



В содержание

Лабораторная работа 1. Определение свойств возбудимых тканей

Нервная и мышечная ткани могут находиться в состоянии физиологического покоя, возбуждения и торможения.

Физиологический покой – это такое состояние, когда ткань или орган не проявляют признаков присущей им деятельности.

Возбуждение – деятельное состояние нервной и мышечной тканей, в которое они приходят под влиянием раздражения. Возбуждение – процесс распространяющийся. Возникнув в одной клетке или в одном ее участке, оно распространяется на соседние клетки или на другие участки этой же клетки.

Возбудимые ткани обладают свойством возбудимости. **Возбудимость** – свойство нервной или мышечной клетки отвечать на действие раздражителей специфическими изменениями ионной проницаемости мембраны и генерировать потенциал действия. Величина, или степень возбудимости ткани, может быть охарактеризована по силе раздражителя, вызывающего возбуждение, и по времени действия раздражителя. Наименьшая сила раздражителя, способная вызвать возбуждение, называется **пороговой силой**, или **порогом раздражения**. Раздражители большей силы, чем пороговая, называются **сверхпороговыми**, а меньшей – **подпороговыми**.

Кроме порога возбудимости у возбудимых тканей определяют также полезное время и хронаксию. Наименьшее время, в течение которого должен действовать раздражитель пороговой силы, чтобы вызвать возбуждение, называется **полезным временем**, а пороговая сила раздражителя – **реобазой**, наименьшее время действия раздражителя при удвоенной реобазе – **хронаксией**.

Одним из основных свойств живой ткани является их раздражимость, возбудимость и лабильность.

Раздражимость – это способность ткани отвечать на действие раздражителя неспецифической реакцией: изменением обмена веществ, увеличенным потреблением кислорода, выделением углекислоты и т.д.

Возбудимость – это способность ткани отвечать на раздражение присущей ей специфической реакцией (мышечная ткань – сокращением, железистая – выработкой и выделением секрета, нервная – возникновением и проведением импульсов возбуждения).

Лабильность – скорость, с которой в ткани возникает и успевает закончиться полный период отдельного импульса возбуждения. Для измерения лабильности предложен показатель – **мера лабильности**. Это максимальное число импульсов возбуждения за 1 с в ответ на такое же максимальное число раздражений.

Раздражитель – это агент внешней или внутренней среды организма, который, действуя на клетки, ткани, органы и организм в целом, вызывает возбуждение. Процесс воздействия раздражителя на живую ткань называется **раздражением**.

Раздражители по своей энергетической природе делятся на физические (механические, электрические, температурные, световые, звуковые и др.), химические (гормоны, щелочи, кислоты и т.д.) и биологические (микроорганизмы, вирусы). По биологическому значению для ткани или организма они бывают адекватными и неадекватными. Адекватные раздражители действуют на ткань в обычных условиях ее существования. К ним ткань или орган приспособились в процессе эволюции (для сетчатки глаза – свет). Неадекватные раздражители не действуют на ткань в естественных условиях (укол, удар). Раздражители, обладающие меньшей силой, носят название подпороговых, большей – сверхпороговых.

Цель работы: овладеть техникой приготовления нервно-мышечного препарата, определить пороги возбудимости нерва и мышцы и сравнить эти показатели, определить влияние различных раздражителей на нерв и мышцу.

Материалы и оборудование: лягушка, набор препаровальных инструментов (большие анатомические ножницы, малые глазные ножницы, препаровальный крючок, большой и маленький анатомический пинцеты, длинная тупая игла), препаровальный столик для фиксации лягушки, гальваническая вилка, марлевые салфетки, вата, глазная пипетка, раствор Рингера для холоднокровных или физиологический раствор, две чашки Петри, индукционная катушка или УЭС-1, компьютерная программа – Physiology simulators.



Ход работы. 1. Подготовка нервно-мышечного препарата. Лягушку обездвигивают, для этого ее завертывают в марлевую салфетку, оставляя свободной голову. Один конец ножниц вводят в ротовую полость, другой устанавливают на 0,5 см сзади от глаз и отрезают верхнюю челюсть вместе с частью головы и глазами. В спинномозговой канал вводят зонд, и разрушают спинной мозг. Затем приподнимают лягушку за задние лапки таким образом, чтобы туловище и головка оказались внизу.

Большими ножницами перерезают позвонки на 1 см впереди маклоков. С брюшной стороны срезают часть кожи и свисающие вместе с ней внутренности. Остаток позвоночника захватывают пинцетом, держа его в левой руке и снимают кожу с тазового отдела туловища и задних лапок. Ножницами отрезают копчиковую кость. Лапки вместе с тазовой частью туловища кладут на препаровальный столик спинной стороной.

Остаток позвоночника большими ножницами разрезают вдоль средней линии и затем строго по этой же линии разрезают лонное сочленение тазовых костей, разъединяя лапки. Одну из лапок покрывают марлевой салфеткой, смоченной раствором Рингера, на другой лапке продолжают препаровку.

Пинцетом захватывают кусочек позвоночника, приподнимают седалищный нерв до тазобедренного сочленения. Затем препарат переворачивают латеральной стороной вверх. Между двуглавой и перепончатой мышцами препаровальным крючком осторожно в глубине находят седалищный нерв. Нерв приподнимают и отпрепаровывают его до коленного сустава, отрезая вокруг все мышечные ткани и отходящие от седалищного нерва тонкие нервные веточки. От бедренной кости отрезают мышцы, а ее головку вылуцивают из тазобедренного сустава. Препарат – реоскопическая лапка – готов.

Приготовленный нервно-мышечный препарат помещают в чашку Петри и заливают раствором Рингера.

2. Определение порога возбудимости нерва и мышцы. Приготовленный нервно-мышечный препарат, состоящий из икроножной мышцы и седалищного нерва, кладут на препаровальный столик и увлажняют раствором Рингера. Гальванической вилкой проверяют физиологическую целостность нерва. В качестве раздражителя применяют постоянный индукционный ток.

Для определения порога возбудимости нерва седалищный нерв набрасывают на электроды от индукционной катушки. Нерв кладут на провода, сближают катушки, замыкая и размыкая ключом электрическую цепь. Находят, при каком расстоянии между катушками мышца начинает сокращаться при размыкании электрической цепи. Это расстояние показывает порог возбудимости нерва.

Для определения порога возбудимости мышцы на нее кладут провода от индукционной катушки, и опыт проводят в той же последовательности, как и при определении возбудимости нерва.

3. Особенности проведения возбуждения по нерву. Лягушку обездвигивают, готовят нервно-мышечный препарат, состоящий из икроножной мышцы и седалищного нерва, кладут его на препаровальный столик и увлажняют раствором Рингера. Гальванической вилкой проверяют физиологическую целостность нерва.

На седалищный нерв необходимо подействовать различными раздражителями: 1) электрическим (одиночным индукционным ударом), 2) механическим (пощипывание пинцетом, перерезка нерва скальпелем), 3) химическим (накладывание кристалликов хлористого натрия, раствора аммиака). При действии каждого из этих раздражителей обращают внимание на ответную реакцию нервно-мышечного препарата. Показателем возбудимости нерва служит сокращение мышцы.

Результаты и их оформление. Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

Лабораторная работа 2. Запись мышечного сокращения. Зависимость работы мышцы от растяжения

Скелетные мышцы состоят из поперечно-полосатых мышечных волокон длиной до 12 см и диаметром от 10 до 100 мк. Сократимой частью являются **миофибриллы**, поперечная их исчерченность обусловлена чередованием светлых (изотропных) участков и темных (анизотропных). Миофибриллы состоят из большого количества (до 2500) тонких и толстых **протофибрилл** – белковых нитей; толстые – образованы из белка **миозина**, тонкие – из белка **актина**.

Специфической деятельностью мышечной ткани является ее сокращение при возбуждении. Различают одиночное и тетаническое сокращения мышцы. В условиях опыта при нанесении на мышцу одиночного раздражения она отвечает **одиночным сокращением**. Если к мышце поступает несколько частых импульсов возбуждения, наступает длительное сокращение мышцы, которое называется **тетаническим сокращением**. В зависимости от частоты возбуждений тетанус будет зубчатым или



гладким. **Зубчатый тетанус** наблюдается при нанесении повторного импульса в тот момент, когда она уже начинает расслабляться. Если же импульсы возбуждения частые и действуют на мышцу до начала ее расслабления, то получается длительное непрерывное сокращение – **гладкий тетанус**.

Изотоническое сокращение – мышца при раздражении сокращается, не поднимая никакого груза, напряжение ее волокон не изменяется и равно нулю. Сокращение мышц, при котором длина остается постоянной, называется **изометрическим**.

При сокращении мышца укорачивается, совершая работу. Работа мышцы измеряется произведением поднятого груза на величину укорочения мышцы. Работа мышцы, при которой происходит перемещение груза и движение костей в суставах, называется внешней, или **динамической**. Мышца производит работу и в том случае, если она сокращается изометрически, развивая напряжение без укорочения мышечных волокон, например при удержании груза; такая работа называется **статической**.

Динамическая работа мышцы (A) измеряется произведением массы груза (m) на высоту его подъема (h) и выражается в килограммометрах: $A = mh$. Она равна нулю, если мышца сокращается без нагрузки. По мере возрастания груза работа сначала увеличивается, а затем постепенно уменьшается. Зависимость работы от величины груза выражается законом средних нагрузок: работа будет наибольшей при средних нагрузках. Сила мышцы определяется предельной массой груза, который она в состоянии поднять.

Цель работы: исследовать значение частоты раздражений для сокращения мышцы, определить величину работы мышцы при различных нагрузках.

Материалы и оборудование: лягушка, набор препаровальных инструментов, препаровальный столик для фиксации лягушки, гальваническая вилка, марлевые салфетки, вата, чашка Петри, индукционная катушка или УЭС-1, глазная пипетка, раствор Рингера или физиологический раствор, кимограф, универсальный штатив, миограф, чернильно-пишущее устройство (писчик), набор грузиков на 10, 20, 50, 100, 150 и 200 г, линейка, компьютерная программа – Physiology simulators.

Ход работы. 1. Запись мышечного сокращения. Готовят нервно-мышечный препарат – икроножную мышцу с седалищным нервом. Мышцу подвешивают на крючки миографа; на верхний крючок укрепляют суставную сумку коленного сустава, на нижний крючок – ахиллово сухожилие. Седалищный нерв помещают на электроды, смонтированные на миографе. К электродам подключают провода электростимулятора, находят порог возбудимости нерва.

Запись одиночного сокращения мышцы. Барабан кимографа переводят в режим быстрого вращения. Для этого передаточное колесо передвигают к самой оси барабана и снимают тормозную вертушку часового механизма. Записывающее перо-писчик миографа подводят к барабану кимографа, на котором закреплена бумага. Седалищный нерв в течение 5 с раздражают редкими одиночными импульсами. На быстро вращающемся барабане кимографа записывают сокращения мышцы.

Запись тетанических сокращений мышцы. Барабан кимографа переводят на медленное вращение. Для этого передаточное колесо передвигают к наружному краю барабана и ставят на место тормозную вертушку часового механизма. Наносят раздражения: 11–25 импульсов в секунду. На медленно вращающемся барабане кимографа записывают сокращения мышцы. Затем опыт повторяют, последовательно увеличивая частоту раздражающих импульсов более 25 в секунду. Под каждой миограммой отмечают частоту раздражений.

Миограммы (рис. 1) зарисовывают в тетрадь, проводя их анализ, и устанавливают, при каких частотах раздражений мышца сокращается по типу зубчатого и гладкого тетануса.

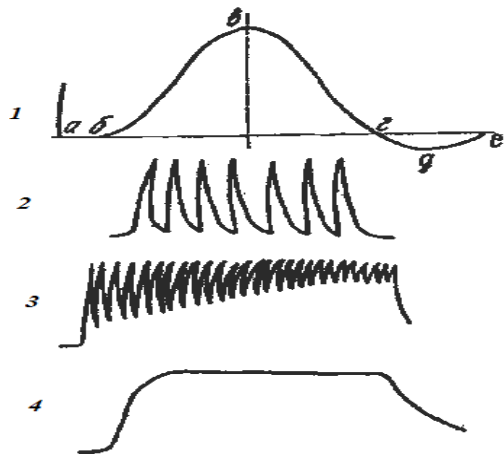


Рис. 1. Миограммы икроножной мышцы лягушки:



1 – развернутая кривая одиночного мышечного сокращения: *a-b* – скрытый, или латентный, период; *b-v* – период укорочения мышцы; *v-z* – период расслабления; 2 – последовательные одиночные сокращения; 3 – зубчатый тетанус; 4 – гладкий тетанус

2. Зависимость работы мышцы от растяжения. Готовят препарат икроножной мышцы. Мышцу подвешивают на крючки миографа. Мышцу раздражают с частотой, вызывающей одиночное сокращение, находят порог возбудимости и немного его увеличивают (рис. 2).

На неподвижном барабане кимографа записывают одиночное сокращение мышцы без нагрузки, раздражая ее в течение 2–3 с. Рукой вращают барабан кимографа на 1–2 см, подвешивают на рычажок миографа непосредственно под мышцей гирьку массой 10 г, чтобы истинная нагрузка на мышцу соответствовала величине груза, и вновь раздражают нерв.

Опять вращают рукой барабан кимографа на 1–2 см. К рычажку миографа подвешивают гирьку массой 20 г, раздражают нерв и записывают высоту сокращения мышцы. Опыт повторяют, последовательно увеличивая вес гирек. Находят предельный груз, который мышца в состоянии поднять. Эта максимальная величина груза и будет силой мышцы.

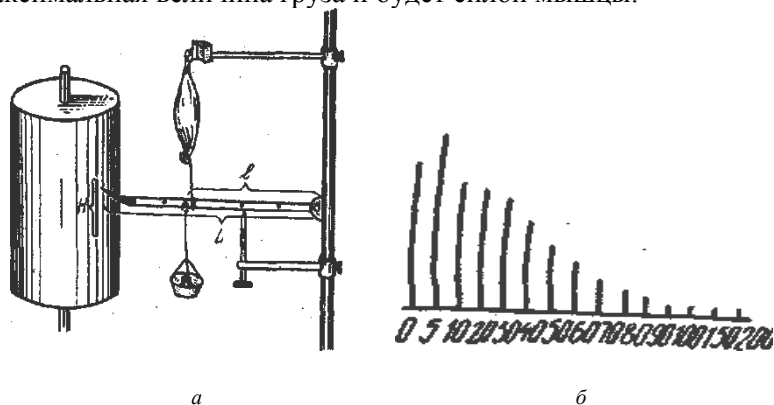


Рис. 2. Миограф для определения силы и работы мышц (а); зависимость высоты мышечных сокращений от величины нагрузки – вес груза в граммах (б)

Определив высоту истинного сокращения мышцы для каждого груза, работу мышцы вычисляют по формуле: $A = mh$, где A – работа мышцы, г/мм; m – масса груза, г; h – высота истинного сокращения мышцы, мм. Необходимо сделать вывод относительно максимальной работы мышцы, и результаты опыта записать по форме, представленной в табл. 1.

Таблица 1. Сила и работа мышц

№ п. п.	Масса груза, г	Высота подъема груза, мм	Работа мышц, г/мм

Результаты и их оформление. Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

Лабораторная работа 3. Утомление мышц. Роль синапса в проведении возбуждения

Величина сокращения мышцы зависит от частоты раздражений. Последняя, которая вызывает максимальное сокращение мышцы, называется оптимальной, или **оптимумом**. При этой частоте каждый новый импульс возбуждения возникает в фазе экзальтации, созданной предыдущим импульсом. При очень частых раздражениях сокращения мышцы уменьшаются или даже совсем прекращаются. Такая частота называется пессимальной, или **пессимумом**. Пессимум возникает вследствие того, что возбуждение не закончилось и ткань находится в состоянии абсолютной или относительной рефрактерности, а на нее действует новое раздражение.

Утомлением называется временное понижение или прекращение работы органа или целого организма в результате их деятельности. В процессе сокращений мышцы утомляются, при этом понижаются их возбудимость, лабильность и высота сокращения.

Мышцы сокращаются за счет энергии химических процессов, протекающих в мышцах в две фазы: анаэробную – без участия кислорода и аэробную – с участием кислорода.



В анаэробную фазу необходимую энергию для сокращения мышц выделяют митохондрии. Часть энергии выделяется в виде тепла, другая ее часть в виде химической энергии утилизируется в АТФ. В этой фазе происходит распад АТФ с освобождением энергии, за счет которой и происходит сокращение мышц. В анаэробной фазе химические превращения протекают в три этапа. В качестве энергетического вещества в первую очередь используется мышечный гликоген, при этом образуется большое количество продуктов распада, в том числе молочная кислота, содержащая запасы химической энергии. Происходит окисление части молочной кислоты и освободившейся химической энергии, остальные части молочной кислоты синтезируются снова в гликоген.

Причинами утомления мышц является исчезновение в них энергетических веществ (гликогена), накопление большого количества молочной и фосфорной кислот, а также утомление синапса в связи с их низкой лабильностью.

Переход возбуждения в торможение зависит от лабильности. Чтобы изменять лабильность нерва, необходимо на средний его участок действовать эфиром, хлороформом, хлоридом калия, холодом и т. д. Под влиянием этого лабильность данного участка постепенно снижается, и при раздражении нерва альтерированного будет меняться величина сокращения мышцы. В начале снижения лабильности наблюдается одинаковое сокращение мышцы на слабое и сильное раздражения, эта стадия **уравнительная**. Затем при дальнейшем снижении лабильности на слабое раздражение мышца сокращается сильно, а на сильное она или совсем не сокращается, или сокращается слабо – стадия **парадоксальная**.

Стадия **торможения** наступает, когда мышца не сокращается при действии как слабого, так и сильного раздражений в результате значительного снижения возбудимости и лабильности измененного участка нерва. В случае же дальнейшего углубления торможения возникает необратимый процесс и наступает смерть. Именно поэтому данное явление было названо **парабиозом** (пара – около, биос – жизнь), т. е. на грани жизни. Последовательное развитие фаз парабиоза получило название **парабиотического процесса**.

Синапс – это структурное образование на конце нервного волокна, которое обеспечивает переключение импульса с нервного волокна на мышечное или с нейрона на нейрон. Существует большое разнообразие синапсов как в центральной нервной системе, так в мышцах и железах, но все они имеют ряд общих черт в строении и способе проведения через него нервного импульса.

Все синапсы состоят из трех основных элементов: пресинаптической мембраны, синаптической щели и постсинаптической мембраны (рис. 3).

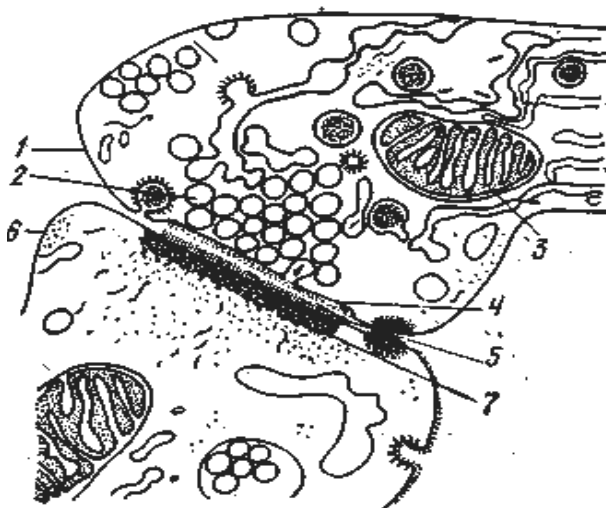


Рис. 3. Синапс: 1 – пресинаптический полюс; 2 – синаптические пузырьки; 3 – митохондрия; 4 – пресинаптическая мембрана; 5 – синаптическая щель; 6 – постсинаптический полюс; 7 – постсинаптическая мембрана

Пресинаптическая мембрана – это конечное образование нервного волокна (участок синапса), передающего нервные импульсы на воспринимающие клетки – постсинаптическую мембрану. Она имеет митохондрии, которые выполняют роль энергетической системы и являются нейросекреторным аппаратом, вырабатывающим особые медиаторы, содержащиеся в синаптических пузырьках. На окончаниях парасимпатических и двигательных соматических нервов пузырьки наполнены медиатором **ацетилхолином**, у большинства симпатических – **норадреналином**, в синапсах головного мозга – **серотонином**.



Постсинаптическая мембрана – участок мембраны мышечного волокна, железистой или нервной клетки, воспринимающий нервный импульс. Она обладает высокой химической чувствительностью к медиатору, не возбуждается электрическим током и в ней вырабатывается фермент, разрушающий медиатор.

Передача нервного импульса в синапсах происходит следующим образом. Когда возбуждение нервного волокна достигает его окончания, лопаются большое количество пузырьков в пресинаптической мембране. Из них освобождается медиатор, который быстро диффундирует в синаптическую щель к постсинаптической мембране, активирует ее проницаемость для ионов натрия и калия (натрий переходит через мембрану, а калий выходит в синаптическую щель) и на постсинаптической мембране. Возникает ток действия, который распространяется в иннервируемых клетках. Каждому возникшему току действия соответствует возбуждение.

Синапсы обладают некоторыми важными свойствами. В них происходит замедление проведения возбуждения, так как затрачивается время на диффузию медиатора через жидкость синаптической щели. Для синапсов характерно одностороннее проведение возбуждения в отличие от нервных волокон, в которых проведение возбуждения двустороннее.

Возникший импульс возбуждения сопровождается фазовыми изменениями возбудимости. Вслед за возбуждением возникает фаза **абсолютной рефрактерности**, или невозбудимости, повторное раздражение в этой фазе не способно вызвать новое возбуждение. Возбудимость ткани постепенно восстанавливается, и она отвечает на раздражение. Возникает фаза **относительной рефрактерности** (тысячные или сотые доли секунды). После относительной рефрактерности наступает фаза повышенной возбудимости – **экзальтации** (сотые доли секунды). За фазой экзальтации следует фаза **субнормальности**, возбудимость ткани незначительно снижена по сравнению с возбудимостью в состоянии покоя.

Цель работы: на нервно-мышечном препарате лягушки воспроизвести оптимум и пессимум, установить зависимость утомления от частоты раздражения и величины нагрузки.

Материалы и оборудование: лягушка, набор препаровальных инструментов, препаровальный столик для фиксации лягушки, гальваническая вилка, марлевые салфетки, вата, чашка Петри, индукционная катушка или УЭС-1, глазная пипетка, раствор Рингера или физиологический раствор, кимограф, универсальный штатив, миограф, чернильно-пишущее устройство (писчик), гирьки-грузики массой 50 и 100 г, компьютерная программа – Physiology simulators.

Ход работы. 1. Определение утомления мышц. Скорость развития утомления зависит от частоты сокращений мышцы и величины груза, поднимаемого мышцей. Утомление мышцы наступает быстрее при частом ритме сокращений и большей величине нагрузки.

Приготавливают четыре мышечных препарата. На одном из них производят запись миограммы на медленно вращающемся барабане при раздражении мышцы током средней силы от УЭС-1 с частотой 1 имп/с до полного утомления ее. На втором препарате производят аналогичную запись при раздражении мышцы с частотой 10 имп/с. Кривые утомления записываются параллельно на ленте кимографа.

На двух других препаратах производят запись миограмм при раздражении мышцы с частотой 1 имп/с и с грузиками массой 10 и 50 г. Сравнивая миограммы между собой, делают выводы о зависимости скорости развития утомления мышцы от частоты ритма раздражения и величины нагрузки.

2. Роль синапса в проведении возбуждения. Подготовить нервно-мышечный препарат и приспособить его для регистрации сокращения мышцы на кимографе при раздражении как нерва (непрямое раздражение), так и мышцы (прямое раздражение). Сначала раздражать мышцу с нерва и довести ее до полного утомления, а затем быстро переключить раздражение на мышцу. Мышца при этом будет снова ритмично сокращаться. На основании предварительно сделанного объяснения проанализировать причину снижения проводимости в синапсе – мионевральной передаче скелетной мышцы.

Результаты и их оформление. Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

Лабораторная работа 4. Определение времени рефлекса. Анализ рефлекторной дуги

Временем рефлекса называют период от начала действия раздражителя до начала ответной реакции. Время рефлекса зависит от силы раздражителя, площади раздражаемого рецептивного поля, структуры рефлекторной дуги.

Рефлексом называется ответная реакция организма на раздражение рецепторов, осуществляемая с участием центральной нервной системы. Рефлексы делятся: по происхождению – безусловные и условные; по характеру ответной реакции – двигательные, секреторные, сосудистые; по биологической



значимости – оборонительные, защитные, пищевые, половые, ориентировочные и др.; по месту расположения рецепторов – экстерорецептивные, интерорецептивные, проприорецептивные.

Рефлекторная дуга – это путь, по которому проходит возбуждение в процессе осуществления рефлекса. Состоит она из рецептора, афферентного (чувствительного) нейрона, промежуточного нейрона, эфферентного (двигательного) нейрона и эффектора, связанных между собой с помощью синапсов (рис. 4). Рефлекторная дуга может быть двухнейронной и многонейронной. Для осуществления рефлекса необходима целостность всех звеньев рефлекторной дуги. В настоящее время учение о рефлексе дополнено понятием об обратной связи, поэтому говорят не только о рефлекторной дуге, но и о рефлекторном кольце. В каждой мышце имеются рецепторы, которые раздражаются при ее сокращении. От них в центральную нервную систему передаются импульсы, информирующие ее о степени сокращения мышцы. Благодаря обратной связи центральная нервная система дает оценку рефлекторному акту и обеспечивает такое совершенное управление процессами, которого не может быть при односторонней связи.

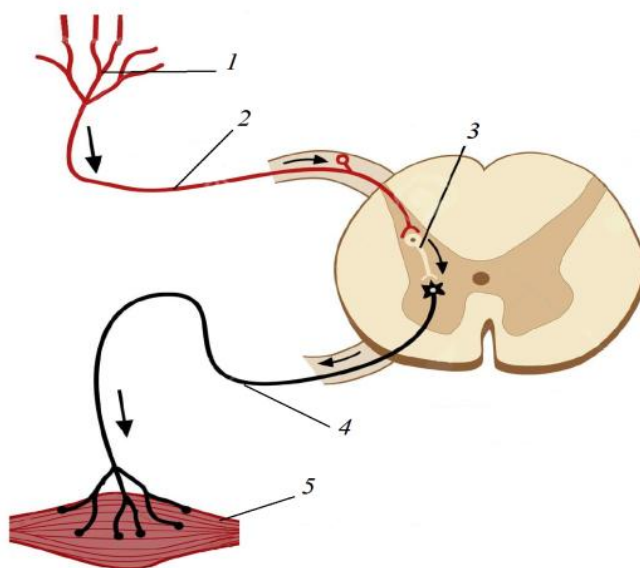


Рис. 4. Схема рефлекторной дуги: 1 – рецепторы; 2 – центробежные (афферентные) нервные волокна; 3 – нейроны и синапсы, передающие импульсы к эфферентным нейронам; 4 – центробежные (эфферентные) нервные волокна, проводящие импульсы от центра к периферии; 5 – эффекторы (исполнительные органы)

Цель работы: определить время рефлекса и установить его зависимость от силы раздражения, путем последовательного выключения отдельных звеньев рефлекторной дуги выяснить их значение в осуществлении рефлекса.

Материалы и оборудование: набор препаровальных инструментов, вата, 0,1, 0,3, 0,5 и 1%-ные растворы серной кислоты, стаканы на 50 и 500 мл, секундомеры или метроном, штативы с корковой пробкой, вата, лягушки, компьютерная программа – Physiology simulators.

Ход работы. 1. Определение времени рефлекса. Необходимо приготовить спинальную лягушку. Для этого в ротовую полость ее вводят одну браншу ножниц и удаляют верхнюю челюсть на уровне ушных капсул. Спинальную лягушку можно приготовить и введением в спинномозговой канал препаровальной иглы: повернув ее по направлению к черепу вращательным движением, разрушают головной мозг (рис. 5).

Препарат крючком или гвоздиком с широкой шляпкой укрепить за нижнюю челюсть к корковой пробке штатива. После исчезновения состояния шока (через 5–7 мин) лапку лягушки погружают поочередно с интервалами в 2–3 минуты в стаканчик с 0,1, 0,3, 0,5, 1%-ным раствором серной кислоты. После каждого воздействия кислотой лапку следует обмывать, погружая ее в стакан с водой. Во всех случаях секундомером следует учитывать время от момента нанесения раздражителя до появления ответной реакции, т. е. когда лягушка отдергивает лапку. Сравнивая полученные результаты исследований, установить, что с увеличением силы раздражителя время рефлекса уменьшается.

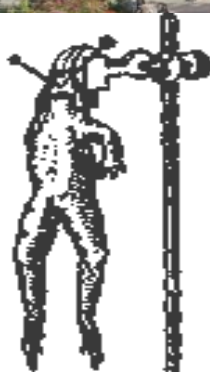


Рис. 5. Определение времени рефлекса

2. Анализ рефлекторной дуги. У лягушки ножницами отрезают верхнюю челюсть позади глаз. При таком разрезе удаляется головной мозг. Лягушка без головного мозга называется спинальной. Такую лягушку подвешивают на штатив, прикалывая ее булавками за нижнюю челюсть к пробке, укрепленной в зажиме штатива. После удаления головного мозга возникает шок – временное снижение рефлекторной возбудимости, исследование рефлексов проводят через 5–6 мин после удаления головного мозга.

В качестве раздражителя применяют кусочек фильтровальной бумаги, смоченный 1%-ным раствором серной кислоты. Определяют время рефлекса. Затем с голени левой лапки, сделав круговой разрез, снимают кожу, после чего лапку погружают в раствор серной кислоты. Рефлекс на раздражение кислотой отсутствует, так как вместе с кожей были удалены и рецепторы. Затем, сделав продольный разрез кожи на дорсальной поверхности бедра правой лапки, раздвигают мышцы и подводят нитку под седалищный нерв. Проверив наличие рефлекса на погружение лапки в раствор серной кислоты, под нерв подводят ватку, смоченную раствором новокаина. Через некоторое время защитный сгибательный рефлекс на кислоту исчезает вследствие нарушения проведения возбуждения в чувствительных волокнах седалищного нерва. После этого нарушается проводимость в двигательных волокнах. В результате оборонительный рефлекс лапки не осуществляется при нанесении кислоты и на спинку лягушки. Далее в спинномозговой канал вводят препаровальную иглу (разрушение вставочных нейронов), и все двигательные рефлексы на кислоту исчезают.

Результаты и их оформление. Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

Лабораторная работа 5. Свойства нервных центров. Иррадиация, суммация и торможение возбуждения в нервных центрах

Нервный центр – это совокупность нейронов, расположенных в разных отделах центральной нервной системы, участвующих в регуляции определенной функции организма. Нервные центры обладают рядом свойств, к которым относятся иррадиация, суммация возбуждения, доминанта и др.

Иррадиация – это распространение процесса возбуждения на другие нервные центры. Импульсы, поступающие в центральную нервную систему при сильном раздражении, вызывают возбуждение не только данного участка, но и других нервных центров.

Доминанта – временное стойкое возбуждение одного из нервных центров, занимающих в нервной системе господствующее положение по отношению к другим центрам. Доминирующий центр обладает способностью усиливать возбуждение за счет других импульсов, поступающих в центральную нервную систему.



Конвергенция – схождение, или сужение, – особенность проведения возбуждения по нервным центрам (противоположно иррадиации).

Одностороннее проведение возбуждения. В центральной нервной системе импульсы проходят в одном направлении: с афферентного нейрона на эфферентный. Одностороннее проведение возбуждения в нервных центрах обусловлено строением синапсов.

Обмен веществ в нервных центрах высокий. При возбуждении потребление кислорода увеличивается в 3–4 раза по сравнению с состоянием покоя.

Инертность – способность нервных центров длительно сохранять в себе следы возбуждения.

Трансформация – способность нервных центров снижать и повышать ритм возбуждения.

Пластичность – способность нервных центров выполнять функцию других при нарушении их деятельности.

Окклюзия. При одновременном раздражении афферентных входов двух соседних взаимодействующих нервных центров количество возбужденных нейронов значительно меньше, чем арифметическая сумма возбужденных нейронов при раздельном раздражении каждого в отдельности.

Суммация возбуждения – это способность нервных центров накапливать слабые импульсы возбуждения. Различают суммацию во времени и пространстве. Суммация во времени характеризуется тем, что если на слабое одиночное раздражение рефлекс не возникает, то на серию таких раздражений появляется защитная реакция организма. Суммация в пространстве происходит при нанесении допорогового раздражения не на одно, а на несколько афферентных волокон.

Торможение – процесс ослабления или прекращения какой-либо деятельности. Это самостоятельный нервный процесс, который вызывается возбуждением и проявляется в подавлении другого возбуждения.

В основе торможения лежит торможение с участием специальных тормозных нейронов. В центральной нервной системе существует несколько видов торможения, имеющих разную природу: первичное, вызываемое тормозными нейронами, и вторичное, возникающее при определенных условиях в тех же самых нейронах, в которых происходит возбуждение.

Первичное торможение бывает постсинаптическим, поступательным постсинаптическим, возвратным постсинаптическим, пресинаптическим.

Вторичное торможение, в свою очередь, делится на пессимальное, парабитическое и торможение вслед за возбуждением.

Двигательные рефлексы можно затормозить, если в центрах встретятся возбуждения, идущие от двух рецептивных полей. Так, рефлекс отдергивания (сгибания) лапки на раздражение ее слабым раствором серной кислоты тормозится при сильном сжимании пинцетом другой лапки.

Цель занятия: исследовать процесс иррадиации возбуждения в нервных центрах, а также временную и пространственную суммации.

Материалы и оборудование: лягушка, набор препаровальных инструментов, штатив с корковой пробкой, булавки, марля, вата, раствор Рингера, электростимулятор или индукционный аппарат, чашка Петри, фильтровальная бумага, 0,1%-ный раствор серной кислоты, стакан с водой, компьютерная программа – Physiology simulators.

Ход работы. 1. Иррадиация возбуждения в нервных центрах. Спинальную лягушку подвешивают на штативе, прикрепляя ее булавками за нижнюю челюсть к пробке. К стопе задней лапки подводят тонкие провода, соединенные с электростимулятором или индукционным аппаратом. Находят величину одиночного электрического раздражителя, вызывающего рефлекторное сгибание лапки. Затем постепенно ток увеличивают до максимальной величины и наблюдают за реакцией лягушки на раздражение током разной силы.

2. Суммация во времени. Спинальную лягушку подвешивают на штативе, прикрепляя ее за нижнюю челюсть булавками к пробке. К стопе задней лапки подводят тонкие провода, соединенные с электростимулятором или индукционным аппаратом. Находят величину электрического раздражителя, вызывающего рефлекторное сгибание лапки. Затем раздражитель уменьшают до такой величины, при которой одиночный раздражитель не вызывает рефлекторного сгибания лапки. Затем действуют на лапку сначала редкими раздражениями, а потом частыми и наблюдают за реакцией лягушки.

3. Суммация в пространстве. Спинальную лягушку подвешивают на штативе. На кожу голени накладывают кусочек фильтровальной бумаги, смоченный 0,1%-ным раствором серной кислоты, и определяют время рефлекса. Затем на кожу голени и бедра накладывают 4–5 ку-сочков фильтровальной бумаги, смоченных раствором 0,1%-ной серной кислоты.

4. Торможение возбуждения в нервных центрах. Спинальную лягушку подвешивают на штативе, прикрепляя ее булавками за нижнюю челюсть к пробке. К коже задней лапки прикладывают кусочек фильтровальной бумаги, смоченный 1%-ным раствором серной кислоты, и определяют время рефлекса. Ополаскивают раздражаемый участок водой, вновь прикладывают кусочек фильтровальной бумаги к коже первой лапки и одновременно с этим другую заднюю лапку сильно сдавливают пинце-



том, определяют время рефлекса первой лапки. После прекращения сдавливания лапки время рефлекса на кислоту восстанавливается.

Результаты и их оформление. Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

Лабораторная работа 6. Получение плазмы, сыворотки, дефибринированной крови. Определение щелочного резерва по Неводову. Определение осмотической устойчивости эритроцитов

Кровь состоит из жидкой части – плазмы – и находящихся в ней во взвешенном состоянии форменных элементов – эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. В кровеносных сосудах и депо кровь не свертывается, так как имеются свертывающая и антисвертывающая системы. При получении плазмы кровь необходимо предохранять от свертывания добавлением специальных веществ – антикоагулянтов (гепарин, щавелевокислый аммоний, лимоннокислый натрий и др.). При длительном отстаивании или центрифугировании такая кровь расслаивается на три слоя: нижний – непрозрачный, окрашенный в красный цвет, состоит из форменных элементов – эритроцитов; над нижним слоем располагается тонкий мутно-беловатый слой, состоящий из лейкоцитов и тромбоцитов, и верхний слой – прозрачная жидкость желтого цвета с разными оттенками, которая является **плазмой крови**.

Если кровь взять в пробирку без добавления антикоагулянтов, то через некоторое время происходит ее свертывание – образование сгустка из фибрина и форменных элементов и прозрачной жидкости – **сыворотки**. Когда из крови механическим путем удаляется фибрин, то получается **дефибринированная** кровь, которая не свертывается.

Реакция крови слабощелочная (рН от 7,35 до 7,45), отклонения возможны в пределах 0,3–0,4; значительные отклонения опасны для организма в результате нарушения биохимических и физиологических процессов.

Реакция крови удерживается на оптимальном уровне благодаря буферным системам: **карбонатной** (угольная кислота и двууглекислый натрий, способные связывать кислоты и щелочи), **фосфатной** (одноосновной и двухосновной натрий) и **буферной системой белков** (особенно гемоглобина и оксигемоглобина). Они играют большую роль в поддержании активной реакции и способны нейтрализовать кислоты и щелочи.

При усиленной работе в организме накапливаются кислые продукты (молочная кислота, ацетоуксусная, пировиноградная и др.), рН снижается и возникает **ацидоз**. Если рН будет повышаться (при увеличении щелочей), возникнет **алкалоз**.

Осмотическое давление крови – сила, которая обуславливает проникновение воды через полупроницаемую мембрану. Оно достигает 8 атм и регулируется натрием.

Осмотическое давление поддерживается почками, потовыми железами, которые удерживают в организме на определенном уровне концентрацию натрия и содержание воды. Осмотическое давление, поддерживаемое белками, называется **онкотическим** (около 15–18 мм рт. ст.).

Концентрация электролитов в плазме крови составляет 0,9 % (катионов больше, чем анионов). Эритроциты обладают полупроницаемой мембраной (эластической оболочкой). Она пропускает воду, сахар, анионы и малопроницаема для катионов. Осмотическое давление в эритроцитах обусловлено главным образом концентрацией NaCl, а в плазме и эритроцитах уравновешено, и если в такой раствор поместить эритроциты, то они сохраняют свою величину и форму. Такие растворы называются **изотоническими**. Растворы с большим осмотическим давлением (с большей концентрацией, чем 0,9%-ный NaCl) называются **гипертоническими**. В таких растворах эритроциты сморщиваются. Растворы с меньшим осмотическим давлением называются **гипотоническими**. В них эритроциты разбухают и лопаются, наступает их осмотический **гемолиз**.

Растворы, в которых начинается гемолиз эритроцитов, характеризуют **минимальную резистентность** (устойчивость) эритроцитов, а растворы NaCl, в которых происходит полный гемолиз, соответствуют максимальной резистентности эритроцитов.

Устойчивость эритроцитов к гипотоническим растворам зависит от возраста эритроцитов, функционального состояния красного костного мозга и др.

Цель работы: изучить соотношение и взаимосвязь составных частей крови; научиться получать плазму, сыворотку, дефибринированную кровь, фибрин; определить содержание фибрина в крови; научиться определять щелочной резерв (общую кислотную емкость) крови по Неводову; отработать методику и научиться определять осмотическую устойчивость эритроцитов разных видов животных; определить максимальную и минимальную границы резистентности эритроцитов.



Материалы и оборудование: пробирки, иголки для взятия крови, лимоннокислый натрий в порошке, трилон Б, свежая кровь, марлевые салфетки, вата, чашка Петри, бюретка вместимостью 20 мл, микро-пипетки, химические стаканчики, 0,01 н. раствор HCl, 0,01 н. раствор NaOH (едкий натр), спиртовой раствор индикатора фенолфталеина, штатив с центрифужными пробирками, 1%-ный раствор NaCl, дистиллированная вода, пипетки, центрифуга, компьютерная программа Physiology simulators.

Ход работы. 1. Получение плазмы. В пробирку с антикоагулянтом из яремной вены животного взять 10 мл крови. Пробу крови с антикоагулянтом перемешать и отцентрифугировать в течение 20–30 мин при 3000 об/мин. Убедиться, что при центрифугировании кровь расслаивается на плазму и форменные элементы.

Получение сыворотки. В пробирку набрать 10–15 мл крови. Пробу крови без антикоагулянта поставить в термостат при температуре 38 °С на 2 ч. Убедиться, что в результате свертывания крови образуется сгусток. Частичное стягивание (ретракция) сгустка и отделение сыворотки крови лучше протекают при температуре 8–10 °С, полное отделение сгустка происходит через 12–18 ч. Из пробирки с полной ретракцией сгустка слить сыворотку и сравнить ее с плазмой. Сыворотку можно получить и центрифугированием дефибринированной крови.

Получение дефибринированной крови. В широкодонную стеклянную колбочку положить 10–15 стеклянных бусинок и набрать в нее 30–50 мл крови. Осторожными вращательными движениями взбалтывать кровь в течение 10 мин. На бусинках в виде волокнистых нитей выпадет фибрин. Содержимое колбы профильтровать через два слоя марли. Полученный фильтрат представляет собой дефибринированную кровь.

2. Определение щелочного резерва по Неводову. В химический стаканчик налить 10 мл 0,01 н. раствора соляной кислоты, добавить 2 капли раствора индикатора фенолфталеина и титровать 0,01 н. раствором едкого натра до бледно-розового окрашивания (контрольная проба). В другой стаканчик налить 10 мл 0,01 н. раствора соляной кислоты. Набрать в пипетку 0,2 мл крови, выдуть ее в стаканчик и перемешать круговыми движениями. Гемолизированный раствор титровать из бюретки 0,01 н. раствором едкого натра до появления помутнения и выпадения белых хлопьев.

3. Определение осмотической устойчивости эритроцитов. Занумеровать 8 пробирок и заполнить их растворами NaCl понижающейся концентрации (табл. 3).

Таблица 3. Схема проведения опыта

Содержимое пробирок	Номер пробирки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
NaCl, 1%-ный раствор, мл	9	8	7	6	5	4	3	1
Дистиллированная вода, мл	1	2	3	4	5	6	7	9
Всего, мл	10	10	10	10	10	10	10	10
Концентрация NaCl, %	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,1
Результат								

С помощью пипетки в каждую пробирку добавить по 2 капли цитратной или дефибринированной крови, взятой не более чем за 3 ч до опыта, и перемешать содержимое пробирки. Через 10 мин отцентрифугировать содержимое каждой пробирки в течение 5 мин при 2000 об/мин и убедиться в наличии или отсутствии гемолиза.

Обычно в первых трех-четырёх пробирках гемолиза не происходит (эритроциты выпадают в осадок), в пробирках № 5, 6 происходит частичный гемолиз (раствор приобретает слабо-розовую окраску), а в пробирках № 7, 8 – полный гемолиз эритроцитов (осадка их нет).

Результаты и их оформление. Проанализировать различия между плазмой, сывороткой и дефибринированной кровью. Сравнить полученные данные с нормой.

Рассчитать щелочной резерв (кислотную емкость) крови (г/л) по следующей формуле:

$$\text{ЩР} = (K - O) 2000, \text{ где:}$$

K – количество 0,01 н. раствора NaOH, пошедшее на титрование 10 мл 0,01 н. раствора HCl в контрольной пробе, мл;

O – количество 0,01 н. раствора NaOH, пошедшее на титрование опытной пробы, мл;

2000 – постоянный коэффициент (1 мл 0,01 н. раствора NaOH содержит 0,4 мг NaOH; 0,2 мл составляют $\frac{1}{5000}$ часть от 1000 мл крови; $0,4 \cdot 5000 = 2000$).



Пример расчета: на титрование контрольной пробы пошло 10 мл 0,01 н. раствора NaOH, а на титрование опытной (испытуемой) пробы – 8 мл 0,01 н. NaOH:
$$\text{ЩР} = (10 - 8) \cdot 2000 = 4 \text{ г/л NaOH, или } 400 \text{ мг\%}.$$

Сравнить щелочной резерв плазмы, сыворотки крови с полученными данными.

Занести результаты в таблицу («+» – полный гемолиз, «+, –» – частичный гемолиз, «–» – отсутствует гемолиз). Отметить, при какой концентрации раствора NaCl кровь полностью гемолизирована («лаковая») и при какой концентрации данного раствора отмечаются первые признаки гемолиза. Определить максимальную и минимальную границы резистентности эритроцитов и сравнить с нормой. Сделать выводы.

Лабораторная работа 7. Подсчет общего количества эритроцитов. Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)

Эритроциты образуются в красном костном мозгу. Основной их функцией является перенос кислорода от органов дыхания к клеткам и углекислого газа от клеток к органам дыхания. Эритроциты млекопитающих, имеющие двояковогнутую дискообразную форму, не содержат ядра; у птиц, рыб и амфибий эритроциты имеют овальную форму, содержат ядро. Диаметр эритроцитов 5–7 мкм. В норме у разных видов животных в 1 мм³ крови количество эритроцитов постоянно.

Подсчет форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) производят в определенном объеме крови (1 мм³) с пересчетом их содержания в 1 л с помощью специальных счетных камер или фотометрических и электронных приборов.

Эритроциты имеют определенную массу и поэтому могут оседать в крови, предотвращенной от свертывания. В условиях здорового организма эритроциты имеют отрицательный заряд, поэтому сила взаимного притяжения (броуновское движение) у них на несколько порядков меньше сил отталкивания. Если под влиянием различных факторов отрицательный заряд эритроцитов уменьшается, электростатическая сила их взаимного отталкивания понижается, увеличивается скорость их столкновения, способность к агрегации и оседанию. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) резко возрастает при увеличении в крови глобулина и фибриногена. Она характерная для каждого вида животных. Процесс оседания эритроцитов медленно протекает у жвачных животных и очень быстро – у лошадей. Увеличение СОЭ наблюдается при воспалительных процессах, некоторых инфекционных заболеваниях, поэтому клиническое значение в ветеринарной практике имеет как абсолютная цифра СОЭ, так и динамика ее при развитии патологического процесса.

У здоровых животных скорость оседания эритроцитов составляет: у лошадей – 40–70 мм/ч, у крупного рогатого скота – 0,5–1,5, у свиней – 2–9, у птиц – 1–3 мм/ч.

Цель работы: ознакомиться с методиками подсчета количества эритроцитов; освоить методику подсчета количества эритроцитов в камере Горяева; ознакомиться с колориметрическим методом определения содержания гемоглобина, а также с методикой подсчета эритроцитов и определением гемоглобина с помощью прибора «Медоник»; ознакомиться с техникой определения СОЭ, вычислить величину СОЭ у разных видов животных.

Материалы и оборудование: микроскоп, камера Горяева, покровные стекла, смеситель для подсчета эритроцитов, капиллярная пипетка, часовые стекла, мерные пипетки вместимостью 1 и 5 мл, 3%-ный раствор NaCl, пробирки, фильтровальная бумага, вата, проба крови, спирт-эфир, гемометр Сали, пипетки глазные, 0,1 н. раствор HCl, дистиллированная вода, прибор для анализа крови «Медоник», аппарат Панченкова, часовое стекло, 5%-ный раствор щавелевокислого или лимоннокислого натрия, спирт, йод, вата, инструментарий для взятия крови.

Ход работы и техника подсчета. 1. Подсчет общего количества эритроцитов. Вначале приготовить счетную камеру, смеситель, пробирки и растворы. Счетную камеру Горяева положить на столик микроскопа и под малым увеличением с затемненным полем зрения найти сетку и внимательно изучить ее. Сетка камеры имеет 225 (15×15) больших квадратов, причем 25 из них разделены поперечными и продольными линиями на 16 маленьких квадратиков в каждом (рис. 6).

После просмотра камеру снять со столика микроскопа, помыть, протереть спиртом, затем эфиром, также тщательно приготовить смесители для крови и покровные стекла, а смесители после обезжиривания эфиром обязательно просушить воздухом с помощью резиновой груши. Сверху в участке нанесенной сетки к камере притереть покровное стекло до появления радужных колец.



Взять у животного кровь с соблюдением правил асептики или использовать пробы стабилизированной свежевзятой крови, насыщая ее в смеситель для эритроцитов до метки 0,5.

Если столбик крови поднялся выше, то, прикоснувшись ватой к концу смесителя, снизить его до указанной метки; вместе с этим удалить с наружной поверхности капилляра остатки крови и приступить к ее разбавлению, для чего кончик смесителя погрузить в стакан с 3%-ным раствором натрия хлорида и насосать его до метки 101. При этом кровь будет разведена в 200 раз, что учитывается при расчете конечного результата. Заправленный смеситель зажать между большим и указательным пальцами и встряхивать в течение 2–3 мин для смешивания крови. После этого из смесителя удалить первые 3–4 капли на вату, а следующую каплю поднести к краю притертого к камере покровного стекла, и жидкость заполнит ее в силу капиллярности.

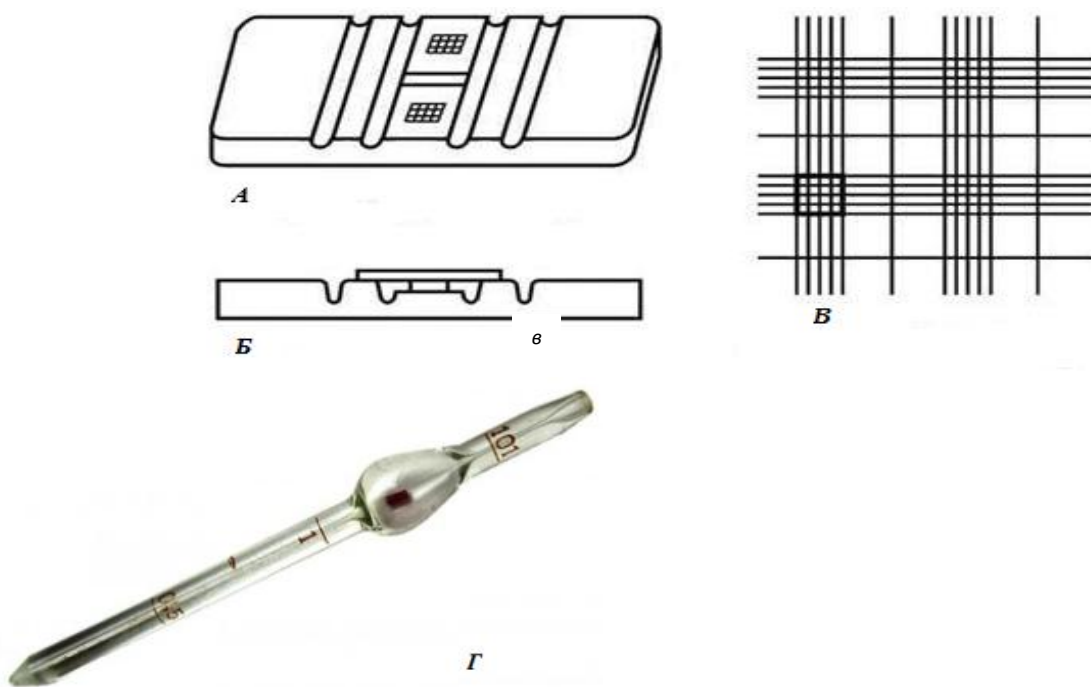


Рис. 6. Счетная камера Горяева:
а – вид сверху; б – вид сбоку; в – сетка камеры; г – смеситель для эритроцитов

Визуально контролировать, чтобы в камере под стеклом не было пузырьков воздуха. Камеру поставить на столик микроскопа и через 1–2 мин, когда все эритроциты осядут и прекратят движение, начать считать их под малым увеличением (окуляр 10, объектив $\times 40$) при уменьшенном отверстии диафрагмы и опущенном конденсоре. Эритроциты следует считать в пяти больших квадратах ($5 \times 16 = 80$ малых квадратиков), расположенных по диагонали.

Для получения более точного результата принято подсчитывать все эритроциты, расположенные не только внутри каждого квадратика, но и на его сторонах слева и вверху, а также клетки, соприкасающиеся с этими сторонами.

После подсчета количество эритроцитов определить в миллионах в 1 мм^3 по формуле

$$X = (\mathcal{E} \cdot 4000 \cdot 200) / 80 \text{ или } X = \mathcal{E} \cdot 10000, \text{ где:}$$

- X – количество клеток в 1 мм^3 крови;
- \mathcal{E} – количество подсчитанных эритроцитов;
- 4000 – множитель перевода к объему в 1 мм^3 крови;
- 200 – разведение крови;
- 80 – количество малых квадратиков.

Подсчет количества эритроцитов с помощью прибора «Медоник». Набрать пробу цитратной крови в пробирку для прибора, пропустить через прибор и на экране смотреть полученные результаты.

2. Скорость оседания эритроцитов чаще всего определяют с помощью аппарата Панченкова, который состоит из штатива и набора капиллярных пипеток диаметром в 1 мм. На каждой пипетке имеется 100 делений. В середине находится отметка 50 или буква Р, что означает «раствор», а в верхней части на уровне нуля стоит буква К, которая является значком слова «кровь» (рис. 7).

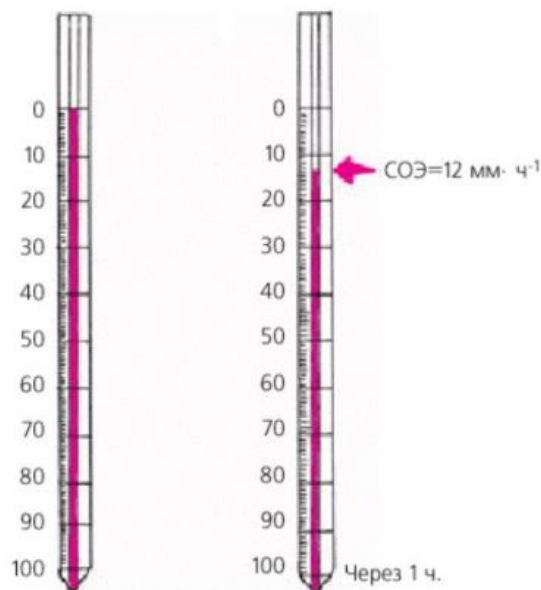


Рис. 7. Прибор Панченкова для определения СОЭ

Капилляр пипетки Панченкова несколько раз промыть 5%-ным раствором цитрата натрия и, набрав его до метки «Р», выдуть на часовое стекло. С места прокола насосать кровь в тот же капилляр до метки «К». Перенести взятую пробу крови на часовое стекло. Опять набрать крови до метки «К» и снова выдуть ее на часовое стекло. Концом капилляра тщательно перемешать обе порции крови с антикоагулянтом и набрать ее в капилляр до метки «О», следя за тем, чтобы не попали пузырьки воздуха (разведение крови 1:4).

Верхний конец капилляра зажать указательным пальцем, нижний – обтереть ватой и установить в штатив в строго вертикальном положении. Заметить время и через каждые 15 мин в течение 1 ч отмечать высоту образовавшегося столбика плазмы в миллиметрах.

Результаты и их оформление. Записать полученные результаты. Сравнить их с нормой. Сделать выводы.

Лабораторная работа 8. Подсчет общего количества лейкоцитов. Определение количества гемоглобина. Определение групп крови

Лейкоциты, или белые клетки крови, по величине в несколько раз крупнее эритроцитов и всегда у всех животных имеют ядро в цитоплазме. Они выполняют защитную функцию, обладают способностью к фагоцитозу, участвуют в восстановительных процессах, образовании антител, обезвреживании токсинов. Количество лейкоцитов характерное для каждого вида животных, но оно может изменяться в зависимости от возраста, состояния здоровья, кормления животных и других условий. Важное диагностическое значение имеет не только подсчет их общего количества в крови, но и определение соотношения отдельных видов лейкоцитов, активности их фагоцитоза и других показателей.

Гемоглобин – сложный белок (хромопроteid), содержащийся в эритроцитах. Основной функцией его является перенос кислорода от легких к тканям и отчасти углекислого газа в обратном направлении. С кислородом гемоглобин образует непрочное и легкодиссоциирующее соединение – оксигемоглобин. Для биосинтеза гемоглобина в эритро-бластах красного костного мозга необходимы витамин В₁₂, фолиевая кислота, а из минеральных веществ – железо и медь. В крови животных содержание гемоглобина колеблется от 70 до 140 г/л в зависимости от вида, возраста, пола и физиологического состояния их.

Определение содержания гемоглобина производят колориметрическим способом. Визуальная колориметрия осуществляется с помощью гемометра ГС-3, электрофотоколориметрия – с помощью электро-фотоколориметра ФЭК-М, эритрогемометра и других приборов.

В зависимости от содержания в крови специфических белков – агглютининов и агглютиногенов – у людей различают 4 группы крови. Агглютинины – вещества, способные склеивать эритроциты, находятся в плазме крови, а агглютиногены, т. е. склеиваемые вещества, – в эритроцитах.

Имеется два вида агглютиногенов – А и В – и соответственно два вида агглютининов – α и β .



В пределах каждой группы крови одноименные агглютинины и агглютиногены не встречаются, поэтому эритроциты не агглютинируются. Однако их агглютинация (склеивание в комочки) происходит тогда, когда при переливании крови фактор А донора встречается с фактором α реципиента, а фактор В донора – с фактором β реципиента. При переливании следует учитывать свойства плазмы реципиента и эритроцитов донора. Плазма донора во внимание не принимается, так как, поступая в кровяное русло реципиента, она теряет свои агглютинирующие свойства (табл. 4).

Таблица 4. Классификация групп крови по Янскому

Название группы крови	Содержание	
	агглютиногенов в эритроцитах	агглютининов в плазме
I (0)	–	$\alpha\beta$
II (A)	A	β
III (B)	B	α
IV (AB)	AB	–

Схема совместимости и возможности переливания крови показана на рис. 8.

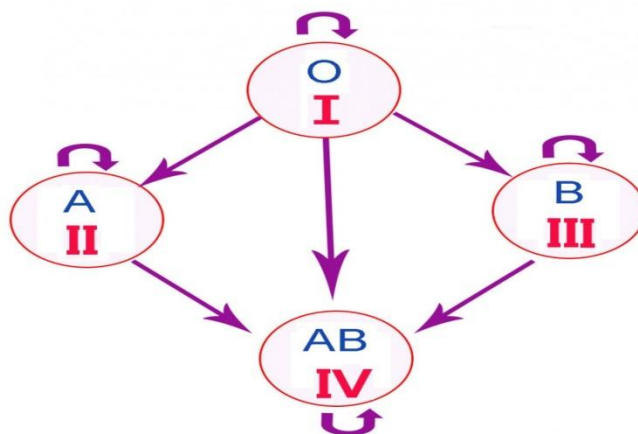


Рис. 8. Схема допустимого переливания крови (стрелками показано, каким группам можно переливать кровь других групп)

Кровь человека с первой группой (*универсальный донор*) можно переливать в кровь всех других групп, так как эритроциты этой группы не имеют агглютиногенов. Человек с кровью четвертой группы может принимать кровь всех других групп (*универсальный реципиент*), так как эта группа не имеет агглютининов. Однако при переливании больших количеств крови лучше использовать одногрупповую. Группы крови наследуются от родителей (табл. 5).

Таблица 5. Наследование групп крови

Родители		Дети			
		0	A	B	AB
1	2	3	4	5	6
0	0	100 %	Нет	Невозможно	Невозможно
0	A	40 %	60 %	Невозможно	Невозможно
A	A	20 %	80 %	Невозможно	Невозможно
0	B	40 %	Нет	60 %	Нет
B	B	20 %	Нет	80 %	Нет
A	B	20 %	30 %	20 %	30 %
0	AB	Нет	50 %	50 %	Нет
A	AB	Нет	50 %	20 %	30 %
B	AB	Нет	25 %	50 %	20 %
AB	AB	Нет	25 %	30 %	50 %



Цель работы: отработать методику подсчета лейкоцитов; ознакомиться с методикой подсчета лейкоцитов с помощью прибора «Медоник»; ознакомиться с колориметрическим методом определения содержания гемоглобина, а также с методикой подсчета эритроцитов и определением гемоглобина с помощью прибора «Медоник»; ознакомиться с методикой определения групп крови.

Материалы и оборудование: микроскоп, счетная камера Горяева, покровные стекла, смеситель для лейкоцитов, чашка для разбавляющего раствора, 5%-ный раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиленовым синим (жидкость Тюрка), фильтровальная бумага, проба исследуемой крови, предметные стекла, гемометр Сали, пипетки глазные, 0,1 н. раствор HCl, дистиллированная вода, прибор для анализа крови «Медоник», стерильный скарификатор, две стеклянные палочки, пипетки, чашки Петри или предметные стекла, карандаш для стекла, спирт, стандартные сыворотки II и III групп.

Ход работы. 1. Освоение методики определения общего количества лейкоцитов в счетной камере. Для освоения этой методики целесообразнее пользоваться в данной работе кровью, стабилизированной 5%-ным раствором натрия цитрата или другим антикоагулянтом. Кровь набрать в смеситель для лейкоцитов до метки 0,5 и развести в 20 раз жидкостью Тюрка, насасывая ее до метки 11. Разбавляют кровь для подсчета лейкоцитов также в маленьких видалевских пробирках, в которые помещают 0,4 мл жидкости Тюрка, состоящей из 1–2 мл ледяной уксусной кислоты, 1 мл 1%-ного водного раствора генциан-виолета и 100 мл дистиллированной воды. Уксусная кислота в этой жидкости лизирует эритроциты, а генциан-виолет окрашивает ядра лейкоцитов. Микропипеткой набирают 0,02 мл крови, вытирают ее кончик ватой и вносят кровь в пробирку с разбавителем. Не вынимая микропипетки из пробирки, промывают ее несколько раз верхней частью раствора. Содержимое пробирки хорошо смешивают и получают разбавление крови в 20 раз. Пробирку закрывают пробкой и оставляют на 4 мин, слегка встряхивая. После разбавления крови все дальнейшие действия выполнять в такой же последовательности, как и при подсчете эритроцитов. Различие состоит лишь в том, что лейкоциты считают в камере Горяева под малым увеличением микроскопа в 100 больших нерасчерченных квадратах (условно 1600 маленьких). Расчет общего количества лейкоцитов произвести по формуле

$$X = (Л \cdot 4000 \cdot 20) / 1600, \text{ где:}$$

X – количество лейкоцитов в 1 мм^3 крови;

$Л$ – количество лейкоцитов, подсчитанных в 100 больших квадратах;

4000 – множитель перевода к объему в 1 мм^3 крови;

20 – разведение крови;

1600 – количество малых квадратов.

Для упрощения расчета при разведении крови в 20 раз можно подсчитанное количество лейкоцитов в 100 больших квадратах умножить на 50.

Подсчет количества лейкоцитов с помощью прибора «Медоник». Набрать пробу цитратной крови в пробирку для прибора, пропустить через прибор и на экране смотреть полученные результаты.

2. Колориметрическое определение гемоглобина производится гемометром, в комплект которого входят микропипетка и стеклянная палочка (рис. 9).

Прибор состоит из пластмассового корпуса с тремя гнездами для пробирок. В задней стенке корпуса вмонтировано матовое белое стекло, рассеивающее свет. В боковые гнезда вставлены одинакового размера запаянные пробирки со стандартно окрашенным раствором, а в среднее гнездо – градуированная пробирка для исследуемой крови. На всех пробирках имеется по две круговые контрольные метки, нижняя из них соответствует емкости 0,2 мл, верхняя – 2 мл.



Рис. 9. Гемометр ГС-3

Для определения гемоглобина в градуированную пробирку гемометра налить 0,1 н. раствор соляной кислоты до нижней метки. В капиллярную пипетку, прилагаемую к прибору, насосать 0,02 мл крови. Конец пипетки вытереть ватой, опустить пипетку дно пробирки в раствор соляной кислоты и выдуть кровь. Не вынимая пипетки из пробирки, несколько раз промыть ее верхней частью раствора. После этого содержимое пробирки тщательно перемешать и оставить на 5 мин в штативе для полного гемолиза эритроцитов.

Гемоглобин, вступая в реакцию с соляной кислотой, образует солянокислый гематин, который имеет коричневую окраску. Через 5 мин в пробирку по каплям, при постоянном помешивании стеклянной палочкой, добавлять дистиллированную воду до тех пор, пока цвет жидкости не совпадет с цветом стандартного раствора в пробирках. Смотреть на малую шкалу (от 0 до 23) и по нижнему мениску жидкости определить содержание гемоглобина в грамм-процентах, а по большой шкале (от 0 до 140) на этой же пробирке количество гемоглобина установить в относительных единицах гемометра (ед. Сали). Если на пробирке нет большой шкалы, тогда относительное содержание гемоглобина рассчитать путем умножения на 6 полученного при исследовании количества гемоглобина в грамм-процентах, так как 1 г% его соответствует 6 ед.

3. Определение групп крови. На чистое предметное стекло или чашки Петри нанести разными пипетками капли сыворотки II и III групп и сделать пометки карандашом соответственно II и III группам (рис. 10).

Полученную кровь (каплю) перенести стеклянной палочкой и смешать с каплей сыворотки II группы. Другой палочкой также перенести каплю крови и смешать с каплей сыворотки III группы. Через 2–5 мин определить группы крови. Если произошла агглютинация, капля становится прозрачной, а эритроциты склеиваются в виде крупинок.

Если агглютинация отсутствует в обоих пробах, то исследуемая кровь принадлежит к I группе. При агглютинации с сывороткой III группы кровь относится к II группе, а с сывороткой II группы – к III. Если агглютинация происходит с обеими сыворотками, это кровь IV группы.



Рис. 10. Приборы для определения групп крови



Результаты и их оформление. Сравнить полученные результаты с нормой и произвести пересчет содержания лейкоцитов в 1 л крови.

Записать полученные данные содержания гемоглобина в исследуемой крови. Вычислить относительное процентное содержание гемоглобина. Перевести показатели содержания гемоглобина в граммах на 1 л. Проанализировать результаты и сравнить их с нормой.

Записать, к какой группе крови принадлежит исследуемая кровь. Определить, каким группам крови можно переливать данную кровь.

Лабораторная работа 9. Лейкоцитарная формула. Определение содержания общего белка в сыворотке (плазме) крови

Лейкоциты делятся на две большие группы: гранулоциты (зернистые) и агранулоциты (незернистые). К зернистым относятся базофилы, эозинофилы и нейтрофилы, они образуются в красном костном мозгу, а к незернистым – лимфоциты и моноциты, образуются в селезенке, лимфатических узлах. Живут лейкоциты от 23 мин до 15 дней и более.

Нейтрофилы имеют круглую форму, размеры их составляют 10–15 мкм. По степени зрелости различают миелоциты, юные (метамиелоциты), палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы. Они составляют самый мощный лейкоцитарный резерв организма, обладают высокой фагоцитарной активностью, защищают организм от инфекционно-токсических воздействий. Захватывая микробы, нейтрофилы своими ферментами переваривают их. Антител они не вырабатывают, но, адсорбируя их на своей оболочке, доставляют к очагу инфекции. Нейтрофилы вырабатывают белок интерферон и тем самым оказывают противовирусное действие.

Юные нейтрофилы имеют бобовидное или колбасовидное ядро, неравномерно окрашенное в фиолетовый цвет (светлые участки перемежаются с темными). Цитоплазма розового цвета, иногда плохо окрашенная, содержит мелкую, нежную зернистость розового цвета. У взрослых здоровых животных в периферической крови они, как правило, не обнаруживаются.

Палочкоядерные нейтрофилы относятся к зрелым формам и у здоровых животных постоянно встречаются в крови. Ядро вытянуто в виде палочки, которая может быть изогнута в виде подковы, дужки, латинской буквы S; на концах булавовидно вздута, в отдельных местах наблюдаются перехваты; окрашивается неравномерно в темно-фиолетовый цвет. Цитоплазма розового цвета с мелкой розоватой зернистостью (часто плохо видна).

Сегментоядерные нейтрофилы отличаются от палочкоядерных лишь характером ядра, состоящего из 2–5 сегментов, между которыми имеются перемычки. Толщина перемычек в два и более раза тоньше, чем сегментов. Ядро окрашивается в темно-фиолетовый цвет.

Эозинофилы имеют круглую форму, величина их составляет 10–25 мкм. Цитоплазма слабо-голубая, содержит розово-красную или ярко-красную зернистость круглой или слегка овальной формы. Зернистость окрашивается в розово-красный цвет. Эозинофилы обладают способностью к фагоцитозу, но их активность менее выражена, чем нейтрофилов. Они, так же как нейтрофилы, не способны вырабатывать антитела, но способны переносить их на себе. Проявляют высокую активность при паразитарных и аллергических заболеваниях.

Базофилы имеют круглую или немного овальную форму, величина их составляет 10–14 мкм. У зрелых форм ядро полиморфное, плохо заметное, с неясными очертаниями, окрашено в слабо-фиолетовый цвет с бордовым оттенком или в фиолетовый цвет. Цитоплазма слабо окрашена в розовый или бледно-фиолетовый цвет вследствие разрушения гранул при окраске мазка. Гранулы круглой или расплывчатой формы, окрашены в темно-фиолетовый, темно-синий или черный цвет. Они синтезируют гепарин и гистамин. Гепарин содержится в мышцах, легких, печени, сердце. Он представляет собой сложное соединение, предупреждающее образование тромбов в сосудах. Гистамин возбуждает секрецию пищеварительных желез.

Лимфоциты подразделяются на Т- и В-лимфоциты. По величине их разделяют на малые (до 10 мкм), средние (10–14 мкм) и большие (15–25 мкм). При окраске проявляются в виде округлого ядра фиолетового цвета и голубой цитоплазмы. Их функция связана с процессами иммунитета. Принимают участие в синтезе глобулинов, содержащих иммунные вещества. Способны переносить готовые антитела, а также инактивировать токсины.

Моноциты являются самыми крупными клетками периферической крови (15–25 мкм), имеют округлую, нередко неправильную форму. Ядро разнообразной формы – в виде подковы, бабочки, три-



листника, бобовидное с выбухтовываниями, но может быть сильнолопастным и грубосегментированным, неравномерно окрашивается в слабо-фиолетовый цвет с темно-фиолетовыми пятнами («пятнистое»). Цитоплазма серо-дымчатого, серо-синеватого, голубовато-серого цвета, со светло-фиолетовым оттенком, вблизи от ядра содержит мелкую пылевидную зернистость. Моноциты способны к амебoidalному движению лучше, чем лимфоциты. Являются активными фагоцитами крови. Способны инактивировать токсины.

Количество лейкоцитов в крови в 800–1000 раз меньше, чем эритроцитов. Продолжительность нахождения в кровяном русле разных видов лейкоцитов различна (от нескольких минут до нескольких десятков лет). У здорового животного содержание лейкоцитов колеблется от 6 до 16 тыс. в 1 мм³.

При оценке физиологического состояния организма животных важное значение имеет не только подсчет общего количества лейкоцитов, но и определение процентного соотношения отдельных форм белых клеток крови – **лейкоцитарной формулы** (лейкограммы). При не-которых физиологических состояниях организма лейкограмма может изменяться: происходит увеличение либо уменьшение тех или иных форм лейкоцитов. Анализ лейкограммы необходимо производить при оценке функциональной способности кроветворных органов, состояния организма. Лейкограмма здоровых животных приведена в табл. 6.

Таблица 6. Лейкограмма животных

Вид животных	Лейкограмма, %						
	Б	Э	Ю	П	С	Л	Мон
1	2	3	4	5	6	7	8
Лошади	0,5	4,0	–	4,0	48,4	40,0	3,0
КРС	0,7	7,0	–	6,0	25,0	54,3	7,0
Овцы	0,6	4,5	–	1,2	33,0	57,7	3,0
Свиньи	1,4	4,0	–	3,0	40,0	48,6	3,0
Кролики	6,0	4,0	–	–	30,0	50,0	4,0
Собаки	0–1	3–8	–	1–6	43–71	21–40	1–5
Кошки	0–1	2–8	0–1	3–9	40–45	36–51	1–5
Куры	4,0	4,0	–	1,0	26,0	59,0	6,0
Индейки	0–3	0–3	–	–	30–42	49–60	4–8
Лягушки	10–20	3–10	–	2–4	20–30	40–60	1–3

Белки плазмы или сыворотки крови в основном представлены альбуминами и глобулинами и их фракциями. Белки крови синтезируются в печени. Сывороточные (плазменные) белки выполняют многообразные функции. Они поддерживают вязкость и онкотическое давление крови, транспортируют многие питательные и другие вещества (витамины, лекарственные вещества, различные промежуточные продукты обмена, соли желчных кислот и др.), участвуют в регуляции постоянства крови, свертывании крови и иммунных процессах организма.

Альбуминов в плазме содержится до 40–60 % (у разных животных разное количество). Они относятся к группе простых белков, синтезируются в печени, выполняют питательно-пластическую функцию. Особенно важны при белковом голодании. Являются резервными белками организма. Выполняют также транспортные функции: связывают нормальные продукты обмена, лекарственные вещества. Когда в кровь поступает много жира, жирные кислоты частично связываются с альбуминами. Регулируют содержание кальция, магния и др.

Глобулинов в плазме содержится до 50–60 %.

Фракции альфа-1, альфа-2, бета и гамма. Альфа-1 синтезируется в печени, альфа-2 и бета, по одним данным, – в печени, по другим – в ретикулоэндотелиальной системе (РЭС), а гамма-глобулины синтезируются в РЭС, они являются носителями иммунных веществ, антител (лизина, агглютинина, антитоксина, преципитина и др.). По некоторым данным бета-глобулины также являются носителями антител.

Фибриноген относится к глобулинам, образуется в печени. В крови его содержится 0,2–0,4 %. Участвует в свертывании крови.

Протромбин относится к глобулинам, синтезируется в печени при наличии витамина К. Участвует в свертывании крови. Под действием кальция превращается в активный тромбин.

Отношение альбуминов к глобулинам называется **белковым коэффициентом**.



Снижение содержания общего белка – гипопроотеинемия – наблюдается при длительном недокорме животных и при несбалансированности рационов; повышение содержания общего белка – гиперпротеинемия – при белковом перекорме животных и при некоторых заболеваниях. Содержание общего белка в сыворотке крови в норме у сельскохозяйственных животных составляет 60–90 г/л.

Цель работы: подготовить мазки крови, окрасить их и провести дифференциацию лейкоцитов; определить лейкограмму; научиться определять содержание общего белка в сыворотке крови с помощью рефрактометра.

Материалы и оборудование: проба исследуемой крови, предметные стекла, покровные стекла с шлифованным краем, метиловый спирт, краска Романовского – Гимзы, ванночка, колба с дистиллированной водой, спирт этиловый, эфир, 5%-ный раствор йода, вата, марля, счетчик для клеток, атлас клеток крови, иммерсионное масло, дистиллированная вода, рефрактометр, сыворотка крови, плазма крови, вата, пипетки.

Ход работы. 1. Приготовление и окраска мазков. Мазки лучше готовить из свежей крови, но можно также использовать цитратную и оксалатную в течение 6 ч, гепаринизированную в течение 24 ч.

Каплю крови нанести на край сухого обезжиренного предметного стекла, которое удерживать между большим и средним пальцами левой руки (рис. 11).

Впереди капли под углом 45° подвести шлифованный край покровного стекла так, чтобы образовавшийся угол между стеклами был равномерно заполнен кровью. Движением правой руки от себя каплю распределить тонким слоем по предметному стеклу. Хорошим мазком будет такой, в котором кровь располагается на поверхности стекла без просветов, в виде равномерной полоски, не выходящей за ее края.

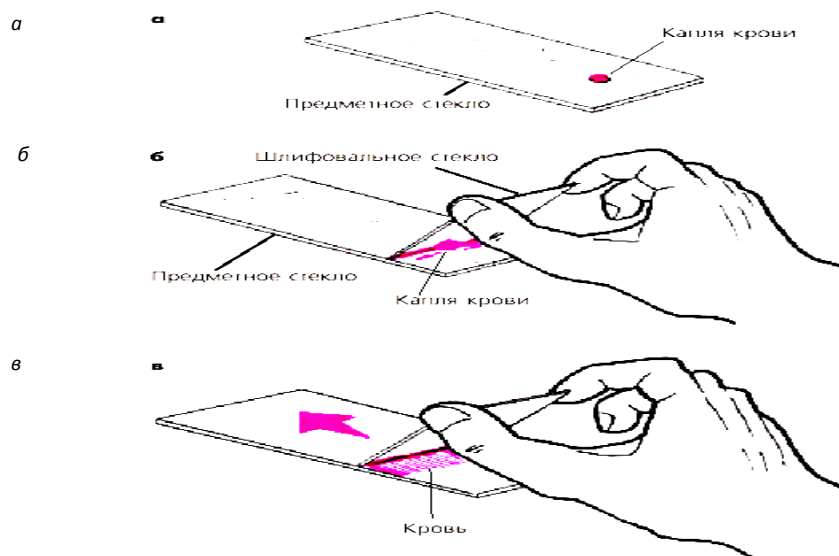


Рис. 11. Приготовление мазка крови

Приготовленный мазок высушить на воздухе и зафиксировать; для этого положить его в ванночку и налить на него спирт метиловый на 3–5 мин, или смесь эфира с абсолютным этиловым спиртом в соотношении 1:1 на 15–20 мин, или хлороформ на несколько секунд. Мазок извлечь из ванночки, высушить и окрасить одним из описанных ниже способов. Для окрашивания взять две стеклянные палочки, скрепить их параллельно резиновыми трубками и положить в виде подставки над ванночкой или кюветой. На подставке разместить фиксированные и высушенные препараты мазком кверху и окрасить.

Окраска по Романовскому – Гимзе. Готовую краску предварительно разводят дистиллированной водой из расчета 1 мл на 2–3 капли краски. Полученную смесь наливают на мазок, держат 30–40 мин (в зависимости от температуры воздуха и активности краски), после чего смывают ее дистиллированной водой, а препарат высушивают. Хорошо окрашенный мазок будет розовато-фиолетового цвета, недокрашенный – розово-красного, а переокрашенный – темно-фиолетового.

Окраска по Паппенгейму – Крюкову. Осуществляется в два приема без предварительной фиксации мазка, так как в состав краски входит фиксирующий реактив. В первый прием на сухой мазок нали-



вают 2 мл готовой краски Май-Грюнвальда на 5 мин, а затем 2 мл дистиллиро-ванной воды и смешивают ее с краской с помощью пипетки. Через 2 мин эту смесь удаляют. Во второй прием, не высушивая, на мазок наливают краску Романовского – Гимзы на 20 мин, после чего смывают ее дистиллиро-ванной водой и высушивают препарат на воздухе. При такой комбинированной окраске более четко просматриваются зернистость и структура ядра клеток.

Определение лейкограммы. На окрашенный мазок крови нанести каплю иммерсионного масла, поместить мазок на столик микроскопа и укрепить в препаратодителе. Обеспечить хорошую освещенность поля зрения при широко открытой диафрагме и поднятом кверху до упора конденсоре. Под визуальным контролем в каплю иммерсионного масла погрузить объектив $\times 90$, с помощью микро-винта добиться лучшей видимости и резкости препарата. Мазок условно разделить на 4 участка и, отступив от края мазка на 3–4 поля зрения, внимательно просмотреть его зигзагообразно, т. е. 3–5 полей вдоль края мазка, затем 3–5 полей под прямым углом к середине, далее 3–5 полей параллельно краю мазка и снова под прямым углом вернуться к краю мазка. В таком порядке микроскопировать каждый из условно разделенных участков.

Рассматривая клетки в мазке, необходимо для контроля сравнивать их с рисунками атласа. Лейко-циты в мазке обычно распределяются неравномерно – в зависимости от своей массы: более легкие (лимфоциты) – ближе к середине, более тяжелые (клетки нейтрофильного ряда, базофилы, эозинофи-лы, моноциты) – ближе к периферии мазка. Для подсчета лейкоцитов пользуются счетчиком, кото-рый имеет одиннадцать клавишей; на трех из них имеются цифры, а на восьми – буквы М, Ю, П, Э и другие, соответствующие названиям отдельных лейко-цитов (моноциты, юные, палочкоядерные, эози-нофилы и др.). Над кла-вишами имеются смотровые окна. В последних при нажатии соответствующей клавиши появляются цифры, показывающие количество обнаруженных в мазке клеток. В край-нем окне справа автоматически отображаются цифры, обозначающие общую сумму всех клеток. Как только будет насчитано 100 лейкоцитов, в счетчике возникнет сигнал, извещающий об окончании подсчета.

Для более высокой достоверности результатов в мазке лучше подсчитать 200 клеток, т. е. по 50 лейкоцитов в каждом из четырех условных участков. После подсчета сумму каждого вида лейкоци-тов разделить пополам, в результате получится процентное их содержание к 100.

2. Определение содержания общего белка в сыворотке (плазме) крови. Принцип определения основан на способности белков преломлять лучи света, при этом угол преломления (показатель пре-ломления) находится в прямой зависимости от концентрации белков.

Рефрактометр следует проверить на дистиллированной воде. На по-верхность измерительной призмы нанести 1–2 капли дистиллированной воды, опустить матовую призму и снять данные пока-зателя (коэффициента) преломления. Для этого винтом подвести границу темной и светлой части по-ля точно через точку пересечения двух диагоналей. При этом показатель преломления для воды дол-жен быть равен 1,333. В случае отклонения рефрактометр следует отрегулировать так, чтобы показа-тель преломления был точно равен 1,333.

После проверки рефрактометра следует тщательно удалить с поверхностей прибора воду и при-ступить к определению показателя преломления белка исследуемой сыворотки и плазмы.

На измерительную призму нанести 1–2 капли сыворотки (плазмы), прижать матовой призмой и, вращая винт, навести границу света и тени точно на перекрестие, затем произвести отсчет по шкале показателя преломления исследуемой сыворотки и определить по табл. 8 содержание белка.

Таблица 8. Пересчет показаний рефрактометра на показатель преломления и количество белка

Показатель преломления	Белок сыворотки, г/л	Показатель преломления	Белок сыворотки, г/л
1,34426	48,1	1,34761	67,7
1,34463	50,3	1,34798	69,8
1,34500	52,5	1,34836	72,0
1,34537	54,7	1,34873	74,2
1,34575	56,8	1,34910	76,3
1,34612	59,0	1,34947	78,5
1,34650	61,2	1,34984	80,6
1,34687	63,4	1,35021	82,8
1,34724	65,5	1,35061	85,0

Примечание. Одно деление показателя преломления (пять знаков после запятой) равно 0,05945 г/л белка.



Результаты и их оформление. Полученную лейкограмму записать в табл. 7, проанализировать и сделать выводы. Процентное содержание лейкоцитов различных видов не отвечает истинному количеству их в 1 мл крови.

Таблица 7. Лейкоцитарная формула животных

Б	Э	Нейтрофилы			Мон	Л
		Ю	П	С		

Для того чтобы получить эту величину, необходимо произвести расчет абсолютного содержания лейкоцитов в 1 мл крови, зная при этом как количество лейкоцитов, подсчитанных в камере Горяева (принимается за 100 %), так и количество соответствующих видов лейкоцитов, например моноцитов, подсчитанных в мазках крови, в процентах:

$$6500 - 100 \% \\ X - 4 \% \\ X = (6500 \cdot 4) / 100 = 260.$$

Таким образом, абсолютное число моноцитов составит 260 в 1 мл крови. Более упрощенно этот расчет производится путем умножения первых двух цифр числа лейкоцитов, подсчитанных в камере Горяева, на число соответствующего вида лейкоцитов, подсчитанных в мазке крови. Если лейкоцитов имеется 10000 и более, то следует брать первые три цифры.

Например, число лейкоцитов равно 7000 в 1 мл крови, а число моноцитов – 6 %. Тогда $70 \cdot 6 = 420$ моноцитов в 1 мл крови.

Определить содержание общего белка в данной сыворотке крови. Сравнить полученные данные с нормой.

Лабораторная работа 10. Графическая регистрация сокращений сердца лягушки. Автоматия сердца

Сердце у сельскохозяйственных животных представляет собой полый мышечный орган, состоящий из двух предсердий и двух желудочков. Сердце имеет три оболочки – эндокард, миокард и эпикард.

В работе сердца различают сокращение предсердий и желудочков (систола) и их расслабление (диастола). Систола, диастола и общая пауза составляют сердечный цикл.

Сердечный цикл состоит из трех фаз. **Первая фаза** – систола (сокращение) предсердий и диастола (расслабление) желудочков. В этой фазе кровь из предсердий поступает в желудочки через атриовентрикулярные отверстия, при этом открываются створчатые клапаны. Обратному поступлению крови в вены препятствует сокращение кольцевых мышц, расположенных в устьях вен. **Вторая фаза** – диастола предсердий и систола желудочков. Давление в желудочках при этом быстро нарастает и становится бóльшим, чем в аорте и легочной артерии. Атриовентрикулярные клапаны в это время закрыты, что препятствует поступлению крови в предсердия. Затем наступает период быстрого и медленного изгнания крови из желудочков в аорту и легочную артерию, после чего миокард желудочков расслабляется, давление в них падает. Кровь устремляется обратно из аорты и легочной артерии в желудочки и этим самым захлопывает полулунные клапаны. **Третья фаза** – общая диастола. В этой фазе отмечается протодиастолический период – от начала расслабления желудочков до закрытия полулунных клапанов. Створчатые клапаны в это время еще закрыты. К концу фазы давление в желудочках становится ниже, чем в предсердиях, открываются атриовентрикулярные клапаны и кровь из предсердий поступает в желудочки. Начинается период быстрого, а затем медленного наполнения желудочков кровью. И снова наступает систола предсердий.

Графическая регистрация работы сердца называется *кардиографией*, а кривая записи работы сердца – *кардиограммой* (рис. 12).

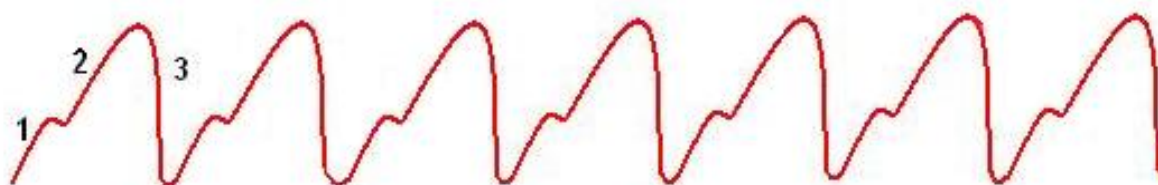


Рис. 12. Кардиограмма (кривая записи работы сердца): 1 – систола предсердий; 2 – систола желудочков; 3 – общая диастола

Способность сердца при определенных условиях некоторое время ритмически сокращаться без внешних раздражителей или вне организма называется **автоматией**. Автоматия сердца обусловлена возникновением импульсов в нем самом при отсутствии внешних раздражителей. В настоящее время считается, что морфологическим субстратом автоматии являются атипические волокна проводящей системы сердца, обладающие способностью к спонтанным ритмическим возбуждениям в результате изменения в этих клетках мембранных потенциалов.

В сердечной мышце кроме волокон рабочего миокарда имеются атипические волокна, которые способны генерировать и проводить нервные импульсы. В определенных участках сердца атипические волокна образуют скопления, которые составляют проводящую систему сердца (рис. 13).

В состав проводящей системы сердца входят: **синоатриальный (синусный) узел**, или **узел Кейса – Флека**, который располагается в стенке правого предсердия в месте впадения полых вен; **атриовентрикулярный узел**, или **узел Ашоффа – Тавары**, располагающийся в межпредсердной перегородке на границе между предсердиями и желудочками, от последнего отходит **пучок Гиса**, который делится на **левую и правую ножки пучка Гиса**, одна из которых идет в правый, а другая – в левый желудочек, где они ветвятся на **волокна Пуркинье**. Кроме того, волокна Пуркинье имеются в предсердиях, где образуют специальный проводящий путь, по которому возбуждение передается из синоатриального в атриовентрикулярный узел.

В нормальных условиях сердце сокращается под влиянием импульсов, возникающих в синоатриальном узле, которые подавляют импульсы, возникающие в других частях проводящей системы сердца.

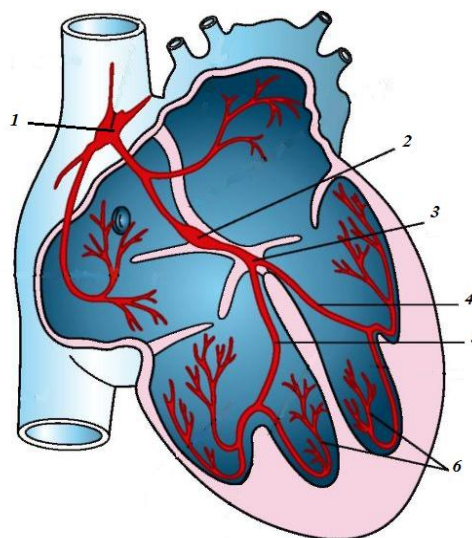


Рис. 13. Схема проводящей системы сердца: 1 – синоатриальный узел; 2 – атриовентрикулярный узел; 3 – пучок Гиса; 4, 5 – правая и левая ножки пучка Гиса; 6 – волокна Пуркинье

При нарушении работы синоатриального узла сердце сокращается под влиянием импульсов, возникающих в других частях проводящей системы сердца, причем по мере удаления от синоатриального узла способность различных частей проводящей системы сердца генерировать импульсы убывает.

Цель работы: овладеть методикой графической регистрации работы сердца лягушки, проследить фазы сердечной деятельности по кардиограмме; наблюдать автоматию сердца.



Материалы и оборудование: лягушка, препаровальный набор, кимограф, штатив с миографом и серфином, секундомер, вата, глазная пипетка, раствор Рингера для холоднокровных животных.

Ход работы. 1. Графическая регистрация сокращений сердца лягушки. Обездвиженную бескровным методом лягушку прикрепить булавками к препаровальному столику брюшком вверх. Вскрыть грудно-брюшную полость, обнажить сердце, удалить сердечную сорочку. Захватить верхушку сердца серфином, соединенным с миографом, перерезать уздечку сердца (рис. 14).

Установить миограф и кимограф так, чтобы писчик касался поверхности барабана кимографа. Запустить барабан кимографа и записать фазы работы сердца. Во время опыта сердце следует периодически увлажнять раствором Рингера для холоднокровных животных.

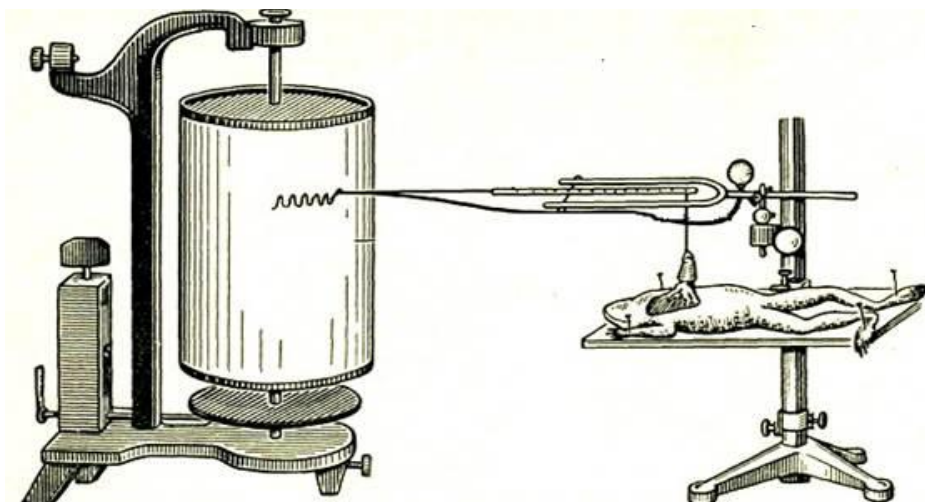


Рис. 14. Запись сокращений сердца лягушки

2. Автоматия сердца. Обездвиженную бескровным методом лягушку прикрепить булавками к препаровальному столику брюшком вверх. Вскрыть груднобрюшную полость, обнажить сердце, удалить сердечную сорочку, подсчитать число сердечных сокращений за 1 мин. Затем лигатурами перевязать обе дуги аорты и полые вены до их впадения в венозный синус, отделить сердце от окружающих тканей и поместить его в стеклянную чашку с раствором Рингера (температура 18–20 °С). Снова подсчитать количество сердечных сокращений за 1 мин.

Результаты и их оформление. В рабочей тетради зарисовать кардиограмму и обозначить участки, соответствующие различным фазам работы сердца.

Записать частоту сокращений сердца до и после его удаления из организма лягушки. Сделать выводы.

Лабораторная работа 11. Влияние адреналина, ацетилхолина, кальция и калия на работу сердца

На деятельность сердца влияют некоторые гормоны и биологически активные вещества. Гормоны надпочечников – адреналин и нор-адреналин – вызывают учащение и усиление сокращений сердца. При избытке в крови гормона щитовидной железы тироксина учащаются сердечные сокращения. Содержание адреналина и норадреналина увеличивается при физической нагрузке, болевых раздражениях, эмоциональном возбуждении. Эффект действия адреналина на сердечную мышцу напоминает влияние симпатических нервов.

При раздражении блуждающих нервов в их окончаниях выделяется ацетилхолин, который ослабляет и урежает сердечные сокращения. Это происходит вследствие увеличения мембранного потенциала клеток-пейсмейкеров (гиперполяризации мембраны) и задержки развития спонтанной медленной диастолической деполяризации мембраны, при этом уменьшается также амплитуда потенциала действия, что снижает поступление ионов кальция внутрь мышечного волокна.

Сокращение сердца зависит от концентрации ионов калия и кальция в растворе Рингера, в который помещено сердце лягушки. В мышечной ткани содержание калия в 40–50 раз выше, чем в межклеточном пространстве. Увеличение концентрации в наружном растворе приводит к уменьшению градиента концентраций калия внутри и снаружи мышечной клетки и вызывает уменьшение ее мембранного потенциала. Это, в свою очередь, приводит к замедлению диастолической деполяризации,



уменьшению амплитуды и укорочению потенциала действия. В результате в мышечные клетки при их возбуждении проникает меньше ионов кальция и сердце будет сокращаться реже и слабее.

Кальций из омывающей сердце жидкости входит внутрь мышечного волокна и стимулирует процесс сокращения мышцы: чем больше кальция входит в волокно при возбуждении, тем больше амплитуда сокращения мышц сердца.

Цель работы: изучить влияние адреналина, ацетилхолина, хлористого кальция, хлористого калия на работу сердца.

Материалы и оборудование: лягушка, препаровальный набор, вата, глазные пипетки, раствор Рингера для холоднокровных животных, 1%-ный раствор хлористого калия и хлористого кальция, раствор адреналина (1:1000), раствор ацетилхолина (1:10000).

Ход работы. Обездвиженную бескровным методом лягушку прикрепить булавками к препаровальному столику брюшком вверх. Вскрыть грудобрюшную полость, обнажить сердце, удалить сердечную сорочку. Подсчитать количество сердечных сокращений за 1 мин. На сердце нанести одну каплю раствора адреналина. Отмечать изменения в работе сердца в течение 2–3 мин, обращая внимание также на силу сокращений. Отмыть сердце раствором Рингера и выждать восстановление исходной частоты сокращений. После восстановления исходной частоты сокращений на сердце нанести 1–2 капли раствора ацетилхолина. Продолжать отмечать изменения в течение 2 мин.

После восстановления работы сердца нанести на него 1–2 капли 1%-ного раствора калия хлорида и подсчитать число сокращений сердца за 1 мин, обращая внимание на силу сокращений. Затем промыть сердце раствором Рингера и нанести 1–2 капли 1%-ного раствора кальция хлорида. Вновь подсчитать число сокращений сердца за 1 мин.

Результаты и их оформление. В рабочей тетради записать изменения работы сердца под влиянием хлористого калия, хлористого кальция, адреналина и ацетилхолина и сделать выводы о влиянии этих веществ на работу сердца.

Лабораторная работа 12. Измерение артериального давления. Кровообращение в плавательной перепонке лягушки

Кровяное давление – это давление крови на стенку кровеносного сосуда. Величина его зависит от работы сердца, просвета кровеносных сосудов, количества крови и ее вязкости. Самое высокое давление в аорте, а по мере удаления от нее кровяное давление уменьшается. Различают **систолическое**, или максимальное, давление, которое создается во время систолы желудочков, **диастолическое**, или минимальное, создаваемое во время диастолы, и **пульсовое** давление, которое является разностью между систолическим и диастолическим давлением.

Измерение кровяного давления по методу Короткова основано на выслушивании звуков, возникающих при сдавливании плечевой артерии манжетой тонометра (рис. 15).



Рис. 15. Приборы для измерения артериального давления

В несдавленной артерии при движении крови звуков нет. Если в манжете поднять давление выше уровня систолического давления, то сдавленные ткани под манжетой полностью пережимают просвет артерии и кровь через этот участок сосуда не проходит. Если постепенно выпускать воздух из манжеты, то в момент, когда давление в ней станет чуть ниже систолического, кровь при систоле



преодолевают сдавленный манжетой участок сосуда и, ударяясь о стенку артерии, порождают звуки, слышимые ниже манжеты. Это давление соответствует систолическому, или максимальному, давлению. При дальнейшем выпуске воздуха из манжеты наступает момент, когда давление становится ниже диастолического, при этом кровь проходит по сосуду беспрепятственно и звуки в артерии, выслушиваемые ниже манжеты, исчезают. В момент исчезновения звуков отмечают диастолическое, или минимальное, давление.

Метод измерения кровяного давления по Рива-Роччи основан на прощупывании пульса ниже манжеты при снижении давления в ней. Момент появления пульса соответствует систолическому давлению.

Наиболее удобным местом для определения кровяного давления у лошадей и крупного рогатого скота является хвостовая артерия, у телят до года и овец – срединная артерия, у свиней и собак – артерия Сафена (табл. 9).

Таблица 9. Артериальное давление у животных, мм рт. ст.

Вид животного	Максимальное	Минимальное	Пульсовое	Исследуемая артерия
Крупный рогатый скот	110–140	30–50	90	Хвостовая
Мелкий рогатый скот	100–120	50–65	50–55	Бедренная
Лошади	110–120	35–50	65–70	Хвостовая
Свиньи	135–155	45–55	55–60	Хвостовая
Собаки	120–140	30–40	90–100	Плечевая

Движение крови по сосудам происходит по законам гидродинамики. Кровь движется по сосудам под действием разности давлений в аорте и полых венах. Основным источником энергии, необходимой для движения крови, является артериальное давление, создаваемое сердцем. Наибольшая часть этого давления тратится на прохождение крови через мелкие сосуды – артериолы и капилляры. Количество капилляров очень большое. Длина каждого капилляра составляет 0,3–0,7 мм, диаметр – 6–8 мкм. Величина, форма и число капилляров в разных органах неодинаковы, что связано с особенностями строения и функций органов. Капилляры бывают двух видов: магистральные и образующие капиллярную сеть. Последние представляют собой боковые ответвления от магистральных капилляров. Скорость кровотока в магистральных капиллярах больше, чем в капиллярной сети. В почках, коже и легких имеются непосредственные соединения артериол и вен. Эти соединения – артериовенозные анастомозы – наиболее короткий путь между артериолами и венами. В обычных условиях они закрыты и кровь течет через капиллярную сеть.

Цель работы: овладеть техникой измерения кровяного давления у человека и животных; наблюдать особенности движения крови по сосудам плавательной перепонки лягушки.

Материалы и оборудование: тонометр, фонендоскоп, лягушка, дощечка с отверстием, булавки, микроскоп с осветителем, раствор эфира.

Ход работы. 1. Измерение артериального давления. Человек должен сидеть на стуле, руку положить на стол. На обнаженное предплечье наложить манжету. В локтевой ямке найти пульсирующую плечевую артерию и установить на ней мембрану фонендоскопа. Нагнетая воздух в манжету, создать в ней давление выше систолического, т. е. до момента исчезновения пульса. Постепенно выпускать воздух из манжеты и выслушивать фонендоскопом сосудистые шумы. (Момент появления звуков соответствует систолическому давлению.) Продолжать снижать давление в манжете и в момент исчезновения звуков отметить диастолическое давление.

При определении кровяного давления у животного его необходимо зафиксировать. На корень хвоста наложить манжету. Нащупать пульс в дистальном отделе хвостовой артерии. Накачать воздух в манжету до исчезновения пульсации в хвостовой артерии. Постепенно выпускать воздух из манжеты до появления пульса, что соответствует максимальному, или систолическому, давлению.

2. Кровообращение в плавательной перепонке лягушки. Лягушку поместить на несколько минут в банку с ватным тампоном, смоченным раствором эфира. Когда лягушка перестанет двигаться, вынуть ее из банки и приколоть к дощечке спинкой вверх. Расправить плавательную перепонку задней лапки над отверстием в дощечке и укрепить булавками. Поместить плавательную перепонку в поле зрения микроскопа.

При малом увеличении найти артериальные и венозные сосуды, ориентируясь по направлению течения крови в них. (Если кровь в сосудах не течет или движется толчками, нужно ослабить натяже-



ние плавательной перепонки.) Наблюдать течение крови в артериолах, капиллярах, венулах. Обратить внимание на скорость движения крови в магистральных капиллярах и капиллярной сети.

Результаты и их оформление. В рабочей тетради записать результаты определения кровяного давления.

З а н я т и е 13. Фистульная методика

Фистульная методика позволяет в любое время наблюдать за функцией органа, который имеет нормальное кровоснабжение и иннервацию. Из фистулы собирают чистые пищеварительные соки, изучают их состав и свойства натошак, после кормления животных или иной стимуляции секреции. На фистульных животных изучают моторную и секреторную функции органов пищеварения, процессы гидролиза и всасывания питательных веществ в различных отделах пищеварительного тракта на практически здоровых животных в почти естественных условиях хронических экспериментов.

Принцип хронического эксперимента заключается в хирургической (оперативной) подготовке животных, в ходе которой накладывают фистулу (отверстие, снабженное специальной трубкой, выходящей наружу) того или иного отдела пищеварительного тракта или выводных протоков пищеварительных желез. Опыты ставят на выздоровевших после операции животных.

Для изучения секреторной деятельности слюнных желез в лаборатории И.П. Павлова Д.Л. Глинским был предложен метод выведения их протоков с небольшим участком слизистой оболочки на поверхность щеки и подшиванием ее к коже (рисунок 4).

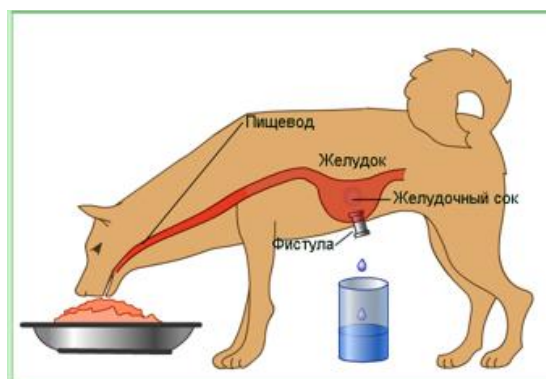


Рис. 4. Фистула околоушной слюнной железы.

В 1842 г. русский хирург Б.А. Басов впервые в мире наложил собаке фистулу на желудок, т.е. он ввел в желудок фистульную трубку и другой конец ее вывел на кожу брюха. Хотя чистый желудочный сок он не получил (сок смешивался со слюной, пищей), однако эта операция дала толчок к развитию хирургических методов исследования.

Метод получения чистого желудочного сока впервые был разработан И. П. Павловым и назван методом «мнимого кормления» (рис. 5).

А





Б

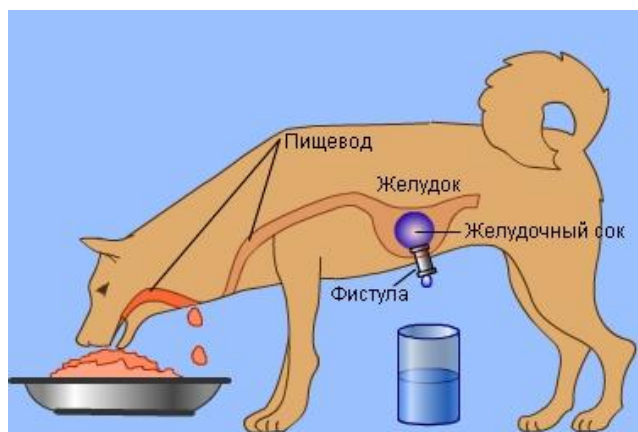


Рис. 5. А – фистула по Басову; Б – мнимое кормление.

Он заключается в следующем. Сначала делается фистула желудка по Басову, а затем в области шеи перерезается пищевод (эзофагото-мия) и оба конца подшиваются к кожной ране. Проглоченный корм выбрасывается наружу через отверстие и не попадает в желудок. Хотя корм во время еды в желудок не попадает, но желудочный сок вырабатывается в результате наличия рефлекторных влияний с рецепторов ротовой полости. Желудочное сокоотделение в опыте «мнимого кормления» начинается через 5-7 мин после начала приема корма.

Гайденгайн для получения чистого желудочного сока предложил метод «малого желудочка», который заключается в следующем. Из донной части желудка вырезается лоскут в виде треугольника, и из него создается изолированный малый желудочек (рис. 6).

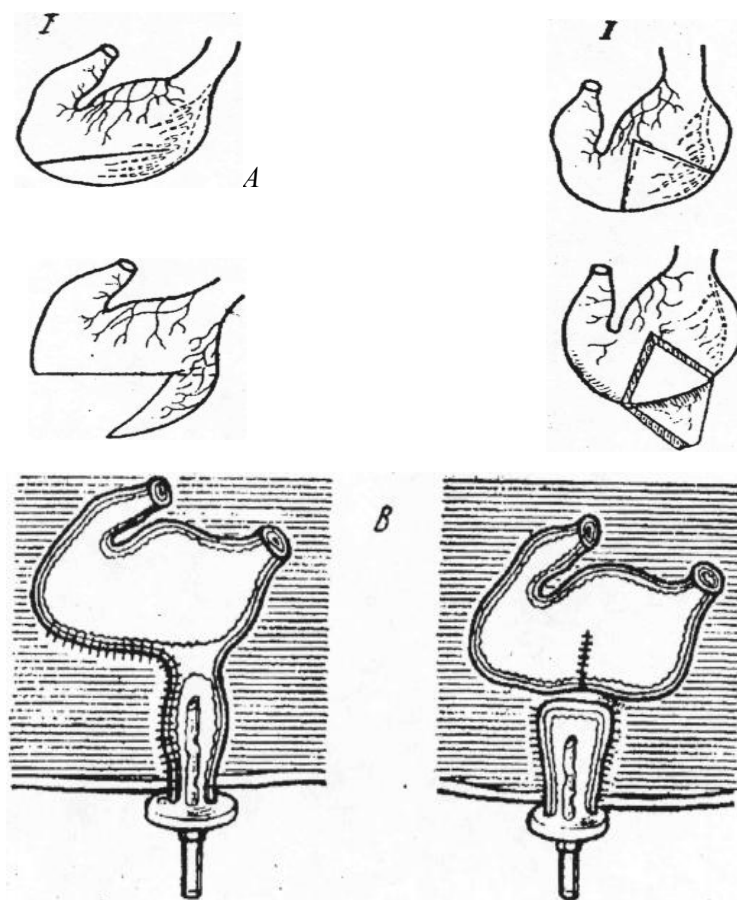


Рис. 6. Схема операций изолированного желудочка.

Отверстие в его верхушке вшивается в кожную рану и в него вставляется фистульная трубка. Край раны большого желудка сшиваются. Таким образом, в малый желудочек пища не поступает, но в нем вырабатывается желудочный сок, как и в большом желудке. Операция по методу Гайденгайна имела



и свои недостатки, так как перерезались секреторные нервы и связь малого желудка с большим осуществлялась только через кровеносные сосуды. Сок при этом выделялся через 30 мин после начала приема корма и только благодаря нейрогуморальной фазе регуляции.

И.П. Павлов разработал новую методику образования маленького желудка с сохранением нервных связей с большим желудком. Он при выкраивании лоскута для образования малого желудка оставлял в целости ту часть стенки желудка, где проходили секреторные нервы и таким образом нервная связь его с большим желудком не нарушалась и он полностью отражал секреторную деятельность большого желудка. В секреции сока принимали участие обе фазы желудочной секреции – рефлекторная и гуморальная.

Заслугой И.П. Павлова в изучении пищеварения являются не только оригинальные методы, разработанные им, но и то, что он научно обосновал возможность использования фистульной методики при изучении физиологии пищеварения.

Цель занятия: ознакомиться с основными хирургическими приемами при подготовке собак к хроническим экспериментам по слюноотделению и изучению желудочного пищеварения.

Материалы и оборудование: средства для проведения наркоза, шприцы на 5 и 10 мл с иглами, набор хирургических инструментов, фистульная трубка с пробкой, кетгут или шелк, настойка йода, эфир, стрептоцид, антибиотики, физиологический раствор. Видеофильм по проведению операции.

Ход работы: 1. Выведение протока околоушной слюнной железы у собаки. Операцию проводят с соблюдением правил асептики и антисептики. Перед операцией собаку 14-16 ч выдержать на голодной диете. Под наркозом у нее раскрыть рот и отыскать отверстие протока околоушной слюнной железы. Если проток обнаружить не удастся, то на корень языка нужно положить тампон, смоченный 0,25%-ым раствором соляной кислоты.

Это вызывает обильное слюноотделение, и отверстие протока будет заметно. В него ввести (на глубину 3-5 см) металлический зонд диаметром 0,3-0,8 мм. Зонд показывает направление хода протока и предохраняет его от повреждения. Он должен свободно входить в отверстие протока и находиться там в течение его препаровки. Далее на слизистую оболочку сверху и снизу протока наложить две лигатуры так, чтобы при выведении протока он не перекрутился.

На слизистой оболочке щеки, вокруг отверстия, скальпелем вырезать кружочек ткани диаметром 10-12 мм и отпрепарировать 4-5 см протока. На месте выведения протока кожу выбрить и кусочек ее, равный по величине кусочку слизистой, срезать ножницами. Щеку в месте среза кожи проколоть скальпелем. Затем пинцетом захватить лигатуры, наложенные на слизистую оболочку, и проток вытянуть наружу. Слизистую расправить и 6-8 швами пришить к наружной поверхности щеки. Рану в полости рта зашить. Выведенный наружу кусочек слизистой смазать вазелином для предохранения от высыхания и раздражения слюной. После этого собаке вводить антибиотики в течение 3 дней.

Кормить собаку нужно на следующий день после операции: сначала дать жидкую пищу (для меньшего раздражения раны), а на 3-4-й день перевести на обычное кормление. Особенно важно проследить за выделением слюны в первые три дачи корма. Нередко выделению слюны препятствуют корки, образующиеся на поверхности выведенной папиллы, их надо отмочить и осторожно удалить. Швы с кожи снять через 4-5 дней.

Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

2. Наложение фистулы на желудок. Операцию нужно проводить с соблюдением правил асептики и антисептики. Собаку после 14-16-часового голодания зафиксировать на операционном столе в спинном положении в состоянии наркоза. Затем обработать операционное поле. Отступив на 2-3 см от мечевидного отростка, по средней линии живота сделать кожно-мышечный разрез длиной 4-6 см. Рану обложить стерильными марлевыми салфетками и извлечь желудок. В области большой кривизны выбрать место между сосудами для наложения фистулы, после чего на желудок наложить мягкий шов так, чтобы при вскрытии из него не выбрасывалось содержимое. В месте выведения фистулы наложить первый кисетный шов по размеру фистульной трубки (1-3 см). Он должен захватывать только серозную и мышечную оболочки. Последние разрезать посередине кисетного шва. При этом подслизистая оболочка желудка выпячивается в разрез, ее следует захватить пинцетом, оттянуть и срезать ножницами. В разрез вставить фистульную трубку, закрытую пробкой. Кисетный шов крепко затянуть, следя за тем, чтобы края слизистой оболочки не выступали наружу. Отступив от первого кисетного шва на 1-1,5 см, наложить второй. При затягивании его фистульную трубку погрузить в полость желудка, а трубку окутать салыником, обмыть физиологическим раствором и через прокол брюшной стенки, сделанный на расстоянии 2-3 см от среза, вывести наружу. После этого на фистульную трубку навинтить наружное кольцо. Вначале зашить брюшину вместе со слоем мышц живота, плотно стягивая края. Прежде чем завязать последние 2-3 лигатуры, в брюшную полость ввести антибиотик. Шов припудрить стрептоцидом и зашить кожу вместе с мышцами отдельными узловыми швами из толстых лигатур.



Для тесного соприкосновения желудка с брюшиной на фистульную трубку под наружное кольцо намотать марлевую салфетку, которую снять через сутки. В этот же день собаке дать 100-300 мл молока, разведенного пополам с водой, в две-три дачи. Затем в молоко добавить белый хлеб. На 4-5-е сутки животному дать обычную измельченную пищу. Швы снять через 5-6 дней.

Если нет возможности проведения острого опыта, используют видеоматериалы, рисунки и презентации.

Результат опыта записать в тетрадь и сделать выводы.

З а н я т и е 14. Наблюдение за приемом корма и воды животными

Прием корма – акт произвольный и осуществляется по принципу рефлексов, когда конец одного рефлекса является началом другого.

В отыскивании корма, оценке его качества и в самом механизме приема у животных имеется много общего, но есть и некоторые видовые особенности. Животные отыскивают корм и определяют его пищевую пригодность с помощью органов зрения, обоняния, осязания, вкуса.

Лошади, мелкий рогатый скот принимают корм главным образом чувствительными и подвижными губами, отрывают его резцами; крупный рогатый скот, свиньи – языком, губами; птицы – клювом. Питье воды происходит путем погружения в нее губной щели с последующим насасыванием движениями щек и языка. Птицы захватывают воду клювом и, запрокидывая голову, ее заглатывают.

Жевание осуществляется боковыми движениями нижней челюсти, благодаря чему корм измельчается, дробится, перетирается. В результате этого увеличивается его поверхность, он хорошо увлажняется слюной и становится доступным для проглатывания. Лошади и свиньи тщательно жуют корм, жвачные животные – поверхностно, поэтому они могут заглатывать разнообразные посторонние предметы, чему способствует также низкая тактильная чувствительность слизистой оболочки ротовой полости. Количество затраченных жевательных движений у животных зависит от вида корма и технологии его приготовления.

Жевание – акт рефлекторный, но произвольный. Возникшее от раздражения кормом рецепторов ротовой полости возбуждение по афферентным нервам (язычная ветвь тройничного нерва, языкоглоточный нерв, верхнегортанная веточка блуждающего нерва) передается в центр жевания продолговатого мозга. От него возбуждение по эфферентным волокнам тройничного, лицевого и подъязычного нервов поступает к жевательным мышцам и за счет их сокращения осуществляется акт жевания. Высшие центры жевания располагаются в гипоталамусе и моторной зоне коры головного мозга.

Цель занятия: ознакомиться с особенностями приема корма и воды разными видами животных.

Материалы и оборудование: тазик для кормления животных, ведро, корма: сено, отруби, свекла, вода. Объект исследования - корова, лошадь, свинья. Опыт лучше проводить на животноводческой ферме.

Ход работы: Во время кормления и водопоя животного отмечают время поедания корма, время пережевывания порции корма, подсчитывают количество жевательных движений у различных видов животных. Скармливают разные корма (грубые, сочные) и наблюдают за особенностью приема их животными. Затем дают животным из ведра воду и обращают внимание, как они принимают ее. Отмечают количество выпитой воды. У жвачных животных через 30-40 минут после окончания приема корма начинается процесс отрыжки и жвачки. За актом отрыгивания наблюдают с левой стороны. Замечают, как животное периодически задерживает дыхание, вытягивает шею и отрыгивает порцию грубого корма. Обращают внимание на характер звуков, возникающих при отрыгивании, и следят за движением порции корма вдоль пищевода в направлении от желудка до глотки и ротовой полости. Подсчитывают количество отрыжек за весь жевательный период. Отмечают время повторного пережевывания порции корма, подсчитывают количество жевательных движений.

Обращают внимание на то, что у коровы одновременно с отрыгиванием грубого корма происходит отрыгивание газов. Выясняют зависимость продолжительности и количества жевательных периодов от характера корма, возраста и продуктивности животного.

Полученные результаты в процессе проведения работы записывают в тетрадь и делают выводы.

З а н я т и е 15. Определение протеолитической активности желудочного сока

В кардиальной зоне имеются только слизистые железы, а в донной и пилорической расположены железы, которые выделяют желудочный сок. Главные клетки желез выделяют ферменты, обкладоч-



ные – соляную кислоту и добавочные – слизь. В железах пилорической части нет обкладочных клеток и сок выделяется здесь без соляной кислоты.

Чистый желудочный сок представляет собой прозрачную жидкость кислой реакции (рН 1-2,5), содержит 99,2-99,4% воды и 0,6-0,8% сухого вещества. В состав сухого вещества входят: соляная кислота, натрий, калий, кальций, магний, фосфор, небольшое количество сульфатов. Органическими веществами желудочного сока являются белки, ферменты, АТФ, мочевины, мочевая кислота.

Ферменты желудочного сока: **Пепсин** – выделяется в форме пепсиногена, активируется соляной кислотой, расщепляет белки до альбумоз и пептонов. **Ренин**, или **химозин**, – створаживает молоко, превращая казеиноген в казеин, он особенно активен у молодняка. **Катепсин** – расщепляет белки до пептидов при слабокислой реакции. **Липаза** – расщепляет эмульгированный жир молока на глицерин и жирные кислоты. **Желатиназа** – разжижает белки соединительных тканей.

Регуляция секреции желудочных желез осуществляется в две фазы: сложнорефлекторную и нейрогуморальную или нейрохимическую.

Первая фаза – **сложнорефлекторная**, называется так потому, что в ней принимают участие безусловные и условные рефлексы. Условнорефлекторная секреция совершается по такому же принципу, как и условнорефлекторное слюноотделение. Вид, запах корма и другие условные раздражители, связанные с приемом корма, влияют одновременно на секрецию слюны и секрецию желудочного сока. При виде корма возбуждение с зрительного анализатора поступает через таламус в корковый центр пищеварения, а из него – в центр пищеварения продолговатого мозга и по блуждающему нерву к железам желудка.

Вторая фаза – **нейрогуморальная**, раздражителями в этой фазе являются экстрактивные вещества корма, всасывающиеся в кровь в пилорической области желудка, и продукты расщепления белков, а также гормоны: гистамин, гастрин (образуются в пилорической части желудка) и энтерогастрин (в 12-перстной кишке).

Кроме веществ, стимулирующих секрецию желудочных желез, есть вещества тормозящие. К ним относятся гастрон (образуется в желудке) и энтерогастрон (в 12-перстной кишке). Установлено, что тормозящее влияние на секрецию желудочных желез оказывает и симпатический нерв.

Желудочный сок, выделяемый в рефлекторной фазе, богат ферментами, имеет высокую концентрацию соляной кислоты, и его выделение наступает довольно быстро, через 5-7 мин. Сок, выделяемый при действии гуморальных факторов, беден ферментами, имеет меньшую кислотность и выделяется через 20-30 мин.

Цель работы: обнаружение протеолитической активности желудочного сока и выяснение условий оптимального действия ферментов.

Материалы и оборудование: желудочный сок, 2%-ый раствор питьевой соды, 0,25%-ый раствор соляной кислоты, куриный белок, штативы с пробирками (по 4 штук), пипетки на 2 и 0,5 мл, водяная баня, 10%-ый раствор едкого натра, 1%-ый раствор сернокислой меди.

Ход работы. Пронумеровав четыре пробирки, и подготавливают их следующим образом.

В пробирку № 1 наливают 2 мл желудочного сока и добавляют 0,5 мл куриного белка; в пробирку № 2 наливают 2 мл желудочного сока, кипятят его, охлаждают и добавляют 0,5 мл куриного белка; в пробирку № 3 наливают 2 мл желудочного сока, нейтрализуют его содой (2 мл 2%-го раствора соды) и добавляют 0,5 мл куриного белка; в пробирку № 4 наливают 2 мл 0,25%-ного раствора соляной кислоты и добавляют 0,5 мл куриного белка.

Все пробирки помещают в водяную баню при 38-40°C на 40-50 мин. По истечении этого времени пробирки вынимают, охлаждают под струей воды. Для выяснения действия ферментов на белки поставить биуретовую реакцию. Для этого в каждую опытную пробирку добавить по 1 мл 10%-го раствора едкого натра и 4-5 капель 1%-го раствора сернокислой меди. При смешивании в второй, третьей и четвертой пробирках жидкость приобретет фиолетово-синюю окраску, что свидетельствует о нерасщеплении белка. В первой пробирке жидкость окрасится в фиолетово-розовый или розовый цвет. Это значит, что расщепление белка произошло до полипептидов (альбумоз и пептонов).

Полученные данные записать в тетради. Сделать выводы.

З а н я т и е 16. Подсчет количества инфузорий в рубцовом содержимом. Определение активности рубцовой микрофлоры

Пищеварение у жвачных совершается наиболее сложно в связи с особенностями строения желудка. У них желудок многокамерный, состоит из преджелудков (рубца, сетки, книжки) и собственно желудка – сычуга. Только в нем имеются железы, вырабатывающие ферменты.



Рубец обладает наибольшей емкостью, у коров до 300 л (в зависимости от возраста и веса), у овец до 20 л. На слизистой рубца имеется много сосочков, за счет их увеличивается ее поверхность.

Сетка у коров имеет емкость до 10 л, у овец до 2л. Отделяется она от рубца складкой, а ее слизистая оболочка имеет сетчатое строение, напоминающее пчелиные соты, благодаря чему грубые частицы корма не проходят в нее и задерживаются в рубце.

Книжка у коров емкостью до 18 л, у овец до 1 л, имеет много радиально расположенных разного размера листков, покрытых плоским эпителием с грубыми сосочками.

Содержимое рубца представляет собой кашицеобразную массу буро-желтого, серо-зеленого или интенсивно-зеленого цвета, имеет сильный своеобразный запах. В рубце жвачных создана почти идеальная среда для размножения микрофлоры и микрофауны. Реакция содержимого рубца у здоровых животных при сбалансированном кормлении нейтральная, слабокислая или слабощелочная, pH обычно 6,8-7,0-7,4. Такая среда, близкая к нейтральной, наиболее благоприятна для метаболических процессов в рубце.

Бактерии. Бактериальная масса составляет около 10% сухого вещества содержимого преджелудков. Концентрация микрофлоры в содержимом рубца весьма велика - 10^9 - 10^{11} бактерий в 1 мл. Число их видов достигает 150. Это переваривающие клетчатку, использующие продукты расщепления целлюлозы, крахмала, образующие летучие жирные кислоты и витамины группы В. По форме различают палочки, кокки, спирохеты, вибрионы; по среде обитания это в основном облигатные или факультативные анаэробы. По используемому субстрату их классифицируют следующим образом:

- а) целлюлозолитические - активно расщепляющие клетчатку;
- б) протеолитические - расщепляющие азотсодержащие вещества;
- в) липолитические - расщепляющие липиды и вызывающие гидрирование и изомеризацию жирных кислот.

В зависимости от конечного продукта жизнедеятельности выделяют молочнокислые бактерии, сбраживающие сахара (глюкозу, мальтозу, галактозу, сахарозу), метаногенные и др. бактерии.

Простейшие. Микрофауна преджелудков представлена реснитчатыми и равнореснитчатыми инфузориями (около 50 видов). Общее их количество более 10^9 в 1 мл содержимого.

Заселение простейшими преджелудков происходит постепенно, в начале потребления грубого корма. У ягнят реснитчатые инфузории появляются на 8-12-й день, у телят - позднее. Количество и видовой состав инфузорий в содержимом рубца зависят от условий питания животных.

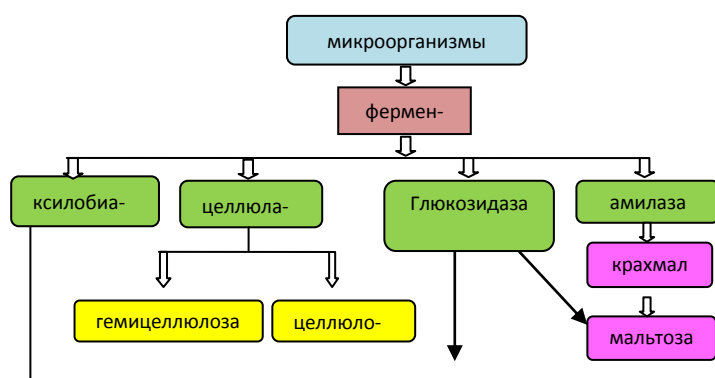
В процессе жизни инфузории измельчают и разрыхляют частицы корма, ферментируют сахара, накапливают полисахариды, участвуют в азотистом обмене. В них содержится около 20% азота, тогда как в бактериях - 12%. Они синтезируют незаменимые аминокислоты. Белок простейших имеет высокую биологическую ценность.

Грибы. Имеющиеся в содержимом рубца грибки (дрожжи, плесени, актиномицеты) обладают целлюлозолитической активностью, сбраживают сахара, синтезируют гликоген, аминокислоты, витамины группы В.

В рубце за счет непрерывной секреции околоушной железой слюны, богатой бикарбонатами, нейтрализуются, кислые продукты, образующиеся при брожении, и создаются оптимальные условия для жизнедеятельности микроорганизмов. В слюне жвачных содержится витамин С. Он способствует развитию бактерий рубца и подавляет патогенную микрофлору. Важное значение имеет температура в рубце, которая удерживается в пределах 38-40 °С.

Переваривание углеводов в преджелудках. Углеводы составляют до 80% растительного корма. К ним относятся полисахариды – целлюлоза (клетчатка), гемицеллюлоза, пектиновые вещества, инулин, крахмал и дисахариды – сахароза, мальтоза, целлобиоза и др. Состав углеводов и их количество зависят от вида растений и времени их использования на корм.

Клетчатка расщепляется целлюлозолитическими микроорганизмами (до 70% от усвоенного количества ее) при контактном действии микроорганизмов (рис. 7).



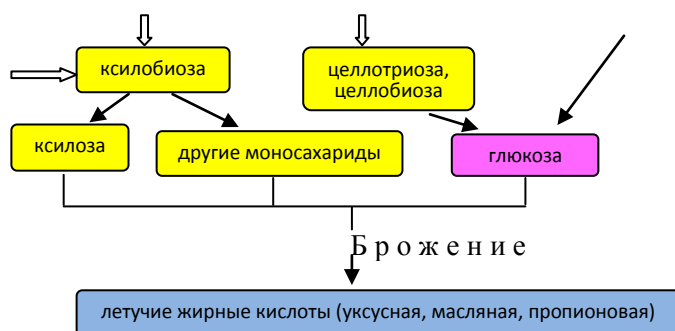


Рис. 7. Схема расщепления углеводов в рубце жвачных.

Фермент целлюлаза расщепляет клетчатку (целлюлозу) до целлотриозы и целлобиозы, а глюкозидаза (мальтаза) расщепляет их до глюкозы. Целлюлаза расщепляет также и гемоцеллюлозу до ксилобиозы, а ксилобиоза расщепляет ее до ксилозы. Пектиновые вещества расщепляются главным образом пектинэстеразой.

Крахмал переваривается легче. Он расщепляется амилазой до мальтозы, а глюкозидаза (мальтаза) расщепляет ее до глюкозы. Так же расщепляется и часть дисахаридов. Образовавшиеся в рубце глюкоза, ксилоза, а также дисахариды и другие простые сахара корма подвергаются брожению с образованием летучих жирных кислот (ЛЖК) – уксусной, пропионовой, масляной, молочной и др.

Переваривание белков в преджелудках. В растительных кормах содержатся белки простые (альбумины, глобулины, протеины и др.) и сложные (фосфопротеиды, глюкотеиды, хромопротеиды), а также в незначительном количестве аминокислоты и другие азотистые соединения.

Гидролиз белков совершается протеолитическими ферментами, выделяемыми микроорганизмами следующим образом (рис. 8).

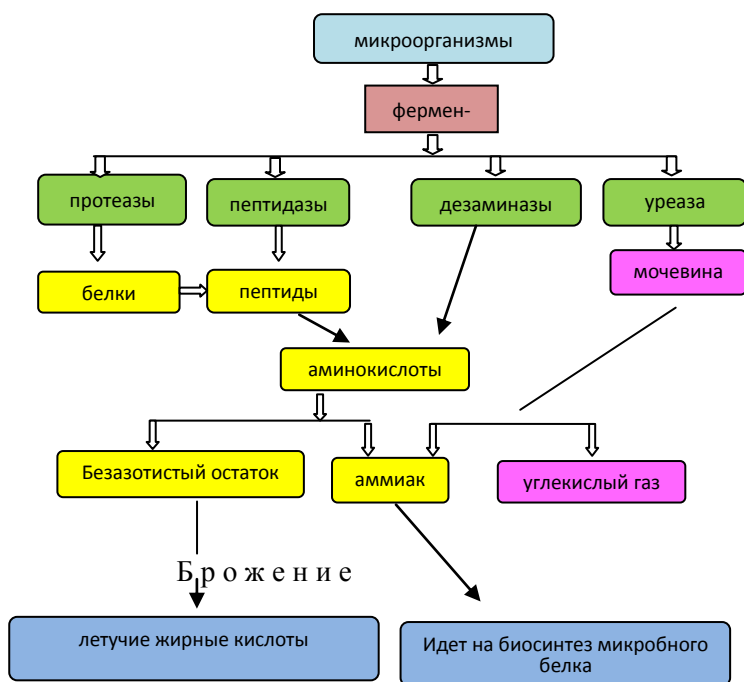


Рис. 8. Схема расщепления белков в рубце жвачных.

Ферменты протеазы и пептидазы расщепляют белки до аминокислот, дезаминазы дезаминируют часть аминокислот до аммиака и безазотистого остатка, который сбраживается до ЛЖК, а аммиак используется микроорганизмами для биосинтеза белка своего тела. В рубец со слюной и из крови через его стенку поступает мочевина, она ферментом уреазой расщепляется на аммиак и углекислоту, часть которой всасывается в кровь, а часть отщепляется, а аммиак также используется микроорганизмами для синтеза белка своего тела.

Микроорганизмы способны не только дезаминировать аминокислоты, но и переаминировать – создавать другие аминокислоты. Одни виды бактерий для биосинтеза используют преимущественно



аммиак, другие – незаменимые аминкислоты, а некоторые используют и то, и другое, микроорганизмам для биосинтетических процессов, используется из глюкозы, но лучшим углеводом для этой цели является крахмал. Биологическая ценность белка, синтезируемого микроорганизмами, выше, чем растительного, так как он содержит незаменимые аминокислоты.

Цель работы: ознакомиться в препарате «висячей капли» с разновидностями рубцовых инфузорий, их размерами и характером движения. Произвести подсчет количества инфузорий в 1 мл рубцовой жидкости. Определить активность рубцовой микрофлоры.

Материалы и оборудование: смеситель, камера Горяева, микроскоп, предметные, покровные и часовые стекла, пипетки, содержимое рубца, 0,03 %-ый раствор метиленовой сини, секундомер.

Ход работы. 1. Подсчет количества инфузорий в рубцовом содержимом. У животного до кормления получают рубцовое содержимое. Часть полученного содержимого отфильтровывают через 4 слоя марли и фиксируют 10 %-ым раствором формальдегида (1:1), часть переливают в термос и доставляют в лабораторию.

Находящееся в термосе рубцовое содержимое профильтровать через 4 слоя марли в стаканчик, находящийся в сосуде с водой температуры 39-40°C. Нанести на часовое стеклышко несколько капель фильтрата и добавить 1 каплю раствора метиленовой сини 1:1000. Пипеткой нанести каплю окрашенного фильтрата на покровное стекло, быстро перевернуть его и наложить на предметное стекло с круглым отшлифованным углублением. Края покровного стекла окаймить вазелином. В полученном препарате «висячей капли» наблюдать за движением инфузорий сначала под малым, затем под средним увеличением микроскопа. Обратить внимание на инфузории, расщипывающие стебли корма.

Притереть к камере Горяева шлифованное покровное стекло, рассмотреть сетку под малым увеличением микроскопа и заполнить камеру фильтратом рубцового содержимого из смесителя, как это делается при подсчете форменных элементов крови. Инфузории подсчитать в 100 больших квадратах сетки, как при подсчете лейкоцитов. Количество инфузорий (x) в 1 мл содержимого вычислить по формуле

$$X = \frac{п \times 250 \times 2 \times 1000}{100} \quad \text{или} \quad п \times 5000, \text{ где:}$$

п – число инфузорий в 100 больших квадратах сетки (оно составляет в среднем 90-180).

2. Активности рубцовой микрофлоры Активность рубцовой микрофлоры определяют пробой с метиленовым синим. При нормальной активности микрофлоры 1 мл 0,03%-го раствора метиленового синего, добавленный к 20 мл рубцовой жидкости, обесцвечивается в течение 3 мин. При понижении активности рубцовой микрофлоры время обесцвечивания метиленового синего увеличивается до 15-17 мин и более.

Полученные данные записать в тетради. Сделать выводы.

Лабораторная работа 13. Изучение физико-химических свойств мочи

Состав мочи. В моче содержится около 4% сухого вещества и 96% воды. В моче имеются продукты белкового обмена: мочевины, мочевая кислота, аммиак, креатинин, гипуровая кислота. Продукты гниения белков – индол, скатол, крезол, фенол; пигменты – уробилин, урохром и др. Неорганические вещества – соли натрия, калия, сернокислые, фосфорнокислые и др. Запах мочи специфичен для каждого вида животных и зависит от ее концентрации (табл. 1).

Таблица 1 – Состав плазмы, первичной и конечной мочи

Показатели	Состав в расчете на 90 л, г			
	плазма	первичная моча	всасывается в кровь из первичной мочи	состав 1 л конечной мочи
Вода, л	83	83	82	1
Коллоиды	6750	–	–	–
Глюкоза	90	90	90	–
Мочевина	27	27	7	20
Мочевая кислота	3,6	3,6	3,1	0,5
Натрий	270	270	266,5	3,5
Хлориды	333	333	327	6
Калий	18	18	16,5	1,5
Фосфаты	8,1	8,1	6,6	1,5
Сульфаты	1,8	1,8	–	1,8



У здоровых животных плотность мочи колеблется в пределах (г/мл или кг/л) у крупного рогатого скота – 1,015 – 1,045, свиньи 1,010 – 1,030, лошади – 1,020 – 1,050.

Реакция мочи у животных может быть кислой, щелочной или нейтральной в зависимости от вида, пола животного и корма. При поедании животными корма богатого белками, реакция мочи кислая, моча травоядных животных щелочная, у всеядных – слабощелочная. рН мочи крупного рогатого скота 7,7-8,7, у новорожденных телят моча кислая – 5,7, а с возрастом постепенно переходит в щелочную, у лошади – 7,1-8,7, у свиньи – 6,0-7,5.

Цель работы: изучить физико-химические свойства мочи полученной от разных животных (крупный рогатый скот, лошадь).

Материалы и оборудование: моча свежая, бюретки, стаканчики на 100 – 500 мл; мерный цилиндр на 100 мл, вата урометр, термометр, индикаторная бумага, рН-метр, реактивы для определения белка, сахара, кетоновых тел.

Ход работы. 1. Исследование физических свойств мочи.

Определение количества мочи. Собрать мочу у животного за 1 ч, а если есть возможность, то и за больший промежуток времени. Количество мочи измерить в мерном цилиндре и рассчитать выделение ее за сутки. Здоровые животные за сутки выделяют: лошади – 3-6 л, крупный рогатый скот – 5-12, овцы и козы – 0,5-1, свиньи – 2-4 мочи. Увеличение выделение ее за сутки называется полиурией, уменьшение – олигоурией, прекращение образования – анурией.

Цвет мочи лучше определять в цилиндре на белом фоне. Моча большинства животных прозрачная желтого цвета. У жвачных моча бывает светло-желтого до светло-коричневого цвета, у лошадей – от бледно - до буро-желтого; у свиней – светло-желтого цвета. При патологии цвет мочи меняется: при сахарном диабете – бесцветная, при гематурии, гемоглобинурии, миоглобинурии – от темно-коричневого до кроваво-красной, при увеличении количества желчных пигментов – от желто-зеленой до темно-коричневой. Цвет мочи может меняться и после применения лекарственных веществ, а также при кормлении красной свеклой.

Прозрачность мочи лучше определять при дневном свете в прозрачной посуде. Свежая моча от здоровых животных прозрачна. У однокопытных животных моча мутная от присутствия кристаллов углекислого кальция.

Помутнение свежеполученной мочи обусловлено присутствием в ней крови, бактерий, слизи, капелек жира.

Консистенция мочи определяют путем переливания ее из сосуда в сосуд. У крупного рогатого скота, свиней, овец она жидкая, водянистая, у лошадей – слизистая вследствие примеси муцина.

Запах мочи специфичен для каждого вида животного и зависит от ее консистенции. При длительном хранении мочи на воздухе запах у нее становится аммиачным; при распаде тканей мочевого пузыря, опухолей – гнилостным; фруктовый запах мочи у коров бывает при кетозе.

Плотность мочи определяется урометром со шкалой 1,000-1,060. Для определения плотности мочи цилиндр емкостью 100 мл осторожно заполнить мочой, в которую медленно опускают урометр, следя за тем, чтобы он не соприкасался со стенками цилиндра. Отметить деление урометра, внести поправку на температуру исследуемой мочи. При этом на каждые 3° выше 15° следует прибавить, а ниже – отнять 0,001 от показания шкалы урометра. Например, если показания урометра при 18° будет 1,015, то с температурной поправкой плотность мочи составит 1,016.

Проанализировать результаты и сравнить их с нормой. Сделать выводы

2. Исследование химических свойств мочи.

Исследование реакции мочи. Необходимо определить с помощью рН-метра или индикаторной бумаги. Для определения реакции мочи взять универсальную бумагу смочить ее мочой, по цветной шкале определить рН мочи.

Исследование мочи на содержание белка. В пробирку налить 1-2 мл концентрированной азотной кислоты. Затем медленно по стенке добавить равный объем мочи. Слои между жидкостями не перемешивать. На их границе появляется коричневое кольцо как следствие взаимодействия мочевых пигментов с азотной кислотой. Моча, содержащая белок, на границе жидкостей дает мутноватое кольцо. Проба с азотной кислотой является очень чувствительной, благодаря чему обнаруживается незначительное количество белка – до 0,033%.

Определение сахара в моче. В пробирку отмерить 4 мл реактива Ниляндера (цитрат висмута – 2 г, сегнетова соль – 4 г, 10%-ный раствор гидроксида натрия – 100 мл), добавить 2 мл свежей мочи и нагреть смесь в течение 3-4 мин. При наличии сахара в моче смесь мутнеет и приобретает окраску от коричневой до черной. Проба выявляет 0,1 г сахара в 100 мл мочи. Для контроля провести аналогичную реакцию, но вместо мочи к реактиву Ниляндера добавить 2 мл воды.

Результаты опыта записать в тетрадь. Сделать выводы.



Лабораторная работа 17. Наблюдение за лягушкой после удаления гипофиза

Гипофиз расположен у основания головного мозга (турецкое седло) и разделяется у сельскохозяйственных животных на три доли: переднюю - аденогипофиз, среднюю и заднюю - нейрогипофиз. Средняя масса гипофиза коровы - 3,8 г, лошади - 2,1 г, овцы - 0,4 г, свиньи - 0,3 г. Масса гипофиза может изменяться в зависимости от сезона года и функционального состояния организма. После кастрации масса гипофиза увеличивается.

В передней доле гипофиза синтезируется гормон роста - соматотропин, пролактин, адренокортикоидный, тиреотропный, гона-дотропные (фолликулостимулирующий и лютеинизирующий) гормоны.

Гормон роста (соматотропный гормон - СТГ) влияет на интенсивность анаболических процессов, активизирует синтез белка, митозы клеток, обеспечивает процессы роста, усиливает синтез гликогена, извлечение жира из жирового депо, отложение кальция и фосфора в костях и др.

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) оказывает свое влияние на созревание фолликулов, овуляцию, образование желтого тела и выделение прогестерона, усиливает развитие семенных канальцев, способствует сперматогенезу.

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) способствует овуляции, развитию желтого тела и образованию в нем гормона прогестерона, способствует развитию интерстициальной ткани в семенниках, усиливает выработку полового гормона самцов - тестостерона.

Пролактин способствует развитию желтых тел и образованию прогестерона, регулирует материнский инстинкт, стимулирует развитие молочных желез, выработку молока молочными железами после того, как они подвергались влиянию эстрогенов и прогестерона.

Адренокортикотропный гормон (АКТГ) основная его функция стимуляция роста коры надпочечников (пучковой и сетчатой зон), регуляция синтеза и секреции кортикостероидных гормонов.

Тиреотропный гормон гипофиза (ТТГ) стимулирует рост щитовидной железы, увеличение ее размеров, числа фолликулярных клеток, накопление йода, активацию биосинтеза тиреоидных гормонов и поступление их в кровь, влияет на промежуточный обмен в тканях щитовидной железы.

В средней доле гипофиза синтезируется *интермедиин*, который регулирует пигментацию кожного и волосяного покрова животных.

В нейрогипофизе (задняя доля гипофиза) депонируются окситоцин и вазопрессин, которые образуются в гипоталамусе, а затем по аксонам поступают и депонируются в задней доли гипофиза.

Вазопрессин регулирует водный обмен. Он усиливает реабсорбцию воды в дистальных извитых канальцах и собирательных трубках почек и тем самым снижает диурез, поэтому его часто называют антидиуретическим гормоном. Вазопрессин в больших дозах суживает кровеносные сосуды, вызывая повышение кровяного давления.

Окситоцин сокращает миоэпителий, окутывающий альвеолы молочной железы, благодаря чему молоко из альвеол и мелких протоков переходит в крупные молочные протоки и молочную цистерну. Таким образом, окситоцин участвует в осуществлении рефлекса молокоотдачи. Этот гормон разрушается через 4-6 минут, поэтому необходимо быстрое доение коров. Окситоцин вызывает сокращение гладких мышц матки, чем и обеспечивает нормальные роды.

Цель работы: изучить влияние гормона средней доли гипофиза на организм лягушки.

Материалы и оборудование: лягушка, столик для фиксации, хирургические инструменты, вата, спиртовой наркоз, осветительный прибор.

Ход работы. Лягушку под наркозом зафиксировать на столике кверху брюшком, ниткой отвести нижнюю челюсть возможно дальше назад. С неба снять слизистую оболочку, обнажить клиновидную косточку, в центре которой просвечивает гипофиз в виде розоватого тельца 1,5 мм величиной и удалить его. Лягушку поместить под осветительный прибор на 45 минут, при этом периодически увлажнять кожу дистиллированной водой. По истечении времени проанализировать изменения, произошедшие с лягушкой.

Результаты опыта записать в тетрадь. Сделать выводы.



Лабораторная работа 18. Влияние тироксина, тиротронина и пропилтиоурацила на метаболизм

Щитовидная железа расположена на трахее в виде двух боковых долей, соединенных между собой, у некоторых животных – перешейком. Ее масса (в г): у молочных пород скота – 23-41, у мясных – 21-36, у лошадей – 20-35, у свиней – 12-30, у овец – 5-14.

Щитовидная железа вырабатывает два йодсодержащих гормона – **тироксин** (T_4) и **трийодтиронин** (T_3). В их образовании принимает участие йод и аминокислота тирозин. В организме тироксина в 20 раз больше, чем трийодтиронина, и в тоже время тироксин в клетках может превращаться в трийодтиронин, который имеет в 5 раз более сильный физиологический эффект.

Из крови внутрь клеток проникают только свободные T_3 и T_4 . Свое главное значение гормоны щитовидной железы обеспечивают посредством усиления метаболической активности организма. Они усиливают все виды обмена веществ в клетках и тканях. Тиреоидные гормоны ускоряют всасывание глюкозы в желудочно-кишечном тракте, участвуют в регуляции содержания сахара в крови и синтезе гликогена в печени. Йодсодержащие гормоны усиливают секрецию молока и содержание в нем жира, подавляют деятельность половых желез.

Фолликулярные клетки щитовидной железы синтезируют третий гормон – **тиреокальцитонин**. Он регулирует обмен кальция и фосфора в организме. Механизм его действия связан с тем, что он снижает содержание кальция и фосфора в крови. Тиреокальцитонин препятствует выведению кальция из костей.

При гиперфункции щитовидной железы и увеличения образования гормона тироксина основной обмен повышается на 30-50%, усиливается распад гликогена, белков и выделение азота с мочой, появляется быстрая утомляемость, учащается сердечная деятельность, повышается температура тела и т.д.

При гипофункции железы снижаются окислительные процессы, нарушается цикличность половой функции, замедляется рост, наблюдается непропорциональное развитие тела и др.

Регуляция деятельности щитовидной железы контролируется тиреотропным гормоном аденогипофиза путем обратной связи через гипоталамус.

Цель работы: продемонстрировать влияние тироксина, трийодтиронина и пропилтиоурацила на метаболизм трех различных крыс (виртуальный эксперимент).

Материалы и оборудование: персональный компьютер, программа для демонстрации виртуального эксперимента «*Виртуальная физиология/ physiology simulators (русская версия/Russian version)*».

Ход работы. Метаболизм состоит из всех видов обмена веществ и энергии, происходящих между организмом и окружающей средой. Её показатели зависят от следующих факторов:

- вида (чем крупнее животное, тем ниже показатели метаболизма);
- пола (метаболизм у самцов интенсивнее, чем у самок);
- возраста (чем старше животное, тем ниже показатели метаболизма).

Основными гормонами, ответственными за регуляцию метаболизма, являются гормоны щитовидной железы тироксин и трийодтиронин. Секреция гормонов усиливается под воздействием тиротронина (тиреотропного гормона, стимулирующего щитовидную железу), который синтезируется аденогипофизом. Пропилтиоурацил является веществом, которое тормозит синтез тиреоидных гормонов.

Данная работа выполняется виртуально на персональном компьютере. Первая крыса здоровая, вторая с удаленной щитовидной железой, третья с удаленным гипофизом. Метаболизм трех крыс измеряется до и после введения в их организмы тироксина, тиротронина и пропилтиоурацила.

На персональном компьютере включить программу для демонстрации виртуального эксперимента «*Виртуальная физиология/ physiology simulators (русская версия/Russian version)*» и выполнить работу.

1. Поместите крысу в дыхательную камеру;
2. Щелкните кнопку СТАРТ;
3. Подождите 60 секунд и обратите внимание на то, как уменьшается уровень жидкости в левой части манометра, по мере того, как в дыхательной камере поглощается кислород (в тоже время, выделяемый крысой углекислый газ поглощается натриевой известью);
4. По прошествии 60 секунд щелкните клавишу для запуска воздуха в дыхательную камеру, уровень жидкости в двух отсеках манометра должен стать одинаковым;
5. Определите коэффициент обмена веществ:
Коэффициент = $\text{мл } O_2 \times 60 \times 1000 / \text{масса тела крысы}$;
6. Проведите сравнительный анализ и сделайте выводы.



Лабораторная работа 19. Определение морфологии сперматозоидов и свойств спермы

Сперма – это смесь спермиев (половых клеток самца) и плазмы (секретов придатка семенников и придаточных половых желез – пузырьковидных, предстательной, куперовых и уретральных).

Эякулят – сперма, выделенная самцом во время полового акта. Спермии отличаются от всех других клеток организма, способностью к движению. Спермий состоит из головки, шейки, тела и хвоста. Активное движение спермиев осуществляется за счет энергии дыхания и гликолиза. Центр движения находится в шейке и теле. Спермии движутся за счет того, что изгибают хвост в одну сторону, а затем быстро его выпрямляют. Благодаря выпукло-вогнутой форме головки спермий вращается вокруг своей оси. Сочетание ударов хвоста с вращением обуславливает поступательное движение. Движение спермиев обусловлено наличием в них сократительного белка – спермозина.

Повышение температуры до 40°C заметно активизирует спермиев, но при этом резко сокращается срок их жизни. При температуре 45°C спермии утрачивают оплодотворяющую способность вследствие инактивации ферментных систем, а при температуре 48°C погибают. Постепенное понижение температуры замедляет движение спермиев, поскольку тормозятся дыхание и фруктолиз. При температуре 15°C движение становится колебательным, а после охлаждения до 5°C оно прекращается (температурный анабиоз). Спермии, помещенные в среду с меньшим осмотическим давлением (гипотонические растворы), набухают, помещенные в среду с повышенным осмотическим давлением (гипертонические растворы) – сморщиваются; в том и другом случаях быстро наступает их гибель.

Цель работы: ознакомиться со строением, движением спермы. Определить влияние факторов внешней среды на спермии (температура, осмотическое давление). Определить подвижность спермиев в балах при разных условиях.

Материалы и оборудование: сперма быка, программа компьютерного анализа качества спермы производителей «Sperm Vision», предметные и покровные стекла, глазная пипетка, 1% и 3%-ные растворы натрия хлорида, дистиллированная вода.

Ход работы. Каплю спермы помещают на предметное стекло, добавляют в нее каплю 1%-ного раствора натрия хлорида, смешивают их и накрывают покровным стеклом. Препарат анализируют при помощи программы «SpermVision», и обращают внимание на форму, величину и особенности строения спермиев.

Подготовить обогревательный столик с температурой 38–40°C и положить на него предметное стекло. Каплю спермы наносят на подогретое предметное стекло и накрывают ее покровным стеклом так, чтобы не образовались пузырьки воздуха. Препарат помещают на

столик микроскопа исследуют, сперму при среднем увеличении объектива затемненном поле зрения. Наблюдают за активностью спермиев и определяют виды их движения – прямолинейно-поступательное, колебательное, маневренное (круговое) и отсутствие подвижности. Проводят оценку качества спермы визуально и при помощи программы.

Каждый раз обновляя каплю спермы, предметное и покровное стекла, производят оценку активности спермиев, изменяя температуру и добавляя растворы. Результаты своих наблюдений о влиянии различных факторов на спермии записывают в таблицу.

Таблица 2 – Результаты наблюдений влияния на спермии высокой и низкой температур, воды, различных растворов

+38° С	+50° С	Охлажденная сперма	3%-ныйраствор NaCl	1%-ныйраствор NaCl	Вода дистиллированная

По результатам работы сделать выводы.

Лабораторная работа 20. Определение полового цикла у коров

Половой цикл – совокупность физиологических процессов, совершающихся последовательно во всем организме и в половом аппарате небеременной самки в период от одной овуляции до другой (или от одной охоты до другой). Видимые изменения на протяжении всего цикла происходят в яичниках. Они заключаются в периодическом созревании одного или нескольких фолликулов, овуляции и образовании желтого тела (тел). Наиболее ярким внешним проявлением этих изменений является течка (выделение слизи из половых органов) и половая охота (готовность самки к спариванию с сам-



цом). Поэтому началом полового цикла принято считать именно половую охоту. Период времени между двумя половыми охотами (или овуляциями) составляет продолжительность полового цикла. Учение о половом цикле впервые сформулировал Уолтер Хип (Heap) в 1901 году. Он выделил в половом цикле 4 стадии (фазы): проэструс, эструс, метэструс и диэструс.

1. Проэструс – предтечка, подготовительная стадия, когда половые органы находятся под доминирующим влиянием графового фолликула, а секреторная активность желтого тела постепенно снижается.

2. Эструс – стадия выраженной половой активности, когда морфологические изменения в половой системе дополняются активной секрецией маточных желез, выделением наружу течковой слизи и изменениями поведения животного.

3. Метэструс – короткая переходная стадия, что совпадает со сроком образование в яичнике на месте овулировавшего фолликула желтого тела.

4. Диэструс – период между следующими один за другим циклами. Доминирование желтого тела.

Цель работы: ознакомиться с физиологическими процессами в организме и в половом аппарате самки в течение полового цикла. Изучить на школе-шерме наиболее яркие внешние проявления эструса (течка и половая охота) у коров. Провести УЗИ яичников с разными стадиями полового цикла.

Материалы и оборудование: коровы с разными стадиями полового цикла, портативный ультразвуковой прибор с монитором.

Ход работы. В цехе раздоя и осеменения проводят наблюдение за животными. Обращают внимание на признаки эструса: беспокойное громкое мычание, выделение цервикальной слизи, допущение на себя садок других животных. Выделяют коров с признаками охоты и несколько других животных. Сравнивают различия наружных половых органов животных в состоянии эструса и других стадиях.

Проводят УЗИ, обращают внимание на структуру яичников на различных стадиях полового цикла. Результаты своих наблюдений с номерами коров записывают в тетрадь.

Лабораторная работа 21. Нервно-гуморальная регуляция молокоотдачи

Характерной особенностью деятельности молочной железы является то, что вырабатываемый в ней секрет - молоко - выводится обычно не спонтанно, как это имеет место во многих других железах внешней секреции, а лишь при наличии определенных специфических воздействий на железу - сосание или доение. У лактирующих животных секреция в молочной железе происходит непрерывно. Образующееся молоко накапливается во внутренних вместилищах вымени: альвеолах, молочных ходах, протоках и цистернах. При доении или сосании тонус сфинктера соска ослабляется, и он раскрывается под давлением молока.

В процессе молокоотдачи выделяют 2 фазы:

1. **Рефлекторная фаза.** При доении или сосании раздражаются рецепторы сосков. Возникающие при этом импульсы по центростремительным нервам поступают в центр молокоотдачи, который расположен в пояснично-крестцовом отделе спинного мозга, а оттуда по центробежным нервам импульсы поступают к молочной железе, сфинктер расслабляется и облегчается выделение цистернальной порции молока. Одновременно, возбуждение от сосков поступает через спинной мозг в головной, в кору больших полушарий, где расположен корковый отдел центра молокоотдачи. Отсюда возбуждение возвращается в спинной отдел центра молокоотдачи и далее в молочную железу. Таким образом, поддерживается сокращение миоэпителия молочных протоков, цистерн и расслабление сфинктеров.

2. **Нейрогуморальная фаза.** Импульсы от коркового отдела центра молокоотдачи поступают в гипоталамус и задняя доля гипофиза вырабатывает и выделяет в кровь гормон окситоцин, который с кровью приносится к вымени и вызывает сокращение миоэпителия альвеол, что способствует выделению альвеолярной порции молока. Время действия окситоцина 5-6 минут, в течение которых доение желательно завершить.

Со временем, у животных вырабатываются условные рефлексы на обстановку доения, что обеспечивает более полноценный рефлекс молокоотдачи. Поэтому, изменение условий доения может тормозить молокоотдачу. Рефлексогенной зоной является область основания соска. Раздражение рецепторов этой зоны вызывает усиление отдачи молока. Перед доением животных обычно применяется предварительный массаж вымени продолжительностью до 1 минуты. Накопление молока в молочной железе вызывает усиление раздражения интерорецепторов молочной железы, что способствует повышению возбудимости центра молоковыведения.



При доении необходимо выполнять следующие условия: а) постоянный обслуживающий персонал; б) отсутствие постороннего шума, устранение посторонних раздражителей и т. д.; в) необходимо создать единообразие обстановки перед дойкой, что способствует молоковыведению; г) подключение к доильным аппаратам проводить в строго-определенной последовательности; д) приступать к доению следует тогда, когда вымя станет упругим, напряженным.

Цель работы: изучить влияние болевого раздражителя и гормона окситоцина на молокоотдачу.

Материалы и оборудование: лактлирующие коровы, доильный аппарат, мерная колба, иглы шприцы, окситоцин, вата, спирт.

Ход работы. За день до начала опыта у коров определяют количество цистернального и альвеолярного молока. Животных подготовить к машинному доению, а затем подключают аппарат. Первой корове через 1 минуту, второй – через 2 минуты, третьей – через 3 минуты нанести болевое раздражение в области крупа. Отметить время прекращения молокоотдачи у коров. Измерять количество молока полученное от каждой коровы. Затем каждой корове вводим окситоцин внутримышечно в дозе 5ЕД/100 кг живой массы. Через 15 мин. начать повторно доить коров и измерять количество полученного молока.

Результаты опыта записать в тетрадь. Сделать выводы.

Лабораторная работа 22. Изучение физико-химических свойств молока

Молоко – самая полноценная жидкость, имеющая сложный химический набор всех полезных веществ, которая превосходит все другие биологические жидкости, встречающиеся в природе. В нем содержатся все питательные вещества, необходимые для роста и развития организма.

Молоко представляет собой дисперсную систему, состоящую из распределенных в ней частиц разной степени дисперсности. Имеет белый или желтоватый цвет, сладковатый вкус. Белый цвет обусловлен эмульсией липидов, а также присутствием калийной соли казеина.

Молоко имеет сложный химический состав. В нем содержится 87% воды, 13% сухих веществ, в состав которых входят белки (лактоглобулины, глобулины), ферменты, лактопероксидаза, каталаза, липиды, протеиды и др. Основным углеводом молока является лактоза. Неорганические вещества составляют 0,75 % и состоят из К, Na, Са, Mg, Fe, H₂SO₄ и др. Витамины в молоке представлены А, Д, Е, К, С, В₁, В₂, В₃, В₆, В₁₂, РР, Н, холин. В молоке содержатся пигменты, определяющие его цвет: желтый цвет зависит от наличия витамина В₂ и каратиноидов.

Плотность свежего цельного молока колеблется в пределах 1027-1040 кг/м³, рН – 6,5 – 6,7. Вязкость молока в 1,6-2,2 раза выше вязкости крови.

Цель работы: определить цвет, запах, консистенцию, вкус, плотность, количество жировых шариков в разных порциях молока.

Материалы и оборудование: различные порции молока, цилиндр емкостью 250 мл, электрическая плитка, лактометр, микроскоп, счетная камера Горяева, мерный стакан 250 мл, марля, вата, дистиллированная вода.

Ход работы. Для определения *цвета* молока его наливают в цилиндр и просматривают при определенном естественном свете. Молоко от здоровых животных белого или желтоватого (коровье, козье) или синеватого (кобылье) оттенка.

Запах молока следует определять при комнатной температуре или после легкого нагревания его в закрытой посуде. Свежее натуральное молоко имеет приятный, едва различимый, специфический для данного вида животных запах.

Консистенцию молока определяют при медленном переливании его по стенке из одного сосуда в другой. Качественное молоко однородной консистенции, не тягучее, не содержит хлопьев белка. У буйволиц и овец молоко вязкое.

Вкус и привкус молока устанавливают, набрав его в ротовую полость, не заглатывая, смачивая полость рта. С молоком необходимо захватить воздух и выдохнуть через нос. Для точного определения слабых привкусов молоко слегка подогревают. Необходимо учитывать, что при температуре 36⁰С снижается чувство кислого и горького, а ниже 15⁰С – солёности. Доброкачественное молоко имеет специфический, слегка сладковатый, приятный вкус.

Плотность молока – это отношение его массы к занимаемому объему. В стеклянный цилиндр по стенке наливают 200 мл хорошо перемешанного молока. Лактометр медленно погружают в молоко не касаясь стенки и дна и оставляем в покое, через 3 мин. снимают показатели по верхнему мениску. Если температура молока выше или ниже 20⁰С, то вводят поправку на температуру (на каждый градус поправка 0,0002). При температуре молока выше 20⁰С – поправку прибавляют, а если ниже 20⁰С – поправку вычитают.



При подсчете жировых шариков молока 1 мл наливаю в мерный стакан, разводят дистиллированной водой до 200 мл и смешивают. Заправляют камеру Горяева, подсчитывают жировые шарики в 5 больших квадратах под микроскопом. Количество жировых шариков в 1 мм^3 молока высчитать по формуле.

$$X = Ж \times 4000 \times 200 \div 80, \text{ где:}$$

X – число жировых шариков в 1 мм^3 молока,

Ж – количество жировых шариков в 80 малых квадратах.

Результаты опыта записать в тетрадь. Сделать выводы.