

Ćwiczenie 1

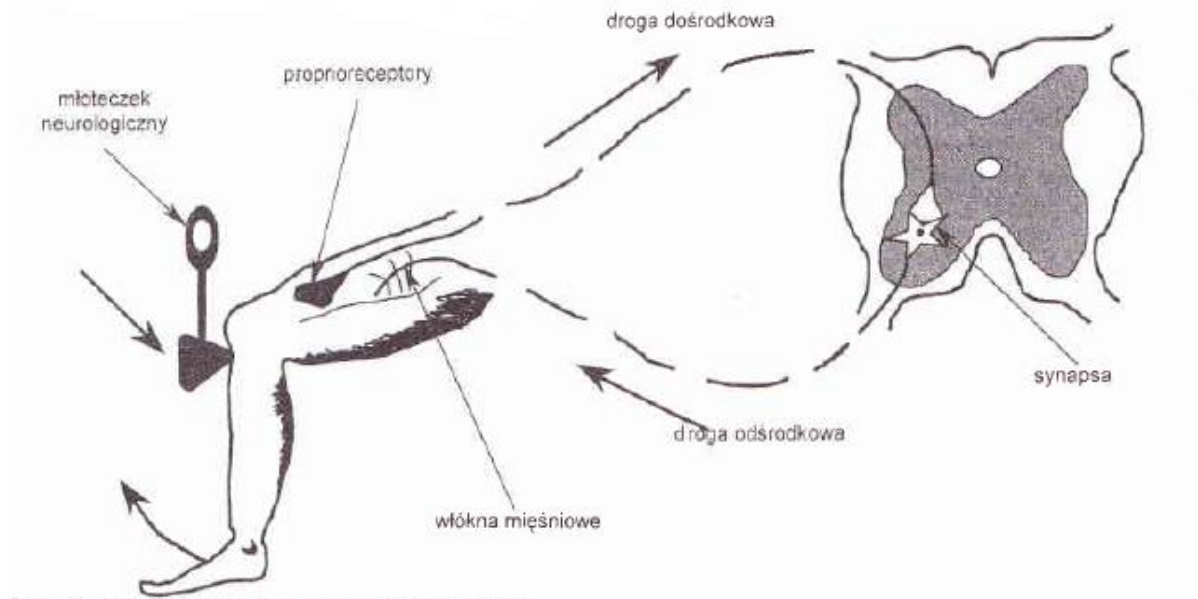
Badanie odruchów bezwarunkowych u człowieka.

Cel: zbadanie prostych odruchów bezwarunkowych u człowieka i ich analiza ich łuków odruchowych.

Materiał: lampka elektryczna; młoteczek neurologiczny; jałowa gaza.

a) Odruch kolanowy

Wykonanie: Osoba badana siada swobodnie na krześle i zakłada nogę na nogę. Odwracamy jej uwagę rozmową lub polecamy wykonanej dowolnej, prostej czynności, a jednocześnie uderzamy młoteczkiem neurologicznym w ścięgno rzepkowe mięśnia czworogłowego uda. Reakcją na podrażnienie proprioceptorów jest szybkie odruchowe wyprostowanie kończyn w stawie kolanowym.



Ryc. 2. Schemat „łuku” odruchu kolanowego

b) Odruch podeszwowy

Wykonanie: Osoba badana opiera swobodnie podudzie na krześle. Podeszwę odsłoniętej stopy drażnimy trzonkiem młoteczka neurologicznego, przesuując go w kierunku od pierwszego palca ku pięcie. Reakcją na podrażnienie receptorów skóry jest odruchowe zgięcie palucha ku podeszwie. W pewnych stanach patologicznych paluch wyprostowuje się w kierunku dogrzbietowym stopy – mówimy wtedy o odruchu Babińskiego.

c) Odruch ścięgna Achillesa

Wykonanie: Osoba badana opiera podudzie o krzesło w taki sposób, żeby stopa swobodnie zwisała za krzesłem. Następnie zajmując uwagę badanego rozmową lub wykonywaniem prostych czynności uderzamy młoteczkiem neurologicznym w ścięgno Achillesa. W wyniku podrażnienia proprioceptorów obserwujemy skurcz mięśnia łydkowego i odruchowe wyprostowanie stopy w stawie kolanowym.

d) Odruch źreniczny

Wykonanie: Obserwujemy szerokość obu źrenic badanej osoby. Następnie osoba ta zakrywa dłonią jedno oko. Obserwujemy odruchowe rozszerzenie źrenicy drugiego oka. Sprawdzamy także wpływ zwiększonego natężenia światła na szerokość źrenicy. W tym celu kierujemy wiązkę światła z lampki elektrycznej w kierunku jednego oka badanej osoby i obserwujemy zmiany w średnicy obu źrenic.

e) Odruch rogówkowy

Wykonanie: Rogiem jałowej gazy delikatnie dotykamy rogówki oka badanej osoby. Obserwujemy odruchowe zamknięcie powieki. W życiu postnatalnym, u człowieka i zwierząt, na bazie odruchu rogówkowego wykształca się warunkowy odruch obronny, powodujący zamykanie powiek (i odchylenie głowy) na widok nagle zbliżającego się do oka „przedmiotu”. Odruchu tego nie obserwujemy u noworodków.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Dlaczego badane w ćwiczeniu odruchy zaliczamy do bezwarunkowych?
- Które z badanych odruchów zaliczamy do „własnych”, a które – do „obcych”?
- Uzasadnij znaczenie diagnostyczne badanych odruchów.
- Wyjaśnij mechanizm powstawania odruchów warunkowych.
- Podaj przykłady odruchów bezwarunkowych i warunkowych u zwierząt.

Ćwiczenie 2

Mikroskopowy obraz preparatów mięśni szkieletowego, sercowego i gładkiego.

Cel: obserwacja różnic w budowie tkanki mięśniowej oraz rozpoznawanie elementów strukturalnych tkanki mięśniowej w obrazie mikroskopowym

Materiał: mikroskop; preparaty mięśni ssaków: szkieletowego, sercowego i gładkiego

Wykonanie: Gotowe preparaty oglądamy w mikroskopie świetlnym najpierw pod małym (obiektyw x 10) a następnie pod dużym (obiektyw x 40) powiększeniem. Zwracamy uwagę na układ komórek względem siebie, połączenia między komórkami, długość i grubość komórek oraz położenie jądra komórkowego. Opisujemy zaobserwowane odrębności morfologiczne oglądanych trzech rodzajów tkanki mięśniowej.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Czy obserwowane różnice morfologiczne mają wpływ na czynności poszczególnych rodzajów tkanki mięśniowej?
- Omów molekularny mechanizm skurczu mięśnia szkieletowego.

Ćwiczenie 3

Oglądanie pod mikroskopem rozmazów świeżej krwi kręgowców

Cel: obserwacja erytrocytów pod mikroskopem świetlnym

Materiał: krew człowieka i kozy (zabezpieczona przed skrzepnięciem); szkiełka podstawowe; mikroskop; bagietka szklana.

Wykonanie: Na koniec trzymanego w lewej ręce (między kciukiem a palcem środkowym) szkiełka podstawowego nanosimy bagietką kroplę krwi. Brzegiem drugiego szkiełka podstawowego (o oszlifowanych krawędziach), ustawionego pod kątem 40°, dotykamy kropli krwi. Po rozejściu się krwi wzdłuż linii styku obu szkiełek rozprowadzamy ją jednostajnym ruchem po powierzchni pierwszego szkiełka podstawowego (ciągniemy krew za szkiełkiem). Prawidłowo wykonany rozmaz powinien być równomierny i cienki. Następnie preparat suszymy pozostawiając go w temperaturze pokojowej na około 10 minut. Rozmaz oglądamy pod mikroskopem, najpierw pod małym powiększeniem (obiektyw x 10), a następnie pod większym (obiektyw x 40). Obserwujemy i porównujemy kształt oraz wielkość krwinek.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jak wyjaśnisz różnice w wielkości erytrocytów człowieka i kozy?
- Dlaczego, poza erytrocytami, inne elementy morfotyczne nie są widoczne w rozmazie świeżej krwi?

Ćwiczenie 4

Gatunkowe różnice w budowie erytrocytów.

Cel: obserwacja i różnicowanie krwinek czerwonych różnych gatunków kręgowców

Materiał: świeżo pobrana i zabezpieczona przed skrzepnięciem krew człowieka, kozy, żaby; 0,8 % roztwór NaCl; szkiełko podstawowe; szkiełko nakrywkowe; probówka; pipetka; mikroskop.

Wykonanie: Do 10 ml 0,8% roztworu NaCl nakrapiamy po 2 krople świeżej krwi człowieka, kozy i żaby, a następnie delikatnie mieszamy. Jedną kroplę przygotowanej mieszaniny наносimy na szkiełko podstawowe i przykrywamy szkiełkiem nakrywkowym. Oglądamy preparat pod mikroskopem najpierw przy 10-krotnym, a następnie przy 40-krotnym powiększeniu obiektywu. Obserwujemy różnice w budowie, kształcie i wielkości krwinek czerwonych.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Według jakich głównych kryteriów można rozróżnić krwinki czerwone płaza, ptaka i ssaka?
- Jakie korzyści wiążą się z utratą jądra komórkowego przez erytrocyty ssaków?
- Czy obserwowane różnice w budowie krwinek czerwonych różnych gatunków zwierząt mają wpływ na ich funkcję? Jeśli tak, to dlaczego.

Ćwiczenie 5

Barwienie rozmazu krwi metodą Pappenheima.

Cel: wybarwienie rozmazów krwi – przygotowanie preparatów do wykonania leukogramu

Materiał: heparynizowana krew różnych gatunków kręgowców; barwnik May-Grünwalada; barwnik Giemsy; szkiełka podstawowe; rynienka do barwienia; krew; woda destylowana; tryskawka; pipetka; mikroskop.

Wykonanie: Przygotowujemy rozmaz krwi (opis wykonania rozmazu podano w ćw. 1). Na szkiełko podstawowe z rozmazem krwi umieszczone na równoległych prętach rynienki do barwienia наносimy pipetką równomierną warstwę barwnika May Grünwalda. Po upływie 3. minut (nie zlewając barwnika) na preparat наносimy taką samą objętością wody destylowanej i odczekujemy kolejne 3 minuty, po czym zlewamy płyn ze szkiełka. Następnie na preparaty nalewamy ciekłą warstwę rozcieńczonego barwnika Giemsy (1 kropla macierzystego barwnika na 1 ml wody destylowanej). Po upływie 20. minut barwnik zlewamy, a preparat obficie spłukujemy wodą destylowaną tryskawki. Szkiełka ustawiamy ukośnie i pozostawiamy w temperaturze pokojowej do wyschnięcia. Poprawnie zabarwiony preparat ma kolor czerwono-malinowy. Po wyschnięciu wybarwione rozmazy oglądamy pod mikroskopem, najpierw pod małym powiększeniem (obiektyw x 10), a następnie pod dużym powiększeniem (obiektyw x 100). Mikroskopowanie pod dużym powiększeniem wymaga użycia olejku immersyjnego (najczęściej używa się olejku cedrowego lub syntetycznego). W oglądanym preparacie rozpoznajemy różne rodzaje leukocytów.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Na czym polega istota metody Pappenheima barwienia rozmazów krwi?
- W jakim celu, w praktyce analitycznej, wykonuje się barwione preparaty krwi?
- Jakie zasadnicze różnice stwierdziłeś w oglądanych barwionych preparatach krwi różnych kręgowców?

Ćwiczenie 6

Różnicowanie leukocytów.

Cel: rozpoznawanie poszczególnych rodzajów krwinek białych oraz określenie składu procentowego poszczególnych form leukocytów we krwi wybranego gatunku zwierzęcia

Materiał: mikroskop; barwiony rozmaz krwi

Wykonanie: Preparat z barwionym rozmazem krwi oglądamy pod mikroskopem, w 40-krotnym powiększeniu, i rozpoznajemy poszczególne krwinki białe. W celu dokładnego zróżnicowania i

określenia procentowego składu leukocytów preparat z barwionym rozmazem krwi przesuwamy w zaplanowany sposób tak, aby uniknąć ponownego liczenia tych samych krwinek. Można przyjąć następujący schemat postępowania: oglądamy preparat z góry w dół, wzdłuż całej szerokości szkiełka, a następnie przesuwamy w prawa stronę (o jedno pole widzenia) i dalej w kierunku przeciwnym (z dołu ku górze). Każdą zaobserwowaną, w czasie przeglądania preparatu, krwinką białą klasyfikujemy. Obserwujemy i różnicujemy, co najmniej 100 krwinek białych, a następnie obliczamy procentowy udział poszczególnych rodzajów leukocytów (sporządzamy leukogram).

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jak dzielimy leukocyty i jakie są kryteria tego podziału?
- Jak rozpoznać poszczególne formy krwinek białych?
- Podaj średni procentowy udział poszczególnych form leukocytów u człowieka i zwierząt domowych.
- Wymień cechy czynnościowe wspólne dla wszystkich form leukocytów?
- Jaką rolę pełnią poszczególne rodzaje krwinek białych?
- O czym może świadczyć wzrost procentowego udziału poszczególnych rodzajów leukocytów we krwi obwodowej?

Ćwiczenie 7

Badanie wpływu jonów wapnia na proces krzepnięcia krwi.

Cel: wykazanie niezbędności wpływu jonów wapnia w procesie krzepnięcia

Materiał: świeża krew z dodatkiem 10% cytrynianu sodu; szkiełko zegarkowe; 4% roztwór CaCl_2 ; sproszkowany węgiel wapnia (kreda)

Wykonanie: Krew, zabezpieczoną przed skrzepnięciem cytrynianem sodu, nalewamy na dwa szkiełka zegarkowe. Do jednego z nich dodajemy roztwór CaCl_2 (lub szczyptę węglanu wapnia). Po upływie kilku minut obserwujemy stan skupienia krwi i wyciągamy wnioski.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Dlaczego w obecności cytrynianu sodu krew nie krzepnie?
- W jakich fazach procesu krzepnięcia krwi niezbędne są jony wapnia?
- Co to jest hipokalcemia i czy może ona prowadzić do zaburzeń w krzepnięciu krwi?

Ćwiczenie 8

Oznaczanie oporności osmotycznej krwinek czerwonych.

Cel: określenie granic „wytrzymałości” błon krwinek czerwonych na działanie obniżonego ciśnienia osmotycznego

Materiał: świeża zabezpieczona przed skrzepnięciem krew ssaka; 1% roztwór NaCl; woda destylowana; wirówka; 10 probówek; pipetki; statyw na probówki; zakraplacz; zlewki; pisak do pisania na szkle.

Wykonanie: W statywie umieszczamy 10 probówek oznaczonych kolejnymi numerami od 1 do 10. Do pipety nabieramy 10 ml 1% roztworu NaCl i wlewamy jej zawartość do probówki nr 1. Z kolejnych 10 ml 1% roztworu NaCl do probówki nr 2 wlewamy 9 ml roztworu, a do ostatniej probówki (nr 10) – resztę tj. 1 ml roztworu. W podobny sposób postępujemy z pozostałymi probówkami, wlewając do każdej następnej o 1 ml mniej roztworu NaCl. Do probówki 6 wlewamy 5 ml roztworu NaCl, po czym każdą z probówek uzupełniamy wodą destylowaną do 10 ml. W ten sposób w szeregu 10 probówek otrzymujemy roztwory NaCl o stężeniach od 1% (w probówce nr 1) do 0,1% (w probówce nr 10). Następnie do każdej probówki dodajemy po 2-3 krople krwi i delikatnie mieszamy. Po kilku minutach obserwujemy przejrzystość roztworów w kolejnych probówkach i wyciągamy wnioski. Następnie wszystkie probówki wkładamy do wirówki i wirujemy przez 10 minut (3000 obr./min). Po odwirowaniu oceniamy barwę roztworów i obserwujemy obecność krwinek na dnie probówek. Na podstawie obu obserwacji wyznaczmy oporność (minimalną i maksymalną) krwinek czerwonych. Wartości odnosimy do stężenia roztworu NaCl (w procentach), w którym zaobserwowano początek i koniec hemolizy.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Co rozumiesz przez pojęcie oporność osmotyczna erytrocytów?
- Dlaczego oporność osmotyczna krwinek nie jest wyrażana jedną liczbą?
- Jak można wykorzystać wyniki badania oporności osmotycznej?

Ćwiczenie 9

Badanie szybkości opadania krwinek.

Cel: oznaczanie szybkości sedymentacji krwinek i analiza przyczyn tego zjawiska

Materiał: świeża zabezpieczona przed skrzepnięciem krew ssaka; statyw z rurką szklaną do pomiaru opadu krwi; stoper

Wykonanie: Do zbiorniczka statywu nalewamy około 2 ml krwi, a następnie delikatnie wkręcamy nakrętkę z rurką, aż krew zostanie wepchnięta do początku skali (oznaczonej cyfrą 0). Całość umieszczamy pionowo w statywie i włączamy stoper. Odczyt opadu krwi (ilość milimetrów czystego osocza nad słupem krwi) wykonujemy dwukrotnie – po jednej i po dwóch godzinach. Aby przyspieszyć uzyskanie wyników, rurki w statywie można ustawić pod kątem 45°. Wyniki odczytujemy wówczas po 7 i 10 minutach (są one adekwatne do wspomnianych wcześniej – po 1 i 2 godzinach).

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie czynniki wpływają na szybkość sedymentacji krwinek?
- Czy opad krwi może się zmieniać w warunkach fizjologicznych?
- Jakie znaczenie diagnostyczne ma pomiar opadu krwi?
- Czy szybkość sedymentacji krwinek jest różna u różnych gatunków zwierząt? Jeśli tak, to podaj przykłady.

Ćwiczenie 10

Oznaczanie wskaźnika hematokrytowego.

Cel: ocena ilościowej proporcji między elementami morfotycznymi i osoczem krwi

Materiał: krew zabezpieczona przed skrzepnięciem; heparynizowane mikrokapilary; lignina; palnik; wirówka hematokrytowa z czytnikiem.

Wykonanie: Umieszczamy jeden koniec kapilary w probówce z krwią zabezpieczoną przed skrzepnięciem. Mikrokapilara powinna znajdować się w pozycji poziomej – wówczas krew zostaje łatwo wciągnięta dzięki sile włoskowatości (kapilarę napełniamy do $\frac{3}{4}$ objętości). Zewnętrzną stronę kapilary wycieramy ligniną, a końcówkę wolną od krwi zatapiamy nad palnikiem, po czym umieszczamy ją w rowku wirówki hematokrytowej (zatopioną końcówką na zewnątrz) i wirujemy przy 1200 obr./min przez 5 minut. Wartość hematokrytową odczytujemy na czytniku. W tym celu kapilarę wkładamy do szczeliny ruchomego ramienia statywu tak, aby dno krwinek dokładnie przylegało do poziomej kreski (zaznaczonej na tym ramieniu). Następnie ustawiamy ramię statywu z kapilarą na podziałce 100%, a ruchomą linię czytnika (przekątną) – na wysokości górnego menisku osocza w kapilarze. Ruchome ramię statywu wraz z kapilarą przesuwamy w lewą stronę – do momentu, w którym linia przekątna przetnie menisk krwinek w kapilarze. Procentową zawartość elementów morfotycznych badanej krwi odczytujemy na podziałce czytnika (u góry przyrządu) w miejscu, w którym zatrzymało się ramię statywu z kapilarą.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Co to jest wskaźnik hematokrytowy?
- Jakie są prawidłowe wartości wskaźnika hematokrytowego krwi człowieka i psa?
- Jakie czynniki wpływają na zwiększenie (lub zmniejszenie) wartości wskaźnika hematokrytowego i jakie są tego konsekwencje?

Ćwiczenie 11

Wpływ czynników środowiska na krwinki czerwone.

- a) Badanie wpływu zmian ciśnienia osmotycznego na zachowanie się krwinek czerwonych.

Cel: obserwacja zmian morfologicznych erytrocytów umieszczonych w roztworach o różnym ciśnieniu osmotycznym

Materiał: świeża zabezpieczona przed skrzepnięciem krew ssaka; szkiełko podstawowe; szkiełka nakrywkowe; probówki; 0,65% roztwór NaCl; 5% roztwór NaCl; pipetki; mikroskop.

Wykonanie: Do jednej probówki nalewamy około 10ml 0,65% NaCl, a do drugiej taką samą ilość 5% NaCl. Do obu probówek dodajemy 2-3 krople krwi i delikatnie mieszamy zawartość. Następnie наносimy po jednej kropli każdego roztworu na przeciwległe brzegi szkiełka podstawowego i przykrywamy szkiełkami nakrywkowymi. Tak przygotowane preparaty oglądamy pod mikroskopem najpierw przy 10. krotnym, a następnie 40. krotnym powiększeniu.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jak zachowują się krwinki w roztworze hipotonicznym, a jak w hipertonicznym?
- Dlaczego obserwujemy zmiany mikroskopowe krwinek zawieszonych w tych roztworach?
- Czy zaobserwowane w doświadczeniu zmiany mogą zachodzić w organizmie? Podaj przykłady.

- b) Hemoliza krwi

Cel: obserwacja wpływu różnych substancji chemicznych na błonę komórkową krwinek czerwonych

Materiał: krew ssaka zabezpieczona przed skrzepnięciem; probówki; 0,9% roztwór NaCl; chloroform; alkohol; 1,5% roztwór mocznika; 10% kwas octowy; 0,5% zasada sodowa; pisak do pisania na szkle.

Wykonanie: Do 5. ponumerowanych probówek (1-5) dodajemy 3-5 ml 0,9% roztworu NaCl i po 3-4 krople krwi. Powstała zawiesina komórek pozostaje nieprzezroczysta i mętna. Następnie do kolejnych probówek dodajemy odpowiednio po 1-3 ml: chloroformu, alkoholu, 1,5% roztworu mocznika, 10% kwasu octowego, 0,5% zasady sodowej. Zawartość probówek delikatnie mieszamy, a następnie oglądamy płyn pod światło, analizujemy i wyciągamy wnioski (w razie wątpliwości roztwory w probówkach można odwirować).

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Co rozumiesz przez pojęcie hemolizy i pojęcie czynników hemolizujących?
- Czy łatwo jest zhemolizować krwinki czerwone w organizmie? Jakie, według Ciebie, mogą być przyczyny hemolizy?
- Jakie są objawy znacznej hemolizy wewnątrzustrojowej?

Ćwiczenie 12

Oznaczanie grup krwi u człowieka.

Cel: poznanie metody oznaczania grup krwi u człowieka

Materiał: szkiełka podstawowe i nakrywkowe; jednorazowe igły do nakłuwania; środek dezynfekcyjny; surowice testowe grup A, B; bagietka szklana; mikroskop.

Wykonanie: Na oczyszczone (odtłuszczone) szkiełko podstawowe наносimy po kropli każdej surowicy testowej: po lewej stronie szkiełka – surowicę grupy A, po prawej stronie – surowicę grupy B. Należy uważać, aby nie mieszać ze sobą poszczególnych surowic. Następnie dezynfekujemy skórę i nakłuwamy palec. Rogiem drugiego szkiełka podstawowego zbieramy kroplę wyciekającej krwi, dodajemy do kropli pierwszej surowicy testowej i dokładnie mieszamy. Drugim (czystym) rogiem szkiełka podstawowego наносimy krew do drugiej kropli surowicy. Obserwujemy, w których kroplach surowic wzorcowych zaszła aglutynacja (krwinki zlepiają się w grudki). Przy braku aglutynacji krwinki nie zlepiają się, lecz tworzą z surowicą jednorodną mieszaninę. W razie wątpliwości możemy poszczególne próbki obejrzeć pod mikroskopem. Wystąpienie aglutynacji (lub jej brak) daje podstawę do określenia grup krwi.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Według jakiego kryterium wyodrębnia się główne grupy krwi u człowieka?
- Od czego zależy wystąpienie aglutynacji krwinek?
- Czy uważasz za słuszne stwierdzenie, że osoba z grupą krwi „0” jest uniwersalnym dawcą krwi?
- Czy badanie układów grupowych krwi u zwierząt można wykorzystywać w pracy hodowlanej?

Ćwiczenie 13

Oznaczanie czynnika Rh.

Cel: wykazanie obecności antygeny „D” w błonie komórkowej erytrocytów człowieka

Materiał: szkiełka podstawowe i nakrywkowe; jednorazowe igły do nakłuwania; środek dezynfekcyjny; surowica testowa anty D; bagietka szklana; mikroskop.

Wykonanie: Na oczyszczone (odtłuszczone) szkiełko podstawowe наносimy kroplę surowicy testowej. Następnie dezynfekujemy skórę i nakłuwamy palec. Rogiem drugiego szkiełka podstawowego zbieramy kroplę wyciekającej krwi, dodajemy do kropli surowicy testowej i dokładnie mieszamy. Obserwujemy, czy zaszła aglutynacja (wynik dodatni świadczy o obecności antygeny „D”). W razie wątpliwości możemy poszczególne próbki obejrzeć pod mikroskopem.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Czy u osób z grupą krwi Rh⁻ przeciwciała „anty-D” są obecne w osoczu krwi od urodzenia? jeśli nie, to co jest niezbędne do ich wytworzenia?
- Co jest istotą konfliktu serologicznego? Kiedy do niego dochodzi i dlaczego?

Ćwiczenie 14

Wykonanie próby krzyżowej.

Cel: wykazanie celowości wykonywanie, przed zabiegiem przetoczenia krwi, bezpośredniej próby krzyżowej dla krwi dawcy i biorcy

Materiał: 1% roztwór szczawianu sodu; woda destylowana; szkiełka podstawowe; jednorazowe igły do nakłuwania; środek dezynfekcyjny; bagietka szklana; pipetka.

Wykonanie: Pobieramy kroplę krwi z palca człowieka i umieszczamy ją na szkiełku podstawowym. Dodajemy do niej kroplę wody destylowanej (w celu spowodowania hemolizy) oraz kroplę 1% roztworu szczawianu sodu (aby zapobiec wytworzeniu skrzepu). Do tak przygotowanego preparatu (surowicy „biorcy”) dodajemy kroplę krwi włośniczkowej innej osoby („dawcy”). Po dokładnym wymieszaniu obserwujemy, czy wystąpiło zjawisko aglutynacji i wyciągamy wnioski.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Na podstawie otrzymanego wyniku oceń, czy krew „dawcy” mogłaby być przetoczona do organizmu „biorcy”.

Ćwiczenie 15

Obserwacja heteroaglutynacji.

Cel: wykazanie występowania aglutynacji krwinek przy mieszaniu obcej gatunkowo krwi

Materiał: surowica krwi zwierzęcia np. kozy, krowy, świni, królika; szkiełka podstawowe i nakrywkowe; jednorazowe igły do nakłuwania; środek dezynfekcyjny; bagietka szklana; pipetka, mikroskop.

Wykonanie: Na brzegi szkiełka podstawowego наносimy pipetką po jednej kropli surowicy krwi zwierzęcej. Następnie, po zdezynfekowaniu i nakłuciu opuszki palca człowieka, rogiem innego szkiełka podstawowego pobieramy kroplę krwi i łączymy ją z obcogatunkową surowicą. Po dokładnym, ale ostrożnym wymieszaniu obserwujemy, czy doszło do aglutynacji. w razie wątpliwości mieszankę przykrywamy szkiełkiem nakrywkowym i oglądamy pod mikroskopem.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Czego dowodzi obserwowana aglutynacja krwinek?

Ćwiczenie 16

Osluchiwanie tonów serca u człowieka.

Cel: osłuchiwanie efektów akustycznych (tonów) towarzyszących pracy serca człowieka

Materiał: stetoskop

Wykonanie: Osoba badana zdejmuje odzież z górnej części ciała. Przykładamy słuchawkę stetoskopu do ściany klatki piersiowej w okolicę, gdzie tony są najlepiej słyszalne. Ton skurczowy (pierwszy) osłuchujemy w 5 przestrzeni międzyżebrowej. Po lewej stronie mostka osłuchujemy pracę zastawki dwudzielnej, natomiast po stronie prawej – pracę zastawki trójdzielnej. Ton rozkurczowy (drugi) jest najlepiej słyszalny w drugiej przestrzeni międzyżebrowej, po obu stronach mostka, przy czym ton zastawki półksiężycowatej aorty słyszalny jest dobrze po stronie prawej, zaś zastawki tętnicy płucnej – po stronie lewej.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie są przyczyny powstawania tonu skurczowego i rozkurczowego?
- Jakie znaczenie diagnostyczne ma osłuchiwanie tonów serca?
- Czym spowodowane są szmery serca?

Ćwiczenie 17

Obserwacja uderzenia koniuszkowego u człowieka.

Cel: obserwacja uderzenia koniuszka serca o ścianę klatki piersiowej człowieka

Wykonanie: Uderzenie koniuszkowe serca najlepiej obserwować u osoby szczupłej. Osoba badana zdejmuje odzież z górnej części ciała. W okolicy 5 przestrzeni międzyżebrowej, 1,5 cm w prawą stronę od linii środkowoobojczykowej, obserwujemy rytmiczne drgania ściany klatki piersiowej, wywołane zmianami położenia serca w czasie jego pracy.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie są przyczyny obserwowanego uderzenia koniuszkowego?
- Jak umieszczone jest serce wewnątrz klatki piersiowej?

Ćwiczenie 18

Badanie tętna u człowieka.

Cel: opanowanie umiejętności badania tętna u człowieka

Materiał: stoper

Wykonanie: Tętno tętnicze wyczuwamy opuszkami palców: wskazującego, środkowego i serdecznego. U człowieka tętno badamy najczęściej na tętnicy promieniowej, tuż nad stawem nadgarstkowym. Naciskając delikatnie na tętnicę, liczymy fale tętna w ciągu jednej minuty. Ćwiczenie wykonujemy w kilku powtórzeniach, określając częstość, miarowość, napięcie i szybkość tętna. Tętno jest dobrze wyczuwalne również na tętnicy szyjnej wspólnej, skroniowej powierzchownej i tętnicy grzbietowej stopy.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Podaj definicję tętna tętniczego.
- Jakich informacji dostarcza badanie tętna?
- W jakim miejscu badamy tętno u psów i innych zwierząt domowych? Podaj prawidłowe wartości.
- Na co może wskazywać brak miarowości i słabe napięcie tętna?

Ćwiczenie 19

Pomiar ciśnienia krwi u człowieka.

Cel: poznanie metody osłuchowej pomiaru ciśnienia krwi u człowieka

Materiał: stetoskop; sfigmomanometr; środek dezynfekcyjny; wata (do dezynfekcji słuchawek stetoskopu)

Wykonanie: Osoba, u której wykonujemy pomiar ciśnienia krwi, siedząc wygodnie na krześle, opiera swobodnie przedramię o stół. Na odsłonięte ramię (powyżej zgięcia łokciowego) nakładamy mankiet manometru. Następnie do mankietu wprowadzamy powietrze (za pomocą gumowej gruszki) do momentu wskazania na skali manometru ciśnienia około 200 mmHg (zamykając w ten sposób przepływ krwi w tętnicy). Słuchawkę stetoskopu przykładamy do tętnicy w zgięciu łokciowym. Wypuszczając powoli z mankietu powietrze, obserwujemy manometr. W momencie, gdy ciśnienie w mankiecie spadnie nieco poniżej ciśnienia skurczowego, krew zaczyna przeciskać się przez zwężone naczynie, co wywołuje efekt akustyczny słyszalny, jako uderzenie w słuchawkach stetoskopu. W tym momencie odcytujemy wskazanie manometru – wyznacza ono wielkość ciśnienia skurczowego. Uderzenia w słuchawkach są słyszalne do czasu pełnej relaksacji tętnicy (krew zaczyna płynąć „swobodnie”), czyli do czasu zrównania się ciśnienia w mankiecie z ciśnieniem rozkurczowym tętnicy. Zatem wielkość ciśnienia skurczowego odcytujemy na skali manometru w momencie pojawienia się pierwszych efektów akustycznych, a wielkość ciśnienia rozkurczowego – w chwili ich zaniku.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Od jakich czynników zależy ciśnienie tętnicze krwi?
- Jaki jest rozkład ciśnień w układzie sercowo-naczyniowym?
- Jakie są prawidłowe wartości ciśnienia krwi u dorosłych ludzi i psów?
- Jakie czynniki mogą powodować wzrost ciśnienia krwi?
- O czym może świadczyć zbyt duża różnica między ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym?

Ćwiczenie 20

Wpływ wysiłku fizycznego na tętno i ciśnienie krwi.

Cel: zbadanie wpływu umiarkowanego wysiłku fizycznego na tętno i ciśnienie krwi u człowieka

Materiał: stetoskop; sfigmomanometr; stoper, środek dezynfekcyjny; wata (do dezynfekcji słuchawek stetoskopu)

Wykonanie: Badanej osobie mierzymy ciśnienie krwi i tętno (patrz ćwiczenia nr 18 i 19), po czym (bez demontażu ciśnieniomierza) wykonuje ona kilkanaście przysiadów. Bezpośrednio po wysiłku fizycznym powtórnie mierzymy ciśnienie krwi i tętno. Pomiar powtarzamy po 10 minutowym odpoczynku. W ćwiczeniu powinny uczestniczyć kobiety i mężczyźni oraz w miarę możliwości – osoby czynnie uprawiające sport. Wyniki należy przeanalizować, uwzględniając płeć i wytrenowanie organizmu.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Czym uzasadnisz wzrost częstotliwości pracy serca i zwiększenie ciśnienia krwi bezpośrednio po wysiłku fizycznym?
- Jak regulowane są praca serca i napięcie mięśni gładkich ścian naczyń tętniczych?
- W jakich obszarach organizmu zwiększa się przepływ krwi podczas wysiłku fizycznego i dlaczego?
- Czy zmiany badanych wskaźników zależą od stopnia wytrenowania organizmu? Jeśli tak, to dlaczego.

Ćwiczenie 21

Analiza jakościowa składu śliny.

Cel: wykazanie obecności w ślinie wybranych składników organicznych i nieorganicznych

Materiał: materiałem do badań jest nierozcieńczona ślina człowieka. Aby otrzymać nierozcieńczoną, mało spienioną, mieszaną ślinę ludzką, należy: lekko otworzyć usta, wargę dolną wysunąć ku przodowi i

na dół (w celu odsunięcia jej od dziąseł), a koniuszek języka podnieść do góry i zagiąć ku tyłowi. Można też w tym celu żuć gumę. Tak zgromadzoną w jamie ustnej ślinę wypluwamy do zlewki – czynność tę powtarzamy kilkakrotnie.

a) Oznaczanie pH śliny

Wykonanie: Pasek papierka lakmusowego zanurzamy w badanej ślinie na 1 s. po wyjęciu papierka czekamy 30-45 sekund i porównujemy jego zabarwienie ze skalą barw umieszczoną na opakowaniu.

b) Wykrywanie obecności białka w ślinie – reakcje biuretowa

Wykonanie: Do 1 ml badanej śliny dodajemy kolejno 1 ml 10% NaOH i parę kropli 1% CuSO₄. Obecność białka wskazuje pojawienie się czerwono-fioletowego zabarwienia.

Ćwiczenie 22

Badanie etapów rozkładu skrobi przez amylazę ślinową.

Cel: wykazanie stopniowej hydrolizy skrobi przez amylazę ślinową

Materiał: rozcieńczona ślina człowieka; płyn Lugola; 1% roztwór przegotowanej skrobi; woda destylowana; porcelanowe płytki z zagłębieniami; zakraplacz; pipety; bagietka; 2 zlewki; probówki

Wykonanie: Przygotowujemy roztwór śliny człowieka. Po wypłukaniu jamy ustnej nabieramy do ust małą porcję wody destylowanej, którą po 2-3 minutach przepłukiwania wypluwamy do zlewki. Czynność tę powtarzamy kilka razy.

Do zagłębień porcelanowej płytki наносimy, za pomocą pipetki lub zakraplacza, kilka kropel płynu Lugola – do każdego zagłębienia wlewamy zawsze taką samą ilość. Do pierwszego zagłębienia wprowadzamy 1-2 krople roztworu skrobi; zawartość mieszamy bagietką.

Odmierzamy do probówki 2-3 ml roztworu śliny, a następnie 5 ml 1% roztworu przegotowanej skrobi, zawartość dokładnie mieszamy.

Co 20-30 sekund наносimy 1-2 krople mieszaniny z probówki do kolejnych zagłębień płytki i mieszamy bagietką ich zawartość. Nanoszenie mieszaniny kończymy wtedy, kiedy po dodaniu do płynu Lugola jej barwa się nie zmienia.

Obserwujemy, jak w miarę upływu czasu i postępującej hydrolizy skrobi przez amylazę ślinową zmieniają się kolory w kolejnych zagłębieniach płytki. Przy prawidłowo wykonanym ćwiczeniu otrzymujemy skalę barw od kontrolnej granatowej, poprzez niebieską, różne odcienie niebieskofioletowej, czerwono-fioletowej, czerwonej, czerwono-brunatnej, jasno-brunatnej do barwy słomkowo-żółtej, charakterystycznej dla płynu Lugola.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jaki jest przeciętny czas przebywania kęsów pokarmu w jamie ustnej człowieka i innych zwierząt domowych w tym psa?
- W którym odcinku przewodu pokarmowego dochodzi do końcowej hydrolizy skrobi i rozłożenia jej na cząsteczki dwucukru – maltozy przez amylazę ślinową?

Ćwiczenie 23

Badanie aktywności amylazy ślinowej w różnych warunkach środowiska.

Cel: wyznaczenie optymalnych warunków do przebiegu reakcji hydrolizy skrobi oraz określenie czynników inaktywujących lub zmniejszających aktywność amylazy

Materiał: rozcieńczona ślina człowieka; rozcieńczony do barwy słomkowej płyn Lugola; 1% roztwór przegotowanej skrobi; 1% zawiesina nieprzegotowanej skrobi; woda destylowana; 0,5% roztwór HCl; 0,5% roztwór NaOH; pipety miarowe – 1 i 2 ml; probówki; zlewki – 50 ml; zakraplacz; naczynie z lodem; łaźnia wodna lub ciepłarka o temperaturze 38°C; wrząca łaźnia wodna lub palnik gazowy; łapka do trzymania probówek; mazak do pisania po szkle

Wykonanie: Przygotowujemy rozcieńczoną ślinę człowieka. W tym celu przygotowujemy dwie zlewki, do jednej z nich nalewamy około 50 ml wody destylowanej. Nabieramy do jamy ustnej około 10-15 ml wody i płuczemy przez około 2-3 min. Zawartość wypluwamy do zlewki. Czynność powtarzamy 2-3 krotnie.

Do 7 ponumerowanych probówek (1-7) nalewamy kolejno:

- **probówka nr 1** - 2 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml wody destylowanej;
- **probówka nr 2** - 2 ml śliny;

(probówki nr 1 i 2 umieszczamy w naczyniu z lodem – schładzamy zarówno substrat, jak i enzym)

- **probówka nr 3** - 2 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml wody destylowanej + 2 ml śliny;
- **probówka nr 4** - 2 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml 0,5% NaOH + 2 ml śliny;
- **probówka nr 5** - 2 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml 0,5% HCl + 2 ml śliny;
- **probówka nr 6** - 2 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml wody destylowanej + 2 ml przegotowanej i ostudzonej śliny;
- **probówka nr 7** - 2 ml 1% zawiesiny surowej skrobi + 1 ml wody destylowanej + 2 ml śliny.

Przelewamy zawartość probówki nr 1 (schłodzony substrat) do probówki nr 2, którą ponownie umieszczamy w naczyniu z lodem. Probówki nr 3, 4, 5, 6 i 7 wkładamy na 10 minut do łaźni wodnej lub ciepłarki o temperaturze 38°C. Po wyjęciu probówek z łaźni dodajemy do każdej z nich oraz do probówki nr 2 (znajdującej się nadal z naczyniu z lodem) po kilka kropel płynu Lugola i mieszamy zawartość. Na podstawie zabarwienia mieszanin w probówkach określamy, w jakich warunkach środowiska doszło do hydrolizy skrobi przez amylazę ślinową (ciemnoniebieskie zabarwienie roztworu w probówce świadczy o obecności skrobi).

Następnie wyjmujemy probówkę nr 2 z naczynia z lodem i umieszczamy ją na kilka minut w statywie, w temperaturze pokojowej i obserwujemy zachodzące zmiany barwy zawartej w niej mieszaniny.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie są optymalne warunki dla działania amylazy ślinowej?
- Jakie czynniki inaktywują amylazę ślinową, a jakie zmniejszają jej aktywność?
- Dlaczego po pewnym czasie zmienia się i zanika granatowe zabarwienie mieszaniny w probówce nr 2?

Ćwiczenie 24

Obserwacja pierwotniaków żwacza pod mikroskopem.

Cel: wykazanie obecności pierwotniaków w świeżej treści żwacza

Material: treść żwacza krowy, kozy lub owcy; pipeta; szkiełka podstawowe i nakrywkowe; mikroskop

Wykonanie: Na szkiełko podstawowe nanosimy kroplę płynu żwaczowego, przykrywamy szkiełkiem nakrywkowym i przenosimy na stolik mikroskopu. Pierwotniaki oglądamy początkowo przy 10-, a następnie przy 40-krotnym powiększeniu obiektywu. Analizujemy kształt, wielkość, stopień urzęsienia i sposób poruszania się poszczególnych osobników.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jaką rolę pełnią pierwotniaki w płynie żwaczowym?
- Jakie warunki niezbędne są dla zachowania: obecności, rozmnażania się i aktywności pierwotniaków w płynie żwacza?
- W jakim wieku i pod wpływem jakich czynników dochodzi do pełnego rozwoju funkcjonalnego przedłożądków u poszczególnych gatunków przeżuwaczy?

Ćwiczenie 25

Badanie aktywności pepsyny w różnych warunkach środowiska.

Cel: określenie optymalnych warunków środowiska dla trawienia białek przez pepsynę oraz czynników inaktywujących ten enzym proteolityczny

Materiał: 0,4% roztwór pepsyny w 0,4% HCl; 0,4% roztwór HCl; 1% roztwór Na₂CO₃; woda destylowana; włóknik zabarwiony czerwienią Kongo i dobrze wypłukany; papierki lakmusowe; pipety miarowe – 1 i 2 ml; probówki, naczynie z lodem, łaźnia wodna lub cieplarka o temperaturze 38°C; wrząca łaźnia wodna lub palnik gazowy i łapka do trzymania probówek; mazak do pisania po szkle.

Wykonanie: Do 5 ponumerowanych probówek (1-5) nalewamy kolejno:

- **probówka nr 1** - 1 ml 0,4% HCl + 2 ml 0,4% pepsyny; probówkę umieszczamy w naczyniu z lodem
- **probówka nr 2** - 1 ml 0,4% HCl + 2 ml 0,4% pepsyny;
- **probówka nr 3** - 1 ml 1% Na₂CO₃ + 2 ml 0,4% pepsyny;
- **probówka nr 4** - 1 ml 0,4% HCl + 2 ml 0,4% pepsyny wcześniej zagotowanej i ostudzonej;
- **probówka nr 5** - 1 ml 0,4% HCl + 2 ml wody destylowanej.

Zawartość probówek dokładnie mieszamy, po czym papierkiem lakmusowym sprawdzamy pH roztworów.

Do każdej probówki wkładamy mały kawałek zabarwionego włóknika (białko, które ma ulec hydrolizie). Probówki nr 2-5 na 10 minut umieszczamy w łaźni wodnej lub cieplance o temperaturze 38°C, natomiast probówkę nr 1 pozostawiamy w naczyniu z lodem.

Po wyjęciu probówek z łaźni obserwujemy różnice zabarwienia roztworów i strukturę włóknika. Na proteolizę wskazuje zabarwienie roztworu. Wyjmujemy probówkę nr 1 z naczynia z lodem i umieszczamy ją na kilka minut w statywie, w temperaturze pokojowej; obserwujemy zachodzące zmiany w zabarwieniu roztworu i w strukturze włóknika.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie znaczenie ma pepsyna w trawieniu białka pokarmowego?
- Jakie środowisko pH jest wymagane dla zachowania enzymatycznej aktywności pepsyny?
- Jaką rolę pełni kwas solny w żołądku?

Ćwiczenie 26

Badanie aktywności podpuszczki.

Cel: określenie roli podpuszczki i znaczenia jonów wapnia w trawieniu białek mleka

Materiał: świeże mleko krowie lub kozie; mleko handlowe; 0,1% roztwór podpuszczki, 5% roztwór cytrynianu sodu; 10% roztwór CaCl₂, pipety miarowe – 1 i 5 ml; probówki; cieplarka o temperaturze 38°C; wrząca łaźnia wodna lub palnik gazowy; łapka do trzymania probówek; mazak do pisania po szkle

Wykonanie: Do 6 ponumerowanych probówek nalewamy kolejno:

- **probówka nr 1** - 3 ml świeżego mleka + 1 ml 0,1% podpuszczki;
- **probówka nr 2** - 3 ml świeżego mleka + 1 ml 0,1% podpuszczki, wcześniej zagotowanej i ostudzonej;
- **probówka nr 3** - 3 ml świeżego mleka + 1 ml 5% cytrynianu sodu + 1 ml 0,1% podpuszczki;
- **probówka nr 4** - 3 ml mleka handlowego + 1 ml 0,1% podpuszczki;
- **probówka nr 5** - 3 ml mleka handlowego + 1 ml 0,1% podpuszczki, wcześniej zagotowanej i ostudzonej;
- **probówka nr 6** - 3 ml mleka handlowego + 1 ml 5% cytrynianu sodu + 1 ml 0,1% podpuszczki.

Wszystkie probówki wkładamy na 10 minut do cieplarki o temperaturze 38°C. Po wyjęciu probówek z cieplarki wyciągamy wnioski. Pod wpływem działania podpuszczki jedna z frakcji kazeinowych mleka – kappa kazeina w obecności wolnych jonów wapnia wytraca się w postaci parakazeinianu wapnia, powstaje galaretowaty skrzep – koagulat podpuszczkowy.

W probówkach nr 3 i 6 związanie jonów wapnia (powstaje cytrynian wapnia) uniemożliwiło wytracenie parakazeinianu. W związku z tym dodajemy 1 ml 10% CaCl_2 , do tych probówek (nr 3 i 6) oraz jeśli nie stwierdzimy koagulatu do probówki nr 4. Probówki te ponownie umieszczamy na 10 minut w cieplarni, po wyjęciu obserwujemy powstałe w trakcie inkubacji zmiany.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Uzasadnij celowość wytracania się w żołądku oseska parakazeinianu wapnia.

Ćwiczenie 27

Wykazanie amylolytycznych właściwości soku trzustkowego.

Cel: wykazanie obecności α -amylazy w soku trzustkowym

Materiał: sok trzustkowy; 1% roztwór skrobi przegotowanej; 1% roztwór skrobi nieprzegotowanej; 5% roztwór NaCl; woda destylowana; płyn Lugola, pipety; probówki; cieplarnia; pisaki do pisania po szkle.

Wykonanie: Do 3 ponumerowanych probówek (1-3) nalewamy kolejno:

- **probówka nr 1** - 5 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml 5% NaCl + 2 ml soku trzustkowego;
- **probówka nr 2** - 5 ml 1% nieprzegotowanej skrobi + 1 ml 5% NaCl + 2 ml soku trzustkowego;
- **probówka nr 3** - 5 ml 1% przegotowanej skrobi + 1 ml 5% NaCl + 2 ml wody destylowanej

Zawartość probówek dokładnie mieszamy, po czym umieszczamy na 10-15 minut w cieplarni o temperaturze 38°C . Po wyjęciu probówek z cieplarki dodajemy do nich kilka kropeł płynu Lugola i mieszamy zawartość. Obserwujemy barwę mieszaniny w probówkach.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Na jaki rodzaj skrobi działa amylaza trzustkowa? Porównaj to z działaniem amylazy ślinowej.
- Czy zawartość i aktywność amylazy w soku trzustkowym zwierząt wszystkożernych i mięsożernych są, według Ciebie porównywalne? Jeśli nie, to podaj powód występujących różnic.

Ćwiczenie 28

Wykazanie lipolitycznych właściwości soku trzustkowego.

Cel: wykazanie obecności lipazy w soku trzustkowym

Materiał: sok trzustkowy; świeże mleko krowie; 5% Na_2CO_3 ; fenoloftaleina; woda destylowana; pipety; probówki; cieplarnia; pisaki do pisania po szkle.

Wykonanie: Do 2 ponumerowanych probówek nalewamy po 5 ml mleka i 1-2 krople fenoloftaleiny, a następnie, mieszając zawartość probówek, dodajemy stopniowo pojedynczymi kroplami 5% Na_2CO_3 – do uzyskania trwałego różowego zabarwienia, świadczącego o zalkalizowaniu mleka.

Następnie do probówki nr 1 nalewamy 1 ml soku trzustkowego, a do probówki nr 2 – 1 ml wody destylowanej. Obie probówki wstawiamy na około 20 minut do cieplarki o temperaturze 38°C . W czasie inkubacji kilkakrotnie mieszamy zawartość probówek.

Po umieszczeniu probówek w statywie analizujemy zabarwienie znajdujących się w nich mieszanin. W wyniku hydrolizy triglicerydów mleka przez lipazę trzustkową i w wyniku uwalniania się wolnych kwasów tłuszczowych roztwór w probówce nr 1 stopniowo odbarwia się na skutek zakwaszenia środowiska.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Dlaczego, chcąc wykazać lipolityczne właściwości soku trzustkowego, użyliśmy tłuszczu mleka, a nie np. oleju roślinnego?
- Czego musielibyśmy dodać do probówek, chcąc wykazać hydrolizę triglicerydów oleju roślinnego przez lipazę trzustkową?

Ćwiczenie 29

Wykazanie proteolitycznych właściwości soku trzustkowego.

Cel: wykazanie obecności w soku trzustkowym enzymów trawiących białka

Material: sok trzustkowy; włóknik zabarwiony czerwienią Kongo, 1% Na₂CO₃; 0,5% roztwór HCl; woda destylowana; pipety; probówki; ciepłarka; naczynie z lodem; pisaki do pisania po szkle.

Wykonanie: Do 4 ponumerowanych probówek (1-4) nalewamy kolejno:

- **probówka nr 1** - 2 ml soku trzustkowego + 1 ml 1% Na₂CO₃
- **probówka nr 2** - 2 ml soku trzustkowego + 1 ml 1% Na₂CO₃
- **probówka nr 3** - 2 ml soku trzustkowego + 1 ml 0,5% HCl
- **probówka nr 4** - 2 ml wody destylowanej + 1 ml 1% Na₂CO₃

Zawartość probówek dokładnie mieszamy i we wszystkich umieszczamy po niewielkim kawałku zabarwionego włóknika. Probówkę nr 1 umieszczamy do naczynia z lodem, a trzy pozostałe probówki wkładamy na 15 minut w ciepłarcę o temperaturze 38°C. Po wyjęciu probówek z ciepłarki analizujemy zabarwienie znajdujących się w nich roztworów i strukturę włóknika. O hydrolizie białka świadczy wyraźne zabarwienie roztworu, powstałe na skutek uwolnienia zaabsorbowanych wcześniej przez włóknik cząsteczek barwnika.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie enzymy proteolityczne znajdują się w soku trzustkowym?
- W jakim środowisku enzymy te wykazują swoją aktywność?
- Jak temperatura środowiska wpływa na aktywność enzymów proteolitycznych soku trzustkowego?

Ćwiczenie 30

Wykazanie emulgującego (obniżającego napięcie powierzchniowe) działania żółci.

Cel: określenie roli żółci w trawieniu tłuszczów

Material: żółć bydlęca; 1% roztwór NaHCO₃, woda destylowana; olej jadalny; sproszkowany grafit; pipety; probówki; pisaki do pisania po szkle.

- a) Obserwacja emulgującego działania żółci

Wykonanie: Do 3 ponumerowanych probówek (1-3) nalewamy kolejno:

- **probówka nr 1** – 9 ml wody destylowanej + 1 ml oleju
- **probówka nr 2** – 9 ml 1% roztworu NaHCO₃ + 1 ml oleju
- **probówka nr 3** – 7 ml 1% roztworu NaHCO₃ + 2 ml żółci + 1 ml oleju

Uważnie obserwujemy strukturę i rozwarstwienie mieszanin w probówkach, po czym wszystkie intensywnie wytrząsamy, przez około 2 minuty i odkładamy do statywu. Po odstaniu oceniamy stopień zmętnienia roztworów w probówkach i strukturę znajdującego się na powierzchni oleju. Pod wpływem kwasów żółciowych duże krople tłuszczu ulegają emulgacji – rozdrobnieniu na drobne kuleczki.

- b) Obserwacja obniżania napięcia powierzchniowego przez żółć (próba Haya)

Wykonanie: Przygotowujemy dwie probówki. Do pierwszej nalewamy 5 ml wody destylowanej, a do drugiej – 3 ml wody destylowanej i 2 ml żółci. Zawartość probówek starannie mieszamy, po czym do obu ostrożnie wsypujemy odrobinę sproszkowanego grafitu; uważnie obserwujemy zachowanie się drobin. Drobiny w probówce z samą wodą destylowaną, mimo większej od wody masy właściwej, utrzymują się na powierzchni. Przyczyną tego jest duże napięcie powierzchniowe wody. W probówce z żółcią drobiny opadają na dno, bowiem kwasy żółciowe, zebrane w warstwie powierzchniowej roztworu, zmniejszają napięcie powierzchniowe wody, co umożliwia przerwanie warstwy wody.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jaka korzyść dla trawienia tłuszczów płynie z emulgującego działania żółci?
- Jaka jest rola żółci we wchłanianiu kwasów tłuszczowych?
- Jaką rolę pełnią zawarte w żółci węglany?

Ćwiczenie 31

Badanie właściwości fizycznych moczu różnych gatunków zwierząt.

Cel: ocena barwy, przejrzystości, konsystencji, odczynu i ciężaru właściwego moczu oraz porównanie cech fizycznych moczu zwierząt różnych gatunków

Material: mocz (kozy, owcy, konia, psa); zlewki; cylindry miarowe; urometr; papierki wskaźnikowe

Wykonanie: W pierwszej kolejności oceniamy barwę, przejrzystość i konsystencję moczu. Mocz oglądamy w świetle naturalnym. Barwa moczu powinna się mieścić w przedziale od jasnożółtej do bursztynowej. W przypadku innego zabarwienia moczu należy opisać barwę i określić prawdopodobne przyczyny jej zmiany. Prawidłowy mocz powinien być klarowny. W przypadku zmętnienia należy zinterpretować przyczynę i podać, czy jest to zjawisko fizjologiczne i patologiczne. Przy ocenie konsystencji należy zwrócić uwagę na stopień rozcieńczenia moczu oraz na ewentualną obecność śluzu. Odczyn moczu badamy papierkiem wskaźnikowym – na papierek наносimy krople moczu i powstałe zabarwienie porównujemy ze skalą barw. Ciężar właściwy oznaczmy urometrem kalibrowanym od 1,000 do 1,060 g/cm³. W tym celu badany mocz nalewamy do cylindra miarowego, po czym umieszczamy w nim starannie oczyszczony urometr tak, aby swobodnie pływał (nie dotykając dna ani ścian cylindra). Ciężar właściwy odczytujemy na skali urometru (w miejscu granicznym między cieczą a powietrzem).

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Od czego zależy barwa moczu?
- Dlaczego mocz konia jest mętny?
- Jaka jest zależność między rodzajem spożywanego pokarmu a odczynem moczu?

Ćwiczenie 32

Badanie wpływu obciążenia organizmu wodą na wielkość diurezy oraz ciężar właściwy moczu.

Cel: ocena zależności pomiędzy obciążeniem organizmu wodą a czynnością nerek człowieka

Material: zlewki; cylindry miarowe; urometr; woda

Wykonanie: Oznaczamy wielkość diurezy minutowej u badanej osoby. W tym celu dokładnie mierzymy czas pomiędzy dwoma kolejnymi opróżnieniami pęcherza moczowego i mierzymy ilość moczu zebranego w tym czasie w pęcherzu. Następnie podajemy badanej osobie do wypicia 1 l wody. Po upływie pół godziny przystępujemy do ponownego oznaczenia wielkości diurezy minutowej, dwukrotnie (w odstępach wynoszących około 0,5 godziny). Mierzmy ciężar właściwy zebranych próbek moczu oraz oceniamy barwę moczu.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Co oznacza termin „molalność”?
- W jaki sposób nerki kontrolują gospodarkę wodną?

Ćwiczenie 33

Test na zawartość glukozy i ciał ketonowych w moczu człowieka.

Cel: wykazanie braku obecności glukozy i ciał ketonowych w moczu zdrowego człowieka

Material: świeży mocz człowieka; testy paskowe do oznaczenia glukozy i ciał ketonowych (Keto-Diastix)

Wykonanie: Pasek testowy (po uprzednim sprawdzeniu, czy pola testowe nie wykazują zmian zabarwienia) zanurzamy w świeżym moczu. Po upływie kilkunastu sekund porównujemy powstałe

zabarwienie ze skalą barwną dołączoną do testu; odczytujemy wynik. Przed przystąpieniem do odczytania wyników zapoznajemy się ze wskazówkami zawartymi w instrukcji.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- O czym świadczy obecność glukozy w moczu?
- Wyjaśnij pojęcie „próg nerkowy”
- Na co może wskazywać obecność w moczu ciał ketonowych?
- Jaki mocz nazywamy patologicznym? Wymień składniki patologiczne moczu.

Ćwiczenie 34

Mechanizm wentylacji płuc – preparat Dondersa.

Cel: wykazanie wpływu podciśnienia na wentylację płuc

Materiał: gotowy preparat Dondersa

Wykonanie: Pociągając gumową membranę, przy dnie butelki, w dół (imitując w ten sposób ruch przepony w czasie wdechu) wytwarzamy w butelce podciśnienie, czego następstwem jest rozszerzenie się płuc i wypełnienie ich powietrzem przedostającym się przez wolny wlot kaniulki. Przy zwolnieniu membrany i lekkim wtłoczeniu jej do wnętrza butelki obserwujemy zapadanie się płuc.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Wyjaśnij przyczynę obserwowanych zmian w objętości płuc.
- Jaki jest mechanizm powstawania zmian objętości klatki piersiowej, ciśnienia w jamie opłucnowej oraz w pęcherzykach płucnych podczas wdechu i wydechu?

Ćwiczenie 35

Pomiar pojemności życiowej płuc i jej składowych przy użyciu spirometru.

Cel: określenie pojemności życiowej płuc u człowieka oraz objętości powietrza oddechowego, uzupełniającego i zapasowego

Materiał: spirometr Barnesesa, waciki, alkohol do odkażania

Wykonanie: Wykonując maksymalny wdech do spirometru, po wykonanym wcześniej maksymalnym wdechu, oznaczamy pojemność życiową płuc ($U+O+Z$). Po zakończeniu wydechu zamykamy kciukiem wlot ustnika i odczytujemy na skali objętości powietrza, odczytaną wartość zapisujemy.

Następnie oznaczamy sumę objętości powietrza oddechowego i zapasowego ($O+Z$). Wykonujemy normalny wdech, wkładamy do ust ustnik i wykonujemy maksymalny wydech, zapisujemy otrzymaną wartość. Z różnicy ($U+O+Z$) - ($O+Z$) wyliczamy objętość powietrza uzupełniającego (U).

Kolejną czynnością jest bezpośrednie oznaczenie objętości powietrza zapasowego (Z). w tym celu poza spirometrem wykonujemy normalny wydech, a pozostałe w płucach powietrze zapasowe wydychamy do spirometru (maksymalny wydech). Z różnicy ($O+Z$) - (Z) wyliczamy objętość powietrza oddechowego (O).

Każdy z pomiarów należy dokonać trzykrotnie, a z uzyskanych wyników wyliczyć wartość średnią.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Od czego zależy pojemność życiowa płuc?
- Zdefiniuj objętości powietrza składające się na objętość życiową płuc.
- Jaka część powietrza oddechowego dociera, w warunkach fizjologicznych, do pęcherzyków płucnych i uczestniczy w wymianie gazowej?
- Jaka jest fizjologiczna rola przestrzeni martwej?

Ćwiczenie 36

Badanie wpływu ukrwienia skóry człowieka na jej temperaturę.

Cel: określenie roli skórnych naczyń krwionośnych w termoregulacji

Materiał: szczoteczka z ostrym włosem; termometr

Wykonanie: W kilku dowolnie wybranych punktach na powierzchni ciała, przy użyciu termometru dokonujemy pomiaru temperatury skóry. Następnie te same miejsca pocieramy delikatnie szczoteczka przez około minutę, po czym ponownie mierzymy temperaturę w pocieranych miejscach oraz w ich bliskim sąsiedztwie. Porównujemy uzyskane wyniki i wyciągamy wnioski.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Wymień efekty termoregulacji i omów ich funkcję.
- Jakie znaczenie dla termoregulacji ma zwiększenie skórno przepływu krwi podczas upałów?
- Jak regulowany jest przepływ krwi przez skórne naczynia krwionośne?

Ćwiczenie 37

Badanie wpływu parowania wody i konwekcji na temperaturę powierzchni ciała u człowieka.

Cel: określenie wpływu parowania wody ze skóry i wymuszonej konwekcji na ochładzanie

Materiał: termometr; wentylator; alkohol lub woda; wata

Wykonanie: Termometrem mierzymy temperaturę na powierzchni obydwu dłoni. Następnie jedna z nich zwilżamy wodą lub alkoholem i monitorujemy zmiany temperatury w czasie 5 minut. Jednocześnie dokonujemy pomiarów kontrolnych temperatury skóry drugiej dłoni. Doświadczenie powtarzamy przy jednoczesnym skierowaniu na wilgotną skórę dłoni strumienia powietrza (z wentylatora). Obserwujemy wówczas wpływ wymuszonej konwekcji na szybkość oddawania ciepła. Otrzymane wyniki porównujemy i wyciągamy wnioski.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Jakie warunki muszą być spełnione, aby oddawanie ciepła przez parowanie było skuteczne?
- Jakie znasz fizjologiczne mechanizmy utraty ciepła na drodze parowania u zwierząt?

Ćwiczenie 38

Badanie wpływu wysiłku fizycznego na temperaturę ciała człowieka.

Cel: ocena wpływu pracy mięśni na temperaturę ciała człowieka

Materiał: termometr

Wykonanie: Termometrem mierzymy temperaturę w dowolnych miejscach na powierzchni ciała (policzki, czoło, nos, uszy, dłonie, dół pachowy, podudzie, przedramię). Następnie po intensywnym wysiłku fizycznym, w zależności od wydolności organizmu, mierzymy temperaturę w tych samych miejscach, uzyskane wyniki porównujemy i wyciągamy wnioski.

Zagadnienia do przemyślenia i pytania kontrolne:

- Wyjaśnij, dlaczego zmiany temperatury w badanych miejscach powierzchni ciała po wysiłku fizycznym były różne.
- Jaki jest mechanizm i znaczenie fizjologiczne termogenezy drżeniowej?