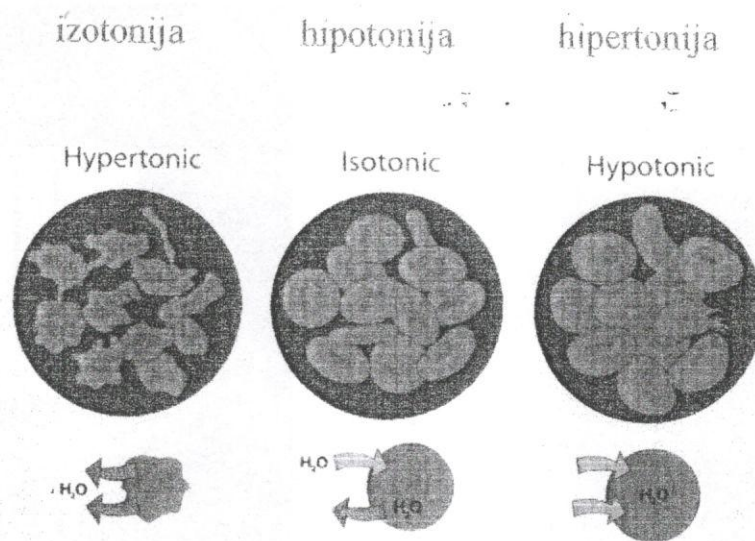
Određivanjem osmotske rezistencije eritrocita utvrđuje se otpornost eritrocita na hipotonične otopine natrij klorida (NaCl). 1% NaCl

Eritrociti se u različitom stupnju raspadaju u otopinama NaCl različitih koncentracija. Normalno eritrociti najbolje podnose 0.7% otopine NaCl, tzv. fiziološke otopine. Zo je tzv. stanje izotonije.

Eritrociti se u hipertoničnim otopinama (iznad 0.7% NaCl) smežuraju, jer gube vodu. Koncentracija elektrolita je veća u otopini nego unutar same stanice, pa da bi se postigla izotonija eritrociti otpuštaju vodu.

U hipotoničnim otopinama (ispod 0.7% NaCl) bubre jer je konc. elektrolita u njima veća od one u otopini, pa da bi se postigla izotonija u eritrocite ulazi voda. Zato oni bubre i raspadaju se tj. hemoliziraju. Njihova membrana je plastična, može promijeniti oblik, ali nije i elastična tj. ne može se rastegnuti, već puca.





Ovim testom utvrđuje se kod koje koncentracije otopine NaCl počinje hemoliza (raspadanje) eritrocita → **minimalna rezistencija** i koje koncentracije NaCl je hemoliza eritrocita potpuna → **maksimalna rezistencija**.

Reagens:

1. matična otopina : 10% otopina NaCl
 - otopiti 10 g NaCl u 100 ml dest. vode
2. radna otopina : 1% otopina NaCl
 - 10 ml matične otopine nadopuniti do 100 ml sa dest. vodom

Postupak:

Potrebno je pripremiti stalak sa nizom od 21 epruvete označene brojevima 1 -- 21. Uzme se građuirana staklena pipeta od 1 ml. U epruvetu br. 1 stavi se 0.70 ml radne otopine (1% NaCl). Ostatak iz pipete od 0.30 ml otpipetira se u posljednju 21. epruvetu. U epruvetu br. 2 pipetira se 0.68 ml, a u 20. ostatak od 0.32 ml. Tako se redom pipetira u sve epruvete niza sa razlikom između dvije epruvete od 0.02 ml. Nakon toga se u svim epruvetama volumen nadopuni do 1 ml destiliranom vodom. Na kraju se u svaku epruvetu doda po 1 kap pune krvi najbolje izvađene sa heparinom ili 3.8% Na-citratom.

Nakon dodatka krvi, sadržaj u epruvetama se dobro promućka i epruvete se ostave na sobnoj temperaturi, zaklonjene od svjetla najmanje 2 sata. Rezultati se očitavaju makroskopski. Gleda se u kojoj epruveti se prvo pojavila žućkasto-crvenkasta boja otopine. To je točka početne hemolize, tj. minimalna rezistencija. Zatim se traži epruveta u kojoj više nije prisutan sediment eritrocita, tj. epruveta gdje su svi eritrociti hemolizirali. To je točka potpune hemolize, tj. maksimalna rezistencija.

Tablica pripreme otopina NaCl:

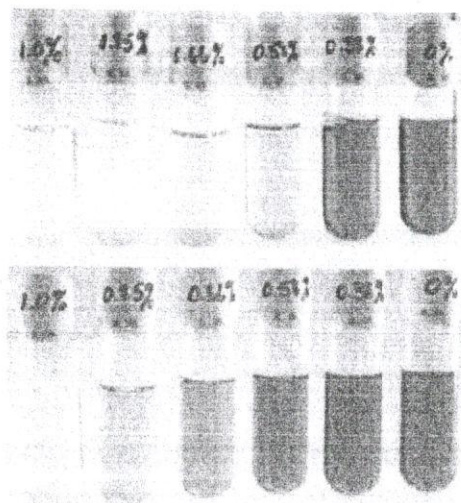
epruveta broj:	1%-tna otopina NaCl/mL	dest.H ₂ O mL	konc. otop. NaCl/%
1	0,70	0,30	0,70
2	0,68	0,32	0,68
3	0,66	0,34	0,66
4	0,64	0,36	0,64
5	0,62	0,38	0,62
6	0,60	0,40	0,60
7	0,58	0,42	0,58
8	0,56	0,44	0,56
9	0,54	0,46	0,54
10	0,52	0,48	0,52
11	0,50	0,50	0,50
12	0,48	0,52	0,48
13	0,46	0,54	0,46
14	0,44	0,56	0,44
15	0,42	0,58	0,42
16	0,40	0,60	0,40
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	0,30

REFERENTNE VRIJEDNOSTI:

Minimalna rezistencija (početak hemolize) = 0.46 – 0.42% NaCl

Maksimalna rezistencija (potpuna hemoliza) = 0.34 – 0.30% NaCl

Smanjena osmotska rezistencija eritrocita nalazi se kod nekih anemija, trovanja i hepatitisa. Povišene vrijednosti su kod splenektomije, nekih anemija, oštećenja jetre i kod opstrukcije žučnih vodova.



IZRADA KRVNIH RAZMAZA

Vrlo često, osim izrade crvene krvne slike i broja L, liječnici traže kompletnu krvnu sliku ili broj retikulocita (mladih razvojnih oblika eritrocita).

Da bi se izdali ti nalazi, potrebno je napraviti krvni razmaz koji se oboji i promatra pod mikroskopom, te se na taj način dobiju traženi rezultati

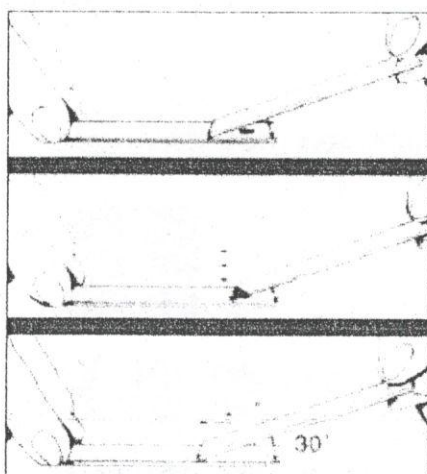
Predmetna stakla na kojima se prave razmazi moraju biti besprijekorno čista. Nova, nekorištena stakla se operu deterđentom, isperu tekućom vodom, isperu destiliranom vodom, stave u etilni alkohol na najmanje 4 sata, a zatim mekanom krpom koja ne ostavlja dlačice dobro obrišu i spremne do upotrebe.

Korištena stakla se moraju dobro obrisati benzinom da bi se odstranila sva imerzijska tekućina, oprati u deterđentu, isprati tekućom vodom, staviti u kromsumpurnu kiselinu 24-48 sati, isprati pod tekućom vodom, isprati destiliranom vodom, potopiti u etilni alkohol, obrisati i spremiti do ponovnog korištenja.

Površina stakla ne smije se dodirivati prstima, jer se time izbjegava ostavljanje masnih otisaka. Zato stakla uvijek primamo za bridove.

Osim predmetnica, za izradu razmaza potrebna su nam i tzv. brušena stakla čiji su krajevi posebno izbrušeni pod određenim kutom. Takva stakla služe za razvlačenje kapljice krvi po predmetnici.

Na prvu trećinu, potpuno čistog i suhog predmetnog stakla, stavi se jedna kap krvi. Na čvrstoj, svijetloj podlozi predmetno staklo se drži za rubove lijevom rukom. Kapljica krvi se nalazi s desne strane stakla. Desnom rukom se uzme brušeno staklo i prisloni na predmetno staklo pod kutom od $30-45^\circ$ uz kapljicu krvi koja se tada razlije uzduž brida brušenog stakla, pri čemu treba paziti da se pri tom krv ne razlije potpuno do postraničnih rubova predmetnog stakla.



Sada se jednolikim, brzim potezom ruke povuče brušeno staklo po predmetnici do lijevog kraja predmetnice. Ako je pokret bio ujednačen, razmaz će završiti na zadnjoj trećini predmetnice. Najdeblji će biti na početku, najtanji na kraju, a završit će polukrugom.

Preparat se suši na zraku na sobnoj temperaturi od 2 - 24 sata. Vrijeme sušenja ovisi o hitnosti postupka. Na razmazu, i to na njegovom početku, gdje je najdeblji, običnom olovkom se napiše ime i prezime pacijenta, (eventualno i bolnički odjel). Nakon toga se boji nekom od metoda bojenja.

Razmaz ne smije biti:

- suviše debeo
- suviše tanak
- ne smije dodirivati rubove i krajeve predmetnog stakla
- na njemu ne smije biti praznih mjesta
- mora biti ravnomjeran i pravilan kako bi na njemu svi stanični elementi bili ravnomjerno raspoređeni.

BOJANJE KRVNIH RAZMAZA

Krvne razmaze u hematologiji bojimo pankromatskom (panoptičkom) metodom po Pappenheimu. Princip se sastoji u tome da se selektivno oboje pojedini dijelovi stanice prema njihovim fizikalno kemijskim svojstvima. Na preparat se djeluje smjesom kiselih i bazičnih (alkalnih) boja. Kisele boje se vežu na bazične dijelove stanice, a bazične boje na kisele dijelove stanice.

Za bojanje razmaza krvi metodom po Pappenheimu koriste se dvije boje:

1. May-Grünwald: eozin, metilensko modriilo, metilni alkohol.
2. Giemsa: azurII-eozin, azurII, glicerol, metilni alkohol.

May-Grünwald otopina sadrži metilni alkohol koji služi za fiksiranje razmaza. Otopina Giemse se prije bojenja treba razrijediti sa destiliranom vodom u omjeru 1:20.

Priprema radne otopine Giemsa: u menzuru se ulije 95 ml dest. vode, te se polako uz stalno miješanje (da ne nastane talog) dodaje 5 ml otopine Giemsa.

Postupak bojenja krvnih razmaza: osušeni razmazi se poslažu u horizontalnom položaju jedan do drugog, ali malo razmaknuti, na mostić za bojenje. Preliju se otopinom May-Grünwald, na svaki razmaz oko 2 ml. To stoji 3 minute. Nakon toga se na preparate prelije oko 4 ml dest. vode, ne odlijevajući pri tom prethodno stavljenju boju. To stoji 1 minutu. Nakon toga, preparati se dobro isperu dest. vodom, a donja strana predmetnog stakla se očisti od boje sa vatom ili staničevinom. Tada se na preparat stavlja razrijeđena otopina Giemse koja stoji na preparatima 30 minuta. Razmazi se dobro isperu dest. vodom i suše na zraku, na sobnoj temperaturi u kosom položaju.

Bojenje po Pappenheimu:

1. May-Grünwald 3 min.
2. dest. voda 1 min.
3. isprati dest. vodom
4. obrisati donju stranu predmetnog stakla
5. Giemsa 30 min.
6. isprati dest. vodom
7. sušiti u kosom položaju

Na ishod bojanja jako utječe pH dest. vode koji mora biti 7 (6,8-7,2) da bi razmazi bili dobro obojeni. Ako je dest. voda prekisela, preparati će biti crveni, a leukociti neće biti dovoljno obojeni. Ako je dest. voda alkalna, preparati će biti zeleno-plavi, leukociti će biti prejako obojeni i teško će se međusobno razlikovati.

Osim ovog klasičnog, manualnog načina bojenja krvnih razmaza, postoji modificirana metoda bojenja u aparatima za automatsko bojenje. U takvim aparatima, razmazi se poslažu u žičane košarice. Mehanička „ruka“ aparata prenosi košaricu sa razmazima, uranjajući je pri tom (nakon točno određenih vremenskih intervala) u posude sa bojama (May-Grünwald i Giemsa) i dest. vodom.

Ovaj postupak omogućuje bojanje većeg broja razmaza u istom vremenu, te je pogodan za velike laboratorije sa puno pacijenata.

Postoji, također, metoda koja olakšava posao hitnim laboratorijima. Bojanje je tim načinom gotovo za 1 do 2 minute. Radi se o tome da postoje posebne otopine boja koje u potpunost zamjenjuju klasične boje May-Grünwald i Giemsa. U setu za bojanje nalaze se 3 bočice: 1. je bočica sa metilnim alkoholom koji služi za fiksaciju razmaza. Ostale dvije sadrže crvenu i plavu boju. Razmaz se uroni u metilni alkohol 5 puta, u crvenu boju 3 puta i u plavu boju 5 puta. Time je postupak bojenja završen. Kad se razmaz osuši, spreman je za mikroskopiranje.

Ako se preparat ne boji istoga dana kada je napravljen, treba ga fiksirati metilnim alkoholom tijekom 5 minuta.

MIKROSKOPIRANJE KRVNOG RAZMAZA

Obojeni preparat razmaza krvi promatra se pod imerzijskim objektivom mikroskopa (povećanje objektiva: 100 x). Imerzijski objektiv obrubljen je crnim rubom i ima oznaku OIL IM (uljna imerzija).

Na obojeni dio preparata stavi se kap imerzijske tekućine. Kao imerzija služi još cedrovo ulje, a rjeđe ricinusovo ili parafinsko ulje. Objektiv mikroskopa uroni se oprezno u imerzijsku tekućinu prateći sa strane pomicanje objektiva i sprečavajući na taj način oštećenje objektiva mikroskopa i preparata razmaza krvi. Podižući tubus mikroskopa pomoću makrovijka, pronade se slika, a zatim se mikrovijkom slika izoštri. Slika se može tražiti i sa manjim povećanjem, a kada se slika pojavi, dovoljno je samo okrenuti imerzijski objektiv i sliku izoštriti mikrovijkom. Stanice se promatraju na srednje gustom dijelu razmaza, tj. na mjestu gdje su eritrociti najpravnomjernije raspoređeni. Na najdebljem, početnom dijelu razmaza, eritrociti su pregusti, sljepljeni jedan za drugog, dok su na samom kraju, na najtanjem dijelu, prerijetki. Na srednje gustom dijelu razmaza, eritrociti su međusobno odvojeni, ali poredani jedan do drugog.

Nakon obavljene analize krvnog razmaza, potrebno je dobro očistiti imerzijski objektiv i preparat od imerzijske tekućine. Komadić vate natopi se benzinom i u jednom brzom i čvrstom potezu se povuče po predmetnom staklu od debljeg prema tanjem dijelu razmaza. Ukoliko ima još imerzijske tekućine, treba ponovo uzeti čistu vatu i ponoviti postupak. Za imerzijski objektiv također treba uzeti komadić vate natopljen benzinom i očistiti ga, pažljivo brišući dio objektiva koji je bio uronjen u imerzijsku tekućinu. Povremeno objektiv treba očistiti mješavinom etanola i etera (dobro uklanja masne mrlje) sa posebnim rižinim papirom za čišćenje optike (ne ostavlja dlačice).

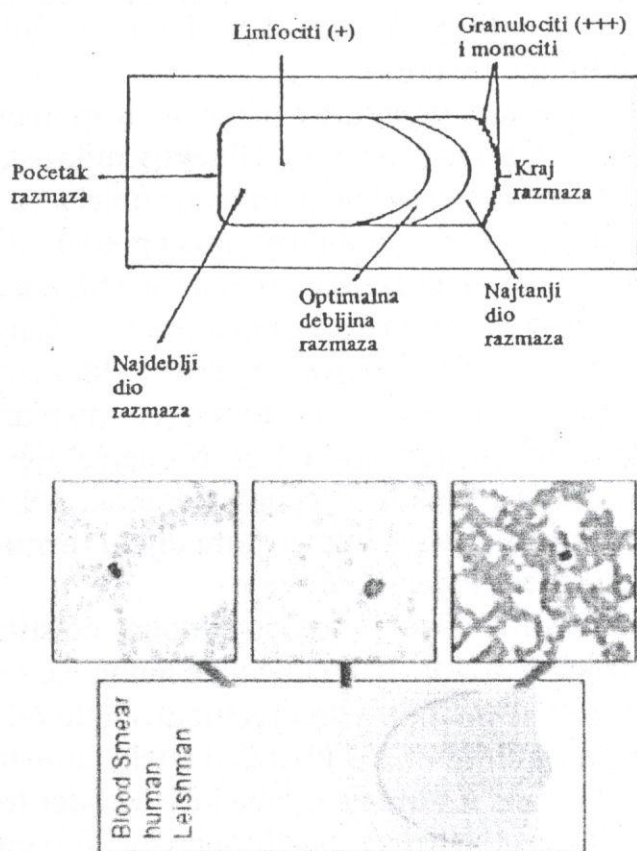
STANICE KRVNOG RAZMAZA

Krv je tekuće tkivo koje se sastoji od krvnih stanica suspendiranih u krvnoj tekućini. Krvne stanice su eritrociti, leukociti i trombociti. Osim brojčanih koncentracija stanica, važan podatak za dijagnostiku velikog broja bolesti je morfologija tj. izgled tih stanica, što se može vidjeti u obojanom krvnom razmazu.

U preparatima krvi obojanim po Pappenheimu, eritrociti su ružičasto do crveno obojeni. Vide se kao okrugle pločice, tj. stanice bez jezgre, promjera od 7 - 8 μm (najčešće 7.5 - 7.7 μm). Središnja zona je svjetlije obojena upravo zbog bikonkavnog oblika.

U ispravno načinjenim preparatima krvi, leukociti su neoštećeni i relativno ravnomjerno raspoređeni. Obično se limfociti (najmanji leukociti) nalaze pretežno u središnjem, najdebljem dijelu razmaza, granulociti i monociti (vrste leukocita) u najtanjem dijelu razmaza. Eozinofile često vidimo uz rub razmaza.

Upravo zato važno je leukocite promatrati na optimalnoj, srednjoj debljini razmaza, gdje su najravnomjernije raspoređeni.

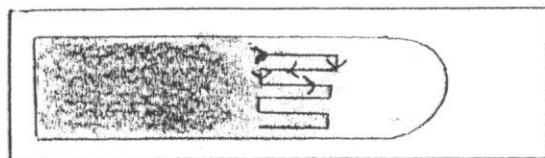


Trombociti se pojavljuju u obliku tjelešaca promjera 2-3 μm . Okruglastog su ili ovalnog oblika, a obojeni su tamnocrveno do ljubičasto. Odijeljeni su jedan od drugog i raspoređeni su ravnomjerno po cijelom preparatu.

DIFERENCIJALNA KRVNA SLIKA

Diferencijalna krvna slika (DKS) ili leukocitna formula predstavlja udio pojedinih vrsta leukocita u 100 izbrojenih stanica. Obojeni krvni razmaz analizira se mikroskopski uz uporabu imerzije. Izbroji se 100 leukocita (uvijek je bolje izbrojiti 200 stanica, pa rezultat podijeliti sa 2), a rezultat se izrazi kao udio pojedine vrste, tj. u % (25%) kao dio jedinice (0.25). Prilikom upisivanja rezultata diferenciranja u nalaz uvijek se kontrolira zbroj stanica. On mora iznositi 100 ili 1.00.

Da bi rezultat prilikom diferenciranja stanica bio što točniji, diferenciranje se mora provesti po cijelom optimalnom dijelu preparata razmaza krvi, pomičući preparat okomiti i vodoravno.



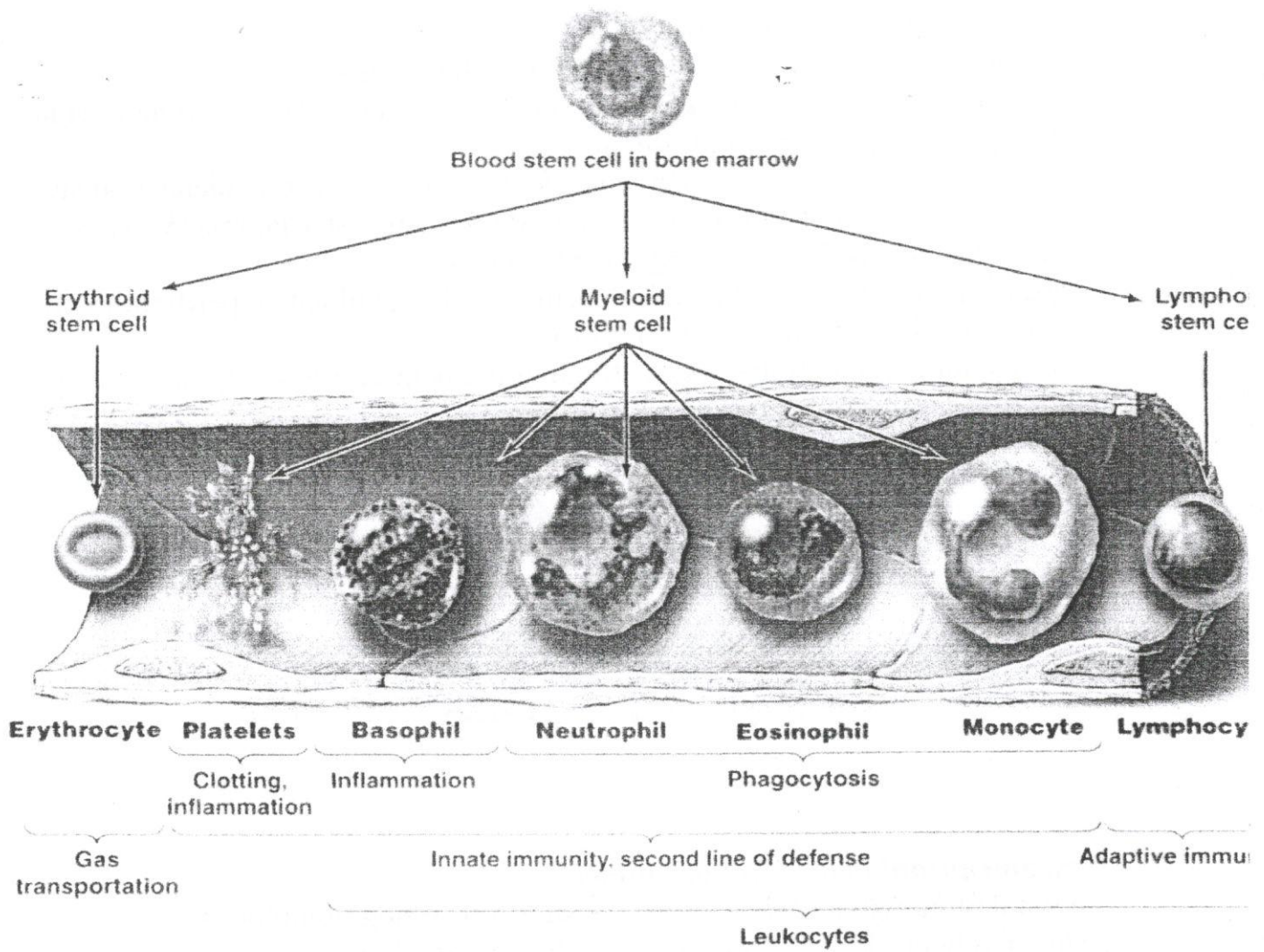
Prilikom diferenciranja i utvrđivanja postotka zastupljenosti pojedinih vrsta leukocita, ako se ne raspolože električnim brojčanim registratorom (leukodifer), prethodno se na papiru napravi tablica. Podijeljena je na 10 stupaca i na onoliki broj redova koliko ima morfoloških oblika leukocita koji se diferenciraju. U svaki stupac upisuje se po 10 stanica (ako se broji do 200, tada po 20). Nakon završetka diferenciranja, sa desne strane tablice, zbroji se ukupni broj stanica u redovima, što ujedno predstavlja i postotak zastupljenosti pojedine vrste leukocita u tom preparatu.

ispuniti tablicu

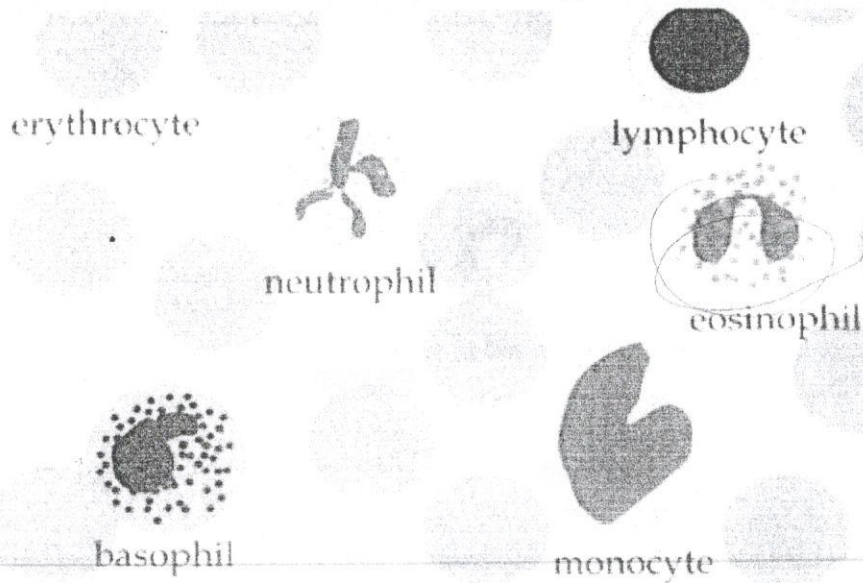
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	%
SEGMENT.	IIII	IIII	IIII	IIII	IIII	III	IIIIII	IIII	IIII	IIII	50
LIMFOCIT	II	IIII	IIII	III	III	III	III	III	II	IIII	31
MONOCIT	I		I	I	II	III		I	II		11
EOZINOFIL	II	I		I		I		I			6
NESEGMENT,		I									1
BAZOFIL	I										1
PLAZMA ST.											
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
UKUPNO											100

Referentne vrijednosti:

	%	
SEGMENTIRANI	44 - 72	0.44 - 0.72
LIMFOCIT	20 - 46	0.20 - 0.46
MONOCIT	2 - 12	0.02 - 0.12
EOZINOFIL	0 - 7	0.00 - 0.07
NESEGMENTIRANI	0 - 2	0.00 - 0.02
BAZOFIL	0 - 1	0.00 - 0.01
PLAZMA STANICA	0 - 1	0.00 - 0.01



De hvite blodcelletypene



Segmentirani neutrofilni granulocit

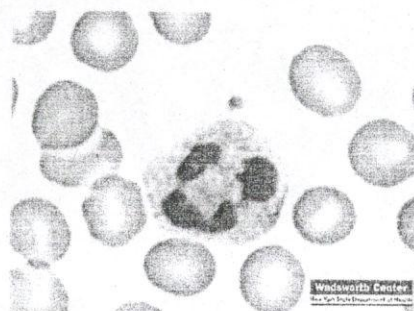
Stanica veličine 10 – 12 μm , okruglog do ovalnog oblika.

Nježno ružičaste citoplazme koja sadrži brojne, ružičasto-smeđe, sitne granule. Odnos veličine jezgre i citoplazme je 1 : 3.

Jezgra je podijeljena u 2 – 5 segmenata intenzivno ružičasto obojena, koji su spojeni tankom, jedva vidljivom vezom. Što je stanica starija, ima sve više segmenata, ali najviše do 5. Jezgra nema nukleole.

Normalan udio (broj) segmentiranih neutrofilnih granulocita u perifernoj krvi zdrave odrasle osobe iznosi 44 - 72% (0.44 – 0.72).

Povišen udio segmentiranih neutrofilnih granulocita (iznad 0.72) nalazi se kod bakterijskih infekcija i zove se neutrofilija.



Nesegmentirani neutrofilni granulocit

To je mlađi razvojni oblik segmentiranog neutrofilnog granulocita.

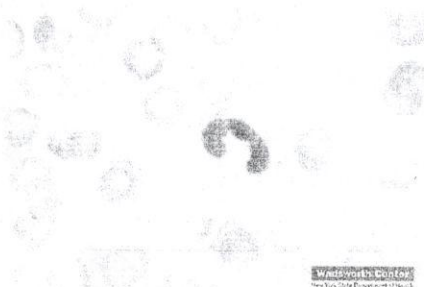
Stanica veličine 10 – 12 μm , okruglog ili ovalnog oblika.

Nježno ružičaste do crvenkaste citoplazme sa sitnim crvenkastim granulama.

Jezgra je oblika kifle, polumjeseca ili štapa, ružičaste boje.

Normalni udio nesegmentiranih neutrofilnih granulocita je 0 – 2 % (0.00 – 0.02).

Povišen udio javlja se kod bakterijskih infekcija i tu pojavu zovemo skretanje u lijevo.

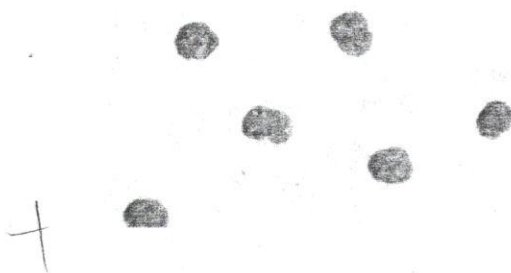


Limfocit

Razlikuju se mali i veliki limfocit. +

Mali limfocit je stanica veličine oko 9 μm gotovo pravilnog, okruglog oblika. Citoplazma je oskudna, te se vidi oko jezgre kao tanki prsten tamnoplave boje. Citoplazma malih limfocita ne sadrži granule.

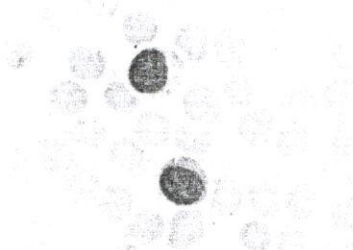
Jezgra je velika, okrugla ili ovalna, ekscentrično položena, intenzivno ružičaste boje. Kromatin je gust, često u nakupinama.



Veliki limfocit je veličine 10 – 15 μm , okruglog oblika.

Citoplazma je veća i obilnija nego kod malog limfocita. Svjetloplave je boje i sadrži do 10 crvenkastih granula (veličine 0.5 μm).

Jezgra je okrugla ili ovalna, ekscentrično položena. Kromatin je gust u obliku nakupina.



Source: Lichtman, MA, Shafer HS, Folgar RE, Vena R
Lichtman's Atlas of Hematology: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Normalni udio limfocita u krvi kreće se od 20 – 46 % (0.20 – 0.46). Povišena vrijednost limfocita nalazi se kod virusnih infekcija i zove se limfocitoza.

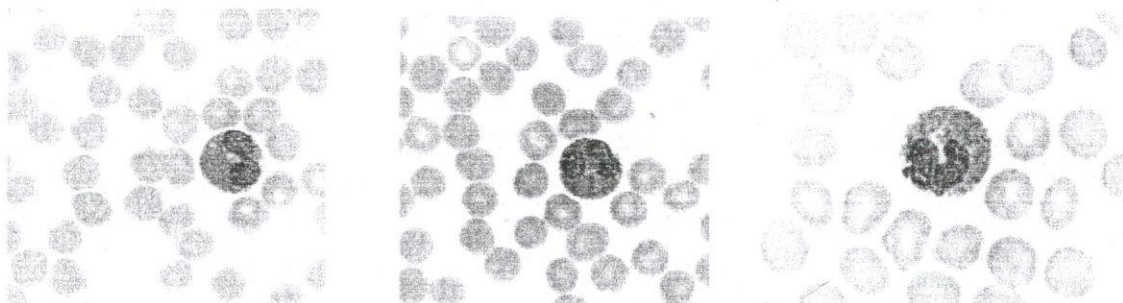
Segmentirani i nesegmentirani eozinofilni granulocit

Stanica veličine 10 – 12 μm, okruglog ili ovalnog oblika.

U citoplazmi se nalaze specifične eozinofilne granule, podjednake veličine (oko 1 μm promjera), gusto rasporedene jedna do druge, tako da se citoplazma najčešće ni ne vidi. Granule su specifične narančaste do smeđe-crvenkaste boje i nikada ne prelaze jezgru. Boje se eozinom jer sadrže alkalne proteine.

Jezgra je najčešće segmentirana u dva segmenta karakterističnog izgleda poput trešnje ili naočala sa vrlo zgusnutim kromatinom, koja povezuje tanki mostić. Intenzivno ružičaste je boje.

Osim toga jezgra može biti i nesegmentirana ili segmentirana u 3 segmenta. Normalna vrijednost eozinofilnih granulocita je 0 – 7 % (0.00 – 0.07). Povišena se javlja se kod alergija i parazitoza, a zove se eozinofilija.



Bazofilni granulocit

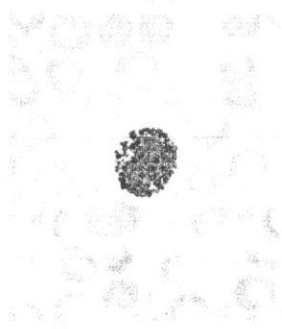
Stanica veličine 10 – 12 μm, okruglog ili ovalnog oblika.

Citoplazma je nebojena ili svijetloružičasta s tamnoljubičastim do crnim granulama koje prelaze preko jezgre. Granule su brojne, nepravilnog oblika i različite veličine, razasute po cijeloj stanici. Zbog sadržaja kiselih tvari (histamina i heparina) vežu na sebe alkalnu boju metilensko modriilo, od kojeg su tamno obojene.

Jezgra može biti okrugla, bubrežasta ili nepravilna u obliku lista djeteline. Zauzima veći dio stanice i ne sadrži nukleole.

Normalni udio bazofilnih granulocita je od 0 – 1 % (0.00 – 0.01).

Povišena vrijednost zove se bazofilija i javlja se kod nékih leukemija.



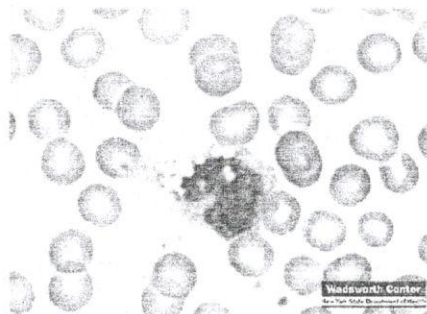
Monocit +

Stanica veličine 15-30 μm , okruglog, ovalnog ili često vrlo nepravilnog oblika uslijed ameboidnog kretanja.

Citoplazma je obilna, svijetlosive ili svijetloplave boje zamućenog izgleda. U njoj se nalaze sitna, poput prašine rasuta, crvenkasta zrnca. Često se u citoplazmi vide prazni, nebojeni prostori, tzv. vakuole.

Jezgra je velika, bubrežastog ili nepravilnog oblika, intenzivno ružičasto obojena. Kromatin je u obliku finih niti, mrežaste strukture srednje gustoće. Jezgra je obično smještena više prema periferiji stanice. Nema nukleole.

Normalna vrijednost monocita iznosi 2 – 12 % (0.02 – 0.12). Povišen udio monocita zove se *monocitoza*, javlja se kod kroničnih reumatskih bolesti, artritisa, kroničnih upala pluća, nekih leukemija...



Plazma stanica +

Veličine 12 – 15 μm , okruglog ili ovalnog oblika.

Citoplazma je obilna, tamnoplave boje poput indiga posebno na rubovima stanice, uz jezgru nešto svjetlije plava. Ponekad se u citoplazmi vide vakuole.

Jezgra je ekscentrično položena, okrugla ili ovalna. Kromatin je složen u guste nakupine, međusobno odijeljene svjetlijim zonama, poput žbica na kotaču.

Može se naći u perifernoj krvi od 0 – 1 % (0.00 – 0.01).

Povišena vrijednost plazma stanica nalazi se kod raznih infektivnih bolesti (*rubeola*).



RETIKULOCITI

→ Zelene nalaze se u citoplazmi,

Retikulociti su mladi eritrociti koji se stvaraju u koštanoj srži. Nastaju iz acidofilnog eritroblasta koji gubi jezgru i postaje retikulocit.

To je nezreli eritrocit, malo veći od zrelog. Najmlađa je stanica u razvoju eritrocita koja se može naći u perifernoj krvi.

Normalno se u odrasle, zdrave osobe može naći $22 - 97 \times 10^9/L$ retikulocita, odnosno od **5 – 22 retikulocita na 1000 eritrocita**.

Povišen broj retikulocita ukazuje na ubrzanu eritropoezu (stvaranje eritrocita), npr. kod raznih krvarenja ili liječenja anemija preparatima željeza (sideropenična anemija) i vitaminom B₁₂ (megaloblastična anemija). Svi pacijenti ne reagiraju jednako na terapiju, tj. na željezo i vitamin B₁₂, te je potrebno pratiti da li je terapija uspješna ili nije. Ako je terapija uspješna, eritropoeza će biti ubrzana i broj retikulocita će se postupno povećavati. U takvom slučaju, retikulociti su obično 7. – 8. dan od početka uzimanja terapije viši od normalnih vrijednosti, a 12. dan dostižu vrhunac, tzv. retikulocitnu krizu. Tada je njihov broj u perifernoj krvi od 100 – 200 na 1000 E. Nakon te krize, postepeno padaju i vraćaju se u okvir normalnih vrijednosti.

Sniženi broj retikulocita u perifernoj krvi ukazuje na usporenu eritropoezu, što ukazuje na smanjenu aktivnost koštane srži.

U citoplazmi retikulocita nalaze se ostaci ribonukleinske kiseline iz jezgre u obliku tzv. **granulofilamentozne supstance ili retikulofilamentozne mrežice**. To se vidi kao sitna zrnca raspršena po citoplazmi kojih mora biti 4 i više ili kao tanka mrežica preko citoplazme.

Standardnim bojenjem krvnog razmaza po Pappenheimu retikulociti se ne razlikuju od eritrocita. Stoga, da bi se odredio broj retikulocita u perifernoj krvi, potrebno je napraviti posebno obojen krvni razmaz. To se postiže vitalnim bojenjem stanica krvi. Zove se vitalno bojenje, jer se boja veže samo na žive, nefiksirane stanice, iako ni to nije sasvim točno, jer je stanica živa samo do kontakta s reagensom. Boja koja se koristi zove se **briljantkrezil modrilo**. Eritrociti se pri ovom bojanju oboje zelenkasto, kao i retikulociti, ali se razlikuju po tome što se retikulofilamentozna mrežica u retikulocita oboji tamnoplavo.

Da bi se izbrojao točan broj retikulocita na 1000 E, potrebno je pripremiti tzv. zastorne pločice koje se stavljaju u okular mikroskopa. Iz papira se izreže krug veličine promjera okulara i u njemu se izreže mali kvadratić veličine oko 3 x 3 mm. Ta zastorna pločica stavi se u okular mikroskopa, te se na taj način dobije smanjeno vidno polje u kojem ima oko 25 E. Potrebno je izbrojiti retikulocite u 40 takvih smanjenih vidnih polja (25 E x 40 v.p. = 1000 E).

Za analizu se uzima venska krv uzeta sa K₃EDTA ili kapilarna krv.

Priprema otopine za bojenje:

1. briljantkrezil modrilo 1 g
2. natrijev-citrat.....0.4 g
3. 9 g/L otopine NaCl.....do 100 mL

Obično je boja već tvornički pripremljena.

Postupak: U epruvetu se stavi **1 kap briljantkrezil modrila i 3 kapi krvi.** Sadržaj se promiješa i stoji 30 – 45 min. na sobnoj temp. ili 15 – 20 min. u vodenoj kupelji na 37°C. Tada se na čistom predmetnom staklu napravi razmaz iz obojane krvi. Preparat se osuši na zraku i mikroskopira sa imerzijskim objektivom uz smanjeno vidno polje.

Potrebno je izbrojati sve retikulocite u 40 vidnih polja u kojima je po 25 E. Ukupni dobiveni izbrojani broj retikulocita predstavlja broj retikulocita na 1000 E.

Primjer tablice za brojenje retikulocita:

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
2	0	0	0	1	0	0	0	0	1
0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Broj retikulocita na 1000 E : 9

TROMBOCITI

Trombociti su krvne pločice koje nastaju u koštanoj srži raspadanjem citoplazme megakariocita. Procjenjuje se da jedan megakariocit daje između 2000 i 7000 trombocita. Osnovna funkcija trombocita je sudjelovanje u hemostazi. Trombocit ima promjer 2-3 μm . Okruglastog je ili ovalnog, prilično nepravilnog oblika. Kod trombocita obojenog po Pappenheimu, morfološki se razlikuju 2 zone:

1. središnji dio trombocita kojeg čine oko 15 crvenkastih ili crveno plavkastih (ljubičastih) granula – granulomer
2. periferni dio trombocita kojeg čini homogena, nebojena ili lagano bazofilna osnova – hijalomer.

Broj trombocita kod zdravih, odraslih osoba iznosi **158 – 424 x 10⁹/L.**

Broj trombocita određuje se često **indirektnom metodom po Foniu.**

Tom metodom trombociti se broje u obojenim preparatima razmaza kapilarne krvi koja je dobivena ubodom lancetom u jagodicu prsta, na koju je prethodno

stavljena 1 kap 14%-tne otopine magnezij-sulfata ($MgSO_4$) koja sprečava sljepljivanje trombocita.

Postupak: Jagodica prsta se dezinficira. Staklenim štapićem stavi se na jagodicu 1 kap 14%-tne $MgSO_4$. Kroz tu kap načini se ubod lancetom. Kap krvi koja je prodrla u kap otopine $MgSO_4$, izmiješa se uglom brušenog predmetnog stakla. Plohom predmetnog stakla dotakne se kapljica izmješana krvi, te se tako prenese na staklo. Načini se tanak razmaz. Preparat se dobro osuši na zraku i boji se po Pappenheimu s tim da otopina Giemse stoji duže na preparatu (45 – 50 minuta) da bi se trombociti bolje obojili. Preparat se tada osuši i pod imerzijskim povećanjem i uz smanjeno vidno polje **broje se trombociti na 1000 eritrocita** (postupak opisan kod retikulocita).

Obzirom da se trombociti ne izražavaju na 1000 eritrocita kao retikulociti, potrebno je preračunati koliko ih točno ima. Da bi se to moglo, potrebno je znati točan broj eritrocita.

Trombociti se tada računaju iz razmjera:

$$1000 E \times \text{izbrojani Tr} = E \times 10^{12}/L \times \text{broj Tr} \times 10^9/L$$

Primjer: izbrojani Tr : 80
broj E : $4.0 \times 10^{12}/L$ ($4000.0 \times 10^9/L$)

$$1000 E \times 80 = 4.0 \times 10^{12}/L \times \text{broj Tr} \times 10^9/L$$

$$\text{broj Tr} \times 10^9/L = \frac{80 \times 4000 \times 10^9/L}{1000} = \frac{320000}{1000} = 320 \times 10^9/L$$

Snižena brojčana koncentracija trombocita zove se **trombocitopenija**. Iako je donja granica referentnih vrijednosti $158 \times 10^9/L$, klinički znaci se ispoljavaju kod pada vrijednosti ispod $40 \times 10^9/L$. Kod vrijednosti ispod $10 \times 10^9/L$, eventualno krvarenje može postati opasno po život. Trombocitopenija nastaje zbog nedovoljnog stvaranja trombocita u koštanoj srži ili zbog pojačane razgradnje u cirkulaciji. Prosječno trombociti žive u cirkulaciji 7 – 12 dana.

Trombocitoza je povišeni broj trombocita u krvi.

Trombopatija je promjena u funkciji trombocita.

VRIJEME KRVARENJA I VRIJEME ZGRUŠAVANJA

VK VZ

VK i VZ su pretrage koje se ubrajaju u pretrage hemostaze (kao i broj Tr). Vrijeme krvarenja označava koliko dugo krvari razrezana površina kože bez sudjelovanja vanjskih faktora.

Vrijeme zgrušavanja je vrijeme koje je potrebno da se krv zgruša in vitro pri točno određenim uvjetima.

VK se radi metodom po Duke-u.

Pribor: sterilne lancete, benzin, alkohol, vata, filter- papir ili staničevina narezana u manje kvadrate, zaporna ura (štoperica)

Postupak: Jagodica prsta ili resica uha se očisti benzinom, dezinficira alkoholom i eterom i pričeka se oko 1 minutu da se dobro osuši. Tada se brzim pokretom načini ubod lancetom dubine oko 3 mm. U trenutku kada se pojavi 1. kap krvi, a to je neposredno iza uboda, uključi se štoperica. Svakih 5 – 30 sekundi pomoću filter papira ili staničevine pokupi se krv, ali se pri tom ne smije dotaknuti mjesto uboda. Cijelo vrijeme izvođenja testa, promatra se ubodno mjesto i gleda se do kada će krv spontano navirati. Onog trenutka kada krv prestane teći, tj. kada na filter papiru ili staničevini više ne bude tragova krvi, pogleda se na štopericu i zabilježi vrijeme. To je vrijeme koje označava koliko dugo je krvarilo ubodno mjesto bez ikakvih vanjskih utjecaja.

Ovo je metoda koja je podložna utjecaju mnogih subjektivnih i vanjskih faktora i u zadnje vrijeme ju zamjenjuju puno točnije i preciznije metode.

Faktori koji mogu utjecati na rezultat su npr.: dubina uboda lancetom, debljina kože pacijenta, pritisak pacijentovog prsta, doticanje ubodne rane filterom ili staničevinom, ubod lancete direktno u kapilaru, subjektivno procjenjivanje prestanka krvarenja... Sve ove mogućnosti produžuju vrijeme krvarenja, te se ta metoda koristi samo povremeno.

Normalne vrijednosti za vrijeme krvarenja su od **1 – 4 minute** (60 – 240 sekundi).

Produženo vrijeme krvarenja ukazuje na poremećaje u tijeku primarne hemostaze, tj. prilikom adhezije i agregacije trombocita i stvaranja primarnog trombocitnog čepa.

VZ se radi na dva načina: a) iz kapilarne krvi metodom po Būrkeru
b) iz venske krvi metodom po Lee – White-u

Metoda po Būrkeru

Pribor: sterilna lanceta, alkohol, vata, Petrijeva zdjelica, satno staklo, parafinsko ulje, filter papir, zaporna ura (štoperica).

Postupak: Prije samog pristupanja testu, potrebno je prirediti pribor. Petrijeva zdjelica služi kao vlažna komora. Zato se u nju, na dno stavi navlaženi filter papir. Na taj filter papir stavi se satno staklo koje je u tankom sloju premazano parafinskim uljem. Petrijevka se poklopi i spremna je za uporabu.

Pacijentu se dezinficira prst, te se ubode lancetom. Laganim pritiskom prsta pacijentu se na satno staklo istisnu 2 – 3 kapi krvi i odmah se uključi štoperica. Petrijevka se poklopi. Svakih 30-ak sekundi naginjanjem satnog stakla provjerava se da li je nastao ugrušak. Dok god se kapljica krvi kreće, znači da se nije zgrušala. Onog trenutka kada prestane kliziti po satnom staklu, nastupilo je zgrušavanje, pogleda se na štopericu i očita se vrijeme potrebno da se krv zgruša in vitro.

Normalne vrijednosti za vrijeme zgrušavanja ovom metodom su **6 – 12 minuta** (300 – 720 sekundi).

Ova metoda je dosta brza, ali postoji velik broj mogućih pogrešaka: satno staklo ne smije biti oštećeno, parafinsko ulje mora biti čisti i nanaseno u vrlo tankom sloju, vanjska temperatura je varijabilna, već stvoreni krvni ugrušak, ako se ne uoči na vrijeme, može se naginjanjem satnog stakla, raspasti, čime se dobiju lažno visoke vrijednosti.

Zato se preporuča raditi vrijeme zgrušavanja venske krvi metodom po Lee - White-u.

Metoda po Lee – White-u

Pribor: 3 iste epruvete, pribor za vađenje krvi u štrcaljku, stalak za epruvete, zaporna ura.

Postupak: Pacijentu se izvadi oko 4 mL venske krvi u štrcaljku i odmah se uključi štoperica. Po 1 mL krvi stavlja se u sve tri epruvete, te se one stave u kupelj na 37°C. Svakih 30 sekundi izvadi se iz kupelji prva epruveta, naginje pod 45° i provjerava se da li se krv zgrušala. Kad se krv zgruša u 1. epruveti, promatra se epruveta broj 2 do zgrušavanja, a zatim epruveta broj 3. Kada se krv zgrušala i u 3. epruveti, zabilježi se vrijeme sa štoperice.

Normalne vrijednosti za ovu metodu su 8 – 12 minuta.

POREMEĆAJI MORFOLOGIJE ERITROCITA

U prepratima krvi obojanim po Pappenheimu, eritrociti su okrugle, bikonkavne pločice, tj. stanice bez jezgre, promjera 7-8 μm (7.5-7.7 μm) ružičasto do crveno obojeni sa središnjom svjetlije obojanom zonom.

Normalni volumen eritrocita (MCV) iznosi 83.0-97.2 fL.

Usljed različitih vanjskih ili unutaršnjih čimbenika, eritrociti mogu promijeniti svoj izgled (veličinu, obojenost i oblik).

Promjene veličine eritrocita

Razlikujemo: **mikrocit** → promjer < 6 μm , MCV < 85 fL, bikonkavni

~~normocit~~ → -II- 7-8 μm , MCV 83.0-97.2 fL → normalni Erc

~~makrocit~~ → -II- 9-10 μm , MCV > 95 fL, bikonkavni

Pojava da se u jednom krvnom razmazu nađu eritrociti različite veličine zove se anizocitoza.

Promjene obojenosti eritrocita

Razlikujemo: **hipokromni** → svjetliji, blijedi zbog manjka Hb, normalnog promjera – anulociti

~~normokromni~~ → zdravi, normalni Erc

~~hiperkromni~~ → jače obojeni zbog debljine (nisu bikonkavni), normalnog promjera

Pojava da se u jednom krvnom razmazu nađu različito obojeni eritrociti zove se anizokromija.

Pojava da se u razmazu nađu plavkasto obojeni eritrociti zove se polikromazija.

Promjene oblika eritrocita

+ **Target stanica** je Erc u obliku mete. Hb se nalazi na rubnom i u središnjem dijelu stanice, a između se nalazi svjetlija zona.

Često kod sideropenične anemije.

+ **Sferocit** je mikrocit bez središnje svjetlije zone, pa izgleda poput kuglice ili loptice. Često kod hemolitičke anemije.

+ **Ovalocit ili eliptocit** je bikonkavni Erc ovalnog oblika.

Akantocit je Erc na čijoj se površini nalazi 5-10 izdanaka, pa izgleda poput buzdovana.



Ehinocit je Erc sa 10-30 kraćih izdanaka po površini koji su jednake veličine, pa podsjeća na čičak.

Megalocit je makrocit (10-12 μm), $\text{MCV} > 100 \text{ fL}$, bez središnje, svjetlije zone.

Stomatocit je Erc kod kojeg je središnja svjetlija zona u obliku usana.

Drepanocit je srpasti Erc. Javlja se zbog poremećaja u stvaranju Hb.

Dakrocit je Erc u obliku suze.

Shizocit je krhotina Erc nastala njegovim raspadanjem u cirkulaciji. Različitog su i nepravilnog oblika.

Rouleaux formacije eritrocita su veće ili manje nakupine eritrocita složenih poput niza kovanica.

Ostaci jezgre u eritrocita

1. Howell-Jollyjeva tjelešca su ostaci jezgre eritrocita. Izgledaju kao okrugle, tamnoljubičaste, homogene tvorbe smještene uz rub stanice.
2. Cabotovi prstenovi su eritrociti u kojima se mogu naći ostaci jezgrine membrane. To su plavkaste niti u obliku prstena, osmice ili zavojnice. Obojeni su crvenoljubičasto. Mogu biti smješteni centralno ili periferno.
3. Nuklearna prašina u eritrocitima predstavlja ostatke raskomadane jezgre. Slična je bazofilnim granulama u leukocita. Izgleda poput sitnih, plavkastocrvenih zrnaca obično smještenih periferno.

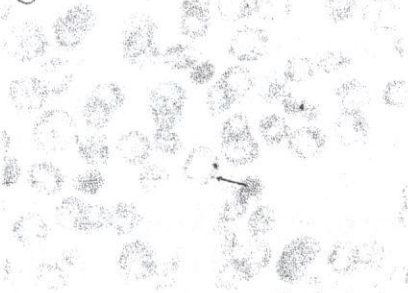
1. Howell- Jolly tjelešca



2. Cabotov prsten

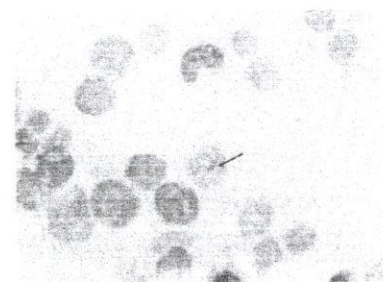
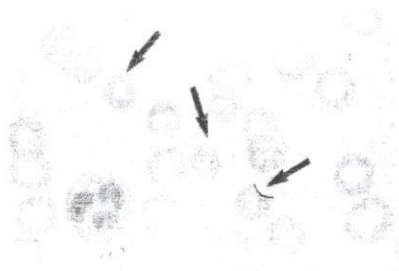
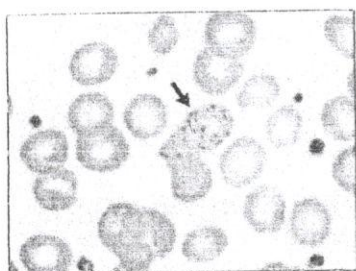


3. Nuklearna prašina u Erc



Prisutnost inkluzija u eritrocita

1. Bazofilno punktirani eritrociti sadrže 10-20 plavo obojenih granula. Obično su veći nego normalni eritrociti.
2. Heinz-Erlichova tjelešca nastaju taloženjem hemoglobina unutar eritrocita. Mogu biti okrugla, ovalna ili nepravilna oblika. Mogu se vidjeti vitalnim bojenjem acetil-fenil-hidrazinom.
3. Siderociti su eritrociti koji sadrže zrnca željeza. Bojenjem berlinskim modrilom vide se kao tamnoplava zrnca unutar eritrocita.
4. Parazit uzročnik bolesti malarije (*Plasmodium*) živi unutar eritrocita u nekoliko različitih faza.



1. bazofilna punktacija Erc

2. Heinz- Erlichova tjelešca

3. siderociti

4. Plasmodij
malarije

ANEMIJE

Anemije su stanja sa smanjenim brojem eritrocita i/ili sniženom koncentracijom hemoglobina.

Podjela:

1. morfološka – makrocitne, mikrocitne i normocitne
2. patofiziološka – deficitarne, hemolitičke, anemije zbog insuficijencije koštane srži i dishemopoetične
3. prema patogenezi - hipoproliferacijske, hemolitičke i zbog poremećaja u sazrijevanju

Sideropenična anemija

- najčešći oblik anemije
- mikrocitna, deficitarna anemija
- nedostatak željeza (nedovoljan unos, otežana apsorpcija, povećane potrebe, kronično krvarenje)

- razvoj postupan – u 3 faze:

1. latentna sideropenija (željezo se troši iz rezervi) : normalna krvna slika i serumsko željezo; povišeni UIBC; snižen feritin
2. manifestna sideropenija (potrošeni svi depoi željeza, te se ono počinje snižavati i u serumu) : normalna krvna slika, nizak feritin, sniženo serumsko željezo, povišeni UIBC
3. sideropenična anemija (manjak željeza manifestira se u smanjenoj sintezi hemoglobina); sniženo: E, Hgb, Htc, MCV, MCH, Fe, feritin, pojava anulocita, hipokromija, anizocitoza, poikilocitoza

Liječenje se provodi davanjem željeza. Uspjeh terapije prati se vrijednošću retikulocita, koji su pri uspješnoj terapiji povišeni (preko 40-50/1000 E).

Megaloblastična anemija

- makrocitna, deficitarna anemija
 - prisutnost megalocita (u težim slučajevima i megaloblasta) u krvi zbog nedostatka vitamina B₁₂ i/ili folne kiseline (B₉)
 - vitamin B₁₂ i folna kiselina zajedno omogućuju sintezu DNK. U nedostatku bilo kojeg od ova dva vitamina, smanjit će se sinteza DNK (u jezgri), dok će sinteza RNK (u citoplazmi) biti nepromijenjena. Zato će kasniti sazrijevanje jezgre u odnosu na citoplazmu i umjesto normoblastičnog reda (eritrocitopoeze) javlja se megaloblastični red. Sve stanice megaloblastičnog reda su veće od odgovarajućih normoblastičnih stanica. Često ovakve stanice propadaju prije sazrijevanja.
- dvije najčešće podvrste megaloblastične anemije:
2. perniciozna anemija
 3. nutritivna anemija

Perniciozna anemija

- nedostatak inutrašnjeg faktora (protein kojeg luči sluznica želuca i bez kojeg se vitamin B₁₂ ne može apsorbirati u krv)
- dijagnostički test za ovu anemiju je tzv. Schillingov test, kojim se mjeri izlučivanje izotopom obilježenog B₁₂, putem urina
- postupak: pacijentu se najprije daje da popije točno određenu količinu obilježenog B₁₂. Ako pacijent nema unutrašnjeg faktora, neće biti resorpcije, pa niti izlučivanja tog popijenog B₁₂. Zatim se pacijentu daje da popije opet B₁₂ uz dodatak unutrašnjeg faktora. Ako pacijent ovog puta izlučuje B₁₂, znači da ima pernicioznu anemiju.

Nutritivna anemija

- nedostatak folne kiseline zbog nedovoljnog unosa hranom (jednolična ishrana siromašna zelenim lisnatim povrćem, citrusnim voćem, mesom...) ili zbog oštećene jetre u kojoj se deponira folna kiselina (posebno kod alkoholičara jer alkohol ujedno ometa metabolizam folata)
- deficit folne kiseline može se dokazati testom FIGLU.

FormIminoGLUtaminska kiselina je međuprodukt razgradnje histidina do glutaminske kiseline u kojem sudjeluje folna kiselina. Ako postoji manjak folne kiseline u organizmu, FIGLU će se izlučivati urinom. Kod zdravih ljudi, FIGLU dalje sudjeluje u metabolizmu i ne luči se urinom.

Laboratorijski nalazi kod megaloblastičnih anemija:

E, Hgb, Rtc, UIBC, Trc, – sniženi

Fe - normalno (povišeno)

MCV, MCH, bilirubin – povišen

MCHC – normalna

Krvni razmaz: megalociti, E sa Howell-Jollyevim tjelešcima, poikilocitoza, anizocitoza, hipersegmentirane jezgre neutrofilnih granulocita

Hemolitičke anemije

- javljaju se zbog skraćenog života Erc (prosječan život Erc je 120 dana)

- 2 faze:

1. hemolitička bolest: koštana srž je sposobna nadoknaditi pojačan gubitak Erc. Krvna slika normalna, povišeni Rtc.

2. hemolitička anemija: javlja se kad se život Erc skрати ispod 15 dana i tada koštana srž više ne može nadoknaditi sav gubitak Erc, te se razvija anemija.

- uzroci skraćenog života Erc mogu biti:

1. u samom Erc - **endogene** hemolitičke anemije (nasljedne) ili

2. zbog prisutnosti određenih tvari u plazmi koje izazivaju hemolizu zdravih Erc - **egzogene** hemolitičke anemije (stečene).

- u endogene hemolitičke anemije ubrajaju se:

- membranopatije – promjene na membrani Erc:
 - nasljedna sferocitoza
 - nasljedna eliptocitoza (ovalocitoza)
 - akantocitoza

- hemoglobinopatije – promjene u sintezi hemoglobina:
 - talasemije
 - hemoglobinske varijante
- enzimopatije – djelomični ili potpuni nedostatak nekih enzima što dovodi do oštećenja Erc
- egzogene anemije mogu biti:
 - imune – uzrokovane reakcijom Ag-At:
 - At stvorena na vlastite Erc → autoimuna hemolitička bolest
 - At stvorena protiv Erc druge osobe → izoimuna hemolitička bolest
 - neimune – različiti uzroci:
 - fizikalni: opekline, fizički napori, umjetni srčani zalisci...
 - kemijski: teški metali (olovo, živa, klorati, benzen, neki lijekovi)
 - biološki: otrovi gljiva, zmija i pauka, infekcije parazitima (malaria) ili bakterijama (streptokoki, stafilocoki, salmonele, ešerihije)

Laboratorijski nalazi kod hemolitičkih anemija:

Erc, Hgb – sniženi

Rtc – povišeni

Krvni razmaz: nepromijenjeni Erc ili promijenjeni ovisno o vrsti anemije:

sferocitoza – većina sferociti

eliptocitoza – većina eliptociti

akantocitoza – većina akantociti

talasemije – anizocitoza, poikilocitoza, dosta mikrocita

hgb varijante - drepanociti, target stanice, anizocitoza, često eritroblasti

ERITROCITOZE

To su stanja povišenog broja Erc u perifernoj krvi. Obično je povećan i Hgb i Htc.

Razlikujemo primarnu i sekundarnu eritrocitozu.

Kod primarne, dolazi do promjena u pluripotentnoj matičnoj stanici, što dovodi do nekontroliranog stvaranja Erc, a u manjoj mjeri i granulocita i Tr. Bolest se zove policitemija rubra vera. Ovdje su povišeni: broj Erc, Hgb, Htc, Tr, L, bazofili u DKS.

Sekundarne se dijele na relativnu i apsolutnu.

Relativna ili prividna nastaje nakon opekline, proljeva, povraćanja zbog smanjene količine plazme, pa u tom trenutku osoba ima povećani broj Erc u odnosu na taj smanjeni volumen plazme. U krvi su povišene brojčane konc. Erc i konc. Hgb, ali ukupna masa Erc i Hgb je u granicama normalnih vrijednosti.

Apsolutna ili stvarna eritrocitoza nastaje:

1. zbog smanjenog zasićenja arterijske krvi kisikom (hipoksija), jer parcijalni tlak kisika regulira eritrocitopoezu: smanjeni kisik → povećana eritrocitopoeza (npr. kod ljudi koji žive na visokoj nadmorskoj visini).
2. zbog povećanog stvaranja eritropoetina. Eritropoetin se stvara većim dijelom u bubrezima (90%) i ostatak u jetri. To je hormon koji direktno stimulira eritrocitopoezu. Kod ove eritrocitoze povećana je ukupna masa Erc i povišen je eritropoetin.

MORFOLOŠKE PROMJENE LEUKOCITA

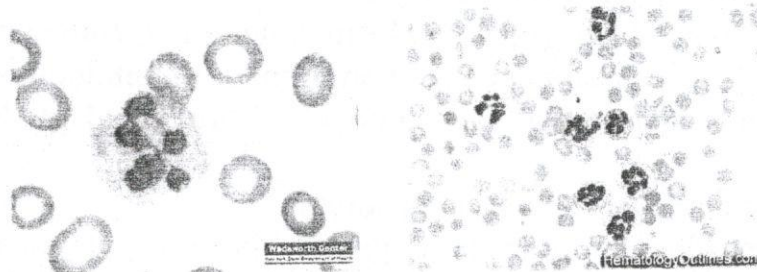
Razlikujemo promjene koje zahvaćaju jezgru i one koje zahvaćaju citoplazmu.

Promjene jezgre:

- Pelger-Huetova anomalija: izostanak segmentiranja jezgre kod neutrofilnih granulocita. Jezgre su okrugle ili izdužene ili imaju samo po 2 segmenta. Nasljedna, bezazlena.
- Pseudo Pelger-Huetova anomalija: ista morfologija, samo je stečena zbog raznih stanja ili bolesti.

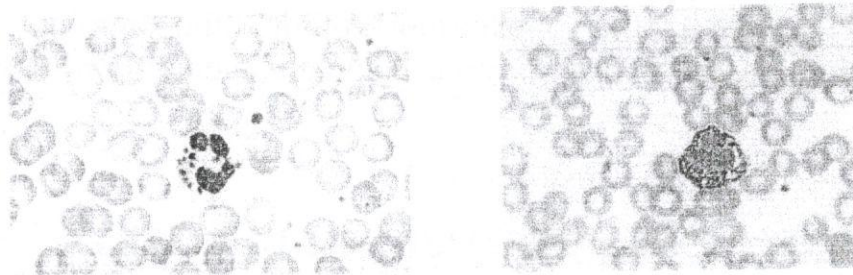


- Hipersegmentacija jezgre neutrofilnih granulocita: 1 stanica sa 6 segmenata ili 3 stanice sa po 5 segmenata jezgre. Može biti nasljedna ili stečena prilikom raznih bolesti.

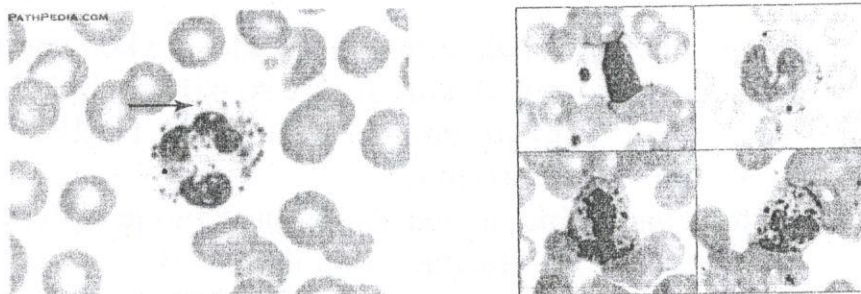


Promjene citoplazme:

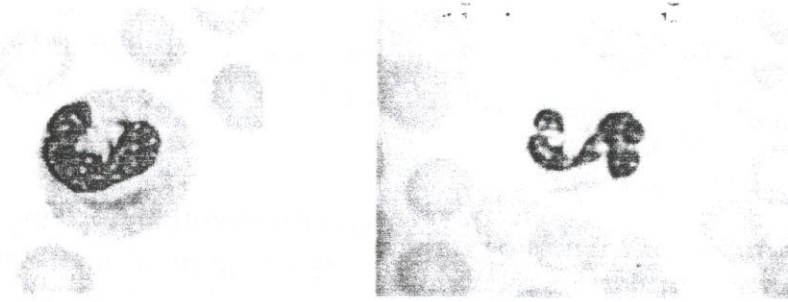
- Alderova anomalija: velike, ljubičasto-crvene granule; bezazlena, nasljedna



- Chediak-Higashijeva anomalija: velike, nepravilne, tamne granule; nasljedna, smanjena sposobnost fagocitoze



- May-Hegglinova anomalija: svijetloplavi štapići u citoplazmi; nasljedna

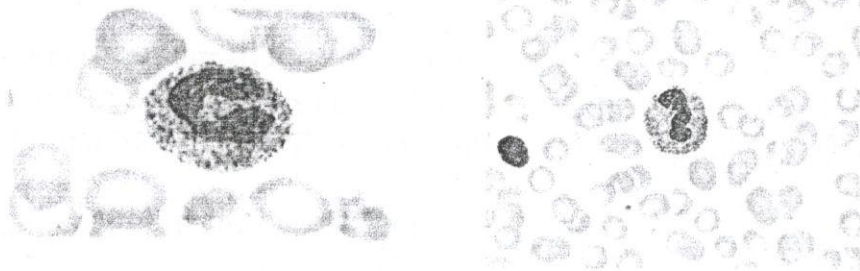


- Dohleova tjelešca: svijetloplave okrugle ili ovalne tvorbe, smještene uz rub citoplazme; kod infekcija, opekлина, liječenja citostaticima

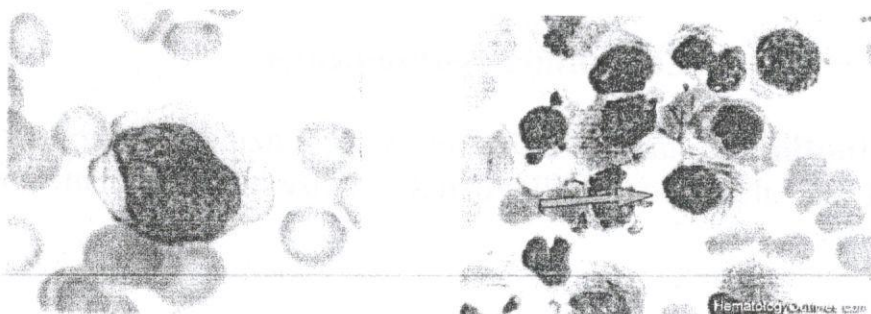


- Toksične granule: tamne granule u neutrofila, stečena zbog teških infekcija

Toxic Granulation/Neutrophil



- Auerovi štapići: crvenkasti štapići kod akutne mijeloične leukemije



KVANTITATIVNE PROMJENE LEUKOCITA

To su promjene u brojčanoj koncentraciji leukocita ili pojedinih vrsta leukocita. Normalan broj L za zdrave, odrasle osobe je od $3,4-9,7 \times 10^9/L$.

$L > 9,7 \times 10^9/L \rightarrow$ leukocitoza

$L < 3,4 \times 10^9/L \rightarrow$ leukopenija

Sam broj L ne upućuje na uzrok koji je doveo do eventualne promjene. Zato se radi DKS, po čemu se može prepoznati koja vrsta L je povišena ili snižena.

Razlikujemo apsolutne i relativne promjene broja L. Apsolutni broj označava stvarnu koncentraciju L u krvi, a relativni broj označava promjenu u udjelu pojedine vrste L u DKS.

Neutrofilija – neutropenija

Apsolutna **neutrofilija**: porast brojčane konc. neutrofilnih granulocita iznad $7,5 \times 10^9/L$. Relativna neutrofilija: porast udjela neutrofilnih granulocita u DKS iznad 0,72.

Neutrofilija je posljedica poremećene ravnoteže između stvaranja neutrofilnih granulocita u koštanoj srži, njihovog boravka u pojedinim sustavima, te njihove razgradnje.

Javlja se kod: bakterijskih infekcija, malignih bolesti, raznih upala i nekroza tkiva, poremećaja metabolizma, tijekom terapije nekim lijekovima ili hormonima, kod trovanja, nakon fizičkih napora, u trudnoći...

Apsolutna **neutropenija**: snižena brojčana konc. neutrofilnih granulocita ispod $1,5 \times 10^9/L$. Stanje kada brojčana konc. neutrofilnih granulocita padne ispod $0,2 \times 10^9/L$ zove se **agranulocitoza**.

Do neutropenije dolazi kada se neutrofilni granulociti manje stvaraju u koštanoj srži, kada granulocitopoeza nije efektivna ili kada se pojačano raspadaju u krvi. Najveća opasnost kod neutropenija je pojačana sklonost infekcijama jer je smanjena obrana organizma.

Javlja se kod: virusnih infekcija, nekih bakterijskih bolesti (TBC), nedostatka vitamina B₁₂ ili folne kiseline, korištenja nekih lijekova...

Pojava zvana „**skretanje u lijevo**“ označava povišen broj nesegmentiranih neutrofilnih granulocita. Javlja se kod jakih bakterijskih infekcija (trbušni tifus).

Eozinofilija - eozinopenija

Apsolutna **eozinofilija** je stanje s brojčanom konc. eozinofilnih granulocita iznad $0,4 \times 10^9/L$. Relativna eozinofilija označava više od 0,07 eozinofilnih granulocita u DKS.

Javlja se kod: alergijskih bolesti (astma, peludna groznica, alergije na lijekove, hranu...), infekcija parazitima (amebe, trakavice, trihinelā), kožnih bolesti (psorijaza)...

Eozinopenija je stanje sniženog broja eozinofilnih granulocita, tj. potpuni izostanak ovih stanica u krvi. To su rijetka stanja, obično se jave zbog nekih hormonskih poremećaja.

Bazofilija – bazopenija (bazocitopenija, bazofilopenija)

Bazofilija je stanje sa povećanim brojem bazofilnih granulocita iznad $0,06 \times 10^9/L$, tj. 0,01 (1%) u DKS.

Javlja se kod mijeloproliferativnih bolesti (policitemia rubra vera), infektivnih bolesti (virusi), te kod kroničnih granulocitnih leukemija.

Bazopenija je stanje smanjenog stvaranja bazofila (manje od $0,01 \times 10^9/L$) ili potpunog prestanka stvaranja bazofila. Obzirom da su normalne vrijednosti niske, za dijagnostiku se koristi metoda protočne citometrije. Takav poremećaj se javlja u stanjima sa povećanim koncentracijama glukokortikoida (urtikarija) koji sprečavaju nastanak ovih stanica.

Monocitoza – monocitopenija

Apsolutna monocitoza je stanje s brojčanom konc. monocita većom od $0,84 \times 10^9/L$, a relativna sa brojem monocita većim od 0,12 u DKS.

Javlja se kod bakterijskih infekcija (trbušni tifus, sifilis, TBC), infekcija protozoama, malignih tumora...

Monocitopenija je stanje sa smanjenom brojčanom konc. monocita ispod $0,12 \times 10^9/L$, tj. ispod 0,02 u DKS.

Klinički je značajna monocitopenija kod pacijenata na dugotrajnoj terapiji kortikosteroidima.

Limfocitoza – limfopenija

Limfocitoza je stanje povećanog broja limfocita iznad $4,0 \times 10^9/L$ ili više od 0,46 u DKS. Fiziološka, normalna limfocitoza prisutna je kod djece.

Javlja se kod akutnih virusnih infekcija, kroničnih bakterijskih infekcija (TBC, hripavac), infekcija nekim parazitima (toksoplazmoza), reumatoidnog artritisa, limfatičkih leukemija...

Limfopenija je stanje smanjenog broja limfocita nižeg od $1,0 \times 10^9/L$ ili ispod 0,20 u DKS.

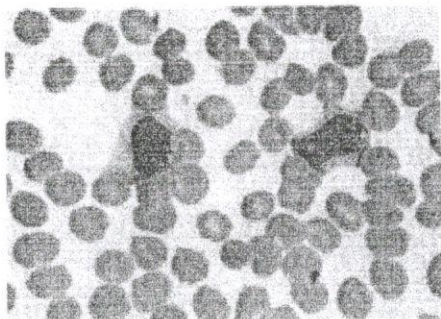
Javlja se kod imunodeficientnih bolesti (AIDS), terapije citostaticima, glukokortikoidima ili ionizantnim zračenjem, aplastične anemije, Hodginoe bolesti, sarkoidoze...

Promjena limfocita kod infekciozne mononukleoze

Infekciozna mononukleoza je akutna, zarazna bolest uzrokovana Epstein-Barrovim virusom. Klinička slika je u početku općenita: povišena temp., glavobolje, bolno grlo, slijedi: oteknuće limfnih čvorova, slezena je povećana i tvrda na dodir.

U početku bolesti izražena je leukocitoza (i do $50 \times 10^9/L$) i karakteristične promjene u DKS. Povećava se broj limfocita, koji može biti više od 70 %, te se javljaju tzv. atipični ili reaktivni limfociti. Oni su posljedica vezanja EBV na površinu limfocita.

To su velike stanice (do 30 μm), različitog oblika. Jezgra je relativno velika, može biti okrugla, eliptična, rascijepljena, rahlog kromatina. Ponekad se može vidjeti i jezgrica. Citoplazma je obilna, siva, svjetlije ili tamnije plava. U citoplazmi se mogu vidjeti vakuole, pa takva stanica poprima čipkast izgled. Osim vakuola, ponekad su jasno izražene azurofilne granule.



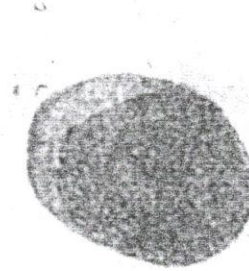
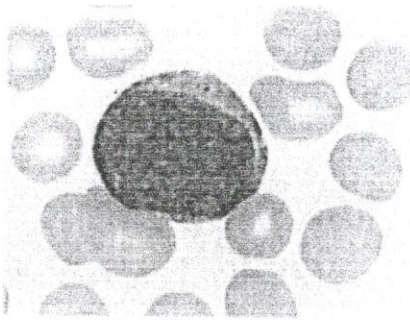
Te stanice su karakteristične, ali nisu specifične za infekcioznu mononukleozu. Mogu se naći i kod nekih drugih virusnih bolesti, npr. (rubeole, hepatitisa C), bakterijskih bolesti (hripavca, sifilisa) ili parazitoza (toksoplazmoza).

U kasnijem tijeku bolesti, atipični limfociti nestaju, ali ih nadomještaju novi, zreli limfociti, tako da i dalje postoji izražena limfocitoza, koja može potrajati i nekoliko mjeseci.

RAZVOJNI OBlici GRANULOCITA

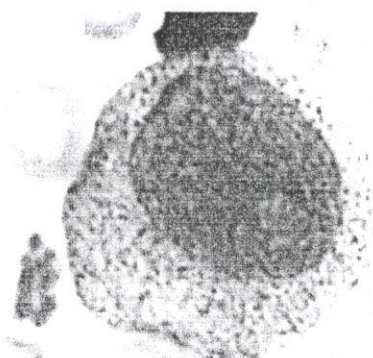
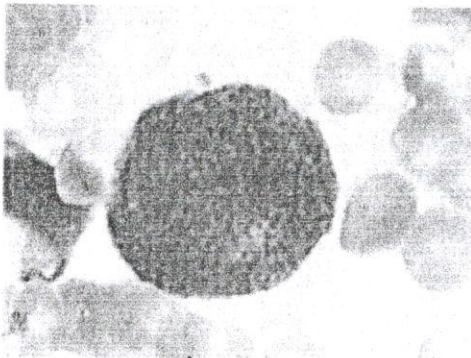
MIJELOBLAST

To je prva morfološki prepoznatljiva stanica granulocitne loze. Okruglog je oblika, veličine 12-20 μm . Citoplazma je svijetlo ljubičasta, bez granula, zauzima manji dio stanice. Jezgra je ovalna, zauzima veći dio stanice, finog kromatina.



PROMIJELOCIT

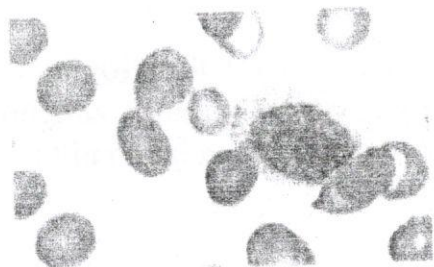
Velika stanica, veća od mijeloblasta, promjera 20-25 μm , ovalnog ili okruglog oblika. Citoplazma je obilnija, sadrži granule, bazofilnije, ljubičaste boje. Jezgra je velika, ovalna ili okrugla, ekscentrično položena, ulegnuta na jednom kraju i nešto grubljeg kromatina.



MIJELOCIT

Stanica manja od promijelocita, promjera 14-20 μm , ovalnog ili okruglog oblika. Citoplazma je ružičaste boje, a prema sadržaju karakterističnih granula u citoplazmi, razlikuje se neutrofilni, eozinofilni i bazofilni mijelocit. Jezgra je

ovalna ili malo bubrežasta, ekscentrično položena, grubljeg kromatina, zauzima više od pola stanice.



METAMIJELOCIT

Stanica okruglog ili ovalnog oblika, manja od mijelocita, promjera 12-18 μm . Ova stanica sazrijeva u nesegmentiranog granulocita. Citoplzma je ružičasta, sa brojnim, odgovarajućim zrcima (neutrofilnim, eozinofilnim i bazofilnim). Jezgra ima bubrežast oblik, ekscentrično je smještena, kromatin je zgusnut u veće grudice.

