



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego
Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00

PODSTAWY ELEKTROFIZJOLOGII

Potencjał elektryczny błony komórkowej

Występowanie struktur białkowych w dwuwarstwie fosfolipidowej sprawia, że błona komórkowa jest przepuszczalna dla wybranych substancji hydrofilowych. Transport jonów przez błonę komórkową reguluje rozmieszczenie tych ładunków po obu stronach błony komórkowej i tym samym na wartość potencjału błony komórkowej.

W celu przeprowadzenia doświadczeń z listy dostępnych w programie Neuron neuronów wybierz „STD Neuron”

2.1 Przepuszczalność błony komórkowej i potencjał czynnościowy

Technika *patch-clamp* umożliwia obserwację w czasie rzeczywistym zmian aktywności pojedynczego kanału jonowego, w tym zmian przewodności (szybkości przepływu jonów przez kanał) oraz właściwości kinetycznych (szybkości otwierania i zamykania kanału) w odpowiedzi na wcześniej zdefiniowany bodziec.

Szklana pipeta zawierająca roztwór przewodzący pełni rolę elektrody, dzięki której utrzymywane jest napięcie i rejestrowane są prądy jonowe. W praktyce, podczas eksperymentu w metodzie *voltage-clamp*, system sprzężenia zwrotnego wzmacniacza mierzy napięcie błonowe i porównuje je z wartością napięcia zadeklarowaną przez eksperymentatora. Gdy aktywowany jest prąd jonowy, napięcie błonowe ulega zmianie. Aby skompensować tę zmianę i przywrócić napięcie do ustawionej wartości, przez elektrodę podawany jest prąd o równoważnej wielkości (ale przeciwnym kierunku).

W metodzie *voltage-clamp* stosuje się różne napięcia zadane w zależności od badanych właściwości kanałów.

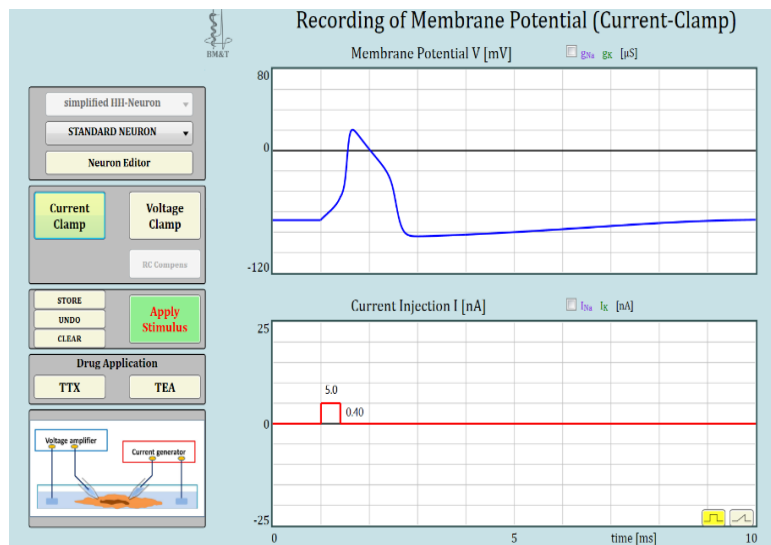
W metodzie *voltage-clamp* napięcie błonowe jest utrzymywane na stałym poziomie (ustalonym przez eksperymentatora), a rejestrowane są prądy jonowe płynące przez kanały. To pozwala badać zależność prądów od napięcia.

W metodzie *current-clamp* aktywowany jest prąd o stałej wartości, co pozwala mierzyć zmiany napięcia błonowego w odpowiedzi na bodźce.

Cel: Zbadaj przebieg potencjału czynnościowego komórki nerwowej z uwzględnieniem zmian przepuszczalności błony komórkowej.



- Upewnij się, że pracujesz w trybie „Current Clamp”
- Użyj początkowych ustawień (5 nA, 0,4 ms) i kliknij po prostu przycisk „Apply Stimulus” (Zastosuj bodziec- przez elektrodę dostarczony zostanie prąd jonowy o natężeniu 5nA).
- Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu (górny diagram na niebiesko).



W wirtualnym laboratorium możliwe jest to, czego nie da się zrobić w prawdziwym eksperymencie, czyli jednocześnie rejestrowanie zarówno potencjału błony komórkowej, jak i zmiany przewodności błony komórkowej oraz prądy jonowe.

- Zaznacz pola wyboru dla gNa, gK nad górnym diagramem. Pozwoli to na zarejestrowanie zmian przewodności błony komórkowej.
- Po kliknięciu „Apply Stimulus” pojawi się wykres przewodności jonów (w górnym diagramie) i prądy jonowe (w dolnym diagramie), w kolorze fioletowym dla jonów Na i zielonym dla jonów K.
- Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu.

Zastanów się:

Czy potrafisz zrozumieć różnice w przebiegu czasowym przewodności jonowych i prądów, np. dlaczego prąd Na przejściowo maleje (strzałka) lub dlaczego prąd K jest prawie równy zeru, gdy przewodność K wciąż jest stosunkowo wysoka?

2.2 Rola napięciозależnych kanałów sodowych i potasowych w powstawaniu potencjału czynnościowego.

Cel: Określenie roli prądów jonowych (sodowych i potasowych) w genezie potencjału czynnościowego

- Upewnij się, że pracujesz w trybie „Current Clamp”
- Użyj początkowych ustawień (5 nA, 0,4 ms) i kliknij po prostu przycisk „Apply Stimulus”
- Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu (górny diagram na niebiesko).
- Zaznacz pola wyboru dla gNa, gK, a także te dla I_Na, I_K nad diagramami. Pozwoli to na zarejestrowanie prądów jonowych w przebiegu potencjału czynnościowego.



- e. Po kliknięciu „*Apply Stimulus*” pojawi się wykres przewodności jonów (w górnym diagramie) i prądy jonowe (w dolnym diagramie), w kolorze fioletowym dla jonów Na i zielonym dla jonów K.
- f. Kliknij na „*Store*” i zachowaj otrzymany zapis.
- g. Na lewym panelu wybierz TTX. Przycisk powinien zmienić kolor na żółty. TTX, czyli tetrodotoksyna, to selektywny bloker napięciозależnych kanałów sodowych.
- h. Ponownie pobudź neuron.
- i. Na ekranie oscyloskopu śledź zmiany potencjału błony komórkowej wraz z prądami jonowymi.
- j. Kliknij na „*Clear*” i wyczyść ekran oscyloskopu.
- k. Na lewym panelu odznacz TTX.
- l. Ponownie pobudź neuron.
- m. Na lewym panelu wybierz TEA. Przycisk powinien zmienić kolor na żółty. TEA (trietyloamina) jest selektywny bloker napięciозależnych kanałów potasowych.
- n. Ponownie pobudź neuron.
- o. Na ekranie oscyloskopu śledź zmiany potencjału błony komórkowej wraz z prądami jonowymi.

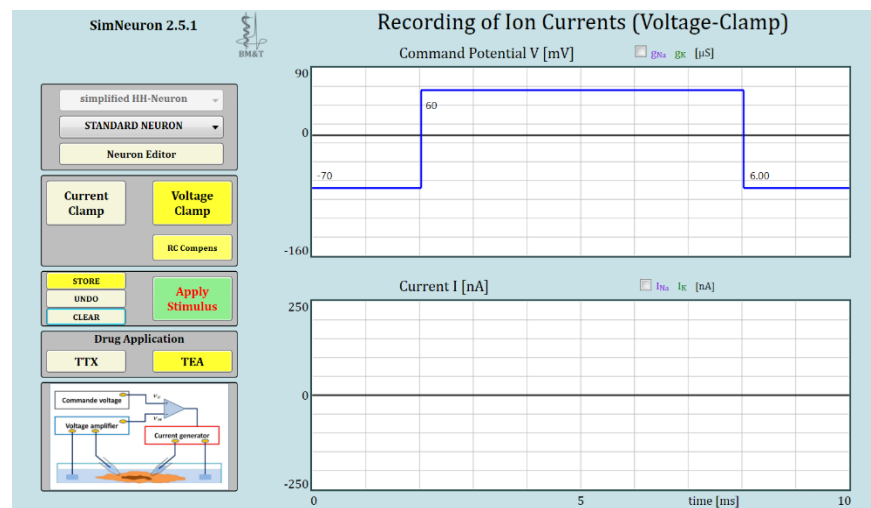
Zastanów się:

W jaki sposób zablokowanie kanałów napięciозależnych wpływa na pobudliwość błony komórkowej?

W jaki sposób i dlaczego podanie TEA wpływa na powstawanie potencjału czynnościowego?

2.3 Potencjał równowagi. Siły napędowe dyfuzji.

- a. Przełącz tryb programu na „*Voltage Clamp*”.
- b. Niebieska linia na górnym wykresie przedstawia zadany potencjał



błony komórkowej. W czasie 0,2 ms potencjał powinien wzrosnąć do wartości 60 mV i utrzymywać się na tym poziomie przez 0,6 ms. Parametry wyjściowe ustawia się poprzez przesuwanie niebieskiej linii myszką. Przesunięcie linii w pionie względem osi X zmienia wartość potencjału (np. 60 mV). Przesunięcie jej w poziomie względem osi X określa moment osiągnięcia oraz czas utrzymania zadanego potencjału.

Pomiar prądów anionowych i kationowych wstrzykiwanych przez mikropipetę pozwala wiernie odzwierciedlić naturalne prądy jonowe przepływające przez błonę komórkową.



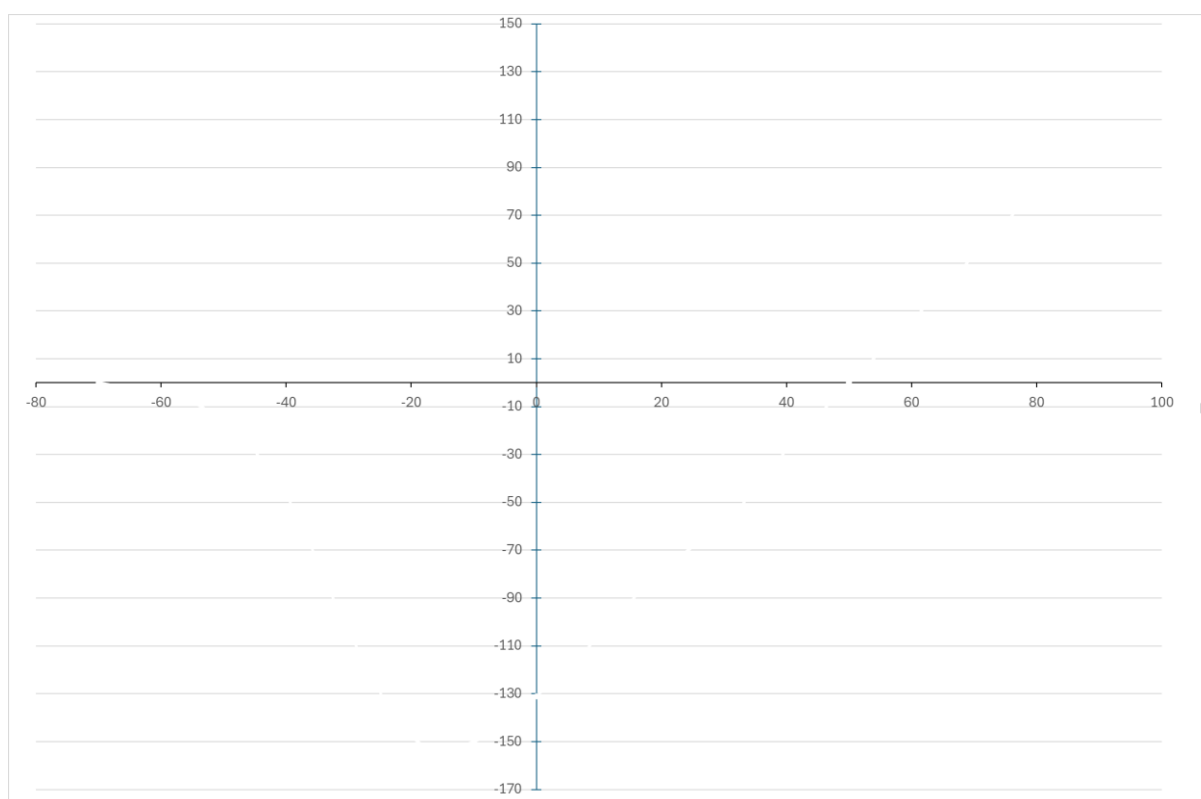
- c. Zaznaczenie pole I_{Na+} , I_{K+} na dolnym wykresie pozwoli zarejestrować prąd sodowy (linia fioletowa) oraz prąd potasowy (linia zielona). Wychylenie linii zapisu powyżej 0nA przedstawia prąd odkomórkowy. Wychylenie linii zapisu w dół odpowiada prądowi dokomórkowego.
- d. Zmień rozdzielczość na osi X na 500nA/kratkę (500 nA/Div).
- e. Kliknij „Apply Stimulus” i spowoduj zmianę potencjału błony komórkowej.
- f. Na dolnym wykresie pojawi się zapis prądów jonowych. Czerwona linia przedstawia wypadkowy prąd jonowy. Zaznaczenie pole I_{Na+} , I_{K+} na dolnym wykresie pozwoli zarejestrować prąd sodowy (linia fioletowa) oraz prąd potasowy (linia zielona). Wychylenie linii zapisu powyżej 0nA przedstawia prąd odkomórkowy. Wychylenie linii zapisu w dół odpowiada prądowi dokomórkowego.
- Animacje pokazujące kolejne etapy eksperymentu znajdziesz pod adresem:
<https://openbooks.lib.msu.edu/neuroscience/chapter/voltage-clamp/>
- g. Natężenie prądu jonowego możesz określić przesuwając kursor na pik krzywej prądu jonowego.
- h. W kolejnych krokach eksperymentu rozpoczynając od wartości 60 mV zmniejszaj zadany potencjał błony komórkowej o 10 mV aż do wartości -60 mV. Czas trwania zadanego potencjału ustaw na 6ms (parametr ten nie ulega zmianie w czasie eksperymentu).
- i. Odczytane wartości wpisz w tabelę poniżej.

Zadany potencjał (mV)	Natężenie I_{Na+}	Kierunek I_{Na+}	Natężenie I_{K+}	Kierunek I_{K+}
60				
50				
40				
30				
20				
10				
0				
-10				
-20				
-30				
-40				
-50				
-60				



Z czego wynikają zmiany natężenia oraz kierunku prądu sodowego i potasowego?

- j. Na podstawie danych z tabeli wykreśl krzywą natężenie- potencjał dla jonów sodu i potasu. Oś X odnosi się do zadanego potencjału, natomiast Y odpowiada natężeniu wybranego prądu jonowego.
- k. Na podstawie krzywych natężenie- potencjał wyznacz potencjał równowagi dla jonów sodu i potasu oraz zakres potencjału błony komórkowej, w którym prądy jonowe zmieniają swój kierunek.



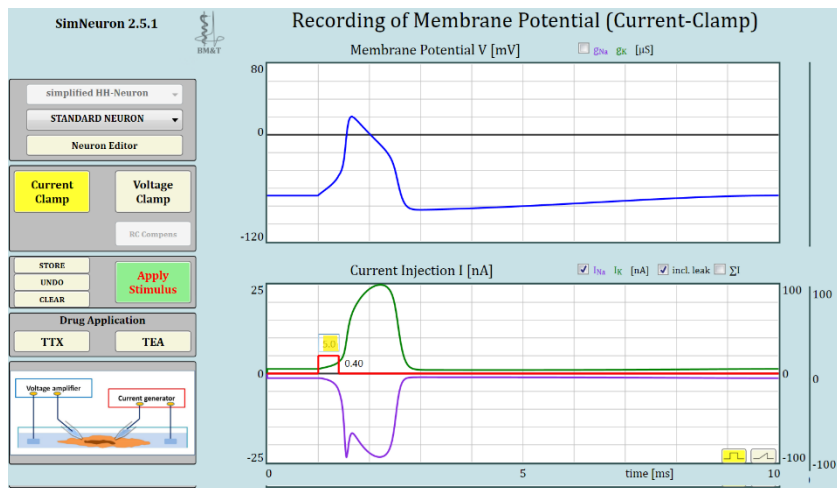
Porównaj odczytaną z wykresu wartość potencjału równowagi dla jonów sodu i potasu z wartościami obliczonymi na podstawie równania Nernsta. Stężenia jonów w płynie zewnątrz- i wewnątrzkomórkowym odczytaj z rysunku w Edytorze Neuronu.

2.4 Wyznaczanie siły progowej bodźca

Cel: Sprawdzenie reguły „wszystko albo nic”.



- Przełącz tryb programu na „Current Clamp”.
- Korzystając z pola edycji amplitudy bodźca, ustal wartość progową pobudzenia. Natężenie prądu jonowego podawanego przez mikropipetę możesz zmieniać przesuwając czerwoną linię w poziomie („góra”/„dół”) (żółte pole na dolnym wykresie).
- Klikając na „Apply Stimulus” pobudź zmodyfikowany neuron.
- W celu zapisania zapisy kliknij na „Store”. Klikając na „Clear” wyczyścisz ekran oscyloskopu.
- Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu.

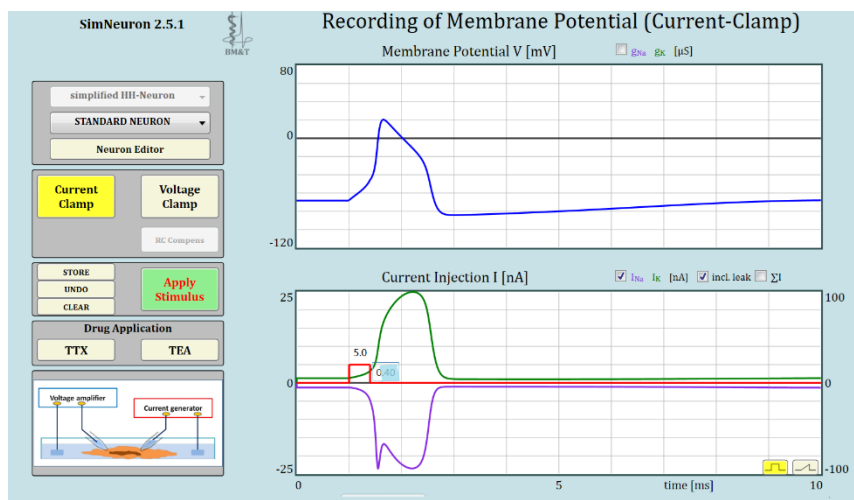


Zastanów się:

Dlaczego zwiększenie natężenia bodźca umożliwia powstanie potencjału czynnościowego? W jaki sposób zmienia się przepuszczalność błony komórkowej?

2.5 Określenie wpływu czasu trwania pobudzenia na powstawanie potencjału czynnościowego

- Upewnij się, że pracujesz w trybie „Current Clamp”.
- Ustaw natężenie bodźca na wartość bodźca podprogowego (doświadczenie 2.4).
- Klikając na „Apply Stimulus” pobudź zmodyfikowany neuron.
- Zachowaj otrzymany zapis klikając na „Store”
- Korzystając z pola edycji czasu trwania bodźca, ustal progowy czas trwania bodźca. Czas trwania bodźca zmieniasz przesuwając czerwoną linię w pionie („prawo”, „lewo”) (niebieskie pole na dolnym wykresie).
- Klikając na „Apply Stimulus” pobudź zmodyfikowany neuron.
- Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu.





Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Zastanów się:

Dlaczego wydłużenie czasu trwania pobudzenia umożliwia powstanie potencjału czynnościowego? W jaki sposób zmienia się przepuszczalność błony komórkowej?

2.6 Kodowanie cyfrowe

Cel: Określenie wpływu siły oraz czasu trwania pobudzenia na częstotliwość powstawania potencjału czynnościowego.

- Upewnij się, że pracujesz w trybie „Current Clamp”.
- Ustaw natężenie bodźca powyżej natężenia bodźca progowego (doświadczenie 2.4 i 2.5).
- Zmień ustawienia osi czasu na 50 ms.
- Kliknij „Apply Stimulus” i spowoduj zmianę potencjału błony komórkowej.
- Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu.
- W kolejnych krokach eksperymentu wydłużaj czas trwania pobudzenia do zaobserwowania na wykresie kolejnego potencjału czynnościowego.

Zastanów się:

W jaki sposób w warunkach *in vivo* kodowana jest informacja o sile bodźca?

2.7 Badanie zjawiska refrakcji względnej oraz bezwzględnej.

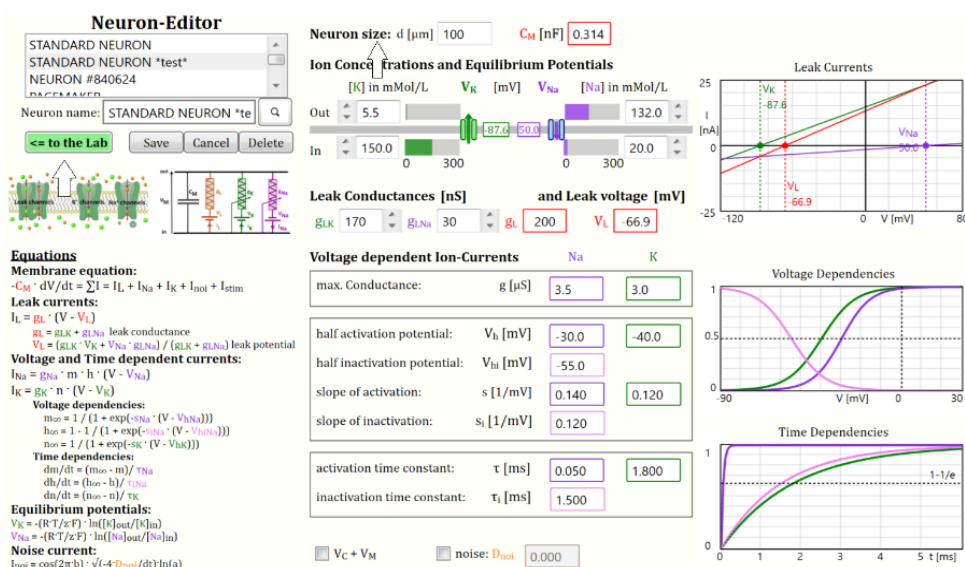
Cel? Wykazanie istnienia zjawiska refrakcji względnej oraz bezwzględnej

- Upewnij się, że pracujesz w trybie „Current Clamp”.
- Zmieniając natężenie bodźca i/lub czas trwania bodźca wykaż istnienie zjawiska refrakcji względnej oraz bezwzględnej.

2.8 Wpływ wielkości neuronu na powstawanie potencjału czynnościowego

Cel: Określenie wpływu wielkości neuronu i oporu elektrycznego na powstawanie potencjału czynnościowego.

- Otwórz menu edytora neuronu.



- Zwiększ rozmiar neuronu do 100 μm



- c. Upewnij się, że pracujesz w trybie „Current Clamp”.
- d. Zwróć uwagę na wartość parametru C_m (pojemności elektrycznej) błony komórkowej
- e. Klikając na zielony przycisk „to the Lab” powrót do głównego okna programu SimNeuron.
- f. Nazwa neuronu zmieni się na „STD NEURONtest”.
- g. Ustaw parametry zadawanego bodźca na parametry bodźca progowego (doświadczenie 2.4 i 2.5).
- h. Klikając na „Apply Stimulus” pobudź zmodyfikowany neuron.
- i. Obserwuj powstawanie potencjału czynnościowego na ekranie oscyloskopu.

Zastanów się: W jaki sposób zmiana rozmiaru neuronu wpływa na propagację prądów jonowych?

2.9 Wpływ zmian przepuszczalności błony komórkowej na jej pobudliwość.

Zmiana potencjału połowicznej aktywacji napięciозależnych kanałów jonowych wpływa wprost na to, jak łatwo komórka nerwowa osiąga próg wyładowania. Potencjał połowicznej aktywacji, czyli V_h , to wartość potencjału błonowego, przy której połowa kanałów danego typu znajduje się w stanie otwartym. Jeśli krzywa aktywacji kanałów sodowych przesunie się w kierunku bardziej ujemnych wartości, oznacza to, że kanały zaczynają się otwierać przy niższej depolaryzacji niż normalnie. Kanały potasowe działają przeciwnie do sodowych, bo ich otwarcie stabilizuje błonę i prowadzi do repolaryzacji. Jeżeli ich potencjał połowicznej aktywacji przesunąłby się w kierunku bardziej dodatnich wartości, repolaryzacja byłaby opóźniona.

Cel: Wykazanie wpływu przepuszczalności błony komórkowej na jej pobudliwość.

- a. W celu zmiany potencjału połowicznej aktywacji kanałów sodowych i potasowych należy otworzyć edytor neuronu. W oknie Neuron-Editor wybierz neuron „STD NEURON”. W sekcji Voltage dependent Ion-Currents odszukaj pola oznaczone jako half activation potential V_h [mV]. Dla kanałów sodowych pole to znajduje się w kolumnie oznaczonej kolorem fioletowym, natomiast dla kanałów potasowych w kolumnie oznaczonej kolorem zielonym. W odpowiednich okienkach edycyjnych wprowadź nowe wartości potencjału połowicznej aktywacji, zgodnie z planem eksperymentu.
- b. Po dokonaniu zmiany należy zatwierdzić ustawienia przyciskiem Apply Stimulus, aby program uwzględnił nową konfigurację i przedstawił zmodyfikowany przebieg symulacji na ekranie oscyloskopu.
- c. Korzystając z dostępnego układu eksperymentalnego zbadaj wpływ zwiększonej lub zmniejszonego potencjału połowicznej aktywacji kanałów sodowych lub potasowych na powstawanie potencjału czynnościowego. W przypadku zmiany pobudliwości neuronu określ nowe wartości bodźca progowego

V_h sól [mV]	V_h potas [mV]	Bodziec progowy [nA]
-20	-30	
-21	-30	
-22	-30	
-23	-30	
-24	-30	
-25	-30	
-26	-30	
-27	-30	
-28	-30	



-29	-30	
-30	-30	
-31	-30	
-32	-30	
-33	-30	
-34	-30	
-35	-30	
-22	-10	
-22	-15	
-22	-20	
-22	-25	
-22	-30	
-22	-35	
-22	-40	
-22	-45	
-22	-50	

Zastanów się: W jaki sposób zmiana potencjału połowicznej aktywacji napięciозależnych kanałów sodowych wpływa na mechanizm otwierania białka kanałowego?

2.10 Wpływ zmiany zewnątrzkomórkowego stężenia jonów potasu oraz sodu na wartość potencjału błony komórkowej.

Cel. Zbadanie, czy stężenie jonów potasu w płynie zewnątrzkomórkowym wpływa na pobudliwość tej błony.

- Otwórz edytor neuronu. W sekcji Ion Concentrations and Equilibrium Potentials odszukaj pola oznaczone jako [Na] out oraz [K] out. Wprowadź w tych okienkach nowe wartości stężenia jonów sodowych znajdujących się na zewnątrz komórki, zgodnie z planem eksperymentu.
- Po dokonaniu zmian kliknij przycisk Apply Stimulus, aby program przeliczył potencjały równowagi i wyświetlił zmodyfikowany przebieg symulacji na ekranie oscyloskopu.
- Korzystając z dostępnego układu eksperymentalnego zbadaj, jak zwiększenie lub zmniejszenie stężenia jonów sodowych w płynie zewnątrzkomórkowym wpływa na powstawanie potencjału czynnościowego. Jeśli zauważysz zmianę pobudliwości neuronu, określ nowe wartości bodźca progowego potrzebnego do wywołania wyładowania.
- Postępuj analogicznie dla jonów potasu.

Stężenie Na ⁺ w płynie zew. kom. [mM/l]	Stężenie K ⁺ w płynie zew. kom. [mM/l]	Bodziec progowy [nA]
110	5.5	
115	5.5	
120	5.5	
125	5.5	
130	5.5	
132	5.5	
140	5.5	
150	5.5	
160	5.5	
170	5.5	



132	3.0	
132	3.1	
132	3.2	
132	3.3	
132	3.4	
132	3.5	
132	3.6	
132	3.7	
132	3.8	
132	3.9	
132	5.5	
132	5.6	
132	5.7	
132	5.8	
132	5.9	
132	6.0	
132	6.1	
132	6.2	
132	6.3	
132	6.5	
132	6.6	
132	6.7	
132	6.8	
132	6.9	
132	7.0	
132	7.1	
132	7.2	
132	7.3	
132	7.4	
132	7.5	
132	7.6	
132	7.7	
132	7.8	
132	7.9	
132	8.0	

Zastanów się:

W jaki sposób wzrost stężenia jonów potasu w płynie zewnątrzkomórkowym wpływa na wartość potencjału spoczynkowego błony komórkowej i przez to na jej pobudliwość?



FIZJOLOGIA MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

3.1 Wywoływanie skurczu pojedynczego

Cel: Określenie mechanizmów skurczu mięśni poprzecznie prążkowanych.

Poniższe eksperymenty wymagają aplikacji prądów elektrycznych do mięśni za pomocą elektrod umieszczonych na skórze. Osoby z rozrusznikami serca lub cierpiące na schorzenia neurologiczne oraz kardiologiczne nie powinny brać udziału w tych czynnościach jako ochotnicy.

- a. Podłącz kabel Bio Amp do wejścia Bio Amp na urządzeniu PowerLab.
- b. Podłącz kable elektrod do EARTH, CH1 NEG i CH1 POS na kablu Bio Amp.
- c. Podłącz kabel uziemiający do suchego paska uziemiającego. Uwaga: suchy pasek uziemiający można zastąpić jednorazową elektrodą, jeśli to konieczne.
- d. Podłącz elektrodę stymulującą w formie pręta do wyjścia Isolated Stimulator urządzenia PowerLab:
- e. Podłącz czerwony (dodatni) przewód do czerwonego wyjścia.
- f. Podłącz czarny (ujemny) przewód do czarnego wyjścia.
- g. Upewnij się, że PowerLab jest podłączony i włączony.
- h. Podłącz przetwornik impulsów do wejścia 1 urządzenia PowerLab.
- i. Umieść przetwornik impulsów membraną do góry na blacie laboratoryjnym i przymocuj go taśmą.
- j. Usuń wszelką biżuterię z nadgarstków ochotnika.
- k. Owiń suchy pasek uziemiający wokół nadgarstka ochotnika. Uwaga: można go zastąpić jednorazową elektrodą. Upewnij się, że pozostawiono wystarczająco dużo miejsca na umieszczenie elektrody stymulującej w formie pręta na nadgarstku.
- l. Zaznacz dwie małe krzyżyki na skórze nad mięśniem odwodźciciela palca małego (*abductor digiti minimi*) w miejscach, gdzie zostaną umieszczone elektrody rejestrujące, zgodnie z ilustracją. Krzyżyki powinny być oddalone od siebie o 3–4 cm.
- m. Delikatnie zetrzyj naskórek w zaznaczonych miejscach, aby zmniejszyć opór elektryczny skóry. Usuń wszelkie pozostałości.
- n. Weź dwie nowe jednorazowe elektrody. Przytnij ich samoprzylepne podkładki, aby dopasowały się do dłoni.
- o. Podłącz kable z CH1 na kablu Bio Amp do elektrod.
- p. Umieść elektrody na skórze nad zaznaczonymi krzyżykami, upewniając się, że dobrze przylegają. Aby zmniejszyć ruch elektrod, użyj taśmy samoprzylepnej do przymocowania kabli do skóry blisko elektrod.
- q. Nałóż niewielką ilość pasty elektrodowej na dwie metalowe powierzchnie elektrody stymulującej w formie pręta.

Stymulacja w okolicy łokcia

- a. Zegnij lekko łokieć i użyj dwóch palców, aby wyczuć nadkłykieć przyśrodkowy kości ramiennej (kostny fragment po wewnętrznej stronie łokcia).
- b. Przesuwając palce pod nadkłykieć i do wewnątrz, poczujesz rowek między nadkłykiem a wyrostkiem łokciowym (kostny fragment na tylnej części łokcia).
- c. Nerw łokciowy (ulnar nerve) biegnie przez ten rowek. Umieść elektrodę stymulującą w formie pręta nad tym obszarem, tak aby była ustawiona wzdłuż długości ramienia. Upewnij się, że czerwona kropka na tylnej stronie elektrody jest bliżej ramienia.
- d. Przyłóż elektrodę stymulującą i delikatnie dociśnij, aby zapobiec jej przesunięciu.
- e. Ustaw natężenie prądu na 8 miliamperów (mA) na panelu Isolated Stimulator.



- f. Przełącz przełącznik Isolated Stimulator w pozycję ON. Urządzenie działa tylko podczas rejestrowania; w innych momentach jest automatycznie wyłączone.

Uwaga: Dokładne położenie i wrażliwość nerwu łokciowego różni się w zależności od osoby ze względu na różnice anatomiczne. Może być konieczne przesunięcie elektrody w górę lub w dół lub zwiększenie natężenia prądu, aby uzyskać dobrą reakcję.

- g. Wybierz Start, aby krótkie impulsy prądu przechodziły przez skórę ochotnika co sekundę.
- h. Jeśli dioda stanu stymulacji miga na żółto, zwiększ natężenie prądu o 2 mA lub zmień pozycję elektrody stymulującej.
- i. Obserwuj skurcze palca małego i innych palców. Dostosuj pozycję elektrody, aby znaleźć ustawienie wywołujące największe skurcze.
- j. Gdy uzyskasz dobrą reakcję, wybierz Stop.
- k. Zaznacz długopisem dwa małe krzyżyki na skórze, wskazujące pozycję elektrody dającej najlepszą stymulację. Te oznaczenia będą potrzebne w kolejnych działaniach do ponownego ustawienia elektrody.

Stymulacja w okolicy nadgarstka

- a. Nałóż niewielką ilość pasty elektrodowej na dwa metalowe elementy elektrody stymulującej w formie pręta.
- b. Umieść elektrodę stymulującą na spodzie nadgarstka, wzdłuż małego i serdecznego palca. Powinna być ustawiona wzdłuż nerwu łokciowego.
- c. Powtórz kroki a–k z sekcji dotyczącej stymulacji łokcia.

Uwaga: Wywołanie skurczów podczas stymulacji w okolicy nadgarstka jest trudniejsze. Może być konieczne zastosowanie wyższego natężenia prądu i większego nacisku na elektrodę stymulującą.

Zastanów się:

Jakie zjawiska fizjologiczne są odwzorowywane przez przyłożenie elektrody stymulującej w okolicę występowania konkretnego nerwu?

3.2 Wyznaczanie progu pobudzenia. Rekrutacja jednostek motorycznych.

Cel: Określenie mechanizmów odpowiedzialnych za regulację siły skurczu mięśni poprzecznie prążkowanych. Zdefiniowanie jednostek motorycznych.

- a. Poproś ochotnika, aby ułożył ramię w zrelaksowanej pozycji na stole, tak aby mały palec delikatnie opierał się na czujniku tętna. Przedramię powinno spoczywać na stole, a łokieć zwisać poza jego krawędź, umożliwiając dostęp do nerwu łokciowego.
- b. Poproś ochotnika, aby wolną ręką mocno trzymał elektrodę stymulującą w formie pręta na łokciu, w celu stymulacji nerwu łokciowego.
- c. Upewnij się, że natężenie prądu stymulacji jest ustawione na 4 mA i że Isolated Stimulator jest włączony. Wybierz Start.
- d. Zwiększ natężenie prądu stymulacji o 1 mA i wybierz Start.
- e. Kontynuuj zwiększanie natężenia prądu w krokach po 1 mA, każdorazowo wybierając Start. Dla większości ochotników próg stymulacji, przy którym widoczna jest pierwsza reakcja skurczowa, wynosi od 5 do 15 mA.
- f. Gdy zauważysz pierwszą reakcję, wybierz Add, aby dodać komentarz z informacją o natężeniu prądu użytym do uzyskania odpowiedzi.
- g. Kontynuuj zwiększanie natężenia prądu i wybieranie Start, aż osiągniesz maksimum wynoszące 20 mA. Jeśli to konieczne, wybierz Auto Scale.



- h. W kolumnie tabeli Stimulus wpisz wartość prądu dostarczonego w celu wywołania każdej reakcji skurczowej.
- i. W kanale Force umieść znacznik (Marker) na linii zapisu tuż przed wzrostem siły.
- j. Wybierz zapis, w którym po raz pierwszy zauważyłeś reakcję skurczową.
- k. Umieść wskaźnik (Point selector) na szczycie każdej reakcji skurczowej – wartość siły pojawi się w panelu wartości. Wpisz tę wartość do kolumny Force tabeli.
- l. Powtórz kroki 3–4 dla każdej odpowiedzi skurczowej.
- m. Na podstawie uzyskanych wyników określ natężenie pobudzenia wywołującego skurcz maksymalny. Wyniki wpisz w tabelę.

Zastanów się:

Jakie mechanizmy są odpowiedzialne za wzrost siły skurczu wraz ze wzrostem amplitudy pobudzenia?

W jaki sposób wzrost obciążenia mięśnia wpływa na siłę skurczu mięśnia?

3.3 Sumowanie siły skurczu

Cel: Określenie wpływu wzrostu częstotliwości pobudzenia na siłę skurczu mięśnia poprzecznie prążkowanego. Zdefiniowanie skurczu pojedynczego oraz złożonego.

- a. Upewnij się, że ręka ochotnika oraz elektroda stymulująca w formie pręta są umieszczone tak jak wcześniej.
- b. W panelu Isolated Stimulator ustaw natężenie prądu na wartość o 5 mA wyższą niż maksymalny bodziec (doświadczenie 4). Jest to tzw. bodziec supramaksymalny.
- c. Sprawdź, czy odstęp między impulsami (stimulus interval) jest ustawiony na 1000 ms (1 s). Liczba impulsów została ustawiona na 2, co daje częstotliwość 1 herca (Hz). Wybierz Start.
- d. Zmień odstęp między impulsami na 500 ms (zwiększając częstotliwość do 2 Hz) i wybierz Start.
- e. Powtórz te kroki dla odstępów:
 - - 200 ms,
 - - 150 ms,
 - - 100 ms,
 - - 50 ms.
- f. Aby przeliczyć na Hz, skorzystaj z tabeli poniżej.

Odstęp	Częstotliwość
1000 ms	1 Hz
500 ms	2 Hz
200 ms	5 Hz
150 ms	6,6 Hz
100 ms	10 Hz
50 ms	20 Hz

- g. Wybierz Add, aby dodać komentarz dotyczący odstępu między impulsami po zakończeniu każdego zapisu.
- h. Wybierz zapis odpowiedzi na podwójny bodziec. Umieść znacznik (Marker) na linii bazowej w kanale Force.
- i. Za pomocą wskaźnika (point selector) wskaż na wykresie przebiegu skurczu punktu o najwyższej amplitudzie.
- j. Wpisz wartość siły skurczu w kolumnie Force – First Response w tabeli.



- k. Wybierz kolejny zapis. Powtórz kroki i-j dla każdej odpowiedzi przy każdym odstępie między pobrudzeniami.
- l. Jeśli druga odpowiedź siły połączyła się z pierwszą i nie jest wykrywalna, wpisz „nie wykrywalna” w odpowiedniej komórce dla drugiej odpowiedzi siły.

Zastanów się:

W jaki sposób niskie stężenie jonów wapnia we krwi wpłynęłoby na przebieg odpowiedzi skurczowej?

3.4 Skurcz tężcowy

Cel: Określenie wpływu wzrostu częstotliwości pobudzenia na siłę skurczu mięśnia poprzecznie prążkowanego oraz możliwość powstanie skurczu tężcowego.

- a. Upewnij się, że ręka ochotnika oraz elektrodę stymulacyjną ustawiono tak, jak wcześniej.
- b. W panelu Isolated Stimulator ustaw prąd na 5 mA więcej niż maksymalny bodziec.
- c. Interwał bodźca ustawiono na 50 ms (częstotliwość 20 Hz). Sprawdź, czy liczba impulsów jest ustawiona na 1.
- d. Wybierz Start. Bodziec zostanie dostarczony po 5 ms opóźnienia, a zapis zakończy się po 1 sekundzie.
- e. Zmień liczbę impulsów na 2 i ponownie wybierz Start.
- f. Zmień liczbę impulsów na 3 i ponownie wybierz Start.
- g. Jeśli nie powoduje to nadmiernego dyskomfortu, zwiększ liczbę impulsów do 4 lub 5, w zależności od poziomu komfortu ochotnika.
- h. Wybierz pierwszy zapis. Umieść znacznik (Marker) na linii podstawowej tuż przed wzrostem siły.
- i. Ustaw wskaźnik (point selector) na szczycie, aby określić amplitudę odpowiedzi.
- j. Wpisz wartość siły (Force) do tabeli.
- k. Powtórz kroki 1–3 dla każdego ciągu bodźców.

Interwał bodźca (ms)	Liczba pobudzeń	Napięcie (mV)
-	1	
50	2	
50	3	
50	4	
50	5	

Zastanów się:

Dostarczenie serii pobudzeń do mięśnia umożliwia zajęcie zjawiska sumowania w czasie oraz powstanie skurczu złożonego. Przy bardzo wysokiej częstotliwości pobudzeń skurcz ten może przyjąć formę skurczu tężcowego niecałkowitego lub całkowitego. W jaki sposób substancje chemiczne, np. toksyna Clostridium tetani mogą zaburzać czynność motoneuronów i mięśni?

Czym różni się efekt schodkowych od skurczów złożonych?

3.5 Szybkość przewodzenia

Cel: Określenie czynników wpływających na szybkość zajęcia skurczu wybranych mięśni szkieletowych.

- a. Tak jak wcześniej, umieść elektrodę stymulującą nad nerwem łokciowym w okolicy łokcia, korzystając z wcześniej oznaczonych miejsc.



- b. Upewnij się, że Isolated Stimulator jest włączony.
- c. Ustaw natężenie prądu w panelu Stimulator na wartość supramaksymalną, tak jak wcześniej. Wybierz Start, aby zarejestrować odpowiedź EMG. Po zakończeniu rejestracji dodaj komentarz "łokieć".
- d. Następnie umieść elektrodę stymulującą nad nerwem łokciowym w okolicy nadgarstka, korzystając z wcześniej oznaczonego miejsca. Pamiętaj:
 - Orientacja elektrody powinna być taka sama jak przy stymulacji łokcia.
 - Przy nadgarstku elektroda wymaga większego nacisku i wyższego natężenia prądu, ponieważ nerw znajduje się głębiej.
- e. Gdy elektroda stymulująca jest na miejscu, wybierz Start.
- f. Powinieneś zobaczyć przebieg EMG podobny do tego uzyskanego przy stymulacji łokcia. Nie musi mieć dużej amplitudy, ponieważ interesującym nas parametrem jest latencja. Zignoruj artefakty stymulacyjne.
- g. Możesz teraz wyłączyć Isolated Stimulator i zdjąć elektrodę stymulującą z ochotnika.
- h. Zmierz odległość między miejscami stymulacji przy nadgarstku i łokciu.
- i. Wpisz tę odległość w milimetrach (mm) do poniższej tabeli. Możesz skorzystać z tabeli konwersji, aby przeliczyć cale na milimetry.
- j. Wybierz zapis, w którym wywołano odpowiedź przy stymulacji łokcia. Umieść wskaźnik na początku odpowiedzi EMG.
- k. Wpisz wartość czasu w wierszu "Łokieć" w tabeli.
- l. Powtórz kroki 3–4 dla nadgarstka. Prędkość przewodzenia w metrach na sekundę (m/s) zostanie obliczona automatycznie w tabeli.

Miejsce umieszczenia elektrody stymulującej	Latencja (ms)
Łokieć	
Nadgarstek	
Odległość łokieć- nadgarstek	
Szybkość przewodzenia	

Zastanów się:

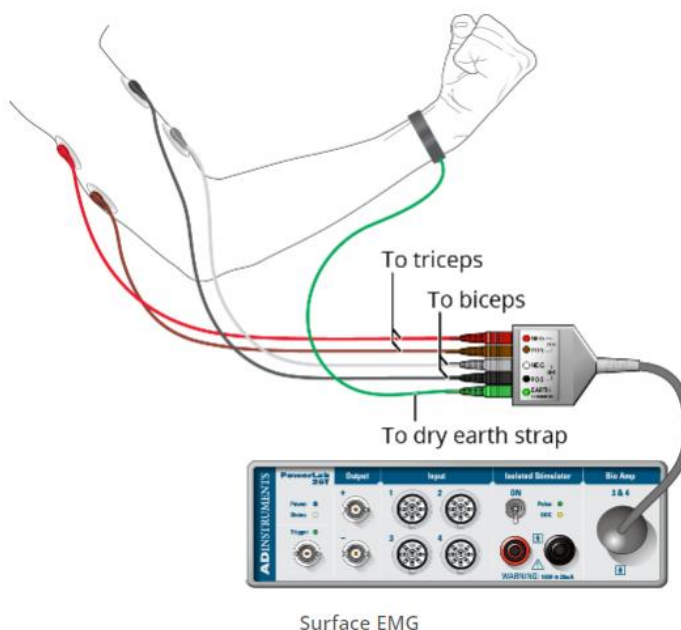
Porównaj okres latencji pobudzenia nerwu w okolicy łokcia oraz nadgarstku. Z czego wynika różnica?

3.6 EMG

Cel: Poznanie zasad metody i analizy elektromiografii.



- a. Usun wszelką biżuterię z nadgarstków ochotnika.
- b. Podłącz kabel Bio Amp do gniazda Bio Amp w PowerLab.
- c. Podłącz pięć ekranowanych kabli oznaczonych kolorami do kabla Bio Amp.
- d. Upewnij się, że PowerLab jest podłączony do komputera i włączony.
- e. Przymocuj zielony ekranowany kabel do suchej opaski uziemiającej. (Jeśli sucha opaska uziemiająca ma pojedynczy kabel łączący, sprawdź, jak podłączyć go do kabla Bio Amp).
- f. Mocno zawiąż suchą opaskę uziemiającą wokół nadgarstka ochotnika. Strona opaski z miękkim materiałem musi całkowicie przylegać do skóry.
- g. Delikatnie zaznacz dwa małe krzyżyki na skórze nad mięśnieniem dwugłowym ramienia (biceps) oraz dwa krzyżyki nad mięśnieniem trójgłowym ramienia (triceps) ochotnika. Krzyżyki powinny być oddalone od siebie o 2–5 cm i ustawione wzdłuż długiej osi ramienia.
- h. Delikatnie przetrzyj skórę w miejscach oznaczonych krzyżykami wacikiem nasączonym alkoholem.
- i. Przymocuj kable ekranowane CH1 i CH2 do jednorazowych elektrod EKG.
- j. Umieść elektrody CH1 nad krzyżykami na bicepsie ochotnika, a elektrody CH2 nad krzyżykami na tricepsie. Mocno je dociśnij, aby dobrze przylegały. Kolejność podłączenia biegunów (dodatni/ujemny) nie ma znaczenia.
- k. Upewnij się, że wszystkie 4 elektrody oraz sucha opaska uziemiająca są prawidłowo podłączone do ochotnika i kabla Bio Amp przed kontynuowaniem eksperymentu.
- l. Poproś ochotnika, aby usiadł w zrelaksowanej pozycji z łokciem zgiętym pod kątem 90° i dłoń skierowaną do góry. Ochotnik powinien drugą ręką chwycić nadgarstek ramienia, z którego rejestrowany jest sygnał.
- m. Wybierz Start, aby rozpocząć rejestrowanie. Wpisz "skurcz bicepsu" w panelu komentarzy, a następnie wybierz Dodaj. Poproś ochotnika o umiarkowany skurcz mięśnia dwugłowego (bicepsu) przez 3–5 sekund, próbując zgiąć ramię, podczas gdy ręka trzymająca nadgarstek stawia opór temu ruchowi.
- n. Poproś ochotnika, aby się rozluźnił na kilka sekund.
- o. Przygotuj komentarz: "skurcz tricepsu", a następnie wybierz Dodaj. Poproś ochotnika o umiarkowany skurcz mięśnia trójgłowego (tricepsu) przez 3–5 sekund, próbując wyprostować ramię, podczas gdy ręka trzymająca nadgarstek stawia opór temu ruchowi.
- p. Poproś ochotnika, aby się rozluźnił na kilka sekund.





- q. Powtórz kroki l–p ale tym razem wykonaj maksymalny skurcz mięśnia dwugłowego, a następnie mięśnia trójąłowego.
- r. Wybierz Stop.
- s. Poproś ochotnika, aby usiadł w zrelaksowanej pozycji, jak wcześniej (upewnij się, że jego ramię nie opiera się na niczym).
- t. Wybierz Start, aby rozpocząć rejestrowanie.
- u. Wpisz "bez książek" w panelu komentarzy, a następnie wybierz Dodaj.
- v. Po 3–5 sekundach przygotuj komentarz: "1 książka", a następnie wybierz Dodaj. Połóż książkę (lub podobny ciężar) na dłoni ochotnika i poproś, aby pozostał jak najbardziej nieruchomy. Rejestruj przez 2–3 sekundy.
- w. Wybierz Stop.
- x. Aby zarejestrować wpływ zwiększającego się obciążenia, powtórz kroki 2–5, zwiększając liczbę książek o 1 za każdym razem, aż osiągniesz 4 książki. Dodaj komentarz przy każdym kolejnym obciążeniu.
- y. Przewiń zarejestrowane dane i zwróć uwagę na różnice między nieprzetworzonym zapisem (Biceps, Triceps) a przetworzonymi śladami (RMS Biceps, RMS Triceps). Wysokość śladu RMS odzwierciedla całkowitą aktywność surowego sygnału EMG i daje prostszy obraz aktywności elektrycznej mięśnia. Powiększ mały fragment aktywności bicepsu. (Zwróć uwagę, że nieprzetworzony sygnał EMG składa się z wielu szczytów; jest to aktywność elektryczna wielu jednostek ruchowych).
- z. Użyj selektora obszaru, aby wyróżnić fragment, w którym została dodana jedna książka. Maksymalne wartości RMS dla bicepsu i tricepsu zostaną wyświetlone w panelach wartości.
- aa. Wprowadź te wartości do tabeli poniżej.
- bb. Powtórz te kroki każdej kolejnej książki.

Liczba książek	Amplituda RMS (mV)- mięsień dwugłowy	Amplituda RMS (mV)- mięsień trójąłowy
1		
2		
3		
4		

Zastanów się:

W jaki sposób zmiana obciążenia mięśnia wpłynęła na zapis EMG? Zastanów się nad fizjologicznym mechanizmem odpowiedzialnym za obserwowane zmiany.

3.7 Zmęczenie mięśni

Cel: Zbadanie zjawiska zmęczenia mięśni szkieletowych.

- a. Umieść na ramieniu Ochotnika elektrody zgodnie z instrukcją do doświadczenia 8
- b. Upewnij się, że ochotnik widzi ekran komputera.
- c. Wybierz Start, aby rozpocząć rejestrowanie. Poproś ochotnika, aby zastosował i utrzymał 25% maksymalnej siły chwytu, obserwując rejestrowany wykres. Wprowadź "25%" w panelu komentarzy i wybierz Dodaj.
- d. Po 25 sekundach poproś ochotnika o rozluźnienie mięśni i wybierz Stop.
- e. Odczekaj 30 sekund, aby umożliwić regenerację funkcji mięśni.
- f. Powtórz kroki b-d dla skurczów wynoszących 50%, 75% i 100% maksymalnej siły chwytu. Dodaj komentarz dla każdej próby.
- g. Przewiń do danych dotyczących 25% siły chwytu.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



- h. Umieść znacznik (Marker) na linii bazowej tuż przed wzrostem siły. Umieść wskaźnik (Point Selector) na 1. sekundzie skurczu. Zmiana siły chwytu (Δ Grip Force) zostanie wyświetlona w panelu wartości.
- i. Wprowadź tę wartość do odpowiedniej komórki w poniższej tabeli.
- j. Powtórz kroki h-i dla 5., 10. i 20. sekundy skurczu.
- k. Powtórz kroki h-j dla 50%, 75% i 100% siły chwytu.

Czas (s)	25% max	50% max	75% max	100 max



FIZJOLOGIA NARZĄDÓW ZMYŚŁÓW

4.1 Czucie temperatury

Cel: Badanie rozmieszczenia receptorów ciepła i zimna

- Przygotowujemy zlewkę z wodą o temperaturze około 4°C, w której umieszczamy termodę.
- Przy pomocy matrycy pomiarowej zwilżonej tuszem zaznaczamy punkty pomiarowe na barku badanego.
- Wzór matrycy odciskamy także na kartce i zaznaczamy na niej wyniki pomiarów.
- Ochłodzoną termodę dotykamy kolejnych punktów w polu badania.
- Ochotnik sygnalizuje odczuwanie zimna.
- Punkty wrażliwe zaznaczamy na kartce.
- Podobnie badamy „punkty ciepła”. Używamy w tym celu termody ogrzanej do temperatury 50°C. Poza barkiem „punkty ciepła i zimna” oznaczamy na wewnętrznej części przedramienia i wewnętrznej części dłoni.
- Wyniki przedstawiamy w tabeli:

Miejsce pomiaru	Ilość punktów									
	ciepła						Zimna			
Bark										
Przedramię										
Dłoń										

4.2 Czucie dotyku

Cel: Określenie wielkości pola receptorowego.

- Badana osoba zamyka oczy.
- Badający, rozsuwając ostrza eklezjometru na różną szerokość, bada minimalną odległość stymulowanych punktów, przy której badana osoba czuje dotknięcie w dwóch punktach.
- Graniczna, minimalna odległość jest miarą wrażliwości czucia umiejscowienia, czyli średnica pola odczuwania. Wyniki przedstawiamy w tabeli.

Miejsce pomiaru	Wielkość pola odczuwania
Opuszka kciuka	
Wnętrze dłoni	
Przedramię (część zewnętrzną)	
Łokieć	
Plecy	
Warga dolna	



Prawy policzek	
----------------	--

Zastanów się:

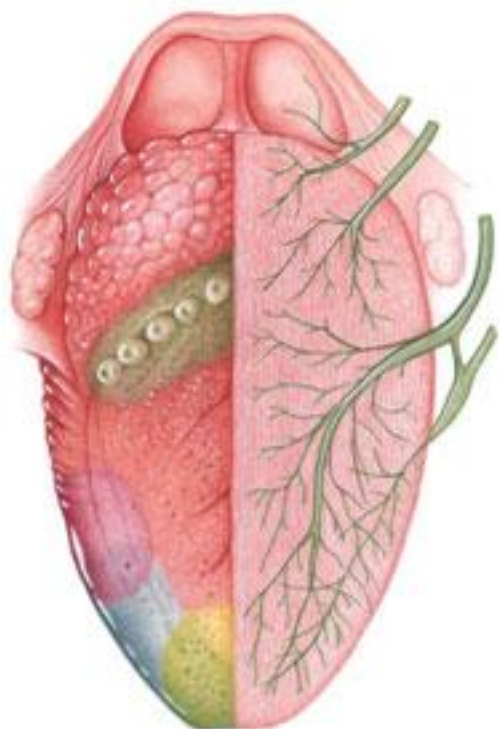
Co to jest pole receptorowe? W jaki sposób i dlaczego zmienia się jego wielkość w zależności od lokalizacji?

4.3 Czucie smaku

Cel: Określenie lokalizacji receptorów poszczególnych smaków na powierzchni języka.

- Przed badaniem polecamy badanemu przepłukać usta wodą destylowaną.
- Przy pomocy bagietki nałóż w różnych punktach na powierzchni języka badanego minimalne ilości soli kuchennej. Przed każdym kolejnym nałożeniem należy dokładnie przepłukać jamę ustną wodą.
- Badany stwierdza, kiedy wyraźnie odczuwa słony smak.
- Analogicznie postępuj z kwasem cytrynowym, chininą i glutaminianu sodu.

Na schemacie języka zaznacz pola odpowiedzialne za czucie poszczególnych smaków.



4.4 Wyznaczyć punkt bliży wzrokowej

Cel: Zbadanie zjawiska akomodacji oraz określenie punktu bliży wzrokowej.

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



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Zmierzona odległość (mm)	
-----------------------------	--

4.5 Określić ostrość widzenia oka prawego i lewego.

Cel: Zbadanie zjawiska akomodacji oraz ostrości widzenia.

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

$$V=d/D$$

V- ostrość wzroku;

d- odległość, z jakiej badany czyta dany rząd liter;

D- odległość, z jakiej osoba o prawidłowej ostrości wzroku czyta też rząd liter (wartość ta jest podana na tablicy pod każdym rzędem liter)

- Wynik wpisz w tabelę

V dla oka prawego	
V dla oka lewego	

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

Cel: Zbadanie rozmieszczenia fotoreceptorów w siatkówce.

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

4.7 Przewodnictwa powietrzne i kostne- próba Rinneho.

Cel: Zbadanie przewodzenia fali dźwiękowej.

- Przystaw podstawę drgających widełek stroikowych do wyrostka sutkowego kości skroniowej i określamy czas słyszenia dźwięku.
- W chwili przestania słyszenia tonu stroika, zbliż drgające jeszcze ramiona stroika do zewnętrznego przewodu słuchowego tego samego ucha i określamy czas słyszenia.
- W taki sam sposób, zbadaj drugie ucho.
- Próbę Rinneho oznaczamy ułamkiem, pisząc w liczniku czas trwania przewodnictwa powietrznego, a w mianowniku- kostnego.

Współczynnik Rinneho	
----------------------	--

Zastanów się:



Na czym polega przewodnictwo kostne i powietrzne?

W jaki sposób współczynnik Rinniego pozwala określić typ niedosłuchu?

4.8 Ostrość słuchu człowieka.

Cel: Zbadanie ostrości słuchu człowieka.

- Zasłoń osobie badanej oczy i poleć zamknąć palcem lub tamponem z waty jeden z zewnętrznych przewodów słuchowych.
- Włącz stoper lub głośno tykający zegarek na linii drugiego ucha.
- Powoli oddalaj się, następnie powoli przybliżaj się do osoby badanej, ustalając odległość, przy której badany zaczyna słyszeć tykanie zegarka.
- W przypadku prawidłowego słuchu obie odległości powinny być, w przybliżeniu, jednakowe.
- W ten sam sposób badamy drugie ucho.

Zmierzona odległość (cm)	
dla ucha prawego	
dla ucha lewego	

4.9 Zjawisko adaptacji narządu słuchu u człowieka.

- Trzymaj drgające widelki stroikowe przed małżowiną prawego ucha osoby badanej.
- W chwili, gdy osoba badana przestaje słyszeć dźwięk oddal stroik od ucha i po kilku sekundach przybliż go ponownie do tego samego ucha.
- Ponownie wzbudź widelki stroikowe i powtórz doświadczenie- gdy badany przestaje słyszeć dźwięk, przybliż widelki do małżowiny lewego ucha.
- W taki sam sposób zbadaj drugie ucho.
- Poniżej opisz swoje obserwacje.

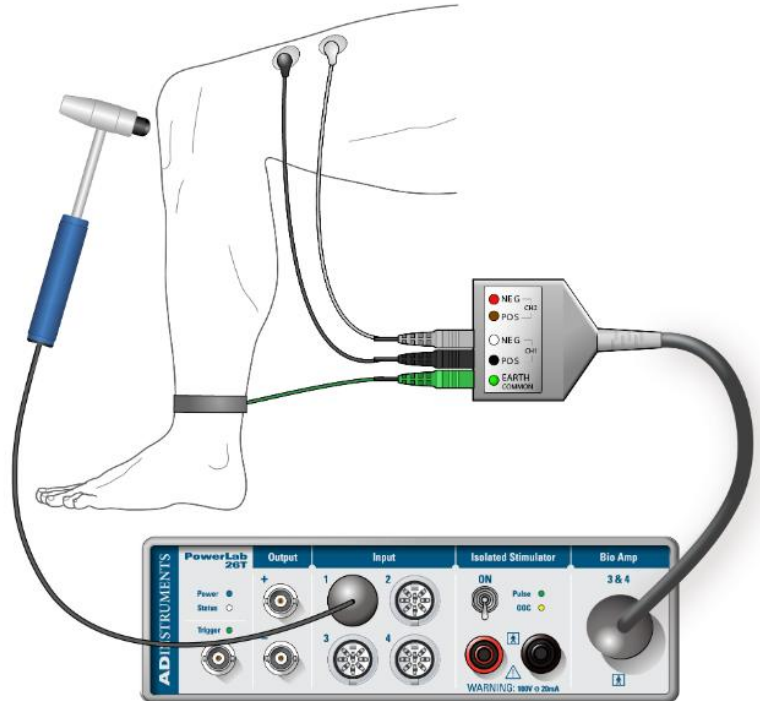


ODRUCHY

5.1 Przygotowanie aparatury do badani odruchów

W doświadczeniu zaobserwujesz odruch kolanowy wywołany stymulacją ścięgna mięśnia czworogłowego.

- Podłącz młotek ścięgowy do wejścia Input 1 na urządzeniu PowerLab.
- Podłącz kabel Bio Amp do wejścia Bio Amp w PowerLab.
- Upewnij się, że trzy kolorowe kable są podłączone do kabla Bio Amp zgodnie z przedstawionym schematem.
- Zielony kabel podłącz do suchej opaski uziemiającej. Mocno przymocuj opaskę uziemiającą wokół kostki. Miękka strona opaski musi całkowicie przylegać do skóry. Jeśli kabel opaski uziemiającej ma pojedynczy wtyk, należy go podłączyć do pinu oznaczonego jako „earth”.
- Delikatnie zaznacz dwa małe krzyżyki na skórze nad mięśniem czworogłowym uda (w miejscu przeznaczonym na elektrody rejestrujące aktywność mięśnia czworogłowego, zgodnie ze schematem). Krzyżyki powinny być oddalone od siebie o 2–5 cm (i ułożone wzdłuż długiej osi nogi).
- Delikatnie przetrzyj zaznaczone miejsca żelam ściernym, a następnie oczyść je gazikiem nasączonym alkoholem.
- Podłącz kable CH1 POS i CH1 NEG do jednorazowych elektrod EKG.
- Umieść elektrody na skórze w miejscach oznaczonych krzyżykami i mocno je dociśnij, aby dobrze przylegały do skóry (nie ma znaczenia, która elektroda jest dodatnia, a która ujemna).
- Sprawdź, czy obie elektrody i sucha opaska uziemiająca są prawidłowo podłączone do odczynika oraz kabla Bio Amp, zanim przejdziesz dalej.
- Upewnij się, że PowerLab jest podłączony do komputera i włączony.



5.2 Odruch kolanowy.

Cel: Zbadanie odruchu kolanowego.

Poproś ochotnika, aby usiadł na krześle i założył nogę z przyklejonymi elektrodami na drugą nogę. Stopa powinna swobodnie zwisać.



Za pomocą młotka ścięgowego uderz ścięgno mięśnia czworogłowego tuż poniżej kolana, aby wywołać odruch kolanowy. Poćwicz to kilka razy, aby upewnić się, że potrafisz uzyskać wiarygodną reakcję.

- a. Uwaga: Po rozpoczęciu rejestrowania danych i wykonaniu uderzenia w ścięgno, może minąć kilka sekund, zanim dane pojawią się na ekranie. Jest to normalne. Po zakończeniu rejestracji wszystkie dane zostaną wyświetlone.
- b. Wybierz Start, aby rozpocząć rejestrację.
- c. Pojawi się wskaźnik postępu, ale dane nie będą wyświetlane, dopóki sygnał w kanale Tendon Tap nie wywoła zapisu do wyświetlenia.
- d. Użyj młotka neurologicznego, aby uderzyć w ścięgno mięśnia czworogłowego ochotnika.
- e. Kiedy wywołasz odruch kolanowy, powinieneś zobaczyć odpowiedź w kanale EMG. W razie potrzeby wybierz Auto Scale.
- f. Powtarzaj procedurę, aż uzyskasz 5 zapisów danych, każdy z odpowiedzią w EMG. Wybierz Stop.
- g. Poproś ochotnika, aby wykonał manewr Jendrassika, siedząc w tej samej pozycji (Na polecenie Ochotnik splata palce rąk i następnie czynnie rozciąga splecione ręce podczas wywoływania odruchu kolanowego).
- h. Podczas wykonywania tego manewru przez ochotnika, wybierz Start i użyj młotka ścięgowego, aby uderzyć w ścięgno mięśnia czworogłowego, wywołując odruch kolanowy. Powtarzaj, aż uzyskasz 5 nowych zapisów danych, każdy z odpowiedzią w EMG.
- i. Wybierz Stop.
- j. Wybierz każdy z 5 zapisów odpowiedzi EMG zarejestrowanych podczas wykonywania manewru Jendrassika, wpisz "Jendrassik" w panelu komentarzy, a następnie wybierz Add.
- k. Uwaga: Jeśli uderzenie w ścięgno nie wywołało odpowiedzi, możesz wybrać ikonę ustawień, a następnie Remove lub Hide, aby usunąć aktywny zapis.
- l. W czasie analizy należy porównać amplitudę i latencję odruchu kolanowego w warunkach normalnych oraz podczas wykonywania manewru Jendrassika.
- m. Użyj funkcji Auto Scale lub przycisków kompresji, aby wyświetlić pierwszy zapis wykonany w warunkach normalnych.
- n. Umieść znacznik (Marker) na początku uderzenia w ścięgno w kanale Tendon Tap.
- o. Ustaw wskaźnik (Point Selector) na początku skurczu mięśnia. Zmiana czasu (Δ Time) zostanie wyświetlona w panelu wartości.
- p. Wpisz tę wartość do kolumny Latencja – Normalne w tabeli.
- q. Umieść znacznik (Marker) na linii bazowej w kanale EMG.
- r. Ustaw wskaźnik (Point Selector) na szczycie odpowiedzi. Amplituda EMG zostanie wyświetlona w kanale EMG.
- s. Wpisz wartość Δ EMG do odpowiedniej kolumny tabeli.

Badany odruch	Latencja (ms) bez manewru	Amplituda (mV) bez manewru	Latencja (ms) z manewrem Jendrassika	Amplituda (mV) z manewrem Jendrassika



Średnia				
SD				

- t. Powtórz tę procedurę dla każdego zapisu w warunkach normalnych oraz z manewrem Jendrassika. Średnie wartości oraz odchylenia standardowe (SD) zostaną obliczone automatycznie.

Zastanów się:

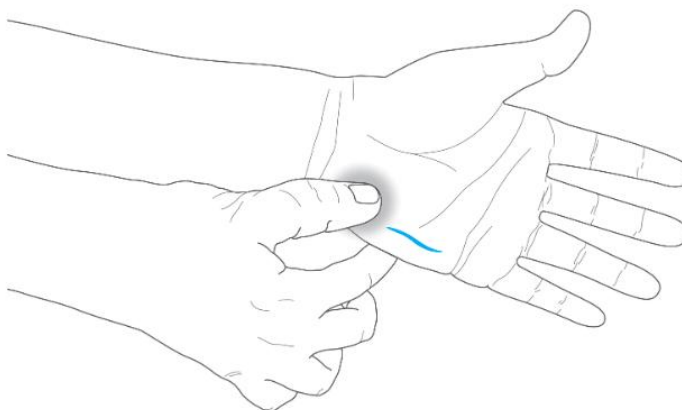
Jak zmienił się odruch kolanowy, gdy ochotnik wykonywał manewr Jendrassika?

W jaki sposób manewr Jendrassika wpływa na działanie łuku odruchowego odruchu kolanowego?

5.3 Odruch cofania mięsień dłoniowy krótki.

Cel: Zbadanie odruchu cofania.

- Złóż dłoń w miseczkę.
- Z ręką ułożoną w górę i w stanie rozluźnienia, naciśnij paznokciem na mięsień dłoniowy krótki w pobliżu kości grochowatej. Silny nacisk powoduje odruchowy skurcz mięśnia dłoniowego krótkiego
- Skurcz mięśnia nie jest wyraźny, ale powoduje marszczenie skóry na grzbiecie dłoni (od strony małego palca)
- Spróbuj znaleźć obszary na dłoni, przy których można wywołać ten odruch.
- Spróbuj skurczyć mięsień dłoniowy krótki dobrowolnie, nie poruszając małym palcem. Większość osób uważa to za trudne lub niemożliwe. Jednak po długotrwałym treningu, ruch ten można opanować.



Zastanów się:

Jakim typem odruchem jest odruch cofania: warunkowym czy bezwarunkowym? Wyjaśnij dlaczego.

5.4 Odruch źreniczny

Cel: Zbadanie odruchu źrenicznego.

Wybierz ochotnika z grupy. Ochotnikowi zostanie zaświecone światło w oczy, więc upewnij się, że czuje się komfortowo z tym procesem. Użyjesz latarki do wywołania odruchu źrenicznego u ochotnika. Zanotuj swoje obserwacje poniżej.

- Zasłoń oczy ochotnika na około 15 sekund. Zaświeć światłem w jedno oko.
- Opisz reakcję źrenicy, gdy skierowano na nią światło.
- Ponownie zasłoń oczy ochotnika na około 15 sekund. Zaświeć światłem w jedno oko.
- Opisz reakcję źrenicy w drugim oku (tym, które nie było oświetlone).



Zastanów się

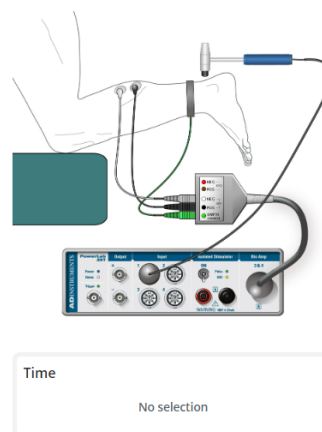
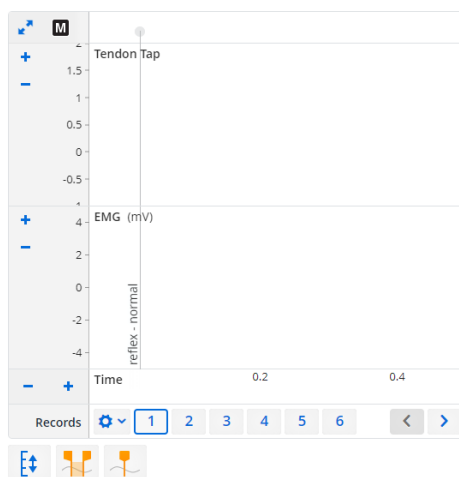
Przejrzyj swoje obserwacje. Jaki jest główny bodziec wywołujący ten odruch?

Opisz budowę łuku odruchowego odruchu źrenicznego?

5.5 Odruchy o skurcze dobrowolne mięśni szkieletowych

Cel: Wskazanie różnic pomiędzy odpowiedzią o skurczami dobrowolnymi.

Dane dotyczące odruchu skokowego są pokazane w panelu Scope poniżej. Podobnie jak w przypadku aktywności związanej z odruchem kolanowym, odruch została wywołana stuknięciem



młoteczkiem neurologicznym. Następnie ochotnik został poproszony o wykonanie dobrowolnego skurczu mięśnia (również zgięcia podeszwowego) w odpowiedzi na stuknięcie w stopę.

- a. Zmierz i porównaj czasy opóźnień, korzystając z tabeli poniżej, a następnie odpowiedz na pytania, które się pojawiają.

Pomiar	Okres latencji- odruch skokowego (ms)	Okres latencji- odruch skokowego z manewrem Jendrassika (ms)	Okres latencji- dobrowolny skurcz mięśni
1			
2			
3			
4			
5			
Średnia			
SD			

Zastanów się:

Liam ma 1,8 m (5,9 stopy) wzrostu, a Jacqui ma 1,4 m (4,6 stopy) wzrostu. Który ochotnik będzie miał szybszy odruch skokowy? Wyjaśnij dlaczego.

Wskaż różnice między uzyskanymi wynikami dla odruchu skokowego oraz skurczu dobrowolnego? Z czego one wynikają?



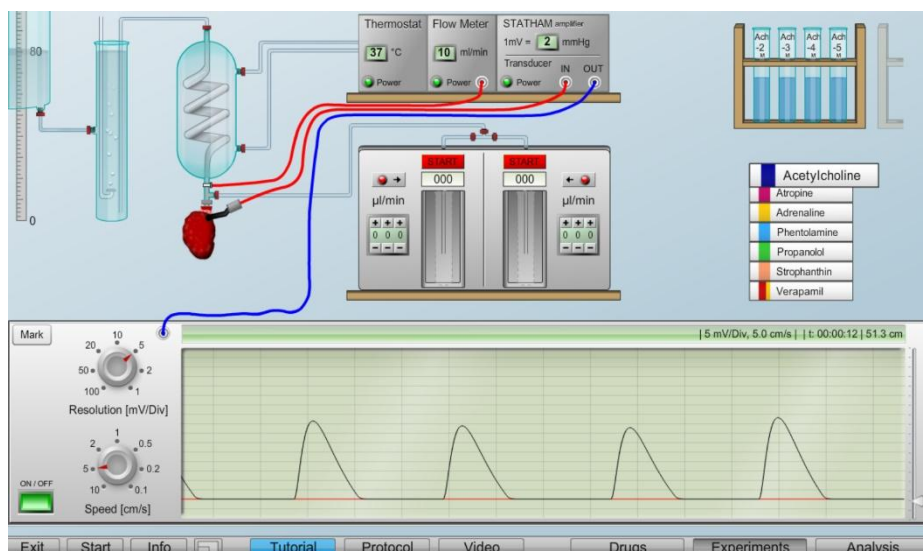
FIZJOLOGIA UKŁADU KRAŻENIA

6.1 Automatyzm pracy serca.

Cel: Zbadanie zjawiska automatyzmu pracy serca oraz roli układu bódźprzewodzącego w czynności skurczowej serca

Eksperymentalne przygotowanie serca w układzie Langendorffa w zakładce „Eksperymenty”laboratorium.

W tzw. układzie Langendorffa izolowane serce z aortą jest perfuzowane (naczynia wieńcowe są nieustannie przepłukiwane w sposób wsteczny-czyli przy zamkniętych zastawkach aortalnych) i natlenionym w utrzymywanym w kontrolowanej temperaturze roztworem Krebsa,



który wypływa przez przecięte naczynia układu żylnego.

Poprzez wymiennik ciepła sterowany termostatem (urządzenie po lewej stronie półki) temperatura roztworu perfuzyjnego jest utrzymywana na poziomie 37°C. Przy średnim przepływie wynoszącym 10 mL/min, który jest monitorowany za pomocą przepływomierza, ustawiane jest ciśnienie hydrostatyczne zbiornika (po lewej stronie wyświetlacza), który zasila układ perfuzyjny. Zmiany ciśnienia izowolumetrycznego w lewej komorze są mierzone za pomocą cewnika balonowego umieszczonego w tętnicy płucnej (wprowadzonego przez żyłę płucną), przetwornika mechaniczno-elektrycznego i wzmacniacza Stathama (z ustawieniem na stałe 1 mV/2 mmHg), a następnie rejestrowane na rejestratorze wykresów (na dole).

- Ustaw szybkość przesuwu papieru na 5 cm/s.
- Zmień rozdzielczość zapisu resolution na 5 mv/div. W tej rozdzielczości 1 kratka na osi Y jest równa 5 mV amplitudy siły skurczu.
- Włącz rejestrację klikając na przycisk On/Off.
- Zapis przedstawia aktywność skurczowo/ rozkurczową komory serca żaby.
- Na podstawie zapisu (3 wybrane skurcze) w zakładce Analysis oblicz: częstość skurczów serca, amplitudę skurczu, czas trwania fazy skurczu, czas trwania fazy rozkurczu, średnie ciśnienie tętnicze
- Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej

W celu wykonania obliczeń pamiętaj, że:

- Rozdzielczość ustawiona jest na 5 mV/kratkę
- 1 mV amplitudy jest równy 2 mmHg
- Jedna kratka na osi X równa jest 1,2 cm.

Parametry	Skurcz 1	Skurcz 2	Skurcz 3	Skurcz 4



Amplituda				
Czas trwania fazy skurczu				
Czas trwania fazy rozkurczu				
MAP				
HR				

Zastanów się:

Jakie mechanizmy odpowiedzialne są za aktywność skurczowo- rozkurczową serca (w doświadczeniu serce jest wyizolowane!!!)?

W jaki sposób zaburzenia elektrolitowe wpływają na aktywność serca (hiper-, hipo- natremia, hiper- hipo- kalemia, hiper- hipo- kalcemia).

6.2 Wpływ autonomicznego układu nerwowego na wyizolowany mięsień sercowy

Cel: Zbadanie wpływu autonomicznego układu nerwowego (efekt ino-, dromo-, chrono-lusitropowy) na aktywność wyizolowanego mięśnia sercowego.

- Ustaw opcje zapisu jak w poprzednim doświadczeniu.
- Zarejestruj spontaniczną aktywność serca
- Z dostępnej po prawej stronie ekranu listy substancji chemicznej wybierz acetylocholiny (Acetylcholine).
- Do prawego lub lewego miejsca na probówce w pompie przeciągnij probówkę z acetylocholiny w stężeniu 10^{-5} M.
- Ustaw objętość iniekcyjną na 150 μ l/min.
- Klikając na poziomą strzałkę nad zadaną objętością iniekcyjną podaj substancję do pompy.
- Wypierz Start. Acetylocholina zostanie podana do serca.
- Obserwuj zmiany zapisu aktywności skurczowo- rozkurczowej na ekranie. Po ustabilizowaniu zapisy wybierz Stop- spowoduje to zakończenie podawania acetylcholiny i przejdź do zakładki Analysis.
- Na podstawie otrzymanego zapisu oblicz: częstość skurczów serca, amplitudę skurczu, czas trwania fazy skurczu, czas trwania fazy rozkurczu, średnie ciśnienie tętnicze
- Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej.
- Przenieś probówkę z acetylcholiny do stojaka z probówkami.

Parametry	Spontaniczna aktywność – skurcz 1	Spontaniczna aktywność – skurcz 2	Acetylcholina- skurcz 1	Acetylcholina- skurcz 2
Amplituda				
Czas trwania fazy skurczu				



Czas trwania fazy rozkurczu				
MAP				
HR				

W celu wykonania obliczeń pamiętaj, że:

- Rozdzielczość ustawiona jest na 5 mV/kratkę
- 1 mV amplitudy jest równy 2 mmHg
- Jedna kratka na osi X równa jest 1,2 cm.

- W analogiczny sposób zbadaj wpływ adrenaliny (Adrenaline) w stężeniu 10^{-5} M i dawce iniekcyjnej 200 μ l/min.
- Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej.
- Przenieś probówkę z adrenaliną do stojaka z probówkami.

Parametry	Spontaniczna aktywność – skurcz 1	Spontaniczna aktywność – skurcz 2	Adrenalina-skurcz 1	Adrenalina-skurcz 2
Amplituda				
Czas trwania fazy skurczu				
Czas trwania fazy rozkurczu				
MAP				
HR				

Zastanów się:

W jaki sposób acetylocholina oraz adrenalina wpływają na mięsień sercowy?

W jaki sposób i dlaczego acetylocholina reguluje siłę skurczu komórek serca?

6.3 Wpływ blokerów kanałów wapniowych typu L na aktywność mięśnia sercowego.

Cel: Określenie roli kanałów wapniowych w czynności skurczowo- rozkurczowej serca.

- Ustaw opcje zapisu jak w poprzednim doświadczeniu.
- Zarejestruj spontaniczną aktywność serca
- Z dostępnej po prawej stronie ekranu listy substancji chemicznej wybierz werapamil (Verapamil).
- Do prawego lub lewego miejsca na probówce w pompie przeciągnij probówkę z werapamilem w stężeniu 10^{-3} M.
- Ustaw objętość iniekcyjną na 10 μ l/min.
- Klikając na poziomą strzałkę nad zadaną objętością iniekcyjną podaj substancję do pompy.



- g. Wypierz Start. Werapamil zostanie podana do serca.
- h. Obserwuj zmiany zapisu aktywności skurczowo- rozkurczowej na ekranie. Nie przestawaj podawania werapamilu i przejdź do zakładki Analysis.
- i. Na podstawie otrzymanego zapisu oblicz: częstość skurczów serca, amplitudę skurczu, czas trwania fazy skurczu, czas trwania fazy rozkurczu, średnie ciśnienie tętnicze.
- j. Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej.

6.4 Wpływ podania adrenaliny i werapamilu na czynność serca.

Cel: Zbadanie możliwości odwrócenia efektu działania werapamilu przez podanie adrenaliny.

- a. Do przygotowanego w poprzednim doświadczeniu układu eksperymentalnego dodaj adrenalinę- w drugim miejscu na próbówkę w pompie umieść próbkę z 10^{-5} adrenaliną.
- b. Ustaw dawkę iniekcyjną adrenaliny na 750 $\mu\text{l/min}$.
- c. Wybierz Start nad próbką z adrenalina i rozpocznij jej podawanie.
- d. Obserwuj zmiany zapisu aktywności skurczowo- rozkurczowej na ekranie. Po ustabilizowaniu zapisu przestań podawać adrenalinę i werapamil. Następnie przejdź do zakładki Analysis.
- e. Na podstawie otrzymanego zapisu oblicz: częstość skurczów serca, amplitudę skurczu, czas trwania fazy skurczu, czas trwania fazy rozkurczu, średnie ciśnienie tętnicze
- f. Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej.

Parametry	Werapamil – skurcz 1	Werapamil – skurcz 2	Werapamil+Adrenalina- skurcz 1	Werapamil+Adrenalina- skurcz 2
Amplituda				
Czas trwania fazy skurczu				
Czas trwania fazy rozkurczu				
MAP				
HR				

Zastanów się:

W jaki sposób i dlaczego podanie blokera kanałów wapniowych typu L wpływa na aktywność mięśnia sercowego? Jakże może być tego zastosowanie kliniczne?
Czy możliwe znieść działanie werapamilu? Jeżeli tak, to jaki sposób?

6.5 Wpływ glikozydów naporstnicy na serce.

Cel: Określenie efektu działania glikozydów naporstnicy (dawki terapeutycznej i toksycznej) na serce.

- a. Upewnij się, że aktywność wyizolowanego serca powróciła do aktywności spontanicznej.



- b. W jednym z miejsc na probówkę w pompie umieść probówkę z strofantyna (Strophantine) o stężeniu 10^{-5} M.
- c. Ustaw dawkę iniekcyjną $10\mu\text{l}/\text{min}$.
- d. W razie konieczności zmień rozdzielczość na $10\text{ mV}/\text{kratkę}$ (gdy zapis aktywności skurczowo- rozkurczowej jest rejestrowany poza obszarem zapisu).
- e. Wybierz Start nad probówką z adrenalina i rozpocznij jej podawanie.
- f. Obserwuj zmiany zapisu aktywności skurczowo- rozkurczowej na ekranie. Po ustabilizowaniu zapisu przestań podawać strofantynę. Następnie przejdź do zakładki Analysis.
- g. Na podstawie otrzymanego zapisu oblicz: częstość skurczów serca, amplitudę skurczu, czas trwania fazy skurczu, czas trwania fazy rozkurczu, średnie ciśnienie tętnicze
- h. Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej.

Parametry	Strofantyna– skurcz 1	Strofantyna – skurcz 2
Amplituda		
Czas trwania fazy skurczu		
Czas trwania fazy rozkurczu		
MAP		
HR		

- i. Zwiększ dawkę iniekcyjną strofantyny do $900\mu\text{l}/\text{min}$.
- j. Obserwuj zmiany zapisu aktywności skurczowo- rozkurczowej na ekranie. Po ustabilizowaniu zapisu przestań podawać strofantynę. Następnie przejdź do zakładki Analysis.

Zastanów się:

W jaki sposób i dlaczego terapeutyczna dawka strofantyny ($10\mu\text{l}/\text{min}$) wpływa na czynność mięśnia?

W jaki sposób podanie strofantyny wpłynie na kształt krzywej ciśnienie- objętość krwi w lewej komorze?

Dlaczego po podaniu toksycznej dawki strofantyny linia zapisu rozpoczyna się powyżej czerwonej linii?

6.6 Pomiar ciśnienia tętniczego oraz tętna w różnych pozycjach ciała

Cel: Pomiar ciśnienia tętniczego krwi metodą osłuchową Korotkowa oraz tętna w trzech pozycjach ciała- stojącej, siedzącej oraz leżącej. Pomiar tych parametrów w różnych pozycjach ciała pozwoli określić wpływ wysokości słupa krwi na działanie układu krążenia.

- a. Założyć mankiety gumowy na lewe, nagie, ramię.
- b. Wprowadzić powietrze do mankietu sfigmomanometru przy pomocy gumowej gruszki. Ciśnienie w mankiecie musi wyjściowo przewyższać ciśnienie skurczowe serca tj. ok. 180 mm Hg .



- c. Przyłożyć stetoskop do zgięcia ramienia (poniżej mankietu ciśnieniomierza).
- d. Odkręcać zawór gumowej gruszki do wartości ciśnienia skurczowego badanego. Gdy osiągnięta zostanie taka wartość, przy której krew w uprzednio zamkniętej tętnicy przeważy ciśnienie w mankiecie i będzie się przeciskać przez naczynie. Poznasz to po wyraźnym szmerze w słuchawkach stetoskopu, zaś wartość ciśnienia skurczowego należy odczytać ze skali ciśnieniomierza.
- e. Wypuszczając powietrze z mankietu, aż do osiągnięcia wartości ciśnienia rozkurczowego badanego, związanego z zanikiem szmerów. Jest to wynik swobodnego przepływu krwi w naczyniach. Wartość ciśnienia rozkurczowego należy odczytać ze skali ciśnieniomierza.
- f. Wykonaj pomiar ciśnienia tętniczego krwi w pozycji siedzącej stojącej oraz leżącej zakładając mankiety sfigmomanometru na lewe a następnie prawe ramie.
- g. Otrzymane wyniki wpisz w tabelę.
- h. Przyłóż dwa palce (wskazujący i środkowy) do powierzchni skóry w okolicy nadgarstka osoby badanej, wzdłuż przebiegu tętnicy promieniowej, która leży między skórą a tętnicą promieniową.
- i. Ustal częstość tętna licząc liczbę wyczuwalnych odkształceń tętnicy w ciągu jednej minuty (jeśli to konieczne można skrócić czas do 30s i pomnożyć wynik przez 2).
- j. Wykonać pomiar częstości tętna w pozycji: siedzącej, stojącej i leżącej.
- k. Otrzymane wyniki pomiaru tętna wpisz w tabelę.

	Ciśnienie skurczowe krwi	Ciśnienie rozkurczowe krwi	Tętno
Lewe ramie			
Pozycja siedząca			
Pozycja leżąca			
Pozycja stojąca			
Prawe ramie			
Pozycja siedząca			
Pozycja leżąca			
Pozycja stojąca			

Zastanów się:

W jaki sposób pozycja ciała, w której mierzone jest ciśnienie tętnicze oraz tętno wpływa na wartość tych parametrów?

Czy miejsce pomiaru ciśnienia tętniczego (lewe lub prawe ramie) wpływa na jego wartość?

W jaki sposób stan nieważkości wpływa na ciśnienie tętnicze krwi oraz tętno?

Dlaczego pomiar tętna na tętnicy szyjnej może spowodować zawroty głowy lub doprowadzić do utraty przytomności?



6.7 Tony serca

Cel: Osluchanie klatki piersiowej w celu lokalizacji miejsc umożliwiające pomiar tonów serca.

- Osluchaj tony serca na swojej klatce piersiowej lub klatce piersiowej partnera (pozycja siedząca).
- Umieść główkę stetoskopu w miejscu koniuszka serca.(5. przestrzeni międzyżebrowa) nieco na lewo od brodawki sutkowej.
- Spróbuj zidentyfikować charakterystyczny dźwięk 1 tonu serca (lub).
- Jeśli ton serca jest trudny do usłyszenia, poproś badanego, aby pochylił się do przodu, co przesunie serce bliżej przedniej ściany klatki piersiowej.
- Wyczuj palpacyjnie wcięcie nadmostkowe (szyjne) oraz kąt mostka (oznaczający miejsce przyczepu 2. żebra). Następnie przesun się o około 2,5 cm (1 cal) w dół od kąta mostka na mostku, a następnie o około 2,5 cm w prawo. Powinieneś znaleźć się w 2 przestrzeni międzyżebrowej. Za pomocą stetoskopu osłuchaj klatkę piersiową i spróbuj zidentyfikować drugi ton serca.

Zastanów się:

Który z tonów serca jest głośniejszy? Wyjaśnij dlaczego.

6.8 Próba ortostatyczna

Cel: Próba ortostatyczna jest wykonywana w celu oceny reakcji układu sercowo-naczyniowego na zmianę pozycji ciała z leżącej na stojącą. Może być używany do diagnozowania ortostatycznej hipotensji, zaburzeń regulacji autonomicznej lub innych stanów klinicznych wpływających na regulację ciśnienia tętniczego.

- Wyjaśnij pacjentowi cel badania i jego przebieg.
- Pacjent powinien unikać ciężkich posiłków, kofeiny, alkoholu i intensywnego wysiłku fizycznego na co najmniej 2 godziny przed testem.
- Zapewnij spokojne i ciche środowisko do przeprowadzenia badania.
- Pacjent powinien być w pozycji leżącej przez co najmniej 5-10 minut przed rozpoczęciem pomiarów.
- Pacjent leży na plecach w wygodnej pozycji.
- Zmierz i zanotuj ciśnienie tętnicze oraz tętno.
- Powtórz pomiar co minutę przez kolejne 3 minuty.
- Poproś pacjenta o powolne przejście do pozycji stojącej w ciągu 5-10 sekund. Upewnij się, że pacjent czuje się stabilnie i nie występują zawroty głowy.
- Zmierz i zanotuj ciśnienie tętnicze oraz tętno natychmiast po przyjęciu pozycji stojącej.
- Powtarzaj pomiary co minutę przez kolejne 5 minut.
- Otrzymane wyniki wpisz w tabelę poniżej.
- Dla każdego z pomiarów oblicz średnie ciśnienie tętnicze (MAP).

	Ciśnienie skurczowe krwi (mmHg)	Ciśnienie rozkurczowe krwi (mmHg)	Tętno (uderzenia/min)	MAP (mmHg)
Pozycja leżąca (1 min)				
Pozycja leżąca (2 min)				
Pozycja leżąca (3 min)				



Pozycja stojąca (natychmiast po wstaniu)				
Pozycja stojąca (1 minuta po wstaniu)				
Pozycja stojąca (2 minuty po wstaniu)				
Pozycja stojąca (3 minuty po wstaniu)				
Pozycja stojąca (4 minuty po wstaniu)				
Pozycja stojąca (5 minuty po wstaniu)				

Zastanów się:

W jaki sposób zmiana pozycji ciała z leżącej na stojącą wpływa na krążenie krwi? Wyjaśnij działanie mechanizmów kompensacyjnych umożliwiających utrzymanie homeostazy.

Wyjaśnij zmiany średniego ciśnienia tętniczego w czasie próby ortostatycznej).

6.9 Elektrokardiografia

Cel: Wykonanie badania elektrokardiograficznego oraz interpretacja jego zapisu. Analiza zapisu EKG w wybranych stanach patofizjologicznych.

- Osoba badana kładzie się na łóżku.
- Podłącz elektrody kończynowe we wskazanych miejscach. W celu zwiększenia przewodności elektrycznej skóry, zwilż skórę roztworem soli fizjologicznej:
 - czarna - prawa kończyna dolna;
 - zielona - lewa kończyna dolna;
 - czerwona - prawa kończyna górna;
 - żółta - lewa kończyna górna;
- Podłącz jednobiegunowe elektrody przedsercowe. Podobnie jak w przypadku elektrod kończynowych :
 - C1 - w IV międzyżebżu przy prawym brzegu mostka;
 - C2 - w IV międzyżebżu przy lewym brzegu mostka;
 - C3 - w 1/2 odległości pomiędzy C2 i C4;
 - C4 - w V międzyżebżu w linii środkowoobojczykowej lewej;
 - C5 - w przedniej linii pachowej lewej, w miejscu jej przecięcia z linią prostopadłą poprowadzoną przez C4;
 - C6 - w środkowej linii pachowej lewej, w miejscu jej przecięcia z linią prostopadłą poprowadzoną przez C4.
- Wykonaj standardowy zapis EKG 12 odprowadzeniowy przyciskając przez 2s przycisk auto.
- Oceń poprawność techniczną wykonanego zapisu.
- Zdejmij elektrody.
- Przygotuj stanowisko EKG dla następnego pacjenta.

6.10 Oznaczenie osi elektrycznie serca.

Cel: Oznaczenie osi elektrycznej serca metodą trójkąta, kwadrantową, trzech odprowadzeń,
Metoda trójkąta



- Zmierz wychylenie zespołu QRS w odprowadzeniu I, II, III. Wielkość wychylenia „w dół” względem linii izoelektrycznej jest odejmowana od wielkości wychylenia „w górę” względem linii izoelektrycznej (wartości bezwzględne).
- Otrzymane wartości odłożyć na linii odpowiedniego odprowadzenia trójkąta Einthovena (prostopadle do linii odpowiedniego odprowadzenia).
- Następnie punkt przecięcia narysowanych linii połączyć linią z środkiem trójkąta.
- Zmierz kąt wektora otrzymanego z połączenia punktu przecięcia ze środkiem trójkąta (rzut na płaszczyznę czołową).
- Narysowany wektor określa oś elektryczną serca.

Metoda kwadrantowa

- Oceń zespół QRS w odprowadzeniu I:
 - Jeśli QRS jest dodatni (załamek R większy niż S), oś elektryczna skierowana jest w lewo (0°).
 - Jeśli QRS jest ujemny (załamek S większy niż R), oś skierowana jest w prawo (180°).
- Oceń zespół QRS w odprowadzeniu aVF:
 - Jeśli QRS jest dodatni, oś skierowana jest ku dołowi ($+90^\circ$).
 - Jeśli QRS jest ujemny, oś skierowana jest ku górze (-90°).
- Na podstawie powyższych ocen określ orientacyjne położenie osi elektrycznej:

Odprowadzenie I	Odprowadzenie aVF	Zakres osi elektrycznej	Interpretacja
Pozytywny	Pozytywny	0° do $+90^\circ$	Oś prawidłowa
Pozytywny	Negatywny	-90° do 0°	Odchylenie osi w lewo (lewogram)
Negatywny	Pozytywny	$+90^\circ$ do $+180^\circ$	Odchylenie osi w prawo (prawogram)
Negatywny	Negatywny	-180° do -90°	Oś niezdefiniowana (ekstremalna)

Metoda trzech odprowadzeń

- Oceń zespół QRS w odprowadzeniu I:
 - Jeśli QRS jest dodatni (załamek R większy niż S), oś elektryczna skierowana jest w lewo (0°).
 - Jeśli QRS jest ujemny (załamek S większy niż R), oś skierowana jest w prawo (180°).
- Oceń zespół QRS w odprowadzeniu II:
 - Jeśli QRS jest dodatni, oś skierowana jest ku dołowi ($+60^\circ$).
 - Jeśli QRS jest ujemny, oś skierowana jest ku górze (-120°).
- Oceń zespół QRS w odprowadzeniu aVF:
 - Jeśli QRS jest dodatni, oś skierowana jest ku dołowi ($+90^\circ$).
 - Jeśli QRS jest ujemny, oś skierowana jest ku górze (-90°).
- Na podstawie powyższych ocen określ orientacyjne położenie osi elektrycznej:

Odprowadzenie I	Odprowadzenie II	Odprowadzenie aVF	Zakres osi elektrycznej	Interpretacja
Pozytywny	Pozytywny	Pozytywny	0° do $+90^\circ$	Oś prawidłowa
Pozytywny	Izofazowy	Negatywny	-30° do 0°	Odchylenie osi w lewo (fizjologiczne)



Pozytywny	Negatywny	Negatywny	-90° do -30°	Odchylenie osi w lewo (patologiczne)
Negatywny	Pozytywny	Pozytywny	+90° do +180°	Odchylenie osi w prawo (prawogram)
Negatywny	Negatywny	Negatywny	-180° do -90°	Oś niezdefiniowana (ekstremalna)

Metoda z wykorzystaniem odprowadzeń izoelektrycznych

- 1.1. Zidentyfikuj odprowadzenie kończynowe (I, II, III, aVR, aVL, aVF), w którym zespół QRS jest najbardziej izofazowy (załamki R i S mają podobną amplitudę).
- 1.2. Określ oś elektryczną serca jako prostopadłą do osi tego odprowadzenia.
- 1.3. Spośród dwóch możliwych kierunków prostopadłych, wybierz ten, który odpowiada odprowadzeniu z dodatnim zespołem QRS.
- 1.4. Odczytaj wartość kąta osi elektrycznej na podstawie diagramu heksaksjalnego.

FIZJOLOGIA KRWI

7.1 Czas APTT (czas częściowej tromboplastyny po aktywacji) (dawniej czas kaolinowo-kefalinowy)

Mierzy się czas krzepnięcia osocza cytrynianowego po maksymalnej aktywacji czynników XI i XII oraz w obecności stałych stężeń fosfolipidów. Czynnik XI i XII są aktywowane po wstępnej inkubacji osocza z zawiesiną kaolinu.

Kaolin – odpowiednik kolagenu

Kefalina – odpowiednik fosfolipidów

Do 2 probówek dodać 0,1 ml osocza i 0,1 ml odczynnika aktywującego (kaolinowo-kefalinowego) i inkubować w temp. 37°C przez 2 minuty, po czym dodać 0,1 ml chlorku wapnia, jednocześnie włączając stoper i zmierzyć czas krzepnięcia.

Sposoby wyrażania APTT:

1. Czas wyrażony w sekundach (wartości prawidłowe 25-40 sekund)
2. Współczynnik

$$\frac{\text{czas próby badanej}}{\text{czas próby kontrolnej}}$$

7.2 Czas krzepnięcia krwi metodą Lee i White'a

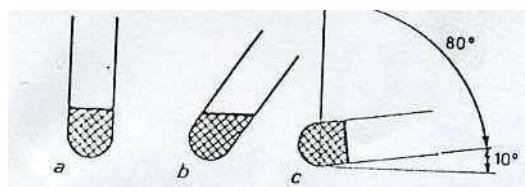
Mierzy się czas upływający od momentu wynaczynienia krwi do chwili jej skrzepnięcia w szklanych probówkach. Pozostawienie probówek w łaźni wodnej pozwala na ocenę fizycznych właściwości skrzepu, jego stabilności i stopnia retrakcji.

Pobiera się dokładnie po 1 ml krwi żyłnej samą igłą lub za pomocą plastikowej strzykawki do 3 szklanych probówek włączając jednocześnie stoper. Probówki ustawia się w łaźni wodnej o temp. 37 °C. W odstępach co 30 sekund przechyla się pierwszą probówkę o 80 ° aż do chwili,



w której swobodny przepływa krwi przy przechyleniu zostaje zatrzymany. W ten sam sposób sprawdza się krzepnięcie krwi kolejno w probówce drugiej i trzeciej.. Jako punkt końcowy przyjmuje się czas powstania skrzepu w trzeciej probówce.

UWAGA! Krzepnięcie rozpoczyna się wówczas gdy menisk krwi nie zmienia się w skośnym ułożeniu probówki. Stoper wyłącza się wtedy gdy krew nie wypływa mimo ostrożnej próby obrotu probówki o 180°, tzn. do góry dnem.



7.3 Czas protrombinowy (PT) (metoda Quicka)

Czas PT zależy od zawartości w osoczu protrombiny, czynników V, VII i X oraz fibrynogenu.

Czas PT nie zależy od stężenia innych czynników krzepnięcia i liczby płytek krwi.

Po dodaniu do osocza tromboplastyny i chlorku wapniowego następuje aktywacja protrombiny w układzie zewnątrzpo pochodnym, a następnie zamiana fibrynogenu w fibrynę.

Do probówki umieszczonej w łaźni wodnej o temp. 37 °C wprowadza się 0,1 ml badanego osocza i 0,1 ml roztworu tromboplastyny. Mieszaninę inkubuje się przez 1 min., po czym dodaje się do niej 0,1 ml chlorku wapniowego 0,025 mol/l, włączając jednocześnie stoper. Przechylając probówkę mierzy się czas powstawania skrzepu. Wykonuje się co najmniej 2 pomiary czasu PT osocza i wylicza średnią. Badanie powinno być przeprowadzone w czasie nie dłuższym niż 2 h od pobrania krwi.

Przy stosowaniu krajowej tromboplastyny mózgów króliczych króliczych metodzie manualnej kontrolny czas PT osocza osób zdrowych wynosi od 10 do 16 sekund.

Sposób wyrażania wyników:

1. Wskaźnik %

$$\frac{PT \text{ (sek)} \text{ wzorcowe}}{PT \text{ (sek)} \text{ badane}} \times 100$$

2. Współczynnik

$$\frac{PT \text{ (sek)} \text{ wzorcowe}}{PT \text{ (sek)} \text{ badane}}$$

1. **INR** – międzynarodowy współczynnik znormalizowany (ang. International Normalized Ratio). Współczynnik ten uwzględnia różnice w czułości stosowanych odczynników i aparatury.



prothrombin ratio (PR) and international normalized ratio (INR)

7.4 Czas trombinowy (TT)

Czas trombinowy zależy od: ilości trombiny, stężenia fibrynogenu, występowania patologicznego fibrynogenu, aktywności antytrombin, prawidłowej polimeryzacji i stabilizacji fibryny.

Czas trombinowy nie zależy od zmian w pozostałych czynnikach krzepnięcia.

Mierzy się czas krzepnięcia osocza w warunkach kontrolowanych po dodaniu stałej ilości trombiny (rozcieńczonej w 0,85% roztworze NaCl..

Pomiaru dokonuje się w łaźni wodnej o temp. 37 °C. Do 0,2 ml osocza dodaje się 0,1 ml roztworu trombiny, włączając jednocześnie stoper. Przechylając probówkę mierzy się czas powstania skrzepu w mieszaninie. Bierze się pod uwagę średnią z co najmniej 2 oznaczeń. Za każdym razem należy wykonać oznaczenia kontrolne z osoczem prawidłowym.

Prawidłowo czas trombinowy wynosi ok. 15 sekund.

7.5 Obliczanie wskaźników czerwonokrwinkowych

Znając liczbę hematokrytową (Hct), poziom hemoglobiny (Hb) i liczbę erytrocytów (liczba RBC) można obliczyć wskaźniki czerwonokrwinkowe, których znajomość jest istotna w diagnostyce niedokrwistości.

- a. **średnia masa hemoglobiny** (SMH; MCH – ang. Mean Cell Hemoglobin)

$$MCH(pg) = \frac{\text{poziom hemoglobiny (g/l)}}{\text{liczba erytrocytów (T/l)}}$$

pg – pikogram 10^{-12} g

- b. **średnie stężenie hemoglobiny w krwince** (SSH; MCHC – ang. Mean Cell Hemoglobin Concentration)

$$MCHC(g/l) = \frac{\text{poziom hemoglobiny (g/l)}}{\text{hematokryt (l/l)}}$$

- c. **średnia objętość krwinki** (SOK; MCV - ang. – Mean Cell Volume)

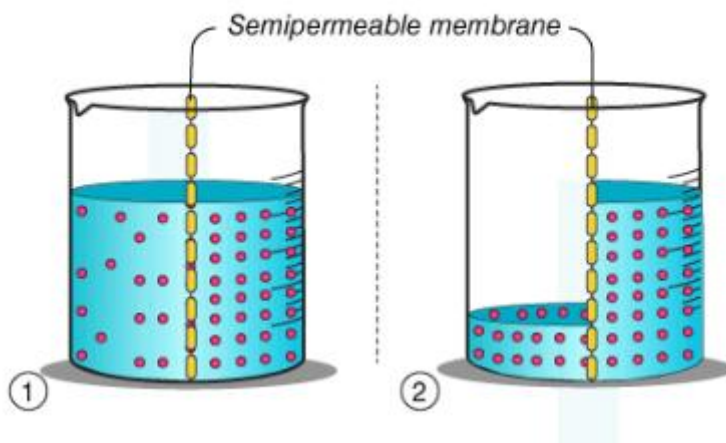


$$MCV(fl) = \frac{\text{hematokryt } (l/l)}{\text{liczba erytrocytów } (T/l)}$$

7.6 Oznaczanie oporności osmotycznej krwinek czerwonych

Ciśnienie osmotyczne

Jeżeli dwa roztwory o różnych stężeniach oddzielimy od siebie błoną półprzepuszczalną, to substancje znajdujące się w roztworach będą wykazywały zdolność do jednokierunkowego spontanicznego przepływu. Częsteczki substancji rozpuszczonej są zwykle większe od cząsteczek wody, a dodatkowo często są one otoczone płaszczem zbudowanym z cząsteczek rozpuszczalnika (np. zhydratyzowane jony), co powoduje, że nie mogą swobodnie przechodzić przez pory w błonie. Natomiast mniejsze cząstki wody (lub innego rozpuszczalnika) mogą swobodnie przechodzić przez pory w błonie, powodując przenikanie rozpuszczalnika do roztworu, a tym samym i wzrost poziomu (ilości) cieczy w roztworze zawierającym substancje rozpuszczone. Takie przemieszczenie wody (lub innego rozpuszczalnika) wynikające z różnicy stężeń po obu stronach błony półprzepuszczalnej nazywamy osmozą.



Przenikanie wody do roztworu spowoduje podnoszenie się słupa cieczy w roztworze na taką wysokość, aż zostanie zrównoważone ciśnienie hydrostatyczne bo obu stronach błony. Wielkość ciśnienia hydrostatycznego w stanie równowagi jest miarą ciśnienia osmotycznego (π). Ciśnienie to jest tym większe, im większa jest różnica stężeń po obu stronach błony. Działanie odpowiednio dużym ciśnieniem zewnętrznym, którego wartość odpowiadałaby wartości ciśnienia osmotycznego mogłoby powstrzymać przepływ rozpuszczalnika/wody do roztworu o większym stężeniu.



Przy wyrażaniu jednostek ciśnienia osmotycznego używa się jednostki Osmomol (Osm), kiedy jednostką wyrażającą stężenie cząsteczek rozpuszczonych jest mol. I tak roztwór substancji, która nie dysocjuje na jony o stężeniu 1 mol/dm^3 będzie wywierał ciśnienie osmotyczne równe 1 Osm/kg , co odpowiada ciśnieniu $22,4 \text{ atm/kg}$ czy 1013 hPa/kg . W przypadku substancji, które będą dysocjowały na jony musimy uwzględnić, że każdy jon będzie wywierał działanie na błonę. Dlatego też 1 mol roztworu NaCl (jony Na^+ i Cl^-) wywiera ciśnienie $2 \times 22,4 \text{ atm}$ (2 Osm), a 1 mol CaCl_2 (Ca^{2+} i 2Cl^-) wywiera ciśnienie $3 \times 22,4 \text{ atm}$ (3 Osm).

W przypadku roztworów występujących w organizmach żywych najczęściej ciśnienie osmotyczne wyrażane jest w mOsm ($1/1000 \text{ osmola}$). Ciśnienie osmotyczne wszystkich płynów ustrojowych człowieka wynosi ok. 300 mOsm/kg . Najbardziej znanym roztworem izotonicznym jest $0,9 \%$ roztwór NaCl określany mianem soli fizjologicznej. Jego ciśnienie osmotyczne wynosi:

Dane: $0,9 \text{ g}$ w 100 ml (g) wody

masa molowa (NaCl) wynosi $58,5 \text{ g/mol}$,

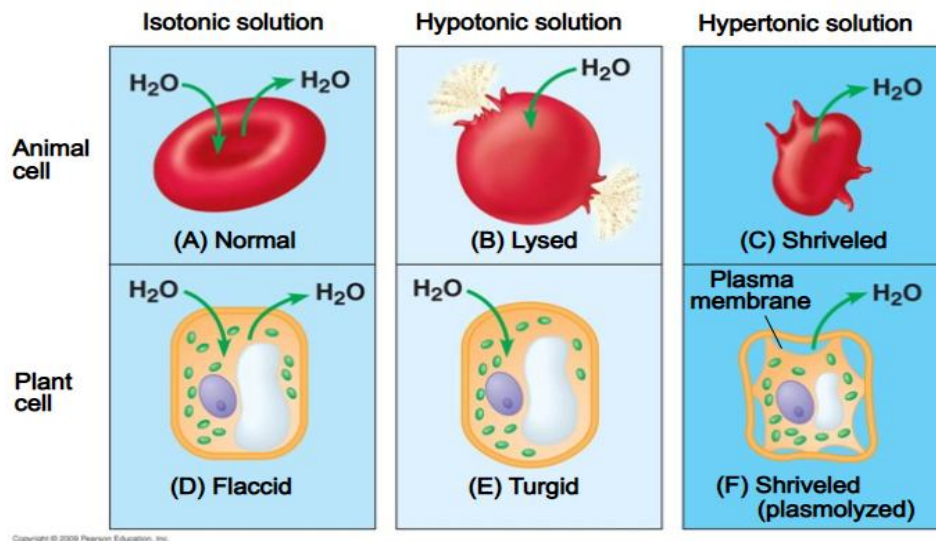
Stężenie molowe wynosi:

$$C = m/VM = 9\text{g}/(1 \text{ dm}^3 \times 58,5\text{g/mol}) = 0,15 \text{ mol/dm}^3$$

Ponieważ w roztworze wodnym zamiast cząsteczek NaCl występują jony Na^+ i Cl^- to roztwór ten wywiera on ciśnienie równe $0,3 \text{ Osm/kg}$ ($2 \times 0,15 \text{ mol}$), czyli 300 mOsm .

Oporność osmotyczna komórek.

Jeżeli komórkę roślinną lub zwierzęcą zanurzy się w roztworze o większym stężeniu (hipertonicznym), a tym samym o większym ciśnieniu osmotycznym niż płyn wewnątrzkomórkowy, wówczas woda przenika z komórki do roztworu i komórka kurczy się lub zachodzi plazmoliza. W przypadku umieszczenia komórki w wodzie destylowanej lub w roztworze o mniejszym ciśnieniu osmotycznym (hipotonicznym) niż panujące we wnętrzu komórki, owystępuje się przenikanie wody do komórki, a tym samym pęcznienie komórki prowadzące nawet do rozerwania błony komórkowej.

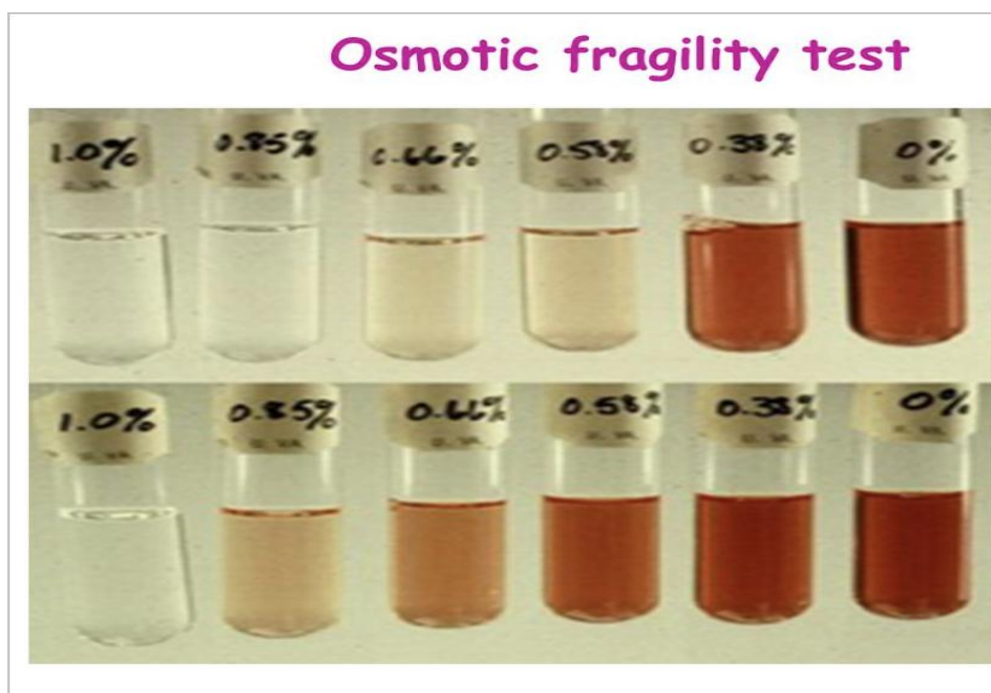


Erytrocyty otoczone są wybiórczo półprzepuszczalną błoną komórkową, co powoduje, że są one swoistego rodzaju osmometrami. Osmomolarność ich wnętrza uwarunkowana jest obecnością białek, niskocząsteczkowych związków organicznych i jonów nieorganicznych. Poprzez aktywną wymianę jonów pomiędzy wnętrzem, a środowiskiem zewnątrzkomórkowym mogą kontrolować swoją osmomolarność. W warunkach fizjologicznych, kiedy stężenie jonów pozostaje w równowadze izotonicznej z osoczem, erytrocyty utrzymują postać dwuwklęsłego dysku. Umieszczenie ich w środowisku hipotonicznym prowadzi do napływu wody do ich wnętrza, co prowadzi do ich pęcznienia i zmiany kształtu. Zarówno kształt komórki, jak i budowa błony pozwalają na maksymalne zwiększenie objętości o 70%. Wówczas krwinka przyjmuje kształt kuli, a jej błona staje się mało rozciągliwa, i dalszy napływ wody powoduje przerwanie jej ciągłości (liza komórkowa) przez co z wnętrza komórki wydostaje się hemoglobina. Proces ten nazywany jest hemolizą.

Oporność osmotyczna (ang. osmotic fragility) erytrocytów jest uznawana za wskaźnik wrażliwości krwinek czerwonych na działanie czynników mogących powodować ich hemolizę. Wpływa na nią wiele czynników, do których należą:

- skład i integralność błony plazmatycznej, stosunek powierzchni do objętości komórki,
- czynniki zewnętrzne (temperatura, ultradźwięki, leki)
- czas życia erytrocytów.

Podstawą testu oceniającego oporność osmotyczną jest ocena odporności erytrocytów na hemolizę w zależności od stężenia NaCl w roztworze (roztwory hipotoniczne: 0,1 ÷ 0,8 %).





Rycina. W górnym rzędzie probówek początek hemolizy jest przy 0.6% NaCl a całkowita hemoliza przy 0.38% NaCl. W dolnym rzędzie początek hemolizy jest przy 0.85% NaCl a hemoliza całkowita przy 0.58% of NaCl. Zwiększona oporność osmotyczna występuje w przypadku krwinek w górnym rzędzie.

7.7 Oznaczanie szybkości opadania elementów morfotycznych krwi (OB - odczyn Biernackiego)

Odczyn opadania elementów morfotycznych jest stosowany jako test diagnostyczny w różnych stanach chorobowych. OB.

OB zwiększa się także w ciąży, po intensywnym wysiłku fizycznym, po obfitym posiłku i w stanach pobudzenia emocjonalnego.

Stanowi wskaźnik rozległości i nasilenia zakażeń.

W procesie opadania krwinek zasadnicze znaczenie mają:

- *Skład białek osocza*; szybkość opadania zwiększa się przy zmniejszeniu stężenia albumin i zwiększeniu stężenia alfa₂ – i gamma-globulin
- *Kształt, liczba i ładunek elektryczny erytrocytów*;
 - erytrocyty mają na powierzchni ładunki „-”, które powodują ich odpychania się zgodnie z zasadą jednoimienności; Stosunek więc zmniejszenie ładunku „-” przyspiesza opadanie krwinek;
 - erytrocyty prawidłowej krwi mają skłonność do układania się w rulony, co ułatwia ich opadanie, Stosunek więc zmiana ich kształtu (gł. sferocytoza) zwalnia ich opadanie
 - zagęszczenie krwinek zwalnia ich opadanie, stosunek rozcieńczenie przyspiesza
- *Temperatura*; podwyższona temperatura zahamowuje opadanie krwinek
- *Stosunek zawartości lecytyny do cholesterolu w osoczu*; zmniejszenie stosunku lecytyny do cholesterolu zahamowuje opadanie krwinek

Rurki Westergrena napełnić aspirując krew pobraną na antykoagulant do wysokości oznaczonej cyfrą „0”. Rurkę umieścić w statywie statywie pozycji pionowej. Szybkość sedimentacji krwinek odczytać po upływie pierwszej godziny, biorąc pod uwagę poziom osocza i poziom krwinek.

Norma u kobiet do 12 mm/h u mężczyzn do 8 mm/h

7.8 Udział jonów wapnia w krzepnięciu

- 3 małe płytki Petriego o średnicy 5 cm, komora wilgotna,
- Krew z dodatkiem 4 % cytrynianu sodu w stosunku 10:1,
- krew z heparyną,
- 4 % bezwodny CaCl₂,
- pipety na 2 ml i 0,2 ml
- a. Do kolejno ponumerowanych płytek Petriego odmierzyć po 1 ml krwi:
 - do I płytki krew z heparyną
 - do II i III płytki krew cytrynianową,
- b. Następnie dodać do płytki I i III 0,2 ml cytrynianu sodu,



- c. Zawartość wymieszać w każdej płytce oddzielną bagietką i umieścić w termostacie o temp. 38 °C,.
- d. Po 15 minutach inkubacji wystawić próby z termostatu i zaobserwować wynik doświadczenia,
- e. Przedstawić analizę wyników i wnioski.

ZACHOWANIE SIĘ KRWINEK CZERWONYCH W ROZMAITYCH ROZTWORACH

Nr próbówki	Zawartość próbówki	Zmiany makrocytowe i mikrocytowe	Objaśnienie przyczyn i skutków
1	5 ml 5% NaCl + 3 krople krwi	roztwór nieprzezroczysty, krwinki mają kształt owocu morwy	w roztworze hipertonicznym krwinki oddają wodę i kurczą się
2	5 ml 0,9% NaCl + 3 krople krwi	roztwór nieprzezroczysty, krwinki zachowują kształt prawidłowy	w roztworze izotonicznym krwinki nie ulegają zmianom
3	5 ml 0,6% NaCl + 3 krople krwi	roztwór nieprzezroczysty, krwinki są napęczniałe, kuliste	w roztworze lekko hipotonicznym krwinki pobierają wodę z otoczenia i pęcznią, ale jeszcze nie pękają
4	5 ml H ₂ O dest + 3 krople krwi	roztwór przezroczysty, widać najwyżej cienie krwinek	w roztworze mocno hipotonicznym krwinki nabrały tyle wody, że ich otoczka pękła i uległy zupełnej hemolizie
5	5 ml 0,9% NaCl + 1 ml chloroformu + 3 krople krwi	roztwór przezroczysty, krwinki zhemolizowane	dodany do izotonicznego roztworu rozpuszczalnik rozpuścił lipidową część otoczki krwinek i spowodował hemolizę
6	5 ml 0,9% NaCl + 3 ml saponiny + 3 krople krwi	roztwór przezroczysty, krwinki zhemolizowane	digitonina (saponina) mimo izotoniczności roztworu tworzy z cholesterolem otoczki digitonid i powoduje hemolizę
7	5 ml 1,5% mocznika + 3 krople krwi	roztwór przezroczysty, krwinki zhemolizowane	mocznik łatwo przenika do wnętrza krwinek i, mimo że jego roztwór jest izotoniczny, wywołuje hemolizę jak woda destylowana

FIZJOLOGIA NEREK

8.1 Badania klirensowe

Ocenie sprawności wydalniczej nerek służą próby czynnościowe o charakterze ilościowym i jakościowym. Próby ilościowe opierają się m.in. na oznaczaniu klirensu:



$$C = \frac{V_{mocz} \cdot x \cdot S_{mocz}}{S_o}$$

Klirens służy do oznaczania wielkości przesączania kłębuszkowego (GFR). Substancje, które przesączają się w kłębuszkach i nie są wydzielane ani wchłaniane w kanalikach nerkowych mogą służyć do oznaczania GFR. Do substancji tych zaliczana jest inulina, której klirens wynosi średnio 127 ml/min/1,73 m² powierzchni ciała. Dlatego tę wielkość przyjmuje się za prawidłowy GFR.

Związkiem endogennym nadającym się do oceny GFR **jest kreatynina**. Obliczenie klirensu kreatyniny jest wiarygodne tylko przy niskim stężeniu kreatyniny w osoczu. U zdrowych osób klirens kreatyniny jest bardzo zbliżony do klirensu inuliny. Wzrost stężenia już 2-3 krotnie prowadzi u ludzi do kanalikowego wydzielania kreatyniny, tak że jej klirens staje się wyższy (10-30%) od rzeczywistego przesączania kłębuszkowego wyznaczonego za pomocą klirensu inuliny.

Cockroft i Gault podali uproszczony sposób pomiaru wielkości przesączania kłębuszkowego. Obliczamy go z wzoru:

$$\text{GFR w ml/min/1,73 m}^2 = \frac{W(140 - L)}{72 \cdot S_{kr}}$$

Gdzie:

L – wiek badanego w latach

W – masa ciała w kg

S_{kr} – stężenie kreatyniny w osoczu w mg/dl

Uzyskane wyniki są przybliżone, a średnia prawidłowa wartość GFR dla tego wzoru wynosi 124,4 ml/min/1,73 m², choć niższe wartości aż do 80 ml/min/1,73 m² uznaje się jeszcze za prawidłowe.

Szybko, lecz tylko orientacyjnie, można ocenić GFR na podstawie stężenia kreatyniny (P_{kr}) i **mocznika** (P_{mocznika}) w osoczu. Prawidłowe P_{kr} wynosi 0,8 – 1,3 mg/dl, ale w przypadku niewydolności nerek zwiększa się mniej więcej tylokrotnie, ilokrotnie zmniejszyło się przesączanie kłębuszkowe. Na przykład pięciokrotny wzrost kreatyninemii oznacza około pięciokrotne zmniejszenie GFR.

Oceny GFR oparte na stężeniu mocznika w osoczu (wartości prawidłowe 15-40 mg/dl) są jeszcze mniej dokładne. Wytwarzanie mocznika, w odróżnieniu od kreatyniny, jest ilościowo zmienne i zależy od wielu czynników.

Ta część przepływu krwi przez nerki, która zaopatruje miąższ nerkowy służy wytwarzaniu moczu, to tylko ona umożliwia czynność wydalniczą nerek. Jest to tzw. **skuteczny przepływ krwi przez nerki (ERBF)**. Przesącz kłębuszkowy powstaje



jednak z osocza, którego dopływ do nerek zwany **skutecznym przepływem osocza przez nerki (ERPF)** jest mniejszy od ERBF o wartość hematokrytu. Wielkość ERPF oznacza się na podstawie klirensu kwasu paraaminohipurowego (PAH). Przy jego małym stężeniu w osoczu ($< 5 \text{ mg/dl}$) zostaje on drogą przesączania kłębuszkowego i wydzielania kanalikowego całkowicie wydalony w moczu już w czasie jednorazowego przepływu przez miąższ nerkowy. Klirens PAH jest równy zatem ERPF i wynosi $640 \text{ ml/min/1,73 m}^2$.

Wprowadzenie poprawki na hematokryt pozwoli obliczyć skuteczny nerkowy przepływ krwi.

$$\text{ERBF} = \frac{\text{ERPF} \cdot 100}{100 - \text{Hct}}$$

Porównanie wielkości przesączania kłębuszkowego (GFR) z objętością skutecznego przepływu osocza przez nerki (ERPF) dostarcza informacji o wielkości tzw. **frakcji filtracyjnej (FF)**. FF to taka część objętości osocza przepływającego przez kłębuszki nerkowe przefiltrowana dla wytworzenia moczu pierwotnego.

$$\text{FF} = \frac{C_{\text{in}}}{C_{\text{PAH}}}$$

Prawidłowo FF wynosi 0,19, co oznacza, że 19 % osocza przepływającego przez kłębuszki zostaje tam przefiltrowane.

FF może wzrastać:

- ♦ zwłaszcza w niedoborze albumin w osoczu (np. w zespole nerczycowym); wzrasta wówczas EFP na skutek spadku ciśnienia onkotycznego przeciwstawiającemu się ciśnieniu hydrostatycznemu osocza.
- ♦ w zastoinowej niewydolności krążenia z powodu wzrostu w kłębuszkach ciśnienia hydrostatycznego.

Niskie wartości FF wskazują na przewagę składowej kłębuszkowej, np. w ostrym kłębuszkowym zapaleniu nerek.

Seryjnie powtarzane badania klirensowe uwidaczniają dynamikę choroby i pomagają ocenić postępy leczenia.

Zadania :

- a. Oblicz wielkość GFR, jeśli diureza = $1,25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, stężenie inuliny w moczu = 1,5%, a jej stężenie w osoczu 0,03%.
- b. Korzystając z normogramów oblicz własną powierzchnię ciała i wyznacz prawidłowy GFR i ERPF.
- c. Oblicz ERBF wiedząc, że ERPF wynosi $620 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ a Hct = 40%
- d. Oblicz wielkość przesączania kłębuszkowego u siebie zakładając, że stężenie kreatyniny w osoczu wynosi 0,9 mg/dl.



Profil podstawowych badań diagnostycznych w chorobach nerek - badanie ogólne moczu (właściwości fizykochemiczne, mikroskopowe badanie osadu moczu); badanie krwi (pozabiałkowe związki azotowe (kreatynina, mocznik, kwas moczowy), morfologia krwi, wskaźniki stanu zapalnego (odczyn Biernackiego, białko CRP), jonogram (Na, K, Cl, Mg) oraz wapń i fosforany); klirens endogennej kreatyniny/GFR. Profil badań specjalistycznych w chorobach nerek. Badania czynnościowe nerek, inne niż klirens kreatyniny (klirens cystatyny C; badania ukrwienia nerek (klirens PAH); badania funkcji reabsorpcyjnej cewek (maksymalny transport glukozy); badania homeostazy wodnej (pomiar gęstości i osmolalności moczu w testach rozcieńczania i zagęszczania). Diagnostyka różnicowa przednerkowej i nerkowej ostrej niewydolności nerek - ciężar właściwy moczu, osmolalność moczu, osad moczu; kreatynina i mocznik w surowicy i w moczu; stężenie Na w moczu; frakcyjne wydalanie przesączonego Na z moczem (FENa).

Ćwiczenie praktyczne:

- a. Badanie ogólne moczu
- b. Klirens kreatyniny
- c. Wyliczenie GFR
- d. Oznaczenie mocznika w surowicy
- e. FE_{Na} – wyniki.

a. Badanie ogólne moczu

Materiał badany i odczynniki:

- test paskowy
- mocz
- próbki stożkowe, komora do osadu, szkiełka podstawowe i nakrywkowe, wirówka

Wykonanie – test paskowy:

- wymieszać próbkę moczu, zanurzyć test paskowy w próbce tak aby wszystkie pola znalazły się w moczu na ok.1 sek.
- wyjąć pasek z próbki przesuwając jego brzegiem po ścianie naczynia aby usunąć nadmiar moczu, następnie trzymać test w pozycji poziomej aby zapobiec krzyżowemu zakażeniu pomiędzy przylegającymi polami



- umieścić pasek w aparacie

Wykonanie - osad:

- dokładnie wymieszać całą porcję moczu i odlać do probówki stożkowej 10 ml
- wirować 5 min przy 2000 obr./min
- zlać mocz znad osadu, odwracając energicznie probówkę dnem do góry; nad osadem powinna pozostać resztką płynu (około 0,5 ml – objętość zaznaczona kreską na ściance probówki)
- wymieszać osad z resztką moczu, przenieść kroplę (15-20 μ l) na szkiełko podstawowe i przykryć nakrywkowym (osad powinien być rozprowadzony pod całą powierzchnią szkiełka nakrywkowego)
- obejrzeć preparat w mikroskopie świetlnym najpierw w małym powiększeniu (100 x), a następnie ocenić szczegóły obrazu w dużym powiększeniu (400 x)

b. Oznaczanie klirensu kreatyniny

Aparatura i sprzęt laboratoryjny:

- spektrofotometr,
- probówki Eppendorf,
- pipety automatyczne,
- minutnik

Materiał badany i odczynniki:

- surowica
- **mocz z dobowej zbiórki (DZM) – 50-krotnie rozcieńczony wodą destylowaną (20 μ l moczu + 980 μ l wody destylowanej)**
- wzorzec kreatyniny (2 mg/dL)
- odczynnik roboczy przygotowany z odczynników R1 i R2 z zestawu odczynnikowego Kreatynina (BioMaxima) zmieszanych w stosunku 4 + 1

Wykonanie:

UWAGA! Oznaczenia kreatyniny w próbkach (surowica, mocz, wzorzec) są wykonywane pojedynczo. Materiał badany nalewamy do probówki bezpośrednio przed pomiarem absorbancji!

- opisać 3 probówki (surowica, mocz, wzorzec)
- odmierzyć do każdej z nich po 1 mL odczynnika roboczego



- odmierzyć 100 μ L surowicy do odczynnika roboczego i rozpocząć pomiar czasu (30 s) – w tym czasie wymieszać zawartość probówki, wlać jej zawartość do kuwetki i wstawić do gniazda pomiarowego w spektrofotometrze (λ =500 nm)
- dokładnie po 30 s odczytać absorbancję A1 (wobec powietrza = pustej kuwetki)
- odczyt powtórzyć po dokładnie 90 s (A2)
- wykonać pomiar dla rozcieńczonego moczu i wzorca

Obliczenia:

obliczyć stężenie kreatyniny w surowicy (P_{kr}) i moczu (U_{kr}):

$$P_{kr}/U_{kr} = \frac{\mu A_{\text{próby badanej (surowicy/moczu)}}}{\mu A_{\text{wzorca}}} \cdot C_{\text{wzorca}} [\text{mg/dL}]$$

$$\mu A = A_2 - A_1$$

obliczyć klirens kreatyniny (CL_{kr}):

$$CL_{kr} = \frac{U_{kr} \cdot V}{P_{kr}} \quad [\text{ml/min}]$$

U_{kr} – stężenie kreatyniny w moczu [mg/dL]

P_{kr} – stężenie kreatyniny w surowicy [mg/dL]

V – objętość minutowa moczu [mL/min] = DZM/1440 min

Obliczyć GFR wg wzoru Cockcrofta-Gaulta i MDRD.

c. Oznaczanie stężenia mocznika w surowicy krwi kinetyczną metodą enzymatyczną

Aparatura i sprzęt laboratoryjny:

- spektrofotometr,
- probówki Eppendorf,
- pipety automatyczne

Materiał badany i odczynniki:

- surowica badana



- surowica kontrolna
- wzorzec mocznika – 50 mg/dL (8,35 mmol/L)
- odczynnik roboczy do oznaczania mocznika (zestaw BioMaxima)

Wykonanie:

- opisać próbki, odmierzyć dokładnie odpowiednie objętości roztworów – jak podano w poniższej tabeli:

	Próba badana	Próba kontrolna	Próba wzorcowa
Odczynnik roboczy	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Surowica badana	10 μ L	-	-
Surowica kontrolna	-	10 μ L	-
Wzorzec	-	-	10 μ L
Dokładnie wymieszać. Po 1 minucie odczytać absorbancję próby badanej (A_{1B}), kontrolnej (A_{1K}) i wzorcowej (A_{1W}) ($\lambda=340$ nm) wobec powietrza.			
Dokładnie po 1 minucie ponownie zmierzyć absorbancję próby badanej (A_{2B}), kontrolnej (A_{2K}) i wzorcowej (A_{2W}) ($\lambda=340$ nm) wobec powietrza.			

Obliczenia:

- obliczyć średnią zmianę absorbancji na minutę ($\Delta A_{B/K/W}/\text{min}$)
- obliczyć stężenie mocznika ze wzoru:

$$\text{stężenie mocznika [mg/dL]} = \frac{\Delta A_{B/K/W}}{\Delta A_W} \cdot \text{stężenie wzorca}$$

8.3 Proces powstawania moczu u człowieka

Uczestnicy ćwiczenia (z wyjątkiem jednego – kontrola) wypijają:

- 1 litr wody destylowanej
- 1 litr 0,9% roztworu NaCl
- 100 ml 5% roztworu NaCl + 900 ml 0,9% roztworu NaCl
- 250 ml Pepsi-coli + 750 ml 0,9% roztworu NaCl

W ciągu 2 h (co 30 minut) uczestnicy ćwiczenia kontrolują objętość i ciężar właściwy wydalanego moczu oraz zapisują otrzymane wyniki w tabeli.



Wyniki:

Przyjęte płyny	Ilość wydalanego moczu w ml				Ciężar właściwy moczu w g/ml			
	minuty doświadczenia				minuty doświadczenia			
	30	60	90	120	30	60	90	120

Każdy ze studentów ma za zadanie obliczyć diurezę u wszystkich uczestników ćwiczenia i przeprowadzić analizę otrzymanych wyników.

8.4 Diureza u człowieka

Mocz ostateczny powstaje w wyniku trzech procesów: filtracji, resorpcji i sekrecji. Proces filtracji zachodzi dzięki temu, iż ciśnienie hydrostatyczne w naczyniach włosowatych kłębuszka (P_c) przewyższa siły przeciwstawiające się temu procesowi, tzn. sumę ciśnienia onkotycznego krwi (π_c) i ciśnienia hydrostatycznego wewnątrz torebki Bowmana (P_t).

Efektywne ciśnienie filtracyjne wylicza się ze wzoru:

$$EFP = P_c - (\pi_c + P_t)$$

Wartość ciśnienia hydrostatycznego w naczyniach włosowatych kłębuszka charakteryzuje się dużą stałością mimo zmian ciśnienia w tętnicy nerkowej dzięki zjawisku autoregulacji przepływu krwi przez nerki.

Wartość ciśnienia onkotycznego krwi zależy od stężenia białek osocza, zwłaszcza frakcji albumin.

Wartość ciśnienia hydrostatycznego wewnątrz torebki Bowmana waha się w zależności od wielkości ciśnienia śródmiąższowego nerek.



Efektywne ciśnienie filtracyjne (EFP) określa wielkość filtracji kłębuszkowej (GFR) a zależność między tymi parametrami określa równanie:

$$GFR = K_f \times EFP$$

gdzie: to złożony współczynnik charakteryzujący przepuszczalność i powierzchnię błony filtracyjnej.

Wielkość filtracji kłębuszkowej ustala się pośrednio określając **klirens inuliny**. Inulina jest polisacharydem, który nie ulega ani resorpcji, ani sekrecji kanalikowej i dlatego zawartość inuliny w ultraprzesączu (up) jest równa jej zawartości w moczu ostatecznym (mocz).

Biorąc pod uwagę, że „zawartość” oznacza iloczyn objętości (V , w $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$) i stężenia (S , w $\text{mg} \cdot \text{min}^{-1}$) możemy zapisać:

$$V_{up} \times S_{up} = V_{mocz} \times S_{mocz}$$

stąd:

$$V_{up} = \frac{V_{mocz} \times S_{mocz}}{S_{up}}$$

Substancje rozpuszczone w wodzie osoczowej (o) (z wyjątkiem białek osocza), filtrowane są bez zmiany stężenia, więc powyższe równanie przybiera postać:

$$V_{up} = \frac{V_{mocz} \times S_{mocz}}{S_o}$$

V_{mocz} , S_{mocz} i S_o można określić mierząc objętość moczu wydzielonego w jednostce czasu oraz stężenie inuliny w moczu i w osoczu. Ze względu na własności inuliny oznaczone w ten sposób V_{up} równe jest wielkości filtracji kłębuszkowej (GFR)

$$V_{mocz} \times S_{mocz}$$

Wyrażenie $\frac{\quad}{S_o}$ określone jest mianem **klirensu (C)**.

S_o

Jest to wskaźnik osocza, który charakteryzuje zdolność nerki do wydalania dowolnej substancji x. Wartość C równa $125 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ oznacza, że nerki wydalają taką ilość substancji x, jaka była zawarta w 125 ml osocza w ciągu 1 minuty.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Zadania:

1. Oblicz wartość EFP, jeśli $P_c = 7,3 \text{ kPa}$, $\pi_c = 3,3 \text{ kPa}$, a $P_t = 2,0 \text{ kPa}$
2. Oblicz objętość przesączu kłębuszkowego na dobę jeśli GFR wynosi $0,8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$