

Osmotická rezistence erytrocytů

Erytrocyty udržují svůj charakteristický tvar pouze v izotonickém prostředí. V roztocích, jejichž osmotický tlak je nižší než v krevní plazmě, dochází k nasátí vody do červených krvinek a ke zvětšování jejich objemu. Přitom dochází ke vzniku štěrbin v membráně erytrocytu, prasknutí buňky a k vystoupení hemoglobinu do okolí. Tento jev nazýváme **hemolýza**. Erytrocyty vykazují určitou rezistenci vůči hypotonickému prostředí. Ne všechny krvinky jsou však stejně odolné.

Za normálních okolností začínají hemolyzovat minimálně odolné, obvykle starší erytrocyty, při koncentraci 0,44 - 0,40 % roztoku NaCl (tj. 75 - 68 mmol/l roztok). Tato koncentrace NaCl vymezuje tzv. **minimální osmotickou rezistenci erytrocytů**. Všechny erytrocyty, včetně nejodolnějších, hemolyzují při koncentraci 0,34 - 0,30 % NaCl (tj. 58 - 51 mmol/l roztok) a tato hodnota je nazývána jako **maximální osmotická rezistence erytrocytů**. Ze zjištěných hodnot lze spočítat **osmotickou rezistenční šířku** jako rozdíl minimální a maximální osmotické rezistence (např. 0,44 - 0,32 = 0,12 % NaCl). (Vyšetření osmotické rezistence je v klinické praxi součástí vyšetření u hemolytických anémií.)

Pomůcky

Zásobní roztok NaCl (1%), destilovaná voda, stojánek, pipeta, automat. pipeta, zkumavky

Provedení

Do stojánku umístíme 11 očíslovaných zkumavek a do každé postupně pipetujeme celkový objem 5 ml roztoku NaCl o dané koncentraci, kterou získáme ředěním zásobního 1 % roztoku NaCl. Koncentrace odpovídají sestupné koncentrační řadě od 0,7 % do 0,3 % NaCl a rozdíl mezi jednotlivými koncentracemi je 0,04 %.

Potom do každé zkumavky přidáme jednu kapku krve (10 μ l) a šetrně promícháme. Vzorky nejprve ponecháme 30 minut v klidu při laboratorní teplotě a pak provedeme centrifugaci (1000 rpm; 10 min). Při centrifugaci erytrocyty, které nehemolyzovaly, klesnou ke dnu a nad nimi zůstává čirý roztok NaCl; naopak hemoglobin v roztoku NaCl svědčí pro vznik hemolýzy - intenzita tohoto zabarvení závisí na množství hemolyzovaných krvinek.

Po ukončení centrifugace možnou hemolýzu ve zkumavkách ihned odečteme při dobrém osvětlení. Minimální osmotická rezistence je charakterizována prvním načervenalým zbarvením roztoku. Hranici maximální osmotické rezistence odečítáme ve zkumavce, ve které jsou hemolyzovány všechny erytrocyty - obsah zkumavky je lakově červený a průhledný a chybí rovněž sediment na dně zkumavky. (pozn.: hemolýzu je možné také odečítat pomocí fotometru)

Číslo zkumavky	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
c % (NaCl)											

V (NaCl) [ml]											
V (H ₂ O) [ml]											

Úkoly

- 1.) Zjistěte hodnotu minimální a maximální osmotické rezistence a vypočítejte rezistenční šířku.
- 2.) Zhodnoťte nalezenou OR (její případné zvýšení či snížení) a uveďte to do závěru.
- 3.) Do závěru uveďte, jestli jsou hodnoty fyziologické, popř. určete možné příčiny patologické diagnózy.



Univerzita
Pardubice