

همولیز اسمزی یا شکنندگی گویچه های قرمز

(osmotic hydrolysis or fragility of red blood cells)

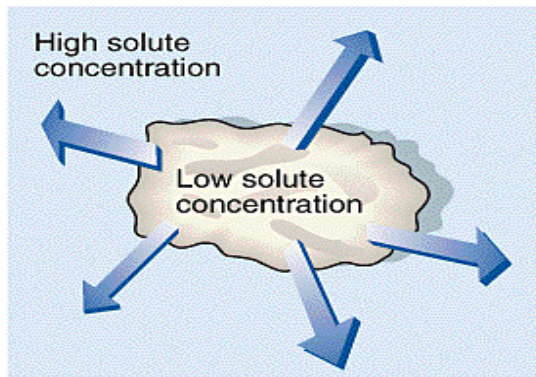
بافت خونی شامل پلاسما و گویچه ها است.

گویچه های سرخ یا اریتروسیت شامل ۲ بخش متمایز هستند یکی **Stroma** یا قسمت غشایی که باعث جلوگیری از خروج هموگلوبین می شود و دیگری **هموگلوبین** که بیشتر فضای درون سلولی را فرا می گیرد.

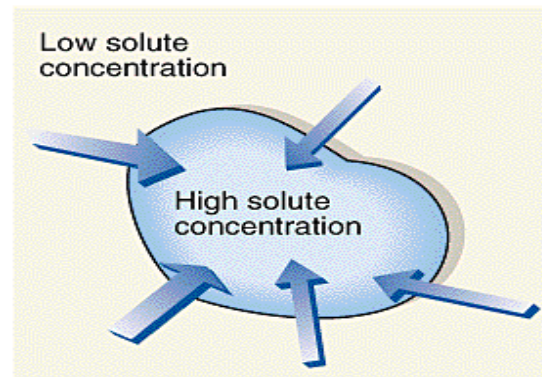
همولیز عبارتست از خروج هموگلوبین از گلبول های قرمز تحت تاثیر هر عاملی، بنابراین همولیز با پاره شدن غشا گلبولی و خارج شدن هموگلوبین همراه است.

در این صورت محلول خون پس از آنکه عمل همولیز در آن صورت گرفت به علت این که هموگلوبین در آب محلول است شفاف می شود و جسم گلبولی که بی رنگ است در ته ظرف رسوب می کند.

هرگاه گویچه های سرخ در یک محلول کم فشار (هیپوتونیک) قرار گیرند طبق قانون اسمز آب به داخل آنها وارد شده متورم می شوند و این عمل بستگی به عوامل مختلفی از جمله نسبت سطح به حجم، فشار اسمزی داخل سلول و میزان نفوذ پذیری غشاء گویچه ها دارد. اگر فشار محیط از حد معینی کمتر شود غشا گلبولی پاره شده و هموگلوبین آزاد می گردد. بر عکس اگر گلبول ها در یک محیط پر فشار (هیپرتونیک) قرار گیرند آب خود را از دست داده و سطح گلبول ها چروکیده می شود.



(a)



(b)

کیفیت همولیز منحصر بستگی با فشار اسمزی ندارد بلکه در محیط های هم فشار یا Isotonic نیز گلبول های قرمز تحت تاثیر برخی از مواد شیمیایی مانند اسیدها ، سموم و ... همولیز می شوند که به چنین موادی [vip-members] **همولیز کننده** یا **Hemolysator** گویند.

اسمولالیتة پلاسماى معمولی برابر با ۳۰۰ میلی اسمول در یک کیلوگرم آب است که برابر با محلول کلرور سدیمی است که غلظت آن ۰/۹ درصد باشد.

در PH ثابت و درجه حرارت معمولی هنگامی که گویچه های سرخ در محلول ۰/۶ در صد نمک طعام با اسمولالیتة ۲۰۰ میلی اسمول قرار گیرند متورم شده و حجم آن افزایش می یابد ولی هموگلوبین آن خارج نمی شود. تدریجا با رقیق شدن محلول نمک طعام در یک غلظت خاصی تمام گلبول ها همولیز می شوند. همولیز اسمزی اصولا در داخل بدن اتفاق نمی افتد ولی آزمایش شکنندگی اسمزی در تعیین حالات مرضی گویچه های سرخ نظیر **اسفروسیتوز ارثی** (Hereditary Spherocytosis) و **اسفروسیتوز اکتسابی** (Acquired Spherocytosis) مفید می باشد.

بررسی پدیده اسمز (Osmosis)

هدف: هدف تحقیق علمی پدیده اسمز در موجودات زنده، به کمک مشاهده میکروسکوپی رفتار گلبولهای قرمز خون انسان، در مجاورت محلول کلرور سدیم با غلظتهای مختلف می باشد. این آزمایش وسیله ای برای ارزیابی میزان سطح به حجم گلبول قرمز است. عوامل عمده در مقاومت غشا، شکل گلبول قرمز والاسیتی سیته غشا آن است و آنزیم های غشاء گلبول قرمز در رابطه با مقاومت غشا نقش دار ند. اندازه گلبولهای قرمز در محیط ایزوتونیک بدون تغییر، در محیط با فشار اسمزی بالاتر (هیپرتونیک) چروکیده و در محیط با فشار اسمزی پایین تر (هیپرتونیک) متورم می شود. در بعضی بیماری ها شکنندگی غشاء گلبول ها افزایش یافته و کمتر می توانند محیطهای هیپوتونیک را تحمل نمایند.

وسایل مورد نیاز :

- نمونه خون حاوی ماده ضد انعقاد مثل EDTA
- ۵ عدد لوله آزمایش با جای مخصوص آنها
- پپیت ۱ و ۵ میلی لیتری
- محلول ۲ درصد کلرید سدیم
- آب مقطر
- میکروسکوپ
- لام و لامل
- قطره چکان

روش کار:

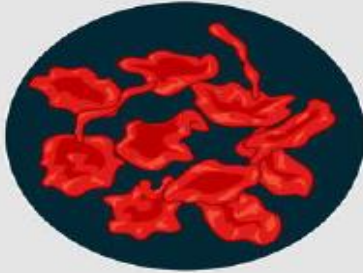
- در لوله های آزمایش ۱ تا ۴ مطابق ستون های جدول ضمیمه، مقادیر تعیین شده ی محلول کلرور سدیم و آب مقطر بریزید.
- لوله ۵ که که مجهول است در کنار سایر لوله ها قرار دهید.
- یک قطره خون به کمک پپیت یا قطره چکان بطور یکسان در همه لوله های آزمایش بریزید و به آرامی با محلول مخلوط کنید.
- غلظت (درصد) محلول کلرور سدیم حاصل در هر لوله آزمایش را محاسبه کرده و در ستون مربوطه یادداشت کنید.
- با محاسبه کلرور سدیم حاصل به نظر شما در کدامیک از لوله های آزمایش **همولیز کامل**، **همولیز نسبی**، **چروک شدن گلبولها** خواهید دید و کدامیک از لوله ها احتمالا تغییر محسوسی نخواهد داشت؟ نظریات خود را هم اکنون در ستون پیش بینی محلول یادداشت کنید.
- لوله های آزمایش را به دقت نگاه کنید و مشاهدات عینی خود را در مورد رنگ محلولها بعد از افزودن خون در ستون بعدی جدول یادداشت کنید .
- صحت مشاهدات خود را با تهیه نمونه های میکروسکوپی از لوله های مختلف به کمک میکروسکوپ با استفاده از عدسی ۴۰ تحقیق کنید و نظر نهایی خود را در مورد وضعیت گلبولها در ستون آخر جدول بنویسید.
- محلول های لوله آزمایش را سانتریفیوژ کنید و سپس رسوب حاصل را با هم مقایسه نمایید.

آزمایش اسمز

نتیجه مشاهده میکروسکوپی			نتیجه مشاهده عینی		پیش بینی محلول			غلظت (%) محلول NaCl $C1V1 = C2V2$	خون	حجم آب مقطر	حجم محلول NaCl 2%	شماره لوله
									یک قطره	4/75 ml	0/25 ml	۱
									یک قطره	4 ml	1 ml	۲
									یک قطره	2/75 ml	2/25 ml	۳
									یک قطره	0 ml	5 ml	۴
									یک قطره	ماده مجهول 5 ml		۵

Osmosis

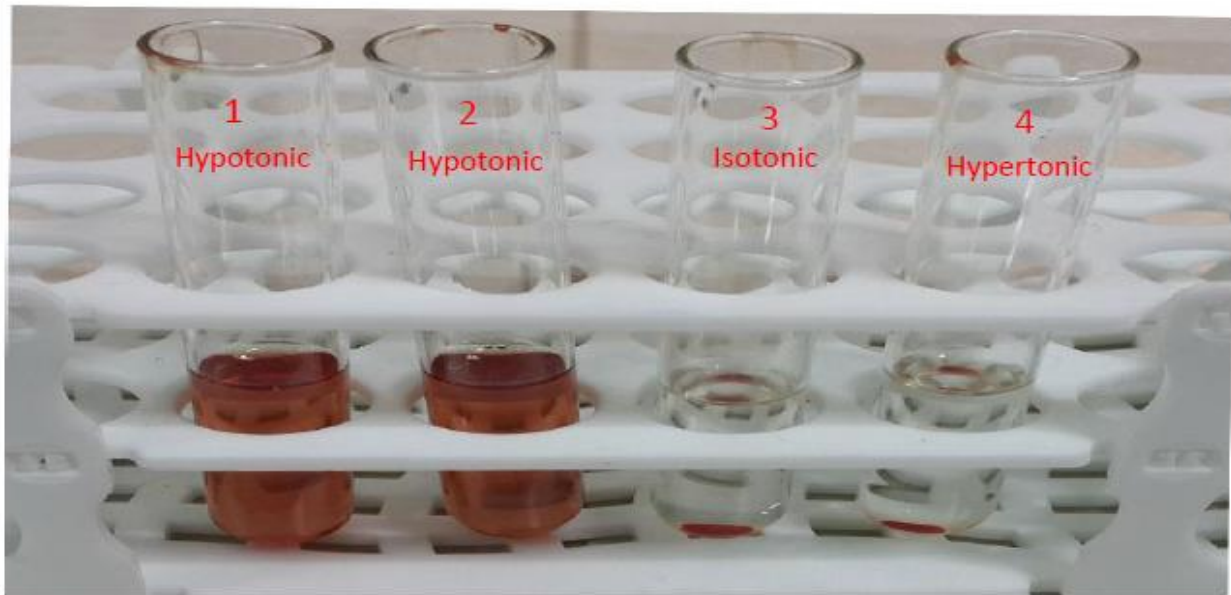
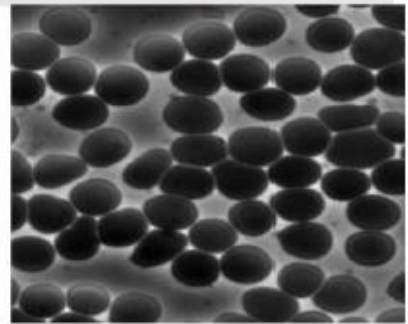
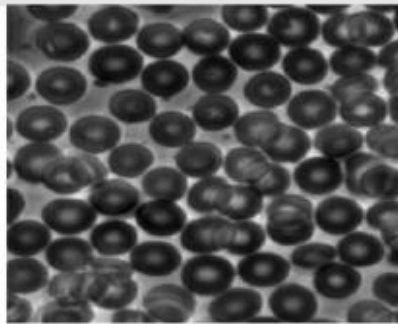
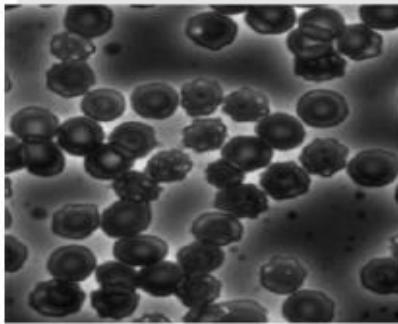
Hypertonic



Isotonic



Hypotonic



منبع:

جزوه آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران