

## **Aula prática sobre osmose**

Nessa aula usaremos hemácias como modelo para estudarmos o fluxo de água pela membrana celular em resposta a alterações da tonicidade externa.

### *Material:*

- 8 tubos eppendorffs .
- Pipetas automáticas de 2 e 1000 µl e respectivas ponteiros.
- Microlancetador para extração do sangue ou agulha de insulina.
- Microscópio.
- Pipeta Pasteur.
- Soluções de NaCl 145 mM (salina), 72,5 mM, 725 mM.
- Soluções de uréia de 290 mM e 580 mOsm
- Água destilada.

### *Métodos:*

1- Retire de 1 voluntário 1 a 3 gotas de sangue do dedo indicador com o microlancetador ou com uma agulha de insulina. Pingue o sangue em um tubo *Eppendorff* heparinizado.

2-Pipete 1 ml de cada solução em um tubo de eppendorff heparinizado. Adicione 5 a 10 microlitros de sangue em cada tubo e agite levemente para homogeneizar

3-Observe a turbidez de cada solução e anote

3-Adicione 100 microlitros da solução com hemácias em uma lâmina de microscópio. Espere pelo menos 1 minuto para sedimentação das hemácias e observe com uma objetiva de 40 vezes.Tire fotos das hemácias com seu celular na ocular do microscópio. Obs. Comece com a solução de salina 145 mM.

### *Responda*

1-Calcule a osmolaridade de cada solução. Classifique as soluções quanto a osmolaridade e a tonicidade em relação ao plasma.

2-Explique as alterações de volume/forma causadas pelas diferentes concentrações de NaCl e Sacarose. Qual deve ser o coeficiente de reflexão desses solutos? Explique.

3- Explique as alterações de volume/forma causadas pelas diferentes concentrações de uréia. Qual deve ser o coeficiente de reflexão da uréia? Explique.

4- Explique o efeito da solução de uréia/salina.

**Observações:** *As hemácias são discos achatados, côncavos no meio. Nessa preparação as hemácias estão em sua maioria aderidas ao fundo da placa, e as vemos de cima. Como*

*vemos a maioria das hemácias de cima fica difícil muitas vezes apreciar a alteração de forma da hemácia. Para facilitar observe “halo” no centro das hemácias que realça a sua concavidade. Esse halo reflete a concavidade das hemácias. Quando elas ganham volume ficam menos côncavas e mais arredondados, e o halo fica menor ou some. Muitas vezes ela parece que diminui de tamanho, mas é que passou de um disco para uma esfera. Quando elas perdem volume esse halo aumenta por que elas ficam mais “achatadas” e finas ou se apresentam “crenada”, em forma de estrela. Quando há a lise da hemácia ela vai ficando mais transparente, como se fosse um “fantasma” pois o citoplasma que tem índice de refração distinto da água, devido as proteínas sai, e é substituído pela solução externa, e sem a diferença dos índices de refração, perde-se a “visibilidade” do citoplasma. Os fantasmas são as membranas das hemácias lisadas aderidas ao fundo. Observe algumas hemácias flutuantes desaparecerem.*