

## Určení množství hemoglobinu (HGB)

Nejdůležitější součástí červených krvinek je hemoglobin, jehož hlavní funkcí je schopnost vázat reverzibilně kyslík.

Množství hemoglobinu v krvi dospělého muže je **135 - 175 g/l krve**, u ženy **115 - 165 g/l krve**.

### Princip

Při vyšetřování hemoglobinu se využívají jeho fyzikální a chemické vlastnosti, zejména barevné změny jeho sloučenin. Dvojmocné železo hemoglobinu je oxidováno na trojmocné pomocí ferrikyanidu draselného, vzniká methemoglobin, který je přeměněn kyanidem na stabilní hemiglobinkyanid, který má absorpční maximum okolo 540 nm (červenohnědá barva).

### Pomůcky

Mikropipeta, spektrofotometr, nesrážlivá krev, standardní roztok hemoglobinu, reakční činidlo.

### Provedení

1.) Příprava transformačního roztoku

Přidáním 2 kapek maxiglobinu do 5 ml fyziologického roztoku získáme tzv. transformační roztok.

2.) Ve třech zkumavkách přidáme k transformačnímu roztoku 20  $\mu$ l nesrážlivé krve. Obsah zkumavky promícháme a necháme 15 minut stát. (Během této doby se veškerý hemoglobin přemění na hemiglobinkyanid.)

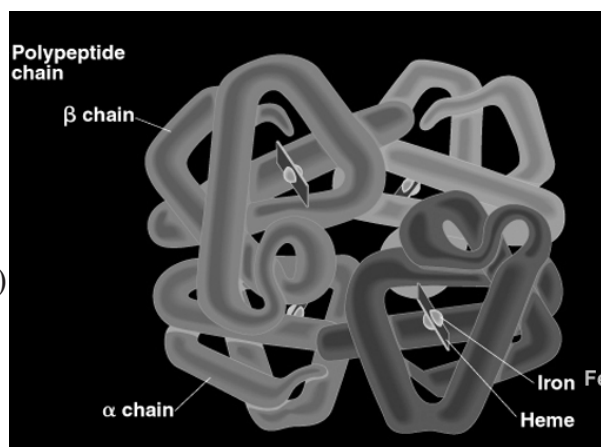
3.) Analytické stanovení

Standard i vlastní vzorek měříme proti transformačnímu roztoku při 540 nm na spektrofotometru. Získané hodnoty absorbance použijeme k výpočtu koncentrace hemoglobinu ve vzorku podle uvedeného vzorce.

### Výpočet

$$C_{(HGB)} = \frac{A_{(vz)}}{A_{(st)}} \cdot C_{(st)}$$

(Do výsledku je nutné započítat také použité ředění...)



**1 molekula hemoglobinu ( $2\alpha + 2\beta$  podj. +  $4x$  hem +  $4x$   $Fe^{2+}$ )**

### Úkol:

- 1.) Zjistěte koncentraci HGB ve vzorku.
- 2.) Porovnejte nalezenou hladinu s referenčními hodnotami a uveďte, zda se jedná o fyziologický nález či ne.
- 3.) Zjištěnou koncentraci hemoglobinu použijte k výpočtu charakteristik erytrocytů v další úloze (pro MCH, MCV, MCHC).



Univerzita  
Pardubice

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky