ТЕМА 6. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОГЛОБІНУ

Мета: Вивчити структуру, властивості та сполуки гемоглобіну. З'ясувати шляхи надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну. Визначити вміст гемоглобіну в периферичній крові. Провести розрахунки колірного показника крові та індексів еритроцитів.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Будова гемоглобіну.
2. Сполуки гемоглобіну.
3. Синтез гемоглобіну.
4. Надходження заліза в організм.

Матеріали та обладнання: піпетки, гемометр Салі (гемометр ГС-3), скарифікатор, вата, гумова груша, дистильована вода, 0,1 н розчин соляної кислоти, 96% етиловий спирт.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення кількості гемоглобіну в крові гемометром ГС-3.

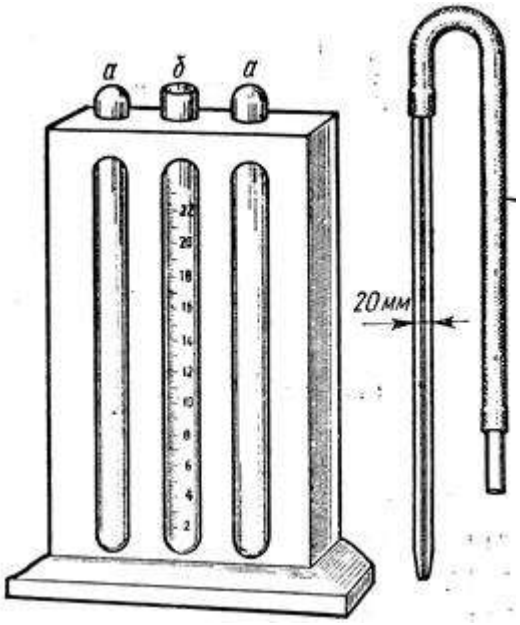
Визначення гемоглобіну гемометром Салі ґрунтується на колориметрії солянокислого гематину, що утворюється при змішуванні крові з соляною кислотою. При цьому червонуватий колір рідини стає бурим. Розчин розводять дистильованою водою до кольору стандарту з відомою концентрацією гемоглобіну.

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% (градуювання від 2 до 23 г%), друга – відносних одиницях (градуювання 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 (рис.).

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 1. 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 2. 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 1:

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

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 перніціозній анемії колірний показник вище одиниці.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 3. Визначення середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті.

Принцип методу. Показник відображає абсолютний вміст гемоглобіну в одному еритроциті в пікограмах (пг).

Клінічне значення. Зниження відображає гіпохромію та спостерігається при залізодефіцитних анеміях, підвищення має місце при макроцитарних і, особливо, мегалоцитарних анеміях.

Хід проведення. Визначити шляхом ділення концентрації гемоглобіну в 1 мкл крові на число еритроцитів в тому ж об'ємі.

Приклад: концентрація гемоглобіну в крові дорівнює 12 г / 100 мл, кількість еритроцитів в 1 мкл крові – 4 000 000.

$$12\,г\,\% = 12000\,мг / 100\,мл = 12\,мг\,в\,1\,мкл = 120000000\,пг\ \left(1пг = \frac{1}{1000000000}\,мг\right).$$

Середній вміст гемоглобіну = $\frac{120000000пг}{4000000} = 30$ пг, тобто практично треба вміст гемоглобіну в г / 100 мл помножити на 10 і розділити на число мільйонів еритроцитів в крові. Розрахунок показника можна зробити по номограмі (за Мазоном). У сучасних гематологічних автоматах цей показник (MCH) визначають розрахунковим шляхом. Нормальні величини складають 24-33 пг.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 4. Визначення середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті.

Принцип методу. Показник відображає ступінь насичення еритроцита

гемоглобіном в процентах. У нормі на 100 мл крові припадає 42 мл еритроцитів, а вміст гемоглобіну на 100 мл становить 14,5 г гемоглобіну.

Клінічне значення. Зниження показника відображає абсолютну гіпохромію і є характерним для залізодефіцитних анемій. Чутливість цього індексу еритроцитів при залізодефіцитних анеміях становить 85%. Зниження показника виявлено так само при макроцитарних і особливо мегалоцитарних анеміях, коли обсяг еритроцитів, збільшений непропорційно більше значно порівняно зі збільшенням насичення еритроцитів гемоглобіном.

1. MCH – Mean Corpuscular Hemoglobin.
2. MCHC – Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration.
3. MCV – Mean Corpuscular Volume.

Хід проведення. Середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті розрахувати за формулою 2:

Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті = (Hb, г на 100 мл / загальний об'єм еритроцитів, мл на 100 мл) × 100 (2).

Враховуючи, що 42 мл еритроцитів містять 14,5 г гемоглобіну, скласти просту пропорцію та отримати результат: 100 мл еритроцитів містять 34,5 г гемоглобіну.

Можна обчислити шляхом ділення концентрації гемоглобіну в г / 100 мл на гематокритну величину і множення на 100.

Приклад: концентрація гемоглобіну 12 г / 100 мл, гематокрит 40 об. %.

Середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті розрахувати за формулою 3:

$$(\text{MCHC})^2 = \frac{12}{40} * 100 = 30\% \qquad (3).$$

Можна легко розрахувати, використовуючи номограму за Мазоном (рис. 2). Показник включений в програму сучасних гематологічних автоматів.

Нормальні величини MCHC коливається в межах 30-38%. Величина найбільш константна, насичення вище 38% не буває.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 7. Визначення середнього об'єму еритроцитів.

Принцип методу. Показник є важливим при діагностиці різних форм недокрів'я.

Клінічне значення. Підвищення показника спостерігається при макроцитарних і мегалоцитарних анеміях, особливо високе значення відмічається при B_{12}-дефіцитних анеміях. Зниження показника відзначається при мікроцитарних анеміях.

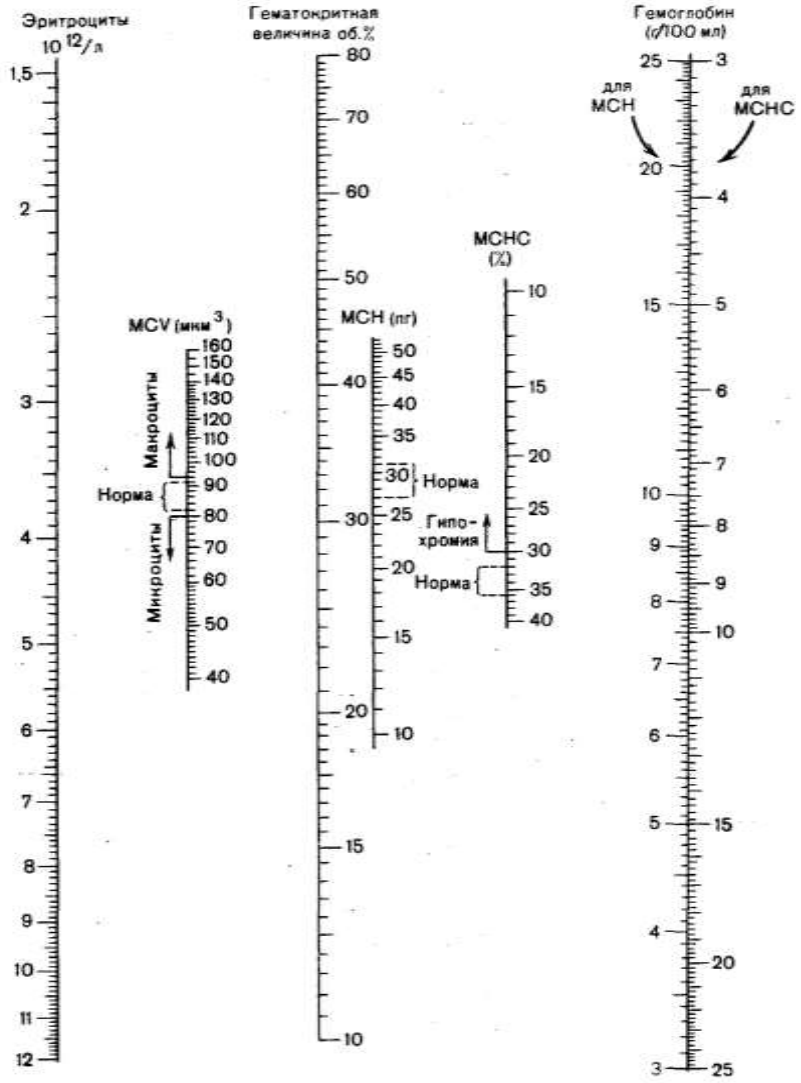


Рисунок 2. Номограма для обчислення індексів еритроцитів за Мазоном.

Хід проведення. Обчислити шляхом ділення гематокритної величини на загальну кількість еритроцитів у крові. Середній об'єм еритроцитів $(MCV)^3$ виражають у кубічних мікронах або кубічних мікрометрах.

Приклад: гематокрит – 40 об.% (або 0,40 мм^3, або 400 000 000 мкм^3); еритроцити – 4 500 000 в 1 мкл. Розрахувати за формулою 4:

$$MCV = \frac{400000000 мкм^3}{4500000} = \frac{4000}{450} = 88 мкм^3 \qquad (4).$$

Практично для обчислення показника треба величину гематокриту поділити на число еритроцитів в мільйонах і помножити на 10.

Можна розрахунок вести по номограмі.

У програмі сучасних гематологічних комплексів і автоматів цей параметр визначають або кондуктометрично (вітчизняний гематологічний комплекс КГ-2), або розрахунковим шляхом. Нормальні величини складають 75-95 мкм^3.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Опишіть будову гемометра Салі.
2. Як практично можна визначити рівень гемоглобіну в крові?
3. Що дозволяє оцінити колірний показник?
4. Про що свідчить підвищення колірного показника в крові?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Бульда В. І., Дземан М. І., Радіонова І. О. Гематологічні захворювання в клінічній практиці. Київ : Медкнига, 2023. 196 с.
2. Воробель А. В. Основи гематології : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
3. Гематологія : посіб. / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 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.
5. Іонов І. А., Комісова Т. Є., Слюсарєв В. Ф., Шаповалов С. О. Фізіологія крові та внутрішнього середовища : методичні рекомендації. Харків : ЧП Петров В.В., 2017. 48 с.
6. Міщенко І. В., Павленко Г. П., Коковська О. В. Фізіологія системи крові : навч.-метод. посіб. для студентів медичних вузів України. Полтава : УМСА, 2019. 210 с.