

ТЕМА 2. ФІЗІОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ ЕРИТРОЦИТІВ

Мета: Знати морфофункціональну характеристику еритроцитів. Вивчити структуру, властивості та сполуки гемоглобіну. З'ясувати шляхи надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну. Засвоїти зміни кількості еритроцитів. Визначити кількість еритроцитів і гемоглобіну в периферичній крові. Провести розрахунок колірного показника крові. Розглянути етіологію, класифікацію, характеристику різних видів анемії та вміти їх диференціювати.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Структура та функції еритроцитів.
2. Гемоглобін: структура, властивості, сполуки.
3. Надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну.
4. Зміни кількості еритроцитів.
5. Анемії: етіологія, класифікація, характеристика видів.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильна камера Горяєва, штатив, піпетки, гемометр Салі (гемометр ГС-3), скарифікатор, вата, гумова груша, мазки периферичної крові хворих на анемію, 3%-й розчин хлориду натрію, дистильована вода, фізіологічний розчин, 0,1 н розчин соляної кислоти, 96% етиловий спирт.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення кількості еритроцитів у 1 мкл крові.

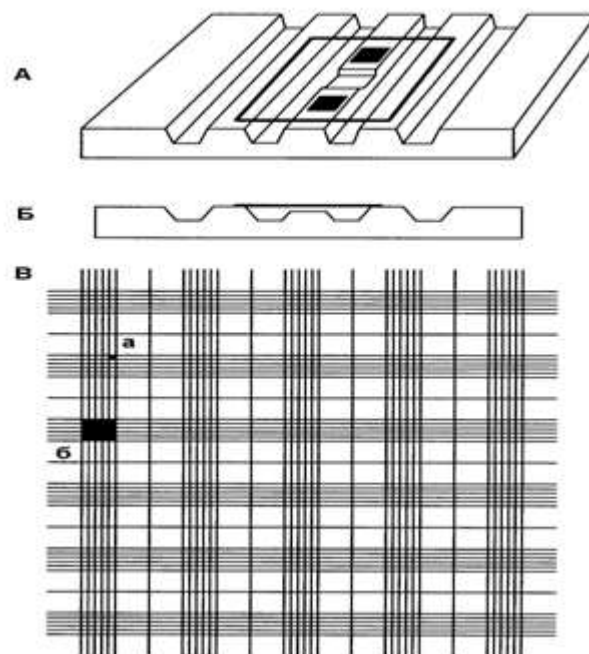
Будова камери Горяєва. Лічильна камера складається з товстого прямокутного (предметного) скла, в центральній частині якого нанесено дві сітки Горяєва, що розмежовані глибокою поперечною канавкою. Збоку від сіток розташовані скляні прямокутні пластинки, до яких притирається шліфоване накривне скельце.

Сітка Горяєва складається з 225 великих квадратів. Частина з них розділена вертикально і горизонтально на 16 малих квадратів, які чергуються з квадратами, що поділені тільки горизонтальними або вертикальними лініями, і з чистими квадратами, без ліній. Глибина камери дорівнює 1/10 мм, бік малого квадрата – 1/20 мм, отже, об'єм одного малого квадрата становить $1/4000 \text{ мм}^3$ (рис. 1).

Підрахунок еритроцитів. У чисту суху пробірку відміряти піпеткою 4 мл 3%-го розчину хлориду натрію. З проколотою скарифікатором пальця в піпетку від гемометра Салі відібрати 20 мкл крові (до позначки на піпетці) і внести її в розчин у пробірці. Кілька разів промити розчином піпетку (втягуючи

розчин у піпетку і видуваючи його у пробірку). Перемішати рідину в пробірці, стукаючи пальцем по її дну, щоб еритроцити розподілилися в рідині рівномірно. Кров розведена у 200 разів.

Потім заповнити камеру суспензією еритроцитів. Для цього піпеткою або скляною паличкою нанести краплю розведеної крові на середню пластинку біля краю покривного скла. Після заповнення камери вичекати 1-2 хв (доки осядуть формені елементи) і почати підрахунок при малому збільшенні мікроскопу в затемненому полі зору (з прикритою діафрагмою і трохи опущеним конденсором). Рахувати еритроцити у 5 великих або 80 малих квадратах ($5 \times 16 = 80$ малих квадратів), розташованих по діагоналі, оскільки розподіл клітин у камері може бути нерівномірним. Для цього під мікроскопом відшукати верхній великий квадрат (поділений на 16 малих), підрахувати кількість еритроцитів у ньому, потім пересунути камеру по діагоналі вниз і направо, до наступного квадрата і т.д.



А, Б – зовнішній вигляд камери Горяєва; В – лічильна сітка камери: а – малий квадрат; б – великий квадрат.

Рисунок 1. Камера Горяєва.

Підрахунку підлягають всі еритроцити в межах маленького квадрата, а також ті, що знаходяться на лівій і верхній його лініях або торкаються до них з обох боків (правило Сгорова). Еритроцити на правій і нижній лініях і ті, що торкаються до них, не враховуються – це буде зроблено в наступному квадраті.

Кількість еритроцитів у 1 мкл крові розрахувати за формулою 1:

$$E = \frac{A \times 4000 \times B}{B}, \quad (1)$$

де E – кількість еритроцитів у 1 мкл крові; A – кількість еритроцитів, виявлених у певній кількості малих квадратів; B – кількість малих квадратів, у яких пораховано еритроцити; V – ступінь розведення крові; 4000 – множник для перерахунку кількості еритроцитів на 1 мкл. Об'єм малого квадрата дорівнює $1/4000 \text{ мм}^3$ або $1/4000$ мкл.

Помноживши його на 4000, звести до об'єму 1 мм^3 або 1 мкл крові. Приклад розрахунку: у 5 великих (80 малих) квадратах нараховано 448 еритроцитів, кров розведена у 200 разів. Число еритроцитів дорівнює:

$$\frac{448 \times 4000 \times 200}{80} = 4,48 \text{ млн/мкл.}$$

Оформити протокол досліду. Записати отримані значення кількості еритроцитів у 1 мкл крові. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення кількості гемоглобіну в крові гемометром ГС-3.

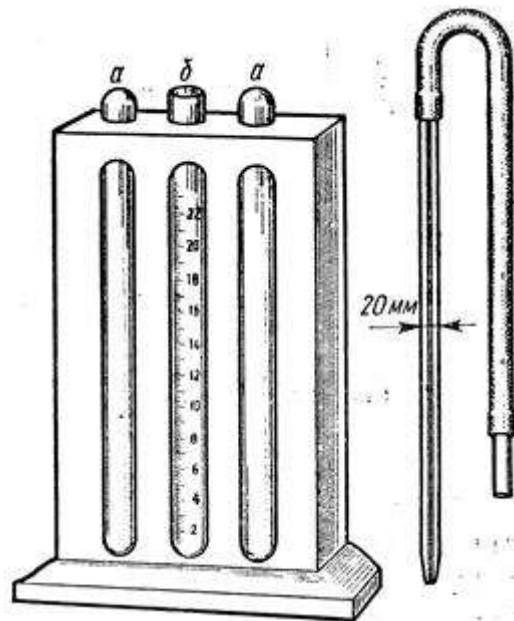
Визначення гемоглобіну гемометром Салі ґрунтується на колориметрії солянокислого гематину, що утворюється при змішуванні крові з соляною кислотою. При цьому червонуватий колір рідини стає бурим. Розчин розводять дистильованою водою до кольору стандарту з відомою концентрацією гемоглобіну.

Гемометр ГС-3 складається з пластмасового корпусу з трьома гніздами, задню стінку зроблено з матового скла. У два крайні гнізда вставлено запаяні пробірки, які містять кольоровий розчин солянокислого гематину. Середня відкрита градуйована пробірка призначена для досліджуваної крові. На ній нанесено дві шкали: одна показує концентрацію гемоглобіну в г% (градування від 2 до 23 г%), друга – відносних одиницях (градування до 140). 16,7 г% гемоглобіну прийнято за 100 одиниць. На всі три пробірки гемометра нанесено контрольні кругові позначки, які при аналізі мають бути на одному рівні. До приладу додано капіляр-піпетку на 20 мкл (0,02 мл) крові, скляні палички та очну піпетку.

У градуйовану пробірку гемометра Салі очною піпеткою налити 0,1 н розчин соляної кислоти до позначки «10». Потім взяти кров із судини в капіляр до позначки (20 мкл), обітерти кінчик капіляра ватою, занурюють його у пробірку і видути кров на дно пробірки так, щоб верхній шар соляної кислоти залишився непофарбованим. Не виймаючи піпетку, промити її розчином соляної кислоти з верхнього шару, а потім дистильованою водою, видути її у пробірку. Після цього вміст пробірки перемішати, постукуючи пальцем по дну, поставити пробірку в середнє гніздо гемометра на 5-10 хв. Це час, необхідний для повного перетворення гемоглобіну на солянокислий гематин. Потім у пробірку по краплі додати очною піпеткою дистильовану воду доки колір розчину не стане однаковим із стандартом. Додаючи воду, розчин перемішати скляною паличкою. Провести відлік по градуйованій шкалі пробірки.

Цифра на рівні нижнього меніска одержаного розчину по шкалі

грампроценти (г%) вказує на абсолютний вміст гемоглобіну (кількість гемоглобіну в 100 г крові). Друга шкала вказує на відносний вміст гемоглобіну – кількість гемоглобіну даної крові, виражена у відсотках до верхньої межі норми (16,7 г%).



а – запаяні пробірки зі стандартом, б – градуйована пробірка.

Рисунок 2. Гемометр Салі.

Оформити протокол, записати одержані результати. Зробити висновки щодо вмісту гемоглобіну в крові, виходячи з показників норми (абсолютний вміст гемоглобіну в крові чоловіків – 14,0-16,0 г% і жінок – 12,0-14,0 г%; відносний вміст гемоглобіну в крові чоловіків – 80-90 % і жінок – 70-80 %).

Завдання 3. Розрахунок колірного показника крові.

Співвідношення між кількістю гемоглобіну крові та числом еритроцитів називають колірним показником. Колірний показник (КП) дозволяє оцінити ступінь насичення еритроцитів гемоглобіном; розраховують його за формулою:

$$\text{КП} = \frac{\text{встановлена кількість гемоглобіну} \times \text{встановлена кількість еритроцитів}}{\text{нормальна кількість гемоглобіну} \times \text{нормальна кількість еритроцитів}}$$

Наприклад, якщо в крові знайдено 80 % гемоглобіну та 4 млн/мкл еритроцитів, то колірний показник крові буде дорівнювати:

$$\frac{80}{100} \div \frac{4000000}{5000000} = \frac{80 \times 5000000}{100 \times 4000000} = \frac{8 \times 5}{10 \times 4} = 1$$

На практиці колірний показник вираховують діленням встановленої кількості гемоглобіну на три перші цифри встановленого числа еритроцитів та множенням отриманого на 5.

У патології колірний показник може бути вище одиниці (гіперхромазія) або нижче одиниці (гіпохромазія). У нормі він складає 0,8-1,0. Обчислення колірного показника має діагностичне значення при захворюваннях крові. Наприклад, при перниціозній анемії колірний показник вище одиниці.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 4. Вивчення мазків крові хворих на залізодефіцитну, В₁₂- і фолієводефіцитну, а також апластичну анемію.

Мікроскопію мазків проводити під імерсійним об'єктивом з піднятим конденсором. Розглянути під мікроскопом мазки периферичної крові хворих з анеміями і розпізнати патологічні форми еритроцитів:

а) залізодефіцитна анемія – анізоцити, поїкілоцити, гіпохромні еритроцити;

б) В₁₂ – і фолієводефіцитна анемії – мегалобласти, мегалоцити, анізоцити, поїкілоцити, гіперхромні еритроцити;

в) апластична анемія – тенденція до панцитопенії, відсутність поліхроматофілії, базофільної зернистості і ретикулоцитів.

Замалювати у вигляді полів зору мікроскопа картину крові у хворих при залізодефіцитній, В₁₂ – дефіцитній, фолієводефіцитній і апластичній анемії. Позначте цифрами на малюнку і запишіть під ним назву клітин еритроцитарного ряду (як регенеративні, так і дегенеративні форми еритроцитів і клітини патологічна регенерації). Для малювання використовувати кольорові олівці.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Опишіть будову камери Горяєва.
2. Як практично можна визначити рівень гемоглобіну в крові?
3. Про що свідчить підвищення колірного показника в крові?
4. За якими ознаками відрізняються залізодефіцитна анемія від В₁₂- і фолієводефіцитної анемії?