

实验六 红细胞渗透脆性测定、影响血液凝固的因素及血型鉴定

一、红细胞渗透脆性的测定

【实验目的】

- 1、本实验学习测定红细胞渗透脆性的方法。
- 2、加深对细胞外液渗透张力在维持红细胞正常形态与功能重要性方面的理解。

【实验原理】

将红细胞悬浮于等渗 NaCl 液中，其形态不变。若置于低渗 NaCl 溶液中则发生膨胀破裂，此现象称为红细胞渗透脆性。但红细胞对低渗盐溶液具有一定抵抗力，其大小可用 NaCl 溶液浓度的高低来表示。将血液滴入不同浓度的低渗 NaCl 溶液中，开始出现溶血现象的 NaCl 溶液浓度为该血液红细胞的最小抵抗力（正常为 0.42-0.46%NaCl 溶液）。出现完全溶血现象时的 NaCl 溶液浓度为该红细胞的最高抵抗力（正常为 0.28-0.32%NaCl 溶液）。前者代表红细胞的最高脆性（最小抵抗力），后者代表红细胞最低脆性（最高抵抗力）。生理学上将能使悬浮于其中的细胞保持正常形态的溶液称为等张溶液，不能跨膜微粒所形成的力，但等渗溶液并不一定是等张溶液（如 1.9%的尿素溶液）。

【材料与方方法】

（一）实验对象 家兔

（二）器械药品：试管架、小试管 45 支、载玻片、盖玻片注射器、8 号注射针头、棉签，1%NaCl 溶液、0.85%氯化钠溶液、蒸馏水，1.9%尿素溶液、地塞米松、皂甙。

（三）方法与步骤

1. 配制不同浓度的低渗 NaCl 溶液 取口径相同的干洁小试管 12 支，分别编号排列在三个试管架上，按表 8-1 分别向各试管内加入 1%NaCl 溶液和蒸馏水混匀，配制从 0.68-0.24%12 种不同浓度的 NaCl 低渗溶液，每管总量均为 2.5ml。

表 8-1 不同浓度低渗氯化钠溶液的配制试管编号

试 剂	试管编号											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1%NaCl(ml)	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6
蒸馏水(ml)	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9
NaCl 浓度%	0.68	0.64	0.60	0.56	0.52	0.48	0.44	0.40	0.36	0.32	0.28	0.24

另取 3 支小试管，在三个试管架中分别编号 13-15，分别加入 0.85%NaCl 溶液、1.9%尿素和蒸馏水 2.5ml。

2. 采集标本 家兔麻醉后，仰卧固定于兔手术台上，分离一侧颈总动脉或股动脉插管备放血用（具体方法参见第 章）。依次向 15 支试管内各加 1 滴，轻轻颠倒混匀，切忌用力振荡。先观察 13、14、15 管的变化，其他 12 管在室温下放置 1 小时。

3. 观察指标

血液溶血情况，其现象可分为以下几种：

(1) 试管内液体完全变成透明红色，说明红细胞完全破裂，称为完全溶血。

(2) 试管内液体下层为混浊红色，上层无色透明，表示部分红细胞没有破坏，称为不完全深血。

(3) 试管内液体下层为混浊红色，上层无色透明，说明红细胞完全没有破坏。

4. 观察项目

(1) 观察不同浓度低渗 NaCl 混合液的颜色和透明度。

(2) 比较第一个试管架第 13、14、15 管的溶血情况及第二、第三个试管架中与第一个试管架中对应试管的溶血情况并分析其原因。

【实验结果】

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
现象															

【注意事项】

1. 每支试管内血液滴入量应准确无误(只加一滴)。

2. 确保每支试管 NaCl 溶液的浓度准确、容量相等。

3. 试管必须清洁、干燥。

4. 观察结果时应以白色为背景。

【要求与思考】

1. 实验前要预习实验内容。

2. 复习和掌握生理学教材有关血液凝固、渗透压的概念以及红细胞的形态、可塑变形性等基本知识。

3. 何谓等渗、等张溶液，红细胞的脆性、最大脆性、最小脆性、最大抵抗力和最小抵抗力？

【作业题】

1. 为什么红细胞在等渗的尿素溶液中迅速发生溶血？

2. 测定红细胞渗透脆性有何临床意义？

3. 同一个体的红细胞的渗透脆性不一样，为什么？

二、影响血液凝固的因素

【实验目的】

本实验以发生血液凝固的时间为指标，向血液中加入或去掉某些因素或改变某些条件(如温度等)，以观察对血液凝固的影响。

【实验原理】

血液流出血管后很快就会凝固。血液凝固分为内源性凝血系统与外源性凝血系统是指在组织因子的参与下血液凝固的过程。本实验直接从动物动脉放血，由于血液几乎没有和组织因子接触，其凝血过程主要由内源性凝血系统所发动。血液凝固受许多因素的影响，凝血因子可直接影响血液凝固过程。温度、接触面的光滑程度等也可影响血液凝固过程。

【材料与方方法】

(一) 实验对象 家兔

(二) 器材药品 小烧杯、带橡皮刷的玻棒或竹签(或小号试管刷)、清洁试管 10 支、秒表、水浴装置一套、冰块、棉花、石蜡油、肝素或草酸钾、生理盐水。

(三) 方法与步骤

1. 动物准备 家兔麻醉后，仰卧固定于兔手术台上，行一侧颈总动脉或股动脉插管，备取血用。
2. 试管的准备 取 8 支干净的小试管，按表 8-2 准备各种不同的实验条件。

表 8-2 影响血液凝固的因素

实 验 条 件	实验结果(凝血时间)
不加其它物质	
放棉花少许	
用石蜡油润滑试管内表面	
保温于 37°C 水浴槽中	
冰水中	
加肝素 8 单位	
加草酸钾 1-2mg	

3. 观察项目

(1) 取兔动脉血 10ml，注入两个小烧杯内，一杯静置，另一杯用带有橡皮刷的玻璃棒或竹签(也可用小号试管刷)轻轻搅拌，数分钟后，玻璃棒或竹签上结成红色血团。用水冲洗，观察纤维蛋白形状。然后比较两杯的凝血情况。

(2) 准备好的每支试管中滴入兔血 1ml，观察血液是否发生凝固及发生凝固的时间。

【实验结果】

将结果填入表 8-2

【注意事项】

1. 加强分工合作，记时须准确。最好由一位同学负责将血液加入试管，其它同学各掌握 1-2 支试管，每隔半分钟观察一次。
2. 试管、注射器及小烧杯必须清洁、干燥。
3. 每支试管加入的血液量要力求一致。

【要求与思考】

1. 复习生理学教科书有关血液凝固的基本理论知识。
2. 弄清楚血液凝固对机体的利弊关系。
3. 试分析在本实验中有哪些因素可能影响实验结果？如何克服这些因素？

【作业题】

1. 肝素和草酸钾皆能抗凝，其机理一样吗？为什么？
2. 如何加速或延缓血液凝固？试阐明机理。
3. 分析上述各因素影响凝固时间的机制。
4. 正常人体内血液为什么不发生凝固？
5. 如何认识纤维蛋白原在凝血过程中的作用？