**Практическое занятие №**9.  **Свертывания крови.**

**Цель работы:** Ознакомление с методикой определения времени свертывания крови.

Кровь, выпущенная в пробирку, образует кровяной сгусток, вокруг которого находится прозрачная жидкость - кровяная сыворотка. Сыворотка в отличие от плазмы не содержит белка - фибрина. Сгусток крови - это тесно переплетенные нити фибрина, между которыми «застревает» большое количество эритроцитов.

В реакции свертывания крови участвует ряд веществ, часть из них содержится в плазме, а часть - в форменных элементах крови. Белок фибрин растворен в плазме в неактивном состоянии (фибриноген) и активируется только при действии на него фермента тромбина. Последний тоже находится в плазме в неактивном состоянии (протромбин) и переходит в активный фермент - тромбин - при действии тромбопластина (так называемого фермента ферментов), который содержится в тромбоцитах, лейкоцитах, в стенках кровеносных сосудов и в мышечной ткани. Протромбин активируется при обязательном участии ионов кальция.

Если кровь, только что выпущенную из сосуда, взбивать специальной мете­лочкой, то происходит разрушение тромбоцитов и из них освобождается тромбо-пластин. Он переводит протромбин в тромбин и активирует фибриноген. Последний переходит в нерастворимое состояние, образуя тонкие белесоватые нити, которые извлекаются из крови при помешивании. Этот процесс называется ***дефибриниро-ванием крови.***

При высокой температуре скорость свертывания крови увеличивается, при низкой замедляется. Цитрат и оксалат натрия (лимоннокислый и щавелевокис­лый натрий) способны присоединять ионы кальция, что предотвращает свертывание крови.

На основании такого свойства цитрат натрия используется при консервиро­вании крови. К веществам биологического происхождения, предотвращающим свер­тывание крови, относятся гирудин (вырабатывается у пиявок), гепарин (выраба­тывается в печени), змеиный яд и др.

Введение в кровь веществ, содержащих ионы кальция, экстрактов тканей, желатина и др., ускоряет свертывание крови.

***Объект исследования:***кровь животного.

***Оборудование:***6 пробирок, из которых одна внутри покрыта парафином, центрифужная пробирка, пипетки, мерная пипетка, металлическая метелочка, центрифуга, 2%-ный раствор хлористого кальция, 5%-ный раствор лимоннокислого натрия, 10%-ный раствор гепарина.

***Ход работы:***1. Пронумеруйте пробирки, начиная с парафиновой, на центри­фужной укажите номер 6.

2. В пробирку №4 налейте 1-2 капли раствора гепарина; в пробирку №5 - 0,5 мл 5%-ного раствора лимоннокислого натрия.

3. Возьмите кровь у животного и добавьте в пробирки согласно схеме:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №п/п | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Объем крови, мл | 1,5 | 1,5 | 2,5 | 1 | 4-5 | - | - |

1. Определите время свертывания крови в пробирках №1 и №2. Сравните полученные результаты.
2. Кровь в пробирке №3 взбейте метелочкой (10-15 мин) до образования нитей фибрина. Отмойте фибрин от форменных элементов крови. Рассмотрите сет­чатую структуру фибрина.
3. В пробирке № 4 пронаблюдайте воздействие гепарина на процесс сверты­вания крови.
4. В пробирке № 5 тщательно перемешайте кровь с раствором лимонно­кислого натрия. Отметьте влияние лимоннокислого натрия на процессы свертывания крови.
5. Отлейте из пробирки № 5 два мл крови в пробирку № 6 (центрифужная). Пробирку №6 отцентрифугируйте 5 мин при 1000 об/мин. Отсосите полученную плазму в пробирку № 7.
6. Добавьте по 1-2 капли раствора СаСЬ в пробирки № 5 и № 7. Наблюдайте образование соответственно красного и белого тромба.

***Рекомендации к оформлению результатов работы:***Опишите наблю­даемые явления в протоколе работы.

***Выводы и обсуждение результатов работы:***Опишите механизм процес­са свертывания крови. Укажите факторы, влияющие на скорость свертывания крови.

<https://youtu.be/puB-8Vqc-0Y>