

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr 1

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

VERE VÕTMISE PÕHIMÕTTED

Vere uurimist kasutatakse laialdaselt nii inimeste kui loomade füsioloogilise seisundi hindamiseks.

Suurloomadel (**hobune ja veis**) võetakse verd tavaliselt **kägiveenist** (*v. jugularis*). Veisel võetakse verd veel **saba- või kõhualusest veenist**. Enne vere võtmist tuleb loom korralikult fikseerida. Seda saab teha kas lühidalt kinnisidudes või kasutatakse spetsiaalset suurloomade fikseerimispukki. Vere võtmise koht pügatakse eelnevalt karvadest ja seejärel desinfitseeritakse. Veen komprimeeritakse tsentraalselt ja veeni viidud nõel suunatakse kraniaalselt. Lõpuks surutakse torkekoht kinni steriilse vatiga.

Seal, lambal ja küülikul saab verd võtta kõrvast - **nahaalusest kõrvaveenist** (või selle harudest), mis paikneb kõrvalesta välisel küljel. Veeni täitumist kõrvas soodustab kõrvalesta massaaž. Seal ja lambal on võimalik võtta ka kägiveenist, kuid see on nende loomade puhul juba keerulisem.

Väikeloomadel (**kass, koer**) võetakse verd tavaliselt kas esijäsemel asuvast peamisest veenist (tsefaalveen, *v. cephalica*) või tagajäsemel asuvast **safeenveenist** (*v. saphena*). Samuti on võimalik neilgi loomadel verd võtta ka kägiveenist.

Lindudel võetakse verd **tiivaalusest veenist**. Tiib tõstetakse üles ja veeni kohalt kitkutakse suled. Komprimeerides veeni tsentraalselt tehakse torge. Nahk peab olema torkekohal liikumatu, sest muidu tekib nahaalune verevalum. Kiire hüübivuse tõttu peab lindudel verevõtmine toimuma eriti kiiresti.

Inimesel võetakse verd põhiliselt küünarnuki õndlas asuvast küünra keskpidisest veenist (*v. mediana cubiti*). Varem kasutati laialdaselt vere võtmist sõrme otsast, seda meetodit rakendame meiega oma praktikumides. Kolmanda või neljanda sõrme otsa külgpind desinfitseeritakse. Enne vere võtmist tuleb lasta sõrmeotsal kuivada, kuna niiskel nahal valgub veretilg laiali. Esimene veretilg pärast steriilse nõelaga torget pühitakse ära ja seejärel võetakse veri analüüsiks segistisse. Kapillaari otsa ei tohi otse vastu sõrme suruda, vaid peab asetama õrnalt veretilga vastu 45°-se nurga all. Vajadusel tuleb kätt eelnevalt soojendada või hooga langetada, vere väljavoolu kiirendab ka sõrme kerge massaaž.

VERE HEMOGLOBIINISALDUSE MÄÄRAMINE

Hemoglobiin (Hb) on erütrotsüütide koostisosa, millega seostub üks vere põhifunktsioone - hingamisgaaside (O₂ ja CO₂) transport. Hemoglobiinisaldust on võimalik määrata spektroskoopiliselt (rauasalduse järgi) ja kolorimeetriselt (määrates verevärvniku kontsentratsiooni võrreldes mingi värvistandardiga).

Töövahendid: Sahli hemomeeter, 0,1N e. 0,36% HCl, kapillaarpipett, steriilne nõel, vatt, destilleeritud vesi, piiritus.

Töö käik: Tavamääramine toimub kolorimeetriselt Sahli hemomeetriga. Standardvärvile vastava lahjenduse põhjal saab gradueeritud katseklaasil lugeda Hb sisalduse. Hemomeetri

katseklaasi skaala näitab Hb-sisaldust grammides 100 ml-s veres. Enne verevõtmist tilgutatakse hemomeetri katseklaasi 2 g % märgiseni 0,1N soolhappelahust. Kapillaarpipetti võetakse täpselt 20 μl (mm^3) verd, seejärel asetatakse väljast puhtaks pühitud kapillaar otsapidi ettevaatlikult soolhappelahusesse ja puhutakse veri aeglaselt välja. Kapillaar loputatakse seestpoolt üks kord soolhappega. Veri ja soolhape segatakse ja jäetakse viieks minutiks seisma. Vere hemoglobiin moodustab soolhappega pruuni hematiini, millele lisatakse tilkhaaval vett kuni värvi intensiivsus ühtib kõrvalasuva standardiga. Peale iga tilga lisamist tuleb segu hoolikalt segada. Gradueeritud klaasilt loetakse Hb sisaldus veres. Varem väljendati seda grammprotsentides (g/100ml). Tänapäeval väljendatakse Hb kontsentratsiooni grammides ühe liitri kohta (gr% x 10). **Normväärtused** loomadel 80... 150 g/l. Meestel keskmiselt 158 g/l, naistel 140 g/l. Muutused ja nende põhjused langevad enamasti kokku erütrotsüütide ja hematokriti dünaamikaga.

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr.2

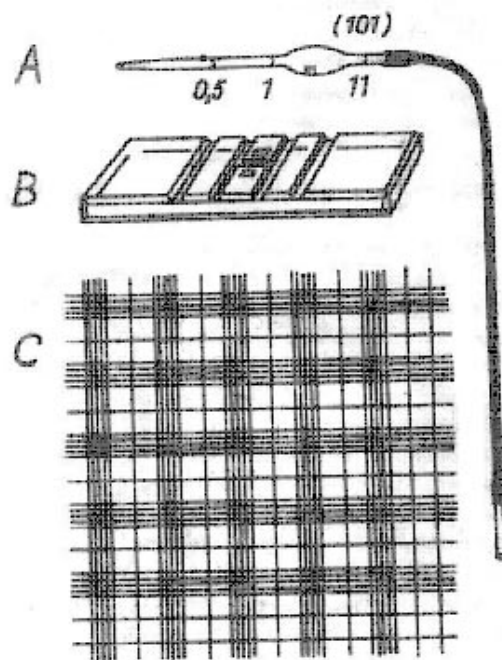
NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

ERÜTROTSÜÜTIDE LOENDAMINE

Erütrotsüütide e. punaliblede arv ühes mm^3 -s veres peegeldab nii vereloomeorganite talitlust kui ka vere hingamisfunktsiooni. Erütrotsüüdid aitavad kaasa toitainete ja metaboliitide kehasisesele transpordile, adsorbeerides neid oma pinnale. Punaliblede ja nendes oleva hemoglobiini sisalduse langemist allapoole füsioloogilist piirväärtust nim. **aneemiaks**. Seda ei loeta iseseisvaks haiguseks, vaid see on rea teiste haiguste sümptomiks.

Töövahendid: mikroskoop, melanzöör (segisti; ampulliosa 101 märgiga), loenduskamber, 1-2%-line NaCl-lahus, destilleeritud vesi, piiritus, steriilne nõel, vatt.

Töö käik: Vere vormelementide arvu määratakse kambrimeetodil visuaalse loendamisega mikroskoobi abil. Esmalt tutvuge loenduskambri ehitusega ja Gorjajevi kambri võrgustiku põhimõtetega (vt. joonis). Vaadeldge võrgustikku mikroskoobiga ja võrrelge allpool toodud skeemiga. Leidke suured ja väikesed ruudud.



Joonis 19. Vahendid vere lahjendamiseks ja vormelementide loendamiseks. A - melanzöör (segisti), B - loenduskamber, C - Gorjajevi võrgustik.

Loenduskambri pinnad ja katteklaas puhastatakse kuiva vatiga. Katteklaas kinnitatakse kahe pöidla abil kambrile kuni "Newtoni rõngaste" ilmumiseni. Verd võetakse kuni märgiseni

"0,5" ja NaCl lahust märgini "101". Ampullis saadakse vere lahjendus 1:200. Pärast vere lahjendamist pööratakse melanžöör horisontaalsesse asendisse ja hoides sõrmede vahel raputatakse intensiivselt 4-5 minutit. Esimesed tilgad segisti kapillaarosast lastakse vatile, seejärel lastakse tilgake kambrikesekeskmisele väljale, sealt tungib lahjendatud veri kapillaarjõu mõjul kambrisse. Vedelik peab katma kogu võrgustiku. Loenduskambris loendatakse punaliblede arv $S(80)$ kokku 80-s väikeses ruudus ja leitakse aritmeetiline keskmine (e). Et kambri kõrgus on 0,1mm ja väikese ruudu külg 1/20mm, siis on väikese ruudu kohal asuv ruumala $1/4000 \text{ mm}^3$. Arvestades vere lahjendust, arvutatakse punaliblede sisaldus 1 mm^3 kohta (E).

$$E = e \times 4000 \times 200 = 800\,000 \times e \text{ ehk } E = S(80) \times 10\,000$$

E vastab erütrotsüütide arvule ühes mikrolitris (μl , mm^3).

$E = S(80) \times 10\,000$, kus $S(80)$ on erütrotsüütide koguarv 80-s väikeses ruudus.

Normi suurusjärg loomadel 5...8 milj/ μl , meestel 5,1 milj/ μl ja naistel 4,6 milj/ μl . Erütrotsüütide arvu vähenemine viitab aneemiale ja vaegtoitumisele, suurenemine kaasneb tavaliselt vee kaotusega (nt. higistamisel).

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr.3

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

ERÜTROTSÜÜTIDE SETTEREAKTSIOONI KIIRUS

Stabiliseeritud vere rakud settivad seisemisel liigist ja organismi seisundist sõltuva kiirusega. Määravaks on rakkude agregatsioon, mis omakorda oleneb nende elektrilaengust, erütrotsüütide arvust, plasma albumiinide ja globuliinide suhtest jm. Kiiresti setib **hobuse** veri, see on nähtav antikoagulantide mittelisamisel isegi enne hüübimise algust. **Erütrotsüütide settereaktsiooni kiirust** (ESK) hinnatakse teatava ajaühiku (inimesel 1 tunni) möödumisel selginenud plasmakihi mõõtmisega. **Mäletsejaliste** ESK on väga aeglane: ööpäevas mõni mm. **Inimese** ESK on normaalselt 3...8 mm tunnis. ESK muutumine, peamiselt kiirenemine, viitab haigusele: aneemiad, nakkus- ja parasitaarhaigused, mädased põletikud, pahaloomulised kasvaja jt.

ESK määramiseks kasutatakse gradueeritud pipetti, milles analüüsitav veri on segatud hüübimist vältiva tsitraadilahusega (1:4). Jättes tsitraatverega kapillaari üheks tunniks vertikaalasendise, loetakse plasmasamba kõrgus mm-des.

Töövahendid: tiigel (või uuriklaas), 5%-line Na-tsitraadilahus, statiiv, kapillaarpipett, steriilne nõel, vatt, piiritus.

Töö käik: Võetakse kapillaarpipett, loputatakse tsitraadilahusega ja pannakse pool kapillaaritäit (märgini "P") tsitraadilahust tiiglisse. Samasse tiiglisse pannakse kaks kapillaaritäit (märgini "K") verd ning segatakse hoolikalt. Tähtis on, et **vere ja tsitraadilahuse vahekord oleks 4:1**. Edasi täidetakse kapillaarpipett saadud tsitraatverega märgini "100" ja asetatakse statiivile vertikaalasendis. Ühe tunni möödudes loetakse, mitu mm on punaliblede sammas langenud. Praktiliselt on võimalik analüüsi teha 2 korda väiksema vere kogusega, s.o. ühe kapillaaritäie verega. Tsitraadilahust tuleb sel juhul samuti võtta poole vähem.

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ NR.6

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

HEMATOKRITI MÄÄRAMINE

Hematokrit (Hmtr) (ingl. k. *packed cell volume* - PCV) näitab vere rakkude (peamiselt punaliblede) protsentuaalset mahtu pärast täielikku tsentrifugimist.

Töövahendid: hematokriti komplekt, tsentrifuug, gradueeritud katseklaasid, hepariini- või tsitraadilahus, steriilne nõel, vatt, piiritus.

Töö käik: Stabiliseeritud verd tsentrifugitakse gradueeritud katseklaasis või erilistes klaasist kapillaarides püsiva rakumahuni. Võetakse punaliblede samba protsent kogumahust. Kasutatakse kapillaaridele kohandatud tsentrifuugi. Kapillaar täidetakse kolmveerandi ulatuses hüübimatuks muudetud verega. Tsentrifugitakse 10 min kiirusega 3000-4000 pöört minutis (kuni vormelementide arv ei vähene (veisel 20-30 min)). Seejärel mõõdetakse punaliblede ja kogu täituvuse sammu ning arvutatakse hematokriti väärtus. **Normväärtused** on enamasti 30 - 45 % piirides; inimesel kõrgemad, loomadel madalamad väärtused. Inimese normväärtused on meestel 44 - 46 % ja naistel 41 - 43 %. Madalamad väärtused viitavad aneemiale, kõrgemad polütsiteemiale.

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ NR 7

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

KALKUREERITAVAD NÄITAJAD: ERÜTROTSÜÜTIDE VÄRVUSINDEKS, KESKMINE HB-SISALDUS JA MAHT

Kasutatakse eelmistes laboritöodes saadud erütrotsüütide arvu, hematokriti ja vere Hb-sisalduse väärtusi:

- **Värvusindeks.** Iseloomustab üksiku punalible keskmist Hb sisaldust võrreldes normiga; peaks **normaalselt** olema lähedane ühega.

$$V_{\text{ind}} = \frac{NEr}{Er} \times \frac{Hb}{NHb}, \text{ kus}$$

NEr - normaalne Er arv (meestel 5,1 milj/μl, naistel 4,6 milj/μl); **Er** - leitud Er arv
NHb - normaalne Hb sisaldus (meestel 158 g/l, naistel 140 g/l); **Hb** - leitud Hb sisaldus

- **Erütrotsüüdi keskmine Hb sisaldus** (ingl. k. *mean corpuscular hemoglobin* - MCH). Arvutatakse pikogrammides (1 pg = 10⁻¹² g; 1l = 10⁶ μl). Inimese **normväärtus** on 26 - 36 pg.

$$Hb_{Er} = Hb(g/l) / Er(milj/\mu l)$$

- **Erütrotsüüdi keskmine maht** (ingl. k. *mean corpuscular volume* - MCV). Inimese **normväärtus** on 90 - 95 fl (femtoliitrit) e. μm³. Arvutatakse järgmiselt:

$$M_{Er} = Hmtr(\%) \times 10 / Er (milj)$$

Tulemused:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr 4

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

LEUKOTSÜÜTIDE LOENDAMINE

Leukotsüütide e. valgeliblede füsioloogiline tähtsus seisneb **kaitsefunktsioonis**, milleks on peamiselt fagotsütoos ja antikehade moodustamine. Leukotsüütide sisaldus veres on küllalt kõikumine ja sõltub vanusest, tööst, toiduvõtmisest, tiinusest, laktatsioonist jne. Leukotsüütide arvu suurenemine veres (**leukotsütoos**) võib olla füsioloogiline, patoloogiline või medikamentoosne. **Füsioloogiline** leukotsütoos esineb näiteks tugeva füüsilise pingutuse korral, enne sünnitust, vastündinutel, erutuse korral, lihtmaoga loomadel pärast söömist jne. **Patoloogiline** leukotsütoos esineb näiteks nakkushaiguste, mürgistuste korral. **Medikamentoosne** leukotsütoos võib esineda pärast mõningate ravimite manustamist.

Suhtelise leukotsütoosi korral on muutunud üksikute valgeliblede vahekord. **Absoluutse leukotsütoosi** korral on suurenenud valgeliblede üldhulk, erinevate leukotsüütide vahekord on jäänud samaks. **Leukopeenia** e. valgeliblede arvu langemine veres võib olla põhjustatud vereloomeorganite talitlust pärssivatest mürgidest, infektsioonist jm. **Leukeemia** on pahaloomuline mõne leukotsüütide alaliigi paljunemine. Veiste leukoosiga kaasneb tavaliselt lümfotsüütide vohamine.

Töövahendid: mikroskoop, loenduskamber, melanžöör (märgisega "11"), Türki lahus (1%-line äädikhappelahus + mõni tilk gentsiaanavioleti lahust), destilleeritud vesi, steriilne nõel, vatt, piiritus.

Töö käik: sarnaneb punaliblede loendamisele (**töö nr. 2**). Verd võetakse melanžööri kapillaaril oleva märgini "0,5" ning Türki lahust märgini "11". Lahjenduseks saadakse 1:20. Lahjendusvedelikus olev äädikhape lahustab punalibled ja gentsiaanaviolett muudab valgeliblede tuumad siniseks. Loendatakse värvustunud tuumad 50-s suures ruudus (suur ruut koosneb 4 x 4 väikesest ruudust). Leukotsüütide arvu 1 mm³ kohta (L) arvutatakse järgmiselt:

$L = l \times 250 \times \text{lahjendus}$, kus l = keskmine leukotsüütide arv ühe suure ruudu kohta.

Lihtsustatult saame valemi:

$L = S(50) \times 100$, kus $S(50)$ on leukotsüütide koguarv 50-s suures ruudus.

Normi suurusjärg inimesel on 4...10 000/μl. Loomade keskmised näitajad: hobune 9000/μl, veis 8000/μl, siga 15 000/μl, koer 9 000/μl ja kass 18 000/μl.

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr.5

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

LEUKOTSÜÜTIDE DIFERENTSEERIMINE JA LEUKOTSÜTAARVALEM

Leukotsütaarvalem (leukogrammi) all mõeldakse leukotsüütide alaliikide protsentuaalset suhet, mis saadakse vere värvitud äigepreparaadi rakkude diferentseerimisega. Rakke eristatakse plasma sõmeruse olemasolu ning selle värvumise, samuti tuuma struktuuri põhjal. Arvestatakse ka plasma ja tuuma eristumise teravust. Kasutatakse tugeva suurendusega õliimmersioonobjektiivi. **Granulotsüütidel** esinevad tsütoplasmas graanulid e. sõmerad. Kui need värvuvad happelise eosiiniga punaseks, siis nimetatakse vastavaid rakke **eosinofiilideks** (1-6% leukotsüütide koguarvust). Nende arvu suurenemine (eosinofiilia) esineb parasitooside, allergia ja mõningate stressifaaside ajal. Sinakate sõmeratega on **basofiilid** (alla 1%). **Neutrofiilidel** (40-75%) värvustub sõmerus vähe ja nende eristamisel pööratakse tähelepanu tuuma kujule. **Noortel vormidel** on tuum ümar või neerukujuline, küpsemise käigus muutuvad murtud kepikujuliseks (**kepptuumalisteks**) ning lõplikul küpsemisel tekivad tuumal sissenõrdumised (**segmenttuumalised granulotsüüdid**). Viimased on aktiivselt liikuvad ja fagotsütoosivõimelised rakud.

Viimased omadused (liikuvus, fagotsütoosivõime) esinevad ka osadel **agranulotsüütidel** (sõmerus puudub) - **monotsüütidel** (2-10%). Arvukalt (mäletsejalistel domineerival) esineb immuunsust tagavaid sõmeruseta selgepiirilisi **lümfotsüüte** (20-45%). Aregu ja toime järgi jagunevad need T ja B rakkudeks.

Töövahendid: mikroskoop, immersiooniõli, äigepreparaadid, klaviatuurülesmärkija, vereatlas.

Töö käik: vere äigepreparaadi uurimisel kasutatakse tugeva suurendusega õliimmersioonobjektiivi. Diferentseeritakse 100 erinevat leukotsüüti. Iga äratuntud (diferentseeritud) leukotsüüt tuleb ära märkida klaviatuuril. Hiljem saab klaviatuurilt lugeda leukotsüütide protsentuaalse jaotuse.

Tulemus:

Granulotsüüdid			Agranulotsüüdid			
Neutrofiilid			Eosinofiilid	Basofiilid	Lümfotsüüdid	Monotsüüdid
noorvormid	kepptuumal.	segm.-tuumal.				

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr 8

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

VERE PH JA PUHVEROMADUSED

Enamik bioloogilisi protsesse loomorganismis kulgeb normaalselt suhteliselt konstantse pH korral. Homöostaasi ühe põhinäitaja, **pH** stabiilsus, on eluprotsesside, eriti ensüümide aktiivsuse eeldus. Mitmesugused happelised ja leeliselised ühendid, mis tekivad ainevahetuses või satuvad organismi toiduga, võivad häirida H^+ - ja OH^- - ionide optimaalset tasakaalu. Rohkem ohustavad pH-d tugevasti dissotsieeruvad happed. Valgumolekulidest pärinev fosfor ja väävel annavad vastavalt fosfor- ja väävelhapet. Paralleelselt lihaste tööga suureneb süsi- ja piimhappe moodustumine. Seedetraktis tekib ja imendub suures koguses käärimishappeid. Leeliselised ühendid satuvad organismi peamiselt taimse toiduga. Paljude haiguslike protsessidega kaasnevad muutused nii hapete ja leeliste moodustumises kui ka nende väljutamises.

Vereplasma pH stabiilsuse tagavad **keemiliselt vere puhversüsteemid** ja **füsioloogiliselt** täiendavad neid **hingamine** ja **neerutalitlus**. Võimsaima, kuid inertse puhvri moodustab hemoglobiin ja teised vere valgud. Kõige operatiivsemalt reageerib karbonaatpuhver. Organism on kaitstud happelise hälbe vastu nn. **leelisreserviga** (peam. karbonaadid ja valgud). **Leelisreserviks** nimetatakse CO_2 hulka, mida vereplasma seob kokkupuutes õhuga, mille **P_{CO_2}** on 40 mmHg (nagu alveolaarõhus). Suletud süsteemis (nt. hingamise ja neerutalitluse lakkamisel) muutuks sisekeskkond vaatamata vere puhveromadustele siiski happeliseks tekkiva süsihappe jt. happeliste metaboliitide kogunemise tõttu eluprotsessides.

Happe-leelisseisundi kliinilised näitajad veres on :

- **pH** ($[H^+]$ negatiivne kümnendlogaritm, pH 7,4 vastab 40 nM H^+ kontsentratsioonile) iseloomustab kvalitatiivselt puhversüsteemide tasakaalu H^+ -ioonide aktiivsuse põhjal.
- **P_{CO_2}** näitab hingamisest sõltuvat süsinikdioksiidi osarõhku, mis omakorda määrab puhvri happelise komponendi H_2CO_3 näol. Arteriaalses veres u. 40 mmHg, venoosses 40...60 mmHg.
- **$[HCO_3^-]$** bikarbonaadi sisaldus, mis on ainevahetusest ja neerutalitlusest ning määrab puhvri aluselise komponendi. Normaalselt 24...28 mM/l. **NB!** Karbonaatpuhvri süsihappe ja bikarbonaadi suhe **1:20** määrab pH **7,4**. Suhte ahenemisel (nt. 1:10) pH langeb 7,1-ni ja tegemist on happelise hälbe e. **atsidoosiga**. Hingamise tõkestumisel tekib see mõne minutiga. Metaboolne atsidoos kaasneb nt. füüsilise pingutuse ja kõhulahtisusega. Suhte laienemise ja pH tõusmise korral on tegemist **alkaloosiga** (nt. söögisooda manustamisel, oksendamisel).
- **BE** (Base Excess, puhveraluste hälve) iseloomustab kvantitatiivselt puhvri aluselist (metaboolset) komponenti. Ideaalsel juhul (pH 7,4) peaks olema null, pluss-väärtused näitavad alkaloosi ja miinus-väärtused atsidoosi sügavust mM/l.

Vereplasma puhveromadusi on võimalik demonstreerida katses, kus lahjendatud vereplasmale (1:10) lisatakse alust või hapet kindla pH hälbeni. **Aluselist** hälvet (pH 9) näitab fenoolftaleiini värvumine **punaseks**, **happelist** (pH 5) metüüloranži muutumine **kollasest punakaks**. Vereplasma puhveromadusi hinnatakse võrreldes veega. Kuna vees puhversüsteemi pole, muutub 10 ml puhta vee reaktsioon aluseliseks (happeliseks) juba ühe tilga aluse (0,1N NaOH) või vastavalt happe (0,1N HCl) lisamisel.

Töövahendid: kolvikesed (või 100-ml keeduklaasid), vereplasma, 1-ml pipett, 10-ml mõõtsilinder, destilleeritud vesi, fenoolftaleiin (1%-line piirituslahus), metüüloranž (1%), 0,1N HCl büretiga, 0,1N NaOH büretiga.

Töö käik:

1. **Vereplasma puhveromadused happe suhtes.** Puhvri tugevust mõõdetakse aktiivse reaktsiooni (pH) muutmiseks kuluva happe hulgaga. **1)** Võetakse klaasike 10 ml dest. vett, lisatakse mõni tilk indikaatori- (metüüloranži) lahust. Tilgutatakse büretist 0,1N HCl kuni roosa värvuse tekkimiseni (tavaliselt piisab ühest tilgast). **2)** Võetakse klaasikesse 1 ml plasmata, lisatakse 9 ml dest. vett. Lisades sama indikaatorit, loetakse mitu tilka happelahust läheb reaktsiooni (pH) happeliseks muutmiseks (indikaatori värvus peab vastama vee puhul tekkinud värvitoonile). Arvestades lahjendust, leitakse mitu korda kulub plasma hapestamiseks hapet rohkem kui vee puhul.
2. **Vereplasma puhveromadused leelise suhtes.** Puhvri tugevust mõõdetakse analoogiliselt, tiitrides leeliselahusega ja kasutades indikaatorina fenoolftaleiini. Tiitritakse tilkhaaval kuni punakas toon püsib vähemalt pool minutit. Mitu korda on plasma leelistamiseks vaja hapet rohkem kui vee pH muutmiseks leeliseks?

Tulemus:

1. **Puhveromadused happe suhtes:**

2. **Puhveromadused leelise suhtes:**

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr 9

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

HEMOLÜÜS JA SEDA PÕHJUSTAVAD TEGURID

Asetades elava koe hüpotoonilisse lahusesse või puhtasse vette, rakud paisuvad ja lõhkevad. Punaliblede lagunemist (**hemolüüsi**) ja Hb vabanemist põhjustavad veel ka **mehhaanilised** tegurid, **rasvu lahustavad ained** (kloroform, ammoniaak jt.), taimsed ja loomsed mürgid (**hemolüsiinid**).

Töövahendid: katseklaasid, statiiv, mõõtepipetid, 0,9% NaCl, 96° etanool, eeter, destilleeritud vesi, kapillaarpipett, steriilne nõel, vatt.

Töö käik:

1. Igasse katseklaasi valada tabelis esitatud järjekorras 4-5 ml keedusoola lahust.
2. Igasse katseklaasi lisada mõni tilk verd.
3. Pärast vere ja NaCl lahuse segamist lisada 3. katseklaasi mõni ml etanooli ja 4. katseklaasi u. 1 ml eetrit.
4. Vere ja lahuse paremaks segunemiseks tuleb kõiki katseklaase kergelt loksutada.
5. Jälgida, millistes katseklaasides hemolüüs tekkis ja millistes mitte.
6. Analüüsida kasutatud lahuste mõju punalibledele, hemolüüsi tekke korral selgitada selle mehhanism.

Tulemus:

Katseklaasi nr.	Lahus 4-5 ml	Hemolüüs	Hemolüüsi põhjus
1.	0,9% NaCl		
2.	dest.vesi		
3.	0,9% NaCl etanooli 4-5ml		
4.	0,9% NaCl eetrit 1-2ml		

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ nr 10

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

ERÜTROTSÜÜTIDE MINIMAALNE JA MAKSIMAALNE OSMORESISTENTSUS

Minimaalset osmootset resistentsust näitab selline soola kontsentratsioon (nt. 0,6 %), kus õrnemad punalibled hemolüüsuvad. Lahus on tervete rakkude esinemise tõttu hägune, tsentrifugaat aga Hb tõttu punakas. Sademe esinemine viitab tervetele rakkudele.

Maksimaalset osmootset resistentsust näitab lahuse kontsentratsioon (nt. 0,4 %), kus kõik punalibled on lüüsunud, lahus on läbipaistev punakas, rakud pole eristatavad, sade puudub. Erütrotsüütide osmootset **resistentsust** (vastupidavust) määratakse vere lisamisega astmeliselt suureneva kontsentratsiooniga (kuni 1%) soolalahustesse.

Töövahendid: veri (stabiliseeritud või defibrineeritud), statiiv katseklaasidega (10 ml), 1% NaCl lahus, destilleeritud vesi, 2-ml pipetid, 0,1-ml pipetid.

Töö käik: Valmistada NaCl-lahused kontsentratsioonis 0,3-0,75% nii, et iga järgneva lahuse kontsentratsiooni oleks 0,5% võrra erinev eelnevast. Lahused valmistada nummerdatud katseklaasidesse, lahjendusi teha järgmise skeemi kohaselt:

Katseklaasi nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1% NaCl (ml)	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5
dest.vesi (ml)	7	6,5	6	5,5	5	4,5	4	3,5	3	2,5
kontsentratsioon (%)	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6	0,65	0,7	0,75
hemolüüs										

Pipetiga lisada igasse katseklaasi (alates kõrgemast kontsentratsioonist) 0,1 ml verd. Katseklaaside sisu segada ja 15 minuti möödudes tsentrifuugida (3 min 2000 pööret min-s).

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

VEREGRUPID INIMESEL JA LOOMADEL ABO-SÜSTEEMI GRUPPIDE MÄÄRAMINE

Kõrgemate loomade (sh. inimese) veregrupid eristuvad **immunoloogiliste** omaduste põhjal, kus vastuseks **antigeeni** (tavaliselt kehavõõra valgu, ka erütrotsüüdi) sattumisele organismi tekivad spetsiifilised, kaitseotstarbelised valgulise ehitusega **antikehad**. Antikehad reageerivad nende teket põhjustanud antigeenidega (nt. bakterid, viirused, kehavõõrad punaliblede jm) mitmel viisil: aglutiniinid põhjustavad antigeensete struktuuride (punaliblede membraani aglutinogeenide) kleepumist, lüsiinid lagundamist (punaliblesid lõhustavad hemolüsiinid), pretsipitiinid - sadestamist jne.

Veregrupi faktorid e. antigeenid on **pärilikud**, eluaegsed ning enamasti multialleelsed. Ühte lookust jagavad alleelid määravad ära veregrupi süsteemi. Kuna **loomadel** on veregrupi süsteeme ja faktoreid palju, siis saab järglase ja ühe vanema faktorite põhjal kindlaks teha teiselt vanemalt, nt. isalt päritud faktorid, mida emal pole. Selline pärinevuse tuvastamine on oluline tõuaretuses. Veistel on teada 12, lambal 8, hobusel 8, seal 15, koeral 8 ja kanal 12 veregruppide süsteemi. Veisel eristatakse näiteks A, B, C, F-V, J, L, M, N, S, Z ja R'-S'-süsteeme.

Produktiivloomade veregrupifaktoreid saab identifitseerida rahvusvahelisele standardile vastavate antikehadega. Antikehade teket provotseeritakse omakorda teatud antigeensete omadustega punaliblede süstimisega.

Inimesel peab veregrupe arvestama kudede ja organite siirdamisel, vere ülekandmisel. Inimese **ABO** süsteemis on kaks antigeeni (A ja B), milliste esinemise põhjal eristub 4 gruppi:

- I e. **0** grupp (Er membraanil antigeensed omadused puuduvad; plasmas α ja β aglutiniinid)
- II e. **A** grupp (Er membraanil A aglutinogeen; plasmas β aglutiniinid)
- III e. **B** grupp (olemas vastavalt B aglutinogeen ja α aglutiniinid)
- IV e. **AB** grupp (esinevad A ja B aglutinogeenid, plasma aglutiniinid puuduvad)

ABO süsteemi iseärasuseks on aglutiniinide sünnipärane esinemine. Teistel süsteemidel moodustuvad nad alles pärast võõrfaktoritega vere ülekandmist (nt. inimesel reesusüsteem, loomade süsteemid). ABO süsteemi on kerge määrata veretilgast, kui on olemas teatud aglutiniinidega plasma e. nn. **testseerumid**.

Kui punaliblede kleepuvad anti-A seerumis, on tegemist A grupiga, aglutinatsiooni esinemisel anti-B seerumis on testitav veri B grupist, reaktsiooni tekkel aga nii anti-A kui anti-B seerumis kuulub veri AB gruppi. Aglutinatsiooni puudumine mõlemas seerumis kinnitab 0 veregruppi.

Töövahendid: esemeklaasid, testseerumid (anti-A ja anti-B), steriilne nõel, vatt, piiritus.

Töö käik: esemeklaasile kantakse tilgake kummastki testseerumist. Kummagi seerumitilga kõrvale kantakse sõrme torkehaavast väike tilgake verd (u. 1/3 seerumitilga kogusest). Tilgakeste paarid segatakse. Mõne minuti pärast hinnatakse aglutinatsioonireaktsiooni teket.

Tulemus:

Järeldus:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri

FÜSIOLOOGIA LABORITÖÖ NR. 12

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

MEMBRAANIPOTENTSIAAL. AKTSIOONIPOTENTSIAAL

1. Raku ehitus. Tuletame meelde raku põhilisi struktuure: plasmamembraan, tuum, mitokondrid, ribosoomid, endoplasmaatiline retiikulum, lüsoosoomid, tsütoskelett. Abivahendiks ja illustratiivseks materjaliks ONLine Biology Book, <http://gened.emc.maricopa.edu/Bio/BIO181/BIOBK/BioBookCELL2.html>
2. Elektrolüütide sisaldused rakus ja ekstratsellulaarruumis.
3. Vetphysiology: Nervous system, alateema: Basic processes of excitable tissues (membraanipotentsiaali kujunemine, AP alaosad ja tekke tingimused, AP levik, summatsioon, adaptatsioon)
4. SimNerv: demo
5. Näide jõu-aja kõvera koostamisest, mõisted: kasulik aeg, reobaas, kronaksia

Küsimused seminariks:

- 1) loomaraku membraanide ehituse põhiprintsiibid
- 2) elektrolüütide sisalduse põhierinevused intra- ja ekstratsellulaarruumis
- 3) MP tekkepõhjused
- 4) AP mõiste ja tekke tingimused
- 5) AP alaosad
- 6) Membraanikanalite seisundid AP alaosade ajal
- 7) AP leviku viisid närvikiu membraanil
- 8) Mediaatoraine mõiste ja sünteesikoht olenevalt keemilisest iseloomust

Läbi lugeda peatükid:

J.G. Cunningham. Textbook of Veterinary Physiology. – Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002.

The Neuron.

The Neuromuscular Synapse.

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

LIHASKONTRAKTSIOONI MEHCHANISM. LIHASKONTRAKTSIOONI SÕLTUVUS ÄRRITAJA TUGEVUSEST JA ÄRRITUSSAGEDUSEST.

Vöötlihaskude koosneb vöötlihaskiududest, mis on 1-340 mm pikkused ja 10-80 µm läbimõõduga. Iga lihaskiu sarkoplasmas on tuhandeid kontraktsioonivõimelisi **müofibrille**. Mikroskoobis on näha müofibrillidel paiknevad heledamad ja tumedamad vöödid e. diskid.

Heledad I-diskid koosnevad suure polümeerse valgu **aktiini** filamentidest, hele värvus on tingitud nende valguskiiri ühesuunaliselt murdvast omadusest. Tumedad A-diskid koosnevad **müosiini** filamentidest, mis murravad valguskiiri 2 eri suunas. Heleda diski keskel on tume Z-joon. Kahe Z-joone vahelist ala nimetatakse **sarkomeeriks**, see on müofibrilli ehituslik ja talituslik üksus.

Kui lihas kontraheerub, siis sarkomeerid lühenevad I-diski arvel, sest aktiinifilamendid liiguvad müosiinifilamentide vahele moodustuvate ristsillakeste abil. Kontraktsiooniks vajalik energia saadakse ATP lagundamisel.

Lihaskude reageerib kontraktsiooniga nii otsesele ärritusele (mehhaaniline, termiline, keemiline, elektriline) kui ka närviimpulsile. Viimane toimib neuromuskulaarse sünapsi kaudu.

Lihaskontraktsiooni mehhanism:

1. Kesknärvisüsteemist tulev signaal ja selle ülekanne AP näol neuromuskulaarses sünapsis või AP teke lihaskiu otsesel ärritamisel.
2. AP teke ja levik lihaskiu membraanil ja sisemisele sarkoplasmaatilisele retiikulumile, Ca⁺⁺ vabanemine sarkoplasmaatilisest retiikulumist.
3. Ca⁺⁺ aktiveerib aktiini müosiiniga seostumiskohad.
4. Toimub aktiini ja müosiiniidikeste omavaheline "libisemine" ristsillakeste abil ja müofibrillid kontraheeruvad.
5. ATP energia arvel toimub aktiini ja müosiini lahtihaakumine.
6. Käivitub Ca-pump, mis viib Ca tagasi sarkoplasmaatilise retiikulumi torukestesse.
7. Lihaskiu lõtvub.

Üksik lihaskiu kontraheerub alati maksimaalse tugevusega. Terve lihase kontraktsiooni tugevus oleneb sellest, kui paljudele lihaskiududele korruga saabub signaal kesknärvisüsteemist ja kui suure sagedusega signaalid saavad. Lihase kui terviku kontraktsiooni sujuvus saavutatakse üksikute kiudude asünkroonse kontraktsiooni abil.

Lihaskiu saab tööks vajaliku ATP peamiselt süsivesikute ainevahetusest. ATP kiireks taastamiseks kasutatakse kreatiinfosfaati: $PC + ADP \leftrightarrow ATP + C$. Suurem osa ATP-st saadakse oksüdatiivse fosforüülimise käigus. Kui lihaskiududes hapnikku ei jätku, toimub anaeroobne glükolüüs, mille käigus glükoos ja glükogeen lagundatakse piimhappeni. Lihastesse kogunenud piimhape põhjustab lihasvalusid.

Toitainete keemilisest energiast muutub lihases tööks 20-35%, ülejäänud hajub soojusena. Mida intensiivsem on töö, seda suurem on ka soojuse produktsioon.

Skeletilihase kontraktsiooni vormid:

1. Isotooniline – lihas lüheneb, kuid lihase toonus (lihasesisene pinge) ei muutu.
2. Isomeetiline – tõuseb lihasesisene pinge, kuid lihas ei lühene.
3. Auksotooniline – toimub nii kontraktsioon kui ka toonuse muutus. Iseloomulik enamikele lihaskontraktsioonidele organismis.

Ka puhkeolekus pole lihased täiesti lõtvunud. Põhjuseks on gravitatsioonijõud, mille mõjul on lihased alati veidi venitatud olekus, põhjustades proprioretseptorite ärrituse. Sellele vastuseks saavad selja- ja peajast lihaskiududesse signaalid, mis hoiavadki lihase toonuses.

Lihase kontraktsiooni tugevus sõltub ärritussagedusest. Väikese sageduse puhul järgneb igale lihaskiu kontraktsioonile lõtvumine. Ärrituste sazenedes täielikku lõtvumist enam ei toimu, sest Ca^{++} ei jõuta sarkoplasmaatilisse retiikulumi täielikult tagasi pumbata, sellist graafilist osa elektromüogrammil nimetatakse sakiliseks teetanuseks. Kui ärrituste intervall on väiksem kui 0,05 s (20Hz), siis tekib täielik e. sile teetanus, s.t. lihas ei lõtvu. Väga suurte ärritussageduste puhul ei teki kontraktsiooni praktiliselt üldse, sest iga järgmine ärritus langeb eelmise refraktaarsusperioodi.

Närv-lihaspreparaadi valmistamine.

Lihaskontraktsiooni iseloomu sõltuvus ärritaja tugevusest ja sagedusest

Eksperimenti kirjeldatakse videofilmi põhjal.

Katse objekt:

Töövahendid:

Katse käik:

- 1) närv-lihaspreparaadi valmistamine
- 2) lihaskontraktsiooni iseloomu uurimine

Katse tulemused ja seletus:

Järeldused:

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri:

NIMI
RÜHM
KUUPÄEV

REFLEKSIKAAR. REFLEKSIDE NÄITEID LOOMADEL

Refleksiks nimetatakse närvikoe vahendusel toimuvat tahtest sõltumatut organismi vastust ärritusele. Refleksid on geneetiliselt programmeeritud ja on välja arenenud sünnimomendist peale. Kõik refleksid ei avaldu kohe, vaid on seotud organismi arengu erinevate etappidega. Näiteks sugurefleksid avalduvad alles suguküpsuse saabudes.

Tee, mida mööda kulgeb refleksipuhune erutuslaine, moodustab **refleksikaare**. **Refleksikaar** koosneb viiest põhikomponendist:

1. Retseptor.

Retseptorid võtavad vastu välis- või sisekeskkonnast pärit ärrituse ja muudavad selle energia aktsioonipotentsiaaliks. Tekkinud AP-d kulgevad aferentset juhteteed (sensorset närvi) mööda sagedusega, mis on proportsionaalne ärrituse tugevusele.

2. Aferentne e. sensoorne närv.

Kannab AP-d retseptorilt kesknärvisüsteemi, siseneb seljaajju dorsaalsete juurte kaudu.

3. Sünaps refleksikeskuses kesknärvisüsteemis.

Vaid vähesed refleksid on monosünaptilised, enamasti eksisteerib mitu vaheneuronit ja seega ka mitu sünapsit.

4. Eferentne e. motoorne närv.

Kannab AP kesknärvisüsteemist sihtorganisse (efektorisse), väljub seljaajust ventraalsete juurte kaudu.

5. Efektor e. sihtorgan.

Selleks on skeleti- või silelihas või näär, mis reageerib vastavalt refleksile.

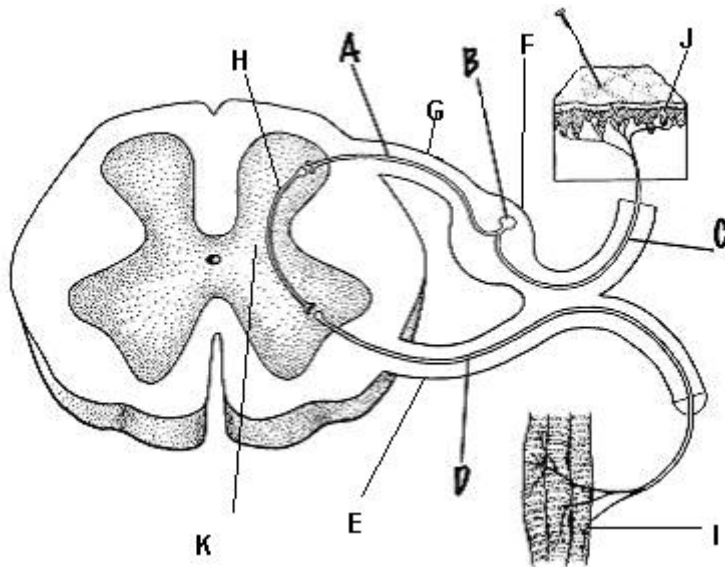
Vastavalt sellele, mitu sünapsit on aferentse ja eferentse neuroni vahel, saame eristada monosünaptilisi (ühe sünapsiga) ja polüsünaptilisi (üks või rohkem vaheneuron) reflekse. Monosünaptilise refleksi näiteks on lihaste venitusrefleks: lihaskiu väljavenimisele järgneb reflektorselt kontraktsioon. Patellaarrefleks hobusel, koeral ja inimesel: löök põlvekedra sirgsidemele põhjustab põlveliigese järsku sirutust. Viimast vaata veebilehel:

<http://www.dushkin.com/connectext/psy/ch02/spinal.mhtml>

Polüsünaptiline on näiteks äratõmbamisrefleks vastuseks naha või lihase valuretseptorite, kuuma- või külmaretseptorite ärritamisele.

Reflekside näited loomadel: vaata Veterinary Physiology CD

Kontrollküsimused:



1. Mida tähistavad tähed A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K joonisel?

Vastuste variandid: sensoorse neuroni keha, sensoorse neuroni akson, sensoorse neuroni dendriit, motoorse neuroni akson, ventraalne juur, dorsaalne juur, dorsaalse juure ganglion, retseptor, efektor, vahaneuron, refleksikeskus.

2. Milline viiest refleksikaare põhikomponendist reageerib ärritusele?
3. Milline viiest refleksikaare põhikomponendist juhib impulsi KNS-i?
4. Milline viiest refleksikaare põhikomponendist juhib impulsi KNS-st efektorini?
5. Milline viiest refleksikaare põhikomponendist reageerib spetsiifilise vastusega ärritusele?

Üliõpilase allkiri:

Õppejõu allkiri: