

ТЕМА 8. СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНИЙ ГЕМОСТАЗ

Мета: Знати структурно-функціональну характеристику тромбоцитів. Визначити кількість тромбоцитів у лічильній камері та мазку крові. Провести манжеточну пробу (пробу з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Лесде. Встановити час кровотечі.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Структурно-функціональна характеристика тромбоцитів.
2. Судинно-тромбоцитарний механізм гемостазу.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильна камера Горяєва, манжета від апарату для вимірювання артеріального тиску, секундомір, лейкоцитарний меланжер, штатив, мікропіпетки, піпетки, пробірки, гумова груша, предметні скельця, скарифікатори, вологі камери (чашки Петрі з вологим фільтрувальним папером), вата; цитратна або свіжа кров; 96% етиловий спирт, суміш Никифорова (1:1етилового спирту та етилового ефіру), 1% розчину трилону Б, 1% розчин оксалату амонію, 14% розчин сульфату магнію, 0,5% розчин генціанвіолету, імерсійна олія.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення кількості тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке.

За допомогою мікропіпетки набрати 0,1 мл 1% розчину трилону Б і 0,1 мл крові і швидко перенести в пробірку. Для підрахунку набрати кров з пробірки у лейкоцитарний меланжер (змішувач) до мітки I, потім набрати 1% розчин оксалату амонію до мітки II. Рідини змішати та меланжер залишити на 20 хв для гемолізу еритроцитів. Після цього добре перемішати вміст змішувача протягом 2-3 хв, перші краплі випустити і зарядити лічильну камеру. Так як тромбоцити осідають повільно, камеру поставити на 10 хв у чашку Петрі з мокрою ваткою на дні. Після цього підрахувати тромбоцити в п'яти великих (80 маленьких) квадратах.

Кількість тромбоцитів (X) у 1 л крові обчислити за формулою 1:

$$X = A \times 10^9, \quad (1)$$

де A – кількість тромбоцитів, підрахована в п'яти великих квадратах.

Оформити протокол досліду. Записати результати підрахунку кількості тромбоцитів у лічильній камері. Порівняти отримані значення з нормальними показниками та зробити висновок.

Завдання 2. Визначення кількості тромбоцитів у периферичній крові за методом Фоніо.

Принцип методу. Заснований на запобіганні склеювання тромбоцитів додаванням до крові розчину сульфату магнію і підрахунку їх в пофарбованому мазку.

Хід проведення. Отримати кров у людини з кінчика пальця. Отриману краплю крові змішати з краплею 14 % розчину сульфату магнію (нанести попередньо) на предметне скло.

Із отриманої краплі приготувати мазок, висушити, зафіксувати сумішшю Никифорова (5 хв) і забарвити 0,5 % розчином генціанвіолету протягом 10-12 хв.

Під імерсійним об'єктивом мікроскопа підрахувати 1000 еритроцитів і всі тромбоцити, які при цьому зустрічаються.

Вміст тромбоцитів X (Г/л) розрахувати за формулою:

$$X = E_p \times a, \quad (2)$$

де E_p – вміст еритроцитів у крові (Т/л),

a – знайдена кількість тромбоцитів.

Оформити протокол дослідження. Записати отримані значення кількості тромбоцитів у крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Охарактеризувати тромбоцитарні індекси (PLT, MPV, PCT, PDW).

Завдання 4. Проведення манжеточної проби (проби з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Леєде.

Клінічне значення. Манжеточна проба позитивна при тромбоцитопеніях, при дисфункції тромбоцитів, спадкових і набутих.

Хід проведення. На внутрішню поверхню верхньої третини передпліччя окреслити коло діаметром 5 см, після чого манжетою від апарату для вимірювання артеріального тиску стиснути плече протягом 5 хв при тиску 90-100 мм рт. ст. Через 5 хв після зняття манжети підрахувати число петехій в окресленому колі (норма – до 10 петехій, слабкопозитивна проба – 11-20 петехій, позитивна – 21-30 петехій, різко позитивна – більше 30).

Оформити протокол дослідження. Записати отримані результати проведення значення манжеточної проби. Зробити висновки.

Завдання 5. Визначення часу кровотечі.

Принцип методу. Метод дозволяє визначити стан судин після взаємодії тромбоцитів і судинної стінки. Час кровотечі визначається модифікованим методом Айві.

Клінічне значення. Прогресивне збільшення часу кровотечі спостерігається при зниженні числа тромбоцитів, при первинному порушенні судинної стінки, при якісних порушеннях тромбоцитів, при хворобі Віллебранда.

Хід проведення. Після накладення манжетки на верхню частину плеча і створення в ній тиску 40 мм рт. ст. зробити розріз на шкірі згинальної поверхні передпліччя розміром 1×9 мм за допомогою одноразової матриці. Час кровотечі – час, необхідний для зупинки кровотечі, в нормі становить 3-8,5 хв.

Оформити протокол досліджу. Записати отримані результати визначення часу кровотечі. Зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Як практично можна визначити кількість тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке?
2. У чому полягає сутність методу Фоліо по визначенню кількості тромбоцитів у периферичній крові?
3. Як оцінити результати проведення манжеточної проби Кончаловського-Румпеля-Леєде?
4. Назвіть фактори, що призводять до збільшення часу кровотечі.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Воробель А. В. Основи гематології: монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
2. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
3. Гематологія і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
4. Григорова Н. В. Гематологія : навчально-методичний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія». Запоріжжя : ЗНУ, 2020. 80 с. (затверджено вченою радою ЗНУ, протокол № 9 від 28.04.2020 р.).
5. Діагностика та лікування захворювань системи крові : посібник для студентів та лікарів-інтернів / за ред. А. С. Свінцицького. Київ : Медкнига, 2011. 336 с.
6. Іонов І. А., Комісова Т. Є., Слюсарев В. Ф., Шаповалов С. О. Фізіологія крові та внутрішнього середовища: методичні рекомендації. Харків : ЧП Петров В.В., 2017. 48 с.