**CVIČENIE č. 7**

**Meno:**

**Dátum:** 23. 3. 2020

**Téma:** Stanovenie hemoglobínu, hematokritu a celkovej koncentrácie bielkovín v sére.

**Úloha č. 1:**  Stanovenie hemoglobínu kván-hemoglobínovou metódou

**Princíp:**  Hemoglobín (Hb) je najdôležitejšou súčasťou erytrocytov, v ktorých tvorí približne 35% objemu. Je schopný viazať a uvoľňovať O2 a zúčastňuje sa transportu CO2. Medzi základné hematologické vyšetrenia patrí stanovenie množstva Hb.

Normálne hodnoty:

* u ženy – 139 g/l (120-158 g/l)
* u muža – 152 g/l (135-170 g/l)

Množstvo hemoglobínu sa stanovuje farebnými zmenami jeho zlúčenín využitím kolorimetrických metód. Základné kolorimetrické metódy sú: Sahliho metóda (reakciou Hb s HCl vzniká kyslý hematín hnedej farby) a kyán-hemoglobínová metóda (ferikyanid draselný oxiduje hemoglobín na methemoglobín, ktorý reaguje s kyanidom draselným za vzniku kyánmethemoglobínu (hemoglobín kyanidu) hnedočerveného sfarbenia).***UVIESť METÓDU, KTORá BOLA POUžITá VO VIDEU A JEJ STRUčNý POPIS***

**Materiál**

**a pomôcky:** transformačný roztok, krv, mikropipeta, špičky, skúmavky, stojan, pastelky/fotoaparát, stopky, jednorazové rukavice, papierová vata, kalibračná krivka, pravítko alebo trojuholník, spektrofotometer,

transformačný roztok (podľa van Kampena a Zijlstru): 0,2g primárneho fosforečnanu draselného KH2PO4, 0,05g kyanidu draselného KCN, 0,2g fenkyanidu draselného K3Pe(CN)6, doplníme destilovanou vodou do 1000ml.

**Postup:**

1. Zapnite spektrofotometer, nastavte vlnovú dĺžku (540 nm) a vložte blank (transformačný roztok).
2. Do skúmavky napipetujte 5ml transformačného roztoku.
3. Pridajte 20 µl vyšetrovanej krvi, zazátkujte, zmiešajte a nechajte 3 minúty stáť.
4. Zmes preneste do kyvety a odmerajte absorbanciu oproti blanku pri 540 nm.
5. Z kalibračnej krivky odčítajte hodnotu hemoglobínu v g/l a v klin. % a zapíšte   
   ju do protokolu.

**Výsledky:**

**Diskusia/**

**Záver:**

**Úloha č. 2:** Stanovenie hematokritu mikrocentrifugáciou

**Princíp:**  Hematokrit udáva percentuálny pomer medzi objemom bunkovej časti krvi (erytrocytov) a celkovým objemom krvi. U zdravej dospelej ženy je hodnota hematokritu 39±4% (35-43%) a u zdravého dospelého muža 44±5% (39-49%). U novorodenca je vyšší, u tehotných žien sú hodnoty nižšie. Hodnota hematokritu pri fyziologických podmienkach stúpa po pobyte vo vyšších nadmorských výškach.

***PODSTATA METÓDY, PREčO SA STANOVUJE HEMATOKRIT***

**Materiál**

**a pomôcky:** krv, sklené heparinizované mikrokapiláry, plastelína, mikrocentrifúga, stupnica na odčítanie

**Postup:**

1. Krv v skúmavke premiešajte a prelejte na hodinové sklíčko.
2. Do tenkej sklenej heparinizovanej kapiláry nasajte krv do výšky asi 4/5.
3. Jeden koniec upchajte plastelínou a vložte do mikrocentrifúgy tak, aby upchatý koniec smeroval von.
4. Centrifugujte pri 3000 G 3 minúty.
5. Výšku stĺpca krviniek a plazmy porovnajte so stupnicou a odčítajte hodnotu hematokritu, zapíšte.

**Výsledky:**

**Diskusia/**

**Záver:**

Otázky:

1. Ako sa zmení hodnota hematokritu po 2 dňoch bez príjmu tekutín?
2. Prečo hodnota hematokritu stúpa po dlhšom pobyte vo vysokých nadmorských výškach?

**Úloha č. 3:** Stanovenie celkovej koncentrácie bielkovín biuretovou metódou

**Princíp:**  Bielkoviny krvnej plazmy sa rozdeľujú do niekoľkých skupín: albumíny, globulíny a fibrinogén. Ich funkciami sú: udržiavanie objemu plazmy, pH krvi, transport látok (tukov, hormónov, farbív, minerálov, vitamínov...), zúčastňujú sa obrany pred infekciami, zrážania krvi.

**Materiál**

**a pomôcky:**

**Postup:**

**Výsledky:**

**Diskusia/**

**Záver:** Pod

.