BLUT

Michael Günnewig; RbP

Pflegegutachter / Pflegesachverständiger

Lehrer für Pflegeberufe

Fachkrankenpfleger für Intensivpflege und Anästhesie

Überblick

Heute

- Blut – Funktion
- Blutplasma
  - Bestandteile
  - Plasmaproteine
- Blutzellen
  - Hämatopoiese
  - Erythrozyten
  - Leukozyten
  - Thrombozyten
- Blutgerinnung
  - primäre Hämostase
  - sekundäre Hämostase

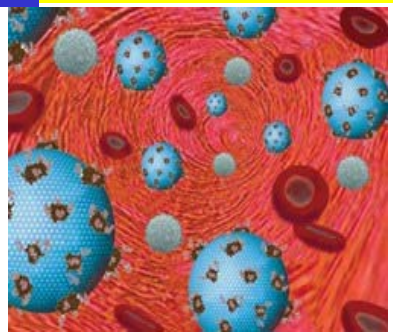
Montag

- Das unspezifische Immunsystem
  - Makrophagen
  - Granulozyten
  - NK Zellen
  - Komplement

Dienstag

- Das spezifische Immunsystem
  - Lymphozyten
  - Antikörper
  - MHC-Moleküle
  - Antigenprozessierung

Blut hat vielfältige Aufgaben



Milieufunktion
ermöglicht die weitgehende Konstanz der Konzentrationen gelöster Stoffe, der Temperatur und des pH = Homöostase

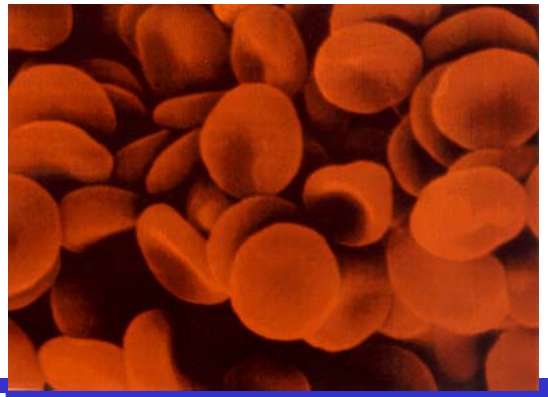
Transport
von Atemgasen, Nähr- und Wirkstoffen, Abfallprodukten des Stoffwechsels und Wärme

Aufrechterhaltung des Säure-Base Gleichgewichts
in Zusammenwirken mit Lunge und Niere

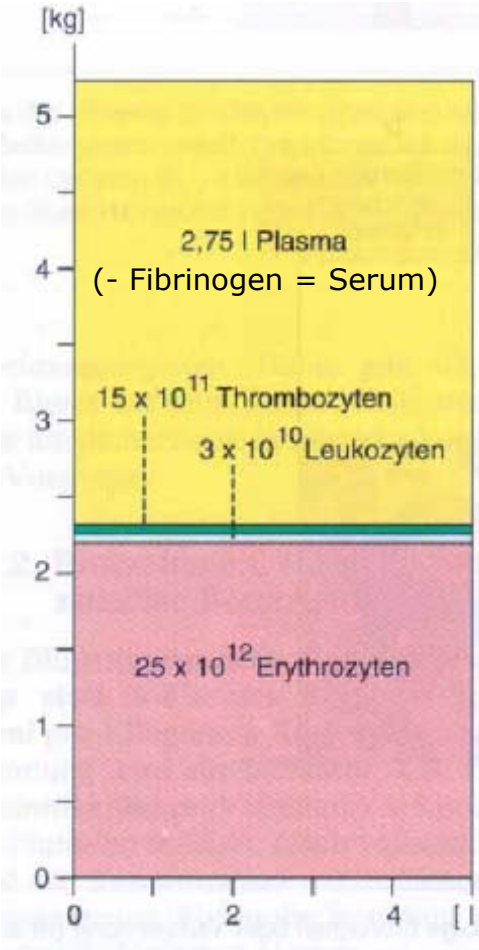
Osmoregulation

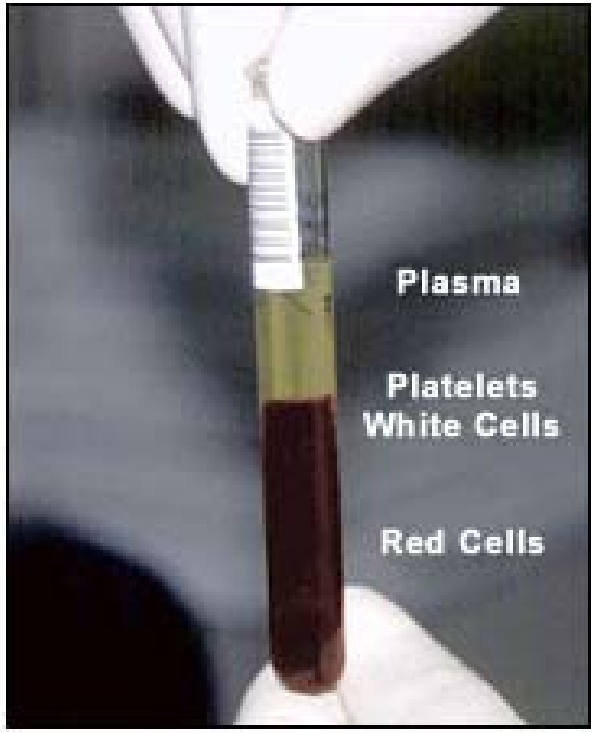
Hämostase

Abwehrfunktion



Bestandteile des Blutes - Plasma und Zellen

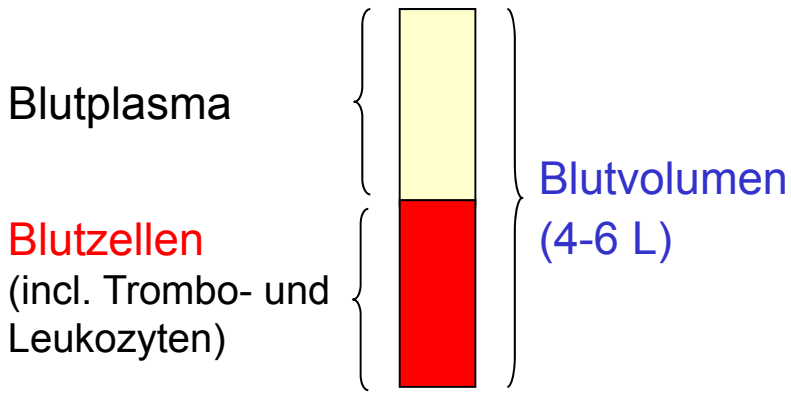


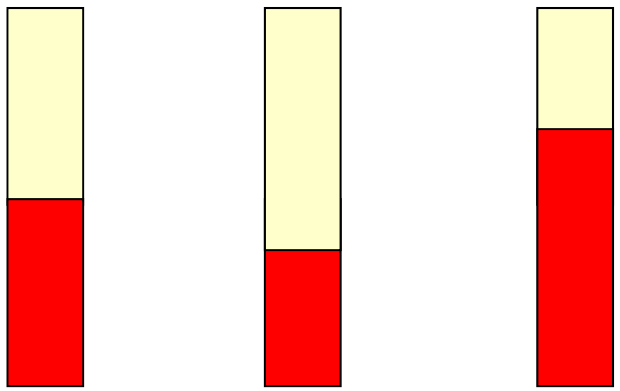


Hämatokrit (Hkt)

Definition: Prozentualer Anteil der zellulären Bestandteile am Gesamtvolumen des Blutes

Bestimmung: Zentrifugation von ungerinnbar gemachtem Blut





$$\text{Hkt} = \frac{\text{Zellvolumen}}{\text{Gesamtvolumen}}$$

	normal	Anämie	Dehydratation
♂	0.40-0.54	0.30	0.70
♀	0.37-0.47		

Veränderungen des Blutvolumens

- Normovolämie
  - normales Blutvolumen
- Hypervolämie
  - Erhöhung des Blutvolumens (z.B. bei der Infusion von Kochsalzlösungen bei eingeschränkter renaler Ausscheidung)
- Hypovolämie
  - Erniedrigung des Blutvolumens (z.B. Dehydratation bei Verbrennungen)

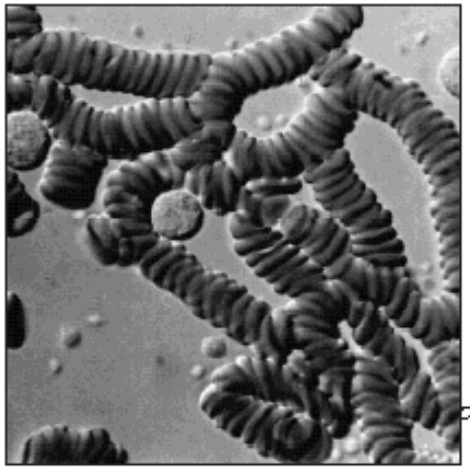
Bestimmung von Plasmavolumen und Blutvolumen

- Das Verdünnungsprinzip:
  Konzentration = Menge / Volumen
- Das Plasmavolumen kann durch Evansblau bestimmt werden (bindet fest an Plasmaproteine)
- Alternativ werden radioaktiv markierte Proteine eingesetzt
- Zwischen Plasmavolumen (V_P), Blutvolumen (V_B) und Hämatokrit (Hkt) besteht folgende Beziehung: $\mathbf{V_P = V_B \times (1 - 0.0087\ Hkt)}$

Blutviskosität hängt von Hämatokrit und Schubspannung ab

Blutviskosität :

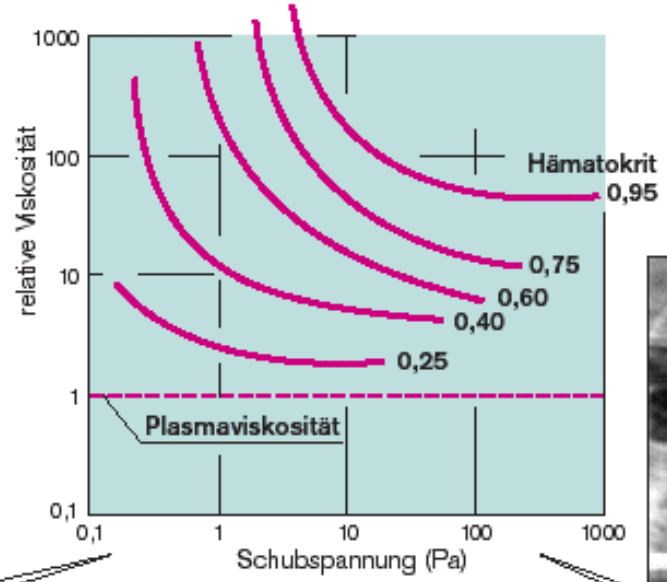
- ↑ bei erhöhtem Hämatokrit
- ↑ bei geringer Schubspannung
- ↑ bei kleiner Strömungsgeschwindigkeit



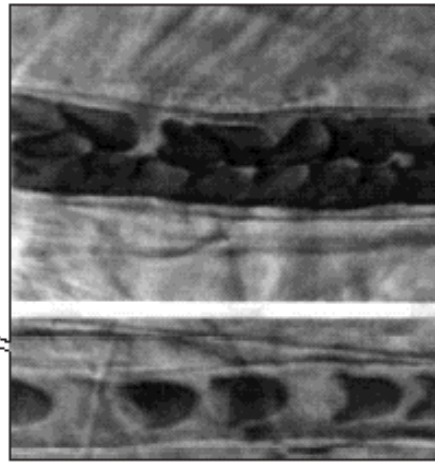
niedrige Schubspannung:
Bildung von vernetzten Erythrozytenaggregaten

(Geldrollenphänomen)

vermehrt bei Verbrennungen, Infektionen



Der Strömungswiderstand steigt linear mit der Viskozität an → Mehrbelastung des Herzens → Minderdurchblutung von Organen



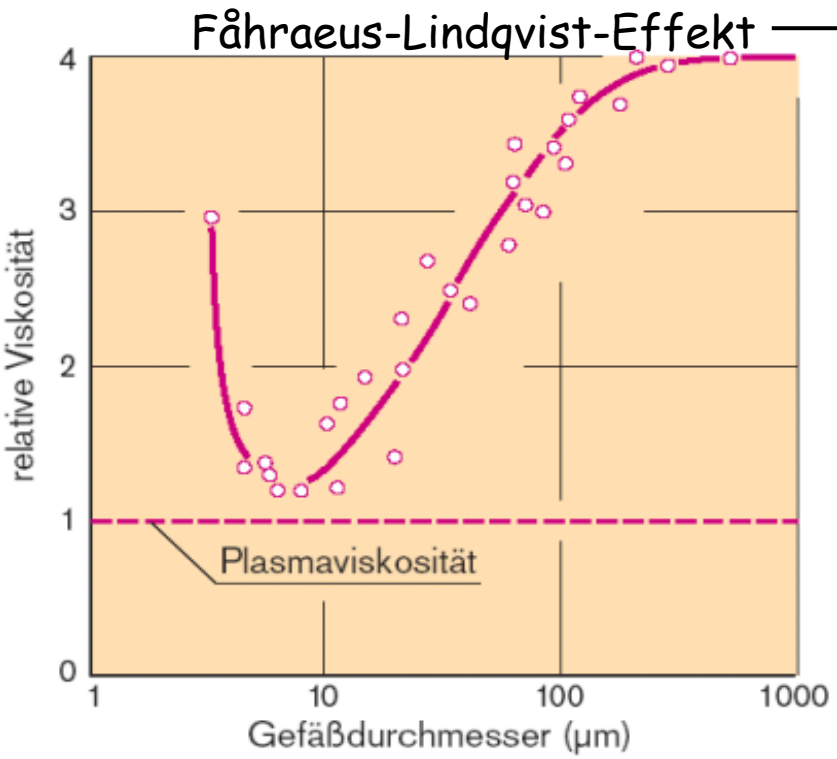
hohe Schubspannung:
Desaggregation und Deformierung

Erythrozyten im Axialstrom

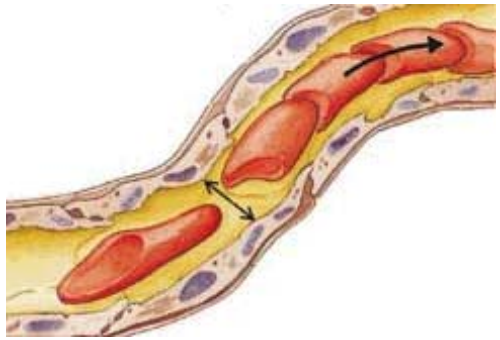
(in Blutgefäßen mit <300 µm)

Blutviskosität hängt vom Gefäßdurchmesser ab

Blutviskosität: ↓ bei ↓ Gefäßdurchmesser

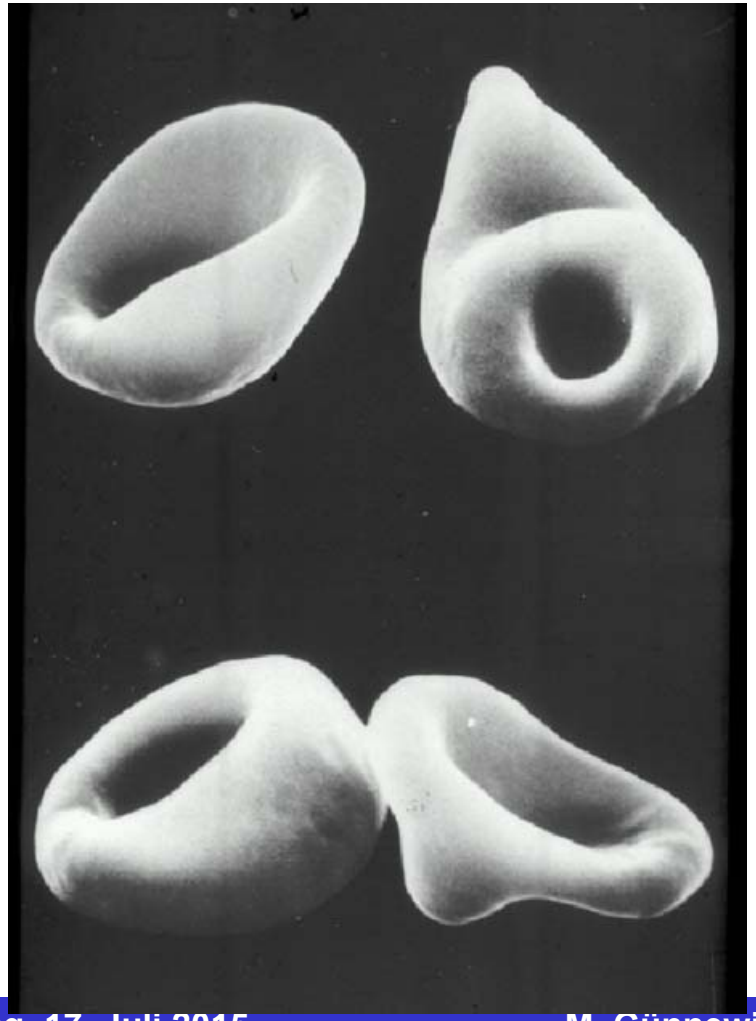


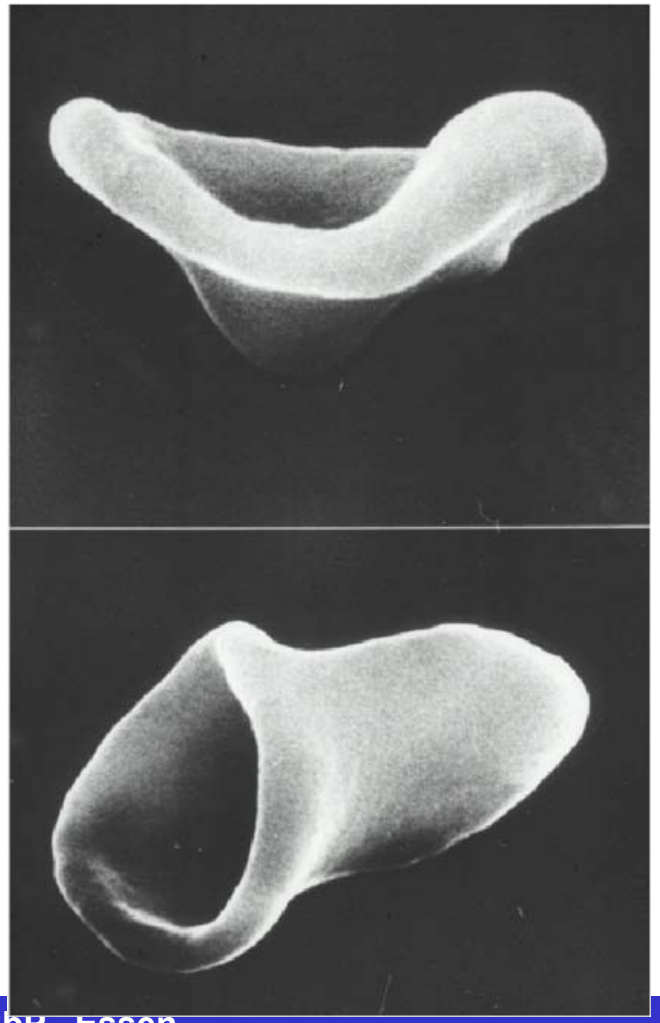
Die Erniedrigung der scheinbaren Viskosität des Blutes mit abnehmendem Gefäßdurchmesser



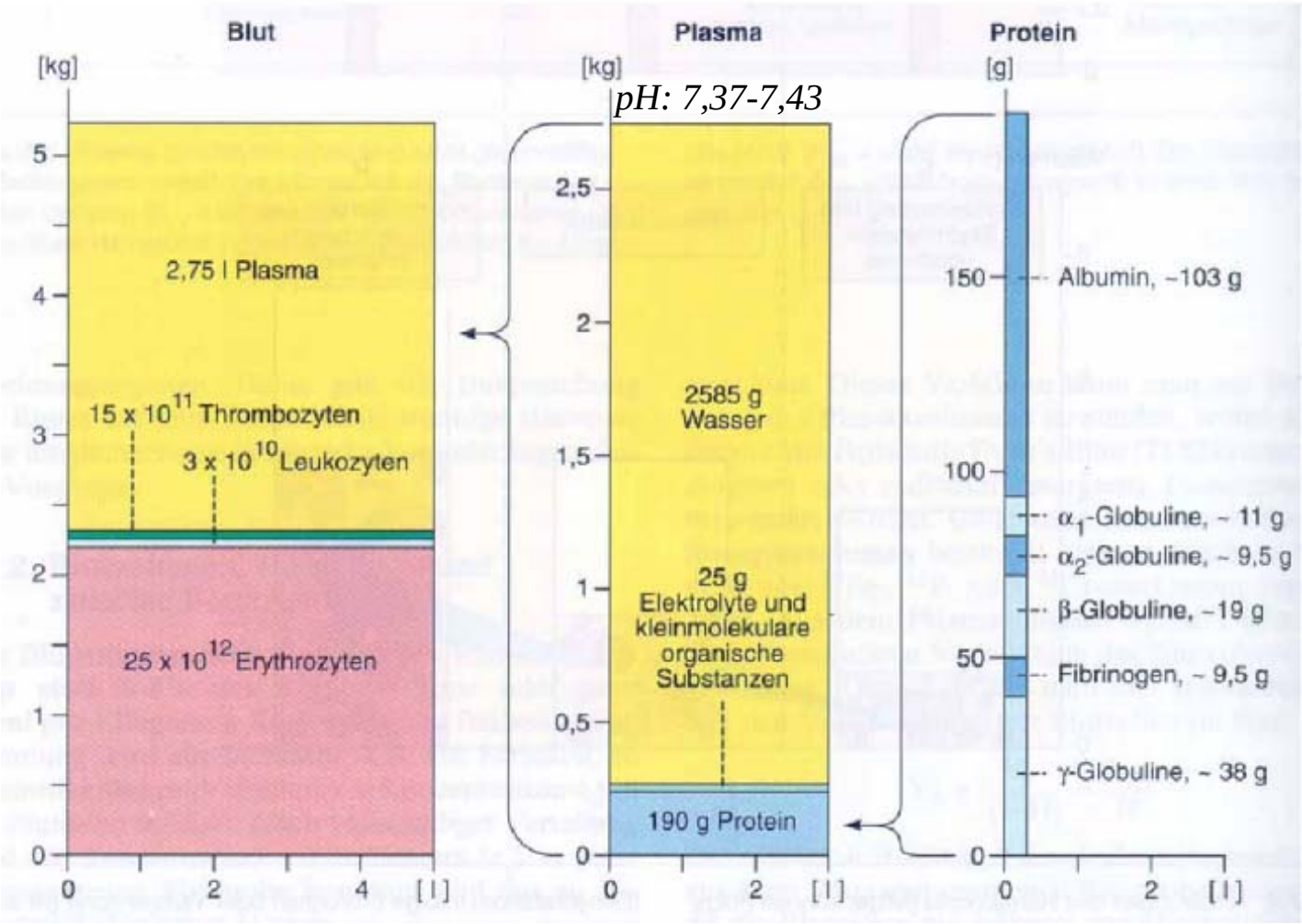
Axialmigration: deformierbare Erythrozyten bewegen sich auf Gefäßmitte zu

Strömungsformen und Verformbarkeit der Erythrozyten



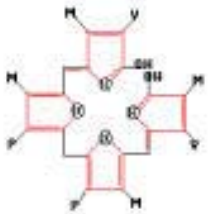


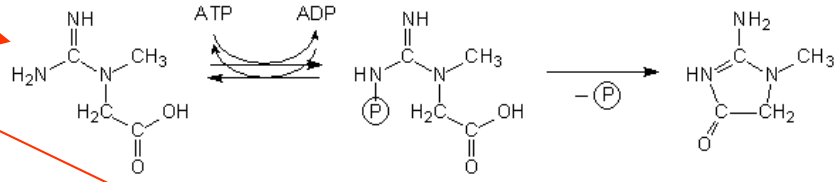
Blutplasma

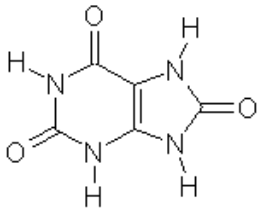

Blut
[kg]
2,75 l Plasma
15 x 10^11 Thrombozyten
3 x 10^10 Leukozyten
25 x 10^12 Erythrozyten
[l]
Plasma
[kg]
pH: 7,37-7,43
2585 g Wasser
25 g Elektrolyte und kleinmolekulare organische Substanzen
190 g Protein
[l]
Protein
[g]
Albumin, ~103 g
α1-Globuline, ~ 11 g
α2-Globuline, ~ 9,5 g
β-Globuline, ~19 g
Fibrinogen, ~ 9,5 g
γ-Globuline, ~ 38 g
[l]

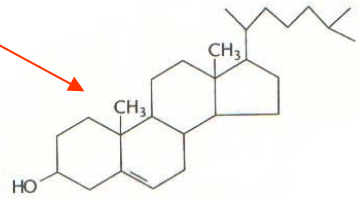
Blutplasma – organische Bestandteile

- Harnstoff
- Aminosäuren
- Bilirubin
- Kreatin
- Harnsäure
- Glukose
- Fruktose
- Glykogen
- Organische Säure
- Triglyzeride
- Cholesterin
- Phosphatide
- Fettsäuren
- Kreatinin





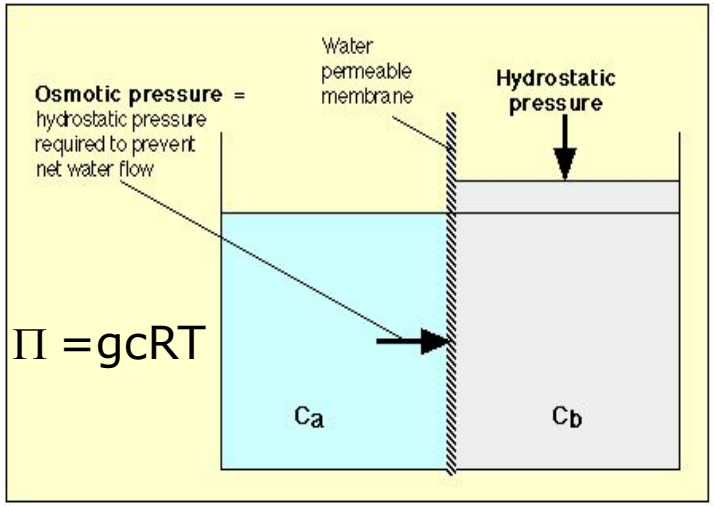




Blutplasma – anorganische Bestandteile

Kationen	mmol/kg Plasma	g/L
Natrium	152	3,27
Kalium	4	0,16
Kalzium	3	0,10
Magnesium	1,6	0,03

Anionen	mmol/kg Plasma	g/L
Chlorid	110	3,65
Bikarbonat	29	1,65
Phosphat	1	0,10
Sulfat	1	0,05
Proteine	1	65-80

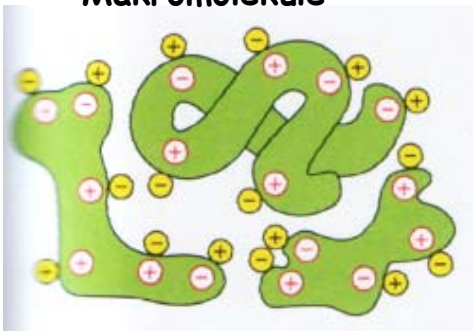


nicht elektrolytisch	
Glukose	5 mmol/kg
Harnstoff	7 mmol/kg

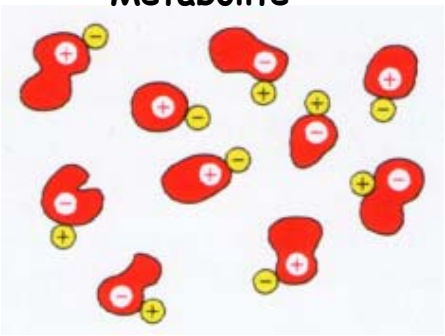
g= osmotischer Koeffizient
c= Konzentration
R=molare Gaskonstante
T=Temperatur

Osmotisch wirksame Teilchen

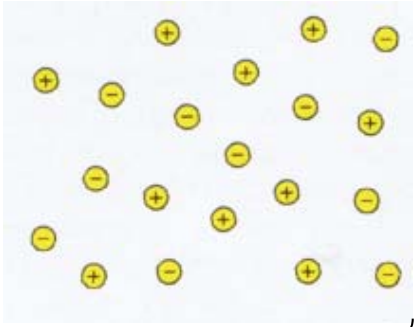
Makromoleküle



Metabolite



Ionen



geringer Beitrag zur Osmolarität

(geringe Konz.)

hoher Beitrag (96%)

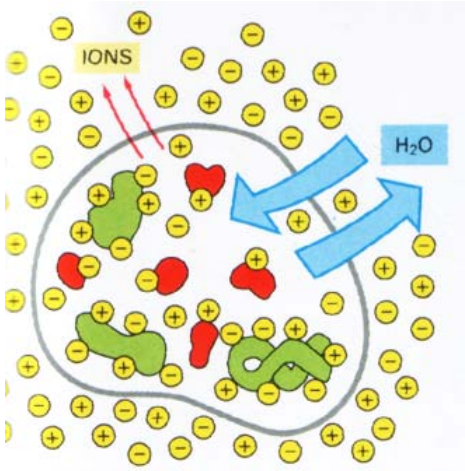
(NaCl 80%)

Plasmaelektrolyte bestimmen den kristalloidosmotischen Druck des Blutes
→ Wasserverteilung zwischen den Zellen und ihrer Umgebung

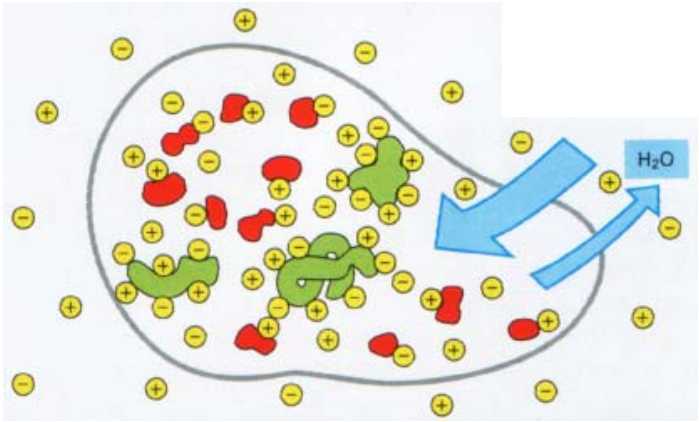
Plasmaproteine bestimmen den kolloidosmotischen Druck des Blutes
→ Wasserverteilung zwischen Plasma und Interstitium

Kontrolle der intrazellulären Osmolarität

aktives Herauspumpen von Ionen

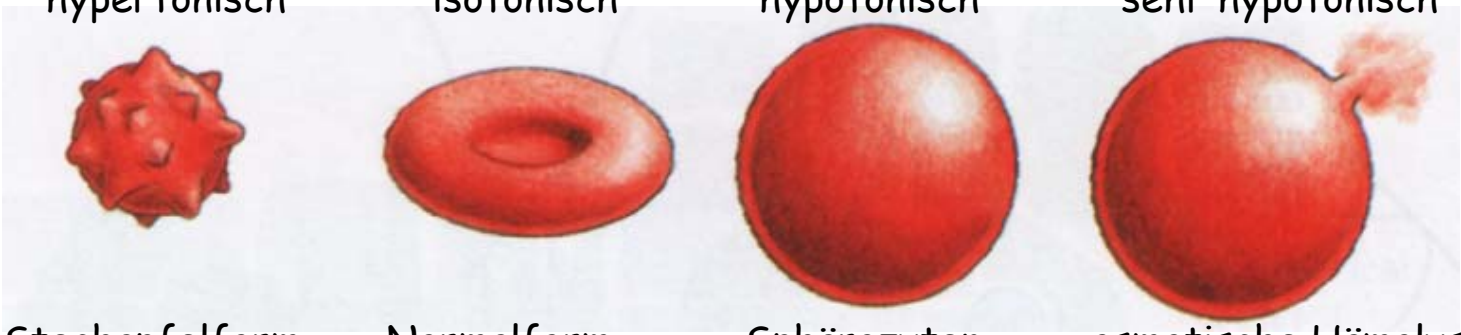


höhere intrazelluläre Osmolarität
$\Rightarrow H_2O$-Einstrom



ansteigende Ionenkonzentration

hypertonisch | isotonisch | hypotonisch | sehr hypotonisch



Stechapfelform | Normalform | Sphärozyten (zelluläres Ödem) | osmotische Hämolyse

Der prozentuale Anteil der einzelnen Serumeiweißfraktionen

Albumin	59,2%
α1-Globulin	3,9%
α2-Globulin	7,5%
β -Globulin	12,1%
γ -Globulin	17,3%

Funktionen der Plasmaproteine

- Nährfunktion (Proteinreservoir)
- Vehikelfunktion (Lösungsvermittler)
- Unspezifische Trägerfunktion (Kalzium)
- Schützt vor Blutverlust (Fibrinogen)
- Pufferfunktion (Ampholyte)
- Abwehrfunktion (Antikörper, Komplement)
- Erzeugung des kolloidosmotischen (onkotischen) Druckes

Plasmaproteine

Albumin

- Molekulargewicht ~ 69000 g/mol
- Anteil: 60% der Plasmaproteine
- transportiert Kalzium, Kupfer, Urorubin, Bilirubin, Fettsäuren, Medikamente (Penicillin, Sulfonamide)
- erzeugt 80% des koloidosmotischen Druckes
- dient als Eiweissreserve
- Neusynthese: 17 g/Tag

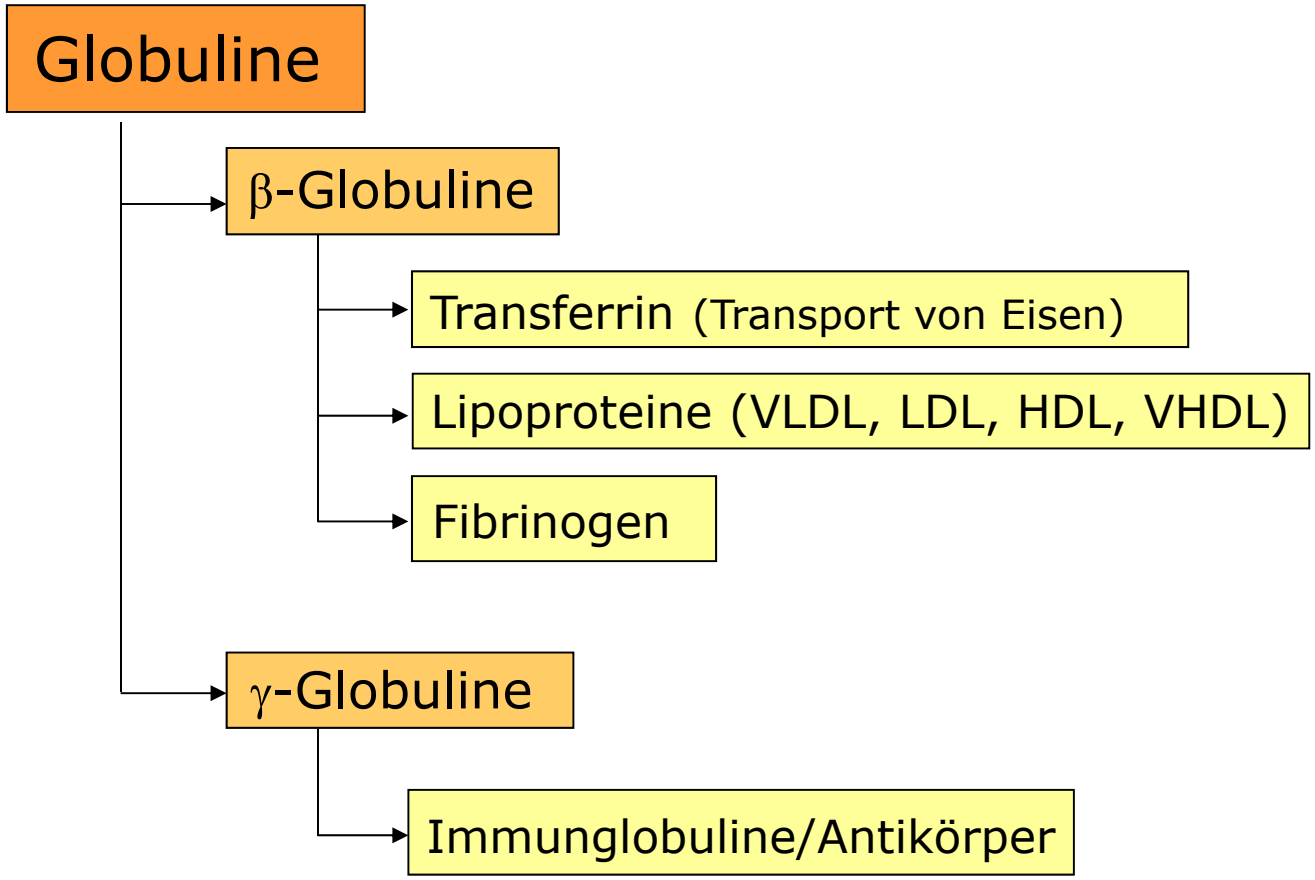
→ Bei entzündlichen Erkrankungen sowie bei Nieren- und Leberschäden verringert sich die Albumin Konzentration

Plasmaproteine

Globuline

- α1-Globuline
  - Glykoproteine (2/3 der Glukose des Plasmas)
  - Thyroxin-bindende Globulin
  - Vitamin B_{12}-bindende Globulin
  - Bilirubin-bindende Globulin
- α2-Globuline
  - Haptoglobin (bindet freies Hämeglobin)
  - Coeruloplasmin (bindet Cu^{++}, 90%)
  - α2-Makroglobulin (Proteinaseinhibitor)

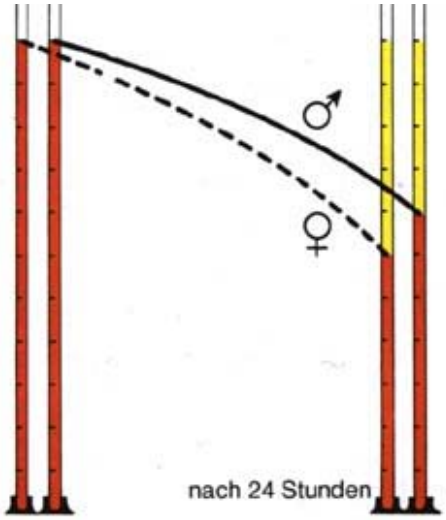
Plasmaproteine



Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)

Blutsenkung: Sedimentation der Erythrozyten in ungerinnbarem Natriumzitratblut

- erhöht bei entzündlichen Prozessen (z.B. das rheumatische Fieber), fortgeschrittenen Tumoren, Anämien, da Plasmaeiweisse auftreten (Fibrinogen, α2-Makroglobulin, Albumin, Immunglobulin), die zu einer Agglomeration der Erythrozyten führen



	Männer	Frauen
nach der 1. Stunde	3-8 mm	6-11 mm
nach der 2. Stunde	5-18 mm	6-20 mm

Blutsenkungsgeschwindigkeit, standardisiert nach Westergren

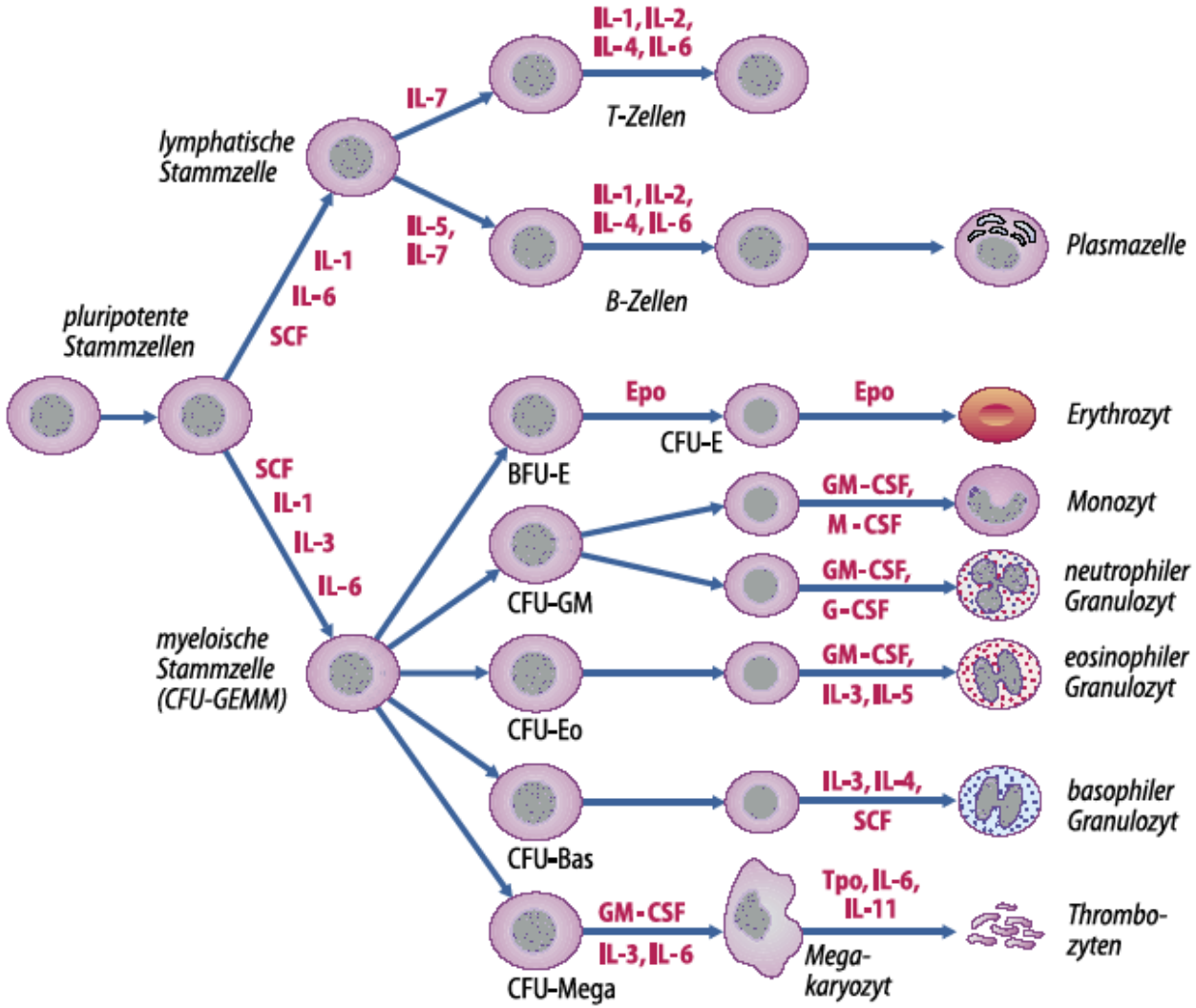
Aus einer beschleunigten BSG wird allgemein auf eine Vermehrung der Akute-Phase-Proteine geschlossen.

Die Dichte der Erythrozyten ist etwa 6-7% höher als die des Plasmas – sie sinken mit einer bestimmten Geschwindigkeit zu Boden. Die Erys stossen sich ab aufgrund ihrer negativ geladenen Zelloberfläche. Je grösser die Menge aggregationsfördender Proteine desto schneller sedimentieren die Erys.

Blutzellen

- Welche Zellen befinden sich im Blut?
- Wo entstehen diese Zellen?
- Was sind die Eigenschaften und die Funktionen dieser Zellen?

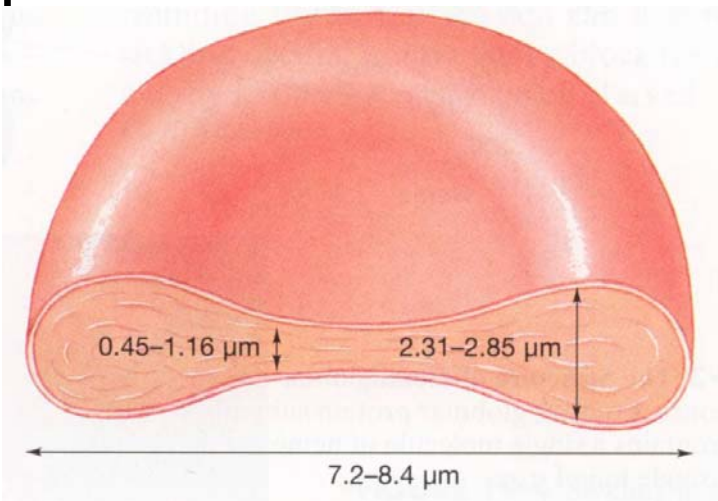
Stammbaumschema der Hämatopoiese



Stimuli

- Multi Lineage Colony Stimulating Factor (Multi-CSF)
- Granulocyte-Macrophage Stimulating Factor (GM-CSF)
- Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF)
- Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF)
- Erythropoietin (EPO)
- Thrombopoietin (TPO)

Erythrozyten



- ca. 95 % aller Blutzellen
- Gastransport: O_2 und CO_2
- hohe Verformbarkeit: Passage enger Kapillaren
- kein Zellkern, keine Mitochondrien
- Energiegewinnung durch anaerobe Glykolyse

- Anzahl im Körper: ~ 25 x 10^{12}
- Anzahl pro Liter Blut: ♂: 4,6 – 6,2 ♀: 4,2 - 5,4 x 10^{12}
- Lebensdauer: 100 - 120 Tage
- Abbau erfolgt in Milz und Leber durch Makrophagen

Erythropoese

rotes Knochenmark (platte und kurze Knochen)

Retikulozyt
(1-2 %,
20-75 x 10^6/ml)

Regulator: Erythropoetin (EPO)

(Niere und Leber bilden EPO)

Ausstoßung des Zellkerns

1 Tag

Stamm zelle | Proerythroblast | basophiler | polychro-matischer | orthochro-matischer (Normolblast) | Erythrozyt

Mitose

Erythroblast

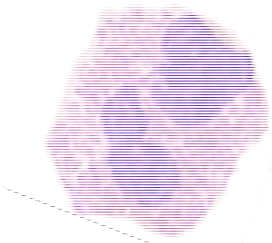
Hämoglobin

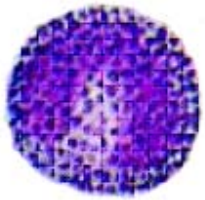
Globin-RNA

Nierenerkrankungen (EPO Synthese vermindert) => Anämie

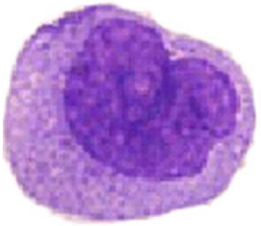
Leukozyten

- Granulozyten (70%)
  - neutrophil
  - eosinophil
  - basophil





  - Stabkernige
  - Segmentkernige
- Agranulozyten (30%)
  - Monozyten



  - Lymphozyten

    - T
      - T_H
      - T_C
    - B
    - NK

Myelopoese

Regulator: Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF)

Stamm zelle | Myelo-blast | Promyelo-cyte | Myelo-cyte | Meta-myelo-cyte | stabker-niger | Segment-kerniger

Mitose

neutrophiler Granulozyt

Primärgranula (grob)

Sekundärgranula (fein)

Luekozyten – Normalwerte

	Prozentzahlen	Absolutzahlen
Gesamtleukozyten		**4000 - 9000/µl**
Gesamtneutrophile	**51 - 74 %**	**1800 - 7200/µl**
Stabkernige	0 - 4 %	0 - 360/µl
Segmentkernige	50 - 70 %	2000 - 6300/µl
Lymphozyten	**25 - 45%**	**1000 - 4050/µl**
Monozyten	**2 - 8 %**	**80 - 600/µl**
Eosinophile	**1 - 4 %**	**40 - 360/µl**
Basophile	**0 - 1%**	**0 - 80/µl**

Leukozytose

Leukozyten > 10 000/µl oder isolierte Vermehrung einzelner leukozytärer Fraktionen

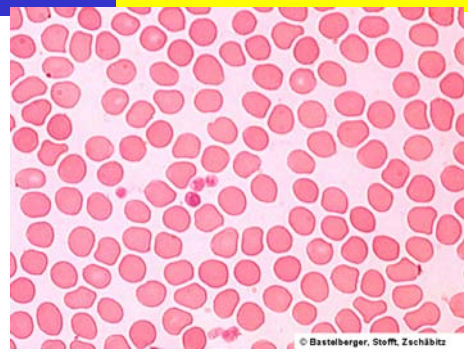
Zellreihe		Leukozytosetyp
Neutrophile Granulozyten	> 7.500/µl	Neutrophile Leukozytose
Lymphozyten	> 4.000/µl	Lymphozytose (chronische Infekte)
Eosinophile Granulozyten	> 450/µl	Eosinophile Leukozytose (Eosinophilie)
Basophile Granulozyten	> 80/µl	Basophile Leukozytose
Monozyten	> 600/µl	Monozytose

Bei allen Bakteriellen Infektionskrankheiten, Leukämien, Tumoren, physiologisch bei Stress, Schwangerschaft, körperlicher Belastung

Leukopenie

- Leukozytenzahl unter 4000/µl; betrifft vornehmlich die Neutrophilen (Neutropenie); Ursachen sind bakterielle (Salmonella) und virale Infektionen, Strahlen, Zytostatika, folgt Sepsis
- Agranulozytose - Granulozytenzahl unter 1000/µl; nur Myelopoese betroffen; hauptsächlich durch Medikamente und allergische Reaktionen ausgelöst; Symptome nur durch Komplikationen (Infektionen)
- Panzytopenie – alle Zellreien sind betroffen

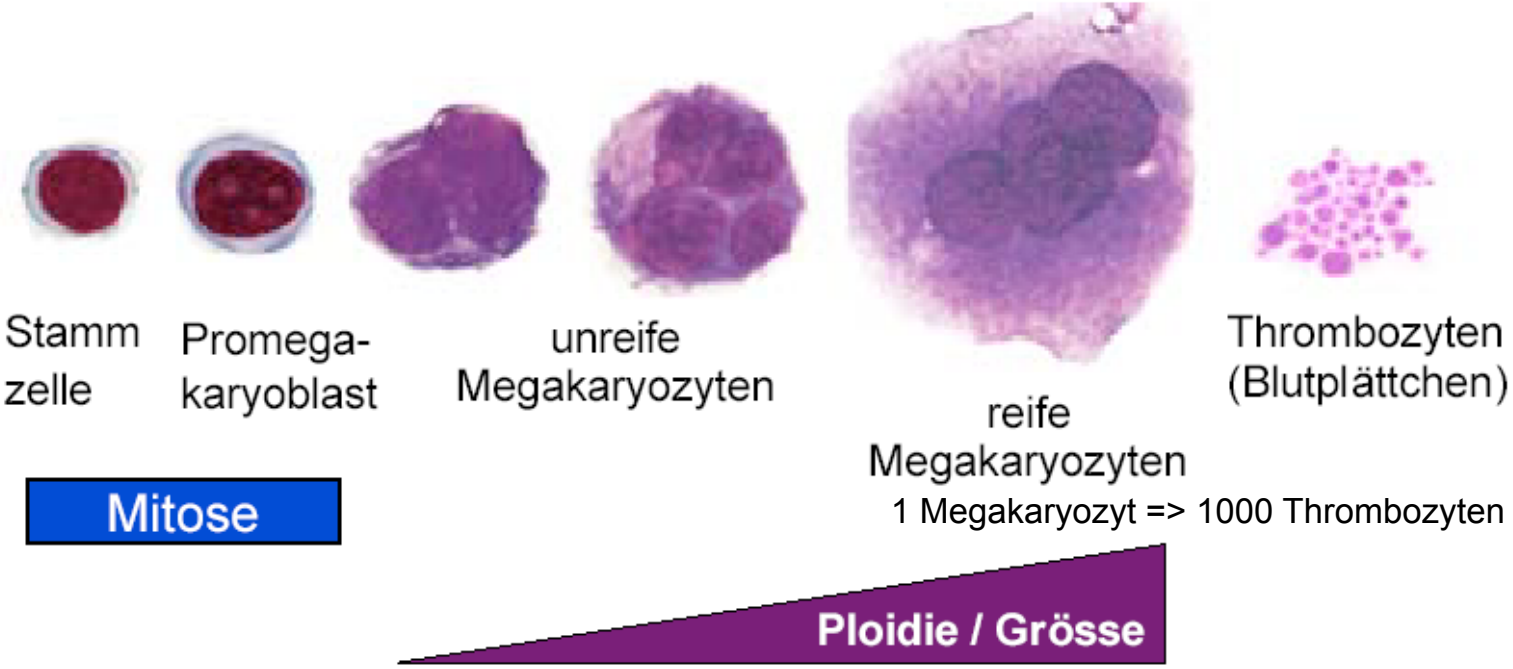
Thrombozyten



- Normalzahl: 150 000–350 000/µl
  - Kinder und Jugendliche bis 530 000/µl,
- Thrombozyten sind flach, unregelmäßig rund, kernlos, aber mit Organellen: Lysosomen, Mitochondrien, Ribosomen, Granula:
  - Alpha Granula: reich an Proteinen (vWF, Albumin, Faktor V, PAF, Fibronectin, Fibrinogen, Thrombospondin, Antitrypsin, Antiplasmin),
  - Delta Granula: enthalten ADP, Serotonin, Calcium,
- ATP wird durch Glykolyse und oxidative Phosphorylierung gewonnen
  - ATP wird für Adhesion, Aggregation und Freisetzung von zelleigenen Stoffen benötigt,
- Thrombozyten werden erst bei verletzten Gefäßen aktiviert und setzten Inhaltsstoffe frei, die für die Blutstillung wichtig sind,
- Lebensdauer: 8-14 Tage,
- Produktion: $1x10^{11}$ Thrombozyten/Tag.

Megakaryopoese

Regulator: Thrombopoietin (TPO) - wird v.a. in der Leber produziert



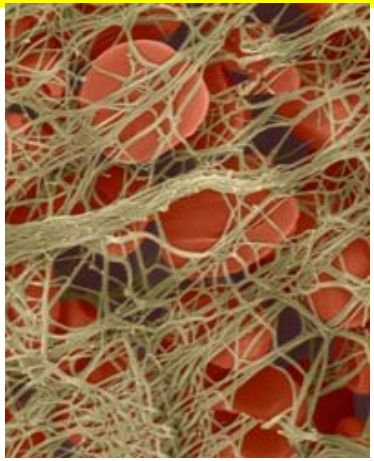
Thrombozyten sind zelluläre Abschnürungen aus Megakaryozyten

(Interleukin-3 und Interleukin-6 stimulieren die Abschnürung)

Thrombozytopenie

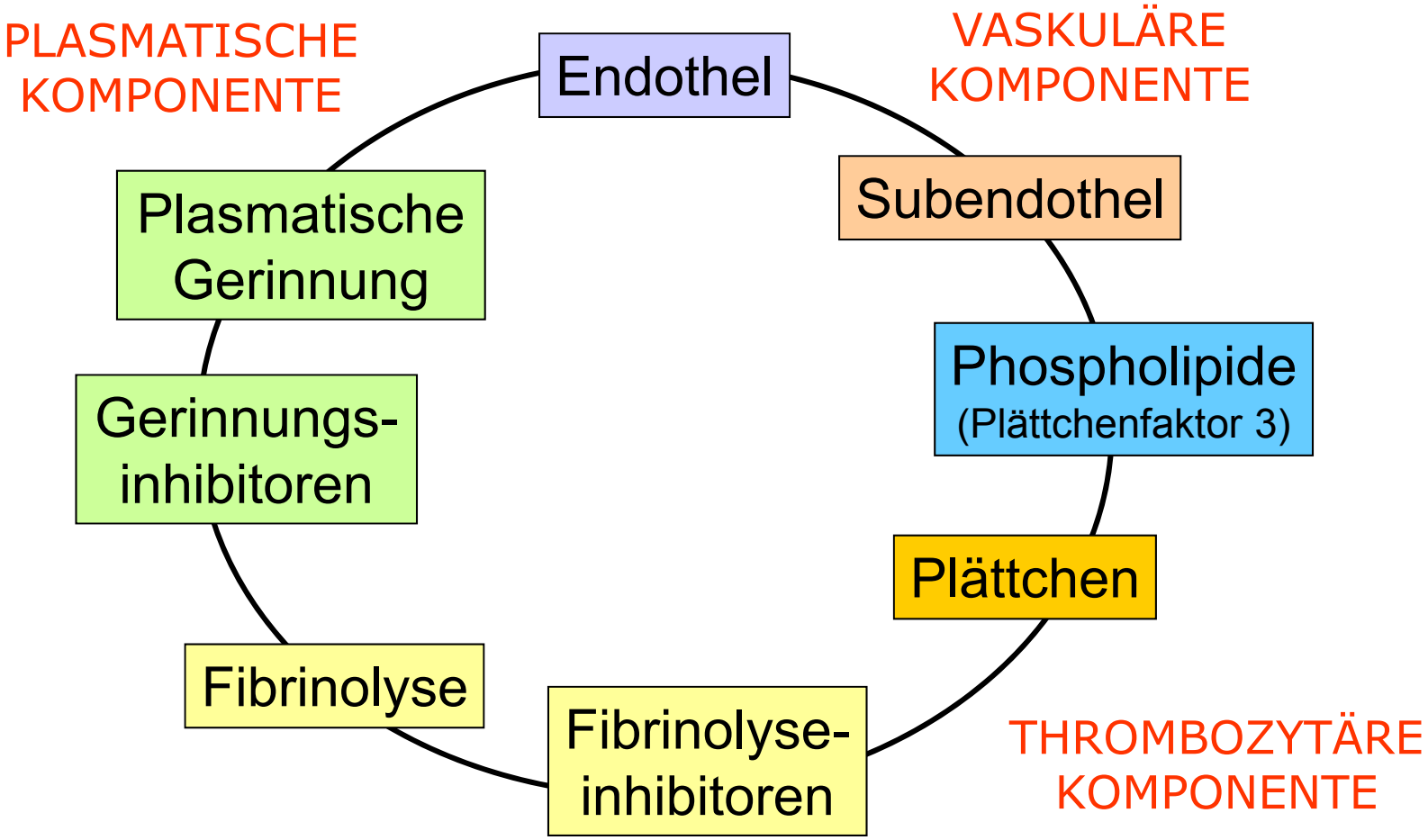
- Verminderung der Zahl der Thrombozyten
  (< 150 000/µl)
- Symptome: Blutungen, meist punktförmig (Petechien)
- Ursachen: meist Autoantikörper gegen Thrombozyten oder im Rahmen von Panzytopenie

Hämostase

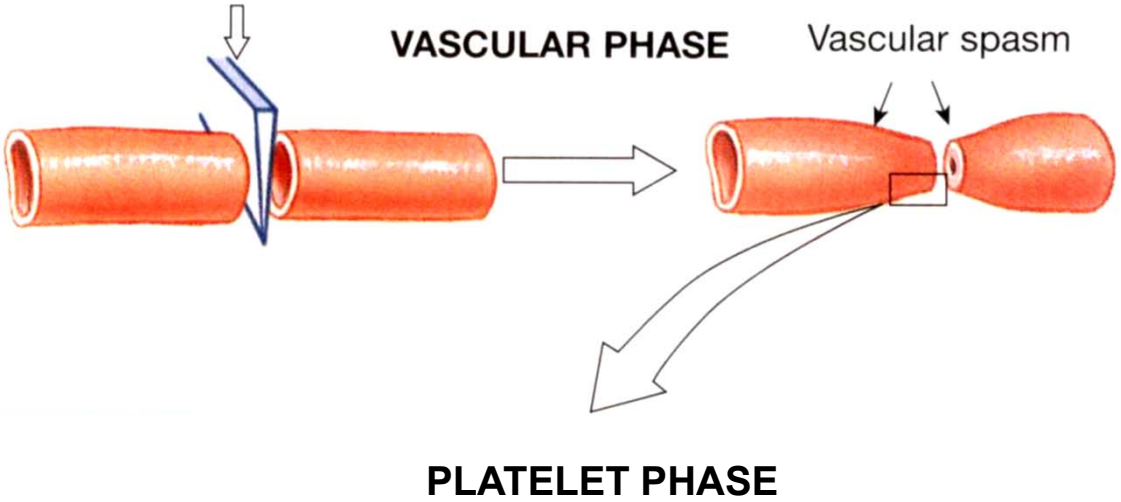


Risiko	Lösung
Blutverlust durch defekte Gefäßwände	Schnelle Blutgerinnung positive Rückkopplung
Gefäßverschluss durch agglutiniertes Blut (Thrombose, Embolie)	Effektive Hemmung durch intakte Gefäßwände und Fibrinolysesystem

Komponenten des Hämostasesystems

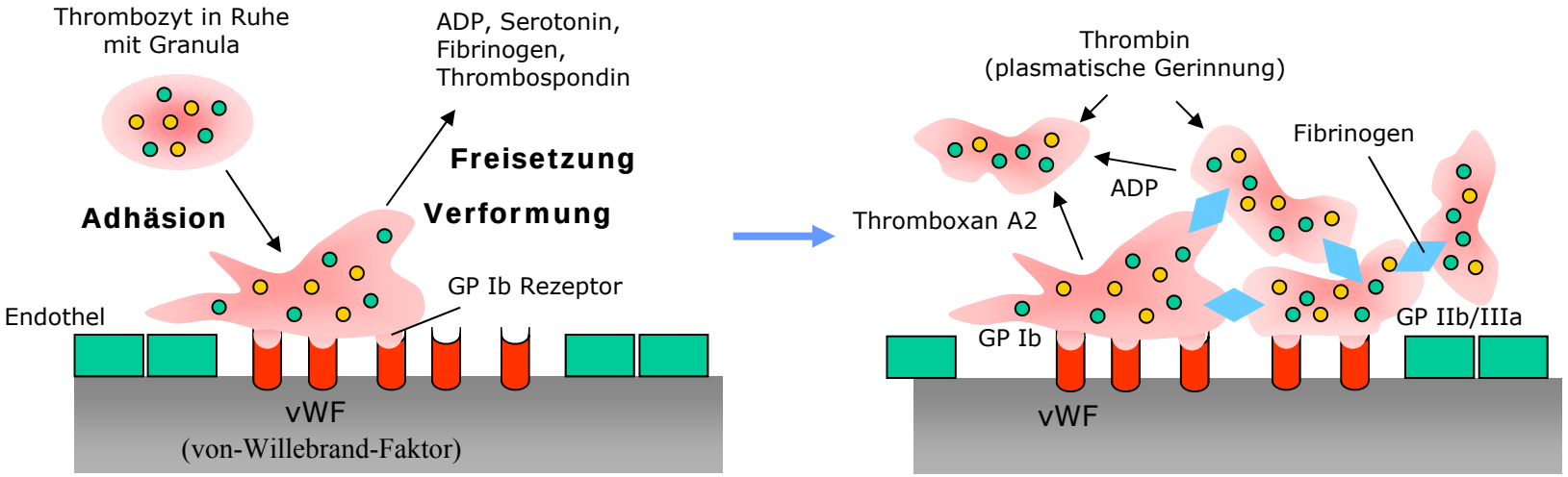


Primäre Hämostase



- initialer Stillstand kleinerer Blutungen nach Verletzung der Gefäßwände durch *Vasokonstriktion*
- es folgt die Abdichtung des Gefäßdefektes durch *Thrombozytenthrombus*

Primäre Hämostase – thrombozytäre Komponente



Thrombozytenadhäsion

Bei der Adhäsion an die subendothelialen Strukturen formen die Plättchen sich um. Sie werden kugelig und bilden stachelartige Fortsätze. Verformte und aktivierte Thrombozyten präsentieren Glykoproteinrezeptoren (GP) und entleeren ihre Granula. Der an subendotheliale Strukturen bindende von-Willebrand-Faktor (vWF) heftet die Plätchen (über Rezeptor GPIb) an die Gefäßwand. vWF wird in den Endothelzellen und in den alpha-Granula der Thrombozyten gespeichert. vWF wird sowohl luminal als auch abluminal in die subendotheliale Matrix von Endothelzellen konstitutiv sowie nach Stimulus sezerniert. von Willebrand Syndrom ist die häufigste kongenitale hämorrhagische Diathese (Blutungsneigung) und eine der häufigsten angeborenen Erkrankungen überhaupt (1:100-1:1000).

Thrombozytenaggregation

An andere Rezeptoren (GPIIb und GPIIIa) binden Fibrinogen, Fibronektin und Thrombospondin, die die Thrombozyten untereinander verknüpfen. Die wichtigsten Stimulatoren der Aggregation sind ADP, Thrombin und Thromboxan A2. ADP aus verletzten Zellen verursacht die Aggregation der Thrombozyten. Diese wird durch Kollagen, Thrombin, Serotonin, Thromboxan A2 und PAF verstärkt. Acetylsalycylsäure (Aspirin) hemmt das Enzym Cyclooxygenase und die Synthese von Thromboxan A2.

Aggregierte Thrombozyten und Erythrozyten

Abbildung gelöscht

Siehe web page von Prof. Robert F.A. Zwaal - http://members.home.nl/roblet/rfa02.html

Thrombozyten: Freisetzungsreaktion

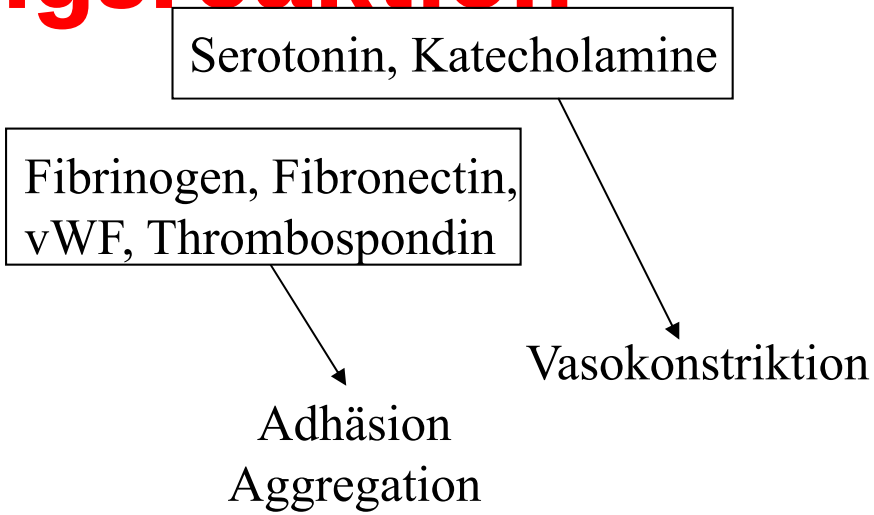


Abbildung gelöscht

Siehe web page von Prof. Robert F.A. Zwaal - http://members.home.nl/roblet/rfa02.html

Oder: Ref: Zwaal, R.F.A., Comfurius, P. and Bevers, E.M. (1992). Platelet procoagulant activity and microvesicle formation. Its putative role in hemostasis and thrombosis. Biochim.Biophys.Acta 1180, 1-8.

Die innere Phospholipoproteine der Thrombozytenplasmamembran werden von aussen zugänglich → Adsorbtion von plasmatischen Gerinnungsfaktoren (Ca^{++}).

Die Prostaglandinsynthese in Thrombozyten und Endothelzellen

Phospholipid

↓ *Phospholipase A2*

Arachidonsäure

Acetylsalicylsäure → ↓ *Cyclooxygenase*

Prostaglandin G_2

↓ *Hydroperoxidase*

Prostaglandin H_2

Thromboxan A2
(stimuliert die Plätchenaggregation und Freisetzungsreaktionen)

Prostazyklin
(inhibiert die Plätchenaggregation)

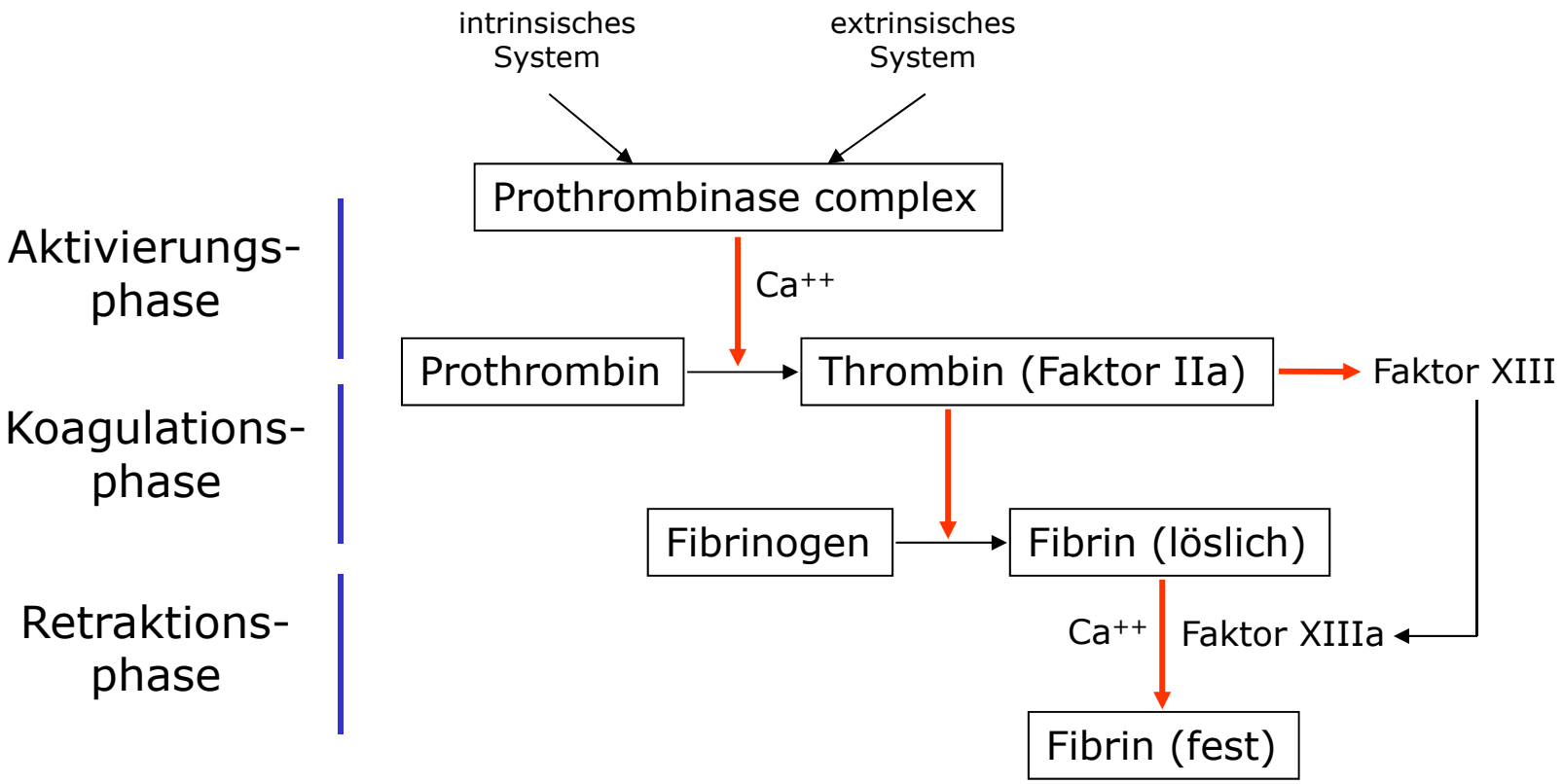
Primäre Hämostase - Diagnostik

- **Blutungszeit**
  - die Zeit bis zum Aufhören einer durch künstliche Verletzung verursachten Blutung,
  - erlaubt eine grobe Beurteilung der Thrombozytenfunktion
  - Normalwert: 2-4 min,
  - verlängert bei Thrombozytopenien und –pathien (e.g. vWF-Mangel), Angiopathien, ausgeprägtem Fibrinogenmangel
- **Plätchenzahlbestimmung**
- **Thrombozytenfunktionsanalyse**
- **Bestimmung des vWF-Antigens mittels ELISA**

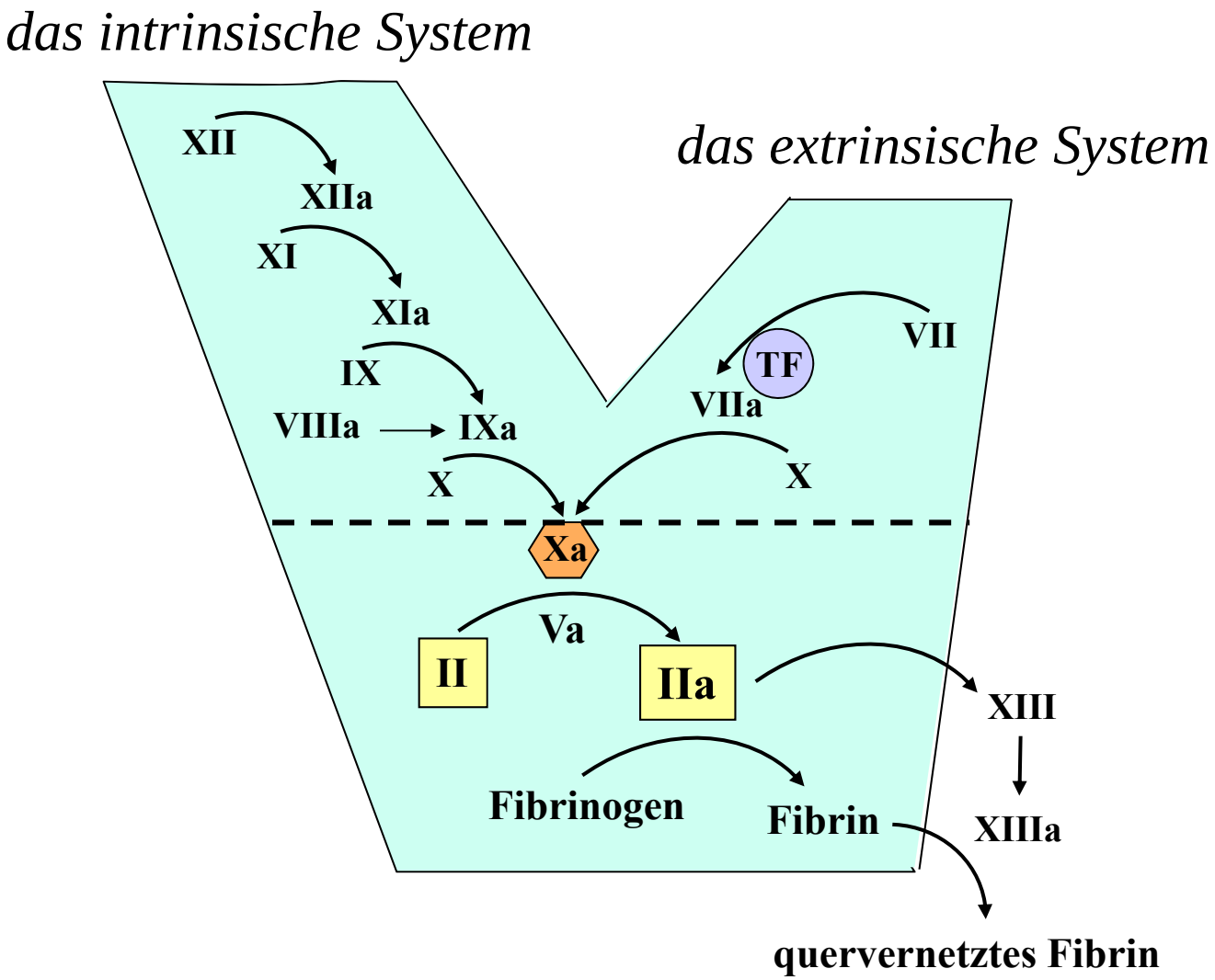
Sekundäre Hämostase

- Plasmatische Gerinnung
  - eine Abfolge von proteolytischen Prozessen, an deren Ende die Umwandlung von Fibrinogen zu vernetztem Fibrin steht
  - beteiligt sind: ~13 Proteine, Ca^{++}, Phospholipide
  - Enzyme werden stufenweise aktiviert (limitierte Proteolyse)
- Plasmatische Fibrinolyse

Grundlegendes Schema der plasmatischen Blutgerinnung



Shema des Gerinnungsystems

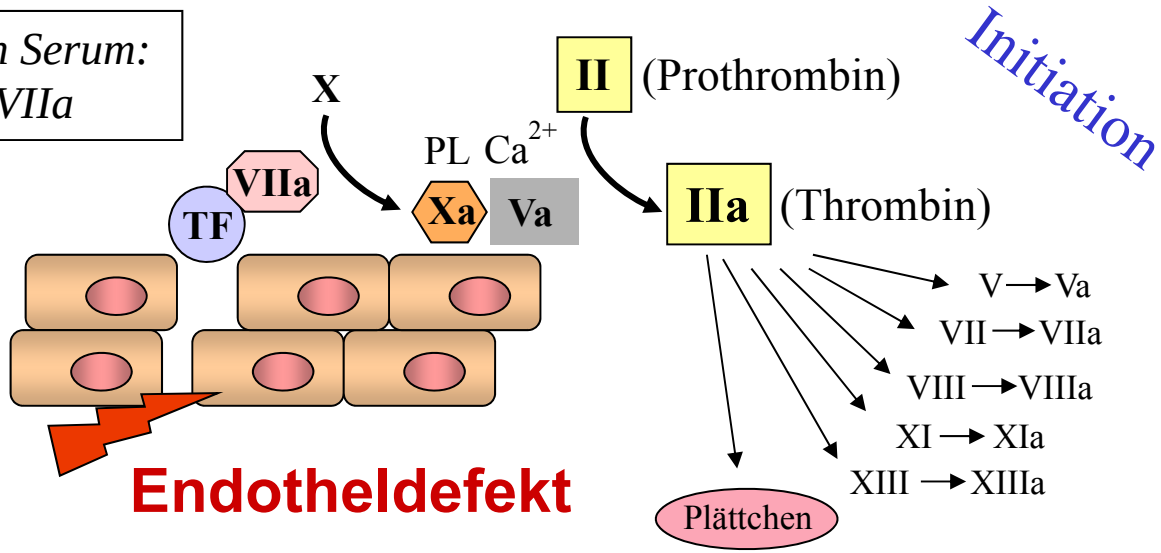


Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka-Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Schema des Gerinnungssystems

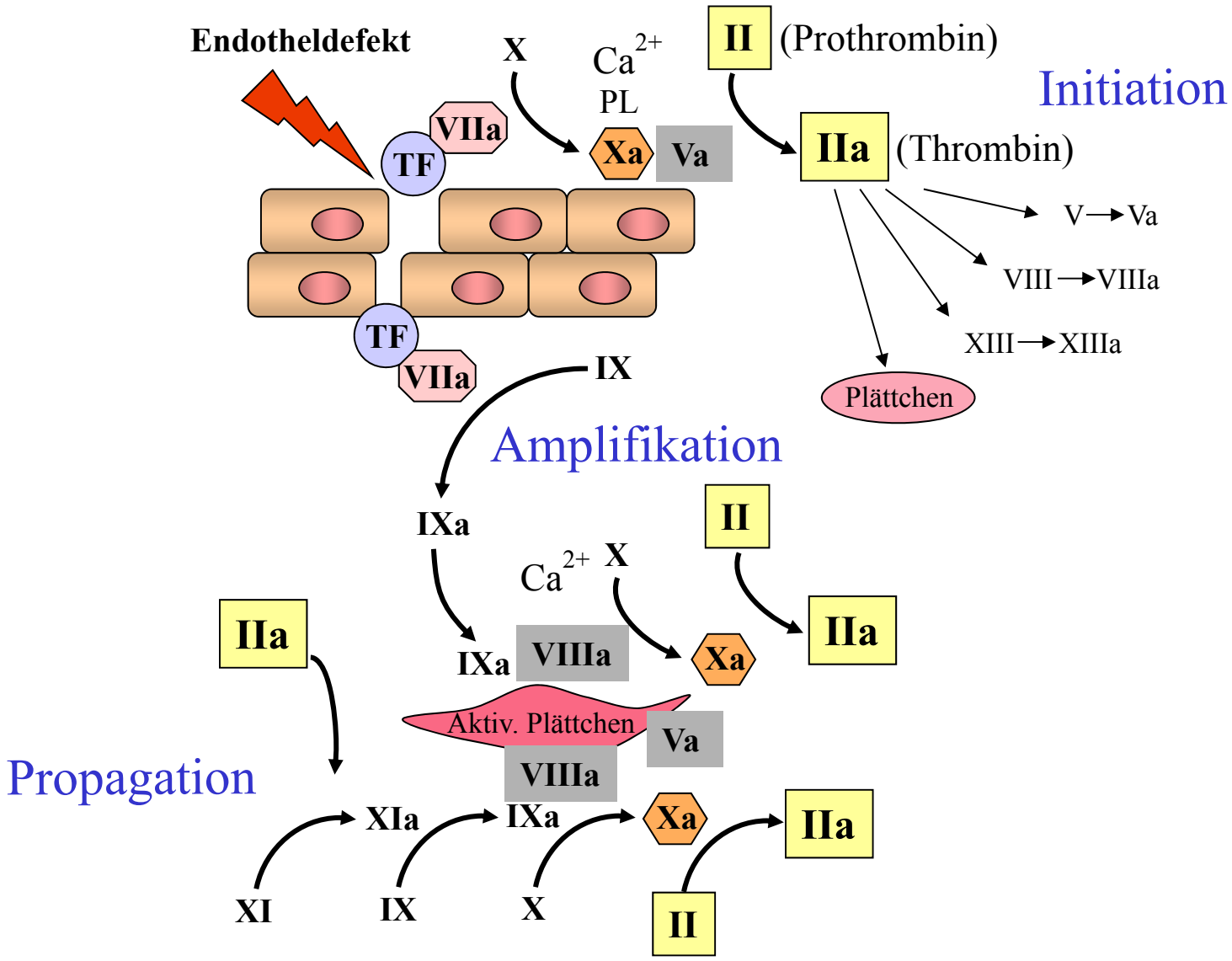
$Xa+Va+PL+Ca^{2+}$ = Prothrombinase complex

Faktor VII in Serum: 1% als VIIa



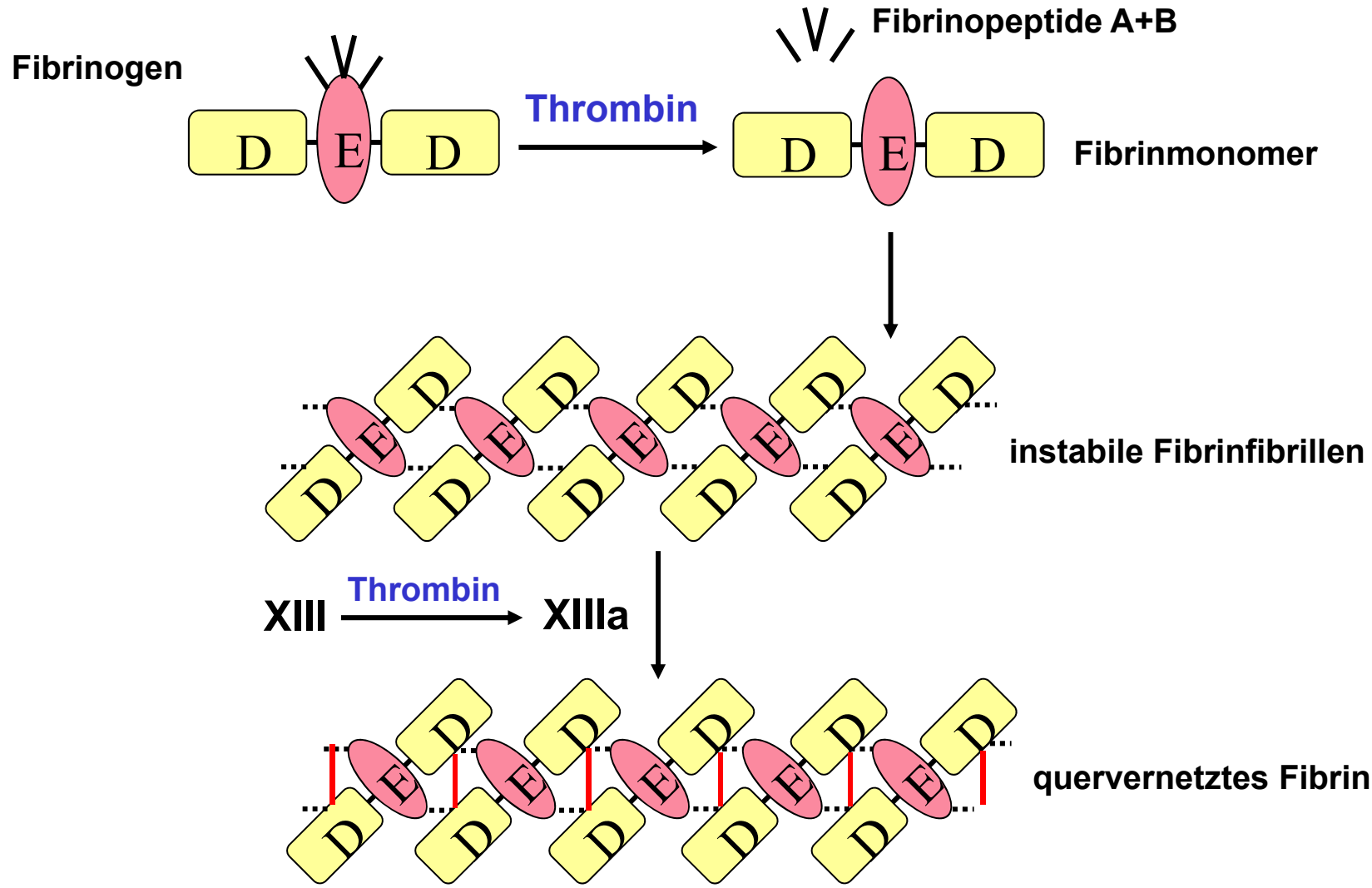
Faktoren V + VIII werden durch kleine Mengen von Thrombin aktiviert, aber durch große Mengen inaktiviert

Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002



Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Schema der Fibrinbildung



Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka-Prondzinski et al.: Blutgerinnung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Endogene Inhibitoren der plasmatischen Gerinnung

- Antithrombin (früher AT III)
  - ist der wichtigste Inhibitor der Serinproteasen
  - hemmt FII und FXa, aber auch Kallikrein, Faktoren XIIa, XIa, IXa und VIIa
  - seine Aktivität durch Heparansulfat oder Heparin vertausendfacht
- Thrombomodulin
  - der bedeutendste Thrombinrezeptor auf Endothelzellen
  - Thrombin in Thrombomodulin Komplex verliert seine gerinnungsfördernden Eigenschaften
- Protein C (Vitamin K-abhängige Protease)
  - eines der wichtigsten Mechanismen mit antikoagulatorischer Wirkung
  - Thrombin-Thrombomodulin-Komplex an Endothelzellen aktiviert Protein C
  - proteolytisch baut die Faktoren Va und VIIIa ab
  - neutralisiert das PAI
  - Protein S dient als Kofaktor
  - synthetisiert in der Leber, Vitamin K-abhängig (auch Protein S)

Hemmung der Blutgerinnung

-Temperatursenkung (*in vitro*)
- silikonisierte Kanülen und Sammelgefäße (*in vitro*)
- Bindung von Kalzium (*in vitro*)
    - Na-Zitrat
    - Na-Oxalat, K-Oxalat, Ammonium-Oxalat
    - EDTA
- Heparin (*in vitro* + ***in vivo***)
    - bindet und aktiviert Antithrombin
    - Antidot: Protaminsulfat inaktiviert Heparin
    - nur **parenteral** applizierbar, **wirkt nur 4-6 Std. *in vivo***
- Kumarinderivate (***in vivo***)
    - Vitamin K-Antagonisten, **oral** applizierbar
    - Vitamin K-abhängige Faktoren: II, VII, IX, X (erhalten γ-Carboxyglutaminsäurereste)
    - **Wirkung: 2 (Warfarin) -7 (Marcumar) Tage**
    - bevorzugt für Dauertherapie von Erkrankungen mit Thromboseneigung
    - therapeutische TPZ Werte: 15-35%

Das Fibrinolysesystem

Gewebeaktivator (Trypsin, Urokinase--PA, Gewebe-PA)

Blutaktivator (FXIIa, Kallikrein)

↓

Plasminogen (81 kDa) → Plasmin (35 kDa)

↓

Fibrin, Fibrinogen, Prothrombin, Faktoren V, VIII, IX, XI, XII

↓

lösliche Peptide

↓

Hemmung von Thrombin

↓

Auflösung von Blutgerinnseln von innen her und Verminderung der Blutgerinnungsfähigkeit

Enzymatische Thrombolysetherapie: Streptokinase, Urokinase, rekombinanter t-PA

Endogene Fibrinolyseinhibitoren

(das an Fibrin gebundene Plasmin kann nicht inaktiviert werden)

- Plasmininhibitoren
  - α2-Antiplasmin
    - hemmt Plasmin im Plasma
  - α2-Makroglobulin
    - hemmt Plasmin + andere Serinproteasen
  - α2-Antitrypsin
    - hemmt Plasmin, Trypsin, Urokinase
  - Antithrombin
- Plasminogenaktivatorinhibitoren (PAI)
  - PAI 1-4
  - C1-Inhibitor
    - hemmt XIIa, XIa, Plasmin

Pharmakologischer Inhibitor: ε-Aminokapronsäure-hemmt Plasminogen und Plasmin

Gerinnungsstörungen

- hämorrhagische Diathesen:
  - *thrombozytäre,*
  - *plasmatische,*
  - *vaskuläre.*
- erworbener Mangel
  - *Vitamin K Mangel, Infektionen, starke Blutungen (Verbrauchskoagulopathie), Lebererkrankungen*
- angeborener Mangel
  - *von Willebrand Syndrom, Hämophilien A und B, angeborene Thrombozytopenien*

Funktion der Gerinnungsfaktoren

- Substrat: Faktor I (Fibrinogen)
- Proteasen: Faktoren XII, XI, X, IX, VII, II
- Cofaktoren: TF (FIII), V und VIII
- Transglutaminase: Faktor XIII
- Phospholipide: Plätchenfaktor III und Phospholipidteil des TFs
- Vitamin K-abhängige Faktoren: II, VII, IX, X
  - erhalten γ-Carboxyglutaminsäurereste

Einteilung von Faktoren und Inhibitoren der plasmatischen Gerinnung

- Prokoagulatorische Faktoren: I (Fibrinogen), II (Thrombin), III (TF), V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII
- Inhibitoren der Gerinnung: Antithrombin III, Thrombomodulin, Protein C, Protein S
- Serin Proteasen: Faktoren II, VII, IX, X, XI, XII, Protein C
- Vitamin K-abhängige Proteine: Faktoren II, VII, IX, X, Protein C, Protein S
- Kontaktfaktoren: faktoren XI, XII, HMWK, Präkallikrein
- Thrombin-sensitive Faktoren: Faktoren I, V, VII, VIII, XI, XIII

Abwehrfunktion des Blutes I

Überblick

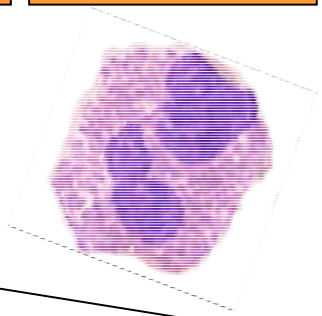
- Blut – Funktion
- Blutplasma
  - Bestandteile
  - Plasmaproteine
- Blutzellen
  - Hämatopoiese
  - Erythrozyten
  - Leukozyten
  - Thrombozyten
- Blutgerinnung
  - primäre Hämostase
  - sekundäre Hämostase

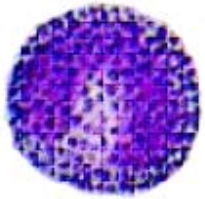
- Das Immunsystem
  - Organisation
- Das unspezifische Immunsystem
  - Monozyten
  - Granulozyten
  - NK Zellen
  - Komplement

- Das spezifische Immunsystem
  - T und B Lymphozyten
  - Antikörper
  - Antigenprozessierung

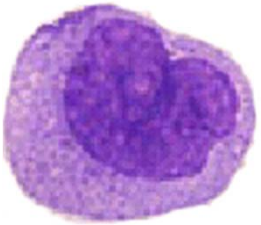
Erythrozyten **Leukozyten** Thrombozyten

- Granulozyten (70%)
  - neutrophil
  - eosinophil
  - basophil





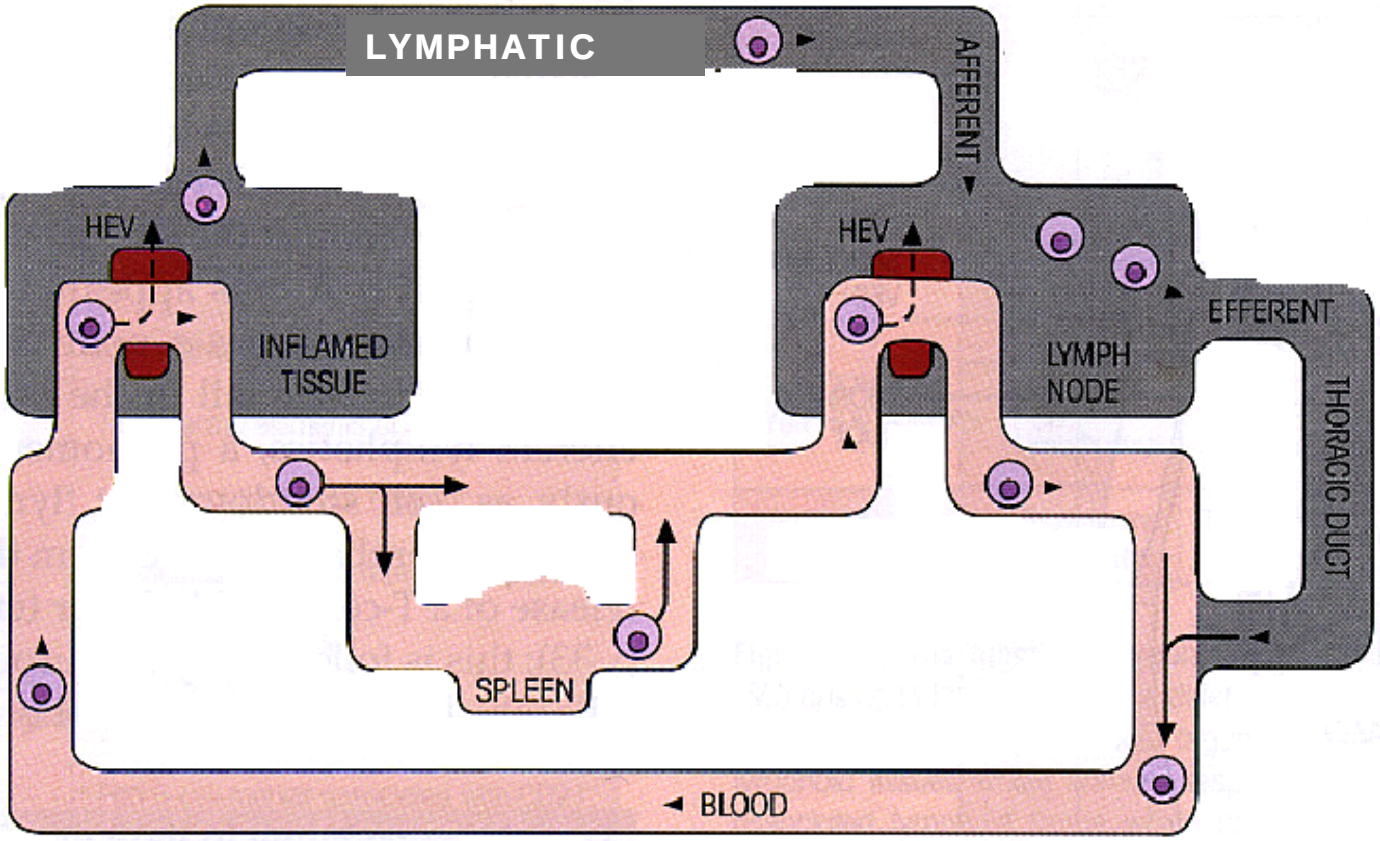
  - Stabkernige
  - Segmentkernige
- Agranulozyten (30%)
  - Monozyten



  - Lymphozyten

    - T
      - T_H
      - T_C
    - B
    - NK

Wohin wandern die Leukozyten?



Aufgaben des Immunsystems

- Unterscheidung von „körpereigen“ und „körperfremd“
- Abwehr von körperfremden Substanzen
- Erkennen und Binden von Antigenen
- Erkennen und Töten von Krebszellen/virusinfizierten Zellen
- Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses

Antigene sind Substanzen, die eine imunologische Reaktion in Gang setzen

Beispiele für klinisch wichtige zelluläre Antigene:

Bakterien	z.B. Streptokokken, E.coli, Salmonellen
Viren	HBV, HIV, Herpesviren
Körperzellen	- Krebszellen - virusinfizierte körpereigene Zellen - Fremde Zellen eines Transplantates, z.B. Herz, Niere, Knochenmarkszellen

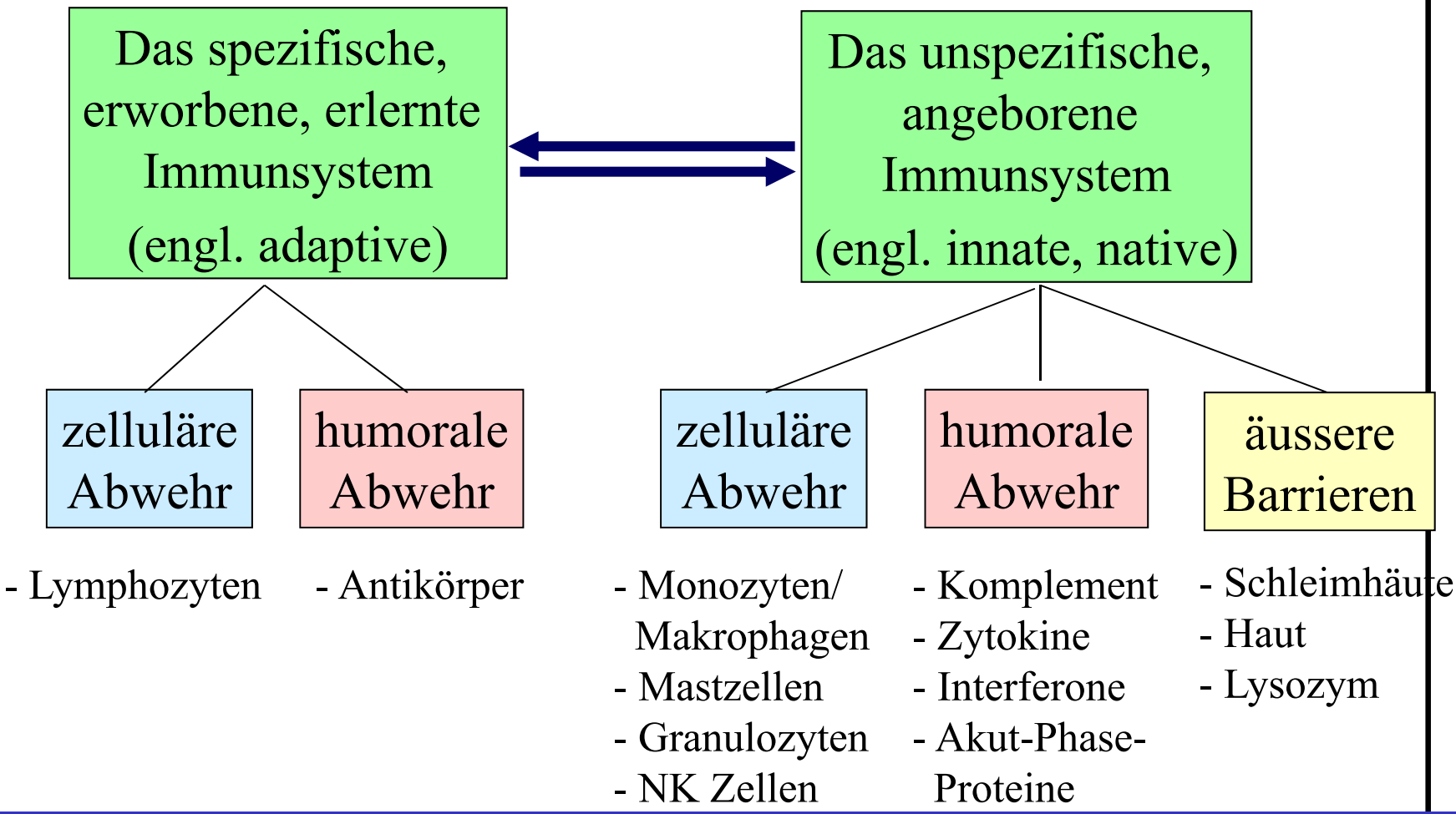
Übernommen von: http://www.biorama.ch/biblio/b60immu/imm000.htm

Beispiele für klinisch wichtige hochmolekulare Antigene

Proteine	Praktisch alle
Polysacharide	z.B. Oberflächenantigene von Bakterien, SSS (soluble specific substance) von Pneumokokken, Dextran
Lipopolysacharide	Salmonellenendotoxine
Glykoproteine	Blutgruppensubstanzen auf Erythrozyten
Nukleinsäuren	DNS von Viren oder Leukozyten
Synthetische Makromoleküle	Polyaminosäuren, PVP (Polyvinylpyrolidon) Silikone, Latex (natürlich/synthetisch)
Partikuläre Antigene	Pollenkörner, Hausstaubmilbenkot, Taubenfedern, Tierhaare oder Hautschuppen, Schweineborsten, Crevettenschalen

Übernommen von: http://www.biorama.ch/biblio/b60immu/imm000.htm

Aufbau des Immunsystems



Eigenschaften des spezifischen und unspezifischen Immunsystems

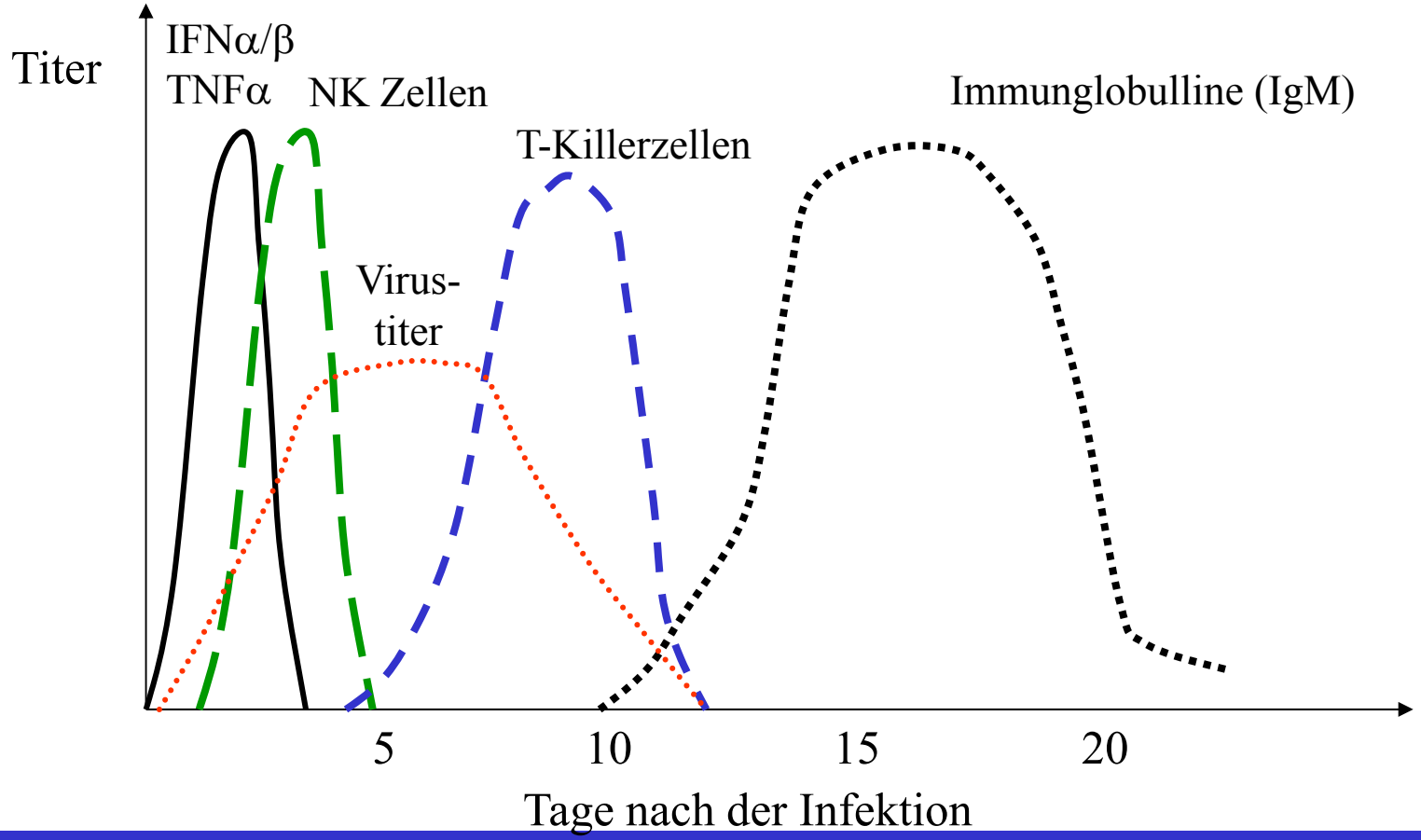
Eigenschaft	Unspezifische, angeborene	Spezifische, erworbene
Pathogenspezifizität	Niedrig	Hoch
Diversität	Begrenzt	Groß (~10^9)
Gedächtnis	Nein	Ja
sekundäre Antwort	Nein	Ja
Klonalität	Nein	Ja
Geschwindigkeit	Sofort	Verzögert

Warum zelluläre und humorale Abwehr?

- Entfernung löslicher bakterieller Toxine und extrazellulärer Pathogene benötigt Antikörper (→ Phagozytose, Opsonierung, Neutralisation, Komplementaktivierung)

- Immunantwort auf intrazellulären Pathogene benötigt zelluläre Immunantwort (→ MHC Klasse I und II Antigenprozessierung und Antigenpräsentation)

Kinetik der unspezifischen und spezifischen Immunantwort



Monozyten und Makrophagen

- Monozyten sind Vorläufer der Makrophagen und dendritischen Zellen im Blut
- Monozyten differenzieren in den Geweben zu Makrophagen:
  - in der Leber:
    Kuppfersche Sternzellen
  - in der Lunge: Alveolarmakrophagen
  - im Peritoneum: Peritonealmakrophagen
  - im ZNS:
    Mikroglia
  - im Bindegewebe:
    Histiozyten

Erkennung von Antigenen durch Makrophagen

- über Rezeptoren:
  - Mannoserezeptor
  - Komplementrezeptor
  - Fc-Rezeptor
  - Scavenger Rezeptor für apoptotische Zellen
    - Danger theory
  - TLRs (Toll-like Rezeptoren) – z.B. TLR4 für LPS
    - Pattern-recognition theory
    - PAMP (pathogen-associated molecular patterns)

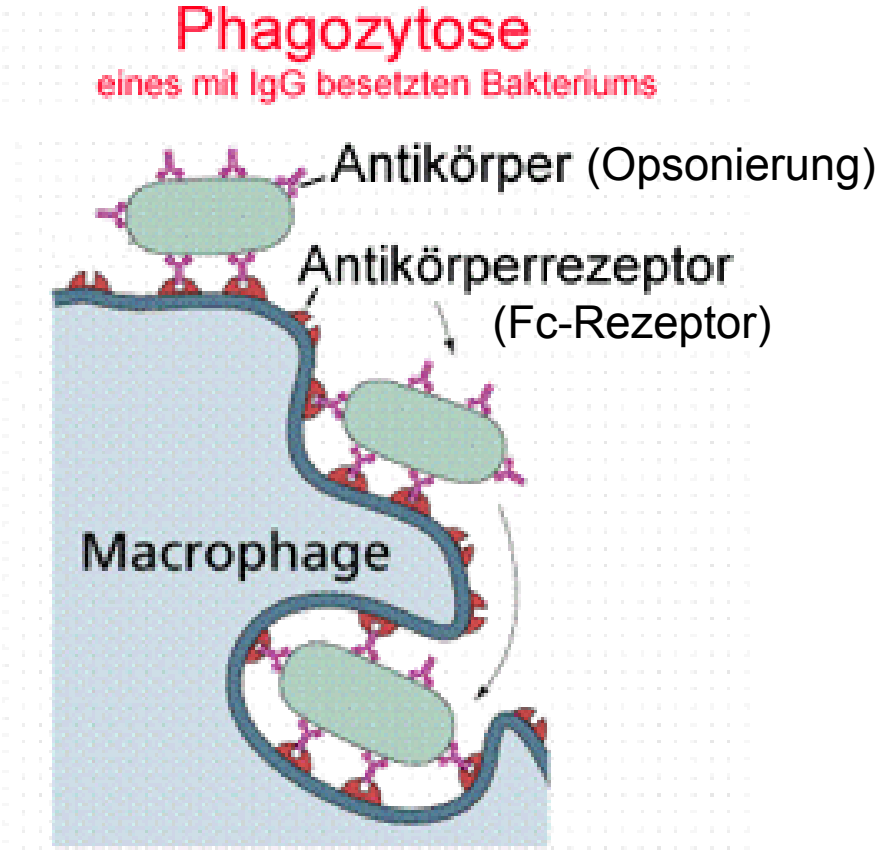
Aktivierung von Makrophagen

- bei Kontakt mit bakteriellen Zelloberflächen (LPS, LTA) werden Makrophagen direkt aktiviert und sezernieren entzündungsfördernde Zytokine:
  - IL-1: aktiviert Endothelzellen der Blutgefäße, verbessert die Einwanderung der Leukozyten, verursacht Fieber,
  - IL-6: aktiviert Lymphozyten, fördert Antikörper Produktion, induziert CRP, verursacht Fieber
  - IL-8: chemotaktisch für Neutrophile
  - TNFα: aktiviert NK Zellen, verursacht Fieber
- Makrophagen werden durch T Helferzellen aktiviert durch Sekretion von IFNγ und TNFα

Wie töten die Makrophagen die Bakterien ab?

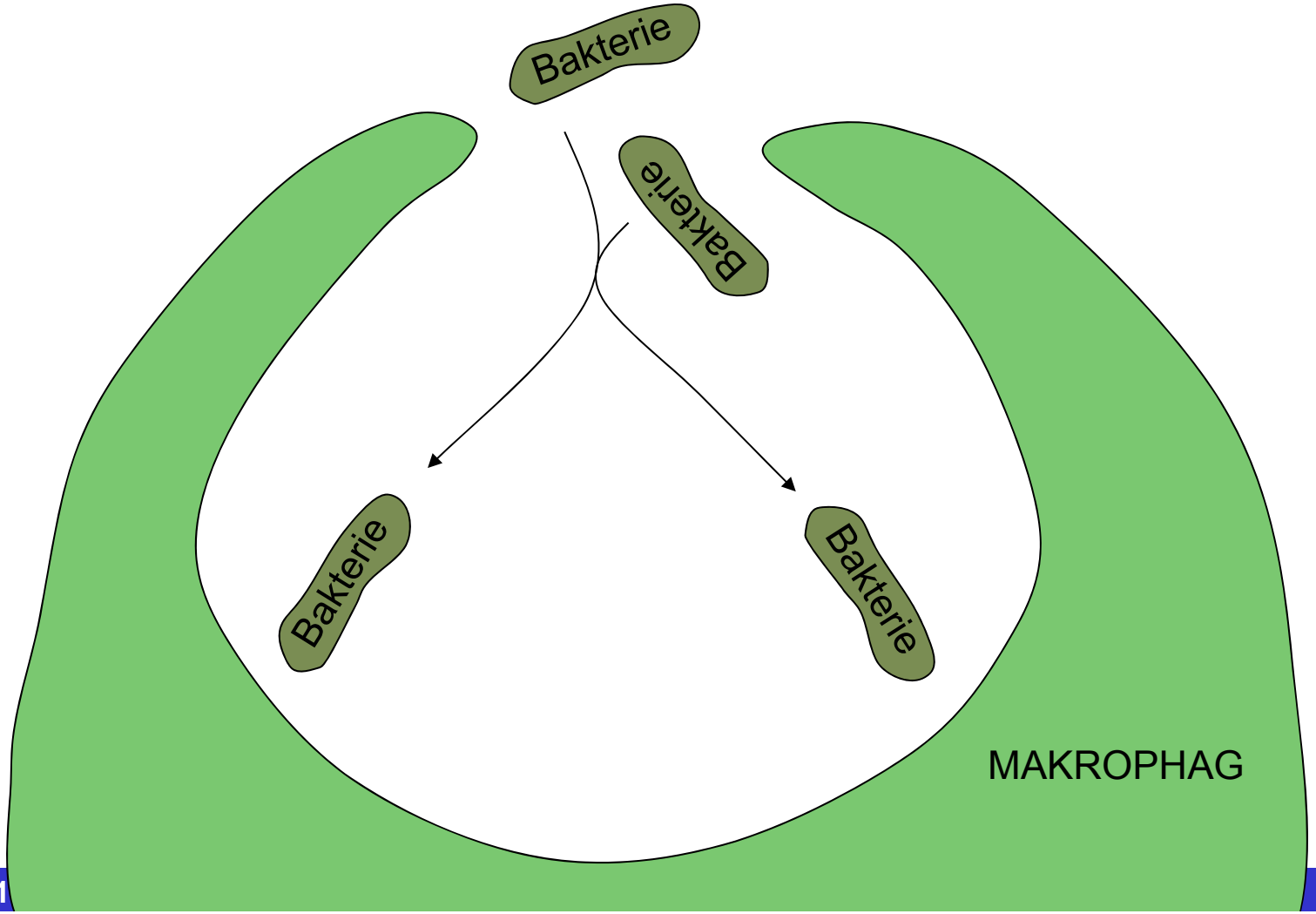
- Sauerstoff-unabhängig
  - Hydrolyse im Phagolysosom
- Sauerstoff-abhängig
  - (ROS = reactive oxigen species)

Phagozytose

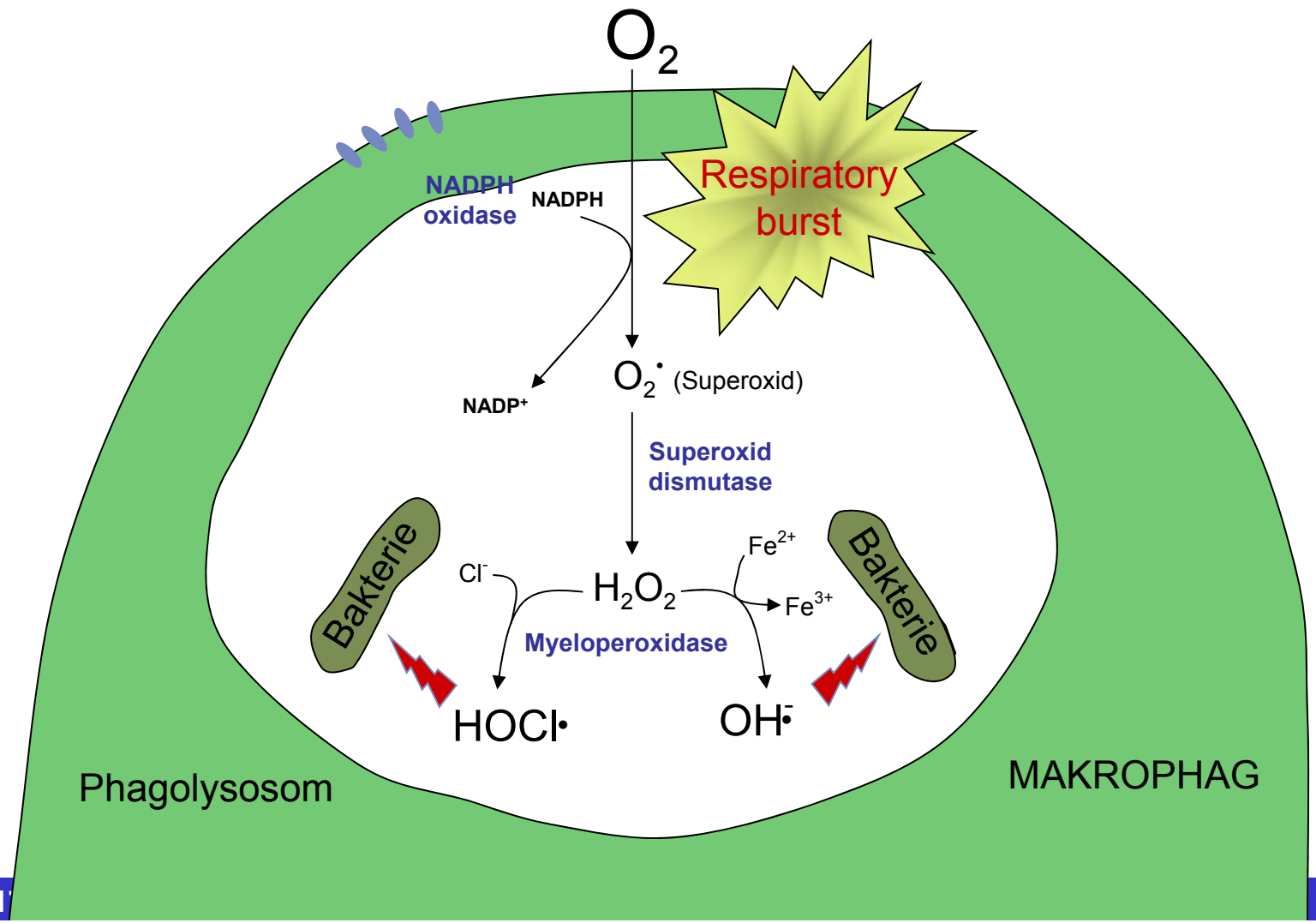


Endozytose
↓
Phagolysosom
↓
Hydrolyse der Erreger
↓
MHC Klasse II Ag-Präsentation

Sauerstoffabhängige Mechanismen



Sauerstoffabhängige Mechanismen



Neutrophile Granulozyten

- machen über 90% der zirkulierenden Granulozyten aus
- überleben nur wenige Stunden nach Verlassen des Knochenmarks,
- werden durch Komplement C5a und IL-8 angezogen, verlassen Gefäße (Leukodiapedese) und wandern an den Entzündungsort (Chemotaxis),
- phagozytieren Erreger direkt oder nach Bindung an Komplement oder Antikörpern (Opsonierung),
- exozytieren Granula mit Enzymen, NO und Sauerstoffradikalen,
- Granulozyten sterben am Entzündungsort und sind Bestandteil von Eiter,
- Zerfall der neutrophilen Granulozyten setzt Elastase frei – Konzentration im Serum gibt diagnostische Hinweise auf den Schweregrad einer Entzündung,
- NADPH Oxidase Defekt → chronische Granulomatose: bakterielle Infekte können schlecht begrenzt werden → persistente chronische pyogene Infektionen und lebensbedrohende Sepsis

NK-Zellen
(engl. natural killer cells)

- ursprünglich als Anti-Tumorzellen beschrieben,
- spielen eine wichtige Rolle auch bei Implantatsabstoßung, bei Eliminierung virusinfizierter Zellen wie auch bei einigen bakteriellen und Pilzinfektionen,
- Zielzellen: die MHC Klasse I-negativen Zellen („immune evasion“)
- keine Aktivierung durch APC ist notwendig (aktiviert durch Zytokine IL-12, IFNγ und TLRs)
- wirken antigen- und ~antikörper-unabhängig
  - „Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity“ - ADCC
- reifen thymus-unabhängig
- haben kein Gedächtnis

Komplementsystem

- 1890, Jules Bordet (Paris):
  - Vibrio cholerae + Antiserum = Lyse
  - Vibrio cholerae + frisches nicht-immunes Serum = keine Lyse
  - Vibrio cholerae + hitzebehandeltes Antiserum = keine Lyse
  - Vibrio cholerae + hitzebehandeltes Antiserum + frisches nicht-immunes Serum = Lyse
- Die bakteriolytische Aktivität besteht aus zwei Substanzen: die Antikörper und eine hitzelabile Substanz
- Paul Ehrlich (Berlin) – gibt dieser Aktivität den Namen Komplement (komplementiert die Funktion der Antikörpern)

Komplementsystem

- umfaßt insgesamt 20 Plasmaproteine (C1-C9 + 11 Regulatorproteine)
- liegen als inaktive Proenzyme vor, die sich in einer bestimmten Reihenfolge gegenseitig aktivieren
- werden von Hepatozyten, Darmepithelzellen und Makrophagen syntetisiert
- binden an die Fc-Domäne der Immunoglobuline
- Amlifizieren die antikörper-vermittelte Immunantwort (klasischer Weg) und die unspezifische Immunantwort (Opsonierung, Anaphylatoxine)

Komplementaktivierung

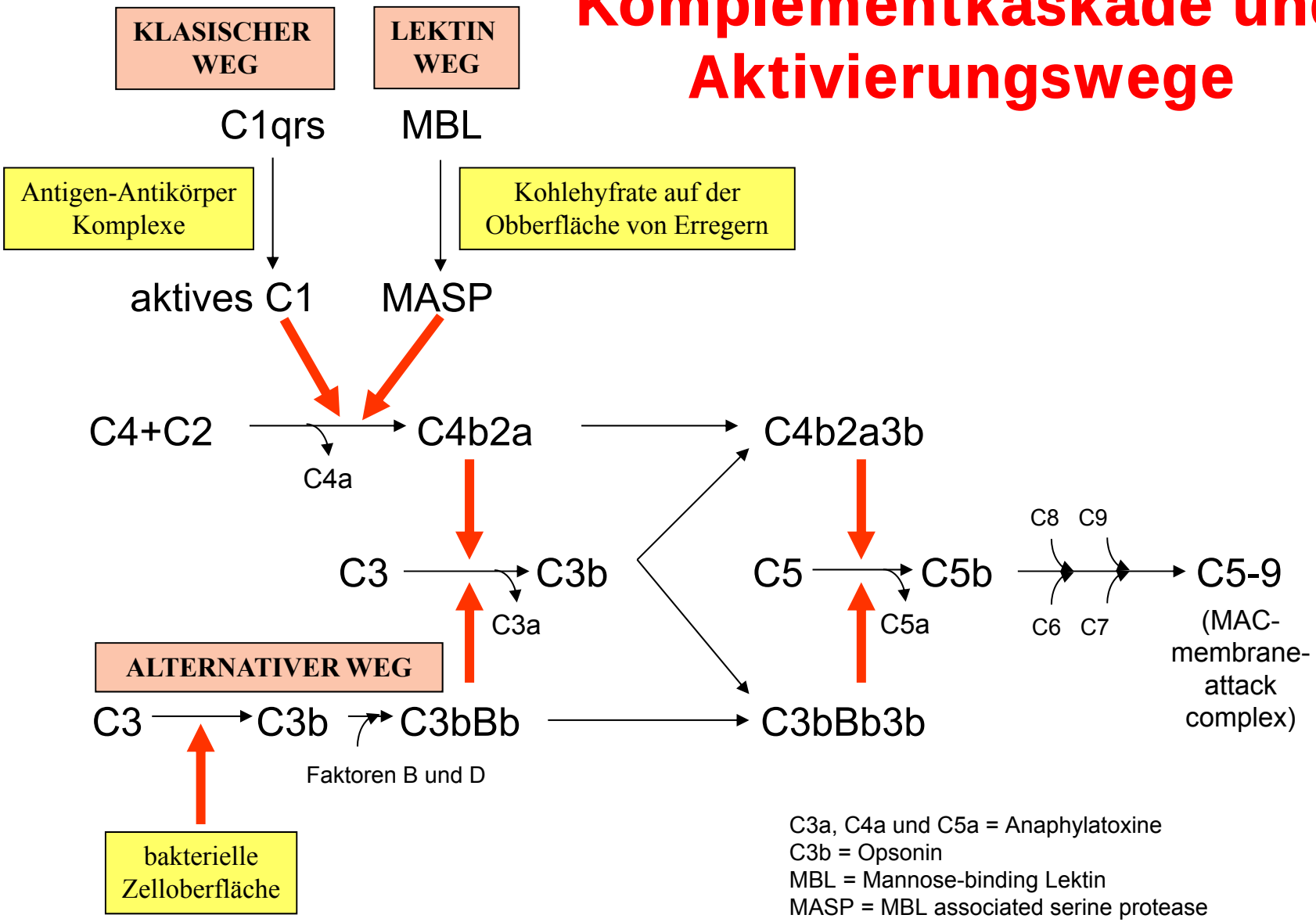
- drei Wege:
  - klasischer Weg (braucht Antikörperbindung),
  - Lektin Weg (wird über Zucker von Erregern aktiviert),
  - alternativer Weg (wird spontan an der Oberfläche von Erregern aktiviert)

Funktionen des Komplementsystems

1. Lyse
2. Chemotaxis
3. Opsinisation

Komplementfaktoren aktivieren Granulozyten, Makrophagen und Mastzellen und spielen wichtige Rolle bei der Entfernung immuner Komplexe

Komplementkaskade und Aktivierungswege

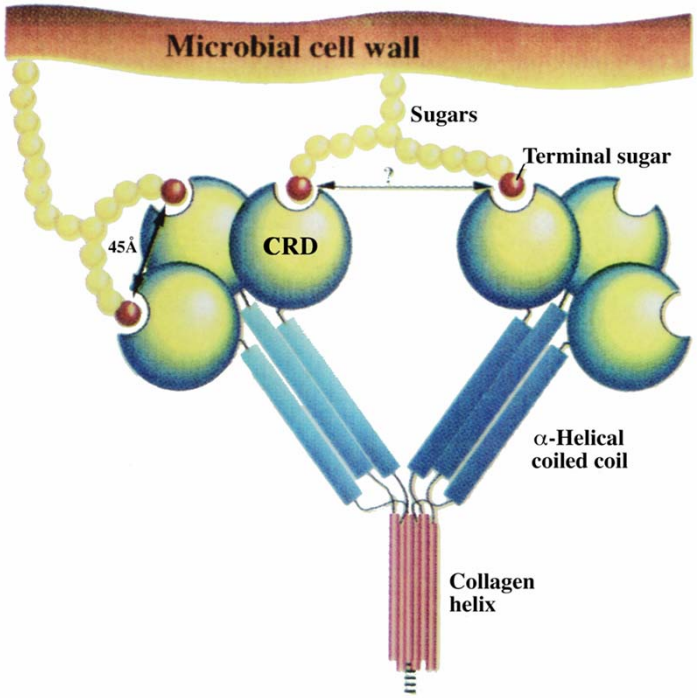


C3a, C4a und C5a = Anaphylatoxine
C3b = Opsonin
MBL = Mannose-binding Lektin
MASP = MBL associated serine protease

Strukturen von C1 und MBL

C1 ($C_1q+C_1r+C_1s$)

Mannose-binding lectin
(MBL, ein Akutphase-Protein)



Von: Hoffman *et al*. (1999) Science 284:1313-8

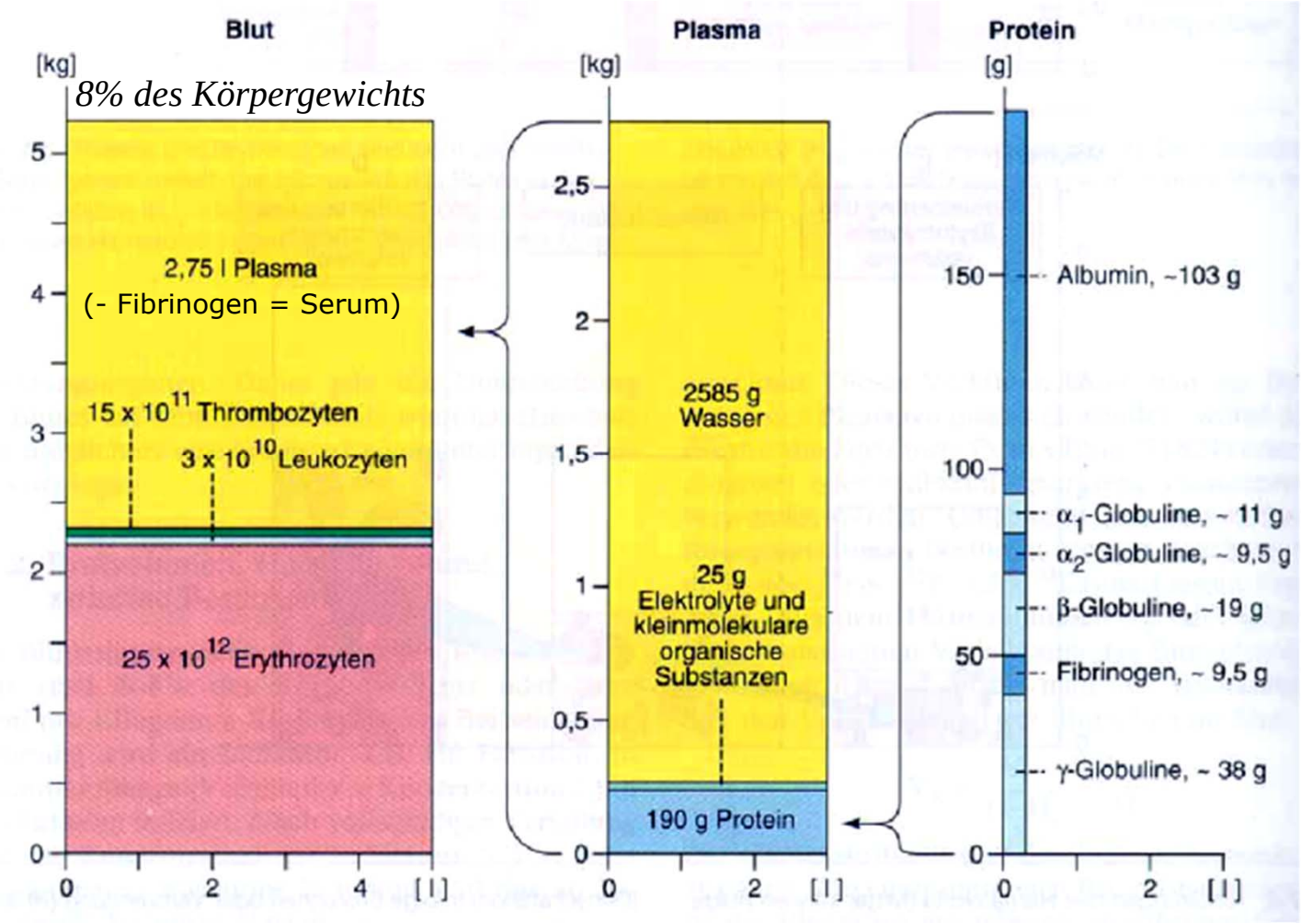
Akut-Phase-Proteine

- Bei Entzündung von Leber gemacht und im Plasma erhöht
- Stimuliert durch IL-1, IL-6, TNFalpha
- C-reaktives Protein
  - aktiviert das Komplement (bindet an C1q)
  - Bindet an Phosphorylcholin von Bakterien und LPS in der Wand von Pilzen
  - fördert die Opsonisation und Phagozytose von Bakterien
- Mannose-binding lectin (MBL) - aktiviert C2/C4
- Fibrinogen – plasmatische Gerinnung
- α1-Antitrypsin - Proteaseinhibitor
- Coeruloplasmin – bindet Kupfer
- Haptoglobin – bindet freies Hämoglobin
- (die Albuminsynthese wird gesenkt)

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Seminar zum Blutpraktikum

Zusammensetzung des Blutes



Aufgaben im Praktikum

Differentialblutbild

Erythrozytenzahl

Hämatokrit

Hämoglobinkonzentration

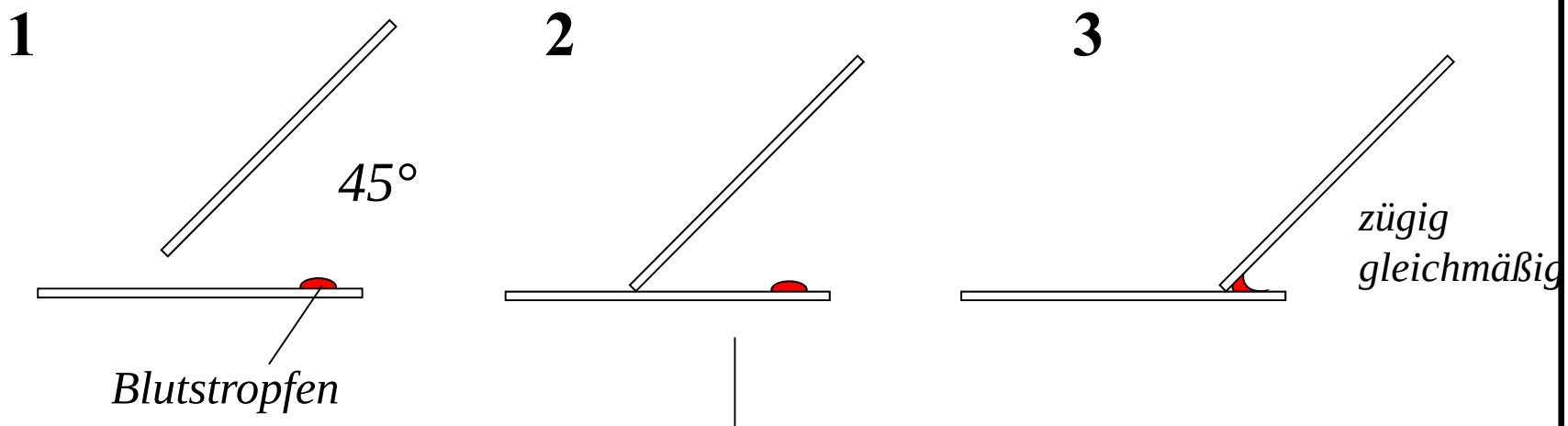
Erythrozytenindizes

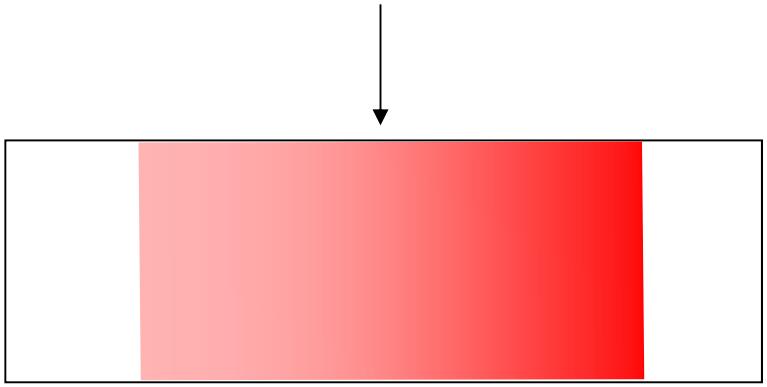
Blutgruppen (ABO, Rh)

Osmotische Resistenz

Blutgerinnungstests

Blutausstrich





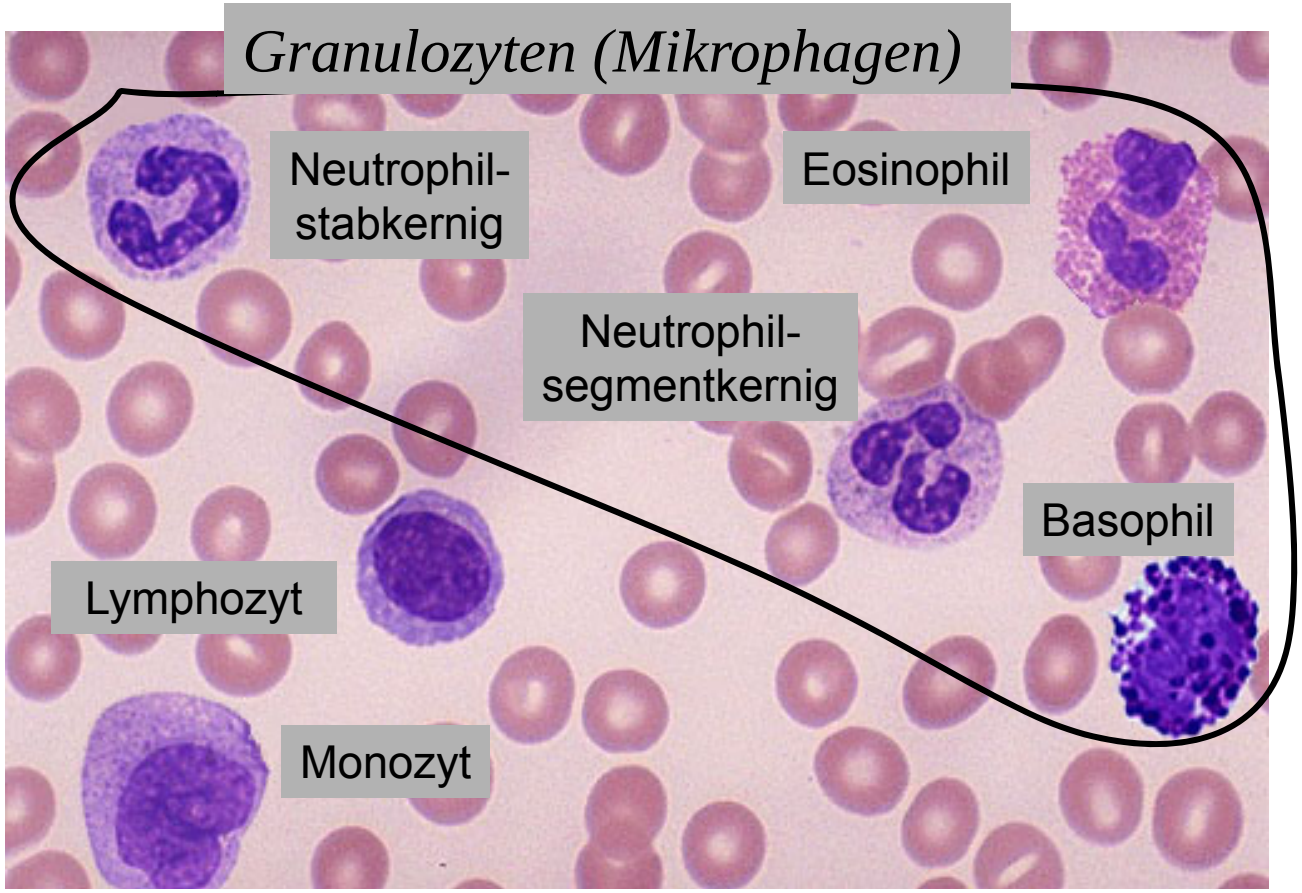
das anhaftende Blut ist gleichmäßig verteilt

Trocknen (30 Min an der Luft)

Färbung

Differentialblutbild (Blutausstrich):

ermittelt die prozentuelle Verteilung der Leukozyten und Veränderungen an den Leukozyten



Beurteilung von: Zellproliferation, Entwicklungsstörungen, toxische Schädigungen

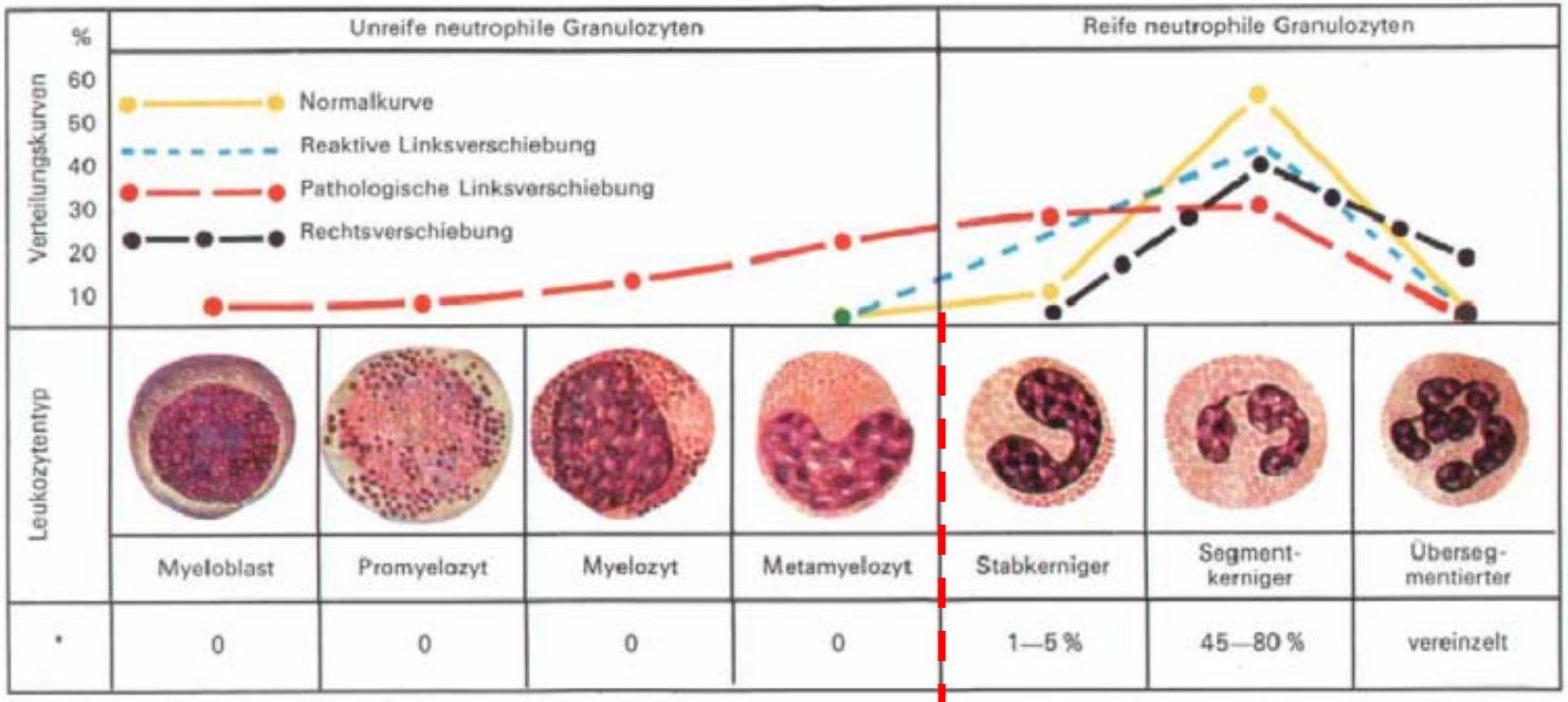
Differentialblutbild - Normalwerte

	Prozentzahlen	Absolutzahlen
Gesamtleukozyten		**4000 - 9000/µl**
Gesamtneutrophile	**51 - 74 %**	**1800 - 7200/µl**
Stabkernige	0 - 4 %	0 - 360/µl
Segmentkernige	50 - 70 %	2000 - 6300/µl
Lymphozyten	**25 - 45%**	**1000 - 4050/µl**
Monozyten	**2 - 8 %**	**80 - 600/µl**
Eosinophile	**1 - 4 %**	**40 - 360/µl**
Basophile	**0 - 1%**	**0 - 80/µl**

- Leukozytose – Leukozytenzahl über 10000/µl oder isolierte vermehrung einzelner leukozytärer Fraktionen; bei allen bakteriellen Infektionskrankheiten, Leukämien, Tumoren, physiologisch bei Stress, Schwangerschaft, körperlicher Belastung
- Leukopenie - Leukozytenzahl unter 4000/µl: die Ursachen sind bakterielle (Salmonella) und virale Infektionen, Strahlen, Zytostatika, folgt Sepsis
- Agranulozytose - Granulozytenzahl unter 1000/µl; hauptsächlich durch Medikamente und allergische Reaktionen ausgelöst; Symptome nur durch Komplikationen (Infektionen)
- Panzytopenie – alle Zellreihen sind betroffen

Linksverschiebung:

eine Ausschwemmung von unreifen Zellen ins periphere Blut



* Prozentuale Verteilung im normalen Blutausstrich

Reaktive Linksverschiebung:
mehr als 5% stabkernige GZ

Rechtsverschiebung: mehr als 3% der neutrophilen GZ sind hypersegmentiert: haben mehr als 5 Segmenten)

Linksverschiebung - Ursachen

Regelmäßige Linksverschiebung in folgenden Situationen:

- bakterielle Infekte (inkl. Miliartuberkulose),
- abakterielle Entzündungen (z.B. Kolitis, Pankreatitis, Phlebitis, Kollagenkrankheiten),
- Zellzerfallsituationen (z.B. Verbrennungen, Leberzerfall, Hämolyse).

Gelegentliche Linksverschiebung in folgenden Situationen:

- Pilz-, Mykoplasmen-, Viren-, Parasitenbefall;
- Herzinfarkt, Lungeninfarkt;
- metabolische Veränderungen (z.B. Schwangerschaft, Azidosen, Hyperthyreose);
- Kompensations- und Erholungsphasen (bei Blutungen, Hämolysen oder nach medikamentöser oder radiologischer Suppression).

Linksverschiebung - Ursachen

➢ **Körperliche Anstrengung** ➢ **Stress** ➢ **Postprandial** ➢ **Schwangerschaft** ➢ **Extreme Kälte, Hitze** ➢ **Anoxie** ➢ **Neugeborenenphase**	Jede Stresssituation geht mit einer vermehrten Freisetzung von Granulozyten in das periphere Blut einher. Hierbei handelt es sich lediglich um eine Verschiebung des ruhenden Granulozytenpools zugunsten der zirkulierenden Fraktion. Diese Form wird als Shiftleukozytose bezeichnet. Auch in der Schwangerschaft ist eine neutrophile Leukozytose bis 20 G/l normal.

Linksverschiebung - Ursachen

➢ **Infektionen**	Als Ausdruck der neutrophilen Kampfphase nach Schilling bei akuten bakteriellen Infektionen, Pilzinvasionen und Parasitosen. Besonders ausgeprägte Leukozytosen können bei der bakteriellen Cholangitis, der Peritonitis, Empyemen und Abszessen auftreten. Hauptbestandteil des Eiters sind neutrophile Granulozyten. Häufig finden sich die verursachenden Bakterien intra- und/oder extrazellulär.
➢ **Entzündungen, Gewebsnekrosen**	Akute entzündliche Reaktionen, wie rheumatisches Fieber, akuter Schub einer chronischen Polyarthritis, Gichtanfall, Vaskulitis, Myositis, Nephritis, Colitis, ausgedehnte Verbrennungen, elektrischer Schlag, schweres Trauma, Komplementaktivierung, zirkulierende Antigen-Antikörper-Komplexe, Myokard-, Mesenterial-, Lungeninfarkt, Anaphylaxie.
➢ **Metabolisch / Endokrin**	Überproduktion von ACTH oder Glukokortikoiden, Hyperthyreose, Eklampsie, Urämie, diabetische Azidose.

Linksverschiebung - Ursachen

➢ **Tumoren**	➢ Karzinome im fortgeschrittenen Stadium (Magen, Lunge, Mamma, Niere, Blase, Leber, Pankreas, gynäkologische Tumoren und Plattenepithelkarzinome). ➢ Selten bei Morbus Hodgkin, malignen Lymphomen, Melanomen und beim multiplen Myelom.
➢ **Medikamente**	➢ Kortikoide, Adrenalin und Lithium machen einen Leukozytenanstieg, der üblicherweise nicht über 20 G/l hinausgeht und der keine nennenswerte Linksverschiebung zeigt. ➢ Hämatopoetische Wachstumsfaktoren (G-CSF; GM-CSF) können bei therapeutischer Anwendung zu exzessiven Leukozytosen mit pathologischer Linksverschiebung führen.
➢ **Raucher-Leukozytose**	Typisch ist eine neutrophile Leukozytose zwischen 10 – 20 G/l ohne pathologische Linksverschiebung und ohne weitere krankhafte Veränderungen. Vornehmlich sind jüngere Frauen betroffen, die stärker rauchen. Ein erhöhter CO-Hb-Wert untermauert die kausale Rolle des Rauchens für die immer moderate Leukozytenvermehrung. Siehe Blatt: Raucherleukozytose.
➢ **Sonstige**	➢ Milzlosigkeit (Shift), ➢ schwere Blutung (Stress). ➢ Überschießende Reaktion nach chemotherapiebedingter Knochenmarkschädigung, ➢ Regenerationsphase einer Agranulozytose.
➢ **Myeloproliferative Erkrankungen**	Chronische myeloische Leukämie, Polycythaemia vera, Osteomyelofibrose, essentielle Thrombozythämie.

Erythrozyten

Aufgaben im Praktikum

Erythrozytenzahl

Hämatokrit

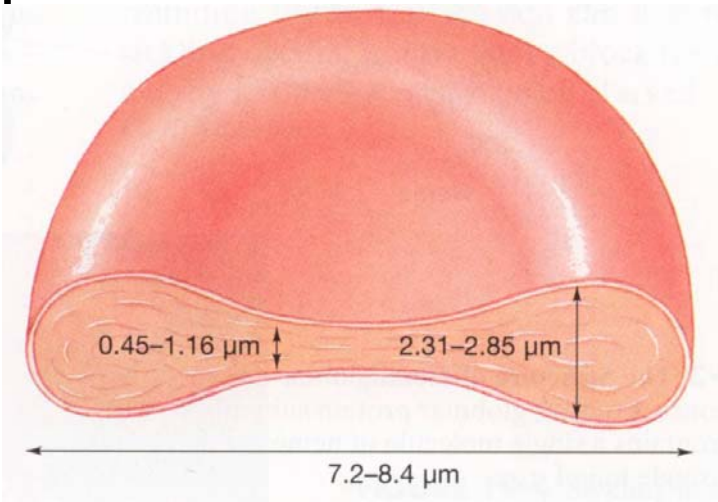
Hämoglobinkonzentration

Erythrozytenindizes

Osmotische Resistenz

Blutgruppen (ABO, Rh)

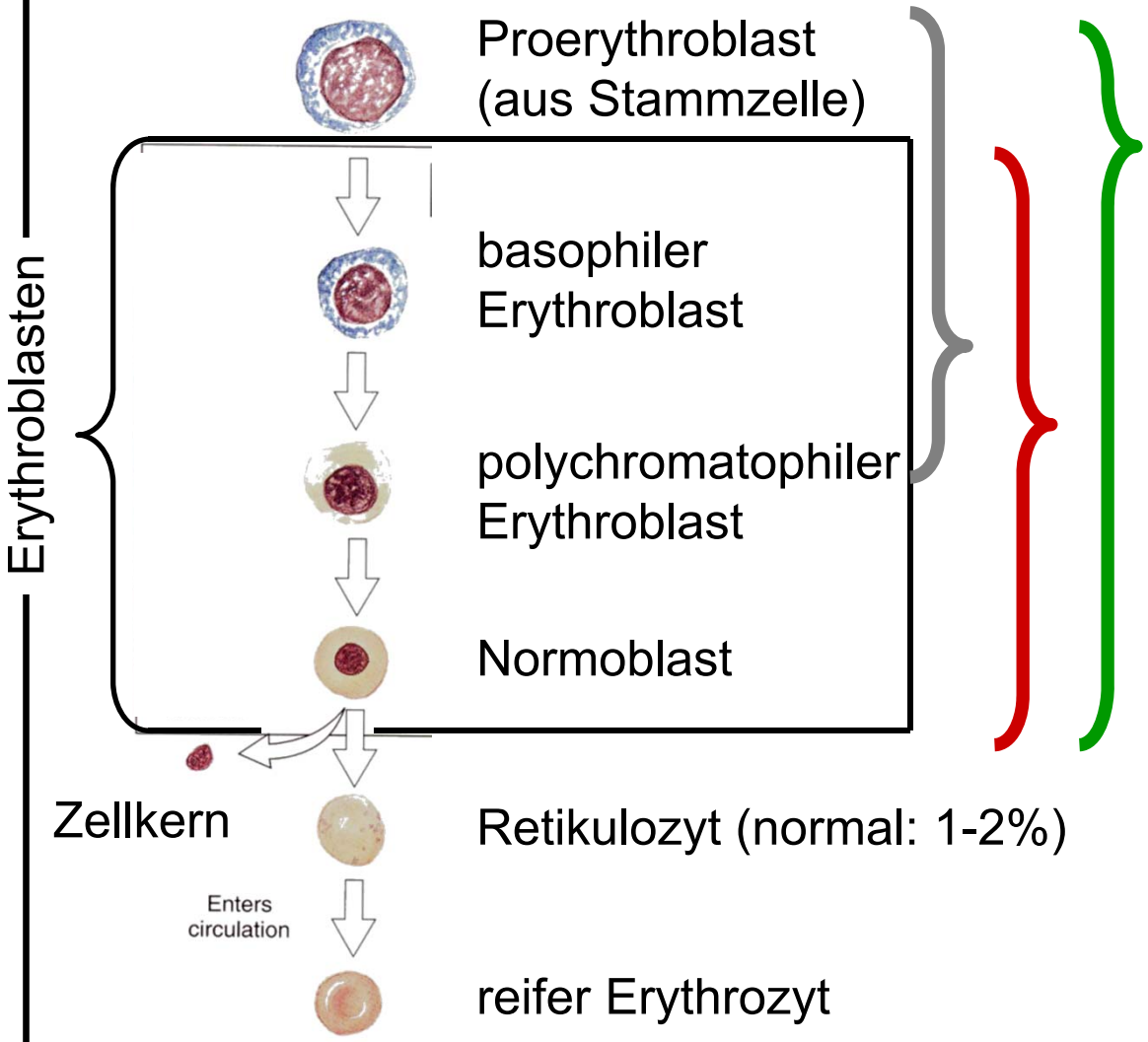
Erythrozyten



- ca. 95 % aller Blutzellen
- Gastransport: O_2 und CO_2
- hohe Verformbarkeit: Passage enger Kapillaren
- kein Zellkern, keine Mitochondrien
- Energiegewinnung durch anaerobe Glykolyse

- Anzahl pro Liter Blut:
  - ♂: 4,6 – 6,2 x 10^{12}
  - ♀: 4,2 - 5,4 x 10^{12}
- Lebensdauer: 100 - 120 Tage
- Abbau erfolgt in Milz und Leber durch Makrophagen

Erythropoiese



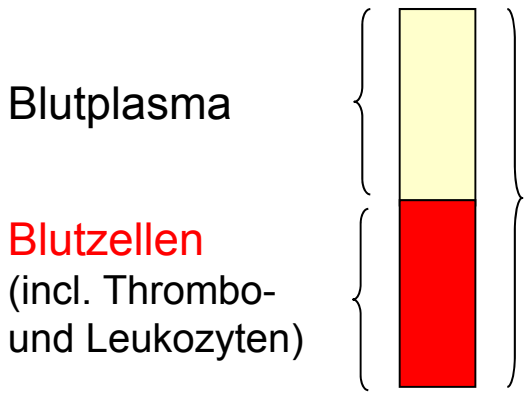
Aktivierung durch:
Erythropoietin (Epo)
aus Niere (Leber)

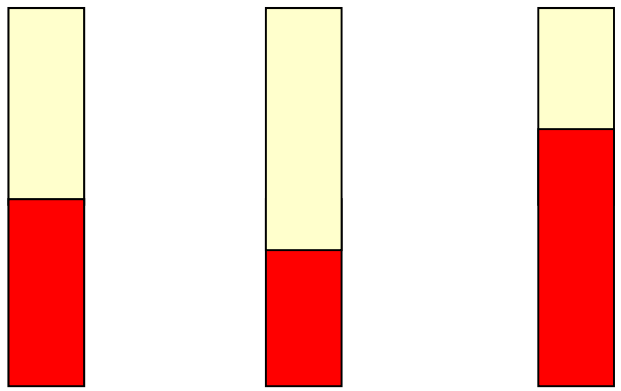
Synthese von:
Globin mRNA
Hämoglobin

Hämatokrit (Hkt)

Definition: der Anteil der Erythrozyten am Blutvolumen

Bestimmung (nach Wintrobe): Zentrifugation von ungerinnbar gemachtem Blut

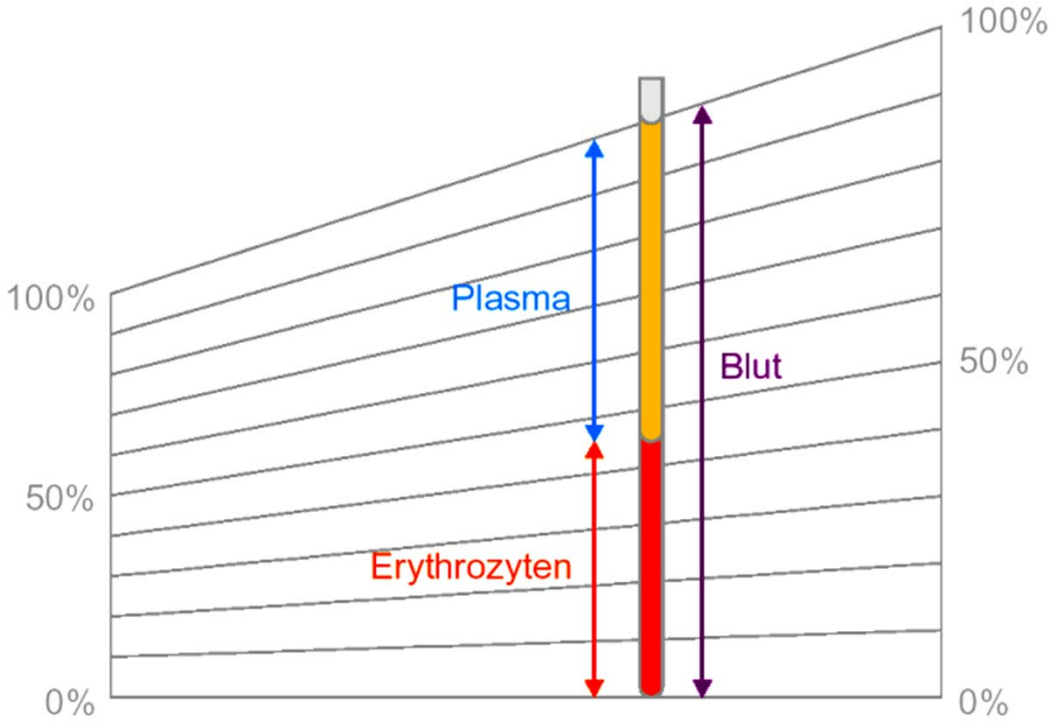




$$\text{Hkt} = \frac{\text{Zellvolumen}}{\text{Gesamtvolumen}}$$

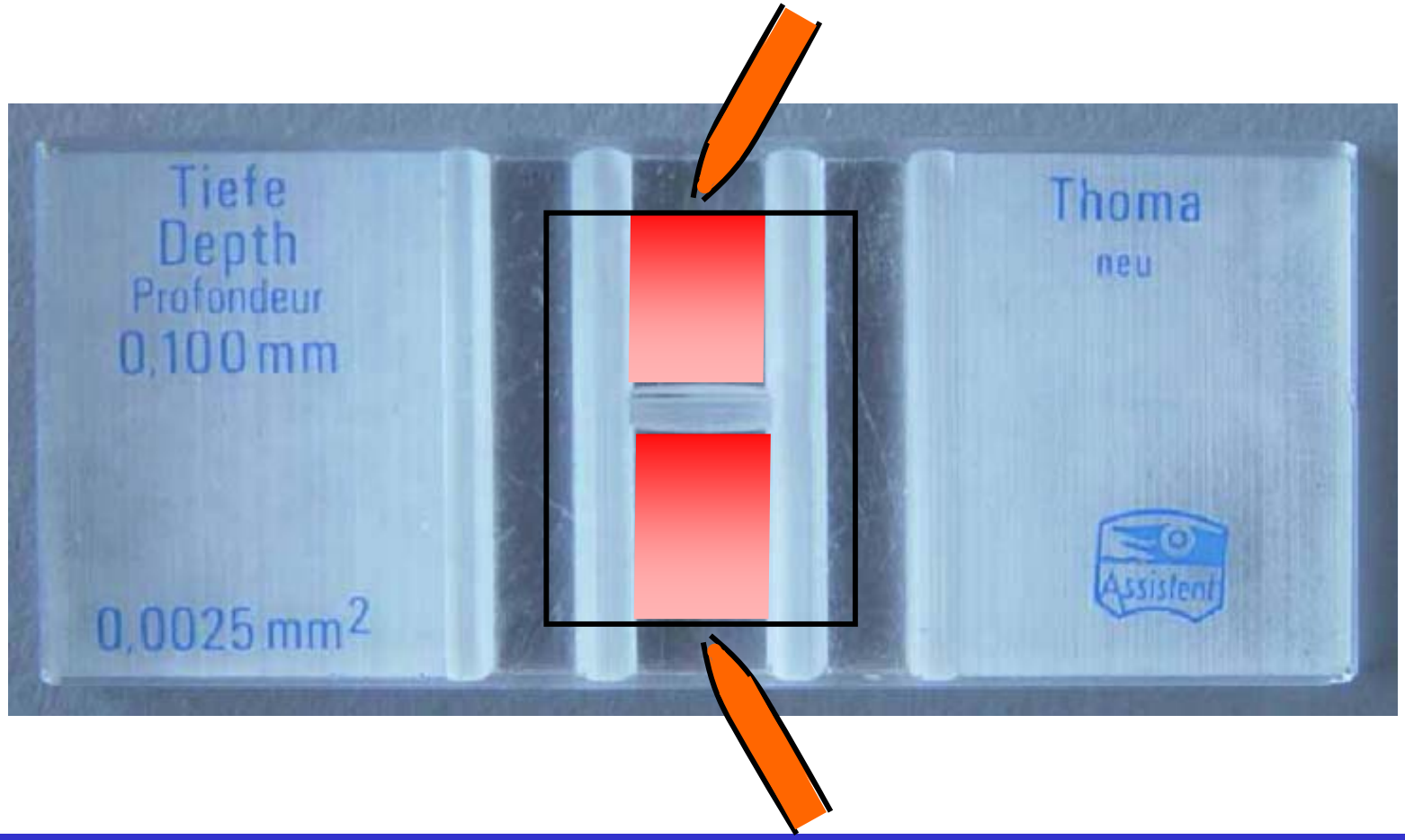
	normal	Anämie	Dehydratation
♂	0.40-0.54	0.30	0.70
♀	0.37-0.47		

Hämatokrit-Bestimmung: Auswertung am Hämatokrit-Anzeiger

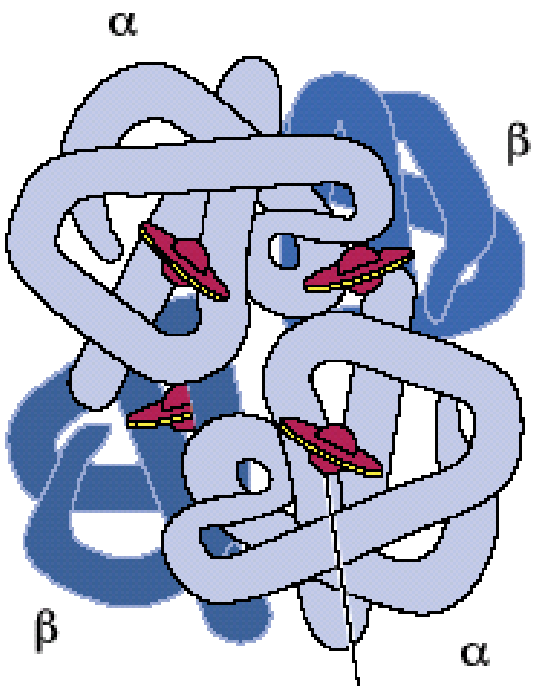


1. Der obere Rand des Kits muss mit der 0-Linie übereinstimmen.
2. Plastikschieber so verschieben, dass der obere Plasmastand mit 100% Linie übereinstimmt.
3. Hämatokritwert am rechten Rand des Anzeigers ablesen.

Erythrozytenzahl-Bestimmung: Thoma-Zählkammer

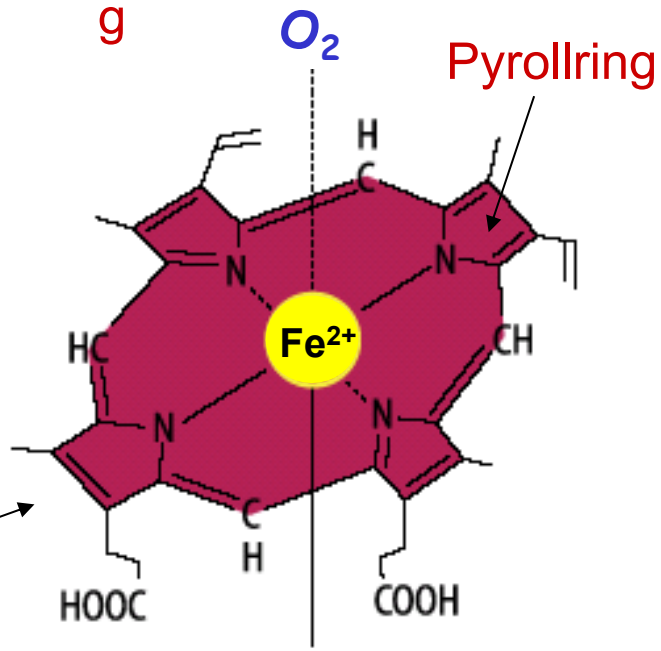


Schema des Hämoglobinmoleküls



Hämgruppe

Protoporphyrinring



Globin α, β, γ , δ -Kette

unglykierte (90%) + glykierte (5-7%) Fraktion

HbA (HbA_0+HbA_1) = 2 α + 2 β (96-98%)

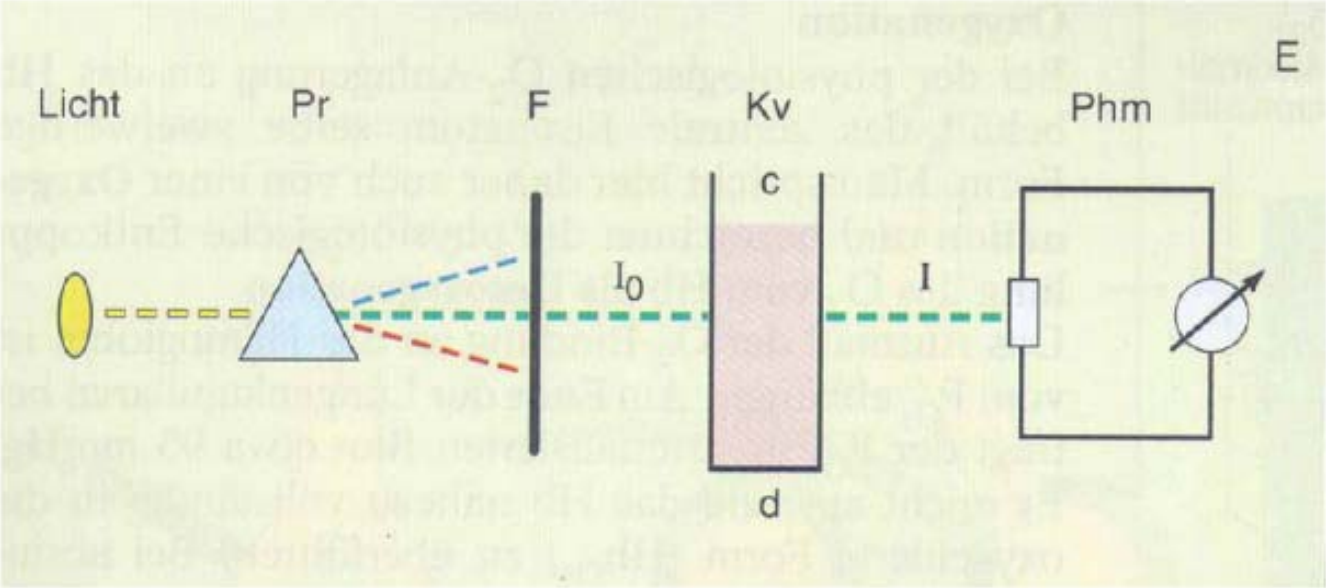
HbA_2 = 2 α + 2 δ (< 3 %)

Hb F = 2 α + 2 γ (< 1 %; 80 % bei Geburt)

kovalente Bindung an proximales Histidin

(oxygeniert)

Hämoglobin-Bestimmung



Lambert-Beer-Gesetz

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

E = Extinktion
ε = molarer Extinktionskoeffizient
c = Konzentration
d = Schichtdicke

Hämoglobin-Bestimmung
(als Hämoglobincyanid)

$$KCN + K_3[Fe^{3+}(CN_6)] + \mathbf{Hb(Fe^{2+})} \rightarrow K_4[Fe^{2+}(CN_6)] + \mathbf{Hb(Fe^{3+})CN}$$

Cyanmethämoglobin

Normwerte: Männer 14-18 g/dl; Frauen 12-16 g/dl

Methämoglobin (=Hämiglobin)

- Bei der Bildung von Methämoglobin wird das Eisen oxidiert. Methämoglobin enthält also Fe^{3+}.
- Methämoglobin bindet keinen Sauerstoff.
- Eine kleine Menge von Hb-M entsteht laufend aus dem Hämoglobin. Hb-M wird möglichst schnell in Hämoglobin zurückverwandelt. Dafür haben die roten Blutkörperchen ein spezielles Enzymsystem (das sog. **NADH-Methämoglobin-Reduktase-System**).
- Der normale Methämoglobinanteil des Blutes liegt bei **0,2-1%.**

Stoffe, die Methämoglobinbildung auslösen können

- **Oxidationsmittel** (z.B. Chlorate in Reinigungs- und Bleichmitteln)
- **Nitrite**, Amylnitrit, Nitroglyzerin
  Maximum der Met-Hb Konzentration bereits ca. 1h nach Einnahme/Einwirkung; nach 5h bereits weitgehende Normalisierung.
- **Aromatische Amino- und Nitroverbindungen** (Nitrobenzol, Anilin)
  Werden erst im Körper in Met-Hb-bildende Verbindungen umgewandelt. Met-Hb steigt etwas später an (Höhepunkt nach ca. 4h, fällt dann langsamer ab)
- **Nitrate** (die normalen Darmbakterien wandeln sie in Nitrite um)
  Nitratreiches Brunnenwasser oder Nitrat-gedüngtes Gemüse kann für Säuglinge gefährlich werden
- **Medikamente** (Beispiele)
  - Lokalanästhetika (Mittel für die lokale Schmerzausschaltung) - Benzocain, Lidocain, Procain
  - Primaquin (Malaria-Behandlung)
  - Sulfonamide
  - Phenacetin (früher als Schmerzmittel verwendet), Paracetamol, Phenazopyridin (beides Schmerzmittelinhaltsstoffe)

Erythrozyten-Indices

- Erythrozyteneingenschaften:
  - MCV (mean cell volume)
  - MCH (mean corpuscular hemoglobine)
  - MCHC (mean corpuscular hemoglobine concentration)
- wichtig für die Diagnostik der Anämie
- berechnet aus:
  - Hämatokrit
  - Erythrozytenzahl
  - Hämoglobinkonzentration

Erythrozyten-Indices

MCV (fl)

(mean corpuscular volume)

mittleres Erythrozytenvolumen

$$\frac{\text{Hämatokrit}}{\text{Erythrozytenzahl } (x10^{12}/L)}$$

♂ + ♀: 81-100 fl

- – normozytär
- ↓ mikrozytär
- ↑ makrozytär

⇕ lineare Beziehung:
Hilfsmittel bei Einteilung in verschiedene Formen der Blutarmut

MCH (pg) Färbeindex

(mean corpuscular hemoglobin)

mittlerer Hb-Gehalt des einzelnen Erythrozyten

$$\frac{\text{Hämoglobin (g/dl)}}{\text{Erythrozytenzahl } (x10^{12}/L)}$$

♂ + ♀: 27-34 pg

- – normochrom
- ↓ hypochrom
- ↑ hyperchrom

Erythrozyten-Indices

MCHC (g/l)

(mean corpuscular Hb-concentration)

mittlere Hb-Konzentration in den Erythrozyten

♂ + ♀: 32-36 g/dl Ery

genug Hb für O_2 und CO_2-Transport

diagnostisch meist nicht relevant

$$\frac{\text{Hämoglobin (g/dl)}}{\text{Hämatokrit (\%)}}$$

Price-Jones-Kurven

Häufigkeitsverteilung der Erythrozyten-Durchmesser

- **Normozytose**:

  Größenverteilung in Form einer Glockenkurve mit Median Ø 7,5 µm

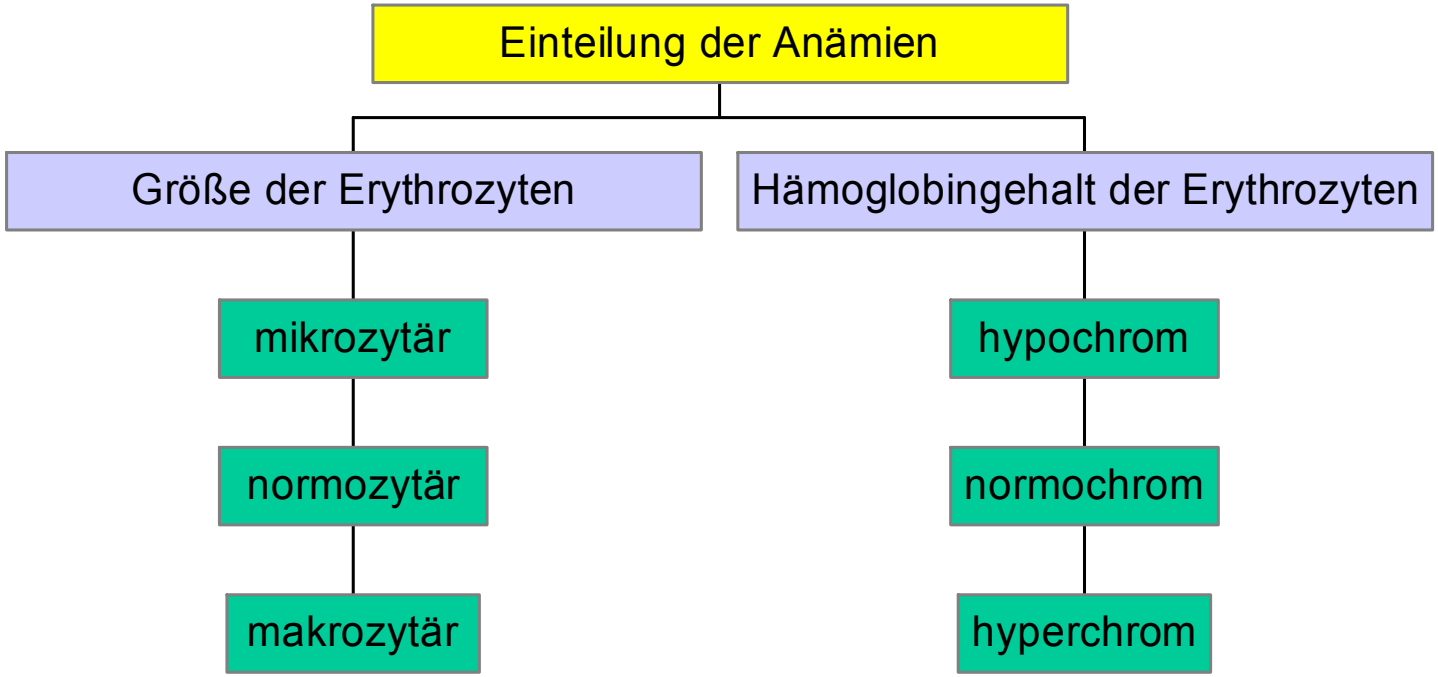
- **Anisozytose**: Verteilung mit stark unterschiedlicher Größe ⇒ oft Störung in Bildung oder Reifung der Erythrozyten

- **Poikilozytose**: ungleiche Form der Erythrozyten

- **Mikrozytose**: zu klein
  Hinweis auf geringen Hb-Gehalt

- **Makrozytose**: zu groß
  Hinweis auf Reifungsstörung

Anämien


Einteilung der Anämien
Größe der Erythrozyten
Hämoglobingehalt der Erythrozyten
mikrozytär
normozytär
makrozytär
hypochrom
normochrom
hyperchrom

Hämoglobinanomalien: Sichelzellanämie und Thalassämie

Sichelzellanämie:

- bei homozyoten Trägern ist 50 % des HbA durch HbS ersetzt
- hämolytische Anämie

HbS: in β-Kette des Globinmoleküls 6. Aminosäure Glutamat → Valin

⇒ Löslichkeit des desoxygenierten Hämoglobins stark herabgesetzt

⇒ HbS präzipitiert in Erythrozyten

⇒ sichelförmige Erythrozyten mit schlechter Verformbarkeit, Flussstörungen

⇒ aber: Malaria-Resistenz

Thalassämien (Mittelmeer-Anämie)

- dominant vererbter Gendefekt
- Verminderung der Synthese von α-Kette <u>oder</u> β-Kette bzw. β-Kette <u>und</u> δ-Kette
- mikrozytäre, hypochrome Anämie (hämolytisch, verkürzte Lebenszeit der Erythrozyten)

Osmotischer Druck und Wasserverteilung

Plasmaelektrolyte bestimmen den kristalloidosmotischen Druck des Blutes
→ Wasserverteilung zwischen den Zellen und ihrer Umgebung

Plasmaproteine bestimmen den kolloidosmotischen Druck des Blutes
→ Wasserverteilung zwischen Plasma und Interstitium

Jede Abweichung vom normalen osmotischen Druck in der extrazellulären Flüssigkeit (Plasma + Interstitium) führt zu Wasserverschiebungen zwischen den Zellen und ihrer Umgebung

Plasmaersatzlösungen müssen denselben osmotischen Druck aufweisen wie das Plasma (isotonisch)!

Ödem (Wassersucht) –

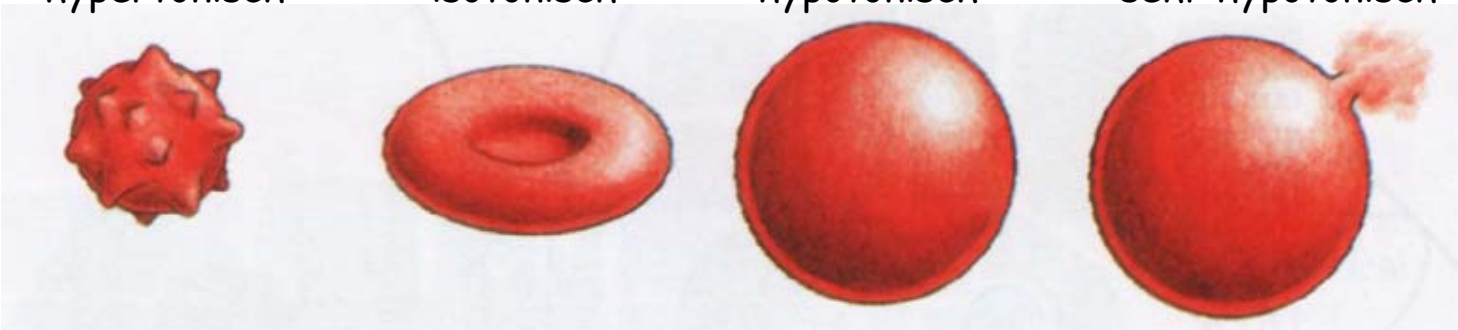
schmerzlose Ansammlung von eiweißhaltiger, wässriger Flüssigkeit im Interstitum

- Ursachen:
  - Nierenerkrankungen mit Eiweißauscheidungen (nephrotisches Syndrom)
  - Anstieg des Blutdrucks (z.B. bei Linksherzinsuffizienz → Lungenödem)
  - Eiweißmangel (Hungerödem bei Kwashiorkor)
  - Störungen des Lymphabflusses
  - Veränderungen im Wasser und Säure-/Basenhaushalt
  - Leberzirrhose
  - Beinvenenthrombosen (Rückstau im Gefäßsystem)
- Therapie:
  - Diuretika,
  - natriumarme Diät

Hämolyse

ansteigende Ionenkonzentration

hypertonisch	isotonisch	hypotonisch	sehr hypotonisch



Stechapfelform	Normalform	Sphärozyten	osmotische Hämolyse

Kann Wasser frei durch die Lipidmembran diffundieren?

Aquaporine !!!

z.B durch Aquaglyceporin werden $3x10^9$ Wasermoleküle pro Sekunde transportiert!

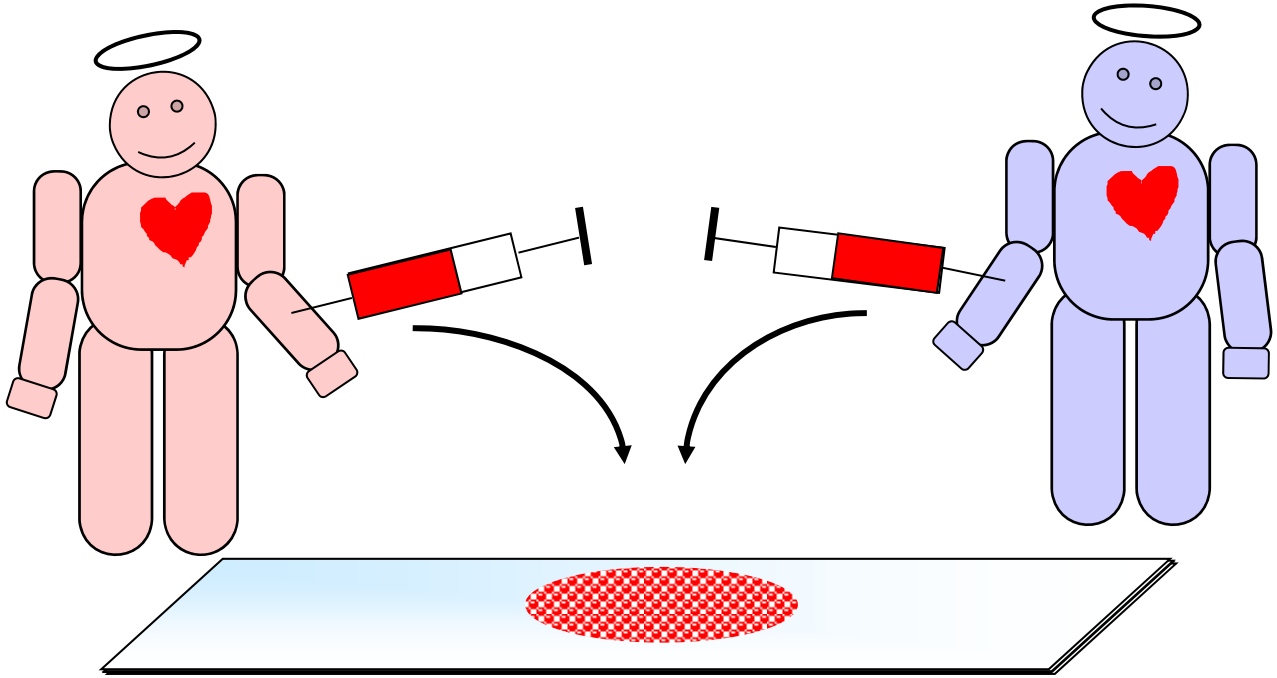
Osmotische Resistenz der Erythrozyten

Veränderung der osmotischen Resistenz bei bestimmten Erkrankungen
(insbesondere bei einigen Anämieformen)

Blutgruppen

ABO und Rh System

Mischung blutgruppenungleicher Blutsorten führt zur Agglutination der Erythrozyten

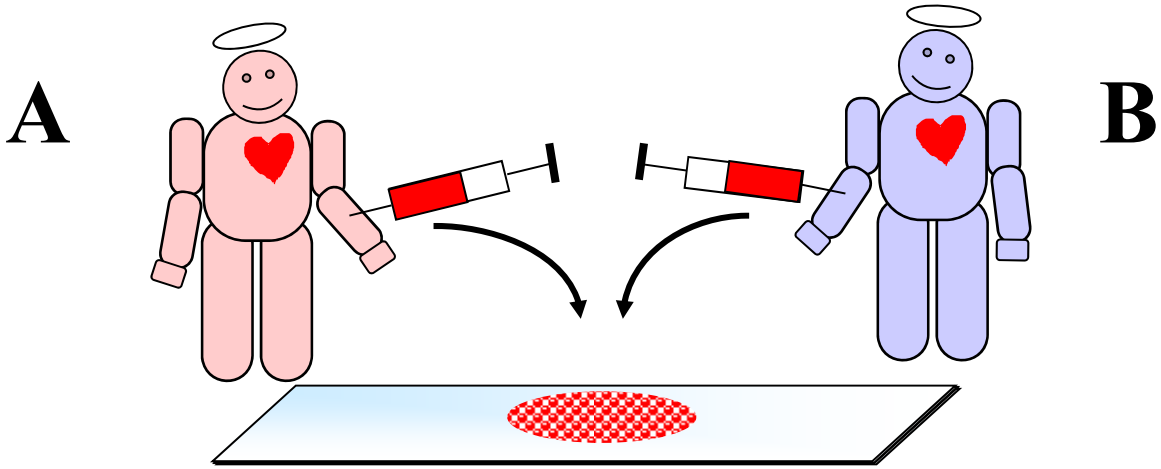


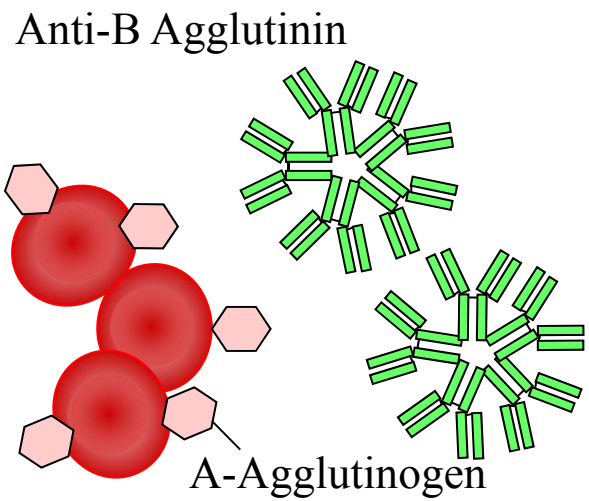
70% der Fälle – Agglutination / Hämolyse

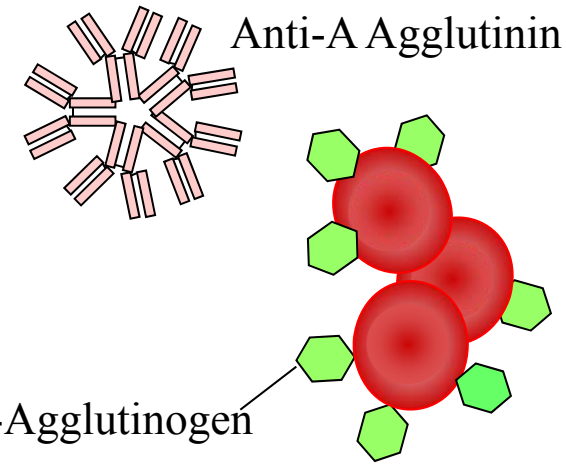
Erythrozyten-Antigene

- etwa 30 Erythrozyten-Antigene lösen die Reaktionen aus (etwa 400 Antigene sind bekannt)
- die meisten Antigene haben schwache Antigeneigenschaften
- ABO- und Rh-Systeme sind am bedeutendsten

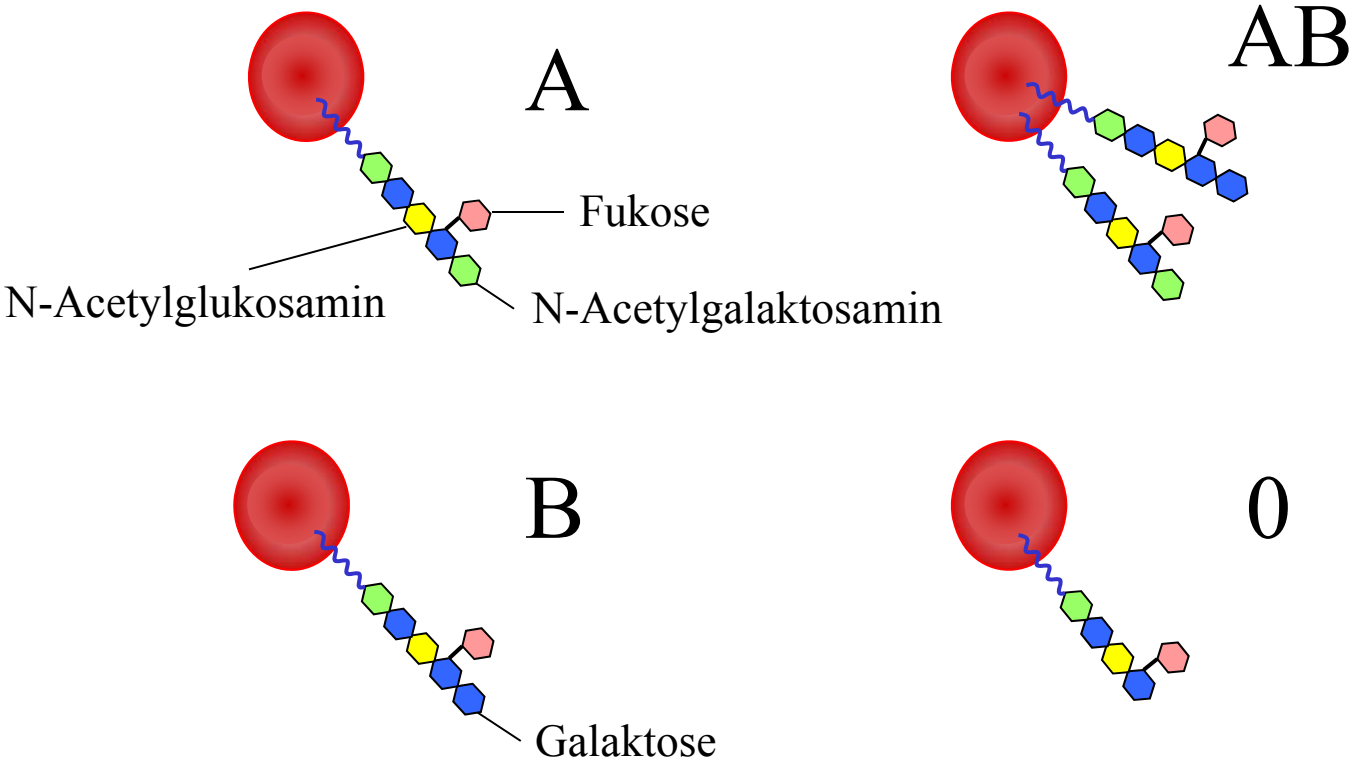
Ursache der Agglutination







Die Blutgruppenzugehörigkeit richtet sich nach den Agglutinogenen des Trägers

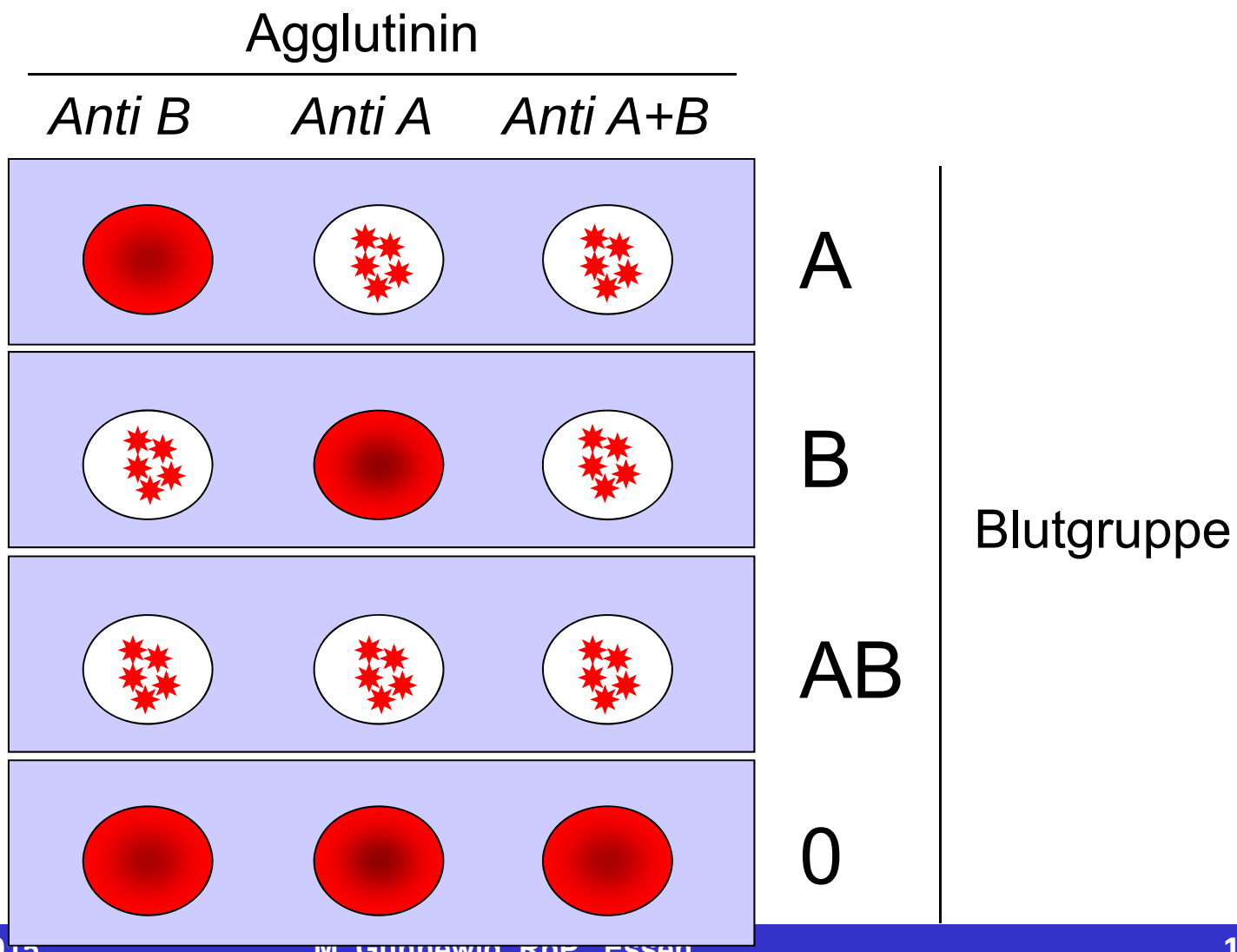


Antigene und Antikörper der Blutgruppen im ABO-System

Blutgruppe (Prävalenz)	Genotyp	Antigen an den Erythrozyten	Antikörper im Serum
0 (40%)	00	H	Anti-A Anti-B
A (40%)	0A oder AA	A	Anti-B
B (10%)	0B oder BB	B	Anti-A
AB (6%)	AB	A und B	Keine

Neugeborene Kinder haben noch keine Blutgruppenantikörper des ABO-Systems (es gibt Darmbakterien, die die gleichen antigenen Determinanten wie Erythrozyten besitzen)

Blutgruppenbestimmung im ABO-System



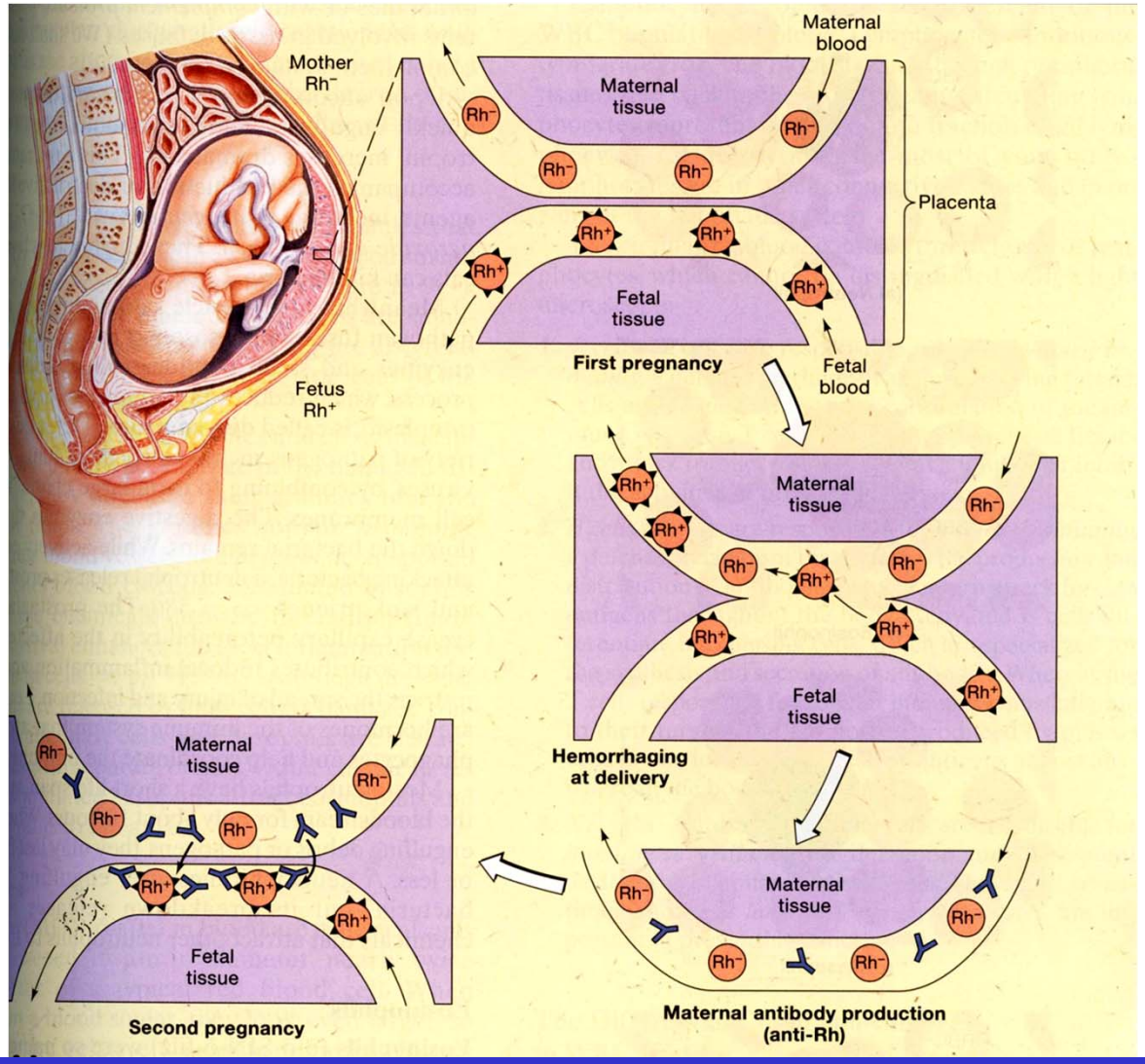
Rhesus-System

- Serum von Kaninchen, die man gegen Erythrozyten von Rhesusaffen immunisiert hat, führt bei den Erythrozyten der meisten Europäer zu einer Agglutination (sie sind Rh-positiv)
- die wichtigsten Rh-Antigene sind C, D, E, c und e
- in Europa: 85% Rh+ und 15% Rh-
- anti-D-Antikörper treten nicht ohne vorangegangene Exposition des Trägers zu Rh+ Erythrozyten auf (erste Exposition löst keine Transfusionsreaktion aus)
- nach der Transfusion Rh+ Blutes auf Rh- Empfänger bilden diese die Antikörper gegen die Rh+ Erythrozyten
- Anti-D-Antikörper sind IgG-Antikörper (passieren Plazentaschranke!!)

Das Fisher system

Haplotyp	Fisher System
CDe	R1
cDE	R2
CDE	Rz
cDe	Ro
Cde	r‘
cdE	r“
CdE	Ry
cde	r

Rh-Inkompatibilität und Schwangerschaft



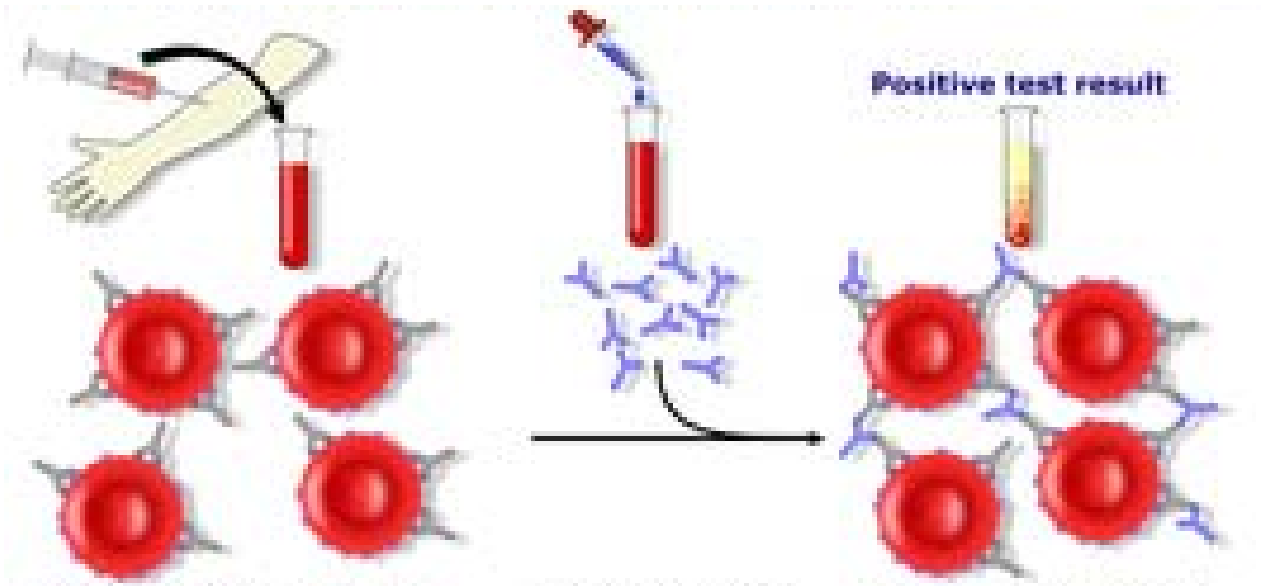
Erste Schwangerschaft ohne Komplikationen.

Erneute Schwangerschaft: Erythroblastosis fetalis

Anti-D-Prophylaxe

Direkter Coombs Test:

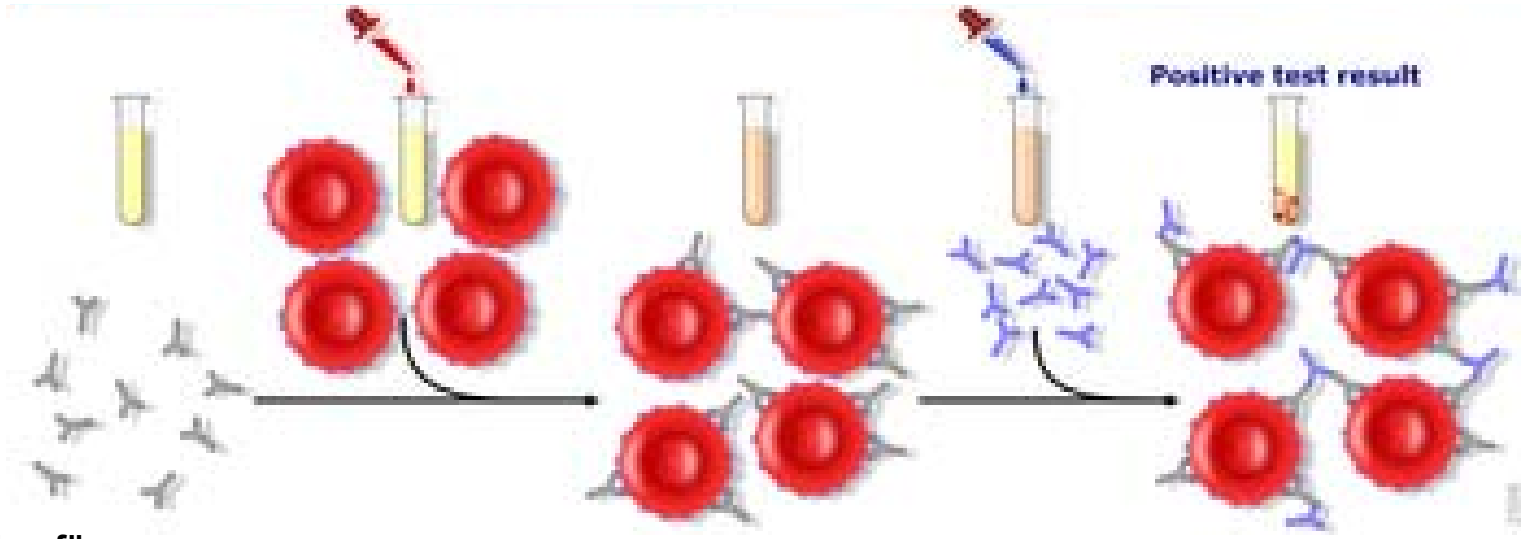
Nachweis von inkompletten, nicht-agglutinierenden Antikörpern durch agglutinierendes Anti-Human-γ-Globulin



Adopted from: http://en.wikipedia.org/wiki/Coombs_test

Indirekter Coombs Test

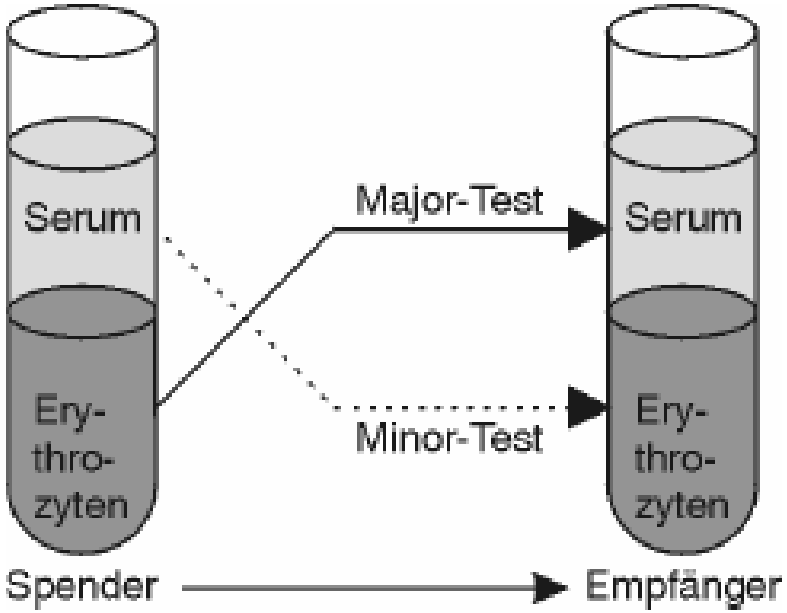
Spenderblut



Empfängerserum

Adopted from: http://en.wikipedia.org/wiki/Coombs_test

Kreuzprobe (cross match)



Major-Test wird die Verträglichkeit zwischen Spendererythrozyten und Empfängerserum beurteilt, im Minor-Test die zwischen Empfängererythrozyten und Spenderserum.

Übernommen von: Physiologie, Deetjen/Speckmann/Hescheler, Elsevier

Hämostase

Aufgaben im Praktikum (nur Demonstration)

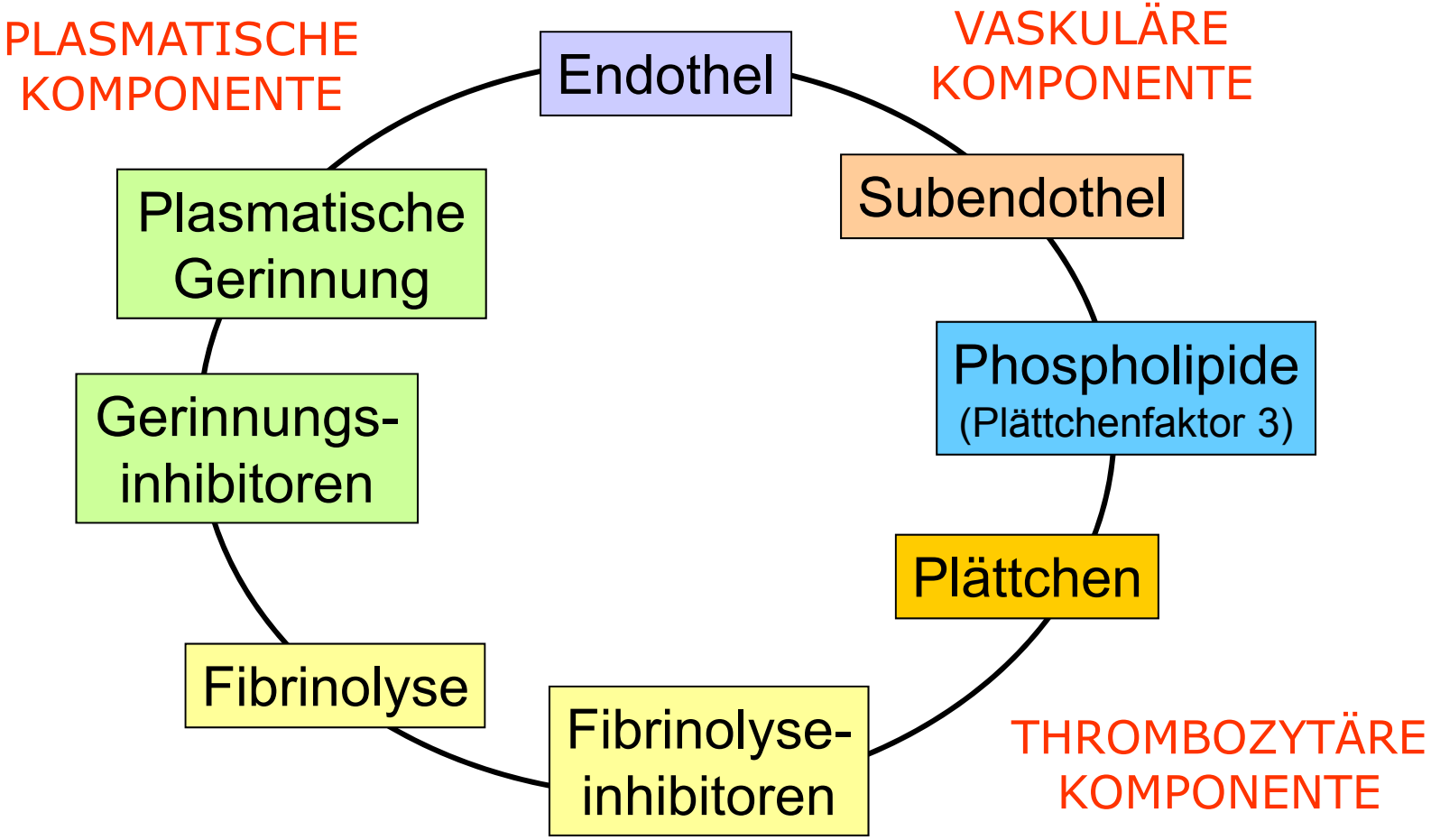
Blutgerinnungstests:

Rekalzifizierungszeit,

Thromboplastinzeit (Quickwert),

aktivierte partielle Thromboplastinzeit,
Thrombinzeit

Komponenten des Hämostasesystems

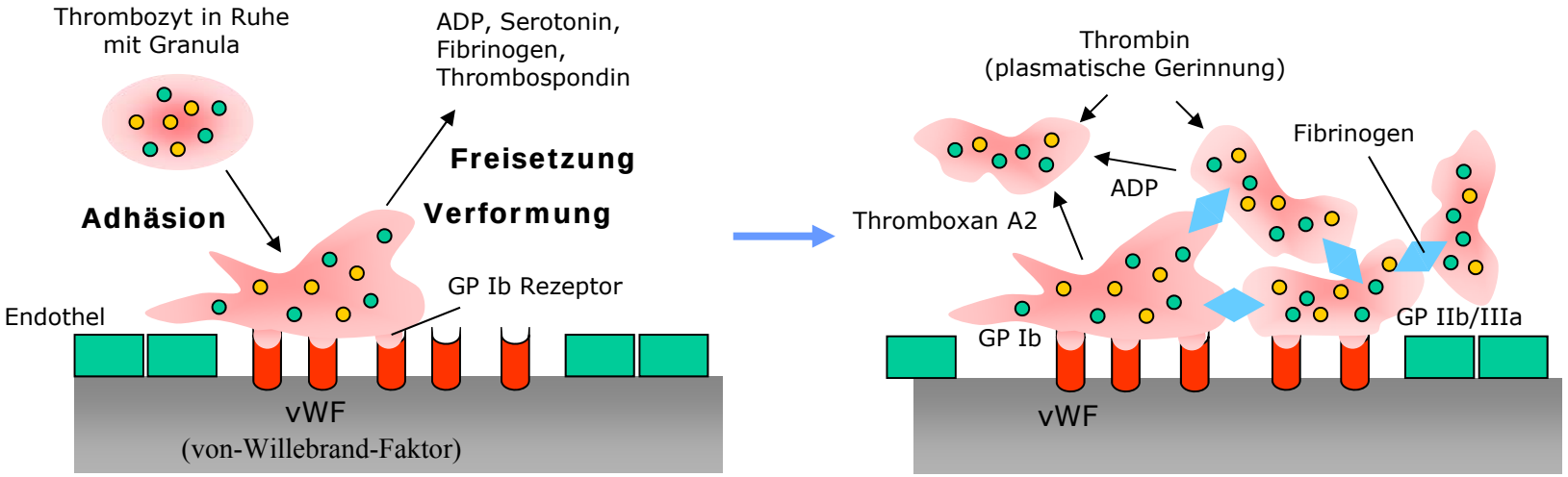


Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka-Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Primäre Hämostase

- initialer Stillstand kleinerer Blutungen nach Verletzung der Gefäßwände durch *Vasokonstriktion* (vaskuläre Komponente) und der Abdichtung des Gefäßdefektes durch *Thrombozytenthrombus* (thrombozytäre Komponente).

Primäre Hämostase – thrombozytäre Komponente



Thrombozytenadhäsion

Bei der Adhäsion an die subendothelialen Strukturen formen die Plättchen sich um. Sie werden kugelig und bilden stachelartige Fortsätze. Verformte und aktivierte Thrombozyten präsentieren Glykoproteinrezeptoren (GP) und entleeren ihre Granula. Der an subendotheliale Strukturen bindende von-Willebrand-Faktor (vWF) heftet die Plätchen (über Rezeptor GPIb) an die Gefäßwand. vWF wird in den Endothelzellen und in den alpha-Granula der Thrombozyten gespeichert. vWF wird sowohl luminal als auch abluminal in die subendotheliale Matrix von Endothelzellen konstitutiv sowie nach Stimulus sezerniert. von Willebrand Syndrom ist die häufigste kongenitale hämorrhagische Diathese (Blutungsneigung) und eine der häufigsten angeborenen Erkrankungen überhaupt (1:100-1:1000).

Thrombozytenaggregation

An andere Rezeptoren (GPIIb und GPIIIa) binden Fibrinogen, Fibronektin und Thrombospondin, die die Thrombozyten untereinander verknüpfen. Die wichtigsten Stimulatoren der Aggregation sind ADP, Thrombin und Thromboxan A2. ADP aus verletzten Zellen verursacht die Aggregation der Thrombozyten. Diese wird durch Kollagen, Thrombin, Serotonin, Thromboxan A2 und PAF verstärkt. Acetylsalycylsäure (Aspirin) hemmt das Enzym Cyclooxygenase und die Synthese von Thromboxan A2.

Modifiziert nach: Physiologie der Menschen, Schmidt/Thews

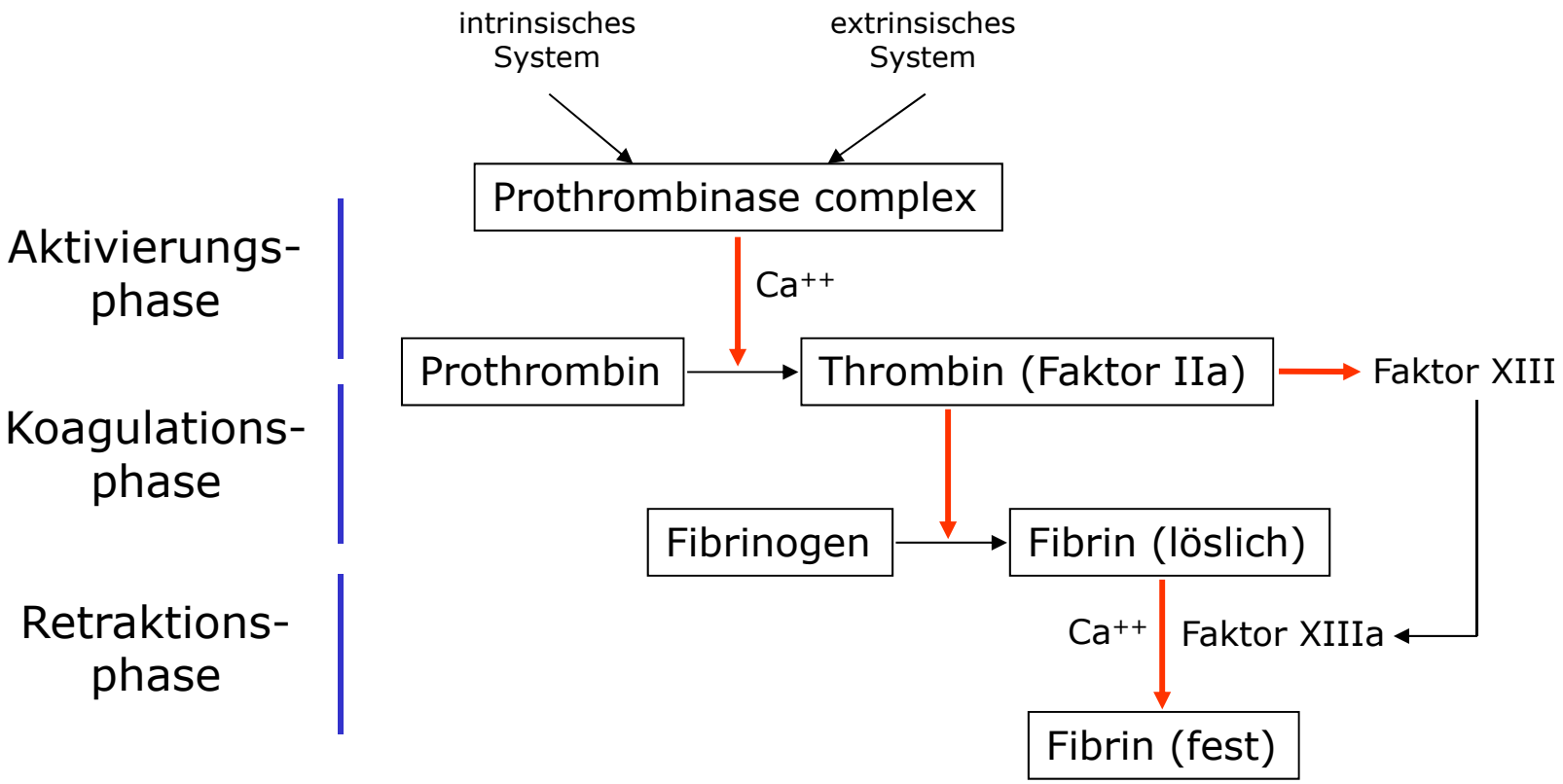
Primäre Hämostase - Diagnostik

- **Blutungszeit**
  - die Zeit bis zum Aufhören einer durch künstliche Verletzung verursachten Blutung,
  - erlaubt eine grobe Beurteilung der Thrombozytenfunktion
  - Normalwert: 2-4 min,
  - verlängert bei Thrombozytopenien und –pathien (e.g. vWF-Mangel), Angiopathien, ausgeprägtem Fibrinogenmangel
- **Plättchenzahlbestimmung**
- **Thrombozytenfunktionsanalyse**
- **Bestimmung des vWF-Antigens mittels ELISA**

Sekundäre Hämostase

- Plasmatische Gerinnung
  - eine Abfolge von proteolytischen Prozessen, an deren Ende die Umwandlung von Fibrinogen zu vernetztem Fibrin steht
  - beteiligt sind: ~13 Proteine, Ca^{++}, Phospholipide
  - Enzyme werden stufenweise aktiviert (limitierte Proteolyse)
- Plasmatische Fibrinolyse

Grundlegendes Schema der plasmatischen Blutgerinnung

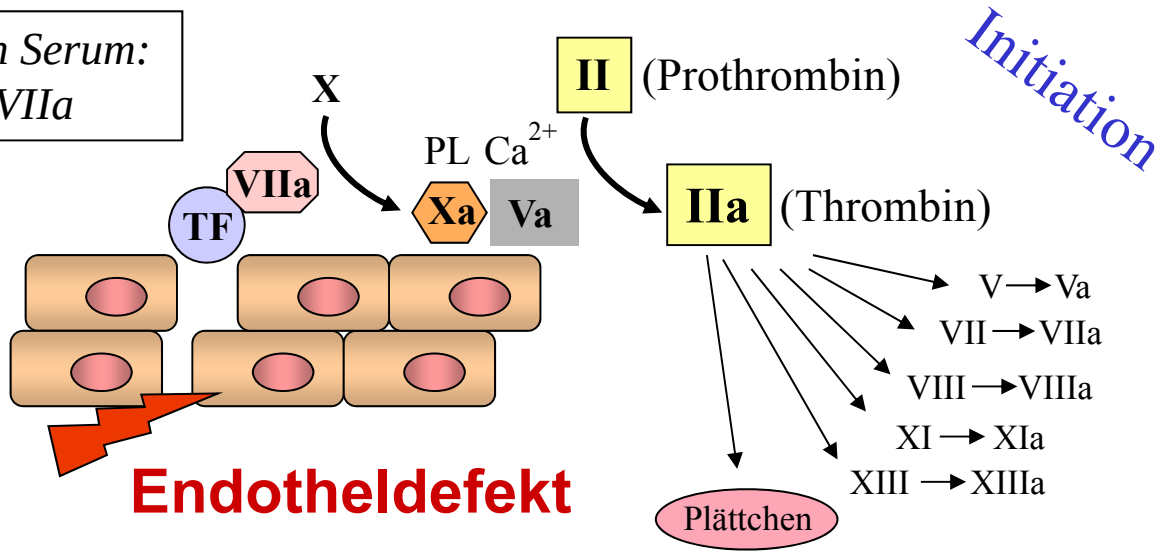


Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka-Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

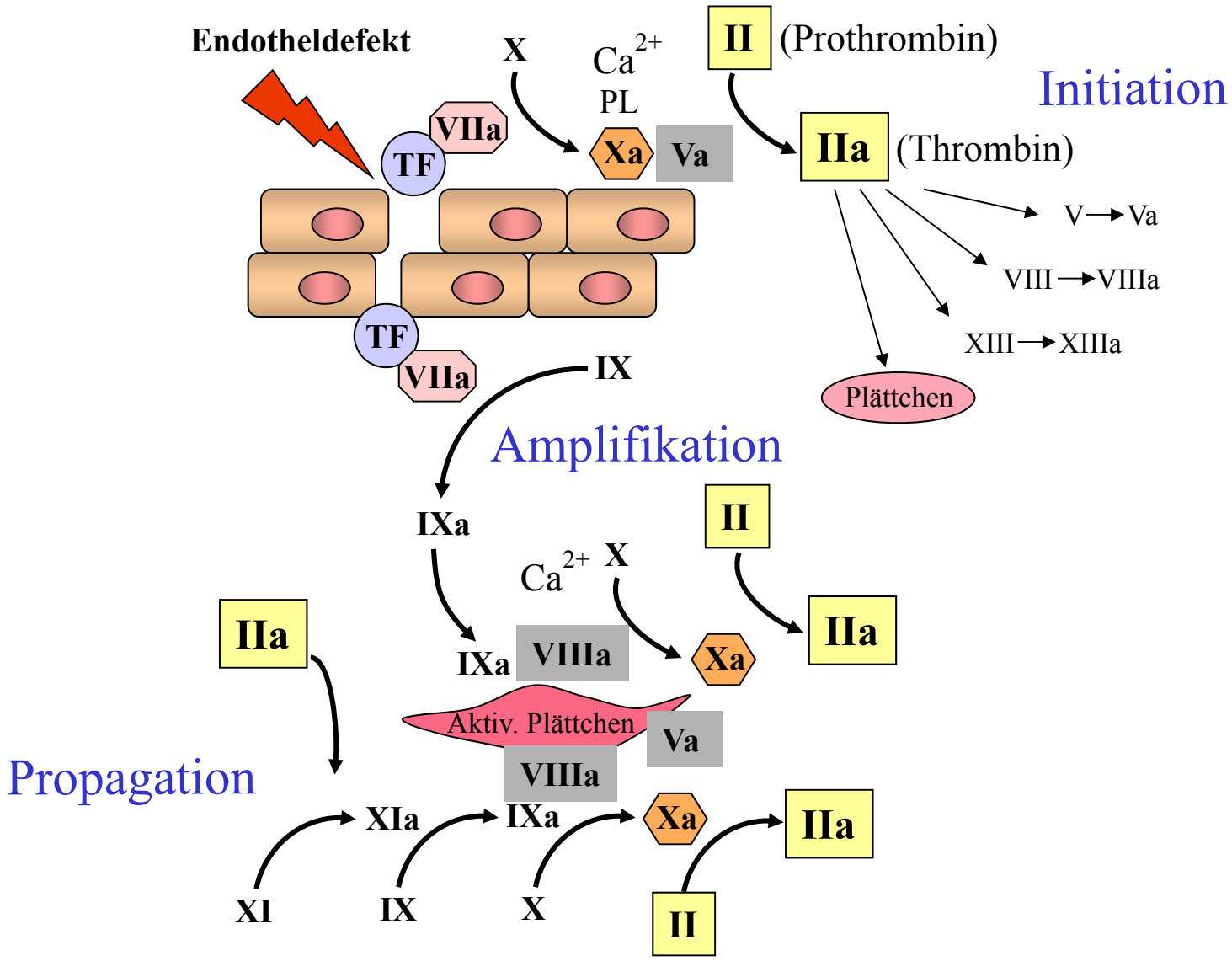
Schema des Gerinnungssystems

$Xa+Va+PL+Ca^{2+}$ = Prothrombinase complex

Faktor VII in Serum: 1% als VIIa

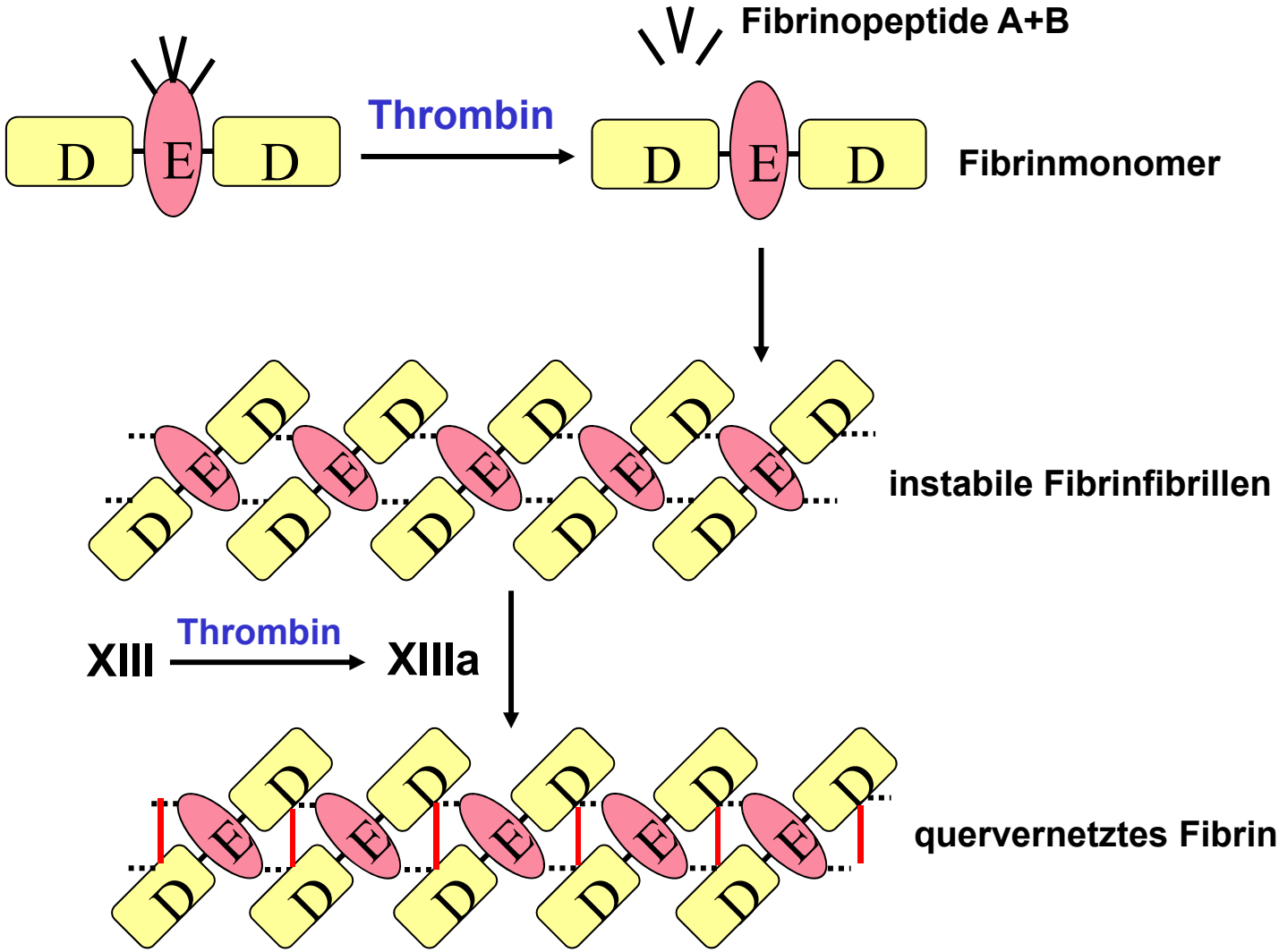


Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002



Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Fibrinbildung



Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka-Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Funktion der Gerinnungsfaktoren

- Substrat: Faktor I (Fibrinogen)
- Proteasen: Faktoren XII, XI, X, IX, VII, II
- Cofaktoren: TF (FIII), V und VIII
- Transglutaminase: Faktor XIII
- Phospholipide: Plätchenfaktor III
- Vitamin K-abhängige Faktoren: II, VII, IX, X
  - erhalten γ-Carboxyglutaminsäurereste

Hemmung der Blutgerinnung

- Bindung von Kalzium (*in vitro*)
  - Na-Zitrat
  - Na-Oxalat, K-Oxalat, Ammonium-Oxalat
  - EDTA
- Heparin (*in vitro* + *in vivo*)
  - bindet und aktiviert Antithrombin
  - Antidot: Protaminsulfat inaktiviert Heparin
  - nur parenteral applizierbar, wirkt nur 4-6 Std. *in vivo*
- Kumarinderivate (*in vivo*)
  - Vitamin K-Antagonisten, oral applizierbar
  - Wirkung: 2 (Warfarin) -7 (Marcumar) Tage
  - bevorzugt für Dauertherapie von Erkrankungen mit Thromboseneigung
  - therapeutische TPZ Werte: 15-35%

Die Gerinnungsstörungen

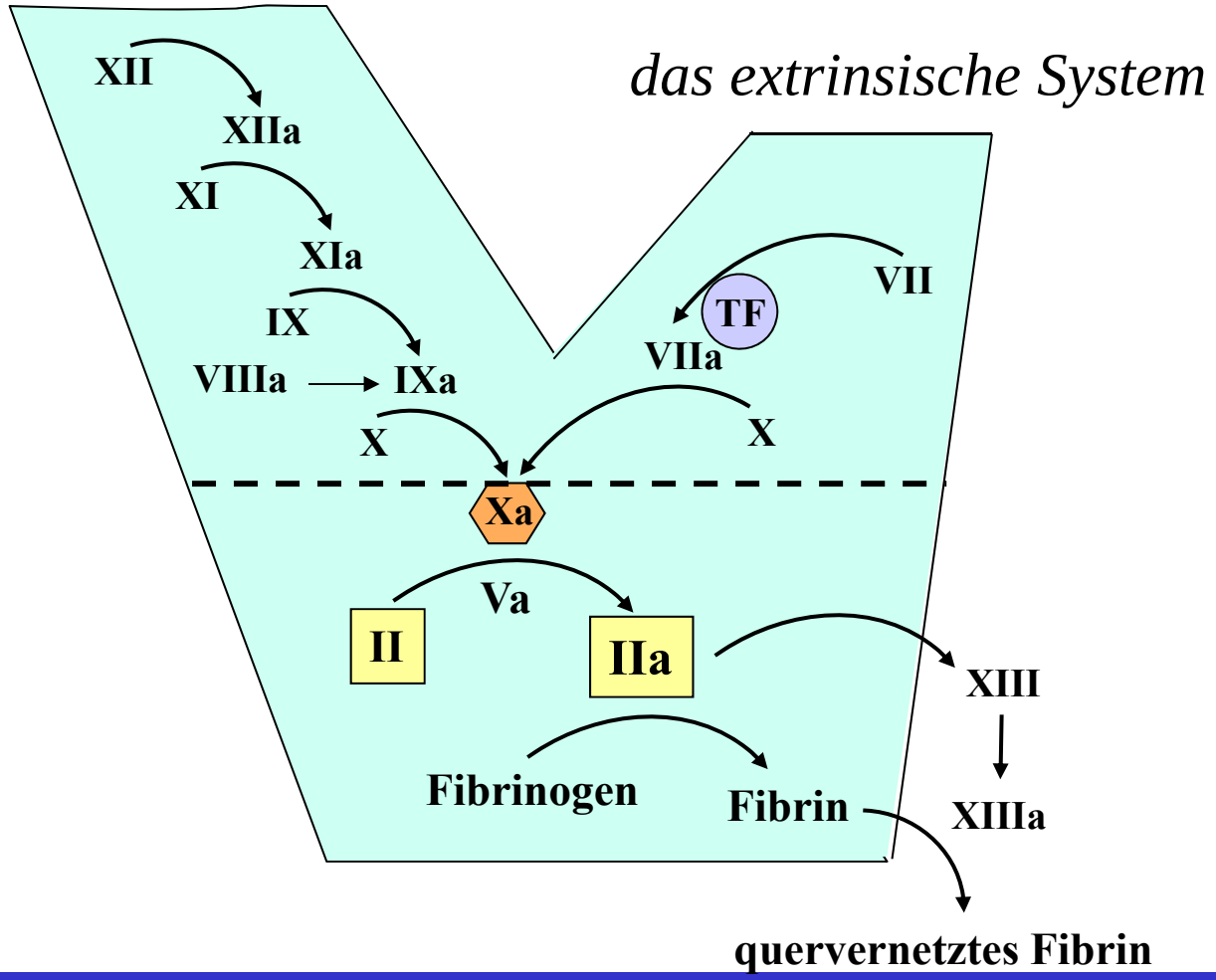
Primäre Hämostasestörungen (z.B. Thrombozytopathien, vWF Syndrom): Petechien – flohstichartige Hautblutungen

Sekundäre Hämostasestörungen (z.B. Hämophilie A oder B): Hämatome

Gerinnungsfunktionsprüfungen

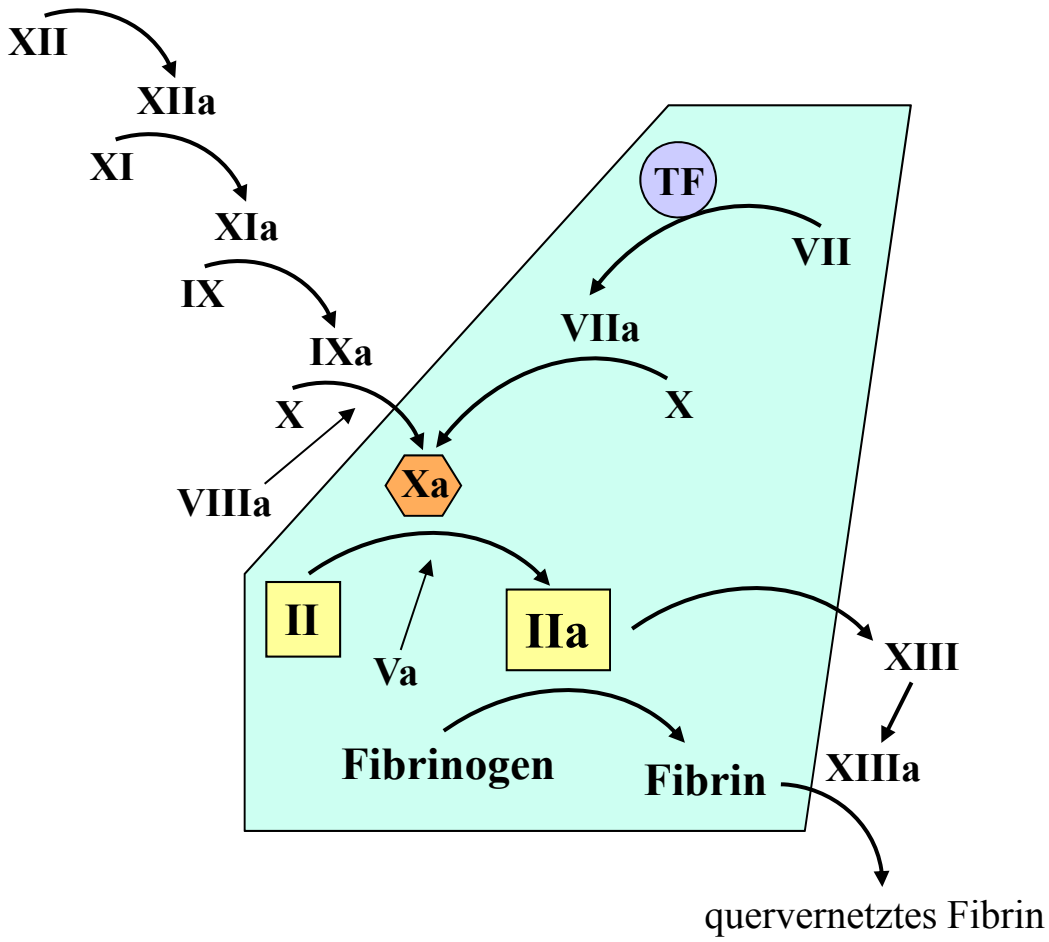
- Thromboplastinzeit (Quick Test)
- Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
- Thrombinzeit
- Einzelfaktorbestimmungen

Schema des Gerinnungsystems



modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Das extrinsische System
(Test: Thromboplastinzeit, TPZ = Quicktest)



Zugabe:
TF + PL + Ca^{++}

Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka-Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Thromboplastinzeit (TPZ)

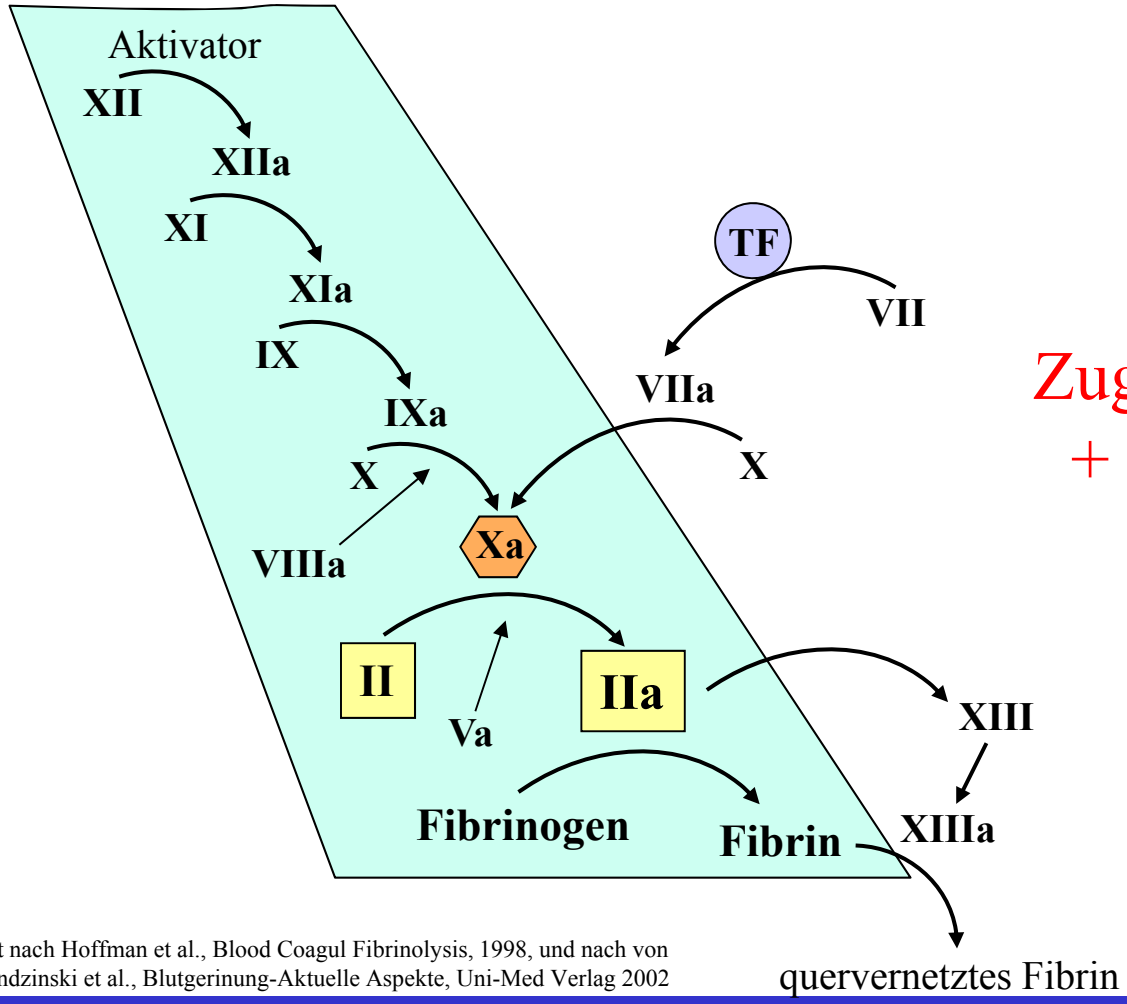
- Quickwert – wird in Prozent der Norm von einer Bezugskurve abgelesen
- Die Bestimmung der TPZ dient:
  - Der Einstellung/Überwachung der oralen Antikoagulantien-Therapie vom Kumarintyp
  - Der Erfassung eines Vitamin K-Mangels anderer Ursache, wie z.B. Antibiotikatherapie oder nach Darmresektion
  - die klinisch am meisten relevante Ursache für die Erniedrigung des Quickwertes ist die Lebererkrankung (Alkoholhepathopathie und die Leberzirrhose)

TPZ, Quickwert und INR

- Standardisierungsproblem: Thromboplastine unterschiedlich, mangelnde Vergleichbarkeit der Ergebnisse,
- Prothrombin-Ratio (PR) = Gerinnungszeit (Patient)/Gerinnungszeit (Normalplasma)
- Heute werden die Thromboplastin-Präparate mit einem WHO-Referenzpräparat verglichen; ISI-Wert (international sensitivity index) auf dem Beipackzettel
- $INR = PR^{ISI}$ (international normalized ratio)

Das endogene System

(Test: aktivierte partielle Thromboplastinzeit, aPTT)



Zugabe: Ca^{++} + PL + Kaolin/Silika

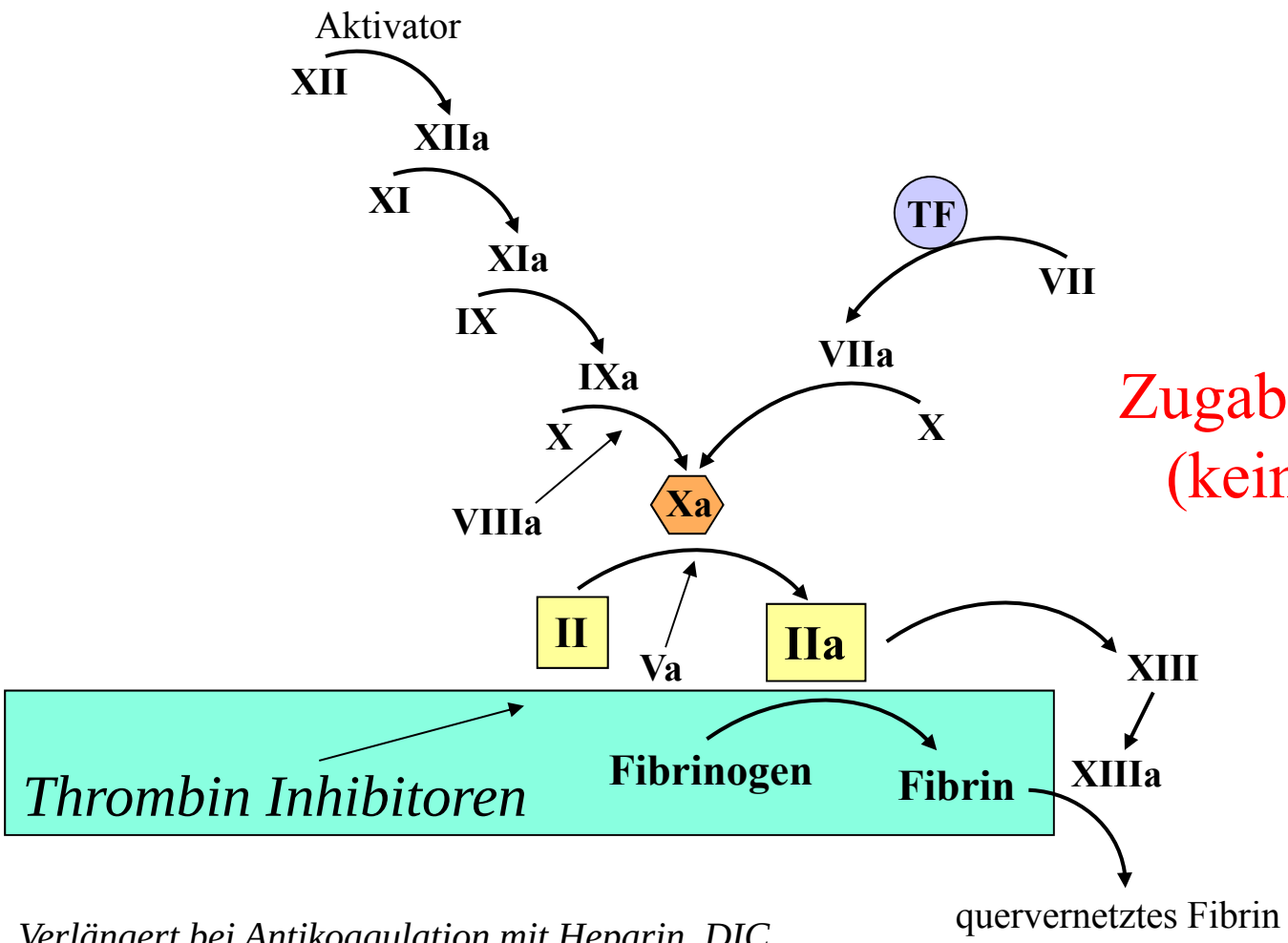
Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

aPTT ist verlängert bei:

Mangel an allen Faktoren außer FVII. wie z.B.:

- Hämophilie A (FVIII-Mangel)
- Hämophilie B (FIX-Mangel)
- Verbrauchskoagulopathie
- Antikoagulation mittels unfraktioniertem Heparin
- Präkallikrein- und HMWK-Mangel
- Schwerem FV- und Fibrinogen-Mangel

Thrombinzeit



Zugabe: Thrombin (kein Kalzium)

*Verlängert bei Antikoagulation mit Heparin, DIC, systemischer Fibrinolyse (**nicht** bei oral antikoagulierten Patienten!)*

Modifiziert nach Hoffman et al., Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, und nach von Depka Prondzinski et al., Blutgerinung-Aktuelle Aspekte, Uni-Med Verlag 2002

Blutbestandteile-Normalwerte

Normalwerte:
•Blutvolumen: 60 – 80 ml/kg
•Erythrozytenzahl:
om: 4,3 – 5,7 Mill/µl
ow: 3,9 – 5,3 Mill/µl
•Leukozytenzahl: 4000 – 10000 /µl
•Thrombozytenzahl: 150000 – 300000 /µl
•Hämoglobin (Hb):
om: 14 – 18 g/dl
ow: 12 – 16 g/dl
•Hämatokrit (Hkt):
om: 40 – 52 Vol%
ow: 37 – 48 Vol%
•Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV): 85 – 98 fl
•Färbekoeffizient (MCH = Mittleres Corpuskuläres Hämoglobingehalt eines Erythrozyten, HbE): 28 – 34 pg
•Blutausstrich:
oMyeloblasten 0%
oPromyelozyt 0%
oMyelozyten 0%
oMetamyelozyten 0%
oStabkernige 0 – 5 %
oSegmentkernige 30 – 80 %
oEosinophile 0 – 6 %
oBasophile 0 – 2 %
oLymphozyten 15 – 50 %
Monozyten 1 – 12 %

BLUT