

# КИНЕТИЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ; ОПРЕДЕЛЯНЕ ОБЕМ ЦИРКУЛИРАЩА КРЪВ, ОБЕМ ПЛАЗМА; ПРЕЖИВЯЕМОСТ И СЕКВЕСТРАЦИЯ НА КРЪВНИ КЛЕТКИ- ЕРИТРОЦИТИ И ТРОМБОЦИТИ

Д-р Жанина Йорданова Иванова дм,



# Обем циркулираща кръв

При възрастен човек ОЦК е около 6-8% от телесна маса, примерно 4-6 л.

- ▶ ОЦК зависи от:
- ▶ Възраст (при новородени ОЦК е 10% от телесна маса)
- ▶ Пол (мъже - 7-8%, жени - 6-7%)
- ▶ Функционално състояние на организма (при спортисти може да достига 10% от телесната маса)

# ОБЕМ ЦИРКУЛИРАЩА КРЪВ

- ▶ В днешното време се използват непреки методи за изчисляване на ОЦК. Те се основават на принципа на разреждане на индикатора.
- ▶ В циркулираща кръв се вкарва вещество с определен обем ( $V_1$ ) и известна концентрация ( $C_1$ ), изчаква се до пълното смесване в организма и се определя концентрацията на веществото в цялата кръв ( $C_2$ ). След това ОЦК се определя по формула:
- ▶ 
$$V_2 = \frac{C_1 * V_1}{C_2}$$

# Използват се няколко вида индикатори:

- ▶ 1. Плазменни индикатори - Еванс синьо (Т-1824), албумин- $I^{131}$  (основно за определяне **На** обем циркулираща плазма)
- ▶ 2. Глобуларни индикатори - еритроцити, белязани с  $Cr^{51}$ ,  $Fe^{59}$  и др.

# Съществуват и различни формули за изчисляване на ОЦК:

| ALLEN FORMULA  |  |
|--|--|
| Males  | Females  |
| $TBV = [0.000417 \times Ht^3 \text{ (cm)}] + [45 \times Wt \text{ (kg)}] - 30$ | $TBV = [0.000414 \times Ht^3 \text{ (cm)}] + [32.8 \times Wt \text{ (kg)}] - 30$ |
| HEMODILUTION LINEAR REGRESSION MODEL   |  |
| Males $R^2=0.88$ (n=69)  | Females $R^2=0.95$ (n=27)  |
| $TBV = [0.0008 \times Ht^3 \text{ (cm)}] + [4.06 \times Wt \text{ (kg)}] - 30$ | $TBV = [0.00001 \times Ht^3 \text{ (cm)}] + [41.6 \times Wt \text{ (kg)}] - 30$  |

**Figure 3.** Allen Formula and fitted linear regression model. TBV: total blood volume; Ht: Height (cm); Wt: Weight (kg).

| Variables           | Formula  |
|---------------------|--|
| Gender              |  |
| Male                | $TBV = 0.3669 \times \text{height (m)}^3 + 0.03219 \times \text{weight (kg)} + 0.6041$ |
| Female              | $TBV = 0.3561 \times \text{height (m)}^3 + 0.03308 \times \text{weight (kg)} + 0.1833$ |
| Body weight and age |  |
| Infant or <2 kg     | $TBV = 80 \text{ cc/kg}$   |
| Child or 20–50 kg   | $TBV = 70 \text{ cc/kg}$   |
| Adult or >50 kg     | $TBV = 60 \text{ c/kg}$  |

TBV: Total blood volume.

# Обем циркулираща плазма

- ▶ Нормалният обем е около 5% от телесното тегло (29-49 мл плазма/кг за мъже и 27-41 мл плазма/кг за жени).
- ▶ ОЦП също може да се определи с добавяне на индикатори - Еванс синьо (Т-1824), албумин-1131.

# ПРОТОКОЛ за определяне обема на циркулиращата кръв, еритроцитна маса и плазма- Стандарт по Нуклеарна медицина

- ▶ Процедура: · Вземат се 3 - 15 мл автоложна венозна кръв с антикоагулант (цитратен разтвор).
- ▶ Маркира се с радиофармацевтика и се инкубира един час при стайна температура или 30 мин. в термостат, без или след предварително получаване на чиста еритроцитна маса (центрофугиране за 10 мин. при 300 g).
- ▶ Ако се работи с цялостна кръв, тя се центрофугира за отстраняване на надстоящата плазма (или се промива, ако се работи с еритроцитна маса).
- ▶ Ресуспендира се с физиологичен разтвор до първоначалния обем кръв, като се отделя половината количество за стандарт, който допълнително се разрежда, а остатъкът се реинжектира на пациента.
- ▶ Взема се проба(и) кръв след хомогенизиране на маркираната еритроцитна суспензия (около 20 мин. след i.v. аплициране).
- ▶ Определя се стойността на хематокрита.
- ▶ Измерват се радиоактивността на стандарта и пробата.
- ▶ Отчитане на резултатите: · Принципът на изследването и дилуционен - по степента на разреждане на радиомаркера - може да се определи обемът на една затворена система.
- ▶  $OЦК = \text{активност на стандарта} / \text{активност на проба кръв}$ .
- ▶  $\text{Обем на еритроцитите} = OЦК \cdot \text{хематокрита}$ .
- ▶  $\text{Обем на плазмата} = OЦК \cdot (1 - \text{хематокрита})$ .
- ▶ Теоретичният OЦК се определя според пола, теглото и ръста по номограми или формули.

# ПРЕЖИВЯЕМОСТ И СЕКВЕСТРАЦИЯ НА КРЪВНИ КЛЕТКИ

- ▶ Радиомаркирането на еритроцитите улеснява определянето на обема на еритроцитите, например при диагнозата на полицитемията, анемиите, свързани със спленомегалия и “псевдоанемия” секундарна от увеличен плазмен обем. Подобно на това може да се проведат изследвания за еритроцитна преживяемост при пациенти с хемоглобинопатия, хемолитични анемии и при тези, при които има нужда да се преценят нуждите от трансфузии след реакции на кръвна несъвместимост. <sup>51</sup>Сг-клетъчно маркиране може също да се използва за определяне местата на клетъчна секвестрация / черен дроб, далак / , особено когато се има предвид спленектомия при пациенти с хронична хемолиза или идиопатична тромбоцитопенична пурпура.
- ▶ Натриевият хромат [<sup>51</sup>Сг] се използва за *in vitro*/ *ex vivo* маркиране на еритроцити и е предназначен само за диагностична нужда.
- ▶ <sup>51</sup>Сг- маркирани еритроцити могат да се използват за количествена оценка на хронична гастроинтестинална кръвозагуба.



# ЕРИТРОЦИТИ

- ▶ Натриевият хромат [51Сг] е предназначен само за *in vitro* маркиране на еритроцитите, които впоследствие се реинжектират на пациента.
- ▶ За еритроцитния обем и преживяемост, се изтегля с венесекция 10-15ml кръв, центрофугира се и еритроцитите се инкубират с радиоактивния разтвор. За да се намали увреждането на еритроцитите, рН на кръвта трябва да се поддържа с необходимите добавки. Излишният несвързан изотоп може да се премахне чрез промиване на клетките в изотоничен разтвор или плазма. Тогава клетките се ресуспендират във физиологичен разтвор преди реинжектирането

# ЕРИТРОЦИТИ

- ▶ Следните активности за маркиране на еритроцитите са препоръчани от Интернационалната Комисия за Стандартизация в Хематологията / ICSH / за прилагане на пациентите:

Определяне обема на еритроцитите / RCV / 3.7 – 7.4 kBq/kg телесно тегло  
260-520 kBq/ 70 kg на човек

Определяне преживяемостта на еритроцитите / RCS / < 18.5\_kBq/kg телесно тегло  
740-1300kBq/ 70 kg на човек

Преживяемост и секвестрация на еритроцитите / RCS / < 18.5\_kBq/kg телесно тегло  
740-1300kBq/ 70 kg на човек

# ТРОМБОЦИТИ

- ▶ Тромбоцитите се образуват в костния мозък и животът им продължава между около седмица и десет дни. Те определят способността на кръвта за сгъстяване (до тромб) или оставане в течно състояние. Затова са много важни при инциденти с кръвотечение - ако броят им е достатъчен, се получава съсирването, което предотвратява масивна кръвозагуба. Както повишените, така и намалените нива крият рискове.
- ▶ Тромбоцитопении - нормалният брой на тромбоцитите е 150 000 - 450 000\микролитър. При тромбоцитопенията се изследват не само броят тромбоцитите, но и морфологичното състояние на костния мозък и размерът на слезката. Възможните механизми, водещи до развитието на тромбоцитопения, са:
  - ▶ Нарушена продукция в костния мозък:
  - ▶ Увреждане на стволовите клетки в костния мозък, което засяга всички клетъчни линии и води до тромбоцитопения, придружена от анемия и левкопения.
  - ▶ Потискане на пролиферацията и узряването на тромбоцитните предшественици.
  - ▶ Дефицит на хормона тромбопоетин.
  - ▶ Повишена секвестрация (изолиране) в слезката: нормално 1\3 от тромбоцитите се секвестрират в слезката. При уголемена слезка това количество се увеличава.
  - ▶ Ускорена деструкция:
    - ▶ Променена преживяемост на тромбоцитите поради промени в съдовата стена поради васкулит или съдова протеза.
    - ▶ ДИК - синдром или Дисеминирана интерваскуларна коагулация.
    - ▶ Вирусни или бактериални инфекции

# ПРОТОКОЛ за изследване преживяемост и секвестрация на тромбоцити-

► Диференциална диагноза на тромбоцитопеничните състояния.

- Определяне локализацията на разграждане на тромбоцитите.

51Cr-натриев хромат.

Аплицирана активност: · 11 МБк.

Процедура: · Към Тр маса (70 мл) в сакче се добавя 15 мл АСД (CPD).

- Суспензията се центрофугира 10 мин. при 460 g (3110 оборота) на 22 °С.
  - Надстоящата плазма се отстранява и се съхранява, а към Тр седимент се прибавя 10 мл физиологичен разтвор за промиване и отново се центрофугира за 10 мин. при 350 g (2000 оборота).
  - Отстранява се надстоящата плазма, а тромбоцитният седимент се маркира с радиофармацевтика и се инкубира за 45 - 60 мин. на стайна температура.
  - Добавя се 10 мл от съхранената плазма, ресуспендира се и се изготвя I стандарт (към 0,5 ml тромбоцитен концентрат се прибавя 9,5 ml физиологичен разтвор, към 0,5 ml от така разределения концентрат се прибавя 1,5 ml физиологичен разтвор до краен обем 2 ml, които се радиометрират).
  - Отново се центрофугира за 10 мин. при 460 g (3110 оборота).
  - Отстранява се надстоящата суспензия, а към тромбоцитния седимент отново се добавя от съхранената плазма (общ обем около 10 мл).
  - Филтрира се маркираният тромбоцитен концентрат през система за кръвопреливане.
  - Подготвя се маркираният тромбоцитен концентрат за инжектиране в 20 ml спринцовка. Отделя се 1 ml за стандарт.
  - Изготвя се II стандарт (към 0,5 ml от тромбоцитен концентрат се прибавя 9,5 ml физиологичен разтвор, от така разределения тромбоцитен концентрат се радиометрират 2 ml).
  - Инжектира се маркираният тромбоцитен концентрат венозно и се отбелязва на влятото количество в ml.
  - Взема се венозна хепаринизирана кръв от пациента на 30 мин. (100 %), 1-ви, 2-ри, 3-ти ден, до деня, когато активността в кръвните проби достигне 10 %.
  - Преживяемостта на Тр се определя графически.
  - Локализацията на секвестрация/деструкция на Тр се определя с помощта на далачен и чернодробен секвестрационен индекс чрез измерване активността над слезката, черния дроб и сърцето във времето на вземане на кръвните проби.
- Отчитане на резултатите: · Определя се преживяемостта на тромбоцитите в дни.
- Определяне мястото на секвестрация/деструкция.

# БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО

Д-Л Жанина Йорданова Иванова дм

