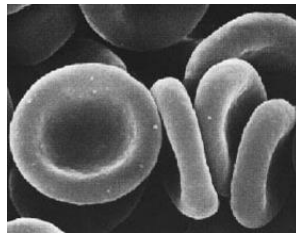


Introduction :

La membrane érythrocytaire assure au globule rouge sa forme biconcave, sa plasticité et sa déformabilité. Elle porte également des déterminants de groupes sanguins et représente un modèle idéal pour l'étude de la structure et des fonctions des membranes cellulaires. Elle représente une mosaïque fluide constituée d'une matrice lipidique disposée en une double couche dans laquelle flottent et se déplacent des protéines globulaires. Les composants glucidiques, lipidiques et protéiques ne se répartissent pas d'une manière équivalente sur les faces externes et internes de la membrane.



Aspect des érythrocytes en microscopie électronique à balayage

La membrane érythrocytaire est le siège d'échange incessant d'eau ou de substances dissoutes, ces échanges se font grâce à la perméabilité membranaire. L'osmose ou la pression osmotique est le phénomène qui permet ces échanges du milieu le moins concentré (**hypotonique**) vers le plus concentré (**hypertonique**) jusqu'à l'équilibre (**isotonique**).

L'étude de la résistance globulaire, à diverses substances, permet de déterminer la fragilité hématique. C'est la propriété que les globules rouges possèdent de rester intacts ou de se détruire au contact de diverses substances.

Le but du TP est d'étudier le comportement des érythrocytes en présence de solutions d'osmolarité différentes ou des solutions de même osmolarité mais de composants chimiques différents.

Matériel et méthodes :

La technique de la détermination de la résistance globulaire consiste à mettre en suspension des hématies fraîchement prélevées dans une gamme de solutions d'osmolarité différentes ou des solutions de même osmolarité mais de composants chimiques différents.

Les solutions utilisées : NaCl (3‰, 6‰, 9‰, 12‰), glucose 5,5 %, Urée 18,5 g/l, Glycérol 28,4 g/l.

Protocole expérimentale :

1. Préparer 8 tubes à essai comme indiqué dans le tableau suivant :

tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
	sérum physiologique (0,5 ml)	NaCl 3‰ (0,5 ml)	NaCl 6‰ (0,5 ml)	NaCl 9‰ (0,5 ml)	NaCl 12‰ (0,5 ml)	glucose (0,5 ml)	urée (0,5 ml)	glycérol (0,5 ml)
suspension d'hématies	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes

2. Observations macroscopiques et microscopiques :

L'observation de l'*aspect macroscopique 1* est basée sur la différence d'aspect de la suspension du tube à hémolyse avec le tube témoin (1).

- suspension dans le tube à hémolyse : **sang laqué** (couleur rouge translucide) → hémolyse
- suspension dans le tube à hémolyse : **trouble** → pas d'hémolyse.

L'observation de l'*aspect microscopique* des cellules permet de remarquer :

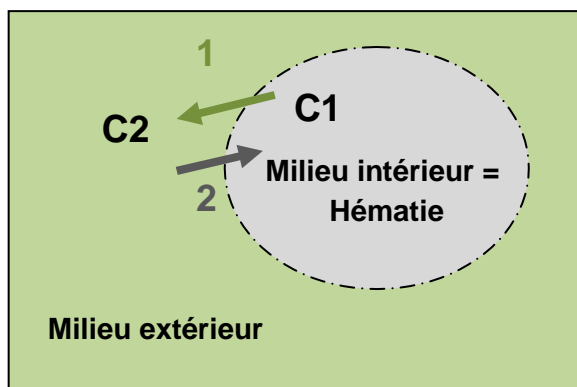
- un **érythrocyte normal** (cellule ronde biconcave),
- une **hémolyse** (cellule gonflée ou éclatée),
- une **plasmolyse** (cellule crénelée).

L'observation de l'*aspect macroscopique 2* est basée sur le taux d'hémolyse :

		hémolyse totale	hémolyse partielle	absence d'hémolyse
tube à hémolyse	surnagent	couleur rouge (molécules d'hémoglobines libérées par les hématies détruites)	couleur orangé	incolore
	culot	culot blanc (membranes des hématies)	rouge (hématies non détruites)	rouge (hématies non détruites)

3. Principes osmotiques :

La concentration osmolaire du plasma est la même que la concentration osmolaire de la solution de NaCl à 9‰ (308 mosmol/l).



Osmoticité :

- Si $C1 > C2$: le milieu extérieur (C2) est hypoosmotique par rapport au milieu intérieur (C1).
- Si $C1 < C2$: le milieu extérieur (C2) est hyperosmotique par rapport au milieu intérieur (C1).
- Si $C1 = C2$: le milieu extérieur (C2) est isoosmotique par rapport au milieu intérieur (C1).

Tonicité :

- S'il y a entrée d'eau (2) dans l'hématie la solution est dite hypotonique pour les hématies.
- S'il y a sortie d'eau (1) dans l'hématie la solution est dite hypertonique pour les hématies.
- S'il y a équilibre (entre les échanges d'eau) la solution est dite isotonique pour les hématies.

TP N°1 : Résistance de la membrane érythrocytaire
(UE : Relation structure et fonction des protéines et des lipides membranaires)

Nom :

Prénom :

Compte rendu :

1. Calculer l'osmolarité (concentration osmolaire) des solutions du tube 2, 3, 5 et 6.

La concentration osmolaire = nombre de particules dissociées x la concentration molaire initiale

Exemple de calcul :

Tube n°4 (solution de NaCl 9‰): NaCl se dissocie en 2 (Na^+ et Cl^-), donc il faut multiplier la concentration molaire par 2 pour obtenir l'osmolarité de la solution de NaCl 9‰ ($154 \text{ mmol/l} \times 2 = 308 \text{ mosmol/l}$).

Note :

Le glucose ne se dissocie pas dans l'eau.

tubes	proportion du soluté dans la solution	concentration massique des solutions en g/l	masse molaire des solutés en g/mol	concentration molaire des solutions en mmol/l	Osmolarité des solutions en mosmol/l
(2) solution de NaCl 3‰	3‰	3	58,5	51	
(3) solution de NaCl 6‰	6‰	6	58,5	102,5	
(4) solution de NaCl 9‰	9‰	9	58,5	154	308
(5) solution de NaCl 12‰	12‰	12	58,5	205	
(6) solution de glucose 5,5%	5,5 %	55	180	305	
(7) solution d'urée	-	18,5	60,06	308	308
(8) solution de glycérol	-	28,4	92,09	308	308

2. Compléter le tableau récapitulatif des résultats.

tubes	solutions	observations			Osmolarité des solutions en mosmol/l	osmoticité	tonicité
		macro 1	microscopique	macro2			
1	sérum physiologique (Témoin)				-		
2	NaCl 3‰						
3	NaCl 6‰						
4	NaCl 9‰						
5	NaCl 12‰						
6	glucose 5,5%						
7	Urée						
8	Glycérol						

3. Sachant que le NaCl et le glucose ne peuvent pas traverser la membrane érythrocytaire, comment peut-on expliquer les résultats obtenus pour l'urée et le glycérol ?
4. Quant des globules rouges font l'objet d'un examen en laboratoire, dans quel type de solution sont-ils placés afin qu'ils gardent leur forme normale ? Pourquoi ?
5. L'osmose est un processus du transport membranaire : passif ou actif ? Expliquez.