

E. Święcka i Z. Bargiel (red.)
Instrukcja do ćwiczeń z fizjologii zwierząt

Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika

SPIS TREŚCI

NERWY OBWODOWE I MIĘŚNIE

- 1.** POTENCJAŁ SPOCZYNKOWY KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ OWADA
- 2.** WPŁYW JONÓW POTASOWYCH NA POTENCJAŁ SPOCZYNKOWY KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ OWADA
- 3.** POTENCJAŁ RÓWNOWAGI DLA JONÓW POTASOWYCH
- 4.** WPŁYW TEMPERATURY NA POTENCJAŁ SPOCZYNKOWY KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ OWADA
- 5.** SYMULACJA KOMPUTEROWA POTENCJAŁÓW CZYNNOŚCIOWYCH
- 6.** REAKCJA TKANKI NERWOWEJ NA RÓŻNE BODŹCE
- 7.** WPŁYW BODŹCÓW PODPROGOWYCH - SUMOWANIE W CZASIE
- 8.** SKURCZ WTÓRORZĘDNY
- 9.** WPŁYW ALKOHOLU LUB ETERU NA PRZEWODNICTWO NERWOWE.
- 10.** SKURCZE MIĘŚNIA ŁYDKOWEGO ŻABY
- 11.** ZMĘCZENIE MIĘŚNI RĘKI CZŁOWIEKA
- 12.** CZYNNOŚĆ BIOELEKTRYCZNA MIĘŚNIA SZKIELETOWEGO CZŁOWIEKA

ODRUCHY

- 13.** ODRUCHY ŻABY RDZENIOWEJ
- 14.** ODRUCHOWE NAPIĘCIE MIĘŚNI (DOŚWIADCZENIE BRONDGEESTA)
- 15.** MÓZGOWE HAMOWANIE ODRUCHÓW RDZENIOWYCH (DOŚWIADCZENIE SIECZENOWA)
- 16.** OBWODOWE HAMOWANIE ODRUCHÓW RDZENIOWYCH
- 17.** ODRUCHY NA ROZCIĄGANIE
- 18.** ODRUCHY OBRONNE WYZWALANE ZE SKÓRY I BŁON ŚLIZOWYCH
- 19.** ODRUCHY ŻRENICZNE
- 20.** ODRUCHY WYZWALANE Z NARZĄDU RÓWNOWAGI
- 21.** ODRUCH Z BARORECEPTORÓW

CZUCIE

- 22.** CZUCIE DOTYKU
- 23.** CZUCIE SMAKU
- 24.** CZUCIE TEMPERATURY
- 25.** OCENA BODŹCÓW TERMICZNYCH W ZALEŻNOŚCI OD STANU WEWNĘTRZNEGO ORGANIZMU
(ALIESTEZJA)

NARZĄDY ZMYŚLÓW; OKO I UCHO CZŁOWIEKA

- 26.** AKOMODACJA OKA

27.ASTYGMATYZM

28.OSTROŚĆ WZROKU

29.ROZMIESZCZENIE PRĘCIKÓW I CZOPKÓW W SIATKÓWCE OKA U CZŁOWIEKA

30.WIDZENIE BARW

31.PLAMKA ŚLEPA

32.PRZEWODZENIE FAL DŹWIĘKOWYCH

33.OSTROŚĆ SŁUCHU I ZJAWISKO ADAPTACJI SŁUCHOWEJ

34.LOKALIZACJA ŹRÓDŁA DŹWIĘKU

UKŁAD KRAŻENIA

35.AUTOMATYZM SERCA. PRZEWIĄZKI STANNIUSA

36.REJESTRACJA SKURCZÓW SERCA ŻABY PRZED I PO ZASTOSOWANIU ŚRODKÓW WEGETOTROPOWYCH

37.WPŁYW TEMPERATURY ORAZ JONÓW WAPNIA I POTASU NA SZYBKOŚĆ PRACY SERCA ŻABY

38.CZYNNOŚĆ BIOELEKTRYCZNA SERCA CZŁOWIEKA (EKG)

39.TĘTNO CZŁOWIEKA

40.CIŚNIENIE KRWI CZŁOWIEKA

41.WPŁYW WYSIŁKU FIZYCZNEGO NA PRACĘ UKŁADU KRAŻENIA

HORMONY

42.WPŁYW HORMONÓW I ŚWIATŁA NA ZABARWIENIE SKÓRY ŻABY

43.ZMIANY STĘŻENIA GLUKOZY WE KRWI KRÓLIKA WYWOŁANE PODANIEM INSULINY I ADRENALINY

ODDYCHANIE I METABOLIZM

44.POJEMNOŚĆ PŁUC CZŁOWIEKA

45.RYTM ODDECHOWY CZŁOWIEKA

46.ZMIANY OBWODU KLATKI PIERSIOWEJ CZŁOWIEKA PODCZAS ODDYCHANIA

47. WPŁYW TEMPERATURY OTOCZENIA NA ZUŻYCIE TLENU U LARW OWADÓW

48.OZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKA ODDECHOWEGO (RQ) U LARW OWADÓW

TRAWIENIE

49.WPŁYW TEMPERATURY I JONÓW WAPNIOWYCH NA DZIAŁANIE PODPUSZCZKI

50.WPŁYW TEMPERATURY I pH NA DZIAŁANIE PEPSYNY

51.WPŁYW TEMPERATURY I pH NA DZIAŁANIE α -AMYLAZY ŚLINOWEJ

52.OZNACZANIE ENZYMU α -AMYLAZY W MOCZU LUDZKIM METODĄ WOHLGEMUTHA

WYDALANIE

53.DIUREZA U CZŁOWIEKA

Temat 1

POTENCJAŁ SPOCZYNKOWY KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ OWADA

Potencjał spoczynkowy komórki wyraża różnicę potencjałów elektrycznych pomiędzy środowiskiem wewnętrznym komórki znajdującej się w spoczynku a jej otoczeniem. Potencjał ten występuje we wszystkich żywych komórkach, a jego wielkość jest różna u różnych gatunków zwierząt i w komórkach różnych tkanek. Różnica potencjałów elektrycznych w poprzek błony powstaje i jest utrzymywana dzięki: (1) istnieniu gradientów stężeń jonów pomiędzy wnętrzem komórki a jej otoczeniem, powstających na skutek selektywnej przepuszczalności błony cytoplazmatycznej i biernych przepływów jonów przez tę błonę, (2) działaniu czynnego transportu jonów przez błonę, przebiegającego ze zużyciem energii metabolicznej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa błony komórkowej i jej właściwości.

Potencjał spoczynkowy i jego geneza.

Zadanie

Zapisać potencjał spoczynkowy pojedynczego włókna mięśniowego owada.

Potrzebne do wykonania

owad, płytka Petriego wypełniona parafiną, płyn fizjologiczny dla badanego gatunku owadów, mikroskop stereoskopowy, małe nożyczki, pęseta, zestaw aparatury do zapisu potencjałów bioelektrycznych (oscyloskop, wzmacniacz, kalibrator, mikromanipulator, mikroelektrody szklane, elektroda odniesienia i rejestrująca wykonane z drutu srebrnego pokrytego chlorkiem srebra).

Wykonanie

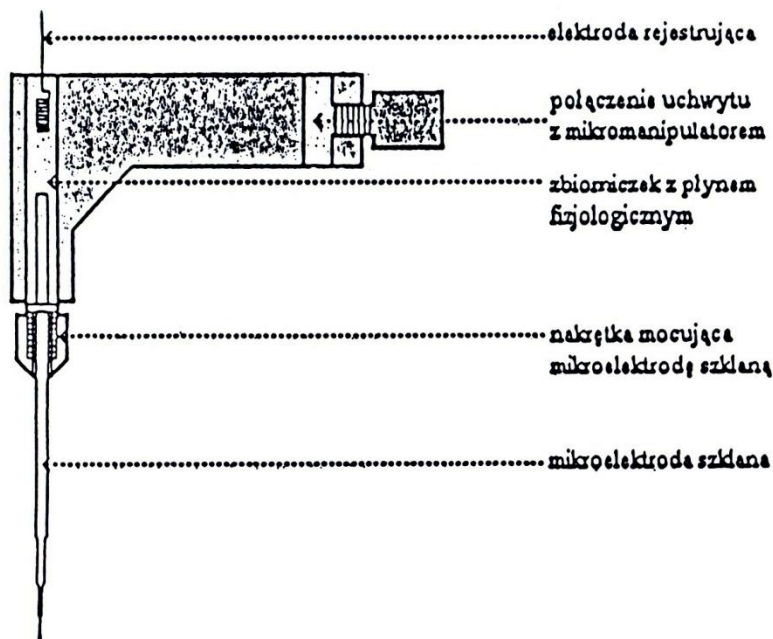
Owada dekapitujemy, usuwamy skrzydła i odnóża, a następnie rozcinamy płytki tergitowe na całej długości, wzdłuż linii środkowej ciała. Przy pomocy szpilek entomologicznych rozpinamy preparat na wypełnionej parafiną płytce Petriego i zalewamy płynem fizjologicznym. Całość umieszczamy w polu widzenia mikroskopu stereoskopowego i pęsetą usuwamy przewód pokarmowy oraz tłuszcz aby odsłonić mięśnie grzbietowo-brzuszne.

Tak przygotowany preparat umieszczamy w zestawie aparatury rejestrującej. Nieuszkodzoną mikroelektrodę szklaną (wypełnioną uprzednio 3 molowym roztworem KCl) wkładamy do zbiorniczka uchwytu elektrod, który później łączymy z mikromanipulatorem (ryc. 1). Zbiorniczek napełniamy płynem fizjologicznym i umieszczamy w nim elektrodę rejestrującą. Płyn fizjologiczny w zbiorniczku oraz elektrolit, którym napełniono mikroelektrodę szklaną, umożliwiają kontakt elektrody rejestrującej z wnętrzem badanej komórki.

Czubek mikroelektrody szklanej umieszczamy w płynie fizjologicznym bezpośrednio nad badaną komórką mięśniową. Drugą elektrodę (elektroda odniesienia) umieszczamy w płynie fizjologicznym na płytce Petriego w pewnej odległości od preparatu. W ten sposób zamykamy obwód układu elektrycznego co umożliwia rejestrację potencjału. Widoczny na ekranie

oscyloskopu strumień elektronów teoretycznie powinien odpowiadać poziomowi zerowemu, ponieważ obie elektrody (rejestrująca i odniesienia) są zanurzone w roztworze o tym samym stężeniu jonów i w związku z tym nie ma między nimi różnicy potencjałów. Ewentualne odchylenia od tego poziomu korygujemy odpowiednim pokręteł wzmocniacza.

Następnie wyznaczamy wielkość impulsu kalibracyjnego tak, aby 1 cm na skali oscyloskopu odpowiadał 10 mV. Po dokonaniu kalibracji wprowadzamy za pomocą mikromanipulatora czubek mikroelektrody szklanej do wnętrza badanej komórki mięśniowej. Teraz obie elektrody znajdują się w środowiskach o różnych stężeniach jonów, a zatem występuje między nimi różnica potencjałów, co uwidacznia się na ekranie oscyloskopu obniżeniem strumienia elektronów. Odległość między ustalonym wcześniej poziomem zerowym, a obserwowanym położeniem strumienia elektronów odpowiada wielkości potencjału spoczynkowego. Wartość tego potencjału w mV wyliczamy na podstawie impulsu kalibracyjnego, np. jeżeli odległość między poziomem zerowym a strumieniem elektronów wynosi 5 cm, to dla podanej wyżej kalibracji, potencjał spoczynkowy jest równy -50mV .



Ryc. 1. Uchwyt, w którym umieszcza się mikroelektrodę szklaną i elektrodę rejestrującą.

Temat 2

WPLYW JONÓW POTASU NA POTENCJAŁ SPOCZYNKOWY KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ OWADA

Wiadomo, że jedną z przyczyn istnienia spoczynkowej różnicy potencjałów między środowiskiem zewnątrzkomórkowym i wewnątrzkomórkowym jest gradient stężenia jonów po obydwu stronach błony komórkowej. Aby sprawdzić czy dany jon ma wpływ na genzę potencjału spoczynkowego należy zmierzyć ten potencjał po zmianie stosunku stężeń tego jonu

po obu stronach błony. Najłatwiej osiągnąć to zmieniając stężenie jonu po zewnętrznej stronie błony komórkowej, czyli w płynie fizjologicznym.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Sposoby przenoszenia jonów przez błony komórkowe (transport bierny i czynny).

Depolaryzacja i hiperpolaryzacja.

Zadanie

Zbadać wpływ braku oraz nadmiaru jonów potasowych w płynie fizjologicznym na potencjał spoczynkowy komórki mięśniowej owada.

Potrzebne do wykonania

owad, zestaw do preparowania i zestaw aparatury do zapisu potencjałów bioelektrycznych (patrz temat 1), płyn fizjologiczny o stężeniu jonów potasu - $3,1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, płyn pozbawiony jonów K^+ , płyn o wysokim stężeniu jonów K^+ - $6,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Wykonanie

Przygotowujemy preparat mięśni owada i mierzymy potencjał spoczynkowy komórki mięśniowej jak w temacie 1. Następnie usuwamy z płytki Petriego płyn fizjologiczny i preparat przepłukujemy trzykrotnie płynem pozbawionym jonów K^+ , po czym preparat zalewamy takim płynem i po 10 min (czas potrzebny do ustalenia równowagi jonowej) mierzymy potencjał spoczynkowy. Następnie płyn ten usuwamy, w opisany wyżej sposób zmieniamy na płyn o wysokim stężeniu jonów K^+ i po 10 min wykonujemy pomiar wartości potencjału spoczynkowego.

Temat 3

POTENCJAŁ RÓWNOWAGI DLA JONÓW POTASU

Dla pełnej charakterystyki jonowych mechanizmów zjawisk bioelektrycznych, takich jak potencjał spoczynkowy czy czynnościowy, potrzebne są informacje na temat wartości potencjałów równowagi dla jonów biorących udział w generowaniu tych zjawisk.

Potencjał równowagi dla jonu (zwany też potencjałem dyfuzyjnym) jest wyznaczany przez stosunek stężenia tego jonu w przestrzeni zewnątrzkomórkowej $[\text{X}]_z$ do stężenia wewnątrz komórki $[\text{X}]_w$. Jest to potencjał elektryczny, który równoważy siłę dyfuzji danego jonu przez błonę komórkową

Wartość potencjału równowagi dla danego jonu można wyrazić jako siłę elektromotoryczną ogniwa stężeniowego zbudowanego z elektrod tego samego rodzaju, specyficznych dla badanego jonu, z których jedna umieszczona jest w przestrzeni pozakomórkowej (I), a druga we wnętrzu komórki (II). Potencjały elektrod, obliczone z równania Nernsta, wynoszą odpowiednio:

$$(I) \quad E_I = E^\circ + \frac{RT}{zF} \ln [X]_z$$

(1)

$$(II) \quad E_{II} = E^\circ + \frac{RT}{zF} \ln [X]_w$$

(2)

gdzie:

 E_I i E_{II} - potencjały elektrod (V). E° - potencjał normalny elektrody (wielkość charakterystyczna dla materiału, z którego wykonano elektrodę).R - stała gazowa, równa $8,31431 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$.T - temperatura bezwzględna (K) ($273 \text{ K} = 0^\circ \text{C}$).

z - wartościowość jonu.

F - stała Faradaya, równa $96\,500$ kulombów (C). $[X]_z$ - stężenie jonu X na zewnątrz komórki ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$). $[X]_w$ - stężenie jonu X we wnętrzu komórki ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$).

Siła elektromotoryczna (E) takiego ogniwa jest różnicą potencjałów między elektrodą umieszczoną w przestrzeni pozakomórkowej (I) i umieszczoną w komórce (II):

$$E = E_I - E_{II}$$

(3)

Po podstawieniu wzorów (1) i (2) do wzoru (3) otrzymamy:

$$E = E^\circ + \frac{RT}{zF} \ln [X]_z - E^\circ + \frac{RT}{zF} \ln [X]_w$$

(4)

stąd po przekształceniu:

$$E = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_z}{[X]_w}$$

(5)

Znając zewnątrzkomórkowe i wewnątrzkomórkowe stężenia danego jonu możemy obliczyć potencjał równowagi korzystając ze wzoru (5). Jeżeli $[X]_z = [X]_w$ to: $\ln \frac{[X]_z}{[X]_w} = 0$ i potencjał równowagi dla tego jonu będzie miał wartość 0. Jeżeli $[X]_z \neq [X]_w$, to potencjał równowagi dla tego jonu ma wartość różną od 0.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Rola jonów w genezie potencjału spoczynkowego.

Ogniwo stężeniowe.

Zadanie

Obliczyć wartość potencjału równowagi dla jonów K^+ gdy:

- stężenie wewnątrzkomórkowe K^+ wynosi $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, stężenie zewnątrzkomórkowe $3,1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.
- stężenie wewnątrzkomórkowe K^+ wynosi $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, stężenie zewnątrzkomórkowe $6,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Uwaga! W obliczeniach uwzględniamy temperaturę otoczenia, w której zmierzono wartość potencjału spoczynkowego (temat 2).

Potrzebne do wykonania

kalkulator umożliwiający obliczanie logarytmów.

Wykonanie

Wartości stężeń oraz stałych podstawiamy do wzoru (5). Obliczamy wartość wyrażenia $\frac{RT}{zF}$ i wynik mnożymy przez wartość $\ln \frac{[X]_z}{[X]_w}$.

Temat 4**WPLYW TEMPERATURY NA POTENCJAŁ SPOCZYNKOWY KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ OWADA**

Temperatura jest jednym z najbardziej istotnych czynników wpływających na całokształt procesów życiowych przebiegających w komórkach organizmu. W zakresie zmian temperatury, które są tolerowane przez organizm, jej wzrost przyspiesza większość z tych procesów. Jeśli jednak zmiany wykraczają poza zakres tolerowany mogą wywołać nieodwracalne uszkodzenie organizmu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Wpływ zmian temperatury na przepuszczalność błony komórkowej i zjawiska elektryczne w komórkach nerwowych i mięśniowych.

Zadanie

- Zbadać wpływ temperatury $5, 20$ i 35°C na potencjał spoczynkowy komórki mięśniowej owada.
- Obliczyć wartość potencjału równowagi dla jonów potasowych gdy: temperatura płynu fizjologicznego wynosi $5, 20$ i 35°C , stężenie wewnątrzkomórkowe K^+ wynosi $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, a stężenie zewnątrzkomórkowe - $3,1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (patrz temat 3).

Potrzebne do wykonania

owad, zestaw do preparowania i zestaw aparatury do zapisu potencjałów bioelektrycznych (patrz temat 1), płyn fizjologiczny o temperaturze $5, 20$ i 35°C , termostat, kalkulator umożliwiający obliczanie logarytmów.

Wykonanie

Przygotowujemy trzy preparaty mięśni owada, które umieszczamy na szalkach Petriego i zalewamy płynem fizjologicznym o temperaturze 20°C, po czym ustalamy wielkość potencjału spoczynkowego komórek mięśniowych każdego z nich (patrz temat 1). Następnie jeden preparat pozostawiamy w temperaturze 20°C i po 10 min ponownie mierzymy wartość potencjału. Drugi preparat zalewamy płynem fizjologicznym o temperaturze 5°C, a trzeci - płynem o temperaturze 35°C. Po upływie 10 min od zmiany płynu mierzymy wartość potencjału w tych preparatach.

Temat 5

SYMULACJA KOMPUTEROWA POTENCJAŁÓW CZYNNOŚCIOWYCH

Obserwacja i zapis przebiegu pewnych zjawisk bioelektrycznych w preparacie biologicznym, np. potencjałów czynnościowych, są dość trudne i dlatego korzystamy z możliwości komputerowej ich symulacji przy użyciu programu AXOVACS. Symulacja ta jest oparta na zaproponowanym przez Hodgkina i Huxleya modelu dla generowania potencjału czynnościowego w aksonie olbrzymim kałamarnicy.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Geneza potencjału czynnościowego.

Reakcja „wszystko albo nic”.

Okres refrakcji bezwzględnej i względnej.

Zadanie

1. Określić natężenie bodźca progowego i wartość depolaryzacji krytycznej (potencjał wewnątrzkomórkowy, po przekroczeniu którego pojawia się potencjał czynnościowy).
2. Określić wpływ bodźców podprogowych na symulowaną odpowiedź neuronu - sumowanie w czasie.
3. Określić reakcję na bodźce nadprogowe (o różnym natężeniu) zastosowane w okresie refrakcji bezwzględnej.
4. Określić reakcję na bodźce nadprogowe (o różnym natężeniu) zastosowane w okresie refrakcji względnej.

Potrzebne do wykonania

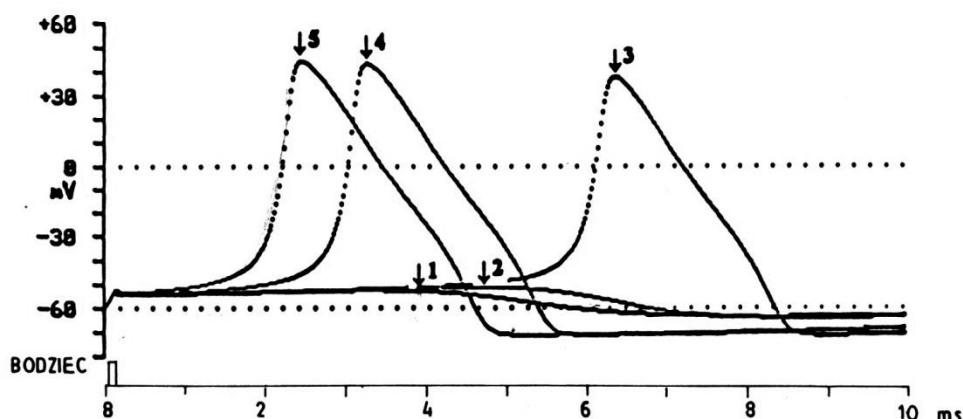
program komputerowy AXOVACS, ekierki lub przezroczyste linijki.

Wykonanie

Program uruchamiamy wpisując nazwę AXOVACS i wciskając klawisz <ENTER>. Po ukazaniu się na ekranie głównego menu (nazwa programu i opcje) wciskamy klawisz <9> a

następnie <ENTER> wybierając w ten sposób opcję nr 9. Na ekranie pojawia się napis: „ACTION POTENTIAL SIMULATION” i spis dostępnych opcji programu.

ad 1. Poprzez wciśnięcie klawisza <s> wchodzimy do „STIMULI MENU” aby określić parametry stymulacji. Wciskając klawisz ze strzałką <↓> dochodzimy do „FIRST STIMULUS - Amplitude - $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ”. Natężenie bodźca zmieniamy klawiszami numerycznymi (0 - 9) na $63,5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, czas trwania bodźca ustalamy na 0,1 ms i wciskamy klawisz <r> rozpoczynając pierwszą próbę. Następnie wciskając klawisz <s> znowu wchodzimy do „STIMULI MENU” i klawiszem ze strzałką <↓> przechodzimy do „FIRST STIMULUS - Amplitude - $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ”. Zmieniamy natężenie bodźca na $63,9 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ i wciskamy klawisz <r> rozpoczynając kolejną próbę. Czynności te powtarzamy zwiększając stopniowo natężenie stosowanego bodźca do 64, 70 i $80 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (powtarzana sekwencja klawiszy: <s>, <↓>, wpisać wartość natężenia, <r>). Po wykonaniu każdej próby do tabeli w zeszycie wpisujemy dane odczytując je z ekranu monitora lub korzystając z ryc. 2 co jest, w niektórych przypadkach, znacznie dokładniejsze. Po zakończeniu tego symulowanego doświadczenia kasujemy obraz na ekranie wciskając klawisz <c>.



Ryc. 2. Obraz, jaki pojawia się na ekranie monitora po zastosowaniu bodźców o różnym natężeniu, z tą jednak różnicą, że nie zaznaczono zmian przewodności błony dla jonów Na^+ i K^+ . Strzałka z cyfrą oznacza maksymalną odpowiedź na kolejne bodźce: ↓1 - $63,5$; ↓2 - $63,9$; ↓3 - 64 ; ↓4 - 70 i ↓5 - $80 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

ad 2. Postępując jak w zadaniu 1 ustalamy natężenie pierwszego bodźca na $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, a czas trwania na 0,1 ms i klawiszem ze strzałką <↓> przechodzimy do „SECOND STIMULUS - Amplitude - $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ”. Natężenie drugiego bodźca ustalamy również na $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ i czas trwania na 0,1 ms, ale „start” na 5 ms od zastosowania pierwszego bodźca. Wciskamy klawisz <r> i rozpoczynamy próbę. W następnych próbach zmieniamy czas

„startu” drugiego bodźca podprogowego kolejno na: 4,5, 4, 3,5 i 3 ms.

ad 3. Postępując jak w zadaniu 2 ustalamy natężenie pierwszego bodźca na $200 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, klawiszem ze strzałką $\langle \downarrow \rangle$ przechodzimy do „SECOND STIMULUS - Amplitude - $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ” zmieniając natężenie $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (z zadania 2) na 0 i wyzwalamy potencjał czynnościowy wciskając klawisz $\langle \text{r} \rangle$. Do tabeli w zeszycie wpisujemy dane dotyczące odpowiedzi na taki bodziec nadprogowy. Następnie wciskamy klawisz $\langle \text{s} \rangle$ i klawiszem ze strzałką $\langle \downarrow \rangle$ przechodzimy do „SECOND STIMULUS - Amplitude - $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ”. Ustalamy teraz natężenie drugiego bodźca na $200 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ i czas trwania na 0,1 ms, a „start” określamy zależnie od czasu jaki upływa od zastosowania pierwszego bodźca do przekroczenia wartości depolaryzacji krytycznej. Jeśli np. czas ten wynosi 1 ms, to czas „startu” drugiego bodźca ustalamy na 1,5 ms. Po ustaleniu parametrów bodźcowania wciskamy klawisz $\langle \text{r} \rangle$. Następnie zmieniamy natężenie drugiego bodźca na $400 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ i ponawiamy próbę. Ostatnią próbę wykonujemy w ten sam sposób lecz zmieniamy „start” drugiego bodźca tak, aby działał w czasie repolaryzacji (np. 2,5 ms).

ad 4. Kasujemy obraz na ekranie wciskając klawisz $\langle \text{c} \rangle$, a następnie wciskamy klawisz $\langle \text{d} \rangle$ i wchodzimy do „DISPLAY MENU”. Klawiszem ze strzałką $\langle \downarrow \rangle$ przechodzimy do „TIME SCALE” i klawiszem ze strzałką $\langle \leftrightarrow \rangle$ (jedno naciśnięcie) zmieniamy zakres czasu na 25 ms. Klawiszem $\langle \text{Page Down} \rangle$ przechodzimy do „STIMULI MENU” aby ustalić parametry stymulacji. Klawiszem ze strzałką $\langle \downarrow \rangle$ przechodzimy do „FIRST STIMULUS - Amplitude - $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ”. Ustalamy natężenie bodźca na $200 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, czas trwania na 0,1 ms i klawiszem ze strzałką $\langle \downarrow \rangle$ przechodzimy do „SECOND STIMULUS - Amplitude $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ”. Natężenie drugiego bodźca ustalamy również na $100 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, czas trwania na 0,1 ms, ale „start” na 6 ms od zastosowania pierwszego bodźca. Wciskamy klawisz $\langle \text{r} \rangle$ i rozpoczynamy próbę. W kolejnych próbach zmieniamy stopniowo „start” drugiego bodźca na 9, 10, 12 i 14 ms. Do tabeli w zeszycie wpisujemy wyniki. W dalszej części tego doświadczenia zmieniamy stopniowo natężenie drugiego bodźca do 150, 200 i $250 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, za każdym razem badając ich wpływ w zależności od czasu, jaki mija od zastosowania pierwszego bodźca (tzn. wtedy gdy natężenie drugiego bodźca wynosi $150 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ zmieniamy czas „startu” kolejno na 9, 10, 12 i 14 ms i tak samo postępujemy po zmianie natężenia do 200 i $250 \mu\text{A}/\text{cm}^2$).

Po zakończeniu symulacji wciskamy klawisz $\langle \text{Esc} \rangle$ (górny lewy róg klawiatury), po pojawieniu się obrazu na ekranie wciskamy klawisz $\langle \text{y} \rangle$ wchodząc do głównego menu, a następnie wciskamy klawisz $\langle 0 \rangle$ i $\langle \text{ENTER} \rangle$ zamykając w ten sposób program AXOVACS.

Temat 6

REAKCJA TKANKI NERWOWEJ NA RÓŻNE BODŹCE

Jedną z podstawowych cech żywych ustrojów jest pobudliwość, a jej miarą - próg pobudliwości. Przez próg pobudliwości rozumie się najslabszy bodziec zdolny do wywołania

reakcji (bodziec progowy). Miano progu pobudliwości zależy od charakteru stosowanego bodźca, a więc może on być wyrażony w jednostkach napięcia i/lub natężenia prądu, stężenia określonej substancji w roztworze, ciśnienia, temperatury i innych.

Dogodnym materiałem do badania różnych zjawisk fizjologicznych, m.in. pobudliwości, jest preparat nerwowo-mięśniowy żaby, złożony z nerwu kulszowego i mięśnia brzuchatego łydki. Z uwagi na szeroki zakres homeostazy różnych funkcji fizjologicznych, narządy (np. serce) i tkanki (np. nerwowa i mięśniowa) płazów, utrzymują przez stosunkowo długi czas sprawność czynnościową w warunkach laboratoryjnych i dlatego przedstawiciele tej gromady kręgowców są dobrym materiałem do badań.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Pobudliwość i pobudzenie.

Próg pobudliwości.

Rodzaje bodźców z fizycznego punktu widzenia.

Zadanie

Określić wpływ działających na nerw kulszowy preparatu nerwowo-mięśniowego żaby bodźców: a) mechanicznych, b) termicznych i c) osmotycznych, oraz określić próg pobudliwości takiego preparatu na bodźce: d) chemiczne i e) pojedyncze bodźce elektryczne.

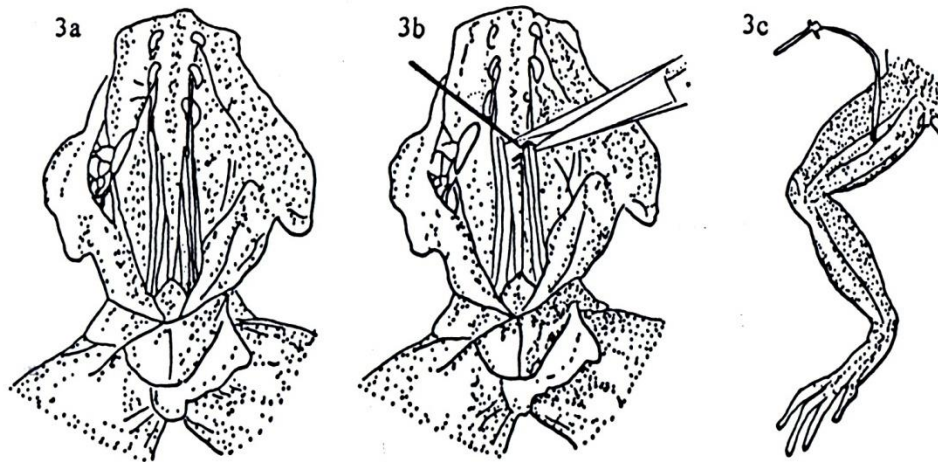
Potrzebne do wykonania

żaby, zestaw do preparowania (nożyczki, zgłębnik, czyli drut do niszczenia rdzenia kręgowego, skalpel, pęsety, podstawka do rozpinania i umocowania żaby, szpilki, bagietki szklane), zakraplacze, płyn fizjologiczny, bibuła filtracyjna, szalki Petriego lub szkiełka zegarkowe, nici, palnik, statyw do probówek, probówki, pipety o pojemności 5 ml, woda destylowana, roztwory NaCl (0,1 i 10%), roztwory H_2SO_4 lub HCl (1, 5, 10, 20 i 30%), zestaw do stymulacji elektrycznej (stymulator, wanienska z elektrodami).

Wykonanie

Żabę ogłuszamy uderzając grzbietową powierzchnią jej głowy o krawędź stołu lub zlewu i dekapitujemy, tzn. pozbawiamy mózgowia, wprowadzając jedno ostrze nożyczek do pyszczka na tyle głęboko, aby jednym cięciem poprzecznym, wykonanym tuż za oczodołami, przerwać ciągłość rdzenia kręgowego. Następnie niszczyliśmy rdzeń wprowadzając zgłębnik do kanału rdzeniowego i szpilkami przytwierdzamy żabę do podstawki preparacyjnej stroną grzbietową do góry. Pęsetą unosimy kość ogonową i poprzecznym cięciem przecinamy skórę oraz mięśnie przyłączone do tej kości. Do powstałego otworu wsuwamy tępe ramię nożyczek i kierując je w stronę głowy żaby i na zewnątrz, wycinamy, w kształcie litery V, najpierw płat skóry, który odcinamy, a następnie mięśnie. Unosząc kość ogonową (wraz mięśniami) odsłaniamy dwa sploty łydźwiowe, które przechodzą na uda, tworząc prawy i lewy nerw kulszowy (ryc. 3a).

Zwilżoną płynem fizjologicznym bagietką podnosimy jeden ze splotów, podsuwamy pod niego nitkę, zakładamy węzeł jak najbliżej wyjścia z kręgosłupa i przecinamy splot powyżej węzła (ryc. 3b). Obserwujemy przy tym reakcję kończyny (bodziec mechaniczny, zadanie a).



Ryc. 3. Kolejne etapy preparowania nerwu kulszowego; opis w tekście (zmodyfikowane wg Jara 1991).

Następnie przecinamy okrężnie skórę na udzie i energicznym ruchem zdejmujemy ją z całej kończyny jak pończochę. Pod obnażoną kończynę kładziemy bibułę zwilżoną płynem fizjologicznym, delikatnie unosimy początek splotu i posługując się małymi nożyczkami wypreparujemy ten splot aż do uda. Następnie rozsuwamy mięśnie uda, między którymi przebiega nerw kulszowy (ryc. 3c), preparujemy go aż do okolicy kolana i przecinamy udo w połowie długości. W ten sposób otrzymujemy preparat nazywany łapką reoskopową, który użyjemy do badania wpływu bodźców osmotycznych, chemicznych i termicznych.

Do badania wpływu bodźców elektrycznych przygotowujemy preparat nerwowo-mięśniowy (nerw kulszowy z mięśniem brzuchatym łydki). Nerw kulszowy preparujemy do kolana w sposób opisany powyżej i przecinamy udo tuż nad kolaniem zwracając uwagę na to, aby nie uszkodzić nerwu. Następnie wsuwamy ostrze nożyczek między ścięgno Achillesa a kość podudzia i przesuwamy je w stronę palców żaby tak, aby oderwać rozścięgno od podeszwy. Potem unosimy lekko mięsień brzuchaty łydki, oddzielamy go od reszty podudzia i odcinamy kość w okolicy kolana. Przygotowane preparaty często zwilżamy płynem fizjologicznym lub też zanurzamy je w takim płynie.

ad b. Nerw kulszowy łapki reoskopowej dotykamy ogrzaną bagietką szklaną.

Uwaga! To doświadczenie wykonujemy po zbadaniu wpływu bodźców osmotycznych i chemicznych ponieważ zdarza się, że bagietka jest zbyt gorąca i niszczy nerw preparatu.

ad c. Łapkę reoskopową zanurzamy w płynie fizjologicznym, a wolny koniec nerwu umieszczamy na szkiełku zegarkowym, w którym znajduje się 0,1% roztwór NaCl. Mierzmy czas do wystąpienia skurczu mięśnia, a następnie nerw płuczemy płynem fizjologicznym i przenosimy do 10% roztworu NaCl. Jeśli po 2 min nie wystąpi skurcz mięśnia przy stymulacji pośredniej (poprzez nerw) to cały preparat przenosimy do badanego roztworu (stymulacja

bezpośrednia), mierzymy czas do wystąpienia reakcji, a następnie dokładnie płuczemy preparat i badamy wpływ 10% roztworu NaCl (rozpoczynając od stymulacji pośredniej).

ad d. Łapkę reoskopową zanurzamy w płynie fizjologicznym, a wolny koniec nerwu umieszczamy na szkiełku zegarkowym, w którym znajduje się roztwór kwasu H_2SO_4 lub HCl o najniższym stężeniu. Zmieniając stężenie kwasu ustalamy wielkość bodźca progowego.

ad e. Na dno wanienki z elektrodami kładziemy bibułę filtracyjną zwilżoną płynem fizjologicznym, a na niej umieszczamy preparat nerwowo-mięśniowy. Na każdą z elektrod kładziemy mały kawałek zwilżonej płynem fizjologicznym bibuły i na tak przygotowanych elektrodach zawieszamy nerw kulszowy preparatu. Elektrody łączymy ze stymulatorem (gniazdo 3), który włączamy do sieci i wciskamy przycisk 1 (.patrz instrukcja dołączona do stymulatora) Sprawdzamy położenie przycisków 2, 6 i 8; muszą być wciśnięte. Następnie pokręteł 12 i przyciskami 13 ustalamy okres (200 ms), a pokręteł 14 i przyciskami 15 - szerokość impulsu (50 ms). Te parametry bodźca pozostają stałe do końca doświadczenia. Wielkość (napięcie) bodźca ustalamy pokręteł 10, a jej wartość odczytujemy ze skali miernika (11). Wciskając przycisk 7 stymulujemy nerw kulszowy preparatu nerwowo-mięśniowego. Rozpoczynamy stymulację od najniższych wartości napięcia i zwiększając je stopniowo ustalamy wielkość bodźca, który wywoła skurcz mięśnia brzuchatego łydki.

Temat 7

WPLYW BODŹCÓW PODPROGOWYCH - SUMOWANIE W CZASIE

Bodźce, które nie powodują powstania potencjału czynnościowego w tkance nerwowej ani skurczu komórek mięśniowych nazywamy bodźcami podprogowymi. Każdy bodziec podprogowy powoduje jednak częściową depolaryzację błony komórkowej czyli przemijający wzrost pobudliwości tkanki. Czas trwania tych miejscowo wyzwolonych stanów pobudzenia jest bardzo krótki, ale jeśli następny bodziec podprogowy zadziała w czasie, gdy potencjał błony komórkowej nie wróci do stanu wyjściowego czyli potencjału spoczynkowego, wywołana nim depolaryzacja sumuje się z poprzednią. Większa liczba tak działających bodźców spowoduje, że depolaryzacja błony komórkowej osiągnie wartość krytyczną (progową) i pojawi się odpowiedź specyficzna dla danej tkanki.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Rodzaje bodźców ze względu na siłę działania.

Wpływ bodźców podprogowych na komórkę nerwową.

Sumowanie w czasie i przestrzeni.

Zadanie

Zbadać wpływ bodźców podprogowych na preparat nerwowo-mięśniowy żaby.

Potrzebne do wykonania

żaby, zestaw do preparowania (patrz temat 6), zakraplacze, płyn fizjologiczny, bibuła filtracyjna, zestaw do stymulacji elektrycznej, wanienska z elektrodami.

Wykonanie

Po przygotowaniu preparatu nerwowo-mięśniowego żaby określamy wielkość bodźca progowego w sposób podany w temacie 6. Następnie nieznacznie zmniejszamy wielkość bodźca, ponownie stymulujemy nerw i obserwujemy mięsień (sprawdzamy w ten sposób czy prawidłowo ustaliliśmy wielkość bodźca progowego). Jeśli mięsień nie kurczy się, zmniejszamy okres (patrz opis stymulatora typ SC-01) i wciskając przycisk 4 stymulujemy nerw preparatu serią impulsów przez 3 do 5 sekund (stymulację kończymy wciskając przycisk 6). Okres zmieniamy do chwili ustalenia takiej częstotliwości bodźcowania, przy której wystąpi skurcz mięśnia.

Uwaga! Nie należy stymulować nerwu dłużej niż 5 s. Kolejną stymulację należy rozpocząć po przerwie ok. 20 s (w tym czasie zwilżamy preparat płynem fizjologicznym).

Temat 8

SKURCZ WTÓRORZĘDNY

Pobudzeniu układu nerwowego oraz skurczom mięśni i serca towarzyszą zjawiska elektryczne zwane bioprądami. Prądy te można odbierać za pomocą odpowiednich elektrod i rejestrować. Można też wykazać ich istnienie metodą biologiczną, polegającą na obserwacji skurczu mięśni łąпки reoskopowej po umieszczeniu nerwu kulszowego tego preparatu na mięśniu brzuchatym łydki preparatu nerwowo-mięśniowego żaby (skurcz wtórorzędny).

Bioprądy znalazły zastosowanie między innymi w produkcji bioprotez, w których np. sztuczne palce poruszane są przez odpowiednio wzmocnione bioprądy generowane przez kikut.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Przyczyny zjawisk bioelektrycznych towarzyszących skurczom mięśni.

Zadanie

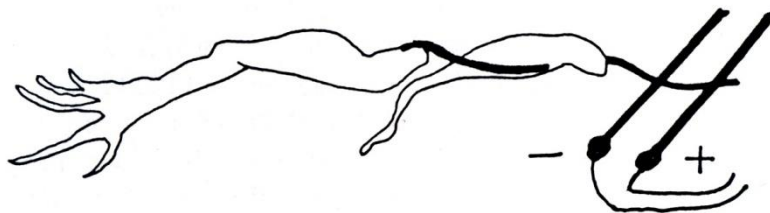
Wywołać skurcz wtórorzędny mięśni łąпки reoskopowej żaby.

Potrzebne do wykonania

jak w temacie 6.

Wykonanie

Przygotowujemy preparat nerwowo-mięśniowy i łąpkę reoskopową żaby w sposób opisany w temacie 6. Nerw kulszowy preparatu nerwowo-mięśniowego umieszczamy na elektrodach stymulujących, a nerw kulszowy łąпки reoskopowej układamy (równolegle z długą osią mięśnia) na mięśniu brzuchatym preparatu nerwowo-mięśniowego żaby (ryc. 4). Stymulujemy nerw kulszowy preparatu nerwowo-mięśniowego bodźcami częstotliwymi (patrz temat 6) i określamy parametry bodźca, który wywoła skurcz wtórorzędny.



Ryc. 4. Schematyczne przedstawienie ułożenia preparatów podczas wywoływania skurczu wtórorzędnego.

Temat 9

WPLYW ALKOHOLU I ETERU NA PRZEWODNICTWO NERWOWE

Rozprzestrzenianie impulsu nerwowego w postaci potencjału czynnościowego wzdłuż włókien nerwowych nazywamy przewodzeniem lub przewodnictwem. Zarówno w warunkach fizjologicznych jak i laboratoryjnych może dojść do zahamowania przewodzenia na pewnym odcinku, co określa się jako blok przewodzenia. Jedną z przyczyn bloku przewodzenia jest zaburzenie struktury błony komórkowej, które możemy wywołać poddając nerw działaniu eteru lub alkoholu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Przewodzenie impulsów w układzie nerwowym.

Prędkość przewodzenia.

Przewodzenie ortodromowe i antydromowe.

Zadanie

Zbadać wpływ eteru i alkoholu na przewodzenie impulsów w nerwie kulszowym żaby.

Potrzebne do wykonania

jak w temacie 6 oraz wata, 96% alkohol etylowy, eter.

Wykonanie

Uwaga! Doświadczenie wykonują dwie grupy studentów.

Preparat nerwowo-mięśniowy żaby umieszczamy w wanience z elektrodami, pamiętając o konieczności zwilżania preparatu płynem fizjologicznym i określamy próg pobudliwości preparatu na bodźce elektryczne (patrz temat 6). Następnie mały kawałek waty zwilżonej eterem (jedna grupa) lub alkoholem (druga grupa) nakładamy na nerw kulszowy, na odcinku leżącym między elektrodami a mięśniem i co 30 s stymulujemy nerw (ustalonym uprzednio bodźcem progowym) obserwując reakcję mięśnia brzuchatego łydki. Brak skurczu mięśnia

świadczy o wystąpieniu bloku przewodzenia w nerwie kulszowym. Notujemy czas, jaki upływa od chwili zastosowania eteru lub alkoholu do braku reakcji mięśnia.

Temat 10

SKURCZE MIĘŚNIA BRZUCHATEGO ŁYDKI ŻABY

Skurcz jest mechaniczną odpowiedzią mięśnia na impuls nerwowy docierający do synapsy nerwowo-mięśniowej lub na stymulację bezpośrednią wykonywaną w warunkach laboratoryjnych. Pojedyncze pobudzenie komórek mięśniowych przejawia się potencjałem czynnościowym, po którym następuje reakcja zwana skurczem pojedynczym. Jeśli następne bodźce będą pobudzać błonę komórek mięśniowych w czasie ich rozkurczu to otrzymamy skurcz tężcowy niezupełny. Dalsze zwiększanie częstotliwości bodźcowania prowadzi do pobudzenia błony w czasie trwania skurczu komórek mięśniowych, czego skutkiem jest skurcz tężcowy zupełny.

Skurcz pojedynczy, a także tężcowy, może wiązać się ze skróceniem włókien mięśniowych lub przebiegać bez zmiany ich długości lecz ze wzrostem napięcia. W organizmie, w warunkach fizjologicznych, występują zwykle skurcze tężcowe, którym towarzyszy zmiana zarówno napięcia jak i długości mięśnia.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa mięśnia poprzecznie prążkowanego.

Mechanizm skurczu.

Rola jonów wapnia w skurczu mięśnia.

Sprężenie elektromechaniczne.

Zadanie

1. Z badać wpływ siły bodźca elektrycznego na amplitudę pojedynczego, izotonicznego skurczu mięśnia brzuchatego łydki żaby oraz zapisać izotoniczny skurcz tężcowy niezupełny i zupełny.
2. Z badać wpływ siły bodźca elektrycznego na amplitudę pojedynczego, izometrycznego skurczu mięśnia brzuchatego łydki żaby oraz zapisać izometryczny skurcz tężcowy niezupełny i zupełny.
3. Z badać wpływ siły bodźca elektrycznego na czas wystąpienia zmęczenia (wyraźne zmniejszenie amplitudy lub brak skurczów mimo stymulacji) mięśnia brzuchatego łydki żaby.

Potrzebne do wykonania

żaby, zestaw do preparowania (patrz temat 6), płyn fizjologiczny, zakraplacze, metalowe haczyki do mocowania preparatu, zestaw do badania skurczów mięśni (czujnik izotoniczny i izometryczny, wzmacniacze, stymulator, rejestrator), linijki, klej.

Wykonanie

Żabę dekapitujemy, niszczyliśmy rdzeń kręgowy i z kończyny dolnej ściągamy skórę. Następnie przecinamy kończynę na wysokości kolana i przygotowujemy mięsień brzuchaty łydki w sposób opisany w temacie 6. Przy pomocy metalowego haczyka wbitego w górną część mięśnia zawieszamy preparat na czujniku izometrycznym (część zestawu do badania skurczów, patrz opis dołączony do zestawu). Drugi haczyk wbijamy w ścięgno Achillesa i łączymy z ruchomym ramieniem czujnika izotonicznego. W tak przygotowanym preparacie umieszczamy dwie elektrody igłowe. Następnie uruchamiamy zestaw aparatury do badania skurczów mięśni zgodnie z dołączonym do niego opisem.

ad 1. Zwalniamy blokadę ruchomego ramienia czujnika izotonicznego, na rejestratorze sprawdzamy położenie pisaka (tego, który jest połączony ze wzmacniaczem dla czujnika izotonicznego) i wciskamy przycisk „Imp. poj” na stymulatorze (patrz opis stymulatora dołączony do zestawu). Wielkość bodźca (napięcie) ustalamy przy pomocy dźwigni (6), a jej wartość odczytujemy ze skali miernika (3). Pokrętle i przyciskami (10) ustalamy okres na 200 ms, a pokrętle i przyciskami (9) szerokość impulsu na 50 ms. Stymulujemy preparat bodźcem pojedynczym wciskając przycisk 4. Ustalamy wielkość bodźca progowego, a następnie przy pomocy dźwigni (6) zwiększamy napięcie prądu i kolejno badamy wpływ dwóch bodźców o coraz większej sile.

Bodźce: progowy i nadprogowy wywołują skurcz mięśnia, który jest rejestrowany jako odchylenie od linii izoelektrycznej o kształcie zbliżonym do odwróconej litery V. Ramię wstępujące odpowiada początkowi skurczu, szczyt - maksimum, a ramię zstępujące krzywej odpowiada rozkurczowi mięśnia.

Po wykonaniu tej części doświadczenia wciskamy na stymulatorze przycisk „Wyzw” (7) i wciskając przycisk 4 rozpoczynamy stymulację preparatu serią impulsów (kończymy ją zwalniając przycisk 4).

Uwaga! Nie należy stymulować mięśnia dłużej niż 5 s. Kolejną stymulację należy rozpocząć po przerwie ok. 20 s (w tym czasie zwilżamy preparat płynem fizjologicznym pamiętając o konieczności wciśnięcia przycisku „BLOK” na rejestratorze).

Obserwujemy zapis i jeśli przedstawia on następujące po sobie skurcze pojedyncze to zmieniamy parametry bodźcowania, tzn. okres i, jeśli to konieczne, również szerokość impulsu tak, aby uzyskać zapis skurczu tężcowego niepełnego (szczyt krzywej jest linią mniej lub bardziej falistą). Po wykonaniu zapisu skurczu tężcowego niepełnego zwiększamy częstotliwość stymulacji tak, aby uzyskać skurcz tężcowy pełny.

ad 2. Zakładamy blokadę na ruchome ramię czujnika izotonicznego, sprawdzamy czy wzmacniacz dla czujnika izometrycznego jest włączony do sieci, czy położenie pisaka na rejestratorze jest prawidłowe i rozpoczynamy stymulację mięśnia bodźcami pojedynczymi. Dalej postępujemy tak jak w zadaniu 1.

ad 3. Zwalniamy blokadę ruchomego ramienia czujnika izotonicznego i tak dostosowujemy parametry stymulacji ciągłej, aby uzyskać zapis kilkunastu skurczów pojedynczych. Stymulujemy mięsień aż do chwili zaniku skurczów. Następnie zwiększamy siłę bodźca i stymulację powtarzamy.

Temat 11

ZMĘCZENIE MIĘŚNI RĘKI CZŁOWIEKA

Mimo wieloletnich badań przyczyny i mechanizm zmęczenia nie są w pełni wyjaśnione. Wydaje się jednak, że jest to reakcja o charakterze obronnym, dzięki której nie dochodzi do krytycznego załamania równowagi wewnątrzustrojowej.

Zmęczenie mięśni palców, dłoni i przedramienia człowieka możemy badać przy użyciu ergografu, który działa na zasadzie przetworzenia sygnału mechanicznego na elektryczny.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Zmęczenie, objawy i sposoby ich likwidacji.

Zadanie

1. Zapisać skurcze mięśni prawej i lewej ręki człowieka i określić częstotliwość i amplitudę skurczów oraz czas trwania pracy. Porównać wyniki uzyskane u kobiet i mężczyzn.
2. Zbadać wpływ uprzednio wykonanej pracy na wyniki ergograficznego pomiaru zmęczenia prawej lub lewej ręki człowieka.

Potrzebne do wykonania

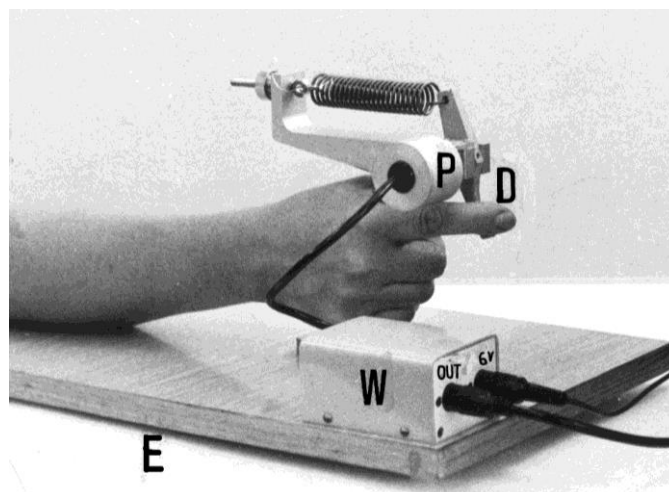
ergograf, rejestrator, stopery lub zegarki z sekundnikiem.

Wykonanie

ad 1. Ergograf łączymy z jednym z kanałów rejestratora (poprzez wyjście ze wzmacniacza, W, rys. 5) i oba aparaty włączamy do sieci. Na rejestratorze (patrz opis dołączony do aparatu) wybieramy szybkość przesuwu papieru równą 10 mm s^{-1} , a pisak ustawiamy tak, aby maksymalna amplituda jego wychyleń mieściła się w granicach zaznaczonych na rejestratorze (kreski pod pokrętłami 7). Przedramię osoby badanej umieszczamy w ergografie w sposób pokazany na ryc. 5. Dźwignię (D) przyciąga się aż do wyczucia oporu, w kierunku „do siebie” zginając palec wskazujący. Powrót dźwigni do położenia wyjściowego, dzięki sprężynie, jest samoczynny.

Polecamy osobie badanej aby przyciągała dźwignię najszybciej jak może; w chwili rozpoczęcia pracy włączamy przesuw papieru przyciskiem „START” i włączamy stoper. Badany porusza dźwignią aż do całkowitego zmęczenia mięśni, natomiast zapis wykonujemy tylko na początku i tuż przed zakończeniem pracy. Robimy to w następujący sposób: po ok 30 do 40 s trwania wysiłku zatrzymujemy przesuw papieru, zwalniając przycisk „START” i włączamy go ponownie w momencie sygnalizowania przez osobę badaną (słownie lub przez uniesienie

drugiej ręki), że odczuwa zmęczenie. W chwili zakończenia pracy zatrzymujemy przesuw papieru i notujemy czas trwania wysiłku.



Ryc. 5. Sposób ułożenia przedramienia osoby badanej w ergografie (E). P - czujnik mechano-elektryczny, D - dźwignia, W - wzmacniacz.

ad 2. Po krótkim odpoczynku polecamy osobie badanej wykonać pracę tą ręką, która służyła do pomiarów ergograficznych. Praca ta może polegać np. na pokonywaniu oporu ręki drugiej osoby i wykonaniu kilkunastu ruchów „zaciskania pięści”. Bezpośrednio po zakończeniu tej pracy postępujemy jak w zadaniu 1, czyli wykonujemy zapis skurczów mięśni i mierzymy czas pracy.

Temat 12

CZYNNOŚĆ BIOELEKTRYCZNA MIĘŚNI CZŁOWIEKA (EMG)

Wywołując skurcz wtórny (temat 8) można przekonać się, że skurczowi mięśnia towarzyszą zjawiska bioelektryczne. W miejscu pobudzenia błony występuje dokomórkowy ruch ładunków dodatnich w związku z czym staje się ono elektrycznie ujemne w stosunku do niepobudzonych odcinków błony komórkowej. Powstaje więc różnica potencjałów i wytwarza się pole elektryczne. W związku z tym, że tkanki są przewodnikami elektryczności zmiany tego pola mogą być rejestrowane z powierzchni skóry. Służą do tego elektrody kontaktowe połączone z odpowiednią aparaturą wzmacniającą i rejestrującą.

Wyróżnia się dwie podstawowe metody rejestracji potencjałów: jednobiegunową i dwubiegunową. W pierwszej z nich tylko jedna elektroda (elektroda czynna) jest ustawiona w badanym polu elektrycznym (możliwie blisko jego źródła), a druga leży dalej od niego i zwykle jest uziemiona. Elektroda czynna mierzy więc bezwzględną wartość potencjału w stosunku do

potencjału zerowego. Przy rejestracji dwubiegunowej obie elektrody czynne są ustawione blisko źródła pola elektrycznego i blisko siebie. Rejestrują one względną różnicę potencjałów pomiędzy punktami, z którymi się stykają.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Potencjał spoczynkowy i czynnościowy komórek mięśnia poprzecznie prążkowanego.

Jednostka motoryczna.

Synapsa nerwowo-mięśniowa; rola acetylocholiny.

Sprężenie elektrowydzielnicze i elektromechaniczne.

Zadanie

Zarejestrować czynność bioelektryczną mięśnia dwugłowego ramienia (lub mięśni przedramienia) i mięśnia brzuchatego łydki człowieka metodą dwubiegunową.

Potrzebne do wykonania

roztwór fizjologiczny, gaza, elektrody kontaktowe, rejestrator, linijki z podziałką milimetrową.

Wykonanie

Osoba badana siedzi lub leży starając się rozluźnić mięśnie, a badający odtłuszcza alkoholem skórę w miejscach gdzie mają być umieszczone elektrody kontaktowe. Dwie elektrody czynne (czerwoną i zieloną) umieszcza się wzdłuż długiej osi badanego mięśnia, bliżej jego przyczepów, a elektrodę zerową (czarną) umieszcza się pomiędzy nimi. Na odtłuszczonej skórze nakładamy gazę nasączoną płynem fizjologicznym i przypinamy elektrody. Następnie elektrody łączymy z rejestratorem., który włączamy do sieci i wciskamy przycisk II (KM) (patrz instrukcja dołączona do aparatu). Następnie wciskamy przycisk S i pokrętką 2 ustalamy centralne położenie pisaka. Wciskamy przycisk 25 i polecamy osobie badanej powoli zaciskać pięść (gdy badamy mięśnie przedramienia) albo coraz silniej naciskać na drugą rękę (gdy badamy mięsień dwugłowy ramienia) lub wywierać stopą nacisk na podłogę (w przypadku badania mięśnia brzuchatego łydki) aby wywołać skurcz badanych mięśni. Po kilku sekundach polecamy badanemu rozluźnić mięśnie.

W czasie gdy mięsień pozostaje w spoczynku na taśmie papieru rejestratora jest widoczna linia prosta (linia izoelektryczna), natomiast w czasie skurczu pojawiają się wychylenia, których częstotliwość i amplituda wzrastają wraz z siłą skurczu. Kształt tych wychyleń jest różny; mogą one być jedno-, dwu-, trzy- i wielofazowe.

Temat 13

ODRUCHY ŻABY RDZENIOWEJ

. Czas odruchu czyli okres między zadziałaniem bodźca a reakcją (okres utajonego pobudzenia) jest miarą pobudliwości łuku odruchowego. Na ćwiczeniach zbadamy pobudliwość odruchową żaby rdzeniowej. Żaba rdzeniowa (zdekapitowana lecz z

nieuszkodzonym rdzeniem kręgowym) jest pozbawiona świadomości a więc i czucia bólu, ale zachowuje znaczną ilość niezaburzonych funkcji życiowych. Świadczy to o niewielkim wpływie wyższych pięter ośrodkowego układu nerwowego na odruchową czynność rdzenia kręgowego u płazów.

Odruchy, których ośrodki znajdują się w rdzeniu kręgowym, i które można wywołać w preparatach rdzeniowych nazywamy odruchami własnymi rdzenia kręgowego. Jednym z nich jest odruch zginania (cofania) wywołany bodźcami uszkodzającymi skórę lub tkankę podskórną (bodźce nocyceptywne). Jest to odruch obronny, dzięki któremu dochodzi do usunięcia kończyny spod działania tego rodzaju bodźców.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Odruch, łuk odruchowy, czas odruchu.

Odruchy monosynaptyczne i polisynaptyczne.

Zadanie

1. Oznaczyć pobudliwość odruchową metodą Türcka.
2. Zbadać wpływ częstotliwości stymulacji na czas odruchu zginania.
3. Ustalić czy do wystąpienia odruchu zginania niezbędne jest prawidłowe funkcjonowanie poszczególnych części łuku odruchowego.

Potrzebne do wykonania

żaba, zestaw do preparowania, płyn fizjologiczny, statyw z haczykiem, zlewki, 0,1, 0,3 i 0,5% roztwory kwasu siarkowego, stoper.

Wykonanie

ad 1. Preparat rdzeniowy żaby zawieszamy za żuchwę na haczyku statywu. Przygotowujemy dwie zlewki. Do pierwszej nalewamy wodę, a do drugiej 0,1% roztwór kwasu siarkowego. Zanurzamy odnóża tylne żaby w wodzie, obserwujemy reakcję preparatu poczym zanurzamy je w przygotowanym roztworze kwasu i mierzymy czas odruchu. Następnie kilkakrotnie przemywamy odnóża żaby wodą i po upływie 2 min po raz drugi zanurzamy je w tym samym roztworze kwasu notując ponownie czas odruchu. Po jego wystąpieniu przemywamy kończyny wodą. Dalszą część doświadczenia przeprowadzamy w wyżej opisany sposób wywołując odruch zginania przy użyciu roztworów kwasu o stężeniu 0,3 i 0,5%.

Uwaga! Głębokość, na którą zanurzamy kończyny żaby w kolejnych roztworach kwasu musi być taka sama, ponieważ czas odruchu zależy m. in. od ilości pobudzonych receptorów.

ad 2. Postępujemy podobnie jak w zadaniu 1 z tym, że mierzymy czas odruchu zginania stosując jedynie 0,3% roztwór kwasu siarkowego, a stymulację wykonujemy w określonych odstępach czasu, pamiętając o płukaniu odnóży żaby każdorazowo po wywołaniu odruchu. Zanurzamy kończyny żaby w kwasie i mierzymy czas odruchu. Następnie powtarzamy pomiar po upływie 2 min, po 1 min i ostatni pomiar wykonujemy po 30 s.

ad 3. Z jednej kończyny żaby usuwamy skórę. Wywołujemy odruch zginania zanurzając kończynę ze skórą w 0,5% roztworze kwasu, a potem zanurzamy w kwasie kończynę pozbawioną skóry i po zakończeniu badania płuczemy ją płynem fizjologicznym. Następnie usuwamy skórę z uda, rozsuwamy mięśnie (patrz temat 6), przecinamy nerw kulszowy i stymulujemy tę kończynę kwasem. Na zakończenie tego doświadczenia dekapitujemy następną żabę i po ustąpieniu objawów wstrząsu rdzeniowego oznaczamy czas odruchu zginania. Następnie niszczymy rdzeń kręgowy i ponownie stymulujemy odnóża żaby 0,5% roztworem kwasu siarkowego.

Uwaga! Wykonanie i wyniki zadania 1 i 2 są zarejestrowane na taśmie wideo, a film zrealizowano w Akademii Medycznej w Łodzi. Wykonanie i wyniki zadania 3 są również zarejestrowane, z tym że film zrealizowano w Zakładzie Fizjologii Zwierząt UMK. Studenci notują wyniki doświadczeń przedstawionych na filmie.

Temat 14

ODRUCHOWE NAPIĘCIE MIĘŚNI (DOŚWIADCZENIE BRONDGEESTA)

Odnóża żaby rdzeniowej są zgięte w stawie biodrowym, kolanowym i skokowym co wskazuje, że znajdują się w stanie pewnego napięcia. Napięcie to utrzymywane jest na drodze odruchowej dzięki impulsom, które stale krążą między mięśniami i rdzeniem kręgowym wzdłuż tzw. pętli mięśniowej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa wrzeciona nerwowo-mięśniowego (receptor wrażliwy na rozciąganie).

Odruchowa regulacja napięcia mięśniowego; rola motoneuronów gamma.

Czynniki, które wpływają na aktywność motoneuronów gamma

Zadanie

Zbadać wpływ przecięcia jednego z nerwów kulszowych na napięcie mięśni kończyn żaby.

Potrzebne do wykonania

żaba, zestaw do preparowania, płyn fizjologiczny, statyw z haczykiem, zlewki, stoper.

Wykonanie

Odsłaniamy splot lędźwiowy żaby rdzeniowej (patrz temat 6) i podsuwamy pod niego nitkę, którą lekko zawiązujemy. Żabę zawieszamy za żuchwę na statywie i przecinamy nerw kulszowy powyżej miejsca założenia nitki. Porównujemy zgięcia obu kończyn w stawie biodrowym, kolanowym i skokowym.

Uwaga! Studenci notują wyniki doświadczeń przedstawionych na filmie zrealizowanym w Zakładzie Fizjologii Zwierząt UMK.

Temat 15

MÓZGOWE (OŚRODKOWE) HAMOWANIE ODRUCHÓW RDZENIOWYCH (DOŚWIADCZENIE SIECZENOWA)

Czas odruchu, w niezmiennych warunkach doświadczalnych, jest dla danego preparatu żaby zawsze jednakowy. Wydłużenie czasu odruchu lub jego całkowite zniesienie nazywamy hamowaniem odruchu. Zjawisko to może być wywołane przez impulsację z wyższych piętér ośrodkowego układu nerwowego lub czuciową - z obwodu. Ponad sto lat temu Sieczenow stwierdził, że w mózgu żaby istnieją ośrodki, które hamują odruchy; znajdują się one w śródmózgowiu, w płatach wzrokowych.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa i rola tworów siatkowatych.

Mechanizm ośrodkowego hamowania odruchów.

Zadanie

Określić czas odruchu zginania u żaby rdzeniowej przed i po osmotycznej stymulacji płatów wzrokowych.

Potrzebne do wykonania

żaba, zestaw do preparowania, płyn fizjologiczny, kryształki NaCl, statyw z haczykiem, zlewki, stoper.

Wykonanie

Żabę dekapitujemy wykonując cięcie poprzeczne mózgowo-czaszki tuż przed oczodołami, dzięki czemu w preparacie rdzeniowym zachowane jest śródmózgowie. Preparat wieszamy na haczyku statywu i po ustąpieniu objawów wstrząsu rdzeniowego oznaczamy czas odruchu metodą Türcka. Następnie na powierzchni śródmózgowia umieszczamy kryształki NaCl i po upływie 2 min ponownie oznaczamy czas odruchu. Potem dokładnie zmywamy sól płynem fizjologicznym i po 2 min oznaczamy czas odruchu.

Uwaga! Wykonanie i wyniki są zarejestrowane na taśmie video, a film zrealizowano w Akademii Medycznej w Łodzi. Studenci notują wyniki doświadczeń przedstawionych na filmie.

Temat 16

OBWODOWE HAMOWANIE ODRUCHÓW RDZENIOWYCH

Zjawisko hamowania odruchów rdzeniowych może być wywołane stymulacją dróg czuciowych czyli dośrodkowych (hamowanie obwodowe, zewnętrzne). Obserwujemy je w przypadku równoczesnego pobudzania dwu lub więcej rodzajów receptorów bodźcami o różnej intensywności. Na przykład, odruch zginania kończyny żaby, wywołany metodą Türcka, jest hamowany w czasie pobudzenia drugiej kończyny silnym bodźcem mechanicznym

(uciskanie pęsetą) lub elektrycznym. Przyczyną tego zjawiska jest hamujący wpływ ośrodków silniej pobudzonych na aktywność pobudzonych słabiej, co w konsekwencji prowadzi do stłumienia reakcji odruchowej ośrodków słabiej pobudzonych.

Zadanie

Wywołać obwodowe hamowanie odruchu zginania u żaby rdzeniowej.

Potrzebne do wykonania

żaba, zestaw do preparowania, 0,3% roztwór kwasu siarkowego, statyw z haczykiem, zlewki, stoper, stymulator, elektrody igłowe.

Wykonanie

Dekapitujemy żabę i po ustąpieniu wstrząsu rdzeniowego oznaczamy czas odruchu metodą Türcka zanurzając jedną kończynę w 0,3% roztworze kwasu siarkowego. Po wypłukaniu kończyny w wodzie ponownie oznaczamy czas odruchu równocześnie stosując inny bodziec na drugą kończynę. Najpierw stosujemy bodziec mechaniczny (silne uszczypnięcie pęsetą), a po krótkiej przerwie - elektryczny.

Uwaga! Studenci notują wyniki doświadczeń przedstawionych na filmie zrealizowanym w Zakładzie Fizjologii Zwierząt UMK.

Temat 17

ODRUCHY NA ROZCIĄGANIE

Odpowiedzią mięśnia na jego rozciągnięcie jest skurcz. Reakcję tę nazywamy odruchem na rozciąganie (lub rozciągowym, miotatycznym). Fizjologiczna rola tych odruchów polega na dostosowywaniu długości i napięcia mięśnia do zmian ustawienia stawów i do różnego obciążenia mięśnia. Dzięki tym odruchom zwierzęta i człowiek, w sposób automatyczny, zachowują właściwą postawę ciała.

Teoretycznie, odruchy rozciągowe można wywołać z każdego mięśnia poprzecznie prążkowanego, który posiada receptory wrażliwe na rozciąganie. W celach diagnostycznych wywołuje się je z wielu różnych mięśni, natomiast na ćwiczeniach z fizjologii wywołamy je jedynie z niektórych mięśni kończyny dolnej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Odruch, łuk odruchowy, czas odruchu.

Budowa wrzeciona nerwowo-mięśniowego (receptor wrażliwy na rozciąganie).

Odruchy monosynaptyczne.

Zadanie

Wywołać odruch na rozciąganie: a) z mięśnia czworogłowego uda, b) z mięśnia trójgłowego łydki człowieka.

Potrzebne do wykonania
młoteczek neurologiczny.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

ad a. Osoba badana siada na stole lub wysokim krześle tak, aby stopy nie dotykały podłogi i stara się rozluźnić mięśnie. Badający uderza młoteczką neurologiczną w ścięgno mięśnia czworogłowego uda, w miejscu między rzepką a kością piszczelową i obserwuje zachowanie kończyny. Jeśli nie wystąpi wyraźna reakcja badający kładzie dłoń na udzie osoby badanej, ponownie uderza w ścięgno mięśnia czworogłowego i stara się dotykiem wyczuć zmianę napięcia badanego mięśnia. Niekiedy warunkiem wywołania odruchu rozciągowego jest zwrócenie uwagi osoby badanej na jakąś inną czynność. Dobrym sposobem jest stosowanie chwytu Jendrassika: poleca się osobie badanej złączyć palce obu rąk i silnie rozciągać, a badający w tym czasie uderza w ścięgno badanego mięśnia.

ad b. Osoba badana klęka na krześle tak, aby stopy zwisały swobodnie, a badający uderza młoteczką w ścięgno Achillesa i obserwuje reakcję stopy.

Temat 18

ODRUCHY OBRONNE WYZWALANE ZE SKÓRY I BŁON ŚLIZOWYCH

Podrażnienie różnego rodzaju receptorów (mechanoreceptorów, termoreceptorów czy też wolnych zakończeń nerwowych związanych z czuciem bólu) występujących w skórze i błonach śluzowych wywołuje reakcje ruchowe prowadzące do ucieczki lub usunięcia przyczyny tego podrażnienia. Są to odruchy obronne różniące się od odruchów na rozciąganie m. in. tym, że angażują wiele różnych mięśni.

Wywoływanie i ocena odruchów zarówno obronnych jak i odruchów na rozciąganie pozwala stwierdzić czy i jakiego rodzaju zaburzenia występują w różnych częściach układu nerwowego. I tak np. w stanach chorobowych prowadzących do uszkodzenia rdzenia kręgowego powyżej dolnego odcinka lędźwiowego obserwuje się patologiczny odruch podeszwowy, nazywany odruchem lub objawem Babińskiego. Podrażnienie skóry na podeszwie powoduje zgięcie grzbietowe palucha z równoczesnym zgięciem, grzbietowym lub podeszwowym, pozostałych palców stopy.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Receptory zmysłowe, rodzaje i rola.

Odruchy polisynaptyczne

Zadanie

Wywołać następujące odruchy obronne: a) podeszwowego, b) spojówkowego lub rogówkowego, c) z błony śluzowej nosa i d) z podniebienia miękkiego.

Potrzebne do wykonania

młoteczek neurologiczny, skrawek papieru w kształcie ostrego klina, włos koński, łyżki laryngologiczne.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

ad a. Badający przesuwa młoteczką neurologiczną po skórze podeszwy osoby badanej od pięty w kierunku palucha lub od pięty do palca piątego.

ad b. Osoba badana patrzy w bok. Badający klinowatym skrawkiem papieru lekko dotyka części gałkowej spojówki lub rogówki.

ad c. Badany zamyka oczy, a badający włosem końskim lub skrawkiem papieru dotyka błony śluzowej nosa.

ad d. Badany szeroko otwiera usta i wyciąga język. Badający oświetla wnętrze jamy ustnej i delikatnie dotyka krawędzi łuków podniebiennych lub języczka za pomocą łyżki laryngologicznej.

Temat 19

ODRUCHY ŻRENICZNE

Wielkość źrenicy zależy od natężenia promieni świetlnych padających na siatkówkę i od odległości oglądanego przedmiotu. Średnica źrenicy kontrolowana jest odruchowo, przy czym odmienne są łuki odruchowe dla zwężenia źrenicy pod wpływem światła i przy patrzeniu na bliskie przedmioty.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Mięśnie, od których zależy szerokość źrenicy.

Wpływ układu nerwowego wegetatywnego na szerokość źrenicy.

Zadanie

Zbadać zmiany wielkości źrenicy w zależności od: a) intensywności światła, b) odległości oglądanego przedmiotu.

Potrzebne do wykonania

latarka, ołówek lub inny podobny przedmiot.

Wykonanie

Uwaga! Zadanie wykonujemy w grupach trzyosobowych z tym, że osoba badana i badające zamieniają się kolejno rolami.

ad a. Osoba badana patrzy na odległy, nieruchomy przedmiot, a badający obserwując źrenice obu oczu kierują na jej twarz wiązkę światła. Następnie badamy wpływ światła

padającego na jedno oko na wielkość źrenicy drugiego oka. W tym celu jeden z badających przystawia książkę lub zeszyt do twarzy osoby badanej tak, aby wiązka światła faktycznie oświetlała tylko jedno oko. Drugi z badających obserwuje reakcję źrenicy nieoświetlonego oka.

ad b. Polecamy osobie badanej cały czas skupiać wzrok na przedmiocie trzymanym przez jednego z badających (np. ołówku), który z odległości ok 1,5 m powoli zbliża się do niej. Drugi z badających obserwuje wielkość źrenic osoby badanej.

Temat 20

ODRUCHY WYZWALANE Z NARZĄDU RÓWNOWAGI

Ucho wewnętrzne, czyli błędnik, zawiera receptory słuchu i równowagi. W skład narządu równowagi wchodzi trzy kanały półkoliste i przedsionek obejmujący woreczek i łagiewkę. Komórki receptorowe zlokalizowane w bańkach kanałów półkolistych są sklezione osklepkami i tworzą grzebień bańkowy. Impulsacja biegnąca z receptorów kanałów półkolistych informuje o przyspieszeniu kątowym.

W łagiewce i woreczku występuje narząd otolitowy. Komórki receptorowe nie są pobudzone ruchem śródchłonki, jak w bańkach kanałów półkolistych, ale ruchem błony kamyczkowej (otolitowej), zawierającej kamyczki błędnikowe zbudowane z kryształów węgla wapnia. Receptory zlokalizowane w plamkach woreczka reagują na przyspieszenie w płaszczyźnie pionowej, a receptory w łagiewce - poziomej.

Pobudzanie komórek receptorowych w grzebieniu bańkowym wywołuje oczopląs (charakterystyczne ruchy drgające gałek ocznych w płaszczyźnie prostopadłej do osi obrotu) podczas ruchu obrotowego (*oczopląs obrotowy*) jak i po jego zatrzymaniu (*oczopląs poobrotowy*). W oczopląsie poobrotowym wyróżniamy dwie fazy: szybką i wolną. Przyjęto, że kierunek szybkiego ruchu gałek ocznych jest kierunkiem oczopląsu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa narządu równowagi.

Mechanoreceptory narządu równowagi.

Zadanie

1. Wywołać oczopląs przez obrót dookoła pionowej osi ciała.
2. Zbadać wpływ pobudzenia błędnika (poprzez ruch obrotowy) na reakcje ruchowe (doświadczenie Barany'ego).

Potrzebne do wykonania

krzesło obrotowe z oparciem, stoper, opaska na oczy.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

ad 1. Osoba badana, mając zamknięte oczy, wykonuje szereg obrotów z szybkością 0,5 obrotu na 1 s. Po zatrzymaniu otwiera oczy, a badający obserwuje rytmiczne drgania gałek ocznych i notuje czas trwania i kierunek oczopląsu.

ad 2. Na kartce papieru rysujemy krzyżyk (lub inny znak) i przyklejamy ją do ściany. Osoba badana siada na krześle obrotowym naprzeciw kartki i na polecenie dotyka krzyżyk palcem. Powtarza to po zamknięciu oczu (lub założeniu opaski). Następnie polecamy badanemu schylić głowę tak, aby brodą dotykał klatki piersiowej. Krzesło wraz z osobą badaną obracamy kilka razy i zatrzymujemy na wprost kartki papieru. Polecamy badanemu trafić palcem w krzyżyk, a następnie otworzyć oczy (lub zdjąć opaskę) i sprawdzić czy i jaki popełnił błąd. Notujemy kierunek odchylenia i wielkość błędu.

Temat 21

ODRUCH Z BARORECEPTORÓW

Baroreceptory należą do mechanoreceptorów wrażliwych na rozciąganie ścian naczyń krwionośnych i jam serca, w których są zlokalizowane. Spadek średniego ciśnienia tętniczego (np. zmiana pozycji ciała z leżącej na stojącą) powoduje zmniejszenie pobudzenia baroreceptorów, zwane ich **odbarczeniem**. Odbarczenie baroreceptorów tętnicznych powoduje zmniejszenie lub zniesienie tonicznego **hamowania** włókien współczulnych unerwiających układ krążenia. Powoduje to odruchowe zwężenie naczyń oporowych i dużych żył, zwiększenie naczyniowego oporu obwodowego i powrotu żylnego oraz przyspieszenie rytmu serca i zwiększenie objętości minutowej. Omówione reakcje zachodzą do chwili, w której ciśnienie krwi osiągnie poziom dostosowany do nowej sytuacji.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Odruchowa regulacja ciśnienia krwi; baroreceptory, ośrodek sercowy i naczyniowo-ruchowy oraz efekторы.

Zadanie

Określić częstotliwość tętna oraz ciśnienie skurczowe i rozkurczowe przy zmianie pozycji ciała z leżącej na stojącą (próba ortostatyczna) i ze stojącej na leżącą (próba klinoortostatyczna). Określić czas, po którym ustępują zmiany.

Potrzebne do wykonania

sfigomanometr, fonendoskop, stoper, kozetka.

Wykonanie

Uwaga! Zadanie wykonujemy w grupach trzyosobowych.

Osobie badanej, leżącej co najmniej 5 min, mierzymy częstotliwość tętna oraz ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi. Czynność powtarzamy kilka razy w odstępach 1 min. Pomiar

tętna i ciśnienia krwi wykonujemy do chwili, w której dwa ostatnie wyniki są identyczne. Ostatni wynik wpisujemy do tabeli w *Zeszytcie*. Następnie badany wstaje (próba ortostatyczna). Osoby badające mierzą szybkość tętna oraz ciśnienie krwi w następujących odstępach czasu: po 15 s, 1, 2, 3, 4 i 5 min od momentu wstania. Następnie osoba badana kładzie się (próba klinoortostatyczna). Osoby badające mierzą częstotliwość tętna oraz ciśnienie krwi w takich samych odstępach czasu jak w próbie ortostatycznej.

Uwaga! Ostatni wynik uzyskany w próbie ortostatycznej stanowi pierwszy wynik próby klinoortostatycznej.

Temat 22

CZUCIE DOTYKU

Czucie dotyku odbierane jest przez receptory o różnej budowie mikroskopowej. Ich rozmieszczenie w skórze jest nierównomierne i w zależności od okolicy ciała wynosi od 7 do 300 punktów czucia dotyku na 1 cm² powierzchni skóry. Od gęstości receptorów zależy tzw. *odległość dotykowa* danego obszaru skóry. Jest to najmniejsza odległość, przy której bodziec dotykowy stosowany jednocześnie w dwóch punktach skóry odczuwany jest nie jako jedno lecz dwa dotknięcia.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Czucie i percepcja.

Rodzaje receptorów zmysłowych.

Zadanie

1. Określić liczbę punktów dotyku w skórze różnych okolic ciała.
2. Oznaczyć odległość dotykową skóry różnych okolic ciała.

Potrzebne do wykonania

włosy końskie, szablon z bristolu ograniczający 1 cm² powierzchni skóry, cyrkiel o stępionych końcach, linijki z podziałką milimetrową.

Wykonanie

Uwaga! Badanie to przeprowadzamy w dwóch grupach, z których pierwsza wykonuje tylko zad. 1, a druga - zad. 2.

ad 1. Przykładamy szablon do opuszki palca osoby badanej, polecamy jej zamknąć oczy i włosiem końskim dotykamy powierzchnię skóry (ograniczoną tym szablonem) w odstępach co 2 mm w rzędach poziomych i pionowych. Staramy się dotykać zawsze z taką samą siłą. Następnie przenosimy szablon kolejno na zewnętrzną stronę dłoni oraz kark i również w tych okolicach ciała określamy liczbę punktów dotyku.

ad 2. Podobnie jak poprzednio osoba badana zamyka oczy. Badający rozsuniętymi ramionami cyrkla dotyka jednocześnie powierzchni skóry po zewnętrznej stronie dłoni osoby badanej, która określa czy odczuwa dwa dotknięcia czy jedno. Manipulując rozstawem ramion cyrkla staramy się ustalić najmniejszą odległość między nimi, przy której dotknięcia odczuwane są jeszcze jako osobne ukłucia. Badamy w ten sposób również skórę nadgarstka i przedramienia.

Temat 23

CZUCIE SMAKU

Człowiek ma zdolność rozróżniania czterech podstawowych rodzajów smaków: słodkiego, słonego, kwaśnego i gorzkiego. Recepcja każdego z nich odbywa się przy udziale innego rodzaju kubków smakowych.

W odczuciach smakowych biorą udział nie tylko receptory smakowe lecz także receptory węchowe jamy nosowej oraz w mniejszym stopniu receptory dotykowe i termiczne błony śluzowej jamy ustnej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa i rola kubków smakowych.

Zadanie

1. Wyznaczyć na powierzchni języka obszary różnicowania czterech podstawowych smaków: słodkiego, słonego, kwaśnego i gorzkiego.
2. Sprawdzić czy istnieje współzależność między zmysłami smaku i węchu.

Potrzebne do wykonania:

10% kwas octowy, 10% glukoza, 10% NaCl, 10% MgSO₄ (sól gorzka), woda destylowana, 4 zakraplacze, 0.1% roztwór NaOH, jabłko, cebula, zakraplacz, zaciskacz do nosa.

Wykonanie

ad 1. Osoba badana wysuwa język, a badający nanosi krople roztworu, np. kwasu octowego, na nasadę, środek, brzegi i koniuszek języka. Badany nie zamykając ust rozpoznaje smak i wskazuje go na schemacie w *Zeszytcie* określając równocześnie miejsca, w których ten smak odczuwa. Następnie osoba badana przepłukuje usta wodą destylowaną i badający powtarza doświadczenie używając kolejnego roztworu.

ad 2. Osobie badanej zaciskamy nos tak aby mogła oddychać jedynie przez usta i na wysunięty język nanosimy kilka kropel roztworu NaOH. Polecamy przycisnąć język do podniebienia i określić smak roztworu. Następnie zdejmujemy zaciskacz i ponownie prosimy o określenie smaku roztworu. W dalszej części doświadczenia postępujemy podobnie, polecając osobie badanej rozróżnić kolejno smak jabłka i cebuli (kładzione na język ich kawałki **muszą być** bardzo podobne pod względem kształtu i wielkości).

Temat 24

CZUCIE TEMPERATURY

Skóra i błony śluzowe zawierają nagie zakończenia nerwowe swoiście wrażliwe na zmiany temperatury. Wykazano, że istnieją dwa oddzielne typy termoreceptorów: receptory zimna - reagujące na spadek temperatury i ciepła - reagujące na wzrost temperatury skóry.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Rodzaje i właściwości termoreceptorów.

Zadanie

Określić gęstość termoreceptorów ciepła i zimna w skórze dłoni i karku.

Potrzebne do wykonania:

matryce do odwzorowania punktów stymulacji na skórze, poduszka nasycona tuszem, stymulator termiczny, łaźnia wodna, niebieska i czerwona kredka.

Wykonanie

Po zwilżeniu matrycy tuszem odbijamy jej wzór na zewnętrznej stronie dłoni i na karku osób badanych. Następnie stymulatorem schłodzonym do 10°C badający dotyka skóry w punktach zaznaczonych przez matrycę, a osoba badana sygnalizuje, czy czuje zimno czy tylko dotyk. Punkty czucia zimna w skórze zaznaczamy kolorem niebieskim na wzorze matrycy odbitym w *Zeszytcie*. W związku z tym, że w trakcie badania temperatura stymulatorów stopniowo wzrasta musimy je kilkakrotnie wymieniać.

Po zakończeniu tej części doświadczenia ogrzewamy stymulatory w łaźni wodnej do temperatury około 42°C, osuszamy i powtarzamy postępowanie poszukując termoreceptorów ciepła w punktach wyznaczonych przez matrycę. Punkty czucia ciepła zaznaczamy w *Zeszytcie* kolorem czerwonym.

Temat 25

OCENA BODŹCÓW TERMICZNYCH W ZALEŻNOŚCI OD STANU WEWNĘTRZNEGO ORGANIZMU

Dowolny bodziec działający na skórę lub błony śluzowe jest określany przez organizm jakościowo (rodzaj bodźca), ilościowo (siła bodźca) i uczuciowo (bodziec może być przyjemny, nieprzyjemny lub obojętny). U podstaw jakościowej analizy czucia leży stymulacja określonego receptora przez specyficzny dla niego bodziec, a o sile bodźca informuje częstotliwość potencjałów czynnościowych generowanych w neuronach unerwiających dany receptor. Uczuciowa (hedonistyczna) ocena bodźca zależy od stanu wewnętrznego organizmu.

To znaczy, taki sam bodziec np. termiczny może być odczuwany jako przyjemny lub nieprzyjemny w zależności od kierunku odchylenia temperatury ciała od normy.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Drogi czuciowe swoiste i nieswoiste.

Zadanie

Określić wpływ temperatury ciała na uczuciową (hedonistyczną) ocenę bodźców termicznych działających na skórę.

Potrzebne do wykonania:

termometry lekarskie, pojemniki z termometrami do pomiaru temperatury wody.

Wykonanie

W doświadczeniu biorą udział dwie grupy osób. Badani z pierwszej grupy mierzą temperaturę ciała pod pachą, nakładają wierzchnie okrycia (kurtki lub płaszcze) i wykonują przysiady tak długo aż wystąpi pot na twarzy i podwyższy się temperatura ciała. Badani z drugiej grupy mierzą temperaturę ciała pod językiem i lekko ubrani wychodzą na zewnątrz budynku lub stają przy otwartym oknie. Pozostają w tych warunkach tak długo (zwykle kilkanaście minut) aż obniży się temperatura ich ciała.

W międzyczasie dwie osoby przygotowują 6 pojemników z wodą o temperaturze od 18 do 42°C, np. 18, 22, 28, 33, 37 i 42°C. Każda z osób badanych zanurza w nich kolejno całą dłoń na 30 s, porusza nią przez cały czas i zastanawia się nad wartością hedonistyczną bodźca termicznego. Tuż przed wyjęciem dłoni z wody badany określa bodziec liczbowo w następujący sposób: (+2) - bodziec bardzo przyjemny, (+1) - przyjemny, (0) - obojętny, (-1) - nieprzyjemny i (-2) - bardzo nieprzyjemny, a badający nanosi odpowiednio punkty na wykres w *Zeszytcie*.

Temat 26

AKOMODACJA OKA

Akomodacja jest to zdolność soczewki do ogniskowania na siatkówce zarówno promieni równoległych, biegnących od odległych przedmiotów, jak i rozbieżnych biegnących od obiektów blisko położonych. Najmniejsza odległość, przy której promienie biegnące od przedmiotów są skupiane na siatkówce nazywa się punktem bliży wzrokowej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Układ optyczny oka.

Mechanizm akomodacji.

Zadanie

Wyznaczyć punkt bliży wzrokowej.

Potrzebne do wykonania
ołówek lub długopis, linijka.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

Osoba badana trzyma w wyciągniętej ręce ołówek i jednym okiem obserwuje jego czubek, a następnie wolno przybliża ołówek do oka. Po ustaleniu najbliższego punktu, w którym badany dokładnie widzi czubek ołówka, badający mierzy odległość między ołówkiem a okiem.

Temat 27

ASTYGMATYZM

Astygmatyzm jest wadą układu optycznego oka powodującą, że obraz tworzący się na siatkówce nie jest ostry, ponieważ promienie świetlne skupiają się w dwu lub więcej ogniskach.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Wady układu optycznego oka.

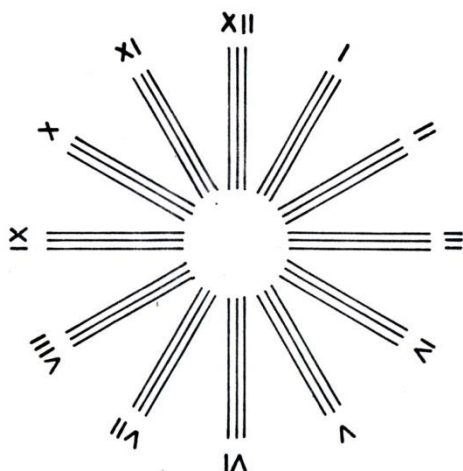
Zadanie

Zbadać krzywiznę rogówki oczu człowieka.

Potrzebne do wykonania
schemat przedstawiony na ryc. 6.

Wykonanie

Obserwujemy schemat (rys. 6) najpierw jednym, a potem drugim okiem. Jeśli wszystkie linie promieniste są widziane równie ostro to krzywizna rogówki jest prawidłowa.

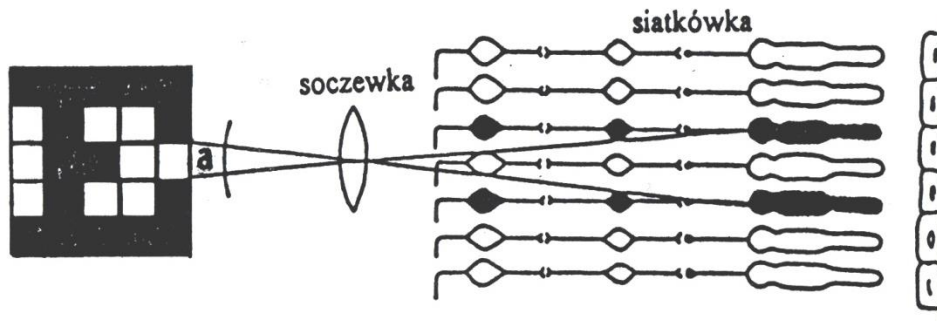


Ryc. 6. Schemat do wykrywania astygmatyzmu.

Temat 28

OSTROŚĆ WZROKU

Ostrość wzroku ustala się przy pomocy tablic Snellena zawierających litery, cyfry, lub inne znaki sporządzone w ten sposób, że kąt widzenia całego znaku z określonej odległości wynosi pięć minut, a poszczególne jego części widziane są pod kątem jednej minuty (a, rys. 7).



Rys. 7. Schemat zasady oznaczania ostrości wzroku z pomocą tablicy Snellena.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa siatkówki.

Zadanie

Określić ostrość wzroku oka prawego i lewego.

Potrzebne do wykonania
tablice Snellena, wskaźnik.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

Badany staje naprzeciw tablicy Snellena w odległości podanej pod najniższym rzędem liter (5 lub 6 m). Zasłania jedno oko i drugim odczytuje wskazywane przez badającego litery od rzędów wyższych do niższych. Badający określa najniższy rząd liter prawidłowo odczytanych przez badanego. Ostrość wzroku określa się według wzoru:

$$V = \frac{d}{D}$$

gdzie: V - ostrość wzroku, d - odległość z jakiej badany czyta dany rząd liter, D - odległość z jakiej osoba o prawidłowej ostrości wzroku czyta ten rząd liter (wartość ta jest podana na tablicy pod każdym rzędem liter).

Temat 29

ROZMIESZCZENIE PRĘCIKÓW I CZOPKÓW W SIATKÓWCE OKA U CZŁOWIEKA

Czopki i pręciki są nierównomiernie rozmieszczone w siatkówce. Czopki znajdują się w centralnej części siatkówki, a pręciki w jej części obwodowej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Pręciki i czopki; budowa i rola.

Zadanie

Określić zależność postrzegania barwy przedmiotu od jego położenia w polu widzenia.

Potrzebne do wykonania

niewielki przedmiot w jaskrawym kolorze (np. czerwony długopis).

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

Osoba badana zasłania dłonią prawe oko, wpatrując się lewym w jeden punkt przed sobą, a osoba badająca powoli przesuwając barwny przedmiot od prawej strony głowy osoby badanej na linię jej wzroku. Badany informuje słownie eksperymentatora o pojawieniu się przedmiotu w polu widzenia, a następnie stara się opisać go bliżej, sygnalizując moment, w którym może już określić jego kolor. Ćwiczenie powtarzamy zasłaniając lewe oko.

Temat 30

WIDZENIE BARW

Przyjmuje się, że u człowieka istnieje trójchromatyczny układ percepcji barw, ponieważ dla otrzymania barwy białej wystarczy zmieszać tylko trzy zasadnicze barwy widmowe tj. czerwoną (dł. fali 700 nm), zieloną (dł. fali 546 nm) i niebieską (dł. fali 435 nm). Zaburzenia widzenia barw są zwykle wrodzone i dziedziczne, aczkolwiek mogą być również nabyte np. w wyniku uszkodzenia siatkówki czy dróg wzrokowych. Dzieli się je na kilka grup. Nieprawidłowa trichromia - jest to częściowe niedowidzenie pewnych barw. Jeśli niedowidzenie dotyczy barwy czerwonej mówimy o protanomalii, jeśli zielonej - deuteranomalii a jeśli niebieskiej - o tritanomalii. Dichromia (daltonizm) - jest to brak widzenia niektórych barw. Jeśli siatkówka nie jest wrażliwa na barwę czerwoną mówimy o protanopii, jeśli na barwę zieloną - o deuteranopii, a na niebieską - o tritanopii. Dla daltonisty świat barw jest bardzo ubogi; osoba prawidłowo widząca barwy rozróżnia ich tysiące, podczas gdy protanop dostrzega 27 a deuteranop jedynie 17 kolorów w tych samych warunkach. Monochromia - jest to całkowita ślepota na barwy. Widzenie ludzi dotkniętych tym defektem przypomina oglądanie czarno-białego filmu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Barwniki wzrokowe, ich rola.

Zadanie

Zbadać zdolność widzenia barw u człowieka.

Potrzebne do wykonania
test Ishihary, wskaźnik.

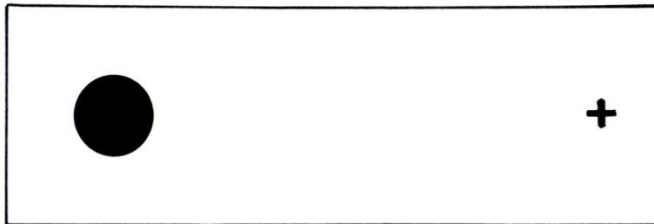
Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

Do badania widzenia barw służą m.in. tablice pseudoizochromatyczne. Znajdują się na nich cyfry lub litery przedstawione za pomocą barwnych, pastelowych plamek umieszczonych na podobnym, mało kontrastowym tle. Na ćwiczeniach użyjemy test Ishihary, którym posługujemy się zgodnie z załączoną do niego instrukcją.

Temat **31****PLAMKA ŚLEPA**

Plamka ślepa jest częścią siatkówki, w której znajdują się aksony komórek zwojowych. Stanowi ona początek nerwu wzrokowego.



Ryc. 8. Schemat do wykrywania obecności plamki ślepej.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Przetwarzanie informacji wzrokowych.

Zadanie

Stwierdzić obecność plamki ślepej w oku człowieka.

Potrzebne do wykonania
schemat (ryc. 8), linijka.

Wykonanie

Do stwierdzenia obecności plamki ślepej wykorzystujemy schemat przedstawiony na ryc. 8. Zasłaniamy jedno oko, a drugim wpatrujemy się w krzyżyk. Schemat ustawiamy tak, aby krzyżyk znajdował się w polu widzenia bliżej nosa, a krążek bliżej części skroniowej czaszki. Następnie schemat wolno odsuwamy od oka (krzyżyk musi cały czas znajdować się w osi widzenia). Początkowo widzimy zarówno krzyżyk, jak i krążek. Przy pewnej odległości schematu od oka krążek staje się niewidoczny.

Temat 32

PRZEWODZENIE FAL DŹWIĘKOWYCH

Fale dźwiękowe mogą docierać do ślimaka w uchu wewnętrznym dwiema drogami: powietrzną i kostną. W warunkach prawidłowych dłużej słyszymy dźwięk przenoszony drogą przewodnictwa powietrznego.

Prawidłową czynność ucha można ocenić na podstawie prób Rinneho i Webera. Próba Rinneho polega na określeniu stosunku przewodnictwa powietrznego do kostnego. Próba Webera stosowana jest głównie do określenia, która część ucha jest uszkodzona w przypadku upośledzenia słuchu. Osoba o prawidłowym słuchu słyszy dźwięk drgających, postawionych na ciemieniu widełek stroikowych równocześnie i jednakowo w obu uszach. Przy uszkodzeniu zdolności recepcyjnych jednego ucha dźwięk słyszymy uchem zdrowym. Jeżeli natomiast istnieje jakaś przeszkoda w przewodnictwie powietrznym ucha zewnętrznego lub środkowego dźwięk słyszymy uchem chorym dlatego, że energia fali dźwiękowej nie ulega rozproszeniu poprzez ucho środkowe czy zewnętrzne i silniej pobudza narząd spiralny. Silniejsze pobudzenie jednego z narządów spiralnych wywołuje wrażenie, że dźwięk słyszymy jedynie uchem chorym.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Rola błony bębenkowej i kostek słuchowych.

Przewodnictwo powietrzne i kostne fal dźwiękowych.

Zadanie

1. Określić czas przewodnictwa powietrznego i kostnego dla obu uszu - próba Rinneho.
2. Określić czas przewodnictwa kostnego dla obu uszu - próba Webera.

Potrzebne do wykonania

widelki stroikowe, stoper lub zegarek z sekundnikiem.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

ad 1. Podstawę drgających widełek stroikowych przystawiamy do wyrostka sutkowatego kości skroniowej i określamy czas słyszenia dźwięku. W chwili, gdy badany przestaje słyszeć ton stroika, zbliżamy drgające jeszcze ramiona stroika do zewnętrznego przewodu słuchowego tego samego ucha i określamy czas słyszenia. Następnie, w taki sam sposób, badamy drugie ucho. Próbę Rinneho oznaczamy ułamkiem, pisząc w liczniku czas trwania przewodnictwa powietrznego, a w mianowniku - kostnego.

ad 2. Podstawę drgających widełek stroikowych stawiamy na ciemieniu osoby badanej i mierzymy czas słyszenia dźwięku dla obu uszu jednocześnie. Następnie zwilżonym palcem lub tamponem waty zamykamy zewnętrzny przewód słuchowy jednego ucha i ponownie mierzymy

czas słyszenia dźwięku. Taki sam pomiar wykonujemy po zamknięciu przewodu słuchowego drugiego ucha. W każdym przypadku zwracamy uwagę na to, czy dźwięk słyszymy jednakowo w obu uszach.

Temat 33

OSTROŚĆ SŁUCHU I ZJAWISKO ADAPTACJI SŁUCHOWEJ

Wrażliwość na bodźce dźwiękowe jest różna u poszczególnych ludzi i zależy od wielu czynników. Aczkolwiek receptory narządu spiralnego nie należą do szybko adaptujących się, pewne objawy tego zjawiska, jak na przykład chwilowa utrata zdolności słyszenia, mogą wystąpić w przypadku dłuższej stymulacji jednostajnym dźwiękiem.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa i funkcja narządu spiralnego.

Zjawisko adaptacji receptorów.

Zadanie

1. Zbadać ostrość słuchu człowieka.
2. Zbadać adaptację narządu słuchu u człowieka.

Potrzebne do wykonania

stoper lub dość głośno tykający zegarek, linijka, centymetr krawiecki, widełki stroikowe.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą przy wykonywaniu zad. 1, a zad. 2 każdy student wykonuje sam.

ad 1. Osobie badanej zasłaniamy oczy i polecamy zamknąć palcem lub tamponem waty jeden z zewnętrznych przewodów słuchowych. Badający trzyma włączony stoper lub głośno tykający zegarek na lini drugiego ucha, powoli oddala się i ustala odległość, przy której dźwięk stopera jest jeszcze słyszany przez osobę badaną. Następnie badający nieco oddala się, po czym powoli zbliża się do osoby badanej ustalając odległość, przy której badany zaczyna słyszeć tykanie zegarka. W przypadku prawidłowego słuchu obie odległości powinny być, w przybliżeniu, jednakowe. W ten sam sposób badamy drugie ucho.

ad 2. Drgające widełki stroikowe trzymamy przed małżowiną prawego ucha. W chwili gdy przestajemy słyszeć dźwięk oddalamy stroik i po kilku sekundach przybliżamy go ponownie do tego samego ucha. Ponownie wzbudzamy widełki stroikowe i powtarzamy doświadczenie z tym, że w chwili gdy przestajemy słyszeć dźwięk, widełki przybliżamy do małżowiny lewego ucha. Następnie w taki sam sposób badamy drugie ucho.

Temat 34

LOKALIZACJA ŹRÓDŁA DŹWIĘKU

Z codziennego doświadczenia wiemy, że człowiek potrafi dość dokładnie określać kierunek, z którego dochodzi dźwięk.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Zjawisko lokalizacji źródła dźwięku.

Przetwarzanie informacji słuchowych.

Zadanie

Zbadać zdolność lokalizacji źródła dźwięku u człowieka.

Potrzebne do wykonania

stoper lub dość głośno tykający zegarek.

Wykonanie

Uwaga! Każdy student jest kolejno osobą badaną i badającą.

Osobie badanej zasłaniamy oczy. Włączony stoper lub głośno tykający zegarek trzymamy w pewnej odległości od głowy badanego i zmieniamy jego położenie (z przodu, z tyłu, po obu stronach głowy). Polecamy badanemu opisać kierunek, z którego dochodzi dźwięk. Opisuje on go tak, jakby był środkiem tarczy zegara, mówi np., że włączony stoper znajduje się na godzinie 3, 7 itp. Możemy również zmieniać położenie stopera „w pionie” i wtedy osoba badana winna określić czy dźwięk dochodzi z góry, czy z dołu. Następnie badany zamyka palcem lub tamponem waty jeden z zewnętrznych przewodów słuchowych i doświadczenie powtarzamy.

Temat 35

AUTOMATYZM SERCA. PRZEWIĄZKI STANNIUSA

Wyizolowane z organizmu serce żaby czy ssaka kurczy się rytmicznie przez długi czas, o ile jest utrzymywane w odpowiednich warunkach (np. serce żaby zwilżane płynem fizjologicznym, a ssaka - przy zachowanym przepływie płynów odżywczych w naczyniach wieńcowych). Zdolność kurczenia się serca, bez dopływu jakichkolwiek bodźców spoza tego narządu, związana jest z obecnością tkanki bodźcoprzewodzącej, której komórki generują potencjały czynnościowe i/lub przewodzą je do poszczególnych części mięśnia sercowego w sposób ściśle uporządkowany zarówno w czasie jak i przestrzeni. Zakładając przewiązki Stanniusa możemy przekonać się w jakich strukturach serca znajdują się skupienia tkanki bodźcoprzewodzącej i jaką pełnią rolę.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Automatyzm serca.

Cechy charakterystyczne tkanki bodźcoprzewodzącej.

Potencjał rozrusznika, powolna spoczynkowa depolaryzacja.

Zadanie

Zbadać wpływ założenia przewiązek Stanniusa na serce żaby.

Potrzebne do wykonania

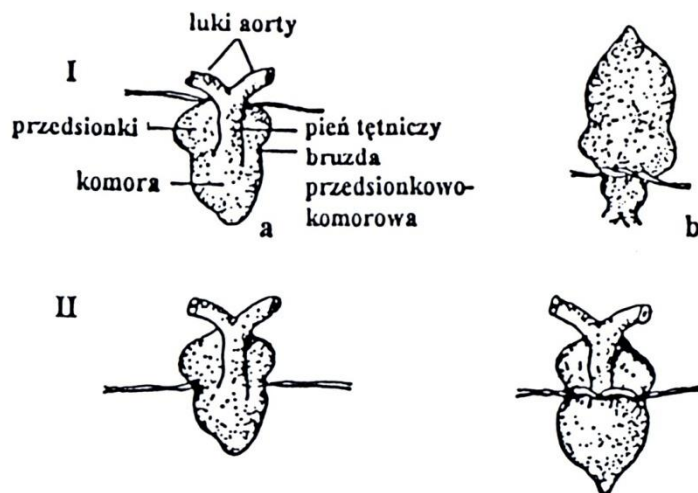
żaba, zestaw do preparowania (patrz temat 6), pałeczki szklane, półokrągłe igły chirurgiczne, nici, płyn fizjologiczny, zakraplacze, zlewki.

Wykonanie

Żabę dekapitujemy i po zniszczeniu rdzenia kręgowego kładziemy na podstawce brzuchem do góry. Przecinamy skórę pośrodku powłok brzusznych, do powstałego otworu wkładamy tępe ramię nożyczek i kierując je do prawego i lewego kąta żuchwy wycinamy trójkąt skóry, który usuwamy. Myjemy ręce i narzędzia, które stykały się ze skórą żaby ze względu na to, że zawiera ona substancje szkodliwe dla serca i innych tkanek. Następnie pęsetą unosimy koniec mostka, nacinamy napięte powłoki brzuszne i wprowadzając tępe ramię nożyczek do powstałego otworu kierujemy je znów do kątów żuchwy i przecinamy ścianę klatki piersiowej oraz obojczyki. Wykrojony trójkąt odcinamy wzdłuż podstawy i obserwujemy serce zamknięte w worku osierdziowym. Błonekę osierdzia chwytamy pęsetą, przecinamy ją i za pomocą szklanych pałeczek wytaczamy serce z worka osierdziowego. Unosząc pałeczką koniuszek serca dostrzegamy cienką błonkę, zwaną więzadełkiem, która łączy tylną ścianę komory z osierdziem. Możemy ją przewiązać lub odciąć.

Uwaga! Należy unikać dotykania serca metalowymi przedmiotami.

Następnie zakładamy I przewiązkę Stanniusa (ryc. 9). Przy pomocy półokrągłej igły chirurgicznej przeciągamy nitkę między pniem tętniczym a przedsionkami, odwracamy serce tak, aby widzieć jego tylną ścianę i zakładamy węzeł, który silnie zawiązujemy w chwili, gdy przekonamy się, że nitka opasuje serce dokładnie na granicy zatoki żyłnej i prawego przedsionka.



Ryc. 9. Pierwsza (I) i druga (II) przewiązka Stanniusa, a) widok serca od przodu, b) widok serca od tyłu.

Obserwujemy serce przez około 5 min. W tym czasie zwilżamy je płynem fizjologicznym i od czasu do czasu drażnimy pałeczką szklaną ścianę komory czy też koniuszek serca. Następnie pod serce podkładamy nitkę tak, aby opasywała serce dokładnie na granicy komory i przedsionków (bruzda przedsionkowo-komorowa) i powoli zaciskamy węzeł na przedniej ścianie serca. Jest to II przewiązka Stanniusa.

Temat 36

REJESTRACJA SKURCZÓW SERCA ŻABY PRZED I PO ZASTOSOWANIU ŚRODKÓW WEGETOTROPOWYCH

Wiadomo, że serce kurczy się nawet po wyizolowaniu z organizmu (automatyzm serca). Niemniej jednak rytm pracy i siła skurczów mięśnia sercowego w żywym ustroju są modulowane przez układ nerwowy wegetatywny, dzięki któremu praca tego narządu jest dostosowana do aktualnych potrzeb organizmu (np. wzrost szybkości skurczów podczas wysiłku czy też zmniejszenie ich częstotliwości podczas snu).

Skutki działania części współczulnej i przywspółczulnej układu wegetatywnego można obserwować na izolowanym sercu stosując środki wegetotropowe takie jak acetylocholina, adrenalina i atropina.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa i rola układu wegetatywnego.

Zadanie

Zarejestrować skurcze serca żaby w normie (po jego odsłonięciu) i po zastosowaniu środków wegetotropowych.

Potrzebne do wykonania

jak w temacie 35, serfinka, zestaw do rejestracji skurczów mięśni, roztwór acetylocholiny, adrenaliny i atropiny.

Wykonanie

Żabę z odsłoniętym sercem (patrz temat 35) umieszczamy w plastikowej waniencie wchodzącej w skład zestawu do rejestracji skurczów mięśni. Metalową klamerką (serfinką) chwytamy koniuszek serca i przy jej pomocy łączymy serce z ruchomym ramieniem dźwigni czujnika izotonicznego. Uruchamiamy zestaw zgodnie z dołączonym do niego opisem, ustalamy szybkość przesuwu papieru na $10 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ i rejestrujemy skurcze odsłoniętego serca żaby. Następnie na serce наносimy kroplami roztwór adrenaliny i rejestrujemy pracę serca. Potem przepłukujemy preparat płynem fizjologicznym i po powrocie akcji serca do poziomu wyjściowego наносimy na serce roztwór acetylocholiny i ponownie dokonujemy rejestracji, po

czym znów spłukujemy preparat płynem fizjologicznym i działamy na serce atropiną. Po wykonaniu zapisu nanosimy na serce roztwór acetylocholiny i rejestrujemy pracę serca pozostającego pod wpływem obu tych środków.

Temat 37

WPLYW TEMPERATURY ORAZ JONÓW WAPNIA I POTASU NA SZYBKOŚĆ PRACY SERCA ŻABY

Wiadomo, że temperatura jest jednym z najbardziej istotnych czynników wpływających na procesy życiowe przebiegające w organizmie, a zmiany stężenia jonów potasu i wapnia mają ogromny wpływ na takie zjawiska jak potencjał spoczynkowy i czynnościowy.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Mechanizm jonowy potencjału czynnościowego mięśnia komór.

Wpływ jonów wapnia na kurczliwość mięśnia sercowego.

Zadanie

Z badać wpływ niskiej i podwyższonej temperatury oraz zwiększonego stężenia jonów wapnia i potasu na częstotliwość skurczów serca żaby.

Potrzebne do wykonania

jak w temacie 35 i 36, płyn fizjologiczny o temperaturze 4 i 38°C, 1% roztwór KCl w płynie fizjologicznym, 1% roztwór CaCl₂ w płynie fizjologicznym.

Wykonanie

Postępujemy jak w temacie 36 z tym, że zamiast środków wegetotropowych nanosimy na serce płyn fizjologiczny o temperaturze 4°C, i rejestrujemy pracę serca. Potem przepłukujemy preparat płynem fizjologicznym o temperaturze pokojowej i po powrocie akcji serca do poziomu wyjściowego nanosimy na serce płyn o temperaturze 38°C i ponownie rejestrujemy jego pracę. Następnie znów spłukujemy preparat płynem fizjologicznym o temperaturze pokojowej i nanosimy na serce kilka kropel 1% roztworu CaCl₂. Po wykonaniu zapisu, preparat spłukujemy płynem fizjologicznym o temperaturze pokojowej, nanosimy na serce 1% roztwór KCl i rejestrujemy pracę serca.

Temat 38

CZYNNOŚĆ BIOELEKTRYCZNA SERCA CZŁOWIEKA (EKG)

Wiadomo, że zjawiska bioelektryczne, których źródłem jest mózg oraz kurczące się mięśnie (patrz temat 12) i serce, można rejestrować z powierzchni skóry. Tę metodę badania czynności

mózgu nazywamy elektroencefalografią (EEG), mięśni - elektromiografią (EMG), a serca - elektrokardiografią (EKG).

W EKG stosuje się zarówno odprowadzenia jednobiegunowe jak i dwubiegunowe. W odprowadzeniach dwubiegunowych kończynowych obie elektrody czynne są oddalone od siebie i od źródła pola elektrycznego i umieszczone są następująco: w I odprowadzeniu (poprzednim) - na prawym i lewym przedramieniu, w II (skośnym) - na prawym przedramieniu i lewym podudziu i w III (podłużnym) - na lewym przedramieniu i lewym podudziu. Umownie przyjęto oznaczać elektrody różnymi kolorami: czarnym jest oznaczona elektroda zerowa (umieszczana na prawym podudziu), a elektrody czynne mają kolory: żółty, czerwony, zielony i biały.

Na krzywej elektrograficznej wyróżnia się załamki (odchylenia od linii izoelektrycznej w górę lub w dół), odcinki (czas pomiędzy załamkami) i odstępy (łączny czas trwania załamek i odcinków). Ich amplituda i czas trwania są m. in. brane pod uwagę przy analizie krzywej EKG.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Mechanizm jonowy potencjału czynnościowego mięśnia komór.

Rozprzestrzenianie depolaryzacji w sercu.

Zadanie

Zapisać czynność bioelektryczną serca człowieka w spoczynku i po wysiłku fizycznym oraz zanalizować uzyskany elektrokardiogram.

Potrzebne do wykonania

elektrody kontaktowe, roztwór fizjologiczny, gaza lub wata, rejestrator.

Wykonanie

Osoba badana siada i stara się rozluźnić mięśnie, co jest konieczne z uwagi na to, że ich czynność bioelektryczna może być źródłem zakłóceń w elektrokardiogramie. Elektrody kontaktowe umieszczamy na przedramionach, powyżej wyrostków rylcowatych oraz na podudziu - po zewnętrznej stronie kończyny, powyżej kostki. Powierzchnię skóry odtłuszczamy alkoholem, nakładamy gazę lub watę nasączoną płynem fizjologicznym i umieszczamy na niej elektrody, które łączymy z rejestratorem. Elektrode zerową (czarną) umieszczamy na prawym podudziu i nie zmieniamy jej położenia. Do zapisu EKG w I odprowadzeniu kończynowym umieszczamy jedną elektrodę czynną (czerwoną) na prawym, a drugą (zieloną) na lewym przedramieniu. Rejestrator włączamy do sieci, kalibrujemy go zgodnie z dołączonym do niego opisem tak, aby 1 mV odpowiadało wychylenie pisaka równe 1 cm i wciskamy przycisk, którym ustala się szybkość przesuwu papieru na 25 mm s^{-1} . Po wykonaniu zapisu przenosimy elektrodę „zieloną” na lewe podudzie (II odprowadzenie), a potem „czerwoną” umieszczamy na lewym przedramieniu (III odprowadzenie), w obu przypadkach rejestrując czynność bioelektryczną serca.

Po uzyskaniu zapisów EKG w trzech odprowadzeniach kończynowych osoba badana wykonuje około 30 przysiadów, po czym ponownie rejestrujemy pracę serca, ale tym razem tylko w II odprowadzeniu kończynowym.

Temat 39

TĘTNO CZŁOWIEKA

Tętnem lub pulsem nazywamy odkształcenie elastycznych ścian tętnic na skutek rytmicznej czynności serca. W miejscach, w których tętnice biegną tuż pod skórą na podłożu twardym, za pomocą dotyku można wyczuć odkształcenie naczyń. Tętno bada się metodą palpacyjną, czyli dotykiem, najczęściej na tętnicy promieniowej lub rejestruje przy pomocy sfigmografów.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Fala tętna, jej przyczyny i prędkość rozchodzenia.

Elastyczność naczyń a prędkość rozchodzenia fali tętna.

Zadanie

1. Określić częstotliwość i miarowość tętna metodą palpacyjną.
2. Zapisać falę tętna u człowieka w spoczynku i po wysiłku fizycznym.

Potrzebne do wykonania

stoper lub zegarek z serkundnikiem, przetwornik fotoelektryczny, rejestrator.

Wykonanie

ad 1. Tętno badamy metodą palpacyjną przykładając dwa palce (wskazujący i środkowy) do powierzchni skóry w okolicy nadgarstka osoby badanej, wzdłuż przebiegu tętnicy promieniowej, która leży między skórą a kością promieniową. Częstotliwość tętna ustala się licząc ilość wyczuwanych odkształceń tętnicy w ciągu jednej minuty (jeśli to konieczne liczymy w ciągu 30 sekund i wynik mnożymy przez 2), a o jego miarowości świadczą równe odstępy czasu między poszczególnymi falami tętna. Badanie wykonujemy: a) w pozycji siedzącej, b) w pozycji siedzącej po uprzednim wykonaniu około 40 przysiadów, c) w pozycji siedzącej po zatrzymaniu oddechu (szybkość tętna mierzymy przez 30 s, rozpoczynając pomiar 15 s od chwili zatrzymania oddechu) i d) w pozycji stojącej.

ad 2. Na opuszkę palca nakładamy przetwornik fotoelektryczny połączony z rejestratorem. Rejestrator włączamy (patrz instrukcja obsługi dołączona do aparatu), wciskamy przycisk III (P.R) a następnie przycisk 25, którym włącza się przesuw papieru (25 mm s^{-1}). Promienie świetlne, przechodząc przez opuszkę, oświetlają naczynia krwionośne palca. Zmiany przekroju naczyń krwionośnych związane z wyrzutem krwi z serca, a będące falą tętna, odbierane są przez czujnik fotoelektryczny i przetwarzane w impulsy elektryczne, które powodują wychylenia pisaka w układzie pomiarowo-rejestrującym.

Temat 40

CIŚNIENIE KRWI CZŁOWIEKA

W warunkach prawidłowych przepływ krwi przez tętnicę jest ciągły i bezgłówny. W przypadku, kiedy przepływ ten nie jest ciągły, tzn. krew płynie z przerwami, wówczas każda jej porcja uderzając o ściany tętnicy wywołuje szmer, podobny do pukania, słyszalny przez fonendoskop (słuchawka lekarska). Zjawisko to jest podstawą pomiaru skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi w tętnicach.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Czynniki określające wartość ciśnienia tętniczego krwi.

Wpływ siły grawitacji na ciśnienie tętnicze krwi.

Zadanie

Zmierzyć ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi człowieka w pozycji siedzącej i stojącej.

Potrzebne do wykonania

sfigmomanometr, fonendoskop (słuchawka lekarska)

Wykonanie

Do pomiaru ciśnienia tętniczego służy sfigmomanometr, który składa się z gumowo - płóciennego mankietu połączonego wężykami gumowymi z pompką i manometrem. Przepływ krwi w tętnicy osłuchujemy przez fonendoskop umieszczony nad tętnicą ramieniową, w zgięciu łokciowym. (**Uwaga!** W nowych typach sfigmomanometrów fonendoskop umieszczony jest wewnątrz mankietu i przy jego zakładaniu na ramię musimy zwrócić uwagę na to, aby fonendoskop znajdował się nad tętnicą). Mankiet szybko napełniamy powietrzem tak, aby ciśnienie osiągnęło w nim wartość nieco wyższą od spodziewanego ciśnienia skurczowego w badanej tętnicy, np. 160 - 180 mmHg. Światło tętnicy zostaje wtedy zaciśnięte i w fonendoskopie nie słyszymy żadnych tonów. Następnie, obracając śrubę wentyla, powoli zmniejszamy ciśnienie w mankiecie. W momencie, gdy ciśnienie maksymalne w tętnicy, czyli skurczowe, nieco przewyższy ciśnienie panujące w mankiecie, strumień krwi przepływa przez tętnicę przy każdym skurczu serca i synchronicznie z nim słyszymy szmer (ton) w fonendoskopie. Ciśnienie, jakie panuje w mankiecie w chwili, gdy szmer słyszymy po raz pierwszy, określa się jako ciśnienie skurczowe.

Dalsze obniżanie ciśnienia w mankiecie powoduje, że szmer staje się początkowo głośniejszy, potem staje się stłumiony i w końcu zanika. Ciśnienie, jakie panuje w mankiecie w chwili, gdy szmer zanika, określa się jako ciśnienie rozkurczowe, czyli minimalne, przy którym przepływ krwi przez tętnicę jest ciągły i bezgłówny.

Pomiar ciśnienia krwi powtarzamy trzykrotnie w pozycji siedzącej i stojącej.

Temat **41****WPLYW WYSIŁKU FIZYCZNEGO NA PRACĘ UKŁADU KRĄŻENIA**

Wysiłkowi fizycznemu towarzyszą zmiany w układzie krążenia, takie jak przyspieszenie tętna i wzrost ciśnienia tętniczego krwi. Zmiany te zachodzą bezpośrednio po rozpoczęciu pracy fizycznej, szybko osiągają wartości maksymalne, a do wartości wyjściowych wracają po pewnym czasie od zakończenia wysiłku. O sprawności układu krążenia świadczą wartości maksymalne i czas powrotu tętna i ciśnienia krwi do wartości wyjściowych.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Znaczenie towarzyszących wysiłkowi zmian czynności układu krążenia.

Zadanie

1. Określić sprawność fizyczną w oparciu o reakcję tętna na pracę mięśniową (jednoczasowa dynamiczna próba harwardzka).
2. Ocenić wywołane wysiłkiem zmiany w układzie krążenia na podstawie reakcji tętna i ciśnienia krwi oraz czasu powrotu tych parametrów do wartości wyjściowych (jednoczasowa dynamiczna próba Martinetta).

Potrzebne do wykonania

sfigmomanometr, fonendoskop, metronom, stoper lub zegarek z sekundnikiem, stołek, kozetka lekarska (łóżko).

Wykonanie

ad 1. Osobie badanej mierzymy tętno, a następnie wykonuje ona pracę polegającą na wchodzeniu na stołek o wysokości 45 cm, w rytmie 30 na min. Mierzimy czas trwania pracy (badany pracuje najdłużej jak może, lecz czas ten nie powinien przekroczyć 5 min). Po wysiłku ponownie ustalamy częstotliwość tętna licząc je zawsze przez 30 s w czasie pomiędzy 1 do 1,5, 2 do 2,5 oraz 4 do 4,5 min od chwili przerywania wchodzenia na stołek. Z otrzymanych wyników obliczamy tzw. wskaźnik sprawności według wzoru:

$$\text{wskaźnik sprawności} = \frac{\text{czas trwania ćwiczenia w s} \times 100}{2 \times \text{suma trzech pomiarów tętna}}$$

Wskaźnik ten u mężczyzn o przeciętnej kondycji fizycznej waha się od 65 do 71, w dobrej od 80 do 89, a w doskonałej kształtuje się powyżej 90.

ad 2. Osobie badanej, leżącej co najmniej 5 min na kozetce (łóżku), mierzymy częstotliwość tętna oraz ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi. Następnie osoba badana wstaje i wykonuje 20 przysiadów lub 15 razy wchodzi na stołek w ciągu 30 s, po czym ponownie zajmuje pozycję leżącą. Natychmiast po wysiłku mierzymy tętno i ciśnienie krwi. Badanie to powtarzamy co 1 min od zakończenia pracy, tak długo, aż częstotliwość tętna i ciśnienie krwi wrócą do wartości wyjściowych.

O prawidłowej funkcji układu krążenia świadczą następujące wyniki próby Martinetta: częstotliwość tętna wzrasta o 10 do 20 na min, ciśnienie skurczowe wzrasta o 10 do 30 mm Hg,

ciśnienie rozkurczowe pozostaje bez zmian lub nieznacznie się obniża, a wszystkie te zmiany nie utrzymują się dłużej niż trzy minuty.

Temat 42

WPLYW HORMONÓW I ŚWIATŁA NA ZABARWIENIE SKÓRY ŻABY

W skórze ryb, płazów i gadów występują komórki barwnikowe (melanofory) zawierające ziarenka melaniny. Melanofory są zwykle silnie rozgałęzione, a ziarenka pigmentu albo skupiają się w pobliżu jądra, dzięki czemu zabarwienie skóry staje się jaśniejsze, albo przemieszczają się do wypustek i pokrywając pigmentem duży obszar komórki powodują, że skóra zwierzęcia staje się ciemniejsza.

Zmiana zabarwienia skóry zachodzi na drodze odruchowej. Początkiem łuku odruchowego są fotoreceptory, a część eferentną stanowi układ hormonalny lub układ nerwowy wegetatywny. Regulacja hormonalna (hormon części pośredniej przysadki mózgowej) występuje u płazów, obydwa rodzaje regulacji występują u gadów, a u kameleona szybka i radykalna zmiana zabarwienia zależy od aktywności układu wegetatywnego (część współczulna - skupienie, część przywspółczulna - rozproszenie ziarenek barwnika).

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Hormony przysadki mózgowej i ich rola.

Regulacja wydzielania hormonów przysadki mózgowej - rola podwzgórza.

Zadanie

Zbadać wpływ adrenaliny, wyciągu z tylnego płata przysadki mózgowej ssaków i światła na zabarwienie skóry żaby.

Potrzebne do wykonania

żaby, adrenalina, wyciąg z tylnego płata przysadki mózgowej ssaków, pęsety, igły i strzykawki, cztery wysokie zlewki o pojemności 1000 ml.

Wykonanie

Wybieramy cztery żaby o podobnym zabarwieniu skóry. Jedną z nich wkładamy ponownie do zaciemnionego pojemnika dla żab (żaba kontrolna), a pozostałe (każdą oddzielnie) - do wysokich zlewek umieszczonych na jednolitym tle w oświetlonym pomieszczeniu. Następnie do worków limfatycznych jednej z trzech żab podajemy 0,5 ml wyciągu z tylnego płata przysadki mózgowej ssaków, drugiej podajemy 0,5 ml 0,1% roztworu adrenaliny, a trzeciej nie podajemy żadnego środka (badamy wpływ światła). Następnie porównujemy badane żaby z kontrolną i notujemy czas, w którym wystąpi zmiana zabarwienia skóry.

Temat 43

ZMIANY STĘŻENIA GLUKOZY WE KRWI KRÓLIKA WYWOŁANE PODANIEM INSULINY I ADRENALINY

Stężenie glukozy we krwi utrzymywane jest na stałym poziomie dzięki wewnątrzwydzielniczej funkcji trzustki. Główną rolę w regulacji metabolizmu węglowodanów odgrywa dwuhormonalny układ: insulina - glukagon. Insulina jest jedynym hormonem obniżającym poziom glukozy we krwi, natomiast działanie hiperglikemiczne, oprócz glukagonu, mają również inne hormony.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Hormony trzustki i ich rola.

Transport glukozy z krwi do tkanek.

Rola wątroby w utrzymaniu względnie stałego poziomu glukozy we krwi.

Zadanie

Zbadać wpływ insuliny i adrenaliny na stężenie glukozy we krwi królika.

Potrzebne do wykonania

pipety o pojemności 0,1, 0,2, 2 i 5 ml, probówki, statywy do probówek, kolba miarowa o pojemności 100 ml, zlewki, stoper, 3% roztwór kwasu trójchlorooctowego, odczynnik o-toluidynowy (0,75 g tiomocznika + 470 ml kwasu octowego lodowatego + 30 ml o-toluidyny), standardowy roztwór glukozy, woda destylowana, łaźnia wodna, waga do równoważenia probówek, dwa króliki, insulina, adrenalina, 0,9% roztwór NaCl, strzykawki o pojemności 1 i 10 ml, igły strzykawkowe, wata, alkohol 70%, nożyczki, żyłtka lub skalpel, kolorymetr.

Wykonanie

Stężenie glukozy we krwi oznaczamy metodą o-toluidynową. Wiadomo, że monosacharydy dają reakcję barwną z o-toluidyną rozpuszczoną w kwasie octowym lodowatym.

0,1 ml krwi (pobieranie krwi opisano niżej) dodajemy do 1 ml 3% kwasu trójchlorooctowego, całość mieszamy i po kilku minutach wirujemy. 0,2 ml płynu nad osadu (supernatant) przenosimy do czystej probówki i dodajemy 1,8 ml odczynnika o-toluidynowego, zawartość mieszamy i wstawiamy do łaźni z wrzącą wodą. Po 8 min próbę wyjmujemy i schładzamy wodą bieżącą.

Próba standardowa. Roztwór glukozy o znanym stężeniu traktujemy tak jak próbę krwi, tzn. 0,1 ml tego roztworu dodajemy do 1 ml 3% kwasu trójchlorooctowego i mieszamy. Następnie 0,2 ml tej mieszaniny przenosimy do czystej probówki, dodajemy 1,8 ml odczynnika o-toluidynowego i gotujemy.

Natężenie powstającego niebieskozielonego zabarwienia mierzymy kolorymetrycznie przy długości fali 630 nm wobec próby ślepej (woda destylowana). Stężenie glukozy ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) obliczamy ze wzoru:

$$\text{stężenie glukozy} = \frac{\text{ekstynkcja} * \text{próby badanej}}{\text{ekstynkcja próby standardowej}} \times \text{stężenie standardu} (5,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1})$$

ekstynkcja* = absorbancja = gęstość optyczna.

Uwaga! Zadanie wykonują dwie grupy studentów. Grupa I bada wpływ insuliny, a grupa II bada wpływ adrenaliny na stężenie glukozy we krwi królika.

Grupa I

Przygotowujemy 8 probówek (o podobnej grubości ścianek), numerujemy je od 1 do 8 i do każdej z nich dodajemy 0,2 ml supernatantu (patrz niżej). Przygotowujemy również próbę standardową. We wszystkich próbach oznaczamy stężenie glukozy metodą o-toluidynową.

Grupa II

Przygotowujemy 8 probówek (o podobnej grubości ścianek), numerujemy je od 11 do 18 i do każdej z nich dodajemy 0,2 ml supernatantu (patrz niżej). Przygotowujemy również próbę standardową. We wszystkich próbach oznaczamy stężenie glukozy metodą o-toluidynową.

Opisaną poniżej część doświadczenia wykonuje asystent techniczny, a studenci otrzymują supernatanty, w których oznaczają stężenie glukozy.

Krew (0,1 ml) pobierano z żyły brzeżnej ucha królika, którą przecinano skalpelem lub żyłką, po uprzednim usunięciu sierści i dezynfekcji ucha alkoholem, a następnie przenoszono do probówki zawierającej 1 ml 3% kwasu trójchlorooctowego (denaturacja białek krwi). Czynność tę wykonuje się możliwie szybko, aby nie doszło do skrzepnięcia krwi w pipecie. Ponadto, zwraca się uwagę na to, aby słupek krwi był ciągły; jeżeli zawiera pęcherzyki powietrza to krew trzeba usunąć, pipetę dokładnie wypłukać wodą destylowaną i pobieranie powtórzyć. Po dodaniu krwi do kwasu całość mieszano i po zrównoważeniu probówek wirowano przez 10 min z szybkością około 3000 obrotów na minutę. Po odwirowaniu przelano płyn z nad osadu (supernatant) do odpowiednio ponumerowanych, czystych fiolek.

Po pobraniu pierwszej próby krwi jednemu królikowi podano $10 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ insuliny (IU = jednostka międzynarodowa), a drugiemu - $5 \mu\text{g}$ adrenaliny do żyły brzeżnej drugiego ucha. Takie stężenie adrenaliny uzyskuje się rozcieńczając roztwór zawierający $1000 \mu\text{g}$ tego hormonu. 1 ml takiego roztworu (zawartość jednej ampułki) przelewano do kolby, dopełniano do 100 ml wodą destylowaną i dokładnie mieszano. Pobierano 1 ml tego roztworu, dodawano 9 ml 0,9% NaCl do iniekcji i całość mieszano. Następnie do strzykawki pobierano 5 ml tego ostatniego roztworu oraz 5 ml 0,9% NaCl do iniekcji i całość (10 ml) podawano królikowi w czasie nie krótszym niż dwie minuty. Wiadomo, że adrenalina silnie działa na serce i szybsze jej podanie mogłoby doprowadzić do migotania komór i śmierci zwierzęcia. Próby krwi pobierano w następujących okresach czasu:

przed podaniem insuliny lub adrenaliny - w celu ustalenia wyjściowego poziomu glukozy, bezpośrednio po podaniu oraz po 5, 10, 15, 20, 30 i 40 min po iniekcji badanych środków.

Temat 44**POJEMNOŚĆ PŁUC CZŁOWIEKA**

Na całkowitą pojemność płuc (TLC) składa się pojemność życiowa (VC), tzn. ilość powietrza mieszcząca się w płucach między najgłębszym wdechem i najgłębszym wydechem oraz tzw. objętość zalegająca (RV), czyli ilość powietrza pozostająca w płucach po najgłębszym wydechu. Pojemność życiowa płuc składa się z kolei z objętości oddechowej (TV), czyli objętości powietrza wciąganej do płuc przy spokojnym wdechu i usuwanej przy spokojnym wydechu, objętości zapasowej wdechowej (IRV), tzn. dodatkowej objętości powietrza wciąganej do płuc przy maksymalnym wdechu i objętości zapasowej wydechowej (ERV), czyli dodatkowej objętości powietrza usuwanej z płuc przy maksymalnym wydechu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa układu oddechowego człowieka.

Zadanie

Określić: a) pojemność życiową, b) zapasową objętość wydechową, c) zapasową objętość wdechową i d) objętość oddechową płuc człowieka

Potrzebne do wykonania

spirometr.

Wykonanie

Uwaga! Wszystkie pomiary wykonujemy trzykrotnie.

ad a. Osoba badana wykonuje najgłębszy wdech, a następnie zaciska nozdrza i poprzez ustnik wydycha znajdujące się w płucach powietrze do spirometru, odczytując z jego skali wielkość pojemności życiowej płuc (VC).

ad b. Osoba badana zatrzymuje oddech na szczycie spokojnego wydechu, a następnie wykonuje najgłębszy wydech do spirometru, oznaczając objętość powietrza stanowiącą zapasową objętość wydechową (ERV).

ad c. Osoba badana zatrzymuje oddech na szczycie spokojnego wdechu i wykonuje do spirometru najgłębszy wydech, ustalając w ten sposób sumę objętości oddechowej i zapasowej wydechowej powietrza. Objętość zapasową wdechową (IRV) oblicza się odejmując uzyskaną sumę od oznaczonej wcześniej pojemności życiowej płuc.

ad d. Objętość oddechową należy obliczyć odejmując od sumy objętości oddechowej i zapasowej objętości wydechowej (pomiar c) oznaczoną uprzednio (pomiar b) zapasową objętość wydechową.

Temat 45

RYTM ODDECHOWY CZŁOWIEKA

Ruchy oddechowe charakteryzuje cykliczność; po fazie wdechu następuje dłuższa od niej faza wydechu. Kolejne wdechy i wydechy są zapewnione przez okresowe hamowanie tonicznej aktywności neuronów wdechowych wywołane impulsacją z wolno adaptujących mechanoreceptorów płuc i ośrodka pneumatycznego. Ośrodek oddechowy charakteryzuje się dużą wrażliwością na wzrost prężności CO_2 w osoczu i podwyższenie kwasowości płynu mózgowo-rdzeniowego, natomiast obniżenie prężności O_2 we krwi ma niewielki wpływ na jego funkcjonowanie. Aktywność neuronów ośrodka oddechowego kontrolowana jest także przez impulsację biegnącą z wyższych pięter układu nerwowego - z kory mózgowej, układu limbicznego i ośrodka termoregulacji w podwzgórzu.

Ważnym wskaźnikiem czynnościowej sprawności płuc jest tzw. minutowa objętość oddechowa, czyli ilość powietrza wdychanego i wydychanego z płuc podczas jednej minuty (iloczyn liczby oddechów wykonanych w czasie 1 minuty i objętości oddechowej -TV, patrz temat 44).

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa i działanie ośrodka oddechowego.

Mechanizm wdechu i wydechu.

Zadanie

1. Zapisać rytm oddechowy człowieka w spoczynku, podczas i po maksymalnej wentylacji dowolnej i wysiłku fizycznym oraz podczas głośnego czytania.
2. Określić maksymalny czas bezdechu po maksymalnym wdechu i wydechu oraz po maksymalnej wentylacji dowolnej.

Potrzebne do wykonania:

przetwornik mechano-elektryczny, rejestrator TZ 4620, stoper, linijka.

Wykonanie

ad 1. Osobie badanej zakładamy przetwornik mechano-elektryczny na klatkę piersiową w ten sposób, aby zaczep sprężyny przetwornika znalazł się na wysokości czerwonej linii, po czym włączamy wzmacniacz przetwornika (zapala się lampka kontrolna). Następnie łączymy wzmacniacz z kanałem B rejestratora, który uruchamiamy zgodnie z dołączonym do niego opisem i ustalamy prędkość przesuwu papieru na 6 cm min^{-1} .

Na początku doświadczenia osoba badana określa pojemność życiową płuc (patrz temat 44), której odpowiada maksymalna amplituda wychyleń pisaka, po czym przez 60 s rejestrujemy rytm podczas spokojnego oddychania. Następnie rejestrujemy rytm oddechowy podczas maksymalnej wentylacji dowolnej (badany wykonuje kilkanaście maksymalnie szybkich i głębokich oddechów), wykonywania 30 przysiadów oraz głośnego czytania, a także w czasie 60-sekundowych przerw między nimi.

Zapisy uzyskane podczas spokojnego oddychania, po wentylacji dowolnej i wysiłku fizycznym opracowujemy w sposób następujący: liczymy liczbę oddechów wykonanych w ciągu minuty, mierzymy amplitudę poszczególnych oddechów i obliczamy ich średnią arytmetyczną, a następnie obliczamy średnią objętość oddechową (ilość powietrza wdychanego i wydychanego w jednym cyklu oddechowym) korzystając z zależności między wielkością pojemności życiowej i amplitudą wychyleń pisaka. Znając liczbę oddechów wykonanych w ciągu minuty oraz średnią objętość oddechową, obliczamy minutową objętość oddechową jako iloczyn wymienionych wartości.

ad 2. Mierzmy czas, w którym osoba badana może powstrzymać się od oddychania. Badany zatrzymuje oddech na szczycie spokojnego wdechu, po wykonaniu maksymalnego wdechu, a następnie maksymalnego wydechu. Ostatni pomiar wykonujemy po maksymalnej wentylacji dowolnej, przy czym osoba badana zatrzymuje oddech na szczycie wdechu. Każdy pomiar powinien być poprzedzony kilkuminutową przerwą, aby rytm oddechowy wrócił do poziomu wyjściowego.

Temat 46

ZMIANY OBWODU KLATKI PIERSIOWEJ CZŁOWIEKA PODCZAS ODDYCHANIA

Ruchy przepony i żeber podczas oddychania prowadzą do zmian wszystkich trzech wymiarów klatki piersiowej, przy czym najwyraźniejsze są zmiany w jej płaszczyźnie czołowej i strzałkowej. Podczas wdechu największy wzrost obwodu klatki piersiowej obserwuje się na wysokości wyrostka mieczykowatego mostka, który wyraźnie przesunął się ku górze i do przodu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Mięśnie oddechowe.

Zadanie

Zmierzyć obwód klatki piersiowej podczas spokojnego wdechu, głębokiego wdechu i głębokiego wydechu oraz określić jej ustawienie środkowe.

Potrzebne do wykonania

centymetrowa miara krawiecka.

Wykonanie

Obwód klatki piersiowej mierzymy na wysokości wyrostka mieczykowatego mostka na szczycie najgłębszego wdechu, na szczycie najgłębszego wydechu oraz po spokojnym wydechu. Następnie obliczamy średnią arytmetyczną dwóch pierwszych pomiarów. Jej wartość odpowiada tzw. środkowemu ustawieniu klatki piersiowej.

Temat 47

WPLYW TEMPERATURY OTOCZENIA NA ZUŻYCIE TLENU U LARW OWADÓW

Tempo metabolizmu czyli szybkość przemiany materii i energii zachodzącej w żywym organizmie określa się różnymi sposobami. Jednym z nich jest pomiar ilości zużytego tlenu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Metabolizm; przemiany anaboliczne i kataboliczne.

Źródła energii dla procesów życiowych.

Wpływ temperatury otoczenia na tempo metabolizmu u zwierząt zmiennocieplnych i stałocieplnych.

Wpływ temperatury otoczenia na temperaturę ciała u zwierząt zmiennocieplnych i stałocieplnych.

Zadanie

Zbadać zależność zużycia tlenu od temperatury otoczenia u larw owadów.

Potrzebne do wykonania

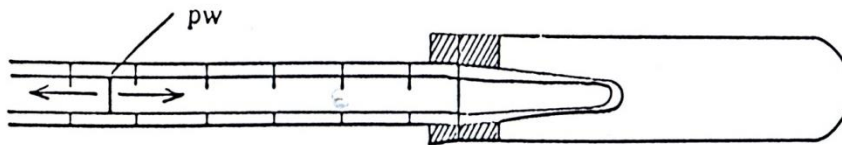
larwy mącznika o znanej masie ciała, probówki, pipety o pojemności 0,5 ml, łaźnia wodna (akwarium napełnione wodą o określonej temperaturze), statywy metalowe, sproszkowane wapno sodowane lub NaOH w granulach, łyżka porcelanowa, gaza, nożyczki.

Wykonanie

Uwaga! Doświadczenie wykonuje każdy student.

Przygotowujemy 2 suche probówki o jednakowej pojemności, które opisujemy „0” i „1”. Probówkę „0” pozostawiamy pustą (ta probówka może być jedna dla kilku osób, które prowadzą badanie w tej samej łaźni); służy ona do obserwacji ewentualnych zmian ciśnienia atmosferycznego. Do probówki „1” wkładamy małą ilość pochłaniacza CO₂ (zwilżone wodą wapno sodowane lub NaOH) owiniętego w skrawek suchej gazy tak, aby badane owady nie mogły mieć z nim bezpośredniego kontaktu, a następnie dwie larwy mącznika (odwrócone odwłokiem w stronę pochłaniacza) oraz nylonową siateczkę, która utrudni przemieszczanie się larw wewnątrz probówki. Obie probówki wstawiamy do statywu, zamykamy korkami, w których są umieszczone suche pipety i statyw wstawiamy do łaźni wodnej o temperaturze 15° C w ten sposób, aby końce pipet znajdowały się ponad wodą. Po 5 minutach (w tym czasie dochodzi do wyrównania temperatury wnętrza probówek z temperaturą wody) nakładamy „z góry” drugi metalowy statyw i umieszczamy w nim końce pipet po czym zmieniamy pozycję całości (dwa statywy z unieruchomionymi probówkami i pipetami) z pionowej na poziomą. Dzięki zastosowaniu drugiego statywu końce wszystkich pipet znajdują się na jednakowym poziomie pod powierzchnią wody. Przez kilka minut obserwujemy położenie menisku wody w pipetach. Objętość gazów w probówce „1” zmienia się, ponieważ owady zużywają tlen, a przesunięcie menisku wody w pipecie połączonej z probówką „0” jest skutkiem zmian ciśnienia atmosferycznego. Przesunięcie menisku o jedną kreskę na skali każdej z pipet odpowiada

objętości 10 μl . Z chwilą gdy położenie menisku w pipecie połączonej z probówką „0” przestaje się zmieniać, ze skali każdej z pipet odczytujemy wyjściowy poziom menisku (np. w „0” menisk ustalił się na 450 μl , a w „1” - na 470 μl), wpisujemy tę wartość do zeszytu i zaczynamy mierzyć czas. Po 10 min ponownie odczytujemy poziom menisku w każdej z pipet i porównujemy z poziomem wyjściowym. Różnicę objętości wody (równą zmianom objętości gazu) wpisujemy do zeszytu, z tym że wynik uzyskany w pipecie połączonej z probówką „0” opatrujemy znakiem \leftarrow wtedy, gdy menisk w pipecie przesunął się w stronę końca pipety (wody jest mniej) i znakiem \rightarrow jeśli menisk przesunął się w stronę probówki (wody jest więcej) (ryc. 10). Taki sposób zapisu ułatwi uwzględnienie wpływu zmian ciśnienia atmosferycznego na wynik uzyskany w probówce „1”, w której położenie menisku zależy od szybkości zużycia tlenu przez badane larwy i od zmian tego ciśnienia.



Ryc. 10. Schemat ilustrujący zmiany położenia menisku wody w pipecie połączonej z probówką. pw - wyjściowy poziom menisku

Jeśli położenie menisku w pipecie połączonej z probówką „0” nie zmieniło się (różnica = 0), wynik uzyskany w probówce „1” nie wymaga korekty. Jeśli w pipecie połączonej z probówką „0” wody jest mniej (np. \leftarrow 10 μl), to tę wartość dodajemy do wyniku uzyskanego w probówce „1”, a gdy wody jest więcej (np. \rightarrow 10 μl) - odejmujemy ją.

W taki sam sposób odczytujemy wyniki po 20 i 30 min od chwili ustalenia poziomu wyjściowego menisku, z tym że wynik porównujemy zawsze z uzyskanym 10 min wcześniej, a nie z poziomem wyjściowym.

W trakcie całego doświadczenia obserwujemy zachowanie larw, ich aktywność ruchową, która, jak wiadomo, zwiększa zużycie tlenu i uwagi notujemy w tabeli, zwłaszcza wtedy, gdy owady (lub jeden z nich) przesuwa się w kierunku pipety.

Po wykonaniu trzech pomiarów w temperaturze 15°C oburącz wyjmujemy z łaźni statywy łącznie z probówkami i pipetami i trzymając je poziomo przenosimy na stół.

Uwaga! Probówki i pipety muszą znajdować się w pozycji poziomej do momentu wymiany pipet. Zmiana położenia pipety połączonej z probówką „1” na pionowe spowoduje przelanie jej zawartości do wnętrza probówki co doprowadzi do śmierci badanych larw. W takim przypadku całe doświadczenie należy powtórzyć

W czasie gdy zmieniamy temperaturę wody w łaźni na 22°C ostrożnie rozłączamy pipety i probówki. Mokre pipety zostawiamy do wysuszenia przy termowentylatorze, a na ich miejsce

podłączamy do probówek suche pipety i dalszą część doświadczenia przeprowadzamy tak jak w temperaturze 15°C.

Po wykonaniu trzech pomiarów (co 10 min) w temperaturze 22°C podwyższamy temperaturę wody do 30°C postępując tak samo, jak przy zmianie temperatury z 15°C na 22°C i znów wykonujemy trzy pomiary zużycia tlenu.

Z uzyskanych w każdej temperaturze wyników obliczamy średnią ilość zużytego tlenu, a ponieważ zużycie tego gazu zależy od masy ciała, ilość tę przeliczamy na 1g masy owadów i wyrażamy w $\mu\text{l} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$.

Temat 48

OZNACZANIE WSPÓLCZYNNIKA ODDECHOWEGO (RQ) U LARW OWADÓW

Współczynnik oddechowy (RQ) jest to stosunek objętości wytworzonego dwutlenku węgla do objętości zużytego tlenu w jednostce czasu. Współczynnik RQ jest ważnym pojęciem w fizjologii metabolizmu ponieważ zawiera informacje o substancjach zużywanych podczas przemian biochemicznych zachodzących w żywym organizmie.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Współczynnik oddechowy (RQ); czynniki, które mają wpływ na jego wartość.

Zadanie

Oznaczyć współczynnik oddechowy (RQ) u larw mącznika w temperaturze otoczenia 20°C.

Potrzebne do wykonania
jak w temacie 47.

Wykonanie

Uwaga! To doświadczenie studenci wykonują parami.

Przygotowujemy 3 suche probówki o jednakowej pojemności i opisujemy „0”, „1” i „2”. Probówkę „0” pozostawiamy pustą, do „1” wkładamy dwie larwy mącznika, pochłaniacz CO_2 i nylonową siateczkę, a w probówce „2” umieszczamy dwie larwy mącznika i siateczkę (patrz temat 47). W temacie 47 omówiono przyczyny zmiany menisku wody w pipetach połączonych z probówkami „0” i „1”, natomiast zmiany obserwowane w probówce „2” są skutkiem zużycia tlenu i wydalania dwutlenku węgla przez badane owady oraz zmian ciśnienia atmosferycznego.

Dalej postępujemy tak jak w temacie 47 z tym, że badanie przeprowadzamy jedynie w temperaturze 20°C. Druga różnica polega na tym, że doświadczenie składa się z dwóch części, w których wykonuje się trzykrotny pomiar zużycia tlenu (probówki „0” i „1”) oraz zużycia tlenu i wydalania dwutlenku węgla przez badane owady (probówki „0” i „2”). W pierwszej części jeden z dwu studentów odczytuje wyniki z probówek „0” i „1”, a drugi z probówek „0” i „2”.

Po wykonaniu trzech pomiarów (co 10 minut) ilości wody w pipetach, obliczamy średnią wartość zmian objętości gazów w probówkach „1” i „2” uwzględniając ewentualne zmiany występujące w probówce „0”, po czym przeliczamy wynik na 1g masy ciała larw i wyrażamy w $\mu\text{l h}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Następnie, zachowując pozycję poziomą statywów i probówek (patrz „Uwaga” w temacie 47), całość wyjmujemy z łaźni, otwieramy probówki i wyjmujemy owady. W probówce „1” wymieniamy pochłaniacz CO_2 i umieszczamy w niej te larwy, które poprzednio znajdowały się w probówce „2”, a larwy z probówki „1” przenosimy do probówki „2”. Wszystkie trzy probówki zamykamy korkami, w których umieszczone są nowe, suche pipety i wykonujemy drugą część doświadczenia w taki sam sposób jak pierwszą. Teraz jednak pierwszy ze studentów odczytuje wyniki z probówki „0” i „2”, a drugi z probówki „0” i „1”.

Przeprowadzenie doświadczenia w dwóch częściach umożliwia każdemu ze studentów wykonanie pomiarów zużycia tlenu i wydalania dwutlenku węgla **u tych samych owadów**.

Współczynnik oddechowy obliczamy według wzoru:

$$RQ = \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$$

gdzie:

CO_2 = ilość wydalonego dwutlenku węgla (obliczamy odejmując wynik uzyskany w probówce „1” od wyniku uzyskanego w probówce „2”; wiadomo, że w tej ostatniej miejsce zużytego tlenu zajmuje wydany dwutlenek węgla).

O_2 = ilość zużytego tlenu (wynik uzyskany w probówce „1”).

Temat 49

WPLYW TEMPERATURY I JONÓW WAPNIA NA DZIAŁANIE PODPUSZCZKI

Podpuszczka jest enzymem proteolitycznym występującym w żołądkach młodych zwierząt i być może niemowląt. W stanie krystalicznym można ją otrzymać z żołądka cielęcia. Optimum pH dla podpuszczki leży między 3,5 a 4,0. Wywołuje ona proteolizę kazeiny prowadzącą, w obecności jonów Ca^{++} , do powstania nierozpuszczalnej soli - parakazeininianu wapnia (twaróg).

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Trawienie białek, cukrów i tłuszczów.

Wpływ układu nerwowego wegetatywnego na czynność układu pokarmowego.

Zadanie

Zbadać wpływ jonów wapniowych i temperatury na działanie podpuszczki.

Potrzebne do wykonania

próbówki, świeże mleko, 2 % roztwór podpuszczki, 1,5% roztwór szczawianu amonowego, pipety o pojemności 5 ml.

Wykonanie

Przygotowujemy i oznaczamy kolejnymi numerami cztery próbówki. Dodajemy do nich kolejno:

- do 1 - 3 ml świeżego mleka i 1 ml 2% roztworu podpuszczki,
- do 2 - 3 ml świeżego mleka i 1 ml 2% roztworu podpuszczki,
- do 3 - 3 ml świeżego mleka i 1 ml 2% przegotowanego i ostudzonego roztworu podpuszczki,
- do 4 - 3 ml świeżego mleka, 1 ml 1,5 roztworu szczawianu amonowego oraz 1 ml 2% roztworu podpuszczki.

Probówkę nr 1 wstawiamy na 15 min do lodówki, a pozostałe próbówki umieszczamy w łaźni wodnej o temperaturze 40°C również na 15 min. Następnie próbówki wyjmujemy i opisujemy zaobserwowane zmiany.

Temat 50

WPLYW TEMPERATURY I pH NA DZIAŁANIE PEPSYNY

Pepsyna jest enzymem należącym do hydrolaz działających na wiązania peptydowe występujące wewnątrz łańcuchów białkowych. Rozszczepia ona tylko niektóre z tych wiązań, doprowadzając do powstania mieszaniny peptydów o masie cząsteczkowej od 600 do 3000. Pepsyna jest bardzo aktywną hydrolazą - 1 g krystalicznego enzymu może w ciągu 2 godzin rozłożyć 50 kg zdenaturowanej albuminy jaja kurzego.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Wydzielanie pepsynogenu i kwasu solnego w żołądku.

Wewnątrzwydzielnicza funkcja żołądka.

Zadanie

Zbadać wpływ temperatury i pH na działanie pepsyny.

Potrzebne do wykonania

ugotowane białko jaja kurzego, 0,2% roztwór pepsyny, 0,4% roztwór HCl, woda destylowana, próbówki, pipety o pojemności 5 ml.

Wykonanie

Z białka jaja kurzego wykrawamy pięć równych i bardzo małych cząstek (kostki o boku około 1 mm), które umieszczamy w oznaczonych kolejnymi numerami próbówkach. Do każdej z nich dodajemy kolejno:

- do 1 - 2 ml roztworu pepsyny i 4 ml 0,4% roztworu HCl,
- do 2 - 2 ml roztworu pepsyny i 4 ml 0,4% roztworu HCl,

- do 3 - 2 ml roztworu pepsyny i 4 ml wody destylowanej,
- do 4 - 2 ml wody destylowanej i 4 ml 0,4% roztworu HCl,
- do 5 - 2 ml zagotowanego i ostudzonego roztworu pepsyny i 4 ml 0,4% roztworu HCl.

Probówkę nr 1 wstawiamy na 30 min do lodówki, a pozostałe probówki umieszczamy w łaźni wodnej o temperaturze 38°C również na 30 min. Następnie probówki wyjmujemy i opisujemy zaobserwowane zmiany.

Temat 51

WPLYW TEMPERATURY I pH NA DZIAŁANIE α -AMYLAZY ŚLINOWEJ

W procesie trawienia, enzymatyczny rozkład polisacharydów pod wpływem hydrolaz polega na hydrolitycznym rozszczepieniu skrobi i glikogenu przez α i β -amylazy. α -amylazy, enzymy dekstrynogenne, zwane endoamylazami atakują środek makrocząsteczki wielocukru, rozszczepiając hydrolitycznie tylko środkowe wiązania α -1,4-glikozydowe, nie naruszając wiązań α -1,6 ani α -1,4 występujących zarówno za miejscami rozgałęzień łańcucha, jak i na końcu cząsteczki. Te ostatnie wiązania są rozszczepiane przez β -amylazy zwane egzoamylazami. Dalszy rozpad oligosacharydów odbywa się z udziałem enzymów jelita cienkiego.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Zewnątrzwydzielnicza funkcja trzustki.

Rola soli żółciowych.

Zadanie

Zbadać wpływ temperatury oraz pH na działanie α -amylazy ślinowej.

Potrzebne do wykonania:

0,2% roztwór skrobi, płyn Lugola (roztwór jodu w jodku potasowym), 0,5% NaOH, 0,5% HCl, woda destylowana, probówki, bagietki, łaźnia wodna, termometr.

Wykonanie

W celu przygotowania roztworu śliny nabieramy do ust niewielką ilość wody destylowanej, kilkakrotnie przepłukujemy jamę ustną i roztwór śliny zbieramy do zlewki. Czynność tę powtarzamy kilka razy aby zebrać 10 ml roztworu śliny. Następnie przygotowujemy 0,2% roztwór skrobi. Wsypujemy do zlewki 0,1 g skrobi i uzupełniamy wodą destylowaną do 50 ml. Zlewkę z roztworem skrobi umieszczamy w łaźni; temperatura wody powinna wynosić około 100°C. Roztwór mieszamy bagietką aż do chwili gdy zacznie opalizować, po czym schładzamy go do temperatury około 30 - 35°C. Do pięciu suchych probówek, oznaczonych kolejnymi numerami, dodajemy:

- do 1 - 2 ml roztworu śliny, 1 ml skrobi, 1 ml H₂O,
- do 2 - 2 ml roztworu śliny, 1 ml skrobi, 1 ml H₂O,

do 3 - 2 ml przegotowanego roztworu śliny, 1 ml skrobi, 1 ml H₂O,

do 4 - 2 ml roztworu śliny, 1 ml skrobi, 1 ml 0,5% HCl,

do 5 - 2 ml roztworu śliny, 1 ml skrobi, 1 ml 0,5% NaOH.

Probówkę nr 1 wstawiamy na 20 min do lodówki, a pozostałe umieszczamy w łaźni wodnej o temperaturze 38°C. Po 20 min próbki wyjmujemy z łaźni i chłodzimy wodą bieżącą w celu przerwania reakcji. Następnie do wszystkich probówek (od 1 do 5) dodajemy po dwie krople roztworu jodu, dokładnie mieszamy i wyniki obserwacji wpisujemy do *Zeszytu*.

Temat 52

OZNACZANIE ENZYMU α -AMYLAZY W MOCZU LUDZKIM METODĄ WOHLGEMUTHA

Wiadomo, że roztwory skrobi zabarwiają się na niebiesko w obecności jodu; jeśli jednak skrobia ulegnie hydrolitycznemu rozszczepieniu pod wpływem α -amylazy to roztwór pozostaje bezbarwny. W metodzie Wohlgemutha ocenia się intensywność zabarwienia rozcieńczonego w różnym stopniu moczu.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Wchłanianie jelitowe.

Wewnątrzwydzielnicza funkcja jelit.

Zadanie

Oznaczyć ilość α -amylazy w świeżym moczu ludzkim metodą Wohlgemutha.

Potrzebne do wykonania

0,2% roztwór skrobi rozpuszczalnej, bufor fosforanowy o pH 6,8, płyn Lugola (roztwór jodu w jodku potasowym), 0,9% roztwór NaCl, świeży mocz ludzki, metalowy statyw, probówki, pipety o pojemności 1 ml, łaźnia wodna i termometr.

Wykonanie

Numerujemy 13 probówek i ustawiamy kolejno w statywie. Do wszystkich probówek wlewamy po 1ml 0,9% roztworu NaCl. Następnie do probówki nr 1 dodajemy 1 ml świeżego moczu ludzkiego i bardzo dokładnie mieszamy zawartość probówki. Z uzyskanego w probówce nr 1 płynu pobieramy 1 ml, przenosimy do probówki nr 2 i znów całość bardzo dokładnie mieszamy. Z zawartości probówki nr 2 odmierzymy 1 ml, przenosimy do probówki nr 3 i tak kolejno postępujemy aż do probówki nr 12 włącznie. Po zamieszaniu zawartości probówki nr 12 pobieramy z niej 1 ml płynu i wylewamy. W ten sposób w każdej z 12 probówek otrzymujemy jednakową objętość płynu równą 1 ml mieszaniny 0,9% NaCl i moczu. Uzyskujemy szereg rozcieńczeń badanego moczu w stosunku: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024, 1:2048 oraz 1:4096. Do probówki nr 13 nie dodajemy moczu, jej zawartość stanowi próbę ślełą bez α -amylazy.

Następnie do wszystkich probówek dodajemy po 1 ml buforu fosforanowego o pH 6,8 i po 1 ml świeżo przyrządzonego, opalizującego 0,2% roztworu skrobi (patrz temat 51; możemy wykorzystać wcześniej przygotowany roztwór). Po dokładnym zmieszaniu zawartości w poszczególnych probówkach statyw wraz z probówkami wstawiamy do łaźni wodnej o temperaturze 38°C. Po 30 min statyw z probówkami wyjmujemy z łaźni i chłodzimy wodą bieżącą w celu natychmiastowego przerwania reakcji. Do każdej probówki dodajemy 2 krople płynu Lugola i dokładnie mieszamy. W probówkach, w których skrobia nie uległa rozkładowi, powstaje pod wpływem jodu zabarwienie niebieskie, w innych, gdzie skrobia uległa częściowemu rozkładowi, może wystąpić zabarwienie niebiesko-fioletowe, czerwono-niebieskie (erytrodekstryna), czerwono-żółte lub żółte (achrodekstryna). W próbach bezbarwnych skrobia została rozłożona całkowicie.

Rozcieńczenie moczu w ostatniej probówce, w której zawartość jest jeszcze bezbarwna, mnożymy przez ilość miligramów skrobi dodanej do próby, otrzymując wyniki w jednostkach Wohlgemutha (j.W.). W związku z tym, że do próby dodaliśmy 2 mg skrobi, rozcieńczenie moczu mnożymy przez 2, np. jeżeli ostatnią bezbarwną próbą jest mocz rozcieńczony w stosunku 1:16, wówczas rozcieńczenie -16 mnożymy przez ilość miligramów skrobi - 2, co się równa 32 j.W.

Za 1 jednostkę α -amylazy przyjmuje się tę ilość enzymu, która w ciągu 30 minut rozkłada hydrolytycznie 1 mg skrobi w temperaturze 38°C.

Prawidłowe wartości α -amylazy we krwi, moczu i soku trzustkowym, wyrażone w jednostkach Wohlgemutha, przedstawiono w tabeli nr 1.

we krwi	w moczu	w soku trzustkowym
8 - 12 j.W. (Homolka)	16 - 32 j.W. (Homolka)	256 - 2048 j.W. (Michaelis)
8 - 64 j.W. (Stolzmann)	8 - 32 j.W. (Stolzmann)	160 - 2500 j.W.
16 - 32 j.W. (Tulczyński)	6 - 64 j.W. (Tulczyński)	(Predteceński, Borowska, Margolina)

Tab. 1. Prawidłowe wartości α -amylazy we krwi, moczu i soku trzustkowym.

Temat 53

DIUREZA U CZŁOWIEKA

Najważniejszą funkcją nerek jest wytwarzanie moczu i utrzymywanie w ten sposób prawidłowego składu i objętości płynów ustrojowych. Mocz ostateczny powstaje w wyniku trzech procesów: filtracji, resorpcji i sekrecji.

Filtracja. Filtracja zachodzi dzięki temu, że ciśnienie hydrostatyczne w naczyniach włosowatych kłębuszka (P_c) przewyższa siły przeciwstawiające się temu procesowi, tzn. sumę

ciśnienia onkotycznego osocza krwi (p_c) i ciśnienia hydrostatycznego wewnątrztorbowkowego (P_{tor}). Efektywne ciśnienie filtracyjne (EFP, ciśnienie dyfuzji) wylicza się ze wzoru:

$$EFP = P_c - (p_c + P_{tor}) \quad (1)$$

Wartość P_c charakteryzuje się dużą stałością mimo zmian ciśnienia w tętnicy nerkowej (autoregulacja przepływu krwi przez nerkę). Wielkość p_c zależy od stężenia białek, zwłaszcza albumin w osoczu, a P_{tor} waha się m.in. w zależności od wielkości ciśnienia śródmiąższowego nerek. Efektywne ciśnienie filtracyjne (EFP) określa wielkość filtracji kłębuszkowej (GFR), a zależność między tymi parametrami wyraża równanie:

$$GFR = K_f \times EFP \quad (2)$$

gdzie:

K_f - złożony współczynnik charakteryzujący zarówno przepuszczalność, jak i powierzchnię błony filtracyjnej.

Wielkość filtracji kłębuszkowej (GFR) ustala się pośrednio określając klirens inuliny. Wiadomo, że polisacharyd ten nie ulega ani resorpcji ani sekrecji kanalikowej w związku z czym zawartość inuliny w ultraprzesączu (v_{up}) jest równa jej zawartości w moczu ostatecznym (mocz). Biorąc pod uwagę, że „zawartość” oznacza iloczyn objętości (V , w $ml \cdot min^{-1}$) i stężenia (S , w $mg \cdot min^{-1}$) możemy zapisać:

$$V_{up} \times S_{up} = V_{mocz} \times S_{mocz} \quad (3)$$

stąd:

$$V_{up} = \frac{V_{mocz} \times S_{mocz}}{S_{up}} \quad (4)$$

Wiadomo, że substancje rozpuszczone w wodzie osocza (o), z wyjątkiem białek, filtrowane są bez zmiany stężenia, więc równanie 4 przybiera postać:

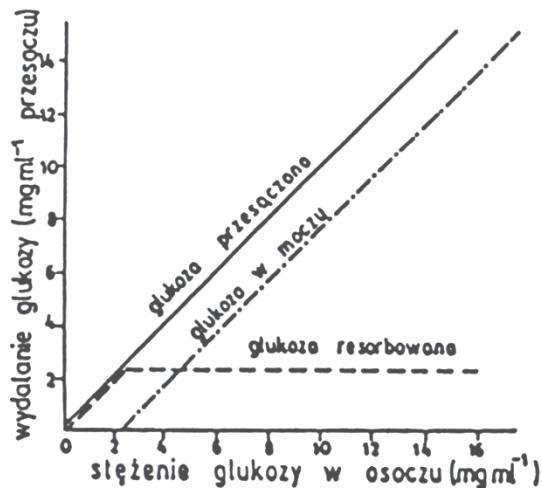
$$V_{up} = \frac{V_{mocz} \times S_{mocz}}{S_o} \quad (5)$$

Trzy czynniki z prawej strony równania można bez trudu określić mierząc objętość moczu wydzielonego w jednostce czasu oraz stężenie inuliny zarówno w moczu, jak i w osoczu. Ze względu na własności inuliny, oznaczone w ten sposób V_{up} równe jest wielkości filtracji kłębuszkowej (GFR).

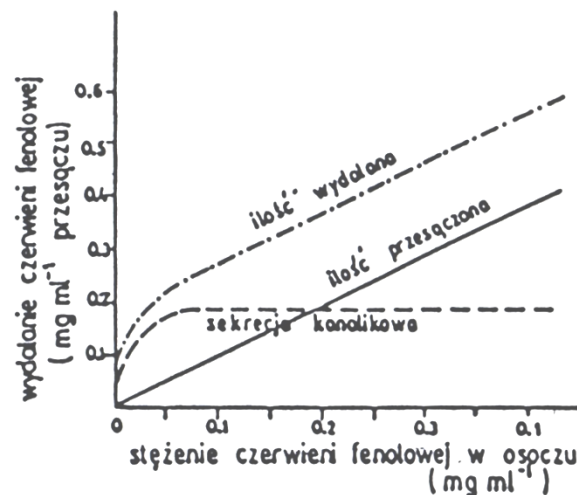
Wyrażenie $\frac{V_{mocz} \times S_{mocz}}{S_o}$ z równania (5) określane jest mianem klirensu (C). Jest to wskaźnik oczyszczania osocza, który charakteryzuje zdolność nerki do wydalania dowolnej substancji x . Wartość C , równa np. $120 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ oznacza, że w ciągu minuty nerki wydalą taką ilość substancji x , jaka była zawarta w 120 ml osocza.

Resorpcja i sekrecja kanalikowa. Transport kanalikowy czyli wchłanianie zwrotne (resorpcja) i wydzielanie kanalikowe (sekrecja) może mieć charakter biernej lub ułatwionej dyfuzji lub też transportu czynnego. Zakres transportu kanalikowego wielu substancji

ograniczony jest pojemnością mechanizmu transportującego. Maksymalna ilość substancji, którą kanaliki są w stanie wchłonać lub wydzielić w ciągu jednej minuty, określana jest jako maksimum kanalikowe (T_m), a poziom danej substancji w osoczu, przy którym osiągnąta jest wartość T_m , nazywa się progiem nerkowym dla tej substancji. Po przekroczeniu wartości T_m substancja nie ulega ani dalszej resorpcji ani też sekrecji, a jej stężenie w ultraprzesączu i moczu ostatecznym wzrasta liniowo wraz ze wzrostem stężenia tej substancji w osoczu (ryc. 11 i 12).



Ryc. 11. Filtracja, resorpcja i wydalanie glukozy przez nerkę psa w zależności od stężenia w osoczu (zmodyfikowane wg Schmidt-Nielsen, 1992)



Ryc. 12. Filtracja, sekrecja i wydalanie czerwieni fenolowej przez nerkę psa w zależności od stężenia w osoczu (zmodyfikowane wg Schmidt-Nielsen, 1992)

W wyniku filtracji, resorpcji i sekrecji powstaje mocz ostateczny, którego skład i objętość waha się w szerokich granicach. Zależnie od bilansu wodnego, końcowe produkty przemiany materii i inne substancje są wydalane w dużej lub małej objętości wody. Koniecznym warunkiem poprzedzającym właściwe rozcieńczanie czy też zagęszczanie moczu jest znaczna redukcja objętości ultraprzesączu w kanalik bliższym. Woda biernie podąża za wchłanianymi jonami sodu (większość przesączonych jonów sodowych wchłaniana jest w tej części nefronu) i towarzyszącymi mu anionami, głównie Cl^- i HCO_3^- , wyrównując różnicę ciśnienia osmotycznego. W kanalik bliższym resorbowane jest około 80% chlorku sodowego i tyle samo wody. Pozostała część sodu i wody może być wchłaniana w dalszych odcinkach nefronu, lecz tam ich resorpcja jest niezależna od siebie i dlatego mocz ostateczny może być, w stosunku do osocza, hipotoniczny lub hipertoniczny.

W procesie rozcieńczania i zagęszczania moczu główną rolę odgrywa pętla Henlego. Wstępujące ramię tej pętli jest nieprzepuszczalne dla wody, a jony sodu są czynnie transportowane ze światła kanalika do śródmiaższu, przy czym jony chlorkowe biernie im towarzyszą. Na skutek tego procesu rośnie ciśnienie osmotyczne w przestrzeni okołokanalikowej co powoduje odciąganie wody ze zstępującego ramienia pętli do

hipertonicznego środowiska (woda przenika do naczyń prostych, a jej nadmiar przenoszony jest do układu żylnego) i zagęszczanie jego zawartości. W ten sposób płyn kanalikowy spływający do zagięcia pętli staje się coraz bardziej stężony. We wstępującym ramieniu pętli Henlego płyn ten staje się hipotoniczny ponieważ usuwany jest z niego chlorek sodowy.

Należy pamiętać, że płyn w ramieniu zstępującym i wstępującym pętli płynie w kierunku przeciwnym w związku z czym w dowolnym miejscu w osi tej pętli różnica stężeń między obu ramionami jest niewielka lecz na długości pętli różnice te sumują się (efekt wzmocnienia przeciwprądowego) i warunkują charakterystyczny rozkład ciśnienia osmotycznego (NaCl + mocznik), które wzrasta w kierunku od kory do rdzenia nerki.

Hipotoniczny płyn (o znacznie zredukowanej objętości) spływający z kanalika dalszego do zbiorczego może ulec dalszemu zagęszczeniu pod wpływem hormonu antydiuretycznego (ADH, wazopresyna). W obecności wazopresyny ściana kanalika zbiorczego staje się przepuszczalna dla wody, która dyfunduje do hipertonicznego środowiska i w miarę zbliżania się do szczytu brodawki nerkowej mocz staje się coraz bardziej zagęszczony. Przy niskim stężeniu wazopresyny rozcieńczony mocz przepływa do dróg moczowych i jest wydalany.

Zagadnienia teoretyczne (zakres obowiązującego materiału)

Budowa nefronu.

Procesy prowadzące do wytworzenia moczu ostatecznego.

Diureza wodna i osmotyczna; mechanizm.

Rola nerki w regulacji gospodarki kwasowo-zasadowej organizmu.

Wewnątrzwydzielnicza funkcja nerki.

Zadanie

1. Zbadać diurezę u ludzi.
2. Obliczyć wartość EFP (równanie 1) jeśli: $P_c = +7,3$ kPa, $p_c = -3,3$ kPa, $P_{tor} = -2,0$ kPa. [Znakiem (+) oznaczono umownie wartość ciśnień powodujących filtrację, a znakiem (-) - wartość ciśnień przeciwstawiających się temu procesowi. Nie uwzględniamy ich w obliczeniach].
3. Obliczyć wartość GFR (równanie 5) jeśli: diureza = $1,25$ ml · min⁻¹, stężenie inuliny w moczu = 2%, a jej stężenie w osoczu = 0.02%.
4. Obliczyć objętość przesączu kłębuszkowego na dobę jeśli GFR wynosi $0,90$ ml · min⁻¹.
5. Określić wartość T_m dla glukozy na podstawie ryc. 11 i dla czerwieni fenolowej - z ryc. 12.

Potrzebne do wykonania

zlewki 100 i 1000 ml, cylindry miarowe 25, 50 i 250 ml, woda destylowana, 0.9% i 5% roztwór NaCl, areometr.

Wykonanie

ad 1. Doświadczenie wykonujemy w trzech dwuosobowych podgrupach: „a”, „b”, „c”. Wszyscy badani oddają mocz, mierzą jego objętość i ciężar właściwy oraz obliczają diurezę (należy koniecznie znać czas poprzedniego oddania moczu). Następnie badani z podgrupy „a” wypijają 1000 ml wody destylowanej, z „b” - 1000 ml 0.9% roztworu NaCl i z „c” - 100 ml

5% roztworu NaCl. Po 30, 60, 90 i 120 min zbierają mocz, mierzą jego objętość i ciężar właściwy oraz obliczają diurezę.

Materiały wykorzystane podczas opracowywania *Instrukcji do ćwiczeń z fizjologii zwierząt* oraz *Zeszytu do ćwiczeń*.

Best C. H., Taylor N. B. Fizjologiczne podstawy postępowania lekarskiego. Warszawa 1971, PZWL.

Całus H. Podstawy obliczeń chemicznych. Warszawa 1965, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne.

Cygański A. Metody elektroanalityczne. Warszawa 1991, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne.

Ćwiczenia z fizjologii zwierząt dla studentów biologii. Wydanie II z 1982 r i III z 1989r. Toruń, Wydawnictwo UMK.

Ganong W. F. Fizjologia. Podstawy fizjologii lekarskiej. Warszawa 1994, PZWL.

Jara Z. (red). Przewodnik do ćwiczeń z fizjologii zwierząt. Wrocław 1991, Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego.

Miętkiewski E. Kurs fizjologii doświadczalnej. Wydanie IV. Warszawa 1973, PZWL.

Schmidt-Nielsen K. Fizjologia zwierząt. Adaptacja do środowiska. Warszawa 1992, PWN.

Schottelius B. A., Thomson J. D., Schottelius D. D. Physiology laboratory manual. Wydanie IV. Saint Louis 1978, C. V. Mosby Company.

Traczyk W. Z. (red). Wskazówki do ćwiczeń z fizjologii. Wydanie VI. Łódź 1990, Wydawnictwo Akademii Medycznej.

Traczyk W. Z. Fizjologia człowieka w zarysie. Warszawa 1979, PZWL.

Traczyk W. Z., Trzebski A. (red). Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej. Warszawa 1989, PZWL.