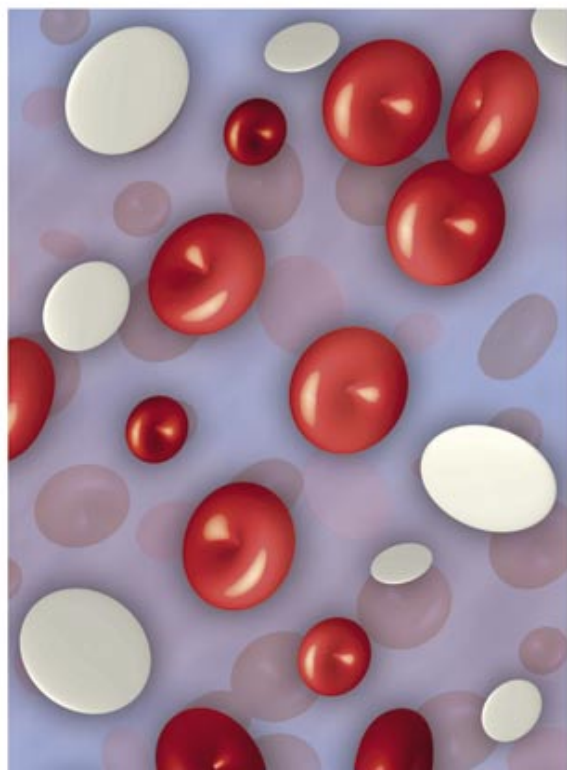


Peter Kubisz a kolektív

HEMATOLÓGIA A TRANSFUZIOLÓGIA UČEBNICA



Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude **trestně stíháno**.

Používání elektronické verze knihy je umožněno jen osobě, která ji legálně nabyla a jen pro její osobní a vnitřní potřeby v rozsahu stanoveném autorským zákonem. Elektronická kniha je datový soubor, který lze užívat pouze v takové formě, v jaké jej lze stáhnout s portálu. Jakékoliv neoprávněné užití elektronické knihy nebo její části, spočívající např. v kopírování, úpravách, prodeji, pronajímání, půjčování, sdělování veřejnosti nebo jakémkoliv druhu obchodování nebo neobchodního šíření je zakázáno! Zejména je zakázána jakákoliv konverze datového souboru nebo extrakce části nebo celého textu, umísťování textu na servery, ze kterých je možno tento soubor dále stahovat, přitom není rozhodující, kdo takovéto sdílení umožnil. Je zakázáno sdělování údajů o uživatelském účtu jiným osobám, zasahování do technických prostředků, které chrání elektronickou knihu, případně omezují rozsah jejího užití. Uživatel také není oprávněn jakkoliv testovat, zkoušet či obcházet technické zabezpečení elektronické knihy.





Copyright © Grada Publishing, a.s.

HEMATOLÓGIA A TRANSFUZIOLÓGIA

Učebnica

Zostavovateľ:

prof. MUDr. Peter Kubisz, DrSc.

MUDr. Ján Staško, Ph.D.

Autori:

doc. MUDr. Miroslava Dobrotová, Ph.D.

ing. Jana Fedorová, Ph.D.

MUDr. Emília Flochová

prof. MUDr. Peter Galajda, CSc.*

MUDr. Pavol Hollý

MUDr. Jan Hudeček, CSc.

MUDr. Juraj Chudej

RNDr. Jela Ivanková

prof. MUDr. Peter Kubisz, DrSc.

RNDr. Zora Lasabová, Ph.D.**

MUDr. Mária Paceková, Ph.D.

MUDr. Renáta Pizurová

MUDr. Ivana Plameňová

prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.**

MUDr. Stanislava Rumanová

MUDr. Ján Staško, Ph.D.

MUDr. Ľubica Váleková

Klinika hematológie a transfúziológie Jesseniovej lekárskej fakulty UK, Martin

* I. interná klinika Jesseniovej lekárskej fakulty UK, Martin

** Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty UK, Martin

Práca vznikla v rámci riešenia výskumnej úlohy za podpory grantu KEGA 3/1131/03.

Recenzenti:

prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc. – Lékařská fakulta MU, Brno

prof. MUDr. Elena Tóthová, CSc. – Lekárska fakulta UPJŠ, Košice

doc. RNDr. Miroslav Pecka, CSc. – Lékařská fakulta UK, Hradec Králové

© Grada Publishing, a.s., 2006

Obrázky dodali autori.

ISBN 978-80-247-1779-4 (tištěná verze) © Grada Publishing, a.s. 2006

Cover Photo © Grada Publishing, a.s., 2006

ISBN 978-80-247-6341-5 (elektronická verze ve formátu PDF) © Grada Publishing, a.s. 2011

ako svoju 2550. publikáciu

Redakčné úpravy Mgr. Olga Kopalová, PhDr. Monika Pokorná, Mária Slavčevová

Sadzba Josef Lutka

Počet strán 324

1. vydanie, Bratislava, Praha 2006

Vytlačil PBtisk, Prokopská 8, Příbram IV

Táto publikácia je určená pre studentov a odborných pracovníkov v zdravotníctve.

Názvy produktov, firiem a pod., ktoré sú použité v knihe, môžu byť ochrannými známami alebo registrovanými ochrannými známami príslušných vlastníkov, čo nie je osobitne vyznačené.

Metódy a príklady, ako aj informácie o liekoch, ich spôsoboch dávkovania a aplikácii, sú v tejto knihe zostavené podľa najlepšieho vedomia autorov. Z ich praktického použitia ale nevyplývajú pre autorov, ani pre nakladateľstvo, žiadne právne dôsledky.

Obsah

Úvod	11
1. Klinické vyšetrenie v hematológii	13
1.1. Anamnéza	13
1.2. Fyzikálne vyšetrenie	19
2. Laboratórne vyšetrenia v hematológii	25
2.1. Laboratórne vyšetrenia v hemostazeológii	25
2.1.1. Nešpecifické testy	26
2.1.1.1. Orientačné nešpecifické testy	26
2.1.1.2. Skupinové nešpecifické testy	26
2.1.1.3. Korekčné testy	27
2.1.2. Špecifické testy	27
2.1.3. Testy jednotlivých systémov podieľajúcich sa na hemostáze	27
2.1.3.1. Cievna stena a primárna hemostáza	27
2.1.3.2. Plazmatické koagulačné faktory	28
2.1.3.3. Testy prirodzených inhibítorov koagulácie	28
2.1.3.4. Testy fibrinolytického systému	29
2.1.3.5. Molekulové markery hemostázy	30
2.1.4. Ostatné testy	30
2.1.4.1. Stanovenie inhibítorov	30
2.1.4.2. Diagnostika von Willebrandovej choroby	31
2.1.4.3. Endotelové markery	31
2.1.4.4. Kontrola antikoagulačnej liečby	31
2.1.5. Súhrn hemostazeologických testov	32
2.2. Morfologické hematologické vyšetrenia	32
2.2.1. Vyšetrenie krvného obrazu	33
2.2.2. Funkčné vyšetrenia erytrocytov a leukocytov	34
2.2.3. Špeciálne farbiace metódy	36
2.3. Imunohematologické vyšetrovacie metódy	38
2.3.1. Vyšetrenie protilátok	39
2.3.2. Laboratórny dôkaz kompatibility krvi	41
2.3.3. Imunológia leukocytov a trombocytov	42
2.4. Vyšetrenie metabolizmu železa	44
2.5. Vyšetrenie hemoglobínu a jeho metabolizmu	47
2.6. Rádionuklidové vyšetrenia	48
3. Anémie	51
3.1. Definícia a klasifikácia	51

3.1.2. Etiopatogenetická klasifikácia anémií	51
3.1.3. Klinická klasifikácia anémií	53
3.2. Anémie z nedostatočnej tvorby erytrocytov	54
3.2.1. Anémie z porúch proliferácie alebo diferenciácie erytroidných prekursorov	54
3.2.1.1. Aplastická anémia	54
3.2.1.2. Dyserytropoetické anémie	55
3.2.2. Anémie z poruchy syntézy hemu	55
3.2.2.1. Sideropenická anémia	55
3.2.2.2. Sideroblastová anémia	58
3.2.3. Anémie z poruchy syntézy globínu – talasémie	58
3.2.4. Anémie z poruchy syntézy DNK – megaloblastové anémie	60
3.3. Posthemoragické anémie	62
3.3.1. Anémie z akútnej straty krvi	62
3.3.2. Anémie z chronickej straty krvi	62
3.4. Anémie zo zvýšenej deštrukcie erytrocytov – hemolytické anémie	63
3.4.1. Korpuskulárne hemolytické anémie	63
3.4.2. Extrakorpuskulárne hemolytické anémie	64
3.5. Anémie pri chronických ochoreniach a anémie z kombinovaných príčin	66
3.5.1. Anémia pri chronických chorobách	66
3.5.2. Anémia pri chorobách obličiek	67
3.5.3. Anémia pri chorobách pečene	68
3.5.4. Anémia pri endokrinných ochoreniach	68
4. Nenádorové poruchy bieleho radu	71
4.1. Poruchy počtu a funkcie neutrofilov	71
4.1.1. Neutrofilia	71
4.1.2. Neutropénia	72
4.1.3. Poruchy funkcie neutrofilov	73
4.2. Poruchy počtu a funkcie lymfocytov	73
4.2.1. Lymfocytóza	74
4.2.2. Lymfopénia	75
4.3. Eozinofília	76
4.4. Poruchy počtu a funkcie bazofilov	77
4.4.1. Bazofília	77
4.4.2. Bazopénia	77
4.5. Poruchy počtu a funkcie monocytov a makrofágov	78
4.5.1. Monocytóza	78
4.5.2. Monocytopénia	79
4.5.3. Histiocytové syndrómy	79

4.5.3.1. Histiocytóza z Langerhansových buniek	80
4.5.3.2. Hemofagocytové syndrómy	81
4.5.4. Choroby z ukladania tukov (teaurizmózy)	82
5. Dreňové útlmy	85
5.1. Aplastické anémie	85
5.1.1. Vrodené aplastické anémie	86
5.1.2. Získané aplastické anémie	86
5.1.3. Aplastická anémia – dreňový útlm	87
6. Myelodysplastický syndróm	91
7. Akútne leukémie	97
7.1. Klasifikácia akútnych leukémií	98
7.1.1. Klasifikácia akútnych myeloblastových leukémií	98
7.1.2. Klasifikácia akútnych lymfoblastových leukémií	102
7.2. Aberantné zmeny DNK v leukemických bunkách	102
7.3. Princípy komplexnej liečby akútnych leukémií	105
7.4. Akútna myeloblastová leukémia	112
7.5. Akútna lymfoblastová leukémia	113
8. Myeloproliferatívne ochorenia	119
8.1. Polycythaemia vera – primárna polycytémia	119
8.1.1. Polyglobúlia	123
8.2. Esenciálna (primárna) trombocytémia	125
8.3. Idiopatická myelofibróza (primárna myelofibróza)	128
8.4. Chronická myelocytová leukémia	130
9. Lymfoproliferatívne ochorenia – malígne lymfómy	135
9.1. Definícia, etiológia a diagnostika	135
9.2. Hodgkinove lymfómy	140
9.3. Nehodgkinove lymfómy	143
9.3.1. Stručná charakteristika niektorých NHL	148
9.4. Mnohopočetný myelóm a plazmocytóm	151
10. Poruchy hemostázy	159
10.1. Fyziológia hemostázy	159
10.1.1. Cievna stena a trombocyty	160
10.1.2. Plazmatický koagulačný systém	161
10.1.3. Fibrinolytický systém	166
10.1.4. Inhibítory krvného zrážania a fibrinolýzy	167
10.2. Krvácavé poruchy hemostázy	168
10.2.1. Krvácavé poruchy primárnej fázy hemostázy	168
10.2.1.1. Krvácavé poruchy z cievnych príčin (vaskulárne hemoragické diatézy)	168

10.2.1.1.1.	Hereditárna hemoragická teleangiektázia (morbus Rendu-Osler-Weber)	169
10.2.1.1.2.	Ehlersov-Danlosov syndróm (fibrodysplasia elastica generalisata; EDS)	170
10.2.1.1.3.	Alergicko-toxická purpura (morbus Henoch-Schönlein, peliosis rheumatica)	171
10.2.1.1.4.	Skorbut	172
10.2.1.2.	Krvácavé stavy pri poruchách krvných doštičiek	172
10.2.1.2.1.	Kvantitatívne poruchy	173
10.2.1.2.2.	Kvalitatívne poruchy trombocytov (trombocytopatie)	175
10.2.2.	Krvácavé stavy pri poruchách plazmatickej fázy koagulácie	179
10.2.2.1.	Vrodené koagulopatie	179
10.2.2.1.1.	Defekt fibrinogénu	179
10.2.2.1.2.	Defekt faktora II (hypoprotrombinémia)	180
10.2.2.1.3.	Defekt faktora V (hypoproakcelerinémia)	180
10.2.2.1.4.	Defekt faktora VII (hypoprokonvertinémia)	181
10.2.2.1.5.	Hemofília A	181
10.2.2.1.6.	Hemofília B	184
10.2.2.1.7.	von Willebrandova choroba (vWCH)	184
10.2.2.1.8.	Defekt faktora X	186
10.2.2.1.9.	Defekt FXI	186
10.2.2.1.10.	Defekt FXII	187
10.2.2.1.11.	Defekt FXIII	187
10.2.2.2.	Získané koagulopatie	187
10.2.2.2.1.	Diseminovaná intravaskulárna koagulácia (DIK)	188
10.2.2.2.2.	Deficit vitamínu K	191
10.2.2.2.3.	Koagulopatia pri ochoreniach pečene	192
10.2.2.2.4.	Inhibítory koagulačných faktorov	192
10.2.2.2.5.	Iné získané koagulopatie	193
10.3.	Tromboembolická choroba, trombofilné stavy	193

10.3.1. Klinická manifestácia trombofilie	196
10.3.2. Vybrané trombofilné stavy	197
10.3.2.1. Deficit antitrombínu (AT)	197
10.3.2.2. Defekt protrombínu 20210G-A	198
10.3.2.3. Deficit proteínu C (PC)	198
10.3.2.4. Deficit proteínu S (PS)	200
10.3.2.5. Rezistencia na aktivovaný proteín C (APC rezistencia)	201
10.3.2.6. Zmeny hodnôt FVIII a ďalších koagulačných faktorov	202
10.3.2.7. Porucha fibrinolýzy	203
10.3.2.8. Hyperhomocysteinémia (HHc)	204
10.3.2.9. Antifosfolipidový syndróm (APS)	205
10.3.2.10. Syndróm lepiivých doštičiek (sticky platelet syndrome; SPS)	209
10.3.3. Antitrombotická prevencia a liečba	210
10.3.3.1. Preventívne opatrenia	210
10.3.3.2. Antitrombotická liečba	211
10.3.3.2.1. Trombolytická liečba	211
10.3.3.2.2. Antikoagulačná liečba	212
10.3.3.2.3. Antitrombocytová liečba	213
11. Transfuziológia	217
11.1. Darcovstvo krvi	217
11.1.1. Nábor a výber darcov krvi	217
11.1.2. Spôsoby darovania krvi	220
11.1.3. Konzervovanie krvi	222
11.2. Transfúzne prípravky z krvi a plazmy	223
11.2.1. Štandardné transfúzne prípravky	224
11.2.2. Neštandardné transfúzne prípravky	226
11.2.3. Krvné deriváty	226
11.3. Krvné skupiny	227
11.3.1. Skupinový systém AB0	227
11.3.2. Skupinový systém Rh	230
11.3.3. Ostatné skupinové systémy erytrocytov	231
11.4. Zásady podávania transfúzných prípravkov	231
11.4.1. Indikácia a objednávanie transfúzných prípravkov ...	232
11.4.2. Indikačné kritériá hemoterapie	233
11.4.3. Transport a skladovanie transfúzných liekov na jednotlivých oddeleniach	235
11.4.4. Metodický postup podania samotnej transfúzie	236
11.4.5. Metodický postup pri akútnej potrebe transfúzneho lieku a extrémnych nárokoch na hemoterapiu	237

11.5. Transfúzne reakcie	239
11.5.1. Typy transfúzných komplikácií	239
11.5.2. Postup pri transfúznej reakcii	243
11.6. Národná transfúzna služba	246
12. Pokroky v diagnostike a liečbe hematologických ochorení	249
12.1. Prínos imunofenotypového vyšetrenia prietokovým cytometrom v diagnostike hematookologických ochorení	249
12.1.1. Prietoková cytometria	250
12.1.2. Imunofenotypové vyšetrenie malígnych lymfómov prietokovým cytometrom	255
12.2. Prínos prietokovej cytometrie v diagnostike porúch hemostázy ...	257
12.2.1. Hlavné membránové glykoproteíny trombocytov	259
12.3. Prínos metód molekulovej biológie v diagnostike hematookologických ochorení	260
12.3.1. Úvod do problematiky	260
12.3.2. Príklady najčastejších genetických zmien v bunkách hematookologických ochorení	263
12.3.3. Význam genetických zmien diagnostikovaných pri hematookologických ochoreniach pre prognózu ochorenia a pre voľbu adekvátnej liečby	266
12.4. Prínos metód molekulovej biológie pre diagnostiku porúch hemostázy	267
12.5. Pokroky v liečbe hematookologických ochorení	269
12.5.1. Transplantácia krvotvorných kmeňových buniek	270
12.5.2. Ďalšie možnosti protinádorovej liečby	274
12.5.2.1. Nové chemoterapeutiká	274
12.5.2.2. Cytokíny	275
12.5.2.3. Monoklonové protilátky	276
12.5.2.4. Protinádorové vakcíny a génová terapia ...	277
12.6. Pokroky v liečbe porúch hemostázy a nenádorových hematologických ochorení	278
12.6.1. Pokroky v liečbe porúch hemostázy	278
12.6.2. Pokroky v liečbe iných neonekologických hematologických ochorení	281
Referenčné hodnoty u zdravých jedincov	284
Internetové adresy s hematologickou problematikou	289
Zoznam použitých skratiek	291
Odporučená a použitá literatúra	300
Register	301

Úvod

Predkladaná učebnica z hematológie a transfuziológie je určená predovšetkým pregraduálnym študentom medicíny. Jej zámerom je poskytnúť základný prehľad problematiky nenádorových a nádorových hematologických ochorení, ako aj transfúznej medicíny. Text učebnice je členený do dvanástich kapitol, pričom na záver každej kapitoly je zaradených niekoľko skúšobných otázok s možnosťou výberu odpovede (tzv. multiple choice), ktoré umožňujú overiť si osvojenie problematiky, preberanej v príslušnej kapitole. Text je doplnený o referenčné hodnoty vybraných laboratorných testov a o zoznam internetových adries s odkazmi na hematologickú literatúru, časopisy a atlasy.

1. Klinické vyšetrenie v hematológii

Cieľom tejto kapitoly je podať prehľad o klinickom vyšetrení pacienta s ochorením krvi a krvotvorných orgánov. Klinické vyšetrenie pacienta s hematologickým ochorením pozostáva z anamnézy a fyzikálneho vyšetrenia.

1.1. Anamnéza

Anamnéza (z gréckeho *anamnesis* = spomínanie) je súbor všetkých údajov o zdravotnom stave pacienta od narodenia po súčasnosť. Poznáme *anamnézu priamu*, získanú rozhovorom s pacientom a *anamnézu nepriamu*, získanú od príbuzných alebo doprovodu pacienta. **Nepriama anamnéza** je nezastupiteľná najmä vtedy, keď nie je možné získať žiadne údaje od pacienta (napr. pri poruchách vedomia, pri zlom psychickom stave pacienta a pod.).

Napriek obrovskému pokroku a modernizácii laboratórneho vyšetrenia krvi dôkladná anamnéza zostáva základom pre určenie správnej diagnózy. Pri anamnéze nadväzuje lekár s pacientom prvý osobný kontakt, čo mu umožňuje vytvoriť obraz o zdravotnom stave a ťažkostiach pacienta, a pomáha mu získať aj jeho dôveru. Dôvera pacienta k lekárovi je nevyhnutným predpokladom pre ich budúcu spoluprácu, potrebnú pre určenie diagnózy a liečby. Stanoviť dobrú anamnézu je umenie, ktoré sa lekár učí celý život; je nielen zrkadlom jeho vedomostí a skúseností, ale tiež schopnosti jednať s ľuďmi.

Anamnéza pacienta s hematologickým ochorením obsahuje:

1. Osobné údaje pacienta. Patrí sem: meno a priezvisko pacienta, jeho rodné číslo, stav, zamestnanie (u dôchodcov všetky predošlé zamestnania), údaj o tom, kto odporučil pacienta na vyšetrenie, adresa praktického alebo závodného lekára, adresa a telefonický kontakt na najbližších príbuzných, údaje o zdravotnej poisťovni a dátum vyšetrenia.

2. Terajšie ťažkosti (syntómy). Vyšetrujú sa terajšie ťažkosti (syntómy) alebo dôvod, pre ktorý pacient vyhľadal lekára. Mnohí pacienti s hematologickým ochorením sú asymptomatickí a iba vyšetrením krvného obrazu sa u nich zistí porucha. Väčšina pacientov, odoslaných na hematologické vyšetrenie, má ťažkosti, ktoré vyplývajú z povahy krvnej poruchy alebo z postihnutia krvotvorných orgánov. Niektorí z nich majú súčasne viac krvných abnormalít, čo sa

môže prejaviteľ väčším počtom symptómov. Najčastejšie zdravotné problémy pri hematologických ochoreniach sú uvedené v tab. 1.1 a podrobnejšie rozobraté v časti „Terajšie ochorenia“.

3. Rodinná anamnéza. Tu sa uvádzajú údaje o zdravotnom stave rodičov (starých rodičov), súrodencov a detí pacienta. V prípade členov rodiny, ktorí zomreli, zisťujeme vek a príčinu smrti. Pátrame po výskyte vrodených ochorení (hemofília, hypoprokonvertinémia, vrodená sférocytóza a pod.). Pri vrodených ochoreniach vytvoríme rodokmeň s postihnutými jedincami kvôli zisteniu typu dedičnosti (dominantný, recesívny, viazaný na X chromozóm). Niektoré príklady vrodených krvných ochorení sú uvedené v tab. 1.2.

Tab. 1.1 *Bežné hematologické poruchy a ich symptómy*

Typ hematologickej poruchy	Ťažkosti (symptómy)
anémia	únava, slabosť, dýchavica, palpitácie, bolesť hlavy, závrate, hučanie v ušiach
leukopénia (hlavne neutropénia)	obzvlášť závažné alebo opakované infekcie
trombocytopénia	ľahký vznik krvných podliatin, nadmerné krvácanie po úraze, spontánne krvácanie zo slizníc
koagulopatie (chýbanie koagulačného faktora)	nadmerné krvácanie po úraze, spontánne krvácanie do kĺbov a svalov
infiltrácia nádorom (leukémia, lymfóm)	„hrče“ pri lymfadenopatii, bolesti, neurologické ťažkosti

Tab. 1.2 Niektoré vrodené krvné ochorenia

Poruchy erytrocytov – anémie	
– porucha membrány erytrocytu	vrodená sférocytóza a eliptocytóza
– porucha hemoglobínu	talasémia a kosáčiková anémia
– porucha metabolizmu erytrocytu	deficit glukózo-6-fosfatázy a pyruvátkinázy
Koagulačné poruchy	
– deficit koagulačného faktora	hemofília A a B
– kombinovaný deficit faktora a trombocytu	von Willebrandova choroba
– porucha trombocytu	Bernardov-Soulierov syndróm
Poruchy leukocytov	chronické granulomatózne ochorenia

4. Osobná anamnéza. Pre lepšiu prehľadnosť niektorí autori delia osobnú anamnézu na ochorenia predchádzajúce terajšiemu ochoreniu a na terajšie ochorenie.

4.1. Ochorenia predchádzajúce terajšiemu ochoreniu. V chronologickom slede zaznamenáme všetky ochorenia, operácie a úrazy, ich trvanie a následky, predchádzajúce hospitalizácie a prekonané detské infekcie. Dôležité je, aby sa získala hlavne anamnéza ochorení, ktoré môžu byť príčinou krvných porúch a chorôb a ktoré môžu ovplyvňovať hematologickú liečbu, napr. liečbu leukémie. Ak sa potvrdí porucha v krvnom obraze, treba zistiť, či bol krvný obraz urobený v minulosti. V prípade, že je výsledok predošlého krvného obrazu dostupný, objasní sa, či je problém novovzniknutý alebo dlhodobý. Pri pacientovi, ktorý udáva ľahkú tvorbu krvných podliatin alebo ľahší vznik krvácania, je dôležité zistiť, či bol už predtým operovaný. V prípade, že pri predchádzajúcej operácii pacient výraznejšie nekrvácal, znamená to, že buď nie je jeho sklon ku krvácaniu závažný, alebo náchylnosť ku krvácaniu vznikla neskoršie.

Lieková, alergická a habituálna anamnéza. Lieky môžu zapríčiniť hematologické nežiadúce účinky; najbežnejšie z nich sú uvedené v tab. 1.3. Keďže pacienti s hematologickým malígnym ochorením sú často liečení obzvlášť veľkým počtom chemoterapeutických a antimikrobiálnych liekov,

je dôležité, aby sa možné reakcie na lieky dôsledne dokumentovali, čím sa zabráni ich opakovanému podávaniu. Zistenie alergie vo vzťahu k hematologickému ochoreniu môže okrem liekov súvisieť aj s faktormi profesionálnymi alebo enviromentálnymi (chemikálie, domáce zvieratá). Významný je aj údaj o abúze alkoholu a fajčenia, pretože oboje môžu byť príčinou závažných krvných porúch. Rovnako dôležitá je informácia o cestovaní do krajín s vyšším rizikom infekčných a parazitárnych ochorení, postihujúcich krv a krvotvorné orgány (malária, AIDS a pod.).

Tab. 1.3 *Možné hematologické nežiadúce účinky liekov*

Typ hematologickej poruchy	Liek
útlm kostnej drene	chloramfenikol, cytostatiká
hemolytická anémia	metyldopa, penicilíny
leukopénia/agranulocytóza	fenotiazíny, sulfónamidy, carbimazol
trombocytopénia	zlato, tiazidové diuretiká

Transfúzna anamnéza vyžaduje zaznamenávanie údajov o transfúziách, krvných prípravkoch podaných v minulosti a o transfúzných reakciách. V prípade, že sa transfúzna reakcia vyskytla, je nutné zistiť jej prejavy (triaska, teplota, pruritus, dýchavica a pod.), časový vzťah k transfúzii (počas tečenia transfúzie, po tečení), typ reakcie (pyretická, hemolytická, alergická a pod.) a či sa zistili protilátky (antierytrocytové, antileukocytové). Dôležitý je aj údaj o darcovstve krvi a počte krvných odberov u darcu, pretože v niektorých prípadoch môžu byť častejšie odbory krvi jedným z faktorov vzniku sideropenickej anémie.

4.2. Terajšie ochorenia. Snažíme sa zistiť všetky súvislosti dôležité pre terajšie ochorenie, t.z. charakter ťažkostí, čas ich vzniku a poradie, v akom vznikali. K určeniu času vzniku ťažkostí sú potrebné presné časové údaje (rok, mesiac, deň, hodina). Nepresné časové údaje, ako napr. „pred dvoma rokmi“, „pred mesiacom“ a pod., sú zavádzajúce pre toho, kto číta anamnézu napr. s časovým odstupom.

V terajšom ochorení sa v rámci diagnostikovania hematologického ochorenia zameriavame na nasledovné okruhy ťažkostí (tab. 1.1):

A. Symptómy pri anémii. Pacienti s anémiou majú nedostatočný prívod kyslíka do tkanív. K symptómom anémie patria: slabosť, únava, dýchavica, palpitácie, bolesti hlavy, hučanie v ušiach a bolesti na hrudníku (najmä u starších pacientov je zvýraznená angina pectoris). Závažnosť symptómov je daná nielen stupňom anémie, ale hlavne rýchlosťou jej vzniku. Rýchlo vzniknutá anémia je horšie tolerovaná a klinický stav pacientov je závažnejší.

B. Symptómy pri leukopénii. Ich príčinou je zvyčajne neutropénia. Pacienti sú náchylní na infekcie, pričom riziko infekcií výrazne stúpa pri poklese počtu neutrofilov pod $0,5 \times 10^9/l$. Život ohrozujúce septické infekcie sa vyskytujú najmä pri akútnych leukémiách. Ich prvotnou príčinou môžu byť „banálne“ infekcie (nádech, zápal hltana), ktoré u týchto pacientov nereagujú na antibiotickú liečbu. Obzvlášť závažným problémom môže byť perineálna sepsa (napr. pri perianálnom abscese).

C. Symptómy pri trombocytopénii. Trombocytopénia má za následok sklon ku krvácaniu, pričom z krvácajúcich prejavov je bežné petechiálne krvácanie do kože alebo slizníc (tab. 1.1), epistaxa, krvácanie z ďasien, menoragia, ľahká tvorba krvných podliatin a nadmerné krvácanie po úraze alebo operácii. Spontánne krvácanie sa pri trombocytopénii môže objaviť pri počte trombocytov pod $20 \times 10^9/l$. Pri poruche funkcie trombocytov sa však krvácanie môže vyskytnúť aj pri normálnom počte trombocytov.

D. Symptómy pri poruche koagulácie. Pacienti s koagulopatiou (poruchou koagulačného faktora v koagulačnej kaskáde), napr. hemofilici, výrazne krvácajú po úraze alebo operácii. Najčastejšou lokalizáciou je krvácanie do kĺbu (hemartros) alebo svalu. Celoživotné postihnutie je typické pre vrodenú koagulopatiu. Vznik symptómov v neskoršom období poukazuje na získanú koagulopatiu.

E. Symptómy pri malignej infiltrácii. Nádorové ochorenia krvi, ako sú leukémia alebo lymfómy, sa môžu šíriť aj do iných tkanív. Ich prejavom je napr. hrča na krku, v axile alebo v slabine (pri lymfadenopatii), abdominálna bolesť (pri splenomegálii) alebo kožný exantém (pri leukemickom postihnutí kože). Postihnutie nervového systému sa prejavuje ako bolesť hlavy, porucha videnia (napr. skotóm), epileptický záchvat, strata funkcie a pod.

5. Dopĺňujúca anamnéza podľa systémov. Tento typ dopĺňujúcej anamnézy podľa systémov je dôležitý preto, lebo krvná porucha je častejšie spôsobená systémovým, a nie špecifickým krvným ochorením. Niekedy sa ťažko zistí, či je prvotná príčina v kostnej dreni, alebo či je krvná porucha len reaktívna pri inej patológii. Ako príklad možno uviesť zvýšený počet trombocytov (trombocytóza), ktorý vzniká dôsledkom poruchy kost-

Tab. 1.4 Kožné a slizničné prejavy pri hematologickom ochorení

Klinický prejav	Možná hematologická porucha
Tvár	
bledosť	všetky anémie
citrónovožlté sfarbenie	megaloblastová anémia
žltacka	hemolytická anémia
pletora (tmavočervená tvár)	polycytémia
Ústna sliznica	
vredy	neutropénia
glositída	megaloblastová anémia sideropenická anémia
ústne kútiky (angulárna stomatitída)	sideropenická anémia

nej drene (*esenciálna trombocytémia*) alebo vzniká sekundárne pri infekcii, zápale alebo malignite (reaktívna trombocytóza). Diagnózu esenciálnej trombocytémie možno spoľahlivo stanoviť len per exclusionem, t.j. vylúčením nehematologických príčin trombocytémie. Naopak, hematologická diagnóza je niekedy dôležitou súčasťou informácie pre určenie diagnózy iného systémového ochorenia. Tak napr. nejasný nedostatok železa (sideropénia) vyžaduje podrobnú informáciu o symptómoch gastrointestinálneho ochorenia s chronickými krvnými stratami.

6. Pracovná a sociálna anamnéza. Oboznámenie sa s pacientovým bežným životným štýlom je dôležité hlavne pri diagnóze chronického alebo iného závažného ochorenia. Mnohí pacienti s hematologickou malignitou sú starší a potrebujú opateru, napr. návštevy sociálnych pracovníkov a sestier. Pracujúci pacienti sa po začatí liečby ochorenia, akým je leukémia, s opakovanou hospitalizáciou, môžu stať nezamestnaní a môžu mať aj rodinné a finančné problémy. V prípade detí s chronickým krvným ochorením (napr. hemofília, hemoglobínopatie) môžu vzniknúť problémy s vyšeškávaním vyučovania, čo spôsobuje stresové situácie v rodine. Preto v rámci prístupu k hematologickému pacientovi v klinickej praxi je potrebné zvážiť ďalekosiahly dosah diagnózy a nevyhnutnej liečby na pacienta.

1.2. Fyzikálne vyšetrenie

Dôkladné fyzikálne vyšetrenie je dôležité kvôli oddiferencovaniu toho, či je krvná porucha výsledkom primárneho krvného ochorenia (napr. leukémie) alebo či je dôsledkom širokého spektra ochorení iných systémov. Patrí sem:

A. Pohľad (aspexia). Je to cielené skúmanie pacientovej tváre počas odberu anamnézy, ktoré môže poskytnúť zásadnú informáciu ešte pred začatím vlastného vyšetrenia. Najbežnejšie klinické prejavy na koži a slizniciach pri hematologickej poruche sú v tab. 1.4.

B. Celkové vyšetrenie. Po aspexii nasleduje fyzikálne vyšetrenie hlavných orgánových systémov. Pri krvných ochoreniach sa môžu vyskytnúť poruchy v každom systéme, ale pre veľké množstvo ich nemožno podrobne rozoberať. V bežnej klinickej praxi treba niektoré vyšetrenia uprednostňovať. Napr. vyšetrenie *per rectum* nie je v prípade hematologického pacienta bežné, ale je indikované pri nevysvetliteľnom nedostatku železa na vylúčenie inak asymptomatického kolorektálneho karcinómu. Naopak, je kontraindikované u pacientov s podozrením na leukémiu a neutropéniu. V hematológii sa bežne nerobí podrobné vyšetrenie veľkých kĺbov; toto vyšetrenie je však potrebné u pacientov s hemofiliou.

C. Vyšetrenie lymfatických uzlín. Zväčšenie lymfatických uzlín nie je špecifické len pre primárne krvné ochorenia, ale vyskytuje sa aj u ochorení iných systémov. Označuje sa ako lymfadenopatia. Pri palpácii lymfatických uzlín hodnotíme ich veľkosť, lokalizáciu, konzistenciu, pohyblivosť a bolestivosť hmatných uzlín. Lymfadenopatia je pri infekcii zvyčajne mäkkšia než pri nádorovom ochorení. Pri karcinóme sú uzliny typicky tvrdé ako skala a naopak pri lymfóme sú viac elastické a pohyblivé oproti spodine. Bolestivé zväčšenie uzlín je spojené so zápalom. Treba oddiferencovať generalizovanú a lokálnu lymfadenopatiu (tab. 1.5). V praxi je zväčšenie lymfatických uzlín zvyčajne ohraničené na oblasť krku, axíl a inguín.

Zväčšenie *krčných lymfatických uzlín* je najčastejšou príčinou opuchu krku; pri masívnom postihnutí môže byť ľahko viditeľné pri aspexii. Pri palpácii je najjednoduchšie vyšetrovať lymfatické uzliny na krku u sediaceho pacienta otočeného chrbtom k lekárovi, pričom sa snažíme prehmatať priestor obojstranne, pred m. sternocleidomastoideus (predné krčné uzliny), medzi m. sternocleidomastoideus a m. trapezius (zadné krčné uzliny), preaurikulárnu, retroaurikulárnu, subokcipitálnu, submandibulárnu, sub-

mentálnu a supraklavikulárnu oblasť. Prítomnosť krčnej lymfadenopatie si vždy vyžaduje podrobné vyšetrenie hlavy a krku, aby sa zistila lokálna príčina zväčšenia uzlín.

Tab. 1.5 Najčastejšie príčiny lymfadenopatie

Lokálna lymfadenopatia
lokálna bakteriálna alebo vírusová infekcia
lymfóm
metastazujúci nádor
Generalizovaná lymfadenopatia
systémová infekcia bakteriálna (napr. tbc) alebo vírusová (EBV, HIV)
lymfóm
iná hematologická malignita (napr. leukémia)
zápalové ochorenie (napr. ochorenie spojiva, sarkoidóza)
malignita s generalizovaným postihnutím

Axilárna lymfadenopatia je najlepšie hmatná pri vyšetrení pacienta v polohe postojacky, s rukami opretými vbok, pričom vyšetrojúci lekár stojí tvárou oproti pacientovi a palpuje ľavú axilu pravou a pravú axilu ľavou rukou. V axile hmatáme uzliny v mediálnej, laterálnej, centrálnej, apikálnej a posteriórnej oblasti.

Vyšetrenie *inguinálnych lymfatických uzlín* je najlepšie robiť pri vyšetrení brucha. Inguiny však palpujeme v polohe s vystretými dolnými končatinami, na rozdiel od palpácie brucha. Pri palpácii rezistencie v inguine môže dôjsť k pomýleniu si inguinálnej lymfadenopatie s ireponibilnou femorálnou herniou. Zväčšené abdominálne lymfatické uzliny pri palpácii môžu byť príčinou nadmernej plnosti v strednej časti brucha.

Niekedy je ťažké zistiť, či sú uzliny zväčšené patologicky. Zväčšenie tonzíl je bežné u detí, kým dospelí, ktorí sú vystavení opakovaným malým poraneniam rúk a nôh, môžu mať lymfadenopatiu v príslušnom drenážnom segmente. Pri rozhodovaní o ďalšom postupe v prípade lymfadenopatie je dôležitý čas sledovania a pri pochybnostiach je indikovaná exstirpácia lymfatickej uzliny.

D. Vyšetrenie sleziny. Slezina je uložená v ľavej bráničnej klenbe tak, že svojou pozdĺžnou osou o dĺžke do 13 cm sleduje priebeh desiateho rebra, pričom fyziologicky nepresahuje rebrový oblúk v ľavej medioklavikulárnej čiare. Zväčšenie sleziny sa označuje ako splenomegália. Podobne ako pri lymfadenopatii, aj slezina môže byť zväčšená, nielen z dôvodov krvných, ale aj z dôvodu systémových ochorení (tab. 1.6).

Tab. 1.6 Najčastejšie príčiny splenomegálie

Stupeň splenomegálie	Palpácia pod rebrovým oblúkom (v cm)	Príčina splenomegálie
ľahký	0–4 cm	rôzne akútne a chronické infekcie (napr. septikémia, tbc)
stredný	4–8 cm	hemolytická anémia
		infekčná mononukleóza
		portálna hypertenzia
masívny	viac než 8 cm	idiopatická myelofibróza
		chronická myelocytová leukémia
		primárna polycytémia
		lymfóm
		malária
		leišmanióza

Slezina sa často v klinickej praxi vyšetruje nesprávne, pričom sa prehliadne aj masívna splenomegália. Z uvedeného dôvodu je potrebné venovať primeranú pozornosť jej vyšetreniu.

Pri výrazne zväčšenej slezine môžeme pohľadom spozorovať vyklenuť ľavého brušného kvadrantu alebo aj väčšej časti brucha.

Palpáciou sa slezina vyšetruje najčastejšie v dvoch polohách: v polohe na chrbte alebo v polohe na „pravom poloboku“ (v pravej diagonálnej polohe). Pri vyšetrovaní splenomegálie je potrebné niekedy použiť obidva

spôsoby. Pri *polohe na chrbte* vyšetrujúci lekár stojí po pravej strane pacienta, ktorý má pokrčené dolné končatiny a hmatá pravou rukou. Hmatajúca ruka je položená rovno na brušnej stene, s špičkami prstov šikmo doľava, kraniálne pod ľavý rebrový oblúk, a pri inspiriu sa vnára pod ľavý rebrový oblúk. Vyšetrujúci pritom ľavou rukou pridrža pacientov ľavý rebrový oblúk zozadu – oproti palpujúcej pravej ruke. Pri vyšetrení v *pravej diagonálnej polohe* leží pacient na pravom boku, dolné končatiny má pokrčené v bedrových a kolenných kĺboch a ľavú hornú končatinu má zohnutú za hlavou. Vyšetrujúci je buď po pravej strane pacienta a pri vyšetrení postupuje ako pri polohe pacienta na chrbte alebo stojí na ľavej strane lôžka za ním, pričom ľavou rukou, položenou vzadu na hrudníku v mieste sleziny, pridržuje pacienta a pravou rukou sa ohnutými prstami vnára pod ľavý rebrový oblúk. Iným spôsobom palpácie v tejto polohe je pohmat obidvo-
ma rukami, ktoré sa ohnutými prstami vnárajú pod ľavý rebrový oblúk. Pri palpácii sleziny využívame hlboké dýchanie pacienta a popisujeme jej veľkosť, konzistenciu, charakter povrchu a citlivosť.

Ako doplnkové vyšetrenia možno použiť vyšetrenie sleziny poklopom a auskultáciou, pri ktorej možno zachytiť trecí šelest, ktorý je zhodný s pleurálnym šelestom svojím charakterom aj závislosťou na dýchaní, a ktorý sa vyskytuje pri zápale slezinového púzdra v priebehu slezinového infarktu.

TESTOVÉ OTÁZKY:**1. Do osobnej anamnézy nepatrí:**

- a) terajšie ochorenie,
- b) lieková a transfúzna anamnéza,
- c) sociálna a pracovná anamnéza,
- d) ochorenia predchádzajúce terajšiemu ochoreniu.

2. Medzi vrodené hematologické ochorenia nepatrí:

- a) hemofília,
- b) von Willebrandova choroba,
- c) imunitná trombocytopenická purpura,
- d) drepanocytóza (kosáčikovitá anémia).

3. Petechiálne krvácanie je typické pre:

- a) koagulopatie a trombocytopénie,
- b) vaskulopatie a trombocytopénie,
- c) vaskulopatie, trombocytopatie a hemofiliu,
- d) trombocytopatie a predávkovanie antikoagulanciami.

4. Typická lymfadenopatia pri lymfóme je charakterizovaná:

- a) bolestivosťou, tuhosťou, nepohyblivosťou pri palpácii,
- b) bolestivosťou, elasticitou, pohyblivosťou pri palpácii,
- c) nebolestivosťou, tuhosťou, pohyblivosťou pri palpácii,
- d) nebolestivosťou, elasticitou, pohyblivosťou pri palpácii.

5. Splenomegália nepatrí do klinického obrazu:

- a) chronickej myelocytovej leukémie,
- b) imunitnej trombocytopenickej purpury,
- c) idiopatickej myelofibrózy,
- d) infekčnej mononukleózy.

Správne odpovede: 1c, 2c, 3b, 4d, 5b

2. Laboratórne vyšetrenia v hematológii

Predpokladom pre získanie spoľahlivých laboratórných výsledkov sú: správny odber krvi, správna funkcia a kalibrácia prístrojov a pipiet, kvalitné diagnostické sety a reagenty, dodržiavanie metodických postupov, správne pracovné návyky, správne vyhodnotenie nameraných hodnôt, správna interpretácia výsledkov, vnútorná a vonkajšia kontrola kvality.

2.1. Laboratórne vyšetrenia v hemostazeológii

V hemostazeologickom laboratóriu sa vykonávajú vyšetrenia, ktoré majú odhaliť príčinu krvácania a príčinu trombózy. V tomto laboratóriu sa vykonáva aj kontrola antikoagulačnej liečby.

Zásady správneho odberu krvi a preanalytická fáza hemostazeologických vyšetrení:

- rýchly, šetrný vpich s krátkym zaškrtením žily,
- opatrné nasatie krvi (krv nechať voľne vtekať do skúmavky),
- presné dodržanie objemu (jeden diel 0,109 M citrónanu sodného a deväť dielov odobratej krvi; jednorázové skúmavky plniť po značku),
- ihneď po odbere vzorku dokonale premiešať, oddeliť krvinky od plazmy.

Podľa princípu stanovenia delíme laboratórne testy na: *koagulačné, nefelometrické, fotometrické a imunologické*.

A. Koagulačné testy. Princípom je meranie času potrebného k vytvoreniu koagula od okamihu pridania reagentu k vyšetrovanej plazme. Koagulačné testy je možné robiť manuálne alebo na koagulometroch.

B. Nefelometrické (zákalové) testy. Princípom je meranie odrazeného svetla na koloidných časticiach. Počas vytvorenia koagula alebo pri vzniku agregátov trombocytov vzniká zakalenie testovacieho systému.

C. Fotometrické testy. Princípom je stanovenia intenzity sfarbenia, ktoré vzniká v dôsledku štiepenia špecifického chromogénneho substrátu. Meranie sa uskutočňuje na spektrofotometroch.

D. Imunologické testy. Ich základom je reakcia antigénu a protilátky. Najčastejšie používané imunologické metódy sú:

- *enzýmoimunostanovenie (EIA)*, pri ktorom je špecifická protilátka označená enzýmom, čo umožňuje vznik farebného produktu, ktorého intenzita je priamo úmerná koncentrácii vyšetrovaného proteínu,

- *latex-aglutinačné metódy*, v ktorých na latexových časticiach je naviazaná špecifická protilátka proti dokazovanému proteínu a vzniká aglutinát,
- *elektroimunodifúzia (EID)*, pri ktorej sa dokazovaný proteín pohybuje spolu so špecifickou protilátkou v géli za vzniku precipitačného píku, ktorého výška je priamo úmerná koncentrácii proteínu. Na vyšetrenie *funkčných (F)* aktivít jednotlivých koagulačných proteínov používame koagulačné a fotometrické metódy, na vyšetrenie *antigénov (Ag)* zase metódy imunologické. Hemostazeologické vyšetrenia majú zachytiť funkciu všetkých zložiek hemostázy (cievny systém, plazmaticko-koagulačný systém a fibrinolytický systém).

Laboratórne testy ďalej delíme na nešpecifické a špecifické.

2.1.1. Nešpecifické testy

2.1.1.1. Orientačné nešpecifické testy

Čas krvácania podľa Duka alebo citlivejšia metóda podľa Ivyho; meria sa čas zastavenia krvácania na koži v mieste vpichu alebo rezu. Výsledky: minúty.

Čas zrážania podľa Lee Whitea, kedy sa meria čas zrazenia natívnej krvi od okamihu jej odberu. Výsledky: minúty.

Test konzumpcie protrombínu – koagulačný test, ktorý informuje o trombocytovej a plazmatickej zložke hemostázy pri vzniku vnútorného aktivátora protrombínu. Výsledky: sekundy.

Test tolerancie heparínu – koagulačný test, je citlivý na nedostatok trombocytov a faktorov vonkajšej a vnútornej cesty aktivácie koagulácie. Výsledky: sekundy.

Euglobulínová lýza – orientačný test fibrinolytického systému, v ktorom sa hodnotí rozpúšťanie fibrínového koagula v závislosti od množstva enzýmu plazmínu. Výsledky: hodiny.

Trombelastograf – je krivka z prístroja trombelastogramu, ktorá sleduje jednotlivé fázy zrážania krvi, pričom šírka krivky je závislá od meniacej sa viskozity krvi.

2.1.1.2. Skupinové nešpecifické testy

Protrombínový čas podľa Quicka (PT) – koagulačný test, ktorý monitoruje vonkajšiu cestu premeny protrombínu na trombín, t.j. koagulačné faktory FII, FV, FVII, FX a fibrinogén (Fbg). Výsledky: sekundy, percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky; medzinárodný normalizovaný pomer (INR).

Aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (APTT) – koagulačný test, ktorý monitoruje vnútornú cestu premeny protrombínu na trombín, t.z. FVIII, FIX, FXI, FXII, v prípade predĺženého PT aj FII, FV, FX a Fbg. Výsledky: sekundy; pomer časov R sa rovná času testovanej a normálnej plazmy.

Trombínový a reptilázový čas (TT, RT) – koagulačné testy, ktoré monitorujú poslednú fázu zrážania krvi, premenu Fbg na fibrín účinkom enzýmov trombínu a reptilázy. Výsledky: sekundy, pomer časov R sa rovná času testovanej a normálnej plazmy.

2.1.1.3. Korekčné testy

Pri predĺžení APTT, PT sa vyšetruje zmes testovanej plazmy a normálnej plazmy v pomere 1 : 1, pričom sa sleduje skrátenie (korekcia) predĺženého času. Ak dôjde ku korekci APTT, PT, jedná sa o defekt koagulačného faktora, ale ak nedôjde ku korekcii, jedná sa o prítomnosť inhibítora voči niektorému z koagulačných faktorov.

2.1.2. Špecifické testy

Stanovujú funkciu alebo antigén konkrétneho proteínu (pozri nasledujúce kapitoly).

2.1.3. Testy jednotlivých systémov podieľajúcich sa na hemostáze

2.1.3.1. Cievna stena a primárna hemostáza

Rumpel-Leedeho test. Zisťuje počet petéchií, ktoré sa vytvoria na určitej, presne ohraničenej ploche, pod presne známym tlakom.

Počet trombocytov a ich morfológia. Počet trombocytov sa stanovuje spolu s krvným obrazom a veľkosť trombocytov zistíme v krvnom nátere po panoptickom farbení. Takto môžeme stanoviť makrotrombocyty a drobné trombocyty.

Čas krvácania (pozri globálne testy).

Adhezivita trombocytov na sklo alebo presnejšia fotometrická metóda, ktorou sa stanovuje množstvo kyslej fosfatázy uvoľnenej z trombocytov adherovaných napr. na kolagén, ktorý je naviazaný na dne mikrotitračnej platničky.

Retencia trombocytov na sklené guľičky stanovuje počet trombocytov pred a po prechode krvi kolonou so sklenými guľičkami.

Agregácia trombocytov je metóda, ktorou sa zisťuje funkcia trombocytov. Stanovuje sa na agregometri turbidimetrickou alebo impedančnou metódou, ktorou sa skúma, či agregácia trombocytov (indukovaná ADP, kolagénom, adrenalinom, kyselinou arachidonovou atď.) je normálna alebo znížená. Výsledky: percentá; rozdiel agregáčnej odpovede plazmy bez trombocytov a plazmy bohatej na trombocyty.

Retrakcia koagula. Tento test poskytuje informáciu o funkcii trombocytov, o ich schopnosti retrahovať sa (čím je väčšia retrakčná schopnosť trombocytov, tým viac séra sa oddelí od krvnej zrazeniny). Výsledky: percentá.

Analýza trombocytových funkcií (PFA) je prístrojové meranie primárnej hemostázy z plnej krvi na membránach povlečených ADP, kolagénom, adrenalinom. Výsledky: sekundy.

2.1.3.2. Plazmatické koagulačné faktory

Fibrinogén (Fbg). Koagulačnou metódou sa stanoví rýchlosť premeny Fbg na fibrín štandardným množstvom trombínu, pričom rýchlosť je závislá od množstva Fbg vo vyšetrovanej vzorke. Výsledky: g/l.

Koagulačné faktory II, V, VII, X, VIII, IX, XI, XII. Ich funkčná aktivita sa stanovuje metódou na princípe PT a APTT. K vyšetrovanej plazme sa pridá príslušná, faktor deficitná plazma, ktorá obsahuje nadbytok ostatných koagulačných faktorov. Antigény koagulačných faktorov sa stanovujú metódou EIA, EID. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky a IU/ml.

Stanovenie FXIII. Orientačnou metódou sa stanoví čas rozpustenia koagula (napr. v močovine); na kvantitatívne stanovenie sa používa fotometrická metóda. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky.

2.1.3.3. Testy prirodzených inhibítorov koagulácie

Antitrombín (AT). Funkčná aktivita sa stanovuje pomocou chromogénneho substrátu, z ktorého sa pôsobením trombínu odšiepi p-nitroanilín za vzniku farebného produktu, ktorého intenzita je nepriamo úmerná koncentrácii AT; antigén sa stanovuje metódou EIA alebo EID. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky.

Kofaktor heparínu II (HCII). Funkčná aktivita a antigén sa stanovuje podobne ako AT. Výsledky: percentá normálnej hodnoty, odčítané z kalibračnej krivky.

Proteín C (PC). Funkčná aktivita sa stanovuje fotometrickou a koagulačnou metódou:

- a) fotometrická metóda je založená na schopnosti aktivovaného proteínu C (APC) štiepiť chromogénny substrát, pričom množstvo uvoľneného p-nitroanilínu je priamo úmerné koncentrácii PC vo vyšetrovanej vzorke,
- b) koagulačná metóda je založená na schopnosti PC inaktivovať kofaktory Va a VIIIa spolu s PS; inaktivácia sa sleduje modifikovaným PT alebo APTT, antigén sa stanovuje metódou EIA alebo EID. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky.

Proteín S (PS). Funkčná aktivita sa stanovuje koagulačnou metódou, aktivovaný PC proteolyticky štiepi FVa počas aktivácie koagulácie jedom Russelovej zmiže, PS túto reakciu akceleruje. Čas koagulácie rastie úmerne aktivite PS vo vyšetrovanej plazme; antigén sa stanovuje EIA, EID. Výsledky: percentá normálnej hodnoty, odčítané z kalibračnej krivky.

Rezistencia na aktivovaný proteín C (APC rezistencia). Meria sa antikoagulačná odpoveď vyšetrovanej plazmy na štandardné množstvo pridaného aktivovaného proteínu C na princípe APTT. Za APC rezistenciu sa považuje, ak APTT pacienta je kratší v porovnaní s APTT normálnej kontroly. V takomto prípade je nutné doplniť vyšetrenie polymorfizmu FV (FV Leiden). Výsledky: APC, normalizovaný pomer (APC–NR).

ProC Global. Koagulačný skríningový test na stanovenie antikoagulačnej kapacity systému PC; sleduje sa predĺženie APTT v dôsledku aktivácie PC hadím jedom. Výsledky: normalizovaný pomer (NR).

2.1.3.4. Testy fibrinolytického systému

- a) *Lýza euglobulínov* (pozri globálne testy);
- b) *D-diméry.* Sú to špecifické štiepne produkty fibrínu. Na stanovenie sa používa latexaglutinačná metóda; na presné kvantitatívne stanovenie sa používa metóda EIA alebo turbidimetrická metóda. Výsledky: µg/l;
- c) *Fibrin a fibrinogén degradačné produkty.* Sú to produkty štiepenia fibrinogénu a fibrínu enzýmom plazmínom, na kvalitatívne stanovenie sa používa latexaglutinačná metóda a na kvantitatívne stanovenie metóda EIA;

d) *Solubilné fibrínové monoméry (SFM)*. Pri ich stanovení sa používa:

- etanolgelifikačný test je kvalitatívna metóda, ktorá využíva schopnosť etanolu gelifikovať v plazme prítomné solubilné komplexy fibrínu,
- fotometrická kvantitatívna metóda využíva syntetický chromogénny substrát, ktorý je štiepený vznikajúcim plazmínom. Výsledky: mg/l;

e) *Plazminogén (Plg)*. Funkčná aktivita sa stanovuje fotometrickou metódou. Pridaním nadbytku streptokinázy (SK) vzniká komplex Plg-SK, ktorý má plazmínovú aktivitu a štiepi špecifický chromogénny substrát; antigén sa stanovuje metódou EID. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky;

f) α_2 -*antiplazmín (α_2 -AP)*. Funkčná aktivita sa stanovuje fotometrickou metódou, ktorou sa sleduje plazmín-inhibičný efekt. Detekcia zbytkového plazmínu sa stanoví štiepením chromogénneho substrátu, antigén zasa metódou EID. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky;

g) *Inhibitor aktivátora plazminogénu typu 1 (PAI-1)*. Funkčná aktivita sa stanovuje fotometrickou metódou, antigén metódou EIA. Výsledky: U/ml, ng/ml.

2.1.3.5. Molekulové markery hemostázy

- *Aktivácia koagulácie*: F1+2 fragment protrombínu (F1+2), trombín-anti-trombín komplex (TAT), fibrinopeptid A (FPA), B β -1-42 peptid;
- *Aktivácia fibrinolýzy*: plazmín-antiplazmín komplex (PAP), D-diméry, B β -15-42 peptid;
- *Aktivácia trombocytov*: trombocytový faktor 4 (PF4), β -tromboglobulín (BTG).

Všetky molekulové markery sa stanovujú ako antigény metódou EIA.

2.1.4. Ostatné testy

2.1.4.1. Stanovenie inhibítorov

1. Špecifický inhibítor

a) *orientačné stanovenie* (korekčné testy s normálnou plazmou v rôznych pomeroch a rôznych časových intervaloch); ak je prítomný špecifický inhibítor, robí sa následne,

b) *kvantitatívny dôkaz* inhibítora metódou Bethesda. Výsledky: Bethesda/U.

2. *Lupus antikoagulans (LA)* je inhibítor, ktorým sú antifosfolipidové protilátky predlžujúce koagulačné testy závislé na fosfolipidoch. Na dôkaz týchto protilátok používame:

- a) *skriningové testy*: APTT, KCT (kaolínový čas), RVVT (test s jedom Russelovej zmije),
- b) *korekčné testy* s normálnou plazmou (v prítomnosti LA nedôjde ku korekcii),
- c) *konfirmačné testy* so *zniženou koncentráciou* fosfolipidov (napr. dAPTT, dRVVT, TTI, test so zriedeným tromboplastínom), so *zvýšenou koncentráciou* fosfolipidov (napr. PNP, trombocytový neutralizačný test).

2.1.4.2. Diagnostika von Willebrandovej choroby

Von Willebrandov faktor (vWF) je kofaktor adhézie trombocytov na subendotel a nosičom pre koagulačný faktor FVIII. Na laboratórnu diagnostiku sa používajú testy:

- a) čas krvácania,
- b) FVIII (funkčná aktivita),
- c) APTT,
- d) vWF:RCo (ristocetínový kofaktor von Willebrandovho faktora), funkčné stanovenie vWF,
- e) vWF:Ag (antigén vWF),
- f) RIPA (ristocetínom indukovaná agregácia trombocytov),
- g) analýza multimérov vWF,
- h) potvrdenie molekulového defektu.

2.1.4.3. Endotelové markery

Von Willebrandov faktor (vWF), trombomodulín (TM), inhibítor aktívátora plazminogénu typu 1 (PAI-1), tkanivový aktivátor plazminogénu (tPA); antigény týchto markerov sa stanovujú metódou EIA. Výsledky: percentá normálnej hodnoty odčítané z kalibračnej krivky a ng/ml.

2.1.4.4. Kontrola antikoagulačnej liečby

- a) *Derivát kumarínu*; test PT – sleduje sa percento a INR,
- b) *nefrakcionované heparíny*; test APTT – sledujú sa sekundy
a $R = \text{pomer časov testovanej/normálnej plazmy}$,
- c) *nízkomolekulové (frakcionované) heparíny*; test – stanovenie aktivity anti-Xa, anti-IIa, t.z. koncentrácia heparínu v krvi.

2.1.5. Súhrn hemostazeologických testov

A. Laboratórna diagnostika krvácajúcich stavov

1. *Testy skríningové* – čas krvácania, odolnosť kapilár, počet trombocytov, APTT, PT, TT, Fbg, FA.

2. *Testy špeciálne*

- a) FII, FV, FVII, FX, FVIII, FIX, FXI, FXII, FX, FXIII,
- b) adhézia a agregácia trombocytov, retrakcia koagula (funkcia trombocytov),
- c) vWFR:Co, vWF:Ag, RIPA (von Willebrandova choroba),
- d) stanovenie špecifických inhibítorov (proti všetkým koagulačným faktorom),
- e) AT, F1+2, TAT, SFM, FDP, D-diméry (špecifické testy pre diseminovanú intravaskulárnu koaguláciu),
- f) α_2 -antiplazmín, plazminogén, PAI-1, tPA (testy pre patologickú fibrinolýzu).

B. Laboratórna diagnostika trombofilných stavov

1. *Testy skríningové*

- a) ProC Global (NR), rezistencia na aktivovaný proteín C (APC–NR),
- b) PC, PS, AT (funkčné stanovenie),
- c) lupus antikoagulans (koagulačné testy),
- d) alela 20210 protrombínového génu (FII 20210),
- e) homocysteín.

2. *Doplňujúce testy*

- a) HCII, Plg (funkčné stanovenie), RT, FXII,
- b) agregácia trombocytov (syndróm lepiacich trombocytov).

3. *Konfirmačné testy*

- a) dôkaz FV Leiden,
- b) PC, PS, AT, HCII, Plg, Fbg (stanovenie antigénov),
- c) špecifické testy na dôkaz lupus antikoagulans a antifosfolipidových protilátok (APA).

2.2. Morfologické hematologické vyšetrenia

Týkajú sa kvantitatívnych a kvalitatívnych zmien krviniek. Odber krvi na morfologické vyšetrenia – odoberá sa žilová alebo vlásočnicová krv (novorodenci, malé deti, pacienti s ťažko dostupnými žilami).

2.2.1. Vyšetrenie krvného obrazu

Parametre krvného obrazu (KO) sa v súčasnosti vykonávajú automaticky hematologickými analyzátormi – krvinkovými počítacími. Poskytujú osem až tridsaťdva parametrov KO, vrátane diferenciálneho rozpočtu leukocytov, histogramov erytrocytov, leukocytov a trombocytov. Uvádzajú aj komentáre k výsledkom vyšetrení. Výhodou krvinkových analyzátorov popri rýchlosti (100 a viac krvných obrazov za hodinu), presnosti a správnosti (vnútorná kontrola kvality laboratória – každý deň, vonkajšia kontrola – dvakrát do roka), je aj minimálne množstvo vyšetrovanej krvi (30 až 210 μ l). Krvinkové analyzátory poskytujú diferenciálne rozpočty leukocytov, a to: trojparametrové (lymfocyty, granulocyty, mix – ostatné) alebo päťparametrové (lymfocyty, monocyty, neutrofily, eozinofily, bazofily).

Počítanie krviniek. Krvinky sa počítajú špeciálnymi krvinkovými počítacími alebo výnimočne v počítacích komôrkach s použitím mikroskopu. V tomto prípade sa musí krv riediť pre veľký počet krviniek vhodným riediacim roztokom, ktorý súčasne zvýrazní druh počítaných krviniek a odstráni ostatné; najčastejšie sa používa Bürkerova počítacia komôrka. Počítacie komôrky sa používajú na počítanie erytrocytov, leukocytov, trombocytov, eozinofilov.

Vyšetrenie hemoglobínu. Princíp manuálnej kyánehemoglobínovej metódy využívajú aj krvinkové počítáče. Roztoky káliumkyanidu a káliumferi-kyanidu hemolyzujú erytrocyty a konvertujú hemoglobín cez hemiglobín na stabilný hnedočervený hemiglobínkyanid, ktorého koncentrácia sa meria spektrofotometricky pri 540 nm.

Vyšetrenie hematokritu. Hematokrit udáva objemový podiel erytrocytov na celkovom objeme krvi. Stanovenie manuálnou mikrohematokritovou metódou je jednoduché a presné. Kapilára sa naplní do 3/4 dĺžky ponorením do kvapky krvi, voľný koniec sa zataví a kapilára sa centrifuguje pri vysokých otáčkach 16 000 g po dobu 3 min v špeciálnej centrifúge. Hodnota hematokritu sa odčíta zo stupnice špeciálneho zariadenia. Vyšetrenie hematokritu má pre diagnózu anémie rovnaký význam ako vyšetrenie hemoglobínu.

Určenie základných hodnôt červenej krvinky. Základné hodnoty červenej krvinky možno vypočítať z hodnôt hemoglobínu, počtu erytrocytov a hematokritovej hodnoty. Sú súčasťou výsledkovej listiny krvinkových analyzátorov:

- stredný objem erytrocytu (SOEr),
- hemoglobín erytrocytu (HbEr),
- stredná farebná koncentrácia (SFK).

Priemer erytrocytov sa meria mikroskopicky mikrometrickým okulárom. Na získanie prehľadu o veľkostnom zložení erytrocytov je vhodné grafické znázornenie zastúpenia erytrocytov rôznej veľkosti (Priceova-Jonesova krivka). Krvinkové počítače zobrazujú histogram, ktorý je jej obdovou a udávajú šírku krivky (RDW), ktorá je mierou anizocytózy (heterogénnosti erytrocytov). Podobný histogram zobrazujú aj pre trombocyty (PDW), čo je miera anizocytózy trombocytov.

Počítanie retikulocytov. Retikulocyty obsahujú zvyšky štruktúr cytoplazmy erytroblastu (ribozómy, RNK, mRNK, endoplazmatické retikulum). Možno ich dokázať farbením vitálnymi farbivami (brilantkrezylóva modrá) a pozorovať mikroskopicky s imerzným objektívom. Počet retikulocytov sú schopné zistiť aj modernejšie krvinkové analyzátory.

Sedimentácia erytrocytov. Je to rýchlosť, akou sa usadzujú červené krvinky v nezrážavej krvi. Najčastejšie sa vykonáva metódou podľa Fahraeus a Westergrena (FW). Krv sa nasaje do pipety, ktorá sa potom kolmo upevní a hodnota sedimentácie sa odčíta po jednej a dvoch hodinách.

Počet leukocytov. Na počítanie leukocytov sa používa Bürkerova komôrka alebo krvinkový počítač. Zastúpenie jednotlivých druhov leukocytov v krvi udáva diferenciálny rozpočet leukocytov (tzv. diferenciál). Stanovujú ho buď krvinkové analyzátory alebo sa zistí mikroskopicky.

Počet trombocytov. Na počítanie trombocytov sa používa Bürkerova komôrka a mikroskop, alebo sa počítajú automaticky krvinkovými analyzátormi.

2.2.2. Funkčné vyšetrenia erytrocytov a leukocytov

Určenie odolnosti (rezistencie) erytrocytov. Normálne červené krvinky sa vyznačujú určitou odolnosťou proti hypotonickým roztokom ako aj mechanickým a chemickým vplyvom. Počas chorobných stavov môže byť ich odolnosť narušená (vrodené či získané hemolytické anémie).

Určenie osmotickej rezistencie erytrocytov (OREr). Odolnosť erytrocytov v hypotonických roztokoch (osmotická rezistencia) sa zisťuje v postupných riedeniach hypotonických roztokov NaCl. Zaznamenáva sa stupeň hemolýzy od minimálnej po maximálnu.