

**Физиологические основы
клинических и экспериментальных
методов исследования
функционального состояния
системы крови.**

Тема: Физиологические основы клинических и экспериментальных методов исследования функционального состояния системы крови.

Цель изучения темы – уметь объяснить:

- Физиологические основы наиболее распространенных клинических методов исследования функций системы крови.
- Изменения функционального состояния системы крови и причины этих изменений на основании анализа результатов исследования системы крови.

Значение темы

Изучаемый материал дает представление о физиологических основах клинических методов исследования, позволяющих оценить функциональное состояние эритроцитарной, лейкоцитарной систем, системы регуляции КОС, физико-химические свойства крови, и грамотно использовать их в диагностике различных заболеваний системы крови. Знание физиологических основ клинических методов исследования позволяет оценивать функциональное состояния системы РАСК, определять группу крови и резус-фактор, КОС.

Структура темы лекции

Методы исследования системы крови

- 1.1. Клинические методы исследования физико-химических свойств крови
 - 1.1.1. Определение гематокрита
 - 1.1.2. Определение скорости оседания эритроцитов
- 1.2. Клинические методы оценки кислотно-основного состояния (КОС) крови
- 1.3. Клинические методы исследования эритроцитарной системы
 - 1.3.1. Автоматизированные методы
 - 1.3.2. Подсчет эритроцитов крови с использованием камеры Горяева
 - 1.3.3. Определение содержания гемоглобина
 - 1.3.3.1. Гематиновый метод (метод Сали)
 - 1.3.3.2. Цианметгемоглобиновый метод
 - 1.3.4. Определение концентрации ретикулоцитов
 - 1.3.5. Расчет среднего содержания гемоглобина в эритроците; расчет цветного показателя; среднего объема эритроцита

- 1.4. Клинические методы исследования лейкоцитарной системы

1.4.1. Подсчет лейкоцитов с использованием камеры Горяева

1.4.2. Анализ лейкоцитарной формулы

- 1.5 Клинические методы исследования системы регуляции агрегатного состояния крови (РАСК)

- 1.4.1 Методы оценки сосудисто-тромбоцитарного гемостаза
Метод определения времени остановки кровотечения

- 1.4.2. Методы оценки гемокоагуляции

а) по внешнему механизму

1.4.3.1. Определение протромбинового времени

б) по внутреннему механизму

1.4.3.2. Визуальный метод

1.4.3.3. Электрокоагулография

- 1.6 Методы исследования групп крови

1.6.1. Определение групп крови по системе АВ0 с помощью стандартных сывороток

1.6.2. Определение групп крови по системе АВ0 с помощью синтетических цоликлонов

1.6.3. Определение резус-принадлежности с помощью стандартных сывороток и цоликлонов

Физиологические основы методов оценки системы крови

1. Определение скорости оседания эритроцитов

- В основу этого метода положена концепция агрегации эритроцитов и их оседания в соответствии с законом Стокса (осаждение частиц в вязкой среде).
- В клинике в качестве одного из показателей состояния организма широко применяют исследование скорости оседания эритроцитов (СОЭ). Величина СОЭ во многом зависит от свойств плазмы, от содержания в ней крупномолекулярных белков – глобулинов и фибриногена и от концентрации эритроцитов. При различных воспалительных процессах, как правило, концентрация крупномолекулярных белков в крови возрастает, что способствует увеличению СОЭ, так как эритроциты лишаются заряда и прилипают друг к другу. В конце беременности содержание фибриногена может возрасти почти в 2 раза, и СОЭ при этом достигает 40-50 мм/ч.

2. **Определение гематокрита.**

- Гематокрит – показатель, который отражает долю форменных элементов в общем объеме крови. Берут цельную кровь и центрифугируют. Под действием центрифужных сил (центростремительной и центробежной) происходит разделение крови на плазму и форменные элементы.
- Этот показатель прежде всего зависит от концентрации эритроцитов, но также зависит от размера эритроцитов и от объема плазмы.

3. **Оценка кислотно-основного состояния (КОС) крови**

Оценка КОС артериальной крови имеет большое значение в клинической практике. Основными показателями, характеризующими КОС, являются:

- рН крови
- Буферные основания, щелочной резерв
- Парциальное напряжение углекислого газа в артериальной крови
- Концентрация бикарбонатов

- 1. По определению рН представляет собой отрицательный десятичный логарифм молярной концентрации ионов водорода. рН плазмы - 7,38-7,42.

Несмотря на постоянно изменяющееся поступление в кровь кислых продуктов метаболизма (лактата, угольной кислоты и др.), рН крови поддерживается на постоянном уровне. Однако нормальное значение рН еще не доказывает отсутствия нарушения КОС крови, т.к. возможен компенсированный ацидоз или алкалоз.

- 1. Буферные основания (БО), по международной номенклатуре ВВ, - это суммарная концентрация всех анионов крови, обладающих буферными свойствами. БО включают такие показатели, как бикарбонатный буфер- 24 ммоль/л, белковый буфер – 17 ммоль/л, гемоглобиновый буфер – 6,7 ммоль/л и фосфатный буфер – 2 ммоль/л. Общая сумма БО в артериальной крови – 48-49 ммоль/л.

- При анализе показателей КОС рассчитывают разницу между реальными (актуальными) величинами БО и стандартными (измеренными при стандартных условиях) (48 ммоль/л). Разница между ними указывает на наличие дефицита оснований (ДО или ВД – base deficite) или избытка оснований (ИО или ВЕ) соответственно. ДО означает, сколько ммоль/л оснований необходимо, чтобы привести рН крови к 7,4, а ИО означает, сколько необходимо кислоты. ВЕ является наиболее важным показателем КОС крови. В норме ВЕ равен $\pm 2,5$.
- 2. Парциальное напряжение углекислого газа в артериальной крови составляет в среднем 40 мм.рт.ст, с пределами колебаний от 35 до 45 мм.рт.ст.
- 3. Концентрация бикарбонатов в норме равна 21-26 ммоль/л
В зависимости от того, в какую сторону изменяется реакция крови (в кислую или щелочную) говорят о двух типах нарушений КОС – ацидозе (при сдвиге рН ниже 7,3) или алкалозе (при повышении рН 7,45-7,8).

Ацидоз, как и алкалоз, бывает:

- 1) респираторный (дыхательный)
 - 2) нереспираторный (метаболический)
- Респираторный ацидоз обусловлен нарушением выделения углекислого газа легкими (например, при пневмонии), а респираторный алкалоз – при гипервентиляции легких. Признаком респираторного нарушения КОС является повышение (при ацидозе) или понижение (при алкалозе) парциального напряжения CO_2 в крови по сравнению с его нормальным уровнем. Концентрация ВВ при этом не изменяется.
 - Метаболический ацидоз возникает при накоплении нелетучих кислот в крови (при недостаточности кровообращения, уремии, при поступлении кислот извне). Метаболический алкалоз наблюдается при потере кислот или накоплении оснований. Признаком метаболического нарушения КОС является изменение концентрации ВВ: при ацидозе она снижается (т.к. буферные основания связывают кислые продукты метаболизма), а при алкалозе – повышается. При этом парциальное напряжение углекислоты не меняется.

	pH	pCO ₂	ВВ	НСО ₃
Норма	7,38-7,42	35-45	48 ± 2,5	21-26

4. **Определение концентрации эритроцитов.**

- Физиологической основой метода является разведение крови физиологическим раствором (0,9% хлоридом натрия, изотоническим). Разведение необходимо, так как концентрация эритроцитов слишком велика, и их будет трудно подсчитать, если не развести кровь в 200 раз. Физиологический раствор является изотоничным плазме крови, поэтому эритроциты полностью сохраняются в таком растворе.

5. **Определение концентрации гемоглобина.**

- Гемоглобин – хромопротеид, находящийся внутри эритроцитов. Чтобы определить его концентрацию, его необходимо извлечь, для чего используют (по методу Сали) 0,1 Н соляную кислоту, которая разрушает мембрану эритроцитов. Также кислоту используют, чтобы все виды гемоглобина (фетальный и взрослый) перевести в одно соединение – хлорид гематина, имеющего бурую окраску. Такую окраску имеют стандартные растворы хлорида гематина в гемометре Сали.
- Согласно унифицированного гемиглобинцианидного метода вместо соляной кислоты используют трансформирующий раствор, содержащий цианиды, которые переводят все виды гемоглобина в цианметгемоглобин.

Определение концентрации эритроцитов и гемоглобина необходимо в клинике для оценки состояния эритроцитарной системы

6. **Определение концентрации ретикулоцитов.**

- Ретикулоциты- молодые предшественники эритроцитов. В их цитоплазме имеется зернистость, обусловленная остатками РНК ядрышек и рибосом. При окрашивании мазка крови специальным красителем бриллиантовым крезоловым синим эта зернистость окрашивается в синий цвет, и ретикулоциты становятся хорошо видны на фоне желтовато-зеленоватых эритроцитов. Подсчитывают их в поле зрения одновременно с эритроцитами (количество штук, приходящееся на 1000 эритроцитов).
- Концентрация ретикулоцитов отражает интенсивность эритропоэза, поэтому позволяет определить вид эритроцитоза или эритропении.

7. **Определение концентрации лейкоцитов**

- Физиологической основой метода является разрушение мембраны эритроцитов 3% уксусной кислотой с целью убрать эритроциты из поля зрения, так как они мешают подсчету лейкоцитов. В этом случае лейкоциты подсчитывают в камере Горяева по оставшимся ядрам.
- Лейкоцитарная формула – процентная концентрация разных видов лейкоцитов. Концентрация молодых форм нейтрофилов отражает интенсивность лейкопоэза, поэтому позволяет определить вид лейкоцитоза или лейкопении

8. Клинические методы исследования системы регуляции агрегатного состояния крови (РАСК)

1. Методы оценки сосудисто-тромбоцитарного гемостаза:

- Определение времени остановки кровотечения

2. Методы оценки коагуляционного гемостаза:

а) по внешнему механизму

- определение протромбинового времени

Физиологической основой является активация VII фактора свертывания крови добавлением к взятой с антикоагулянт крови тканевого тромбопластина

б) по внутреннему механизму

- Электрокоагулография
- Визуальный метод

Физиологической основой является активация XII фактора свертывания крови чужеродной поверхностью (тефлоном, стеклом). В случае электрокоагулографии физиологической основой также является изменение электрического сопротивления крови электрическому току в процессе свертывания крови.

9. Методы исследования группы крови по системе АВО и резус-принадлежности.

- Основным группой определяющим фактором являются агглютиногены, так как они уже появляются у плода и имеются всегда. Агглютинины формируются после рождения. Поэтому, какой у человека агглютиноген на оболочке эритроцитов находится, такая у него группа крови (А; В; АВ; О).
- В норме никогда не встречаются одноименные агглютиногены и агглютинины, так как, если это произойдет, то эритроциты начнут склеиваться (явление агглютинации). Поэтому для определения группы крови (агглютиногенов) используют это явление агглютинации.
- Для определения резус-принадлежности используют стандартные сыворотки, содержащие анти-Д-антитела, полученные путем иммунизации.
- Стандартные сыворотки кроме агглютининов системы АВО содержат агглютинины других систем (Kell, Levis и др.), по которым может тоже проходить агглютинация эритроцитов. Для этого и делают проверку на ложную агглютинацию.
- Цоликлоны – тест системы, в которых агглютинины (антитела) находятся в чистом виде, поэтому не происходит ложной агглютинации.

Литература для самоподготовки

А. Основная

1. Нормальная физиология /Под ред. . Н.А.Агаджаняна и В.М. Смирнова.- М.: Медицина, 2015.
2. Назаров С.Б., Тимошенко С.О. , Пахрова О.А. Физиология системы крови: Методические разработки для самостоятельной подготовки студентов.- Иваново, 2008.

Б. Дополнительная

1. Физиология человека /Под ред. В.М.Смирнова – М.: Медицина, 2001.-С. 206-238.
2. Основы физиологии человека /Под ред. Б.И.Ткаченко.- СПб, 1994.- т.1. С. 59-64, 200- 228.
3. Физиология человека /Под ред. Н.А.Агаджаняна и В.И.Циркина.- М.: Медицинская книга. – 2003. - С. 173 – 203.
4. Горожанин Л.С. Возрастная физиология системы крови: Учебно-методическое пособие. - Иваново, 1977.
5. Рупасова Т.И. Общеклинический анализ крови: Учебно-методическое пособие. – Иваново, 1986.

После изучения лекции
необходимо пройти тестирование при
помощи сервиса Гугл-формы.

Пожалуйста, корректно заполняйте поля ФИО, факультет
и номер группы.

Ссылка для прохождения
тестирования