

# Morfologické změny erytrocytů

D. Kyselová

Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, Břehová 7, 11519 Praha 1

[d.snecek@seznam.cz](mailto:d.snecek@seznam.cz)

## Abstrakt

Ve svém experimentu jsem zjišťovala, jestli gamma záření způsobuje morfologické změny erytrocytů. Obarvený krevní nátěr ozářených krví a kontrolních vzorků jsem prohlížela pod mikroskopem a snažila jsem se zaznamenat jednotlivé odchylky od normálních zdravých erytrocytů. U ozářených vzorků jsem pozorovala větší změny v tvarech erytrocytů od neozářených vzorků.

## 1 Úvod

Cílem experimentu bylo zjistit, jestli gamma záření způsobuje morfologické změny erytrocytů. Vzorky krve pocházely od tří dobrovolných dárců a byly ozařovány třemi různými dávkami gamma záření. Od každého dárce byl pořízen neozářený kontrolní vzorek, kvůli porovnání výsledků s ostatními vzorky krve. Pro lepší pozorování morfologických změn, jsem zvolila barvený krevní nátěr, který jsem prohlížela pod mikroskopem.

## 2 Potřeby

Pro svou práci jsem potřebovala z reagensií destilovanou vodu, benzín, barvicí souprava LEUKODIF 200 (čínidlo 1: Fixační roztok - methylalkohol 24,7 mol/l, naftalinová zeleň 1 mg/l; čínidlo 2: Barvicí roztok 1 - Eosin Y 1,73 mmol/l fosforečnanový pufr pH 6,8, 60 mmol/l; čínidlo 3: Barvicí roztok 2 - Azur II 1,2 g/l fosforečnanový pufr pH 6,8, 60 mmol/l). Z laboratorních pomůcek jsem používala podložní sklíčka, kádinky, imerzní roztok, mikroskop s imerzním objektivem a celkový zvětšením 1000. Pracovala jsem s žilní nesrážlivou čerstvou krví s protisrážlivým roztokem K<sub>2</sub> EDTA.

## 3 Postup

### Princip

Zhotovení jednovrstevného filmu krevních elementů na podložním sklíčku. Obarvení jednovrstevného krevního nátěru směsí barviv umožní rozlišení jednotlivých krevních elementů. Zjištění morfologických vlastností červené krevní řady.

### Ozařování vzorků

Byla odebrána krev od tří dobrovolných dárců. Každému z nich byla odebrána žilní krev do čtyř zkumavek s protisrážlivým činidlem K<sub>2</sub> EDTA. Od každého dárce byla ponechána kontrolní neozářená zkumavka krve. Druhá zkumavka (od každého dárce) byla ozářena gamma zářením 0,5 Gy, třetí gamma zářením 2,5 Gy a čtvrtá zkumavka 5 Gy.

### Zhotovení krevního nátěru

Malá kapka se kápne ke konci a do středu krátké strany sklíčka. Druhé podložní sklíčko (roztírací) se položí do úhlu 30°-40° před kapku, po dotyku hranou sklíčka se krev rozprostře po celé délce jeho hrany. Pak se lehce posune roztírací sklíčko po podložním skle

stejněměrně, jedním tahem k opačnému konci podložního skla, až je rozetřena všechna krev z kapky. Nátěry se nechají zaschnout a mohou být popsány obyčejnou tužkou v nejsilnější vrstvě nátěru.

#### Barvení krevních nátěrů

Činidla se nalijí do kádinek. Krevní nátěr se fixuje 5 ponory po dobu 1 sekundy do činidla 1. Po každém ponoření se nechá roztok stéct a jeho přebytek se odstraní otřením kapky o stěnu nádoby. Fixovaný nátěr se ponoří 3x na 1 sekundu do činidla 2. Po každém ponoření se nechá roztok stéct a jeho přebytek se odstraní otřením kapky o stěnu nádoby. Nátěr se ponoří 6x na 1 sekundu do činidla 3. Po každém ponoření se nechá roztok stéct a jeho přebytek se odstraní otřením kapky o stěnu nádoby. Sklíčko se opláchne destilovanou vodou a nechá zaschnout volně na vzduchu.

#### Prohlížení krevních nátěrů pod mikroskopem

Na krevní nátěr se kápne kapka imerzního oleje. Objektiv (se zvětšením 100x) se ponoří do kapky a pohledem do mikroskopu a pomocí makrošroubu vyhledá zorné pole. Zaznamenávají se odchylky ve vzhledu erytrocytů.

## 4 Hodnocení

Zaznamenávají se odchylky ve vzhledu erytrocytů od normálních erytrocytů. Morfologické změny se dělí do kategorií: odchylky od velikosti, odchylky tvaru - kulatý tvar terčíku, odchylky tvaru - jiný tvar terčíku, odchylky zbarvení, výskyt inkluzí tělísek a prstenců, jiné změny a formace.

## 5 Výsledky

Tab. 1 Tabulka s výsledky kontrolních vzorků

Kontrolní vzorek	odchylky od velikosti	odchylky tvaru - kulatý tvar terčíku	odchylky tvaru - jiný tvar terčíku	odchylky zbarvení	výskyt inkluzí, tělísek a prstenců	jiné změny a formace	poznámky
vzorek č.1	normální		kapkovité ery oj., poikilocyty oj.	normální		penízkovitá forma oj.	
vzorek č.2	normální	echinocyt oj.	kapkovité ery oj. schistocyt oj.	normální			
vzorek č.3	normální	echinocyt oj.	poikilocyty oj., keratocyt oj.	normální			

Tab. 2 Tabulka s výsledky ozáření vzorků 0,5 Gy

Ozářené 0,5 Gy	odchyly od velikosti	odchyly tvaru - kulatý tvar terčíku	odchyly tvaru - jiný tvar terčíku	odchyly zabarvení	výskyt inkluzí, tělísek a prstenců	jiné změny a formace	poznámky
vzorek č.1			poikilocyty oj., kapkovité ery oj.				
vzorek č.2			echinocyt oj., kapkovité ery oj., stomatocyt oj.				„okousané“ ery
vzorek č.3			stomatocyt oj., kapkovitý tvar oj.				shluky podivných tvarů, „okousané“ ery

Tab. 3 Tabulka s výsledky ozáření vzorků 2,5 Gy

Ozářené 2,5 Gy	odchyly od velikosti	odchyly tvaru - kulatý tvar terčíku	odchyly tvaru - jiný tvar terčíku	odchyly zabarvení	výskyt inkluzí, tělísek a prstenců	jiné změny a formace	poznámky
vzorek č.1			echinocyt oj., kapkovité tvar oj., poikilocyty oj.				shluk ery u rozbité bílé krvinky, „okousané“ ery
vzorek č.2			kapkovité ery oj., pokilocyty oj.				špičaté a protáhlé shluky ery
vzorek č.3			echinocyt oj., poikilocyty oj., sférocyty oj.				špičaté a protáhlé shluky ery

Tab. 4 Tabulka s výsledky ozářených vzorků 5 Gy

Ozářené 5 Gy	odchylky od velikosti	odchylky tvaru - kulatý tvar terčíku	odchylky tvaru - jiný tvar terčíku	odchylky zbarvení	výskyt inkluzí, tělísek a prstenců	jiné změny a formace	poznámky
vzorek č.1		leptocyty četně	keratocyty oj.				kulaté tvary oj.
vzorek č.2		leptocyty četně	poikilocyty oj.				špičaté a protáhlé shluky ery
vzorek č.3		leptocyty četně	kapkovité ery oj., keratocyty oj., echinocyty oj.				špičaté a protáhlé shluky ery

## 6 Závěr

U ozářených vzorků krve byly pozorovány určité odchylky od normálního tvaru erytrocytů. Zvláště u vzorků ozářených gamma zářením 5 Gy byl jasně viditelný rozdíl oproti kontrolním vzorkům krve. Nejčastější morfologické změny byly v odchylkách tvaru. U kulatého tvaru terčíku to byly leptocyty a u jiného tvaru terčíku to byly nejvíce poikilocyty, keratocyty a kapkovité erytrocyty. Experiment byl proveden pouze jednorázově, a proto z něj nelze dělat konečný závěr.

## 7 Poděkování

Chtěla bych poděkovat všem, kteří se podíleli na realizaci mého experimentu, zvláště paní RNDr. Lence Thinové. A také za pomoc a kritiku při přípravě prezentace.

## Reference

[1] M. Pecka, *Laboratorní hematologie v přehledu - Fyziologie a patologie krevní buňky*, Český Těšín, FINIDR, 2006, ISBN 80-86682-03-X