



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Ветеринарска физиологија 1 и 2 - Практикум

Доц. др Зоран Ружић
Проф. др Зденко Каначки





Ветеринарска физиологија 1 и 2 - Практикум

Доц. др Зоран Ружић

Проф. др Зденко Каначки



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
ДЕПАРТАМАН ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ

Нови Сад, 2024.

ЕДИЦИЈА ПОМОЋНИ УЏБЕНИК

Оснивач и издавач едиције

*Пољопривредни факултет, Нови Сад,
Трг Доситеја Обрадовића 8, 2100 Нови Сад*

**Година оснивања
1954.**

Главни и одговорни уредник едиције

*Др Недељко Тица, редовни професор.
Декан пољопривредног факултета.*

Чланови комисије за издавачку делатност

др Бранислав Влаховић, редовни професор - председник
др Ивана Давидов, редовни професор – члан
др Дејан Беуковић, доцент - члан
др Ксенија Мачкић, доцент - члан

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотека Матице српске, Нови Сад

591.1(075.8)(076)

РУЖИЋ, Зоран, 1991-

Ветеринарска физиологија 1 и 2 - Практикум / Зоран Ружић, Зденко Каначки
- Нови Сад : Пољопривредни факултет, 2024 (Ниш: Графика Галеб) . - 200 стр.
: илустр. ; 30 см. - (Едиција Помоћни уџбеник)

Тираж 20. – Библиографија.

ISBN 978-86-7520-612-5

1. Каначки, Зденко, 1977- [аутор]

а) Ветеринарска физиологија

COBISS.SR-ID 153058569

Аутори
др Зоран Ружић, доцент
др Зденко Каначки, редовни професор

Главни и одговорни уредник
др Недељко Тица, редовни професор
Декан Пољопривредног факултета у Новом Саду

Уредник
др Иван Станчић, редовни професор
Директор Департмана за ветеринарску медицину
Пољопривредни факултет у Новом Саду

Технички уредник
др Зоран Ружић

Лектор
др мед. Андреа Ружић

Рецензенти
др Слободан Стојановић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

др Марко Цинцовић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

Др Смиљана Параш, ванредни професор
Универзитет у Бањој Луци, Природно-математички факултет

Издавач
Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет Нови Сад

Забрањено прештампавање и фотокопирање. Сва права задржава издавач.

Штампа: Графика Галеб доо, Ниш

Штампање одобрио: Комисија за издавачку делатност,
Пољопривредни факултет Нови Сад.

Тираж: 20 примерака

Место и година штампања: Ниш, 2024

ISBN 978-86-7520-612-5

ПРЕДГОВОР

Физиологија спада у биолошке науке и проучава појаве и процесе који се дешавају у живим бићима. Ветеринарска физиологија је, истовремено, и медицинска наука. Упознавањем и проучавањем функција здравих организама она омогућава да се открију и објасне поремећаји тих функција за време болести. Као биолошка и медицинска наука, физиологија је блиско повезана са многим другим природним наукама, а посебно са морфологијом (анатомијом и хистологијом). У организму су облици и функције узајамно зависни и чине једну јединствену морфо-функционалну целину.

Ветеринарска физиологија је од изузетног значаја за све практично-апликативне и научне аспекте ветеринарске медицине. Просто посматрање појава и функција у организму често није довољно за њихово потпуно објашњење, па је из тог разлога физиологија изразито експериментална наука. Предуслов за свако успешно бављење експерименталним радом је добро познавање како већ познатих научних чињеница из одговарајуће области, тако и метода и технике којом су оне експериментално проверене и доказане. Експерименти се изводе на огледним животињама или њиховим изолованим органима и ткивима. Међутим, од изузетног је значаја поштовање етичких и законских норми при извођењу оваквих огледа. Из овог разлога је извођење ових вежби предвиђено уз коришћење алтернативних метода (модела).

Настава из Ветеринарске физиологије 1 и 2, за студенте ветеринарске медицине, је подељена на органске системе. Међутим, треба напоменути да се сви процеси у организму међусобно интегришу у једну, јединствену целину и само се као такви могу у потпуности сагледати и разумети. Овај практикум је, пре свега, намењен студентима студијског програма Ветеринарске медицине, али га могу користити и студенти сродних студијских програма. Поред њих, њега могу користити и стручњаци из ових области, као подсетник у свакодневном раду.

Нови Сад, 2024. године.

Аутори

САДРЖАЈ

1.0 Транспорт материја кроз ћелијску мембрану.....	1
1.1 Дифузија боје у агару.....	3
1.2 Посматрање еритроцита у растворима различите осмотске концентрације	4
2.0 Физиологија крви.....	5
2.1 Узимање крви	6
2.2 Антикоагуланси и спречавање коагулације	7
2.3 Добијање крвне плазме и крвног серума	8
2.4 Одређивање хематокритске вредности	11
2.5 Бројање еритроцита.....	13
2.6 Бројање ретикулоцита.....	20
2.7 Одређивање концентрације хемоглобина.....	21
2.8 Хематолошки индекси	25
2.9 <i>Teichmannovi</i> кристали (Хлорхемин кристали)	29
2.10 Седиментација еритроцита.....	29
2.11 Хемолиза	31
2.12 Одређивање осмотске резистенције еритроцита.....	33
2.13 Бројање леукоцита	35
2.14 Леукоцитарна формула (Диференцијална крвна слика)	39
2.15 Бројање тромбоцита.....	44
2.16 Време крварења	46
2.17 Време коагулације.....	47
2.18 Доказ значаја јона Са за коагулацију крви	49
2.19 Одређивање протромбинског времена.....	49
2.20 Ретракција коагулума.....	51
2.21 Аутоматско бројање крвних ћелија	52
3.0 Физиологија имунитета.....	53
3.1 Хемолиза изазвана утицајем серума друге животињске врсте (серолошка хемолиза).....	53
3.2 Одређивање крвних група	54
4.0 Физиологија кардиоваскуларног система	60
4.1 Наркоза жабе.....	62
4.2 Посматрање крвотока у покожици за пливање и језику жабе	63

4.3 Припрема препарата жабљег срца <i>in situ</i>	65
4.4 Утицај температуре на фреквенцију срчаног рада	66
4.5 Станијусове лигатуре	68
4.6 Утицај дражења <i>nervus vagusa</i> на рад срца	69
4.7 Рефрактарност срчаног мишића и екстрасистола	71
4.8 Препарација жабљег срца на Штраубову канилу	72
4.9 Испитивање утицаја повећане концентрације јона калијума и јона калцијума на рад изолованог срца жабе	73
4.10 Утицај адреналина и ацетилхолина на рад изолованог срца жабе	75
4.11 Аускултација срчаних тонова	76
4.12 Систолни и минутни волумен	77
4.13 Пулс (<i>bilo</i>)	79
4.14 Мерење крвног притиска	81
4.15 Регистровање биоелектричних струја срца	84
5.0 Физиологија респираторног система	89
5.1 Улога дијафрагме у механици дисања (Дондерсов оглед)	90
5.2 Одређивање промена интерплеуралног притиска током дисања	92
5.3 Одређивање плућних волумена и капацитета-спирометрија	93
5.4 Пнеумографија	96
5.5 Пулсна оксиметрија	98
5.6 Аускултација дисајних шума	99
5.7 Присуство CO ₂ у издахнутом ваздуху	100
6.0 Физиологија мишића и периферних нерава	102
6.1 Препарација галваноскопске ноге, неуромишићног и мишићног препарата	103
6.2 Директно и индиректно дражење мишића	107
6.3 Проста мишићна контракција	108
6.4 Минимална и максимална мишићна контракција	109
6.5 Сложена мишићна контракција – тетанус	111
6.6 Секундарна мишићна контракција	112
6.7 Растегљивост и еластичност мишића	113
6.8 Одређивање мишићне јачине	114
7.0 Физиологија варења и метаболизам	117
7.1 Испитивање пљувачке	118
7.2 Испитивање садржаја бурага	122

7.3 Варење у једнокоморном желуцу	128
7.4 Варење у танком цреву	133
7.5 Физиологија јетре.....	140
8.0 Физиологија екскреције и биланс воде и електролита.....	149
8.1 Општи подаци о узорку мокраће	152
8.2 Физичке особине мокраће	152
8.3 Физичко-хемијске особине мокраће.....	153
8.4 Хемијски састојци мокраће	155
8.5 Микроскопски преглед мокраће	158
8.6 Испитивање диурезе пацова након оптерећења водом – ефекти адиуретина	158
8.7 Клиренс плазме.....	162
9.0 Енергетски биланс и терморегулација.....	164
9.1 Термогенетски напор	167
10.0 Физиологија ендокриног система	169
10.1 Физиологија ендокриног панкреаса	172
10.2 Ендокрина регулација калцемије.....	174
11.0 Физиологија централног нервног система (ЦНС)	176
11.1 Испитивање неких клинички важнијих рефлекса код сисара	178
11.2 Рефлекси спиналне жабе	181
11.3 Утицај ацетилхолина, адреналина и атропина на пупиларни отвор жабе....	190
11.4 Испитивање функција малог мозга	191
12.0 Физиологија чула	194
Литература.....	200

1.0 Транспорт материја кроз ћелијску мембрану

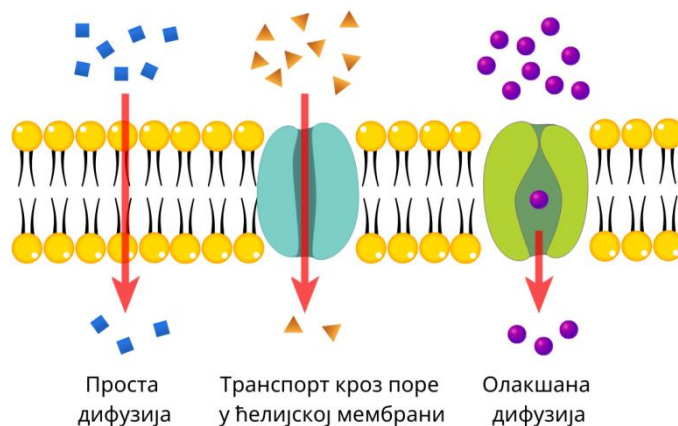
Селективно пропустљива ћелијска мембрана грађена је од липидног двослоја у којем су распоређени велики молекули протеина. Пренос материја кроз ћелијску мембрану одвија се на два основна начина: *пасивни транспорт* (дифузија и филтрација) и *активни транспорт* (примарни и секундарни).

✓ Пасивни транспорт

Два су начина пасивног преноса материја кроз мембрану: *дифузија* и *филтрација*. Промет материја кроз полупропустљиву мембрану назива се једноставна дифузија. Дифузија је кретање молекула и јона са подручја веће у подручје мање концентрације, а последица је постојања концентрацијског градијента (разлика у концентрацији). Молекули пасивно дифундују ако су: довољно мали да прођу кроз поре на ћелијској мембрани или ако су растворљиви у липидном двослоју. Дифузија воде кроз полупропусну мембрану назива се *осмоза*.

Филтрација је кретање воде и растворених материја кроз ћелијску мембрану услед дејства хидростатског притиска (разлике у хидростатским притисцима са обе стране ћелијске мембране). На филтрацију воде утиче и колоидоосмотски притисак (онкотски притисак) протеина крвне плазме.

Молекули нерастворљиви у липидном двослоју или превелики да би прошли кроз поре мембране преносе се пасивним транспортом који називамо *олакшана дифузија*. Олакшана дифузија се одвија уз помоћ специфичног протеина носача.

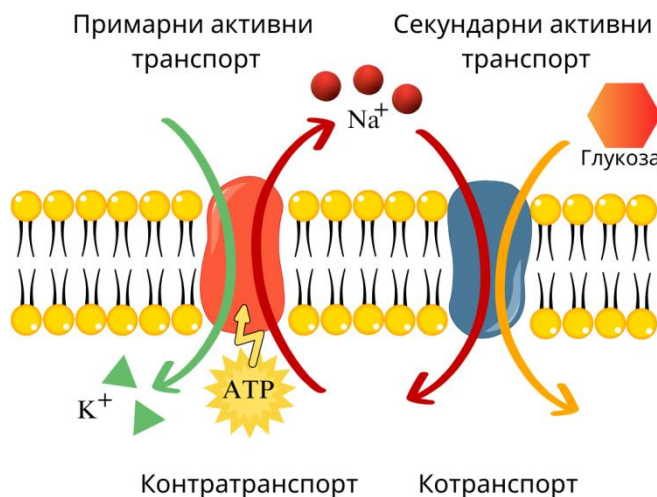


Слика 1.1: Пасивни транспорт материја на нивоу ћелијске мембране

✓ Активни транспорт

Пренос материја са подручја ниже концентрације у подручје више уз помоћ енергије и протеинских носача означава се као активни транспорт. Активни транспорт, обзиром на извор енергије која се употребљава приликом преноса, делимо на: *примарни* и *секундарни активни транспорт*. У примарном активном транспорту енергија потиче директно из разградње АТФ-а или неког другог енергијом богатог фосфатног једињења (нпр. Na^+/K^+ пумпа).

У секундарном активном транспорту, енергија потиче од јонског концентрацијског градијента створеног примарним активним транспортом. Na^+ и транспортована супстанца могу да се крећу у истом правцу ка унутрашњости ћелије - *котранспорт*. Други вид транспорта је да се Na^+ креће ка унутрашњости ћелије, а друга супстанца се из ћелије пребацује у екстрацелуларну течност – *контратранспорт*.



Слика 1.2: Активни транспорт материја на нивоу ћелијске мембране

Макромолекули као што су протеини, полисахариди, полинуклеотиди или чак читаве ћелије (нпр. бактерије) не могу пролазити кроз мембрану ни пасивним ни активним транспортом. Уношење и излучивање великих молекула обавља се активним учешћем мембране при чему она образује везикуле, а процеси се називају *ендоцитоза* и *егзоцитоза*. Процес уношења макромолекула и раствора у ћелију назива се *ендоцитоза*, док се избацивање специфичних производа ћелије или неких других материја у ванћелијску средину назива *егзоцитоза*.

Уношење крупних честица је *фагоцитоза* (грч. *phagein* = јести), а растворених материја је *пиноцитоза* (грч. *pine* = пити). Док скоро све врсте ћелија непрекидно уносе течности и растворене молекуле пиноцитозом, фагоцитозу могу да врше само посебне ћелије - фагоцити (нпр. леукоцити врше фагоцитозу бактерија). Ендоцитоза посредована рецептором врши се препознавањем одређеног молекула и формирањем везикула која у унутрашњост ћелије пропушта само те молекуле.

Процесом егзоцитозе у ванћелијску средину доспевају материје које ћелија треба да излучи (супротно ендоцитози). Пример за овакве материје су хормони и ензими чија се функција испољава изван ћелије која их је синтетисала, као што нпр. ћелије панкреаса излучују инсулин. Око материје, која треба да се избаци из ћелије, се образује везикула. Везикула се креће ка површини ћелије, њена мембрана се уједињује са ћелијском мембраном, а садржај везикуле бива избачен у околну средину.

Сматра се да су многим врстама ћелија ендоцитоза и егзоцитоза међусобно повезани процеси и да на тај начин уграђивање мембране везикуле не доводи до повећања површине ћелијске мембране. Везикуле представљају транспортни систем и у самој ћелији тако што се преносе између различитих органела.

1.1 Дифузија боје у агару

Степен дифузије растворене супстанце из једне средине у другу зависи од више параметара. Степен дифузије је већи уколико је већа разлика у концентрацијама, а молекулска маса и пречник молекула мањи. Брзина дифузије је, такође, већа што је површина пресека кроз који се дифузија одвија већа, а удаљеност краћа.

Однос између молекуларне масе и брзине дифузије може се једноставно испитати посматрањем дифузије молекула боје у агару. Боје које се користе у овом огледу су метиленско плаво, чија је молекуларна маса 320 g/mol, и калијум перманганат, љубичаста боја молекуларне масе 158 g/mol. Агар садржи 98,5% воде и омогућава слободно кретање и дифузију молекула боје.

ЗАДАТАК: Одредити брзину дифузије боја калијум перманганата и метиленског плавог у 1,5% агару.

МАТЕРИЈАЛ: Предметно стакло, 1,5% агар, калијум перманганат, метиленско плаво, лабораторијски сат, помично мерило.

ИЗВОЂЕЊЕ: На предметно стакло излити 1,5% агар. Са једне стране предметног стакла, центиметар од руба, ставити кристал метиленског плавог, а са друге кристал калијум перманганата и забележити време. Након 30 минута измерити помичним мерилом колико далеко је свака боја дифундовала од кристала.

Израчунати брзину дифузије по следећој формули:

$$\text{Брзина дифузије (mm/min)} = \text{даљина дифузије (mm)} / 30 \text{ min.}$$

ПРОСТОР ЗА РАД:

Даљина дифузије (метиленског плавог) =

Брзина дифузије (метиленског плавог) =

Даљина дифузије (калијум перманганата) =

Брзина дифузије (калијум перманганата) =

ЗАКЉУЧАК:

1.2 Посматрање еритроцита у растворима различите осмотске концентрације

Осмотска концентрација зависи од броја честица у раствору. На пример 1М раствор недисоцирајућег једињења, као што је глукоза, има осмотску концентрацију од 1 Osmol. Осмотска концентрација 1М раствор NaCl је 2 Osmol, а 1М раствора Na₂SO₄ је 3 Osmol. За крвну плазму, односно интрацелуларну течност, важе ове константе:

Моларитет = 0,15 М

Осмотска концентрација = 0,30 Osmol = 300 mOsmol

Осмотски притисак = 6,72 atm = 5107 mm Hg (према дест. води)

У случају физиолошког раствора (0,9%, или прецизније 0,89% NaCl), осмотска концентрација раствора је 0,15 М x 2 = 0,3 Osmol. Физиолошки раствор има исту осмотску концентрацију као крвна плазма па се означава као *изотонични раствор*. Нето дифузија воде (у оба смера) код еритроцита у изотоничном раствору је једнака 0, односно иста количина воде уђе и изађе из еритроцита.

Еритроцити стављени у *хипертонични раствор* (NaCl више од 0,9%) отпуштају (губе) воду и запремина им се смањује, а мембрана постаје наборана и смежурана. У *хипотоничном раствору* (NaCl мање од 0,9%) вода улази у еритроците који бубре и, у зависности од степена хипотоничности, може доћи и до пуцања ћелијске мембране - *хемолIZE* еритроцита.

ЗАДАТАК: Посматрати промену еритроцита у растворима различите осмотске концентрације.

МАТЕРИЈАЛ: Три предметна стакла, 3,6% NaCl, 0,9% NaCl (физиолошки раствор), 0,4% NaCl, микроскоп, крв (у којој је спречена коагулација).

ИЗВОЂЕЊЕ: На свако од три предметна стакла ставити по једну кап 3,6%, 0,9% и 0,4% раствора NaCl. У сваку од капи додати по кап крви и промешати стакленим штапићем. Ставити покровно стакалце и посматрати под великим увећањем микроскопа (објектив 40X). Констатовати промену величине и облика еритроцита.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. предметно стакло:

2. предметно стакло:

3. предметно стакло:

ЗАКЉУЧАК:

2.0 Физиологија крви

Крв је течна везивно ткиво које, захваљујући сталном раду срца током живота, кружи – протиче у затвореном систему крвних судова. Код домаћих животиња се уопштено може узети да на запремину (волумен) крви отпада од 6% до 10% од укупне телесне масе животиње. Количина крви варира у зависности од животињске врсте и физиолошког стања организма и најчешће се изражава у запреминским процентима (ml/100g телесне масе). Термини којима се описује варирање количине крви у организму су:

- ✓ *нормоволемија* – нормална количина крви,
- ✓ *хиперволемија* – повећана количина крви и
- ✓ *хиповолемија (олигемија)* – смањена количина крви.

Запремина крви у организму се може одредити директном или индиректном методом. Директна метода подразумева искрварење животиње и испирање крвних судова и уситњених органа физиолошким раствором, те прерачунавање запремине на основу познате концентрације хемоглобина у крви. Индиректне методе се заснивају на одређивању запремине крвне плазме или еритроцита (на основу дилуционе методе) и прерачунавањем на основу познате хематокритске вредности (запремински проценат еритроцита у крви).

Крв је вискозна, непровидна телесна течност светлоцрвене боје (пореклом из артерије) или је боје труле вишње (пореклом из венског крвног суда), слабо алкалне електрохемијске реакције (pH 7,35-7,45). Њу чине течни и корпускуларни (ћелијски) део. Течни део крви представља крвна плазма у којој су суспендовани уобличени елементи (крвне ћелије) – еритроцити, леукоцити и тромбоцити.

Убрзо након повреде ткива и оштећења крвног суда, или узимања крви пункцијом крвног суда и контакта са страном површином (повређено ткиво, стакло, ваздух и друго), крв се згушава и из течног стања прелази у желатинозну масу. Згушавање или коагулација крви има виталан значај и представља сложени биохемијски процес у којем учествује читав низ фактора крвне плазме, оштећеног ткива и тромбоцита, а крајњи резултат је претварање растворљиве беланчевине фибриногена у нерастворљиви фибрин, са коначним циљем да се створи крвни угушак који ће затворити отвор на крвном суду. Касније се крвни угушак стабилизује, ретрахује и истискује се крвни серум.

Кружећи кроз све делове организма и допирући до сваке ћелије организма, крв као јединствен орган и јединствена недељива целина обавља следеће важне функције:

- ✓ преносилачка (транспортна) улога,
- ✓ улога у одржавању динамичке равнотеже унутрашње средине (хомеостазе),
- ✓ улога у хуморалној корелацији,

- ✓ улога у терморегулацији,
- ✓ одбрамбена улога.

Физичко-хемијске особине крви, њен биохемијски састав, као и бројност и морфолошке карактеристике уобличених елемената крви су код здравих животиња релативно константни и варирају у зависности од врсте животиња и функционалног стања организма. С обзиром на веома важне функције крви и њен стални контакт са свим ткивима и органима, у клиничкој пракси се испитивању састава и особина крви даје велики значај. У случајевима када се жели испитати да ли је животиња здрава или болесна, подаци добијени лабораторијском анализом крви имају значајан удео у постављању тачне дијагнозе и избору превентивних и терапијских мера.

Биохемијски састав пуне крви као главне телесне течности је веома сложен. То је збир хемијског састава течног дела - крвне плазме и крвних ћелија. Концентрација појединих састојака није једнака у крвним ћелијама и крвној плазми, па због тога није свеједно да ли се анализе обављају у крви или крвној плазми, односно у крвном серуму.

Хематолошке анализе указују на укупан број појединих ћелијских елемената крви у јединици запремине, њихов релативан однос као и на поједине њихове морфолошке и структурне карактеристике.

Упут (захтев) за лабораторијску анализу коју ветеринар – практичар уз узорак крви шаље у лабораторију треба да садржи:

- ✓ основне податке о животињи (врста, име или број, пол, старост, раса),
- ✓ податке о власнику животиње,
- ✓ најзначајније податке о клиничком налазу на животињи и
- ✓ врсту анализе која се тражи.

2.1 Узимање крви

Узимање крви код животиња захтева поштовање следећих основних правила: добра и сигурна фиксација животиње, дезинфекција места на кожи припремљеног за убод игле, стерилне игле и употреба стерилних сувих шприцева или неког другог суда за прихватање крви.

Крв се узима на различитим местима у зависности од врсте животиње и планиране количине крви коју треба узети, што је у вези са бројем и обимом анализа које се раде. Када су потребне мање количине крви (неколико капи), врши се убод иглом или зарезивање ушне шкољке сисара, кресте код живине, репа код пацова или јагодице прста код човека. Веће количине крви се добијају венепункцијом (увођењем стерилне игле у вену) а код малих животиња пункцијом срца. Такође се у појединим случајевима може узимати и крв из артеријског крвног суда.

Венепункција код коња, говечета, овце и козе се врши на *veni jugularis* пошто се овај крвни суд налази близу коже, великог је пречника и лако се при

компресији између места венепункције и срца пуни крвљу. Код паса и мачака крв се добија из *vene brachialis* на предњем екстремитету или *vene saphene* на задњем екстремитету. Узимање већих количина крви код свиња врши се пункцијом венског цефаличног плексуса. Венепункција код живине обавља се на крилној вени, а код малих пилића крв се узима пункцијом срца. Код мишева и пацова већа количина крви се, такође, узима пункцијом срца.

Када је потребно узети мању количину крви (пар капи), на пример за бројање еритроцита, леукоцита или одређивање садржаја хемоглобина, најбоље је узети је директно у капиларну пипету (меланжер) и припремити за даљи поступак.

ЗАДАТАК: Узети узорак капиларне крви човека.

МАТЕРИЈАЛ: Вата, алкохол, стерилне игле или ланцете и пипета (меланжер).

ИЗВОЂЕЊЕ: Капиларна крв се код човека добија пункцијом јагодице прста. Помоћу алкохола и вате извршити дезинфекцију јагодице прста и стерилном ланцетом извршити пункцију. Сачекати да спонтано изађе неколико капи крви, обрисати крв сувом ватом, а од следеће капи пажљиво, без стискања околног ткива, увући крв у меланжер.

ЗАПАЖАЊА:

2.2 Антикоагуланси и спречавање коагулације

У случају узимања већих количина крви треба водити рачуна о томе да ли је за анализе потребна пуна крв, крвна плазма или крвни серум. Већ је речено да се у крви одмах по напуштању крвног суда и при контакту са страном површином, покреће процес коагулације крви при чему крв прелази у густу желатинозну масу из које се временом истискује жућкаста течност – крвни серум. Средства која спречавају одвијање овог биохемијског процеса називају се *антикоагулантна средства* (*антикоагуланси*). Додавање антикоагулантних средстава омогућава употребу крви за трансфузију или за анализе, а да при томе она буде у течном стању и комплетног састава. Постоје бројна антикоагулантна средства (природна и вештачка), а овде ћемо описати само она која се у пракси најчешће користе.

✓ **Хепарин** је природни антикоагуланс присутан у крви, синтетише се у цитоплазми многих ћелија, а највише у мастоцитима и базофилним гранулоцитима. Хепарин је високомолекулски полисахарид и сврстава се у групу хетероглукана. Начин деловања хепарина је вишеструк: 1) инхибира развој процеса у првој фази коагулације, 2) кочи претварање протромбина у тромбин, 3) спречава дејство тромбина на фибриноген. Количина хепарина од 0,1ml је довољна да спречи коагулацију 10 ml крви.

✓ **На-цитрат** је со лимунске киселине. Додат у крви везује јонски калцијум у облику недисосованих соли. Уклањање јона калцијума из крви је разлог

што се процес коагулације не може покренути. Најчешће се користи као 3,8% раствор и то у сразмери са крви 1:4 (1 део Na-цитрата + 4 дела крви).

✓ **Na-оксалат** спречава коагулацију тако што везује јоне калцијума градећи нерастворљиве соли.

У циљу спречавања коагулације Na-цитрат и Na-оксалат се додају у крв у концентрацији од 0,2 g до 0,4 g/100ml крви. Слично антикоагулационо деловање имају и калијумове и амонијеве соли цитрата, оксалата и флуорида, *EDTA* (етиленадиаминотетрасирћетна киселина).

✓ **Кумарин** и деривати **дикумарол** и **варфарин** инхибирају витамин К који је неопходан за синтезу протромбина и других фактора коагулације (VII, X, XII) у јетри.

Избор антикоагуланса доста зависи од планираних анализа за испитивање крви.

ЗАДАТАК: Узети узорак венске крви и спречити њену коагулацију.

МАТЕРИЈАЛ: Вата, алкохол, стерилне игле, епрувете, хепарин или други антикоагуланс.

ИЗВОЂЕЊЕ: Извршити венепункцију код неке од животиња и крв прихватити у епрувету у којој се налази 1-2 капи хепарина (или неког другог антикоагуланса у одговарајућој количини) и лагано измешати. У другу епрувету прихватити крв без додатка антикоагуланса (контрола).

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:

2. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

2.3 Добијање крвне плазме и крвног серума

Крвна плазма је безбојна или жуто обојена крвна течност без уобличених (ћелијских) елемената крви. Добија се центрифугирањем крви, у којој је претходно спречена коагулација.

Крвни серум је течност сличне боје и састава као крвна плазма, а разликује се од ње по томе што не садржи протеине фибриноген, протромбин и друге факторе коагулације. Крвни серум се може добити на два начина:

1. Центрифугирањем дефибринисане крви (добива се лаганим мешањем крви стакленим или дрвеним штапићем у одговарајућој посуди, при чему се на штапић хватају фибринске нити које се затим одстране) и

2. Спонтаном коагулацијом извађене крви на собној температури; после ретракције коагулума издвојени серум се покупи пипетом и ако има примесе еритроцита, потребно је центрифугирање.

2.3.1 Употреба лабораторијске центрифуге

Центрифугирање је техника одвајања честица из раствора применом центрифугалних сила, а одвајање се постиже на основу величине честица, облика, густине, вискозитета раствора и брзине центрифугалног ротора. Центрифуга користи процес центрифугирања и принцип центрифугалне силе. Центрифугални принцип се користи за различите примене у савременим лабораторијама.

Центрифугална сила доводи до померања тежих честица ка спољашњем делу цеви за узорак, а лакше честице ближе центру. Лабораторијске центрифуге раде по принципу седиментације, где се центрипетална брзина користи за одвајање тежих и супстанци мање густине. Када се узорак у центрифугалној епрувети центрифугира, чврсте материје се померају на дно епрувете за центрифугирање.

Према брзини, центрифуге се могу поделити на три типа: мале брзине (<8000 обртаја/минути), велике брзине (8000-20000) и ултравелике брзине (>50000). Према величини и положају уградње, могу се поделити на радну центрифугу (стону) и подну центрифугу. У медицинским лабораторијама најчешће се користе стоне микроцентрифуге малих запремина (великих брзина) и центрифуге малих брзина које се користе за центрифуговање епрувета/вакутајнер епрувета.

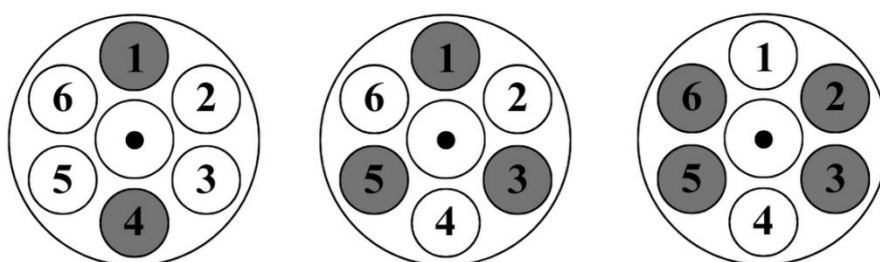


Слика 2.1: Лабораторијска центрифуга

За правилно и безбедно коришћење центрифуге, неопходно је придржавати се следећих правила:

- ✓ Лабораторијску центрифугу треба поставити на чврсти под или лабораторијски сто у хоризонталном положају који може избећи вибрације у центрифугалној обради.
- ✓ Укључите напајање, инсталирајте ротор по потреби, а затим ставите узорке који су у равнотежи, на крају затворите поклопац лабораторијске центрифуге.
- ✓ Подесите брзину, време, убрзање и успоравање на функцијским тастерима.
- ✓ Притисните дугме за покретање и сачекајте да се лабораторијска центрифуга аутоматски искључи.
- ✓ Отворите поклопац након што лабораторијска центрифуга потпуно престане да се окреће, извадите центрифугални узорак.

Генерално, лабораторијска центрифуга обично има функцију неуравнотеженог заштитног механизма. Мотор ће се зауставити ако се ова функција активира, односно уколико ротор центрифуге није у балансу. Због тога би требало да правилно напунимо ротор центрифуге, како би центрифуга могла да се активира и безбедно обави своју функцију. Пуњење ротора центрифуге врши се према слици 2.2 (ротор са 6 места) водећи рачуна да буде приближна запремина течности у епруветама. У колико то није случај, потребно је ротор пунити са епруветама у којима се налази вода, како би постигли равнотежу. Сличан принцип је уколико имамо само 1 узорак/епрувету – неопходно је додати другу са истим нивоом течности.



Слика 2.2: Пуњење ротора центрифуге епруветама, зависно од броја узорака

ЗАДАТАК: Узети крв неке домаће животиње и припремити дефибринисану крв, крвну плазму и крвни серум.

МАТЕРИЈАЛ: Вата, алкохол, стерилне игле, епрувете за центрифугирање, центрифуга, лабораторијска чаша, стаклени или дрвени штапић, хепарин, 3,8% Na-цитрат или неки други антикоагуланс.

ИЗВОЂЕЊЕ: Извршити венепункцију код неке од животиња и крв прихватити у следеће посуде са ознакама:

1. епрувета са 1ml 3,8% Na-цитрата (узети 4 ml крви) и лагано измешати,
2. епрувета у којој се налази 1-2 капи хепарина и лагано измешати,
3. чиста и сува лабораторијска чаша и мешати штапићем,
4. чиста и сува епрувета без икаквих додатака.

Након уклањања штапића са фибринским кончићима из лабораторијске чаше (3), садржаје прве три посуде пресути у епрувете за центрифугу и центрифугирати 10 минута на 3000 обртаја/минути. Када се заврши центрифугирање, капаљком или пипетом пренети течни део изнад талога у прве 3 епрувете. Констатовати и објаснити шта се одиграло у свакој од епрувета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:
3. епрувета:
4. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

2.4 Одређивање хематокритске вредности

Хематокритска вредност (Ht) представља запремински проценат еритроцита у крви који је пропорционалан броју, величини и садржају хемоглобина у њима. Одређује се центрифугирањем (30 минута на 3000 обртаја/минути) хепарисане крви у посебним градуисаним епруветама (са ознакама 0 – 100) или капиларним цевчицама. При томе се еритроцити због највеће специфичне тежине таложе на дно епрувете, изнад се налази танак, бели растресит слој прстенастог облика којег чине леукоцити и тромбоцити, а према врху епрувете је издвојена крвна плазма. Висина стуба еритроцита од дна епрувете до границе са слојем леукоцита и тромбоцита представља хематокритску вредност и изражава се у процентима.

Хематокритска вредност у просеку износи 40% (35-46%), односно 0,40 (0,35-0,46). Снижена вредност (хемодилуција) може да указује на смањени број еритроцита (смањено стварање или убрзана разградња). Повећане вредности (хемоконцентрација) виђају се код дехидратације и шока.

Одређивањем Ht може се добити прилично поуздан увид у промене броја и величине еритроцита, волумена телесних течности, и уопште, Ht има велики значај у клиничкој хематологији.

За одређивање Ht користи се *макрохематокритска метода*, помоћу *Wintrob*ових епрувета и *микрохематокритска метода*, помоћу капиларних цевчица. Микрохематокритска метода се чешће користи зато што су за њено извођење потребне мање количине крви.

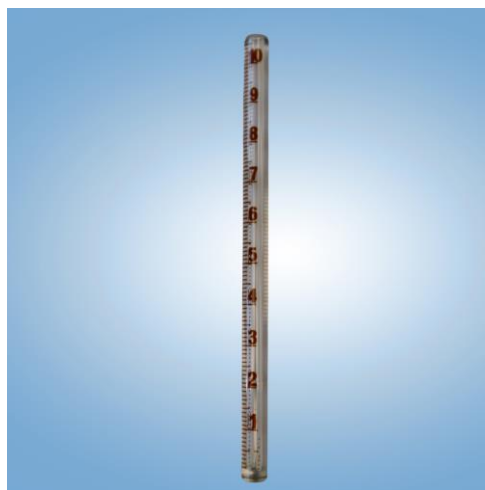
ЗАДАТАК: Одредити хематокритску вредност крви неке домаће животиње.

МАТЕРИЈАЛ: Стерилне ињекционе игле, вата, алкохол, бризгалица од 2ml, центрифуга, *Wintrobove* епрувете (110×3 mm изградуиране од 1 до 100 mm), игла дугачка 100mm, хепарисана капиларна цевчица (дужине 6 до 8 cm), скала (читач) за читавање вредности.

ИЗВОЂЕЊЕ:

Макрохематокритска метода – венепункцијом у хепарисану бризгалицу узети 2 ml крви. Користећи дугачку иглу истиснути крв у *Wintrobovi* епрувету до ознаке 100. Потом извршити центрифугирање у трајању од 30 минута на 3000 обртаја/минути. Висину стуба исталожених еритроцита прочитати директно на градуисаној скали епрувете (слика 2.3).

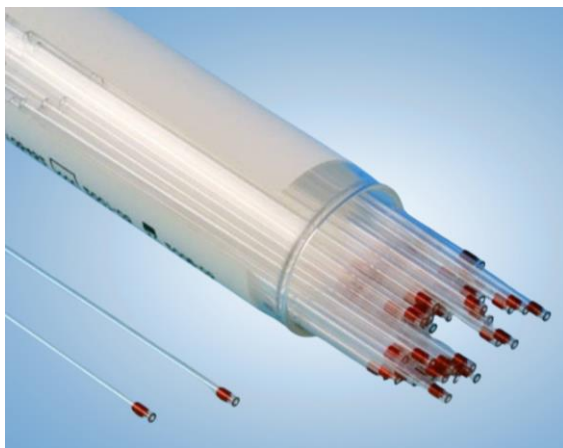
Добијена вредност не представља прави хематокрит венске крви, јер после центрифугирања још један део плазме (око 4%) заостаје између исталожених еритроцита. Да би се добила реална вредност, очитану вредност треба кориговати (помножити) са фактором 0,96.



Слика 2.3: *Wintrobova* епрувета

Микрохематокритска метода – Крв се узима из јагодице прста или из ушне шкољке тако што се на кап крви наслони капиларна цевчица (слика 2.4) у коју крв улази по законима капиларности. Напуни се око 2/3 цевчице, а део који је празан затвори се загревањем на пламену или воском.

Цевчице се стављају у центрифугу тако да је њихов отворени крај окренут ка центру и центрифугирају 5 минута на 15000 обртаја/минути. Очитавање Ht се врши помоћу читача, или тако да се измери у mm укупна дужина коју у цевчици заузимају уобличени елементи и плазма, а потом израчуна проценат који отпада на уобличене елементе (углавном еритроците). Применом ове методе није потребна корекција добијене вредности.



Слика 2.4: Капиларне цевчице за микрохематокритску методу

ПРОСТОР ЗА РАД:

Макрохематокритска метода

Очитана вредност =

Корекциони фактор = 0,96

Ht =

Микрохематокритска метода

Ht =

ЗАКЉУЧАК:

2.5 Бројање еритроцита

Посматрајући под микроскопом необојени размаз крви сисара, уочава се да еритроцити (Er) немају једро, да су округлог биконкавног облика са заобљеним ивицама. Средишњи део еритроцита је обојен жућкасто, а ивице су црвене. Од овог правила одступају еритроцити камила и лама који су овалног облика те је њихов средишњи део тамнији. Ово је разлог што се некада сматрало да еритроцити ових животиња поседују једро. Имају просечан пречник од 8 μm , а дебљина им на ивицама износи око 2 μm , а у средини око 1 μm или мање. Запремина једног еритроцита износи просечно 80 μm^3 . Еритроцити птица и других врста које су у филогенетској

лествици остале испод сисара имају једро, елиптичног су облика и двогубо испупчени. Најважнији функционални састојак еритроцита је хемоглобин.

Еритроцити се стварају процесом који се назива *еритропоеза*, а одвија се у коштаном сржи. Еритропоеза је сталан процес и нове ћелије се убацују у циркулацију где еритроцити „живе“ и обављају своју функцију у крви птица неколико недеља, а у крви сисара просечно 100 дана. Стари и функционално истрошени еритроцити се распадају (*интравитална хемолиза*) пошто старењем мембрана постаје фрагилна и при потискивању еритроцита кроз капиларе лако пуца. Просечно се дневно распадне око 1% еритроцита; израчунато је да се код великих животиња (коњ, говече) у току сваке секунде разгради око 37 милиона еритроцита, а исто толико младих еритроцита се убацује у периферну циркулацију. То значи да су напред наведена два супротна процеса (еритропоеза и интравитална хемолиза) под нормалним условима уравнотежена, тако да је број еритроцита у крви здравих организма прилично константан. Стварање и сазревање Ер зависи од великог броја фактора што је значајно да би се укупна маса еритроцита у циркулацији одржавала у уским границама, довољним за ткивну оксигенацију, а да ипак концентрација ћелија није толика да отежа проток крви. Сви фактори се деле на две групе:

1. пластичне: есенцијалне аминокиселине и Fe и
2. регулационо каталитичке: Cu, Mn, Mo, Co, витамини Б-комплекса, витамин Ц, хормони аденохипофизе, тиреоиде, надбубрега, полни хормони.

Табела 2.1: Број еритроцита у 1 литри крви ($10^{12}/L$)

Врста	Број Ер	Врста	Број Ер
Говедо	6-8	Кокош	2,5-3,2
Овца	10-13	Голуб	3,5-4,5
Коза	13-15	Кунџ	5,5-6,5
Коњ (пунокрви)	9-12	Пацов	6-7,5
Коњ (теглећи)	7-10	Заморац	5-6,5
Свиња	6-8	Рибе	1-3,2
Пас	6-8	Човек -мушкарац	4,8-5,5
Мачка	6-8	-жена	4-4,5

Број еритроцита у једном литру крви варира унутар врсте зависно од пола, узраста, мишићне активности, гравидитета, еструса, боравка на већој надморској висини и др. Термини којима се описује варирање броја еритроцита у јединици запремине крви су:

- ✓ *нормоцитемија* – нормалан број еритроцита у јединици запремине крви,
- ✓ *олигоцитемија* - смањен број еритроцита у јединици запремине крви и
- ✓ *полицитемија* - повећан број еритроцита у јединици запремине крви.

Степен оксигенације ткива је основни регулатор продукције еритроцита путем ткивног хормона *еритропоетина*. Код домаћих животиња највећи број еритроцита у јединици запремине крви (1 литар) имају козе и овце, а најмањи живина (табела 2.1).

Принцип одређивања броја еритроцита се састоји у томе да се микроскопом изврши бројање свих црвених крвних зрнаца у разређеној крви у специјалној коморици одређеног (познатог) волумена. Разређење крви се обавља у одређеном сразмеру помоћу *Науетовог* раствора у стакленој цевчици – *меланжеру за еритроците*. *Науетов* раствор је благо хипертоничан раствор (осмотска концентрација му је нешто већа него у крвној плазми) и у свом саставу има:

NaCl 1,0 g

Na₂SO₄ 5,0 g

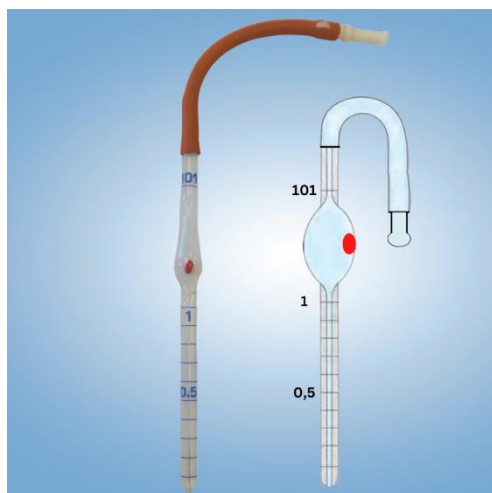
HgCl₂ 0,1 g

Дестилована H₂O до 200 ml

Хипертоничност и присуство Na-сулфата и меркури-хлорида који денатуришу протеине у мембрани еритроцита доприносе лакшем уочавању еритроцита у видном пољу микроскопа.

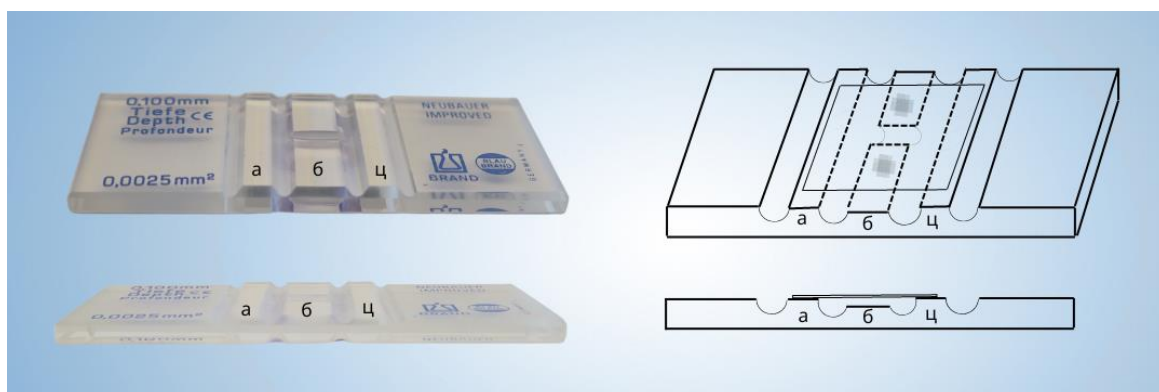
Меланжер за еритроците (слика 2.5) се састоји од уске капиларне цевчице на којој су ознаке 0,5 и 1,0; на врху се налази трбушасто проширење у коме се налази пластична перла црвене боје, а проширење се завршава у краћи, ужи наставак са ознаком 101 на коме се налази гумено или пластично црево.

Узимањем крви до подељка 0,5 и *Науетовог* раствора до ознаке 101, крв се разблажује 200 пута и по правилу такво разблажење се користи. Ако се крв узме у меланжер до ознаке 1,0 и *Науетов* раствор до ознаке 101 онда се постиже разблажење 100 пута које се користи када се унапред зна да код испитиване јединке има мали број еритроцита у јединици запремине крви.



Слика 2.5: Меланжер за еритроците

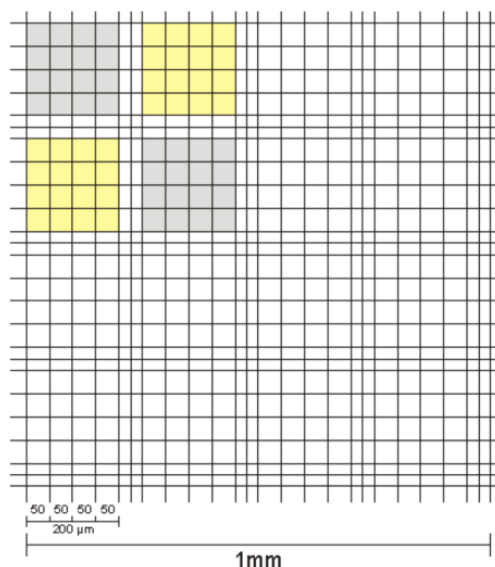
Комора за бројање крвних ћелија се означава још и као *хемоцитометар*. Постоји неколико типова комора за бројање уобичајених елемената крви као што су: *Bürkerov-Türkova*, *Thoma-Zeissova*, *Neubauerova*, *Spencerova*. Комора је заправо плочица која је већа и дебља од предметног стакла. У средини дебелог предметног стакла налазе се попречно паралелно постављена 3 поља (а, б, ц) ограничена са 4 жлеба. Средње поље (б) је подељено попречним жлебом на два дела и ниже је од постраних поља (а, ц) за 0,1 mm. На сваком од та два дела је урезана по једна мрежица (слика 2.6).



Слика 2.6: Комора за бројање крвних ћелија (лево – фотографија, десно – шема)

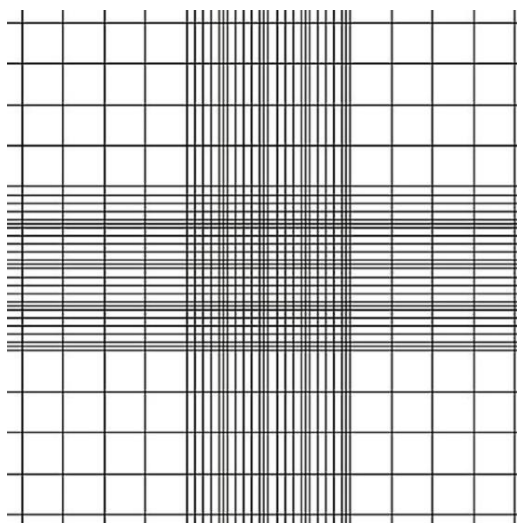
Thoma-Zeissova комора има мрежицу дужине 1 mm и ширине 1 mm; површина износи 1 mm². Постављањем покровног стакалца на пострани плочице (а, ц) образује се коморица запремине 0,1 mm³ (1 mm × 1 mm × 0,1 mm = 0,1 mm³). Уздужне и попречне линије које су урезане на истом растојању деле квадрат површине од 1 mm² на 400 квадратића (површина једног квадратића је 1/400 mm²).

Сваки пети ред квадратића је кроз средину уздужно и попречно подељен тако да се у мрежици уочавају већи квадрати оивичени са по три црте који садрже 16 малих квадратића (слика 2.7). Коришћењем објектива који увећава 10 пута у видно поље микроскопа стаје читав мрежа површине 1 mm², а под објективом 30-40x у видно поље стаје групација од 16 малих квадратића.



Слика 2.7: Мрежица *Thoma-Zeiss*ове коморе

Neubauerova комора се састоји од 9 квадрата од којих сваки има површину 1 mm^2 . Централни квадрат има мрежицу идентичну са *Thoma-Zeiss*овом комором (површине 1 mm^2) и он служи за бројање еритроцита. Четири угаона квадрата су подељена на 16 мањих квадрата и у њима се броје леукоцити (слика 2.8).



Слика 2.8: Мрежица *Neubauer*ове коморе

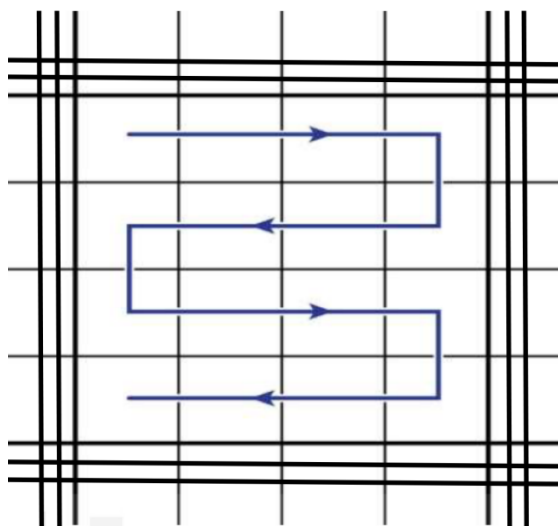
ЗАДАТАК: Одредити број еритроцита у крви домаће животиње и/или човека.

МАТЕРИЈАЛ: Прибор за узимање крви, меланжер за еритроците, *Neubauerova* комора, покровна стакалца, *Hayemov* раствор, микроскоп.

ИЗВОЂЕЊЕ: Комора и меланжер морају бити потпуно чисти и суви. Крв се узима у меланжер директно са места убода на кожи (ушна шкољка, реп, јагодица прста). Сачекати да спонтано изађе неколико капи крви, обрисати крв сувом ватом а од следеће капи пажљиво, без стискања околног ткива, увући крв у меланжер до ознаке 0,5. Крв се може узети и из епрувете са хепарисаном крви. Меланжер обрисати ватом од

трагова крви, а затим из посуднице увући Науетов раствор до ознаке 101 (разблажење 200 пута). Држећи меланжер између палца и кажипрста мућкати неколико минута да би се крв и раствор помоћу црвене перлице у трбушастом проширењу равномерно измешали.

Припрема коморе се обавља на следећи начин: Навлажити околна узвишења (поља а, ц) и на њих поставити чисто и суво покровно стакалце благим притиском на крајева палчевима обе руке. Након протресања напуњеног меланжера, из њега истиснути 1 до 2 капи течности на смотуљак вате (то је раствор из капиларног дела меланжера), одмах затим прислонити врх меланжера на средње поље коморе (б) које вири испод покровног стакла како би се формирана кап суспензије еритроцита услед капиларности разлила испод покровног стакла по мрежици (у коморици). Коморица је правилно напуњена ако испод покровног стакла нема мехурића ваздуха, ако се течност не налази изнад покровног стакла и ако су еритроцити, гледано под најмањим увећањем (10х), равномерно разасути и распоређени по мрежици површине 1mm^2 (централни квадрат).



Слика 2.9: Смер бројања еритроцита у мрежици коморе

Са увећањем објектива 40х пронаћи леву горњу угаону скупину од 16 квадратића и у њој избројати све еритроците водећи рачуна да се исти еритроцит не би бројао два пута (једном најмањем квадратићу припадају еритроцити унутар квадратића и они који су на његовој горњој и десној линији). Бројање обавити у смеру како је приказано на слици 2.9.

Након обављеног бројања еритроцита и уписаног броја у првој угаоној скупини од 16 квадратића, извршити по истом принципу и бројање у остале три угаоне скупине од 16 квадратића и у једној скупини унутар централног квадрата. Значи, еритроцити су избројани у 5 квадрата од по 16 квадратића што је укупно 80 квадратића (површине $1/400\text{mm}^2$).

Израчунавање броја еритроцита у 1mm^3 крви се врши по следећој формули:

Број избројаних еритроцита

$$\text{Број еритроцита у } 1 \text{ mm}^3 = \frac{\text{Број избројаних еритроцита}}{80} \times 4000 \times 200$$

Бројчана вредност количника између броја избројаних еритроцита разблажене крви и 80 представља просечан број еритроцита у једном квадратићу (њих је укупно 400) и множи се са 4000 из разлога што је површина једног квадратића $1/400 \text{ mm}^2$, а висина $1/10 \text{ mm}$, онда је запремина $1/400 \times 1/10 = 1/4000 \text{ mm}^3$. Значи, просечан број еритроцита у једном квадратићу се множи са 4000, па се онда добија број еритроцита у 1 mm^3 разблажене крви. Сада добијени број треба помножити са још 200 (разблажење) да би се добио број еритроцита у 1 mm^3 испитиване крви. Ако је крв увучена у меланжер до ознаке 1,0 у том случају се уместо са 200 множи са 100.

Број уобличених елемената крви се изражава у вредностима које одговарају једном литру крви. До те вредности се долази ако се установљени број еритроцита који се налази у 1 mm^3 помножи са 10^6 (1 литар има 1 милион mm^3).

ПРИМЕР: У 80 квадратића је избројано 480 еритроцита.

$$\begin{aligned} \text{Број еритроцита у } 1 \text{ mm}^3 &= \frac{480}{80} \times 4000 \times 200 = \\ &= 6 \times 4000 \times 200 = 4800000/\text{mm}^3 \quad (4,8 \times 10^6/\text{mm}^3) \end{aligned}$$

$$\text{Број еритроцита у 1 литру} = 4,8 \times 10^6 \times 10^6 = 4,8 \times 10^{12}/\text{L}$$

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Број Ер у 1. угаоној скупини од 16 квадратића:

Број Ер у 2. угаоној скупини од 16 квадратића:

Број Ер у 3. угаоној скупини од 16 квадратића:

Број Ер у 4. угаоној скупини од 16 квадратића:

Број Ер у централној скупини од 16 квадратића:

Укупан број еритроцита у 80 квадратића:

Број еритроцита у $1 \text{ mm}^3 =$

Број еритроцита у 1 литру =

ЗАКЉУЧАК (Да ли је број Ер у физиолошким границама?):

2.6 Бројање ретикулоцита

Ретикулоцити су незрели еритроцити. У костној сржи, из матичних ћелија, деобом и сазревањем се развијају ћелије еритроцитне лозе. На крају настају ретикулоцити који се преводе у црвена крвна зрнца. Ретикулоцити садрже остатке RNK (рибонуклеинске киселине), митохондрија и органела. Одређивање броја и зрелости ретикулоцита је показатељ функције коштане сржи, односно њене способности да формира еритроците.

Број ретикулоцита у циркулацији варира у зависности од врсте и изражава се у процентима у односу на број еритроцита. Код паса ретикулоцита има 0-1,5%, код мачака 0,2-1,6%, код свиња 0-1%, код преживара се они углавном уопште не запажају, док их код коња нема у циркулацији.

Снижене вредности могу бити последица:

- ✓ недостатка гвожђа, фолне киселине, витамина B12,
- ✓ сниженог нивоа еритропоеина код хроничних болести бубрега,
- ✓ хемиотерапија, радијација,
- ✓ различитих болести коштане сржи или болести које утичу на коштану срж.

Повишене вредности могу бити последица:

- ✓ одговора на терапију анемије (терапија гвожђем, витамином B12, фолном киселином, еритропетином, опоравак коштане сржи након хемиотерапије, трансплантација коштане сржи),
- ✓ крварења – тада број ретикулоцита расте зато што коштана срж покушава да надокнади губитак еритроцита (црвених крвних зрнаца),
- ✓ хемолитичке анемије – тада долази до деструкције еритроцита чији недостатак коштана срж покушава да компензује.

ЗАДАТАК: Одредити број (проценат) ретикулоцита у крви пса.

МАТЕРИЈАЛ: Узорак крви пса, брилиант крезил плаво, термостат, микроскопске плочице, микроскоп са имерзионим објективом, кедрово уље.

ИЗВОЂЕЊЕ: Помешати у односу 1:1 узорак крви и 1% раствор боје брилиант крезил плаво. Оставити 15 до 20 минута у термостату на 37° С. Направити крвни размаз (описано у вежби одређивања леукоцитарне формуле) и оставити да се осуши.

Под имерзионим објективом посматрати и уочити ретикулоците (остаци RNK, митохондрија и органела су обојени плаво). Видно поље се помера док се не изброји 100, 200 или 1000 еритроцита (броје се паралелно са бројањем ретикулоцита) и резултат се изражава у % ретикулоцита.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Укупно избројано ретикулоцита:

Укупно избројано еритроцита:

% ретикулоцита:

ЗАКЉУЧАК:

2.7 Одређивање концентрације хемоглобина

Хемоглобин (Hb) је сложено хемијско једињење и спада у групу сложених протеина – хромопротеида. Састоји се од беланчевине глобина и простетичне групе – хема у чијем центру се налази атом двовалентног гвожђа. Молекул хема даје црвену боју хемоглобину. Хемоглобин је квантитативно и функционално најважнији састојак еритроцита. Излазак хемоглобина из еритроцита у плазму назива се хемолиза.

Хемоглобин има више улога:

- ✓ транспорт O_2 од плућа до ткива (*оксихемоглобин*),
- ✓ транспорт CO_2 од ткива до плућа (*карбаминохемоглобин*) и
- ✓ пуферска улога.

Пошто молекул хемоглобина садржи четири молекула хема, а за сваки атом гвожђа у хему лабавом везом се веже један молекул кисеоника, произилази да хемоглобин веже и транспортује четири молекула кисеоника. Један грам хемоглобина може да веже 1,34 ml кисеоника, а концентрација хемоглобина у крви се изражава у g/L. Концентрација хемоглобина у крви код појединих животињских врста и човека је дата у табели 2.2.

Хемоглобин не везује само O_2 и CO_2 већ и читав низ хемијских материја при чему могу настати деривати који нису у стању везивати O_2 .

✓ *Карбоксихемоглобин* настаје при везивању са CO. CO се веже за Fe хема координативном везом (исто као и O_2) али је та веза знатно чвршћа. Афинитет хемоглобина за CO је око 200 пута већи него за кисеоник и у средини са малим процентом CO у ваздуху (0,1%) велики део хемоглобина се претвара у карбоксихемоглобин. Крв која садржи карбоксихемоглобин има изразито црвену боју (као трешња).

✓ *Метхемоглобин* настаје при оксидацији Fe у хемоглобину из феро у фери облик при чему се за трећу валенцу веже OH група. Хем метхемоглобина се назива хемин и није у стању да веже O₂. Нормално га у крви може бити у врло малим количинама (до 1% од укупне количине хемоглобина).

✓ *Цијанохемоглобин* настаје при тровању цијанводоником.

✓ *Сулфохемоглобин* настаје када се за Fe хема веже сумпорводоник H₂S.

✓ *Нитрозохемоглобин* настаје код тровања оксидима азота.

Табела 2.2: Концентрација хемоглобина у крви (g/L)

Врста	Концентрација Hb	Врста	Концентрација Hb
Пас	150 (120 - 180)	Свиња	130 (100 – 160)
Мачка	120 (80 - 140)	Коњ	110 (80 – 140)
Крава	110 (80 - 140)	Живина	110 (100 – 104)
Овца	120 (80 – 160)	Кунџ	120 (80 – 150)
Коза	110 (80 – 140)	Човек	150 (140 – 160)

Одређивање концентрације хемоглобина у крви има у клиници велики значај јер подаци о концентрацији хемоглобина, уз податке о вредности хематокрита и броју еритроцита, могу да служе као добар показатељ процеса еритропоезе, указују на присуство разних облика анемије, итд.

Концентрација Hb у крви може се одредити применом више метода:

✓ *колориметријске* (мери се интензитет боје хемоглобина или неког његовог створеног деривата – хлорхемин, оксихемоглобин),

✓ *гасометријске* (на основу мерења везаног кисеоника у одређеној запремини крви) и

✓ *хемијске* (одређивањем концентрације гвожђа).

У клиничкој пракси највише се користи колориметријска метода по *Sahljiu* јер је доста једноставна, не захтева скупу опрему а извођење кратко траје. Метода по *Sahljiu* се заснива на поређењу боје киселог хематина, насталог деловањем HCl на крв, са бојом стандардног раствора хематина који се налази у цевчицама хемоглобинометра. Изглед хемоглобинометра по *Sahljiu* приказан је на слици 2.10.



Слика 2.10: Хемоглобинометар по *Sahlberg*

Хемоглобинометар по *Sahlberg* је, уствари, један сталак у којем се налазе три цевчице. У средини је једна градуисана епруветица која на једној страни има подеоне у степенима по *Sahlberg* (°S), а на другој страни су подеони у апсолутним количинама хемоглобина изражени у g% (грама хемоглобина у 100 ml крви). У хемоглобинометру се са сваке стране градуисане епруветице налази по једна затопљена цевчица испуњена стандардом (контрола).

ЗАДАТАК: Одредити концентрацију хемоглобина у крви методом по *Sahlberg*.

МАТЕРИЈАЛ: Хемоглобинометар по *Sahlberg*, меланжер за хемоглобин (0,02 ml), игле, вата, алкохол, 0,1 M HCl, дестилована вода.

ИЗВОЂЕЊЕ: У градуисану епрувету хемоглобинометра до ознаке 10 улити 0,1 M HCl. Капиларном пипетом (меланжером) (слика 2.11), директно са места убода или из епрувете са хепаринисаном крви, узети 0,02 ml крви и пажљиво је истиснути у раствор HCl у градуисаној епрувети. Садржај епрувете пажљиво измешати стакленим штапићем и оставити да стоји 3 до 5 минута. У овом времену HCl ће извршити хемолизу еритроцита, извршиће се оксидација гвожђа из хемоглобина (двовалентно гвожђе у тровалентно гвожђе) и настаће хемати-хлор-хидрат, једињење смеђе боје чији је интензитет пропорционалан количини хемоглобина. Додавањем дестиловане воде капаљком, уз пажљиво мешање стакленим штапићем, треба боју раствора насталог хематина приближити изгледу боје стандарда у цевчицама. Када дође до тога, раствором из епрувете испрати меланжер којим је узета крв и испирке поново вратити у епрувету. Затим, додавати кап по кап дестиловане воде и уз мешање подесити да се боја раствора хематина изједначи са бојом стандарда у контролним цевчицама. Очитати висину раствора у цевчици на скали у g% и добијену вредност помножити са 10 да би се добила вредност у g/L.



Слика 2.11: Меланжер за хемоглобин

Главни недостатак ове методе лежи у субјективној процени интензитета боје раствора при упоређивању са бојом контролних цевчица, па су могуће и грешке, што се увежбаним радом може свести на ниво испод 10%.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Hb = g%

Hb = g/L

ЗАКЉУЧАК (Да ли је концентрација Hb у физиолошким границама?):

2.8 Хематолошки индекси

Процену анемичног стања организма и типа анемије у клиничкој пракси није могуће извршити поуздано само на основу података о броју еритроцита, или концентрације хемоглобина, или података о хематокритској вредности.

Због тога се у клиници, на темељу појединачних вредности за ова три показатеља, израчунавају хематолошки индекси (еритроцитни индекси). То су:

- ✓ Индекс бојења;
- ✓ Средња вредност количине хемоглобина у еритроциту;
- ✓ Средња вредност концентрације хемоглобина у еритроциту и
- ✓ Средња вредност запремине еритроцита.

2.8.1 Индекс бојења

Индекс бојења (И.О.) је релативни показатељ степена пуњености еритроцита хемоглобином. Индекс бојења представља количник између концентрације хемоглобина и броја еритроцита изражених у процентима у односу на нормалне вредности. То значи, за израчунавање индекса бојења за крв испитиване јединке треба знати физиолошке (нормалне) вредности броја еритроцита и концентрације хемоглобина за дату врсту, а некада и расу домаћих животиња којој та јединка припада.

$$\text{И.О.} = \frac{\% \text{ Hb у односу на нормалну вредност}}{\% \text{ Ер у односу на нормалну вредност}}$$

ПРИМЕР: У крви говеда је утврђено:

Број еритроцита = $6,5 \times 10^{12}/\text{L}$; Hb = 115 g/L

Нормалне вредности су: Број еритроцита = $7 \times 10^{12}/\text{L}$; Hb = 110 g/L

% Hb од нормалне вредности = $(115 / 110) \times 100 = 1,04 \times 100 = 104\%$

%Ер од нормалне вредности = $(6,5 \times 10^{12} / 7 \times 10^{12}) \times 100 = 0,93 \times 100 = 93\%$

И.О. = $104 / 93 = 1,12$

Овај налаз говори да су еритроцити појединачно релативно добро напуњени хемоглобином. Када је количина хемоглобина у еритроцитима нормална, односно када су еритроцити појединачно довољно испуњени хемоглобином, индекс обојења једнак је јединици (1). Међутим, пошто постоје физиолошка варирања у вредностима за број еритроцита и концентрацију хемоглобина у крви, узимање средње вредности повлачи настанак грешке; стога се вредност И.О. од 0,85 до 1,15 сматра физиолошком. Код хипохромних анемија вредност И.О. је мања од 0,85, а код хиперхромних анемија је већа од 1,15.

Утврђене вредности су: Број еритроцита = /L

Hb = g/L

МСНС =

ЗАКЉУЧАК:

2.8.3 Средња вредност концентрације хемоглобина у једном литру еритроцита

Средња вредност концентрације хемоглобина у једном литру еритроцита (МСНС – *Mean Cellular Hemoglobin Concentration*) израчунава се из односа концентрације хемоглобина у g/L крви и хематокритске вредности (Ht), а изражава се у g/l. Нормалне вредности МСНС износе од 300-350 g/l. МСНС се израчунава по следећој формули:

$$\text{МСНС} = \frac{\text{Hb (g/L)}}{\text{Ht (\%)}} \times 100$$

ПРИМЕР: Hb = 150 g/L; Ht = 45%

$$\text{МСНС} = 150 / 45 \times 100 = 333,3 \text{ g/l}$$

ЗАДАТАК: На основу података утврђених на претходним вежбама о вредностима концентрације хемоглобина и хематокритске вредности израчунати МСНС.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Утврђене вредности су: Hb = g/L

Ht = %

МСНС =

ЗАКЉУЧАК:

2.8.4 Средња вредност запремине еритроцита

Средња вредност запремине еритроцита (MCV – *Mean Cellular Volume*) се изражава у μm^3 (кубним микрометрима). Запремина еритроцита сисара и птица је обрнуто сразмерна броју еритроцита у литру крви. У крви здраве јединке еритроцити су углавном приближно уједначеног пречника и облика (нормоцитоза). Код разних типова анемија величина еритроцита у циркулацији често је промењена, па се стога израчунава просечна вредност њихове запремине користећи утврђене вредности о броју еритроцита и хематокритске вредности следећом формулом:

$$\text{MCV} = \frac{\text{Ht (\%)}}{\text{Ер (у 1L)}} \times 10$$

ПРИМЕР: Ht = 48%, Ер = $6 \times 10^{12}/\text{L}$

$$\text{MCV} = \frac{48\%}{6 \times 10^{12}/\text{L}} \times 10 = 80 \times 10^{-12} \text{ mm}^3 = 80 \mu\text{m}^3$$

ЗАДАТАК: На основу података утврђених на претходним вежбама о вредностима броја еритроцита и хематокритске вредности израчунати MCV.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Утврђене вредности су: Ht = %

Eр = /L

MCV =

ЗАКЉУЧАК:

2.9 *Teichmannovi* кристали (Хлорхемин кристали)

Хлорхемин је дериват протопорфирина који има везан атом тровалентног гвожђа (фери), а на тај атом још и јон Cl^- . Хем за разлику од хемина има двовалентно гвожђе (феро). Кристали хлорхемина су смеђе боје и имају карактеристичан облик. Обично се називају *Teichmannovih* кристалима, по аутору који их је открио 1852. године. Добијање *Teichmannovih* кристала може послужити као реакција за доказивање крви (нпр. у судској анализи). Крв различитих врста даје исте кристале хлорхемина јер њихови хемоглобини имају исте хем групе (не може се тврдити да ли је крв пореклом од човека или животиње).

ЗАДАТАК: Извести *Teichmannovi* пробу за доказ крви. Забележити запажања и дати закључак.

МАТЕРИЈАЛ: Микроскоп, предметна стакла, покровна стакла, NaCl , сирћетна киселина, пламеник, капаљка, крв.

ИЗВОЂЕЊЕ: На предметно стакло ставити мању кап крви и помоћу другог предметног стакла направити размаз. Размазу додати неколико кристала NaCl . Кад се крв осуши, покрити је покровним стаклом и опрезно, уз руб покровног стакла, додати кап CH_3COOH , која ће се капиларитетом проширити испод покровног стакла. Након тога препарат благо загревати 30 до 60 секунди на пламенику. Пазити да киселина не проври, а уколико киселина испари докапати још једну кап киселине. Након загревања препарат пустити да се охлади, а затим под микроскопом посматрати кристале. *Teichmannovi* кристали виде се као смеђе иглице косо одрезаних крајева.

ЗАПАЖАЊА:

ЗАКЉУЧАК:

2.10 Седиментација еритроцита

Када се крв, којој је додат неки од антикоагуланаса, остави да стоји у некој посуди, запажа се да се еритроцити таложе према дну, плазма се истискује и остаје у горњим слојевима, а леукоцити заузму простор између њих. Еритроцити имају већу специфичну тежину од плазме па је и то већ разлог да се они спонтано таложе. Брзина којом ће се процес таложења еритроцита (*седиментација еритроцита* – SE) одвијати зависи и од многих других фактора који утичу на стабилност суспензије еритроцита, као што су: врста животиње, број еритроцита, однос између садржаја албумина и глобулина у крвној плазми (А/Г количник), садржај гамаглобулина и фибриногена, температура, концентрација холестерола и лецитина у крви.

Табела 2.3: Брзина седиментације еритроцита

Врста	За 1 сат	За 2 сата	За 24 сата
Коњ	69	71	74
Говече	1	2	12
Овца	1 - 4	3 - 8	6 – 15
Коза	1 - 4	3 - 10	9 – 24
Свиња	2 - 8	5 - 25	8 – 50
Пас	0,5 - 8	1 - 26	7 – 54
Човек -мушкарац	3 - 5	6 - 9	-
-жена	4 - 9	8 - 15	-

Брзина којом се седиментација еритроцита одиграва у клиничкој пракси је мерило за процену здравственог стања организма. Доказано је да код многих акутних и хроничних обољења (гнојне инфекције, туберкулоза, анемије, леукемија, тумори и др.) долази до убрзане седиментације еритроцита, па се стога њено одређивање користи као неспецифична дијагностичка проба, тј. убрзана седиментација еритроцита не указује на одређено обољење, али указује на то да нешто са здравственим стањем није у реду (није патогномонични симптом). Из тог разлога, свако хематолошко испитивање крви обавезно укључује и одређивање брзине седиментације еритроцита. У табели 2.3 су приказане физиолошке вредности брзине седиментације еритроцита код појединих врста домаћих животиња и човека у току 1, 2 и 24 сата.

Седиментација еритроцита се у клиници одређује методом по *Westergreeni* (слика 2.12) узимањем крви у специјалне градуисане пипете и њиховим постављањем у одређени сталак. Мерило брзине таложења еритроцита представља висина стуба крвне плазме издвојене у пипети после 1, 2 и 24 сата. Пипета по *Westergreeni* је дужине 300 mm, пречника 2 mm, са ознакама од 0 до 200 mm. Пипета се поставља усправно у одговарајући сталак и фиксира специјалним држачем са гуменом подлогом.



Слика 2.12: Сталак са седиментацију по *Westergreeni*

ЗАДАТАК: Одредити седиментацију еритроцита у крви пса, говечета и коња методом по *Westergreeni*.

МАТЕРИЈАЛ: Сталак са пипетама по *Westergreeni*, шприц од 2 ml, игле, вата, алкохол, 3,8% Na-citrat, епрувете, лабораторијски сат.

ИЗВОЂЕЊЕ: У шприц од 2 ml увући 0,4 ml 3,8% Na-citrata, извршити венепункцију и узети крв до ознаке 2 ml. Крв из шприца лагано, низ зид, усути у епрувету. Пажљиво измешати и затим увући у *Westergreenovi* пипету до ознаке 0 (подељци на пипети су од 0 до 200). Пипету поставити усправно у сталак, оставити на собној температури и одмах укључити лабораторијски сат. Подељци до којих се спушта стуб исталожених еритроцита се читавају након 1 и 2 сата.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Седиментација Ер након 1 сата:

Седиментација Ер након 2 сата:

ЗАКЉУЧАК:

2.11 Хемолиза

Разарање и пуцање мембране еритроцита и излазак хемоглобина из њега у околну средину назива се *хемолиза*. Хемолиза се у *in vivo* и *in vitro* условима може изазвати различитим средствима, као што су:

- ✓ механичка (снажно протресање и мућкање крви у посуди, вишекратно замрзавање и одмрзавање),
- ✓ физичка (рентгенски и ултраљубичасти зраци, електрична струја),

- ✓ хемијска (разређивачи масти: етар, хлороформ, ацетон, бензин, детерџенти и др.),
- ✓ биолошка (разни животињски отрови, токсини микроорганизама и паразита) и др.

Хемолизирана крв промени изглед – од непровидне постаје провидна, светлоцрвена и сјајна.

У организму се непрекидно одиграва процес тзв. интравиталне хемолизе еритроцита (стари и истрошени еритроцити). Међутим, процес хемолизе може бити знатно интензивиран код разних патолошких стања (паразитске инфестације, имунолошке реакције, бактеријске инфекције, вирусне болести и др.), када се хемоглобин појављује и у мокраћи (хемоглобинурија).

ЗАДАТАК: Утврдити појаву хемолизе у различитим условима настајања.

МАТЕРИЈАЛ: Цитратна крв (0,4 ml Na-citrata + 1,6 ml крви), сталак са епруветама, пипете, физиолошки раствор (0,9% NaCl), дестилована вода, раствор урее у дестилованој води (3,83 mol/L), раствор урее у физиолошком раствору (3,83 mol/L), етар.

ИЗВОЂЕЊЕ: Обележити пет епрувета бројевима од 1 до 5 и у сваку улили по пет капи цитратне крви. Затим у епрувете додавати:

1. 18 ml физиолошког раствора,
2. 18 ml дестиловане воде,
3. 18 ml 3,83 mol/L воденог раствора урее,
4. 18 ml 3,83mol/L раствора урее у физиолошком раствору,
5. 16 ml физиолошког раствора и 2 ml етра.

Садржај у свим епруветама лагано измешати, размотрити и објаснити добијене резултате у свих пет епрувета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:
3. епрувета:
4. епрувета:
5. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

2.12 Одређивање осмотске резистенције еритроцита

Степен отпорности (резистенције) еритроцита према хемолитичким средствима није исти код свих врста домаћих животиња. Отпорност је различита и између јединки исте врсте, а није иста ни за све еритроците крви једне јединке. Ове чињенице, као и чињеница да се у извесним патолошким стањима отпорност еритроцита према хемолитичким средствима мења, довеле су до увођења веома распрострањене методе испитивања отпорности еритроцита према хипотоничним растворима NaCl (*осмотска резистенција еритроцита* – OPE).

Метода се заснива на принципу да еритроцити, стављени у раствор NaCl који по свом осмотском притиску одговара осмотском притиску крвне плазме, не показују никакве промене. Такав раствор називамо изотоничним раствором и одговара концентрацији NaCl од 8,9 g/L (0,89%).

Еритроцити стављени у хипертонични раствор (NaCl више од 8,9 g/L, односно 0,89%) отпуштају (губе) воду и запремина им се смањује, а мембрана постаје наборана и смежурана. У хипотоничном раствору (NaCl мање од 8,9 g/L, односно 0,89%) вода улази у еритроците који бубре, попримају критичан волумен, и у зависности од степена хипотоничности долази до пуцања мембране и хемолIZE (осмотска хемолИза).

Обзиром да сви еритроцити не показују исти степен отпорности према хипотонији, прскање мембране неће наступити истовремено код свих еритроцита. Она концентрација хипотоничног раствора NaCl у којој хемолИзирају најмање отпорни еритроцити означава се као *концентрација минималне осмотске резистенције*, а гранична концентрација у којој наступа хемолИза и најотпорнијих еритроцита, тј. у којој се јавља потпуна хемолИза означава се као *концентрација максималне осмотске резистенције*. Опсег између минималне и максималне резистенције означава се као *ширина осмотске резистенције*. Просечне вредности минималне и максималне осмотске резистенције еритроцита, код домаћих животиња и човека, приказане су у табели 2.4.

Млади еритроцити, а посебно ретикулоцити (незрели еритроцити) много су отпорнији према хипотоничној средини од старијих еритроцита који се дуже времена налазе у циркулацији. Према томе, одређивање осмотске резистенције еритроцита даје податке о старосној структури еритроцита у периферној крви што је од користи код утврђивања постојања разних облика анемија.

За одређивање осмотске резистенције еритроцита у клиничке сврхе обично се користи хипотонични раствор NaCl различитих опадајућих концентрација и то до 7-3 g/L (0,7-0,3%), са разликама од 0,2 g/L (0,02%), што значи да се користи 20 раствора различитих концентрација. На тај начин се добијају прецизни подаци о осмотској резистенцији еритроцита.

Могуће је урадити и скраћени поступак са шест хипотоничних раствора NaCl где међусобна разлика у концентрацији износи 1 g/L (0,1%, 0,8-0,3%).

Табела 2.4: Просечне вредности минималне и максималне осмотске резистенције еритроцита

Врста	Концентрација минималне ОРЕ	Концентрација максималне ОРЕ
Коњ	0,59	0,39
Говече	0,59	0,42
Овца	0,62	0,48
Коза	0,62	0,48
Свиња	0,74	0,45
Пас	0,45	0,36
Мачка	0,69	0,50
Кокош	0,41	0,28
Човек	0,44	0,32

ЗАДАТАК: Одредити осмотску резистенцију еритроцита према хипотоничним растворима NaCl у распону 0,8-0,3%.

МАТЕРИЈАЛ: Цитратна крв, центрифуга, епрувете, серолошке епрувете са сталком, раствор NaCl у концентрацији 10 g/L (1%), дестилована вода, пипете.

ИЗВОЂЕЊЕ: Центрифугирати цитратну крв, одлити крвну плазму и еритроците измешати са 1-2 ml физиолошког раствора (суспензија еритроцита). У стаклук поређати шест серолошких епрувета и у њима од 1% раствора NaCl припремити хипотоничне концентрације по шеми приказаној у табели 2.5.

У сваку епрувету додати по две капи суспензије еритроцита, лагано измешати, оставити на собној температури један сат и очитати резултат.

Прва епрувета у којој се запази црвенкаста боја течности изнад талоба еритроцита представља концентрацију минималне осмотске резистенције (распали су се еритроцити који су најмање отпорни према хипотонији). Посматрајући садржај епрувета даље, према већој хипотонији, треба уочити епрувету са граничном концентрацијом NaCl у којој нема талоба еритроцита и у којој је течност са највише израженом црвеном бојом и провидна; та концентрација NaCl одговара концентрацији максималне осмотске резистенције еритроцита. Распон између минималне и

максималне осмотске резистенције представља ширину осмотске резистенције еритроцита.

Табела 2.5: Припрема хипотоничних раствора NaCl

Епрувета	1% NaCl (ml)	Дестилована вода (ml)	Добијена концентрација NaCl (%)
1.	8	2	0,8
2.	7	3	0,7
3.	6	4	0,6
4.	5	5	0,5
5.	4	6	0,4
6.	3	7	0,3

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Концентрација минималне ОРЕ:

Концентрација максималне ОРЕ:

Ширина ОРЕ:

ЗАКЉУЧАК:

2.13 Бројање леукоцита

На обојеном крвном размазу леукоцити (Le) представљају хетерогену популацију ћелија. За разлику од црвених крвних зрнаца, леукоцити (бела крвна зрнца) су ћелије које поседују једро. Округластог су облика, пречника 5 до преко 20 μm , са једром различитог облика и цитоплазмом која може бити хомогена или садржати грануле. Према томе да ли у цитоплазми садрже грануле или не, леукоцити се деле на *агранулоците* (немају грануле – лимфоцити и моноцити) и *гранулоците* (имају грануле – неутрофили, еозинофили и базофили). Број леукоцита у 1L крви код домаћих животиња и човека приказан је у табели 2.6.

Табела 2.6: Број леукоцита у 1L крви ($10^9/L$)

Врста	Број леукоцита	Врста	Број леукоцита
Говече	8 (6 - 10)	Пас	12 (8 – 18)
Овца	7,5 (6 – 10)	Мачка	10 (9 – 15)
Коза	10 (8 – 12)	Кокош	14 (5 – 25)
Свиња	9 (8 – 11)	Човек	7 (6 - 8)
Коњ	12 (8 – 12)		

Нормално, под физиолошким условима у току дана број леукоцита у периферној крви знатно варира. До знатног варирања броја леукоцита у крви долази и код разних патолошких стања и то у правцу повећања броја леукоцита у 1L крви или у правцу смањивања броја. Термини којима се означава повећање, односно смањење, укупног броја леукоцита у јединици запремине крви су:

✓ *леукоцитоза* – повећање броја леукоцита (јавља се код разних инфективних болести, гнојних процеса, запаљења, тумора, итд.) и

✓ *леукопенија* – смањење броја леукоцита (присутна је код оштећења коштане сржи јонизујућим зрачењем и тешким металима, као што су жива и олово, код узимања неких лекова, метастазе малигних тумора, итд.).

У клиничкој пракси није довољно извршити само бројање леукоцита, јер утврђена леукоцитоза или леукопенија не значи да је до тога дошло равномерним повећањем или смањењем броја свих врста леукоцита. Због тога је, поред познавања броја леукоцита у 1L крви, потребно знати и која врста леукоцита је проузроковала леукоцитозу или леукопенију и зато је потребно одредити и леукоцитарну формулу (диференцијалну крвну слику) која означава квантитативни (процентуални) однос појединих врста леукоцита (о томе ће бити речи на једној од наредних вежби).

Општа улога леукоцита је у заштити организма од страних и штетних агена. Ову улогу могу обављати захваљујући општим функционалним особинама као што су:

- ✓ фагоцитоза („прождирање“ бактерија, изумрлих ћелија, страних материја и честица, антиген-антитело комплекса и др.),
- ✓ дијапедеза (пролазак кроз зид капилара у околно ткиво),
- ✓ хемотакса (кретање према месту где се налазе материје које их привлаче),

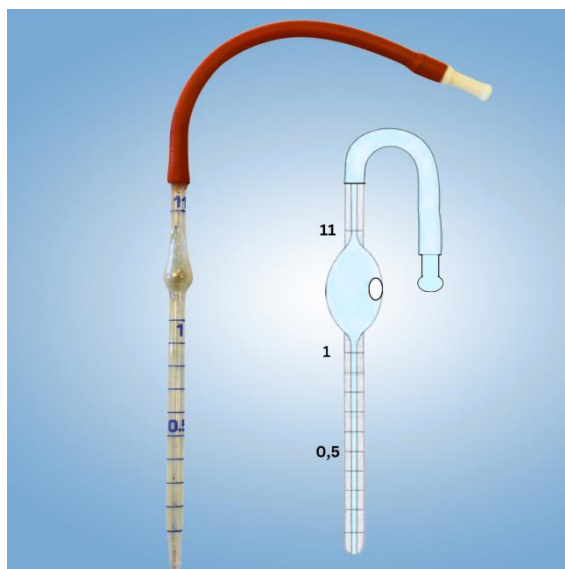
✓ поседовање ензима.

Принцип одређивања броја леукоцита састоји се у томе да се под микроскопом у коморици у запремини од 1 mm^3 изврши бројање леукоцита у разблаженој крви у којој су еритроцити хемолизирани. Крв се разблажује помоћу *Türckovog* раствора у меланжеру за леукоците.

Türckov раствор има следећи састав:

Концентрирана сирћетна киселина	2 ml
1% раствор боје генцијана-виолет	3 ml
Дестилована вода	до 300 ml

Меланжер за леукоците је сличан меланжеру за еритроците, само што је трубуasto проширење мање (у њему се налази пластична перла беле боје) и изнад проширења се налази ознака 11 (слика 2.13).



Слика 2.13: Меланжер за леукоците

Изглед коморе за бројање ћелијских елемената крви (*Neubauerove* коморе) је дат у оквиру вежбе бројања еритроцита.

ЗАДАТАК: Одредити број леукоцита у крви неке домаће животиње и/или човека.

МАТЕРИЈАЛ: Вата, алкохол, игле, микроскоп, *Türckov* раствор, меланжер за леукоците, *Neubauerova* комора.

ИЗВОЂЕЊЕ: У меланжер до ознаке 0,5 узети крв из јагодице прста човека или из епрувете са хепарисаном крви пса, а затим *Türckov* раствор до ознаке 11 (разблажење је 20 пута). Током протресања и мешања крви и раствора дошло је до разарања еритроцита (хемолiza) услед деловања сирћетне киселине, а генцијана-виолет боји једра леукоцита. Припрема и пуњење *Neubauerove* коморице исти су као код бројања еритроцита.

На малом увеличању објектива (10x) наћи целу централну мрежицу од 1mm^2 и у њој, што значи у свих 400 квадратића, избројати све леукоците и забележити њихов број. Затим у видно поље довести редом сва четири угаона квадрата од 1mm^2 (који имају 16 мањих квадрата) и у њима избројати леукоците. Исти поступак поновити и на мрежици са супротне стране поља. На тај начин су избројани сви леукоцити разблажене крви у 10 квадрата површине 1mm^2 и појединачне запремине $0,1\text{mm}^3$. Значи, добијен је број леукоцита у запремини од 1mm^3 ($10 \times 0,1\text{mm}^3 = 1\text{mm}^3$) разблажене крви. Број еритроцита у 1mm^3 крви се добија по следећој формули:

Број леукоцита у 1mm^3 крви = број избројаних леукоцита $\times 20$ (разблажење)

Број уобличених елемената крви се изражава у вредностима које одговарају једном литру крви. До те вредности се долази ако се установљени број леукоцита у 1mm^3 помножи са 10^6 .

ПРИМЕР: У 10 квадрата је избројано укупно 300 леукоцита.

$$300 \times 20 = 6000 \text{ Le у } 1\text{mm}^3 = 6 \times 10^3 \text{ Le у } 1\text{mm}^3$$

$$6 \times 10^3 \times 10^6 = 6 \times 10^9 \text{ у } 1 \text{ L}$$

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Број Le у квадратима

1. квадрат:

6. квадрат:

2. квадрат:

7. квадрат:

3. квадрат:

8. квадрат:

4. квадрат:

9. квадрат:

5. квадрат:

10. квадрат:

Укупан број Le у 10 квадрата:

Број Le у 1mm^3 =

Број Le у 1 L =

ЗАКЉУЧАК (Да ли је број Le у физиолошким границама за врсту?):

2.14 Леукоцитарна формула (Диференцијална крвна слика)

Поједине врсте леукоцита у периферној крви се међусобно разликују по грађи, изгледу и величини, као и функцији коју врше у организму. Према саставу и изгледу цитоплазме деле се на *гранулоците* (садрже специфичне грануле) и *агранулоците* (немају грануле и њихова цитоплазма је хомогена). Према афинитету гранула за боје, гранулоцити се деле на *неутрофилне*, *еозинофилне* и *базофилне гранулоците*. У агранулоците спадају *лимфоцити* и *моноцити*. У крвном размазу, обојеном мешом киселих и базних боја, поједине врсте леукоцита се разликују, идентификују и региструју, а њихов процентуални однос се означава као *леукоцитарна формула* (диференцијална слика) (табела 2.7).

Табела 2.7: Леукоцитарна формула

Врста	% од укупног броја леукоцита				
	неутрофили	еозинофили	базофили	лимфоцити	моноцити
Човек	60 - 70	2 – 4	0,5	25 - 30	6 – 8
Говече	25 - 35	2 – 5	1	60 - 65	5
Овца	25 - 35	2 – 5	1	60 - 65	5
Коза	34 - 40	2 – 5	1	50 - 55	5
Свиња	35 - 50	2 – 5	1	45 - 55	5 – 6
Коњ	50 - 60	2 – 5	1	3, - 40	5 - 6
Пас	60 - 70	2 – 5	1	20 – 25	5
Мачка	55 - 60	2 – 5	1	30 – 35	5
Кокош	25 - 30	3 – 8	1 - 4	55 – 60	10
Пацов	20 – 25	2 – 5	1	70 – 75	2 - 3

Из утврђене леукоцитарне формуле за дати узорак крви и броја леукоцита може се за сваку врсту леукоцита израчунати стварни број у 1L крви.

Одређивање леукоцитарне формуле темељи се на препознавању и идентификовању појединих врста леукоцита у крвном размазу обојеном смешом киселих и базних боја. То захтева познавање основних морфолошких карактеристика појединих врста леукоцита. Гранулоцити се од агранулоцита разликују по томе што у својој цитоплазми поседују специфичне грануле.

✓ Гранулоцити:

Неутрофилни гранулоцити (неутрофили) су нешто већег пречника од еритроцита (9-15 μm) и имају бледо ружичасту, готово безбојну цитоплазму посуту ситним неутрофилним зрнцима. Једро неутрофила је обично подељено у 1–5 сегмената (полиморфонуклеарни леукоцит).

Млади неутрофили, тек доспели у циркулацију, имају мањи број сегмената у једру (1–2) и они се у већем броју јављају у крви код свих гнојних инфекција и у почетној фази инфективних обољења. Када у крвном размазу доминирају такви неутрофили, говори се о појави „скретања у лево“, ако преовладавају неутрофили са већим бројем сегмената у једру (4-5 и више), онда се говори о појави „скретања у десно“. Овај налаз указује да се неутрофили у циркулацији не обнављају, њихово стварање је смањено што је присутно код неких општећења коштане сржи разним зрачењем и хемијским материјама.

Повећан проценат неутрофила се означава као *неутрофилија*, док се смањен проценат неутрофила означава као *неутропенија*.

Еозинофилни гранулоцити (еозинофили) имају пречник 12-18 μm . У цитоплазми се налазе специфичне грануле које имају афинитет према киселим бојама (ацидофилни гранулоцит) што им даје црвену боју која је најкарактеристичнија у еозинофилима код коња. Грануле су величине 0,5 μm , а код коња око 3 μm . Једро еозинофила има најчешће до 2 сегмента која су постављена тако да подсећају на бисаге. Нормално у циркулацији има 2-5% еозинофила. Међутим, код јединки захваћених паразитарним инвазијама или алергијским процесом, проценат еозинофила може бити 10-15%.

Повећан број еозинофилних гранулоцита се означава као *еозинофилија*. Смањен број еозинофила – *еозинопенија*, настаје код стања стреса и код парентералног давања хормона предњег режња хипофизе – АСТН.

Базофилни гранулоцити (базофили) су најмање заступљени леукоцити у периферној крви (0,5-1%) и имају пречник који се креће од 9-12 μm . У обојеном размазу једро базофила је обојено светло љубичастом бојом, обично има 2 сегмента. У цитоплазми се налази већи број тамно плаво обојених гранула величине 0,5-1 μm , које у већини случајева прикривају једро. Базофили хистолошки доста личе на мастоците који представљају ткивне фиксне макрофаге (мастоцити настају од моноцита).

Повећан број базофилних гранулоцита се означава као *базофилија*, а смањен број – *базопенија*.

✓ Агранулоцити:

Лимфоцити - зрели лимфоцит је величине 5-10 μm , премда има и већих, дијаметра 10-17 μm . Лимфоцити имају масивно једро које испуњава скоро целу ћелију, око једра је само узак појас на периферији ћелије светлоплаво обојене цитоплазме. У крви појединих врста животиња (преживара, кокоши, пацова) лимфоцити су бројно најзаступљенији леукоцити (55-65%) и због тога се каже да ове животиње поседују лимфатичну крвну слику.

Постоје две популације лимфоцита: Т-лимфоцити који су носиоци целуларног и Б-лимфоцити, носиоци хуморалног имунитета.

Повећан проценат лимфоцита се означава као *лимфоцитоза*, док се смањен проценат лимфоцита означава као *лимфопенија*.

Моноцити су највеће ћелије које се налазе у крвном размазу (око 20 μm) и око 3 пута су већи од еритроцита. Имају јасно изражену мембрану, велико једро бубрежастог или пасуљастог облика око кога се налази прилично велика количина негранулиране или слабо гранулиране цитоплазме сивоплаве боје.

Моноцитоза означава повећан број моноцита, док *моноцитопенија* означава смањен број моноцита.

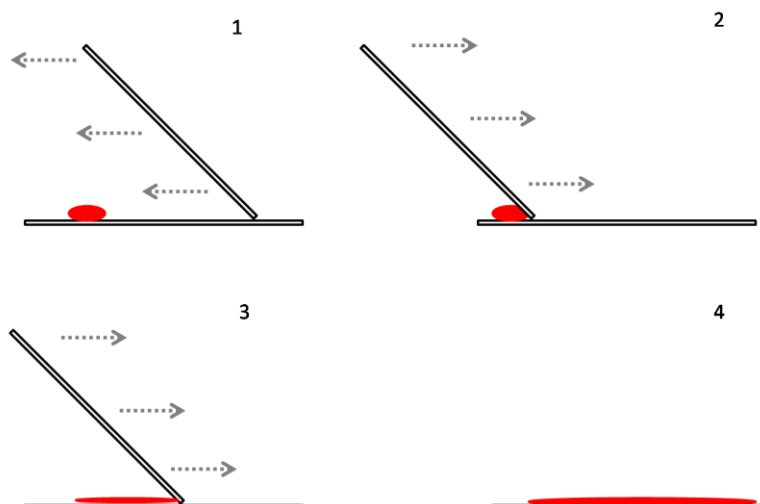
ЗАДАТАК: Одредити леукоцитарну формулу у узорку крви домаће животиње и/или човека.

МАТЕРИЈАЛ: Микроскоп са имерзионим објективом, предметна стакла, *May-Grünwald* раствор, *Giemsa*, вода, сталак за сушење и бојење крвних размаза, кедрово уље, дестилована вода. (Боје се набављају као готове за употребу.)

ИЗВОЂЕЊЕ: На један крај потпуно чистог и сувог предметног стакла ставити кап крви. Држећи предметно стакло између палца и кажипрста једне руке, другом руком прислонити уз кап крви ужу ивицу другог предметног стакла положеног под углом од 45°. Када се кап крви разлије на целу ширину предметног стакла, умереном брзином покретања руке у једном потезу повуче се горње стакло по доњем и крв се развуче по доњем стаклу (слика 2.14). Треба настојати да се крвни размаз направи правилно, а ако има више узорака крви, треба их означити.

Направљени крвни размаз оставити да се добро осуши и бојити га. Од многих начина бојења најчешће се користи бојење по *Pappenheimu*.

Осушени размаз крви поставити на стаклене пречке изнад посуде тако да један препарат не дотиче други. На размаз пипетом нанети око 2 ml *May-Grünwald* боје. Сачекати 3 минуте и не склањајући боју додати исту количину дестиловане воде и оставити да стоји 1 минут. Одлити боју са препарата и прелити га свеже припремљеним раствором *Giemse* (1-2 капи на 1 ml дестиловане воде). После стајања 15-20 минута одлити раствор *Giemse*, испрати дестилованом водом и препарат осушити. Осушени обојени крвни размаз ставити под микроскоп и прегледати под објективом који увећава 10 пута.



Слика 2.14: Прављење крвног размаза

Уочити да у препарату доминирају еритроцити који имају ружичасту боју са слабије обојеним централним делом. На овај начин је могуће запазити различита одступања у величини и облику еритроцита. Ако су еритроцити међусобно уочљиво различити по величини, ту појаву називамо *анизоцитоза*, ако доминирају велики еритроцити – *макроцитоза* или мали - *микроцитоза*. Појава већег броја ситних и крушколиких еритроцита назива се *појкилоцитоза*.

Детерминација и идентификација појединих врста леукоцита врши се помоћу већег увећања коришћењем имерзионог објектива. Ставити једну кап кедровог уља на препарат и полако мичући препарат, у видним пољима разликовати и препознати поједине леукоците и уносити бројчане податке у већ припремљену табелу (табела 2.8) све док се не прегледа и идентификује укупно 100 леукоцита.

У сваку вертикалну колону табеле убележава се по 10 леукоцита. Диференцирање леукоцита се изводи док се не испуне свих 10 вертикалних колона, што одговара броју од 100 диференцираних леукоцита. На основу података у табели приступа се одређивању процентуалне заступљености појединих врста леукоцита. Одређивање се изводи на тај начин што се саберу понаособ подаци у свакој хоризонталној колони и добијени бројеви се убележе у крајњу десну колону. Убележени бројеви показују колико се појединих врста леукоцита налази у 100 посматраних – представља диференцијалну крвну слику.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Табела 2.8: Табела за одређивање леукоцитарне формуле

Врста леукоцита	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Укупно (%)
Неутрофили											
Еозинофили											
Базофили											
Лимфоцити											
Моноцити											
Збирно	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100 %

ЗАКЉУЧАК:

ЗАДАТАК: Израчунати стварни (апсолутни) број појединих врста леукоцита у 1L крви.

ИЗВОЂЕЊЕ: Из утврђене леукоцитарне формуле и укупног броја леукоцита може се израчунати стварни број појединих врста леукоцита у 1L крви. Израчунавање се обавља по следећој формули:

Број одређене врсте леукоцита = $(\text{укупан број леукоцита} \times \text{процентуално учешће}) / 100$

ПРОСТОР ЗА РАД:

Укупан број Le = _____ /L

Неутрофили = _____ / L Лимфоцити = _____ / L

Еозинофили = _____ / L Моноцити = _____ / L

Базофили = _____ / L

ЗАКЉУЧАК:

2.15 Бројање тромбоцита

Тромбоцити (Тр) или крвне плочице су корпускуларни елементи крви, пречника 2-4 μ m, немају једро. У размазима периферне крви, посматрани светлосним микроскопом, тромбоцити имају округао, овалан, а некад и штапићаст облик. Када се активирају, испуштају псеудоподе и попримају облик морске звезде. Настају у коштаном сржи фрагментацијом велике циновске ћелије - мегакариоцита и у циркулацији живе 7-11 дана. Мембрана тромбоцита је нежна и крхка, брзо се распада у додиру тромбоцита са страном површином (зид стакленог суда, везиво испод оштећене интима крвног суда). Нагомилавање тромбоцита на месту оштећеног зида крвног суда проузрокује настанак промена на њима, а на крају и распадање и ослобађање неколико биолошких активних састојака, што је у непосредној вези са њиховом улогом у процесу хемостазе (заустављање крварења).

Број тромбоцита варира у зависности од врсте и може се битно разликовати и између јединки исте врсте (табела 2.9).

Табела 2.9: Број тромбоцита ($10^9/L$)

Врста	Број тромбоцита	Врста	Број тромбоцита
Човек	200 – 500	Коњ	200 – 500
Говече	260 – 700	Свиња	150 – 500
Овца	170 – 980	Пас	200 – 600
Коза	300 – 330	Мачка	170 - 370

Појмови којима се описује одступање броја тромбоцита изван физиолошких граница су:

✓ *тромбоцитоза* – повећање броја тромбоцита у L крви и

✓ *тромбоцитопенија* – смањење броја тромбоцита у L крви.

ЗАДАТАК: Одредити број тромбоцита у крви неке домаће животиње и/или човека.

МАТЕРИЈАЛ: Микроскоп, *Neubauerova* коморица, меланжер за леукоците, вата, алкохол, игла, раствор за разблажење, филтер папир, Петријеве шоље. Раствор за разблажење крви за бројање тромбоцита се припрема од 2 раствора: А и Б:

Раствор А:	На-цитрат	1,0 g
	HgCl ₂	0,002 g
	Бриљанткресил плаво	0,2 g

Дестилована вода

до 100 ml

Раствор Б: 3,33 моларни раствор урее

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити раствор за разблажење - узети по 5 ml раствора А и раствора Б, измешати и процедити кроз филтер папир. После убода иглом на кожи, увући у меланжер припремљени раствор за разблажење до ознаке 0,5, а затим до ознаке 1,0 увући крв и на крају до ознаке 11 увући поново раствор за разблажење крви и мешати неколико минута. Припремити и напунити комору за бројање крвних ћелија на начин како је то урађено и при бројању еритроцита и леукоцита. Комору пажљиво пребацити у влажну комору - Петријева шоља, чији су зидови обложени филтер папиром натопљеним дестилованом водом и оставити да стоји 30-60 минута. За то време ће доћи до хемолIZE еритроцита и бојења тромбоцита. Под великим увећањем микроскопа тромбоцити изгледају као творевине бледоплаве боје. Тромбоцити се броје на исти начин као и еритроцити у 80 малих квадратића, а број избројаних тромбоцита помножен са 10^9 представља број тромбоцита у 1 L крви.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

Број Тр = /L

Поред директног бројања тромбоцита, како је напред описано, постоји и индиректна метода по *Foniu*. По овој техници упоредо се на обојеном размазу крви под имерзионим објективом броје тромбоцити и еритроцити (потребно је избројати тромбоците на хиљаду еритроцита). Ако се претходно одреди број еритроцита у једној литри крви, онда се може израчунати и број тромбоцита по литри крви.

ЗАДАТАК: Одредити број тромбоцита у крви домаће животиње и/или човека индиректном методом.

МАТЕРИЈАЛ: Све што је потребно за бројање еритроцита и за прављење и бојење крвних размаза, стерилна игла, вата, алкохол и 14% раствор $MgSO_4$.

ИЗВОЂЕЊЕ: Дезинфиковати место убода (јагодица прста, ушна шкољка). На место убода ставити једну кап 14% раствора $MgSO_4$ (спречава агрегацију тромбоцита). Кроз ову кап извршити убод иглом (ланцетом). Истекла кап крви се измеша са $MgSO_4$ и штапићем пренесе на предметно стакло. Направи се танак размаз који се оставља да се осуши. Бојење осушеног размаза врши се методом по *Pappenheimu* (као и за диференцијалну крвну слику, с тим што раствор *Giemse* треба да стоји 50-60 минута). На крају се препарат испере дестилованом водом и суши на ваздуху. За то време се изврши бројање еритроцита истог узорка крви како је раније описано. Паралелно бројање тромбоцита и еритроцита обавља се под имерзионим објективом, користећи сужено видно поље (у окулар се уметне округли комадић филтер папира на чијој средини је отвор величине 5×8 mm). Препарат се постепено помера све док се не изброје тромбоцити и 1000 еритроцита (записивати упоредо у припремљену табелу број тромбоцита и еритроцита за свако видно поље).

Број тромбоцита у 1 L крви израчунава се по формули:

$$\text{Број тромбоцита /L} = \frac{E_p/L \times T_p \text{ у размазу}}{1000}$$

ПРИМЕР: Узета је крв из јагодице прста човека и утврђено је:

$$\text{Број } E_p = 5 \times 10^{12}/L$$

$$\text{Број тромбоцита у размазу на 1000 } E_p = 80$$

$$T_p/L = \frac{5 \times 10^{12} \times 80}{1000}$$

$$T_p = 400 \times 10^9/L$$

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је крв (навести врсту):

$$\text{Број } E_p = \quad /L$$

$$\text{Број } T_p \text{ у размазу на 1000 } E_p =$$

$$\text{Број } T_p = \quad /L$$

ЗАКЉУЧАК:

2.16 Време крварења

Одмах после изазване повреде – пресецања или пуцања крвног суда покреће се процес хемостазе који омогућава да се оштећење на крвном суду затвори и тако спречи даљње крварење, истицање и губљење крви. Хемостаза се може поделити на:

- ✓ Примарну хемостазу (локална вазоконстрикција и стварање хемостатског чепа) и
- ✓ Секундарну хемостазу (коагулација крви).

Прва реакција по оштећењу зида крвног суда је локална вазоконстрикција (сужење крвног суда), на то се надовезује стварање хемостатског чепа од агрегираних тромбоцита (бели коагулум), а на крају се активира биохемијски процес коагулације крви са стварањем коагулума који зачепи оштећење на крвном суду и спречи истицање крви. Након процеса коагулације може доћи до урастања везивног ткива у крвни угрушак, што трајно затвара отвор на крвном суду.

Велика важност ове функције и бројни поремећаји који могу бити урођени или се јављају током живота код читавог низа болести, довели су до увођења великог броја проба које имају задатак да укажу на евентуалне поремећаје у процесу коагулације и уопште хемостазе.

Време крварења означава време потребно да се заустави спонтано истицање крви из намерно изазване повреде ткива и крвног суда одређене величине. Колико ће времена проћи до заустављања крварења зависи од величине убода у ткиво, особина капилара, крвног притиска, броја и квалитета тромбоцита, количине ткивне тромбокиназе, итд.

Време крварења код човека износи око 1 до 3 минуте, код домаћих животиња варира од 2-3 минуте.

ЗАДАТАК: Одредити време крварења код кунића и/или човека (метода по *Duku*)

МАТЕРИЈАЛ: Стерилне игле, вата, алкохол, дугачке траке филтер папира, лабораторијски сат.

ИЗВОЂЕЊЕ: Дезинфиковати место убода на ушној шкољки кунића или јагодици прста човека и иглом извршити убод дубине 3 mm. Прву кап, која спонтано изађе из места убода, упити филтер папиром, а затим сваких 15 секунди упијати на другом месту папира створену кап. Када на ивицама филтер папира више не остаје отисак крви, значи да је престало истицање крви. Избројати број отисака на филтер папиру и поделити са 4 да би се добило време крварења у минутима.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивано је време крварења код:

Време крварења износи:

ЗАКЉУЧАК:

2.17 Време коагулације

Коагулација крви је биохемијски механизам хемостазе и представља скуп реакција каскадног типа у које су укључени састојци крвне плазме (фактори коагулације) протеинске природе, јони калцијума и фосфолипиди из ткива и тромбоцита. Крајњи резултат овог процеса је претварање растворљиве беланчевине фибриногена у нерастворљиви фибрин који се полимеризује и ствара фибринску мрежу.

Фибринска мрежа групише ћелијске елементе крви, ствара се крвни угрушак који се стабилизује, ретрахује и истискује крвни серум. До сада је откривено и описано 13 фактора коагулације, мада се сматра да у крви и у ткивима постоји најмање 30 различитих састојака који учествују у активацији коагулације крви, а неки инхибирају одвијање овог процеса. Коагулација се одвија у три фазе:

1. фаза: стварање активатора протромбина - протромбиназе (траје 5-8 минута),
2. фаза: превођење неактивног протромбина у активни тромбин под дејством активатора протромбина (траје 10 до 20 секунди) и
3. фаза претварање фибриногена у фибрин под дејством тромбина (фибрин се полимеризује, настају фибринске нити које затварају мрежу у којој се задржавају уобличени елементи и тако се формира крвни угрушак - коагулум).

Податак о одређивању времена згрушавања крви, или времена коагулације, показује колико је времена протекло од момента узимања (вађења) крви из крвног суда до почетка њене коагулације. Нормално, време коагулације је дуже од времена крварења, јер у процесу заустављања крварења учествује ткивни тромбопластин, а скраћивању времена крварења доприноси и вазоконстрикција крвног суда.

Време коагулације се по правилу одређује код пацијената пре хируршких захвата. За одређивање времена коагулације постоји неколико метода за које се као узорак за испитивање користи капиларна или венска крв.

ЗАДАТАК: Одредити време коагулације крви на предметном стаклу (капиларна крв).

МАТЕРИЈАЛ: Стерилне игле, вата, алкохол, предметна стакла, лабораторијски сат.

ИЗВОЂЕЊЕ: Након убода стерилном иглом на кожи ушне шкољке или јагодице прста прву исцурелу кап крви уклонити сувом ватом, а следећу кап пренети на чисто предметно стакло и одмах укључити лабораторијски сат. Сваких 15 секунди лаганим извртањем (нагињањем) предметног стакла проверити да ли кап крви клизи низ површину стакла. Оног момента када кап престане да се помера зауставити сат, а протекло време представља време коагулације крви.

Време коагулације одређено овом методом код човека износи 4-5, пса 2-4, а коња 7-8 минута.

ЗАДАТАК: Одредити време коагулације крви у капиларној цевчици.

МАТЕРИЈАЛ: Жилет, вата, алкохол, пластичне капиларе, лабораторијски сат, лабораторијски миш.

ИЗВОЂЕЊЕ: Миша загрејати под лампом и реп лагано зарезати жилетом. Чим се појави прва кап крви забележити време. Две или три капиларне цевчице дужине око 7 cm напуните крвљу и одложити на страну. Након две минуте, нежно одломити 1 cm цевчице. Поступак понављати сваких 30 секунди до тренутка кад се између два

одломљена дела цевчице уочи формирана фибринска нит. Забележити време као време згрушавања.

ПРОСТОР ЗА РАД

Време коагулације на предметном стаклу:

Време коагулације у капиларној цевчици:

ЗАКЉУЧАК:

2.18 Доказ значаја јона Са за коагулацију крви

Јони Са представљају четврти фактор коагулације крви (фактор IV) и неизоставан су чинилац скоро у свакој фази коагулације. Без јона Са нема процеса коагулације и многа антикоагулантна средства спречавају коагулацију на тај начин што везују јоне Са (цитрати, оксалати, флуориди, EDTA).

ЗАДАТАК: Известити згрушавање цитратне крви додавањем јона Са.

МАТЕРИЈАЛ: Цитратна крв, епрувете, пипета, водено купатило, раствор 0,25 mol CaCl_2 (5%).

ИЗВОЂЕЊЕ: Испитивање обавити у две епрувете:

1. епрувета: 3 ml цитратне крви + 0,3 ml CaCl_2 (5%)
2. епрувета: 3 ml цитратне крви (контрола)

Обе епрувете ставити у водено купатило на 39°C и после неколико минута констатовати у којој епрувети је дошло до згрушавања крви.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

2.19 Одређивање протромбинског времена

Протромбин је беланчевина крвне плазме која се синтетише у јетри. Концентрација протромбина износи око 200 mg/L и одржава се у физиолошким границама, што зависи од функционалног стања и способности ћелија јетре и присуства довољне количине витамина К. Активација протромбина у тромбин одиграва се у другој фази коагулације крви под дејством ткивног и крвног тромбопластина, јона

Са и под дејством већ створеног тромбина. Тромбин је протеолитички ензим и делује на молекул фибриногена преводећи га у фибрин. Брзина згрушавања крви директно зависи од количине створеног тромбина.

Разна оштећења и обољења јетре, авитаминоза К, поремећаји у варењу и ресорпцији масти доводе до смањења концентрације протромбина у крви, што има за последицу поремећаје у процесу коагулације крви и појаву склоности ка крварењима.

Одређивањем протромбинског времена, као лабораторијске методе, одређује се време изражено у секундама које протекне од момента додавања ткивног тромбопластина и јона Са декалцифицираној (цитратној) плазми, до момента почетка њеног згрушавања. Ово време је обрнуто пропорционално концентрацији протромбина у крвној плазми.

Протромбинско време се одређује код сумњи постојања авитаминозе К и код испитивања функционалног стања јетре неке јединке.

ЗАДАТАК: Одредити протромбинско време методом по *Quicku*.

МАТЕРИЈАЛ: Шприц са иглом, вата, алкохол, 3,8% Na-цитрат, ткивни тромбопластин (слани екстракт мозга кунића осушеног у ацетону), водено купатило, епрувете, еза, центрифуга, штоперица.

ИЗВОЂЕЊЕ: У шприц од 2 ml са 0,4 ml Na-цитрата узети до 2 ml крви, измешати и усути у епрувету за центрифугирање (15 минута на 1.500 обртаја/минути), издвојити плазму у посебну епрувету и ставити у водено купатило на 37° С. У посебној епрувети уситнити таблету тромбопластина са Са, додати 2 капи дестиловане воде и добро измешати, а онда на то додати 2,5 ml дестиловане воде и поново добро измешати и оставити у водено купатило (15 минута).

У чисту епрувету, која се налази у стакленој чаши са топлом водом (37° С), додати 0,1 ml припремљеног тромбопластина и одмах покренути штоперицу. Садржај епрувете стално мешати езом до појаве фибринских кончића (знак да је процес згрушавања почео) и тада зауставити штоперицу, прочитати и записати време.

Протромбинско време мерено овом методом просечно износи код коња 18 секунди, говечета 28, свиње 16, овце 15, козе 17, пса 10 секунди, итд.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивано је протромбинско време код:

Протромбинско време износи:

ЗАКЉУЧАК:

2.20 Ретракција коагулума

Након процеса коагулације долази до промена у самом коагулуму у тзв. постфази процеса коагулације. Промене које се дешавају у коагулуму су следеће:

- ✓ ретракција коагулума и
- ✓ фибринолиза (разградња фибринских нити под дејством плазмينا који је настао активацијом плазминогена).

Крвни угрушак који се током процеса коагулације формира на рубовима оштећеног ткива, или *in vitro* у епрувети и сл., након око једног сата скоро у потпуности се ретрахује, тј. стегне и истискује серум. Од правилности одвијања овог завршног стадијума веома много зависи ефикасност читавог процеса коагулације, а нарочито ако је у питању повреда већег крвног суда. Ток и обим ретракције зависи од:

- ✓ броја тромбоцита и
- ✓ функционалне способности тромбоцита.

Дезинтеграцијом тромбоцита ослобађа се контрактилни протеин тромбастенин, који је врло сличан актомиозину мишића. Његовом контракцијом уз разлагање АТР-а долази до ретракције фибринских конаца, они се скупљају, а угрушак се тако ретрахује и истискује крвни серум. Нижа температура смањује обим ретракције.

Ретракција коагулума као дијагностичка метода, значи мерење јачине стишкања угрушка крви *in vitro*, а изражава се волуменом истиснутог серума у процентима.

ЗАДАТАК: Одредити проценат ретракције коагулума.

МАТЕРИЈАЛ: Стерилне игле, шприцеви од 10 ml, епрувете градуисане до 5 ml, водено купатило, стаклени штапић са мрежицом на крају.

ИЗВОЂЕЊЕ: Иглом у сув и празан шприц од 10 ml венепункцијом узети крв и одмах усугути у две градуисане епрувете до ознаке 5 ml. Одмах у узорак ставити стаклени штапић са мрежом. Када се крв у епрувети згруша, епрувете ставити у водено купатило (37° C). Након два сата стајања, стаклени штапић са коагулумом се мало издигне, епрувета мало укосо наредних 5-10 минута да би се из коагулума исцедио преостали серум. Потом се стаклени штапић са коагулумом извади, а на градуисаној епрувети се чита ниво истиснутог серума.

Из података о волумену узете крви (5 ml) и волумена истиснутог серума израчуна се ретракција коагулума у процентима по формули:

$$\% \text{ ретракције} = \frac{\text{волумен истиснутог серума}}{\text{волумен узете крви}} \times 100$$

Код човека проценат ретракције коагулума се креће у распону 49-63%, гове-
чета 25-40%, пса 15-25%.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Испитивана је ретракција коагулума код:

% ретракције = %

ЗАКЉУЧАК:

2.21 Аутоматско бројање крвних ћелија

У клиничкој пракси са аспекта хематолошке претраге крви данас је незамис-
лив рад без аутоматских бројача уобличених елемената крви - хематолошких ана-
лајзера који, зависно од типа, одређују ужи или шири спектар хематолошких пара-
метара (број уобличених елемената крви, хематолошке индексе, диференцијалну
крвну слику...).

Електронски (аутоматски) бројачи уобличених елемената крви раде на прин-
ципу три методе:

- ✓ метода електричне импеданције
- ✓ проточна цитометрија и
- ✓ флуоресцентна проточна цитометрија.

3.0 Физиологија имунитета

Имунитет (од лат. *immunitas* – ослобођен од службе, пореза) је медицински појам којим се означава способност организма да се одупре и одбрани од инфекција, болести или неке друге биолошке или хемијске опасности. Имунитет функционише попут механизма чија је улога успостављање баријера против патогена (вируси, бактерије, паразита), канцерогених ћелија, штетних молекула и отрова (нпр. змијски). Свеукупни механизам одбране организма зовемо имуни систем.

Кад говоримо о имунитету треба поменути његове специфичне и неспецифичне компоненте. Неспецифичне компоненте се понашају као баријере или елиминатори великог броја патогена без обзира на њихову антигену способност. Остале компоненте имуног система прилагођавају се (адаптација) према свакој новој непознатој зарази, значи, имају (потенцијалну) способност стварања имунитета за сваку поједину врсту патогена.

Адаптивни имунитет се често дели у два главна типа, у зависности од тога на који начин је успостављен имунитет. Природно стечени имунитет се успоставља контактом са изазивачем заразе (односи се на "случајан" контакт). Вештачко стечени имунитет се стиче искључиво намерним интервенцијама, нпр. путем вакцинације. Даље, и ова два типа се могу разврставати још и према начину стицања имунитета на имунитет који је створен у самом организму (активни) и имунитет који је пренешен у дати организам из већ имуног организма (пасивни).

3.1 Хемолиза изазвана утицајем серума друге животињске врсте (серолошка хемолиза)

Хемолизу, поред средстава која су наведена раније, могу изазвати и посебна антитела из групе лизина (*хемолизини*) која се налазе у крвном серуму. Хемолизини могу да се стварају у организму као одговор на уношење страних еритроцита и називају се *имунолизини*. Међутим, код неких врста у серуму постоје хемолизини које јединка поседује већ од рођења. Таква антитела се називају *нормолизини*. Познато је да се у крвном серуму говечета налазе нормолизини који су у стању да хемолизирају еритроците кунића. Ова антитела су сложена и састоје се из две компоненте: *амбоцептор* и *комплемент*. Амбоцептор је стварно антитело, термостабилан је и специфичан (хемолизира само еритроците кунића). Комплемент је термолабилан (инактивира га температура од 57°C), неспецифичан је и потребан да би амбоцептор могао обавити хемолизу, а налази се у сваком свежем серуму. Ако се свеж серум са хемолизинима држи 10-20 минута на температури од 57°C, комплемент ће као термолабилан бити разорен, а термостабилни амбоцептор ће на тој температури остати непромењен. Такав серум се означава као инактивиран, тј. неспособан да делује хемолитички. Међутим, он постаје опет способан за хемолизу (активира се) ако му се дода мало свежег нормалног серума, пошто овај садржи комплемент, тј. дошло је до »комплетирања« антитела.

ЗАДАТАК: Доказати напред наведене тврдње.

МАТЕРИЈАЛ: Суспензија еритроцита кунића у 1% раствору NaCl, свеж говеђи серум, инактивиран говеђи серум (загревањем 20 минута на 57°C), свеж серум ку-

нића или неке друге врсте, сталак са три епрувете, пипете, капаљка, водено купатило.

ИЗВОЂЕЊЕ: У три епрувете усуги по 5 ml 1% раствора NaCl, а затим по следећем протоколу додати:

1. епрувета: 2 ml свежег говеђег серума,
2. епрувета: 2 ml инактивисаног говеђег серума
3. епрувета: 2 ml инактивисаног говеђег серума + 2 ml свежег серума кунића (или неке друге врсте)

Свакој епрувети додати по три капи суспензије еритроцита кунића, промешати и ставити пола сата у водено купатило (38°C). Забележити и прокоментарисати добијене резултате.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:
3. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

3.2 Одређивање крвних група

Крвне групе су најбоље проучене код људи с обзиром на њихов значај у медицинској пракси и клиничким, генетским и судско-медицинским истраживањима. Међутим, у последње време учињен је велики напредак у истраживању крвних група код домаћих животиња, не само због примене трансфузије крви у ветеринарској медицини, него још много више због чињенице да крвне групе имају велики значај за изучавање теоријских и практичних проблема генетике и селекције домаћих животиња.

Већ одавно је запажено да животиње најчешће угину ако се за трансфузију користи крв друге врсте (хетеролога трансфузија). Слични инциденти могу да се десе и приликом трансфузије крви исте врсте (хомолога трансфузија). Објашњења за ове појаве дао је 1900. године *Landsteiner*. Запазио је да крвни серуми неких његових колега аглутинирају еритроците крви других колега. Проучавајући ову појаву утврдио је постојање код људи АВ0 крвних група (0 = нулта крвна група) и нормално присуство у крви анти-А и анти-В антитела. Обим сазнања о крвним групама код човека и домаћих животиња је до данас знатно увећан, а савремени аспекти њиховог изучавања су битно проширени.

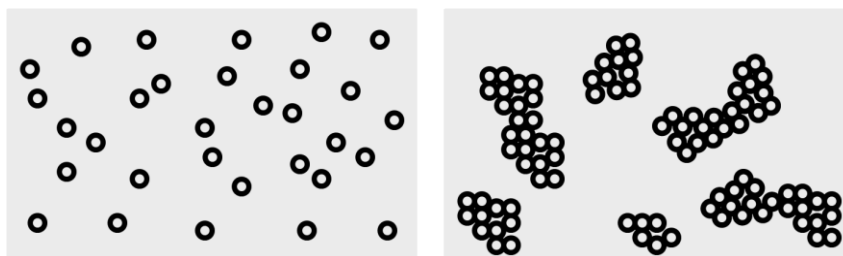
Мембрана еритроцита код човека садржи мноштво протеинских молекула међу којима се њих око 30 одликује великом антигеношћу и имуногеношћу. Две

скупине антигена у мембрани еритроцита много чешће изазивају трансфузијске реакције од осталих и називају се АВ0 систем и Rh систем. Код домаћих животиња постоји више система крвних група што њихово изучавање и одређивање чини много сложенијим него код људи.

3.2.1 АВ0 систем крвних група

Присуство антигена А и антигена В (Б) на мембрани еритроцита чини еритроците погодним за аглутинацију и означавају се као *аглутиноген А* и *аглутиноген В*. Антитела која изазивају аглутинацију добила су назив *аглутинини* (*нормоаглутинини*) и припадају класи М имуноглобулина.

Аглутинација је манифестација антиген-антитело реакције, која се карактерише сакупљањем ћелија у агломерате који се таложе због слабљења стабилности суспензије. Агломерати се могу видети под микроскопом, а некада и голим оком (слика 3.1).



Слика 3.1: Реакција аглутинације еритроцита

(лево – негативна, десно – позитивна)

У систему АВ0 крвних група људи назив крвне групе даје аглутиноген присутан на мембрани еритроцита. Еритроцити једне особе могу имати један од два аглутиногена (крвна група А, крвна група В), оба (крвна група АВ) или ниједан (крвна група 0). У крвном систему се налазе антитела, односно аглутинини анти-А и/или анти-В, али код једне особе никад заједно са одговарајућим аглутиногеном. Крвне групе АВ0 система су различито заступљене у популацији.

Табела 3.1: Приказ крвних група са припадајућим аглутиногенима и аглутининима

	Група А	Група В	Група АВ	Група 0
Еритроцити				
Аглутиногени (антигени) на еритроцитима	 Аглутиноген А	 Аглутиноген В	 Аглутиноген А Аглутиноген В	Нема
Аглутинини (антитела) у плазми	 Анти-В	 Анти-А	Нема	 Анти-А Анти-В

Одређивање крвних група код људи темељи се на принципу аглутинације еритроцита са познатим аглутининима у тест серумима. Користе се тест серуми крвне групе А (анти-В аглутинини), крвне групе В (анти-А аглутинини) и као контрола тест серум крвне групе 0 (анти-А и анти-В аглутинини).

Тест аглутинације се врши на посебној порцеланској плочици са три удубљења са ознакама крвних група изнад удубљења (с лева на десно: А, В, 0) или на обичном предметном стаклу. Мешањем еритроцита испитиване крви са тест серумима крвних група А, В и 0 установљава се којој крвној групи припада испитивана крв.

ЗАДАТАК: Одредити крвну групу АВ0 система.

МАТЕРИЈАЛ: Вата, алкохол, стерилне игле или ланцете, порцеланске плочице или предметна стакла, микроскоп, тест серуми крвних група А, В и 0.

ИЗВОЂЕЊЕ: У удубљења плочице капаљком ставити по две капи одговарајућег тест-серума по следећем протоколу:

- ✓ Удубљење А - тест серум крвне групе А (анти-В)
- ✓ Удубљење В - тест серум крвне групе В (анти-А)
- ✓ Удубљење 0 - тест серум крвне групе 0 (анти-А и анти-В)

Дезинфиковати јагодицу прста, стерилном иглом (или ланцетом) извршити убод и са три различита угла чистог и сувог предметног стакла пренети по мало крви посебно у свако удубљење на плочици.

Лаганим помицањем и нагињањем плочице измешати узорак крви и тест-серуме, сачекати 3 до 5 минута и осматривати у којим удубљењима постоји аглутинација, уочљива чак и голим оком.

За контролу је добро узети на предметно стакло по једну кап садржаја из сваког удубљења плочице па под микроскопом потврдити налаз аглутинације. У зависности од тога којој крвној групи припада крв испитаника, могућа су четири резултата.

Универзални давалац је термин који се користи за особе које имају 0 крвну групу, зато што еритроцити ове крвне групе немају аглутиногене на мембрани својих еритроцита.

Универзалним примаоцем се означавају особе АВ крвне групе, зато што се у крви ових јединки не налазе аглутинини анти-А и анти-В.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Реакција са серумом крвне групе А:

Реакција са серумом крвне групе В:

Реакција са серумом крвне групе 0:

Испитивана крв је крвне групе:

3.2.2 Rh систем крвних група

Поред поделе на АВ0 групе, постоји и резус фактор (Rh фактор), који је добио назив по мајмуну *Macacus Rhesus* код кога је и први пут откривен. Људи са Rh⁺ крвљу стварају резус протеин, док га људи са Rh⁻ крвљу не стварају. Постоји више ових антигена (C, D, E, c, d, e), а највећу антигеност и имуногеност поседује D-антиген. За особе које поседују D антиген каже се да су Rh⁺ (*Rh позитивне*), а за оне које га не поседују да су Rh⁻ (*Rh негативне*).

При трансфузији, поред АВ0 система крвних група, пази се и на овај фактор. Крвна група 0⁻ је универзални давалац, јер поред тога што не садржи ни један од два аглутиногена, она не садржи ни резус протеин. Сходно томе, АВ⁺ крвна група је универзални прималац, јер садржи сва три антигена, а не садржи антитела против ових антигена.

У систему АВ0, аглутинини који изазивају трансфузионе реакције стварају се спонтано, док се у Rh систему аглутинини готово никада не стварају спонтано. Уместо тога, особа мора бити јакo изложена Rh-антигенима, обично трансфузијом крви или када будућа Rh-негативна мајка носи плод са тим антигеном. Код трудноће, Rh фактор се наслеђује по систему доминантно-рецесивног наслеђивања. Ако је мајка Rh⁻, постоји шанса да ће дете бити Rh⁺ (под условом да је отац Rh⁺). Током порођаја, фетусна крв може да дође у контакт са крвљу из плаценте и када реагују, може да се покрене стварање имуног одговора код мајке. Мајка ће после порођаја неминовно створити антитела (имуноглобулини класе G) и трајно ће доћи до промене имунитета. Ова антитела могу проћи кроз плаценту и угрозити плод у наредним трудноћама. У ветеринарској медицини овај проблем није изражен зато што, због грађе плаценте, имуноглобулини не могу проћи у крвоток фетуса већ се уносе путем колострума.

ЗАДАТАК: Одредити Rh фактор.

МАТЕРИЈАЛ: Вата, алкохол, стерилне игле или ланцете, порцеланске плочице или предметна стакла, микроскоп, тест серум Rh⁻ крвне групе (анти-D).

ИЗВОЂЕЊЕ: Извођење и тумачење резултата као и код одређивања крвних група у АВ0 систему.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Реакција са серумом Rh⁻ крвне групе:

Испитивана крв је Rh:

ЗАКЉУЧАК:

3.2.3 Системи крвних група код животиња

Познато је да постоји висока корелација између припадности јединке једном типу крвне групе и неких особина значајних за селекцију. Због тога се одређивање крвних група код домаћих животиња, поред избегавања трансфузијских реакција, користи за искључивање родитељства (не за доказивање) и у селекцији животиња на плодност, одређене производне особине, отпорност према болестима (маститис, леукоза и др.). Због великог броја система крвних група код појединих врста домаћих животиња, могуће је извршити тестирање компатибилности крвних група даваоца и примаоца крви – унакрсни тест. У овом случају се не одређује сама крвна група већ само да ли ће доћи до трансфузијске реакције. Овај тест се користи и у хуманој медицини, након одређивања крвних група, у циљу утврђивања постојања присуства других антигена који могу изазвати трансфузијску реакцију.

Због чињенице да се трансфузија крви најчешће изводи код паса и мачака у даљем тексту су описани системи крвних група само код поменутих врста.

На основу присуства одређених антигена на мембрани еритроцита може се одредити крвна група код паса. Класификација крвних група је извршена на основу DEA (*Dog Erythrocyte Antigens*) система и до данас је откривено седам разлигитих антигена (DEA 1.1, 1.2, 1.3, DEA 4, DEA 3, DEA 5 и DEA 7), а различитим комбинацијама ових антигена, до данас је описано 13 различитих крних група. Углавном пси немају антитела против било ког од антигена присутних на сопственим еритроцитима нити против антигена које не поседују, осим ако претходно нису били изложени контакту са другим антигеном (трансфузија).

Отприлике 40% паса је позитивно на DEA 1.1, што значи да поседују овај антиген на мембрани својих еритроцита. Уколико се DEA 1.1 негативном псу путем трансфузије да DEA 1.1 позитивна крв, приликом поновљене (друге) трансфузије DEA 1.1 позитивне крви, може се развити акутна трансфузијска реакција, која је праћена хемолизом еритроцита донора, појавом грознице, повраћањем, едемом лица као и стањима као што су диспнеја и шок. Хртови, боксери, ирски вучји хртови, немачки овчари, добермани и пит булови су генерално негативни на DEA 1.1. Расе које су чешће DEA 1.1 позитивне су златни ретривери и лабрадори.

DEA 4 антиген је заступљен на мембрани еритроцита скоро код свих паса (98%). Пси који поседују само DEA 4 протеин сматрају се универзалним даваоцима. Универзални давалац/донор значи да су ти пси у стању да безбедно дају крв псима са различитим крвним групама. Чак до 75% добермана има само крвну групу DEA 4, што их чини добрим донорима.

DEA 3 и 5 се обично не налазе код већине раса паса, међутим око 20% хртова има DEA 3, а око 30% хртова DEA 5. Сматра се да DEA 3, DEA 5 и DEA 7 позитивни пси нису добри донори.

Крвне групе код мачака се одређују присуством или одсуством одређених антигена који се налазе на мембрани еритроцита. Мачке имају 4 познате крвне групе, А, В, АВ и MiC. Упркос сличности у номенклатури, антигени у мачјој АВ крвној групи нису серолошки повезани са антигенима људске АВ0 крвне групе. Тип А је најчешће заступљен код мачака. Одређене расе имају већу преваленцију типа В. Тип АВ је реткост, док је тип MiC тек недавно откривен и недовољно

истражен. Пацијентима се одређује крвна група да би се помогло у поклапању донора и примаоца и да би се идентификовали парови за размножавање који су потенцијално изложени ризику да изазову хемолитичку анемију код њиховог потомства. Нажалост, оно што разликује мачке од људи је чињеница да код њих не постоји 0 крвна група (крвна група без антигена), а самим тим ни „универзални донор“. Мачке природно имају антитела против антигена крвне групе која им недостаје. Стога се безбедна трансфузија крви код мачака може извести само између јединки које припадају истој крвној групи. Често се дешава да мачке које имају крвну групу В свом потомству које је А крвне групе путем колострума преносе анти-А антитела што доводи до хемоллизе црвених крвних зрнаца мачића.

У циљу испитивања компатибилности крних група код животиња користи се унакрсни (Cross-match) тест, који може открити присуство антитела у плазми реципијента на еритроцитне антигене донора.

С обзиром да се код паса ретко јављају урођена антитела на антигене које не поседује јединка на својим еритроцитима, овај тест се у хитним стањима не мора изводити уколико се ради о првој трансфузији за реципијента (примаоца). Међутим, уколико се ради о другој трансфузији, тест се обавезно мора извести. Насупрот томе, унакрсни тест се мора извести и приликом прве трансфузије крви код мачака, јер су у њиховој плазми присутна урођена антитела на антигене страних крвних група.

ЗАДАТАК: Извршити тестирање компатибилности крвних група унакрсним (Cross-match) тестом код паса.

МАТЕРИЈАЛ: Прибор за узимање крви, центрифуга, пипете, епрувете, капаљка, порцеланске плочице или предметна стакла, микроскоп.

ИЗВОЂЕЊЕ: Венепункцијом узети крв од пса и издвојити крвни серум (поступак је описан у вежби добијања крвне плазме и серума). На порцеланску плочицу или предметно стакло пренети две капи крвног серума реципијента. У серум додати мало крви или суспензије еритроцита пса донора. Сачекати 3 до 5 минута и осматрити у којим удубљењима постоји аглутинација (појава ситних грудвица), уочљива чак и голим оком. За контролу узети на предметно стакло једну кап садржаја и под микроскопом потврдити налаз аглутинације. Присуство аглутинације указује на некомпатибилност крвних група.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Реакција са серумом:

ЗАКЉУЧАК:

4.0 Физиологија кардиоваскуларног система

Срце са крвним судовима – артеријама, капиларима и венама – представља затворени систем у коме непрекидно кружи крв потискивана снагом срчаних контракција. Циркулаторни систем се може посматрати као транспортни систем који, путем крви, континуирано допрема кисеоник и хранљиве материје до ткива и свих ћелија организма, одводи CO_2 и друге продукте метаболизма до плућа и бубрега, разноси по организму хормоне и друга биолошки активна једињења која регулишу функционалну активност ћелија.

Кретање крви у затвореном систему крвних судова (хемодинамика) детерминисано је са три основне величине или параметра:

- ✓ Проток,
- ✓ Притисак и
- ✓ Отпор.

Проток представља количину крви која прође кроз неко место у циркулацији изражену у ml/минути или L/сат. Укупни проток крви у циркулаторном систему у току једног минута назива се минутни волумен срца. Проток крви одређују друга два параметра: разлика притисака између почетног и завршног дела крвног суда (градијент притиска) и отпор протицању крви.

Крвни притисак је сила којом крв делује на јединицу површине зида крвног суда и изражава се у милиметрима живиног стуба (mmHg), односно у килопаскалима (kPa).

Отпор је сила која се противи току крви и зависи од дужине и пречника крвног суда, као и од вискозности крви.

На основу морфолошких и функционалних карактеристика, циркулација се дели на *системску циркулацију (велики крвоток)* и *плућну циркулацију (мали крвоток)*.

Срце снажним ритмичким контракцијама под знатним притиском убацује артеријску крв у почетни део аорте, а венску у плућну артерију, чиме се остварује довољно велики градијент притиска између почетног и завршног дела великог и малог крвотока. Захваљујући градијенту притиска, крв непрекидно кружи кроз систем крвних судова крећући се из дела крвотока са вишим притиском ка сегментима са нижим притиском. Срчани залисци (атриовентрикуларни и семилунарни), као и залисци у неким венама, обезбеђују једносмерно кретање крви у кардиоваскуларном систему. Срце представља централни, моторни део кардиоваскуларног система. Лева и десна срчана комора за време систоле истисну приспелу крв у аорту, односно плућну артерију, пунећи се изнова за време дијастоле. За контракције срчаног мишића и правилну функцију срца као пумпе веома су важне физиолошке особине срца:

- ✓ Понашање по закону „све или ништа“ (на пражни надражај срчани мишић реагује максимално);

- ✓ Рефрактарност у току целе систоле (миокард је неподражљив на екстра надражаје);
- ✓ *Franck-Starlingov zakon* (снага и величина контракције миокарда пропорционална је почетној дужини мишићних влакана, односно степену пуњености комора крвљу);
- ✓ Аутоматизам рада је посебна физиолошка карактеристика срца која се огледа у способности срца да се контрахује и у условима када се налази ван организма.

Носилац аутоматизма срчаног рада је систем за стварање и спровођење импулса (СССИ) који се налази у структурама срчаног мишића, а састоји се од специјализованих мишићних влакана (Пуркинијева влакна).

Синоатријумски (СА, Keith-Flackov) чвор код сисара представља малу скупину Пуркинијевих влакана у зиду десне предкоморе испод и медијално од ушћа горње шупље вене. Код жабе се налази у проширењу вене при предкоморама (венозни синус). Главна карактеристика ових ћелија је да им се мембрана спонтано деполярише без надражаја ван срца и из тог разлога ова скупина се још назива биолошки пејсмејкер, јер са овог места почиње ширење таласа деполяризације кроз читав систем срчаног мишића након чега следи контракција миокарда. Дакле, СА чвор је предводник срчаног ритма или примарни центар аутоматизма.

Атриовентрикуларни (АВ, Aschoff-Tawarin) чвор или секундарни центар аутоматизма срца налази се у зиду десне коморе сасвим близу фиброзне преграде која раздваја предкоморе од комора. Улога АВ чвора је двострука: провођење импулса са предкомора на коморе и успоравање (кочење) преношења импулса у трајању од 0,1 секунде што омогућава да се систола предкомора заврши пре него што почне систола комора. Трећа, могућа улога АВ чвора је преузимање предводника ритма у случајевима престанка активности СА чвора.

Хисов сноп представља масиван сноп Пуркинијевих ћелија (влакана) који се пружа од АВ чвора и одмах на почетку међукоморне преграде грана се на леву и десну грану све до врха срца, а затим се настављају у разгранат систем Пуркинијевих влакана која се завршавају на мишићним влакнима миокарда зида комора.

У нормалним условима ритмичке контракције срчаног мишића одвијају се под дејством електричних надражаја који спонтано настају у СА чвору. Овај сопствени аутоматизам и укупни рад срца прилагођава се потребама организма. У противном, срце ће увек радити приближно истом фреквенцом, без обзира да ли је организм у стању мировања или неког физичког напрезања.

Срце сисара изоловано из организма може да настави да се контрахује дуго времена ако се постави у комору са посебним условима у погледу температуре, концентрације кисеоника као и сталног протока физиолошког раствора сложеног састава кроз велике коронарне крвне судове. Изоловано срце жабе не захтева неке посебне услове; довољно је обезбедити сталну перфузију физиолошког раствора једноставног састава – Рингеров раствор за жабе (састав је дат у табели 4.1) да би срце наставило са контракцијама и више од једног сата након изолације (то ће бити

запажено током наредних вежби). Ова физиолошка особина је последица способности срца да само ствара импулсе за свој рад.

Жаба представља погодан објект за извођење огледа на срцу, што ће током наредних вежби омогућити демонстрацију и доказивање одређених физиолошких својстава срца. Будући да се огледи изводе на изолованом жабљем срцу *in situ* или потпуно изолованом срцу, потребно је познавати основне морфолошке карактеристике срца жабе. Срце жабе се састоји из две преткоморе и једне коморе; СА чвор се налази у зиду венозног синуса (сједињење вена у проширење пре уласка у десну предкомору).

Табела 4.1: Рингеров раствор за жабе

Састојак	Процентуално учешће
NaCl	0,65%
KCl	0,02%
CaCl ₂	0,02%
Дестилована вода	до 100%

4.1 Наркоза жабе

Хумани рад са лабораторијским животињама је један од основних постулата у раду са њима, а уједно представља и моралну и законску обавезу. Ово подразумева примену наркозе у циљу спречавања излагања непотребној патњи, болу и стресу. Ова процедура уједно омогућава и лакши рад и манипулацију са лабораторијским животињама.

По завршетку огледа, уколико је телесни интегритет трајно нарушен или то захтева протокол огледа потребно је извршити еутаназију лабораторијске животиње.

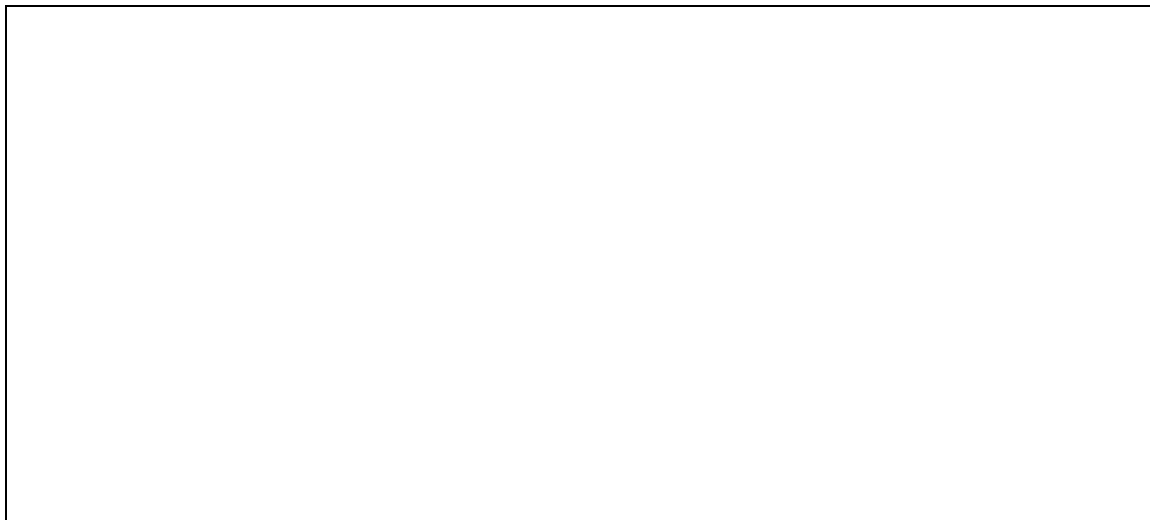
ЗАДАТАК: Извршити наркозу жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Жаба, етар, вата, тегла, 10% раствор уретана, шприц са иглом, лабораторијски сат.

ИЗВОЂЕЊЕ: Ставити жабу у обичну стаклену теглу, убацити вату добро натопљену етром, а затим поклопити. Када је жаба постала непокретна (адинамија екстремитета) значи да је наркотисана. Констатовати колико је времена било потребно да се жаба уведе у наркозу.

Наркоза се може извести и убризгавањем 1ml 10% раствора уретана у дорзалну лимфну кесу.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

Наркоза је извршена помоћу:

Време потребно за наркозу жабе:

ЗАПАЖАЊА:

4.2 Посматрање крвотока у покожици за пливање и језику жабе

Метода микроскопског посматрања микроциркулације *in vivo* има велики значај у проучавању функције овог важног подручја циркулације. На овај начин је могуће пратити промене лумена малих крвних судова (артериола, капилара, венула) под утицајем различитих фактора (хуморални и нервни утицаји, локално деловање топлоте, итд.).

ЗАДАТАК: Посматрати микроскопом крвоток у покожици за пливање и језику жабе.

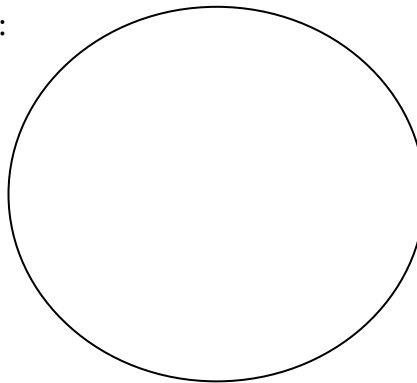
МАТЕРИЈАЛ: Жаба, етар, вата, тегла, дашчица (плоча) за фиксирање и препарирање, конци за фиксирање, микроскоп, метални статив са држачем, предметно стакло са прстеном од плуте, чиоде, Рингеров раствор, капаљка.

ИЗВОЂЕЊЕ: Етром лагано наркотисану жабу фиксирати на плочицу у трбушном положају тако да је један задњи екстремитет слободан. Покожицу за пливање између два прста слободног екстремитета разапети чиодама на прстен од плуте прилепљен на предметно стакло и посматрати под микроскопом са увећањем објектива 10X. У случају да се струјање крви у крвним судовима не уочава, треба покожицу мало олабавити. Током посматрања повремено покожицу навлажити накапавањем Рингеровог раствора собне температуре.

Сва запажања у току посматрања потребно је описати и то у погледу разликовања појединих крвних судова, брзине кретања крви у средишњим деловима крвног суда у односу на периферне делове (уз зид суда), разликовати еритроците од крвне плазме, итд.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Скицирати са модела и обележити:



ЗАПАЖАЊА:

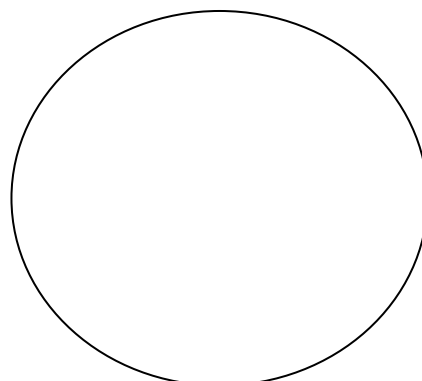
ЗАДАТАК: Посматрати микроскопом крвоток у језику жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Жаба, етар, вата, тегла, дашчица (плоча) за фиксирање и препарирање, конци за фиксирање, микроскоп, метални статив са држачем, предметно стакло са прстеном од плуте, чиоде, Рингеров раствор, капаљка.

ИЗВОЂЕЊЕ: Скинути покожицу за пливање и пинцетом извући језик (корен језика се код жабе налази на предњем крају усне шупљине) и разапети га на прстен од плуте и поновити посматрање. Затим на препарат ставити 2-3 капи Рингеровог раствора загрејаног на температуру од око 40°C и пратити које промене се дешавају на посматраним крвним судовима.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Скицирати са модела и обележити:



ЗАПАЖАЊА:

4.3 Припрема препарата жабљег срца *in situ*

Срчани рад може бити модификован многобројним факторима (лекови, температура, дејство појединих јона, итд.) чији се ефекат најчешће испољава променом срчане фреквенције или снаге контракције. Ове промене најједноставније је регистровати на кимографу, на који се покрети срца преносе помоћу специјалне полуге за регистровање.

Испрепарирати неки орган *in situ* (у овом случају ради се о срцу жабе) значи извршити одређене хируршке захвате да би се приступило органу и припремити га за извођење одређеног огледа, а да притом тај орган (срце) и даље буде у свом анатомском положају и морфолошко-функционалној вези са организмом.

ЗАДАТАК: Припремити препарат жабљег срца *in situ*. Разликовати основне морфолошке карактеристике и одредити срчану фреквенцију.

МАТЕРИЈАЛ: Жаба, етар, вата, тегла, плоча и конци за фиксирање, пинцете, маказе (мање и веће), Рингеров раствор, капаљка.

ИЗВОЂЕЊЕ: Наркотисати жабу и фиксирати је у леђни положај на плочу за фиксирање. У пределу ксифоидног завршетка на грудној кости пинцетом подићи кожу и маказама је просећи. Затим рез проширити ка спољашњим угловима доње вилице и тако исечени троугласти део коже пребацити преко доње вилице и отсећи. Пре наставка рада потребно је добро опрати руке и инструменте, јер секрет коже делује штетно на ткива.

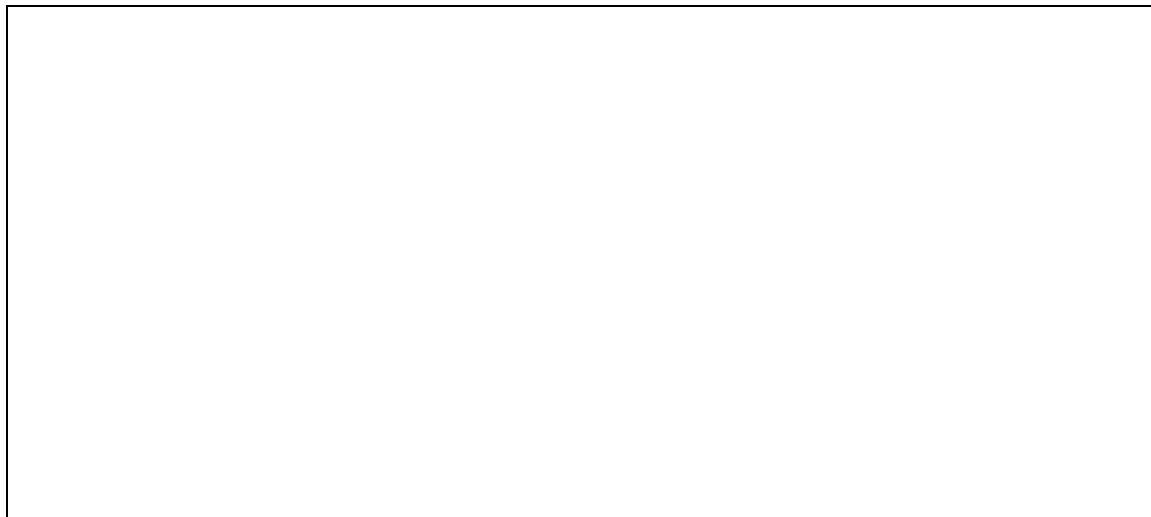
Скицирати поступак са модела:



Затим се на исти начин одстране и мишићи и кости на том делу (кључне кости морају се пресећи, јер отвор треба да иде преко њих). Кроз тако начињен отвор видеће се срце обавијено перикардом. Перикард се пажљиво ухвати пинцетом, пресеке маказицама и склони са срца, пазећи да се срце не оштети. Да би се срце потпуно ослободило, потребно је пресећи френулум (*plica pro bulbi*) која се уочава кад се врх срца пинцетом мало подигне. Френулум треба подвезати кончићем близу срца и пресећи тако да лигатура остане уз срце. Тако ослобођено срце посматрати: разликовати венски синус, преткоморе, комору, *truncus arteriosus* који излази из ко-

море, ритмички рад срца. Број срчаних контракција у минути обично се краће и једноставније назива *срчана фреквенција* (срчана фреквенција жабе је око 40 откуцаја у минути).

Скицирати поступак са модела:



Повремено по срцу накапати неколико капи Рингеровог раствора. Препарат припремљен на овај начин ће бити коришћен за извођење неколико огледа на вежбама.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Фреквенција срчаног рада је: /мин

ЗАПАЖАЊА:

4.4 Утицај температуре на фреквенцију срчаног рада

Срчана фреквенција знатно варира, како обзиром на животињску врсту, тако и индивидуално. Познато је да промена температуре организма доводи до промене срчане фреквенције. Повећана температура убрзава ензимске процесе и дифузију јона, при чему се скраћује време настанка импулса у СА чвору и убрзава простирање импулса кроз проводни систем. Са тим у вези, повишена телесна температура изазива *тахикардију* (повећање срчане фреквенције), а снижена температура изазива *брадикардију* (смањење фреквенције).

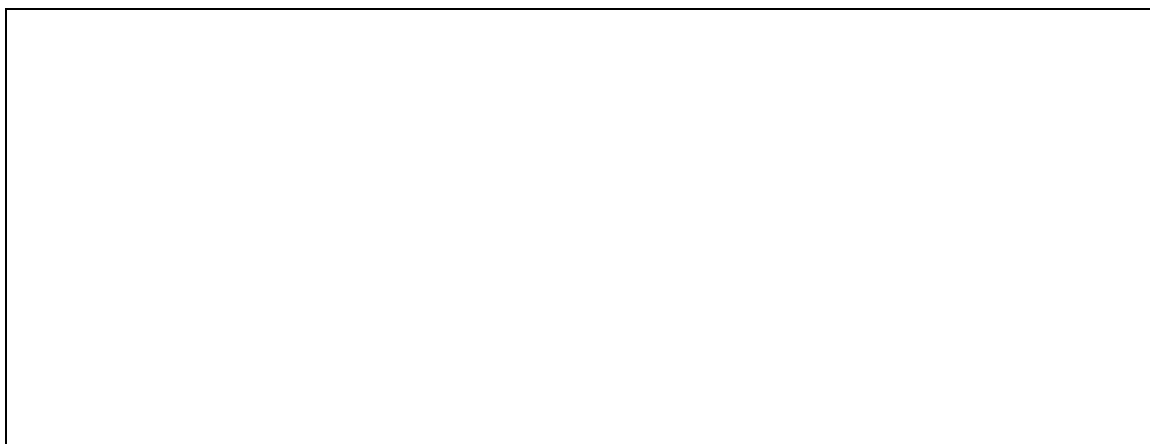
ЗАДАТАК: На жабљем срцу *in situ* приказати утицај хладног и топлог Рингеровог раствора на срчану фреквенцију.

МАТЕРИЈАЛ: Жаба, вата, етар, тегла, плоча и конци за фиксирање, маказе, пинцете, Рингеров раствор загрејан на око 40°C, расхлађен Рингеров раствор (бочица са Рингеровим раствором у посуди са ледом), филтер папир, капаљке, полука за регистравање, статив, кимограф.

Кимограф је уређај помоћу којег се може вршити регистровање механичких догађаја (срчани рад, мишићна контракција и сл.). Механички догађаји се региструју на ваљку кимографа (нагављени ваљак или обложен папиром) помоћу полуге са писачем. Ваљак се окреће (брзина се може подешавати) помоћу електро-мотора или навијањем опруге па се запис може правити током одређеног временског периода.

ИЗВОЂЕЊЕ: Испрепарирати жабље срце *in situ*. На вршак срца убости удицу или ставити металну штипаљку са концем који је у вези са полугом за регистровање коју треба прислонити уз добош кимографа (обезбедити споро обртање добоша).

Скицирати поступак са модела:



Пре испитивања утицаја хладног и топлог Рингеровог раствора на срчану фреквенцију потребно је извршити регистровање нормалног рада срца и одредити срчану фреквенцију. Затим капаљком нанети по 2-3 капи прво хладног, а затим топлог Рингеровог раствора на комору (пре огледа поставити око срца на граници између преткомора и коморе филтер папир у циљу спречавања контакта Рингеровог раствора са венозним синусом). Извршити запис и бројање фреквенције, те све поновити делујући хладним и топлим Рингеровим раствором на венозни синус.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Срчана фреквенција пре апликације хладног и топлог Рингеровог раствора:

Срчана фреквенција након апликације хладног Рингеровог раствора на комору:

Срчана фреквенција након апликације топлог Рингеровог раствора на комору:

Срчана фреквенција након апликације хладног Рингеровог раствора на венозни синус:

Срчана фреквенција након апликације топлог Рингеровог раствора на венозни синус:

ЗАКЉУЧАК:

4.5 Станијусове лигатуре

Аутоматизам срчаног рада испитивао је Станијус постављајући подвезе (лигатуре) на срцу жабе. Ако се на прелазу венозног синуса у десну преткомору постави и затегне лигатура (*прва Станијусова лигатура*) спречава се ширење импулса из венозног синуса (СА чвор) у остале делове срца; преткоморе и комора престају са радом извесно време, а затим започиње са контракцијама, али мањом фреквенцијом. Уколико се одмах после прве постави и друга лигатура на атриовентикларној граници (*друга Станијусова лигатура*), преткоморе и даље мирују у дијастоли, а комора започиње са радом али са мањом фреквенцијом. Са обе лигатуре венозни синус и комора срца се контрахују различитом фреквенцијом, док преткоморе мирују, јер је механички спречено ширење импулса.

Првом Станијусовом лигатуром се изолује примарни центар (СА чвор) од осталог дела срца, а другом лигатуром механички се дражи секундарни центар (АВ чвор). Дакле, овим огледом се доказује локализација и хијерархијски поредак елемената система за стварање и провођење импулса у срцу.

ЗАДАТАК: Првом и другом Станијусовом лигатуром доказати места у срцу у којима се налазе центри за стварање импулса.

МАТЕРИЈАЛ: Сав прибор потребан за препарацију жабљег срца *in situ*, кимограф, полука за регистровање, Рингеров раствор, капаљка, конач.

ИЗВОЂЕЊЕ: Жабље срце *in situ* спојити са полуком за регистровање као у претходној вежби. Регистровати нормалне контракције и записати фреквенцију.

Провући конач око венозног синуса уз саму границу са десном преткомором и затегнути лигатуру (*прва Станијусова лигатура*): преткоморе и комора престају са контракцијама, мада синус и даље пулсира. На добошу кимографа оцртава се равна линија.

За доказ да срце није изгубило способност контраховња, него је само престало да добија импулсе, надражити га механички (боцнути га врхом игле) при чему одмах реагује једном систолом. Већ је речено да ће срце након извесног времена почети поново да се контрахује, што значи да поред синуса постоји и неко поново друго место које је седиште центра за аутоматски рад срца.

Да би се одредило где се то место налази, после прве лигатуре поставити другу лигатуру на атриовентикларној граници у спољашњем жлебу који се уочава. Друга Станијусова лигатура се затеже постепено до оног момента када срце почиње поново да ради, јер је механички надражен АВ чвор. Одредити број контракција у минути и записати резултате.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

Запажања након постављања прве Станијусове лигатуре:

Запажања након постављања друге Станијусове лигатуре:

ЗАКЉУЧАК:

4.6 Утицај дражења *nervus vagusa* на рад срца

Приликом препарације изолованог жабљег срца доказано је да је срце аутоматски орган тј. да оно ствара властите импулсе за контракцију. Међутим, у организму постоји низ механизма (хуморалних и нервних) помоћу којих се врши стално регулисање фреквенције и снаге контракције срчаног мишића. Задатак ових механизма састоји се у томе да они осигурају правилну координацију и подешавање рада срца према потребама организма као целине и појединих његових делова.

Нервну контролу рада срца врши вегетативни нервни систем путем нервних влакана симпатикуса (*nervi accelerantes cordis* – потичу највећим делом из *ganglion stellatum*) и парасимпатикуса (гране вагусног нерва – *rami cardiaci nervi vagi*). Нервни центри за вршење ових функција смештени су у продуженој мождини: *кардиоакцелераторни* и *кардиоинхибиторни центри*.

Срчани мишић, као и други унутрашњи органи, добро је инервисан од стране симпатикуса и парасимпатикуса. Симпатикусна нервна влакна инервишу све структуре срчаног мишића, почевши од центара за стварање и провођење импулса, па до сваке ћелије миокарда преткомора и комора. Парасимпатикусна нервна влакна инервишу одређене структуре у срцу: огранци десног вагуса инервишу ћелије СА чвора, а огранци левог вагуса АВ чвор и миокард преткомора, док у структура-

ма миокарда комора нема огранака вагусних нерава. Механизам регулације се са-стоји у симулацији (симпатикус) или инхибицији (парасимпатикус) биофизичких, односно биохемијских процеса у миокарду који су одговорни за рад срца.

Стимулативно дејство симпатикуса на срце, као резултат дражења симпати-кусних влакана, испољава се у следећим ефектима:

- ✓ Убрзава се стварање импулса у центрима срчаног аутоматизма, нарочито у СА чвору, услед чега се повећава фреквенција срчаног рада – тахикардија (*позитивно хронотропно дејство*);
- ✓ Појачава се снага контракција миокарда преткомора и комора (*позитивно инотропно дејство*);
- ✓ Повећава се раздражљивост миокарда (*позитивно батмотропно дејство*) и
- ✓ Повећава се брзина провођења импулса и скраћује временски размак између контракција преткомора и комора (*позитивно дромотропно дејство*).

Подражавањем вагуса добијају се супротни ефекти: *негативно хронотропно, инотропно, батмотропно и дромотропно дејство*.

У условима које је могуће обезбедити на вежбама могуће је уочити и регистровати ефекте дражења вагуса на рад срца као негативно хронотропно дејство (брадикардија) и донекле као негативно инотропно дејство (смањивање снаге срчане контракције – мања амплитуда записа на кимографу). Подражавање вагуса је могуће извести рефлексним дражењем (*Goltzov* оглед) и директном стимулацијом вагуса учесталим надражајима - помоћу електростимулатора.

ЗАДАТАК: Извести *Goltzov* оглед и директно дражење *n. vagusa* на жабљем срцу *in situ*.

МАТЕРИЈАЛ: Све што је потребно за препарацију жабљег срца *in situ*, кимограф, полука за регистровање, електростимулатор или индукциони апарат за учестале подражаје, игласте електроде (чиоде), стаклени штапић.

Електростимулатор је уређај којим се може вршити надраживање различитих структура (мишићно ткиво, нерви). Електростимулатором се могу апликовати електрични импулси различитог интензитета (волтаже) и учесталости (појединачни, фреквентни).

ИЗВОЂЕЊЕ: Жабље срце *in situ* спојити са полугом за регистровање, при спором окретању добоша кимографа регистровати и записати број контракција у минути. Затим извршити неколико кратких и оштрих удараца стакленим штапићем по зиду абдомена жабе (*Goltzov* оглед) и констатовати смањење фреквенције срчаног рада услед рефлексног подражавања *n. vagusa*. У овом огледу механички се надражују рецептори у перитонеуму са којих се симпатикусним влакнима настали импулси преносе на кардиоинхибиторни центар, а затим преко вагуса до срца.

Други део вежбе изводи се директним дражењем огранка вагуса фреквентним наддражајима помоћу електростимулатора или индукционог апарата са танким проводницима, а као електроде могу послужити две обичне чиоде. Једну чиоду убо-сти у ткиво изнад лука аорте, а другу са десне стране – латерално и изнад *sinus venozusa*. При спором окретању кимографа регистровати нормалан рад срца, одреди-ти фреквенцију и извршити подраживање фреквентним наддражајима. Треба конста-товати смањење фреквенције срчаног рада или, потпуно заустављање рада срца. Након прекидања дражења, инхибиторни ефекат дражења вагуса (негативно хроно-тропно дејство) траје још извесно време, после чега срце почиње поново да се кон-трахује, али у почетку смањеним ритмом. Некад се може десити да се овим поступ-ком дражења постигне супротан ефекат. У том случају треба променити положај електрода и поновити оглед.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Запажања при индиректном дражењу *n. vagusa*:

Запажања при директном дражењу *n. vagusa*:

ЗАКЉУЧАК:

4.7 Рефрактарност срчаног мишића и екстрасистола

У нормалним условима срце се контрахује ритмички под утицајем импулса из примарног центра (СА чвор). Уколико у току његове контракције (систоле) у срце доспе ванредни наддражај (екстранаддражај), оно неће реаговати контракцијом, што га разликује од скелетног мишића. Према томе, срчани мишић је рефрактаран (ненадражљив на екстра наддражај) у току трајања целе фазе систоле. Овај период ненадражљивости назива се период апсолутне рефрактарности срчаног мишића. Међутим, ако се на срчани мишић у фази опуштања срца (дијастола), делује екстра наддражајима неколико пута јачег интензитета од оних који настају у срцу током нормалног подражавања, може се произвести поновна контракција срца или екстра-систола. Овај период се назива период релативне рефрактарности. Екстрасистола је или мања од претходне спонтане систоле, или равна њој, али није већа. Пауза након екстрасистоле обично је дужа (компензаторна пауза). Прва наредна спонтана систо-ла после екстрасистоле обично је већа него претходна спонтана, а услед пуњења ко-море крвљу због дуже паузе (*Franck-Starlingov* закон рада срца).

Описане особине срчаног мишића указују на то да код срца нема могућности настанка сложених контракција-тетануса или грча мишића, што је могуће код ске-летног мишића. Скелетни мишић је рефрактаран само у току трајања акционог по-тенцијала за време латентне фазе која траје свега 3,5 милисекунде. Након тога, у фази скраћивања мишића, способан је да реагује на наредни наддражај (описано у вежби из физиологије мишића).

Понашање срчаног мишића у складу са напред наведеним чињеницама од велике је важности да би срце могло обављати функцију која му је намењена.

ЗАДАТАК: Доказати постојање апсолутне рефрактарности и изазвати екстрасистолу на жабљем срцу *in situ*.

МАТЕРИЈАЛ: Користити исти материјал који је коришћен у претходној вежби.

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити препарат жабљег срца *in situ*, срце спојити са системом за регистровање срчаних контракција. За подражавање срца се користи електростимулатор са појединачним надражајима са танким проводницима као електродама. Слободан крај једног проводника закачи се за кукицу којом је срце везано за полугу за регистровање, а други проводник пажљиво се омота око базе срца. Подесити брзину кретања кимографа да се јасно виде криве контракције, регистровати неколико спонтаних контракција, а затим почети подражавати срце појединачним надражајима из електростимулатора супрамаксималним интензитетом, по једанпут за време систоле, дијастоле и паузе. Скицирати добијени запис и означити га (систоле, екстрасистолу, компензаторну паузу, постекстрасистолу).

ПРОСТОР ЗА РАД:

Скица записа са ваљка кимографа:

ЗАКЉУЧАК:

4.8 Препарација жабљег срца на Штраубову канилу

Код овог препарата жабље срце се потпуно изолује из организма, односно прекида се и анатомска и физиолошка веза са организмом. Већ је раније речено да срце изоловано из организма може да се контрахује неколико сати ако се обезбеде посебни услови. Срце жабе обично се изолује на Штраубову канилу испуњену Рингеровим раствором за жабе.

ЗАДАТАК: Изоловати срце из тела жабе на Штраубову канилу.

МАТЕРИЈАЛ: Сав прибор који је потребан за препарисање жабљег срца *in situ* и Штраубова канила.

ИЗВОЂЕЊЕ: Препарација је потпуно иста као и код препарације жабљег срца *in situ*, тј. препарација се наставља на ту препарацију. Након препарације жабљег срца *in situ* пинцетом провући конач испод почетног дела оба крака *truncus arteriosus* и припремити омчу (лигатуру) око артерија. Подићи мало у вис *truncus arteriosus* и пажљиво одвојити везивно ткиво које повезује лукове артерија. Окренути плочу са жабом тако да је глава жабе сада окренута према оператору, малим финим маказама

засећи леви огранак аорте и затим у отвор пажљиво увести врх каниле која је претходно напуњена до 1/3 Рингеровим раствором. Вршак каниле полако и пажљиво потискивати према комори док коначно не уђе у шупљину коморе.

Да је врх каниле у шупљини коморе препознаје се по томе што се комора нагло смањи и крв која је ушла у канилу показује пулзације синхроне са систолом коморе. Сада се раније припремљена лигатура (омча) чврсто стегне око аорте и уског дела каниле, начини још један чвор и канила тиме фиксира у аорти. Помоћу капалке се извуче крв из каниле и канила неколико пута испере Рингеровим раствором. Иза лигатуре и места увођења каниле извршити пресецање оба крака аорте, срце на канили мало подигнути и око венозног синуса на граници према венама припремити лигатуру, чврсто је подвезати пазећи да синус остане у вези са осталим делом срца. Ако је лигатура добро постављена, срце задржава своју нормалну функцију. На крају је још потребно извршити пресецање иза лигатуре на синусу и подићи канилу са потпуно изолованим срцем из организма, поставити у сталак и припремити за даље огледе.

Скицирати поступак са модела:



Да би срце могло да се нормално контрахује, потребно је често мењати Рингеров раствор у канили и повремено по спољашњој површини срца накапавати Рингеров раствор.

ЗАПАЖАЊА:

4.9 Испитивање утицаја повећане концентрације јона калијума и јона калцијума на рад изолованог срца жабе

За нормално функционисање ћелија свих ткива у организму неопходно је одржавање хомеостазе, тј. динамичке равнотеже сталности концентрација различитих супстанција у екстрацелуларној течности. Промене у концентрацији појединих елемената ван физиолошких варијација и/или нарушавање њиховог међусобног односа, одразиће се мање или више штетно на ћелије или чак може довести до њи-

хове смрти. Срце је нарочито осетљиво на промене концентрације минералних јона и то првенствено јона калијума и калцијума.

Ако екстрацелуларна течност садржи превише јона К (или нормално, али без јона Са), срце се екстремно опусти, а фреквенција и амплитуда контракција се смањују. Врло високе концентрације К јона могу проузроковати потпуну блокаду провођења импулса кроз срце и заустављање рада у максималној релаксацији (заустављање у фази дијастоле). Објашњење за ово је чињеница да вишак јона К у екстрацелуларној течности узрокује смањење мембранског потенцијала свих ћелија па тако и Пуркинијевих ћелија у СА чвору.

Повећање концентрације јона Са у екстрацелуларној течности појачава контрактилност срца; у почетку контракције постају знатно дуже и снажније, а затим се срце заустави у стању максималне контракције (у систоли). Ово је резултат директног стимулацијског ефекта јона Са на контракцију мишићних влакана срца.

Испитивање дејства ових катјона у високим концентрацијама могуће је извести на изолованом срцу сисара при чему је потребно обезбедити много сложеније услове за рад него ако се оглед изводи на изолованом срцу жабе. Већ је раније констатовано да срце жабе, да би нормално функционисало у изолованим условима, треба често преливати Рингеровим раствором који, поред 0,65% NaCl, садржи 0,02% растворе KCl и CaCl₂. У току рада на овој вежби утврдиће се да изоловано срце жабе не може нормално да се контрахује ако у физиолошком раствору недостају К и Са; односно, да је за нормалан рад срца неопходно присуство сва три катјона.

ЗАДАТАК: Испитати утицај непотпуног Рингеровог раствора (само 0,65% NaCl) и јона К и Са у вишку у Рингеровом раствору на рад изолованог жабљег срца на Штраубовој канили.

МАТЕРИЈАЛ: Као и у вежби изолације жабљег срца на Штраубову канилу, нормалан Рингеров раствор, 0,65% раствор NaCl, 0,1% KCl у Рингеровом раствору, 0,2% CaCl₂ у Рингеровом раствору, капаљке, кимограф, полуга за регистровање.

ИЗВОЂЕЊЕ: Изоловати жабље срце на Штраубову канилу. Канилу са изолованим жабљим срцем ставити у посебан сталак и спојити срце са полугом за регистровање. Добро испрати срце и канилу нормалним Рингеровим раствором (да не буде трагова крви у канили), регистровати неколико спонтаних контракција и одредити фреквенцију срчаног рада. Помоћу капаљке одстранити из каниле Рингеров раствор и другом капаљком додати око 1ml 0,65% NaCl, регистровати контракције и када се постигне изразито смањење амплитуде контракција, канилу испрати неколико пута нормалним Рингеровим раствором. Након што се срце опоравило, на исти начин као и претходно, Рингеров раствор у канили заменити, прво са 0,1% KCl у Рингеровом раствору, а затим са 0,2% CaCl₂ у Рингеровом раствору. Између сваког додавања раствора испрати канилу и срце нормалним Рингеровим раствором. Испод сваког записа на папиру кимографа означити третман који је извршен.

При извођењу ових огледа потребно је водити рачуна да се за сваки раствор користи посебна капаљка.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Скицирати запис са кимографа:

ЗАКЉУЧАК:

4.10 Утицај адреналина и ацетилхолина на рад изолованог срца жабе

Вегетативни нервни систем делује на срце посредством хемијских супстанција – медијатора, који се ослобађају на нервним завршечима у тренутку када до њих доспе импулс. Пошто изазове ефекат, медијатор се брзо разлаже и нервни завршетак постаје поновно способан да нови импулс преко медијатора пренесе на срце. Хемијски медијатори симпатикуса су норадреналин и адреналин, а парасимпатикуса – ацетилхолин.

Адреналин има дејство на рад срца исто као и када је надражен симпатикус, а ацетилхолин као парасимпатикус, без обзира да ли су до срца доспели путем крви или су ослобођени импулсима нервних завршетака на ефектору. Сличне ефекте изазивају и у *in vitro* условима.

ЗАДАТАК: Испитати утицај адреналина и ацетилхолина на рад изолованог срца жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Као и у вежби изолације жабљег срца на Штраубову канилу, кимограф, полука за регистровање, Рингеров раствор, основни раствор адреналина 1:1000, основни раствор ацетилхолина 1:10000, капаљке.

ИЗВОЂЕЊЕ: Извршити све припреме као и у вежби испитивања утицаја повећане концентрације јона калијума и јона калцијума, регистровати спонтане контракције срца и одредити фреквенцију срчаног рада. Одстранити Рингеров раствор из каниле и додати раствор адреналина (0,2ml основног раствора адреналина у 10ml Рингеровог раствора). Констатовати повећање фреквенције и амплитуде срчаних контракција (позитивно хронотропно и инотропно деловање). Након испирања каниле и срца нормалним Рингеровим раствором и после нормализације срчаног ритма, додати у канилу Рингеров раствор са ацетилхолином (неколико капи основног раствора у 10ml Рингеровог раствора). Уочити успорење ритма и смањење снаге контракције (висина амплитуде на запису се смањује) или заустављање рада срца у дијастолу (негативно хронотропно и инотропно деловање).

ПРОСТОР ЗА РАД:

Скицирати запис са кимографа:

ЗАКЉУЧАК:

4.11 Аускултација срчаних тонова

Срчани тонови су звучне појаве које прате рад срца. Иако у физичком и музичком смислу они нису прави музички тонови са правилним и константним вибрацијама, већ неправилни тонови – шумови, означавају се срчаним тоновима да би се разликовали од патолошких појава при променама на срчаним залисцима или сужењима срчаних отвора који се називају срчани шумови. Нормални срчани тонови су краткотрајни, а шумови представљају пролонгиране звучне појаве које се чују у нормално нечујним интервалима срчане револуције. Срчани тонови се најбоље могу чути на зиду грудног коша у међуребарним просторима и та места где се ове звучне појаве најбоље чују називају се *puncta optima* или *puncta maxima*. То су, уствари, места пројекције срчаних залистака и отвора срчаних шупљина на површини грудног коша. Она су одређена за сваку врсту животиња и у ветеринарској пракси се користе за аускултацију (ослушкивање) срчаних тонова код уобичајених прегледа срца.

Срчани тонови се, осим методом аускултације, могу регистровати и методом фонокардиографије. Ова метода се изводи помоћу осетљивог апарата – фонокардиографа, а добијени запис се назива фонокардиограм.

Током активности срца јављају се четири срчана тона. Први и други срчани тонови су главни и могу се аускултирати код човека и животиње прислањањем уха или слушалица (фонедоскоп, стетоскоп) на грудни кош у пределу срца. Трећи и четврти срчани тонови су споредни и могу се регистровати методом фонокардиографије.

Први срчани тон (систолни тон) је синхрон са систолом комора и настаје у току изометријске контракције миокарда комора. По квалитету је дубок, мање ограничен и продужен (развучен). Најважнија компонента у његовом стварању је затварање и затезање атриовентрикуларних залистака на самом почетку систоле комора, када притисак услед изометријске контракције миокарда почне да расте и пренесе се на крв у коморама. Поред тога, у настанку првог срчаног тона учествују затезање и вибрација миокарда комора у изометријској фази контракције, као и отварање семилунарних залистака на крају изометријске и на почетку изотонусне фазе контракције комора. На фонокардиограму први срчани тон има 6-11 осцилација. При аускултацији се чује као глас „ЛАБ“.

Други срчани тон (дијастолични тон) је синхрон са дијастолом комора – настаје на самом почетку дијастоле. У његовом настајању учествују само семилунарни залиски и то њихово затварање, затезање и вибрација, што се догађа на самом почетку дијастоле комора када притисак у аорти и *a. pulmonalis* буде већи од притиска у коморама, односно када су стечени услови да се крв врати назад према срцу (што се нормално не дешава). Други срчани тон је резак (оштар), јасан, добро ограничен и кратко траје, а на фонокардиограму има 4-6 осцилација. При аускултацији подсећа на изговарање „ТАБ“.

Трећи срчани тон (мезодијастолични тон) настаје на почетку средње трећине дијастоле комора. Последица је осцилаторног кретања крви између зидова комора подстакнуто приливом крви из преткомора. Не може се чути, осим при већем физичком напору, али се може регистровати. Када се при већем физичком напору,

уз главне срчане тонове, чује и трећи срчани тон та појава се означава као „галопни ритам“.

Четврти срчани тон (пресистолични тон) настаје када контракцијом преткоморе потиснута крв изазове вибрације коморе сличне онима као код трећег срчаног тона. Такође се не може чути, али се може регистровати.

ЗАДАТАК: Аускултирати први и други срчани тон на псу и/или човеку.

МАТЕРИЈАЛ: Фонедоскоп, вата, алкохол.

ИЗВОЂЕЊЕ: Дезинфиковати крајеве фонедоскопа који се стављају у слушни канал уха. Уочити и палпацијом пронаћи место на левој страни грудног коша где се најбоље палпира удар срчаног врха – *ictus cordis* (код коња у 4.-6. интеркосталном простору, код говеда и свиња 3.-5., код месоједа 4.-7., код свих у доњој трећини то-ракса, близу стернума, са леве стране). Левак фонедоскопа ставити на то место и избегавати свако трење које може да омета правилну аускултацију. Према напред датом опису треба разликовати први и други срчани тон.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Срчани тонови су аускултирани код (навести врсту):

ЗАПАЖАЊА:

4.12 Систолни и минутни волумен

Систолни волумен (СВ) је количина крви која се током једне контракције (систоле) срца истисне у аорту, односно *a.pulmonalis*. Систолни волумен леве коморе је приближно једнак систолном волумену десне коморе (мање разлике постоје због физиолошког шанта). Овај волумен не представља сву количину крви која се у коморама затекла на крају дијастоле или почетку систоле - *пресистолни волумен*. Систолом се у артеријски систем истисне око 43% пресистолног волумена. Након систоле у комори остаје око 57% крви - *постсистолни волумен*. Већи део ове крви може се јачом контракцијом истиснути из коморе и тако повећати систолни волумен (резерва срца).

Чак и након најснажније контракције срца у коморама остаје мањи део крви - *резидуална крв* или *резидуални волумен*. Значај резидуалног волумена се огледа у томе што се коморе и при већој фреквенци и јачим контракцијама увек довољно пуне крвљу. Величина систолног волумена зависи од врсте (величина срца) и потреба организма за крвљу у датом тренутку. Код сисара просечно износи од 0,45 до 1,5 ml/kg телесне масе.

Минутни волумен (МВ) је запремина крви коју лева комора истисне у аорту у току једног минута. Минутни волумен је једнак производу систолног волумена и

фреквенције рада срца (постоји обрнута сразмера између фреквенце и степена пуњености комора крвљу). Превелико повећање фреквенце може значајно да смањи минутни волумен (позитивна повратна спрега) и доведе до хиповолемичног шока. Повећан мишићни напор доводи до повећања минутног волумена (чак и до 5 пута).

Минутни волумен се може одредити следећим методама:

- ✓ Директне (хируршке) методе – прецизне, али захтевају отварање грудног коша (користе се само у експерименталне сврхе) и
- ✓ Индиректне (хемијске) методе (користе се у клиничке сврхе).

ЗАДАТАК: На основу задатих параметара, добијених индиректном методом, израчунати минутни волумен код коња и/или човека.

ИЗВОЂЕЊЕ: Индиректне методе одређивања срчаног минутног волумена се заснивају на два принципа (методе):

1. *Fickov* принцип (количина неке супстанце коју из артеријске крви преузме неки орган у јединици времена једнака је производу разлике концентрације те супстанце у артеријској и венској крви (А-В разлика) и протока крви у јединици времена). За ово је потребно одредити укупну количину O_2 коју организам преузме у плућима за 1 минут (помоћу респирометра) и разлику у концентрацији O_2 између артеријске крви из било које доступне артерије и венске крви из *a. pulmonalis*. Минутни волумен се израчунава на основу следеће формуле:

потрошња кисеоника у плућима (ml/min)

$$MV = \frac{\text{концентрација кисеоника у артеријској крви} - \text{концентрација кисеоника у венској крви (ml/L)}}{\text{разлика концентрација кисеоника у артеријској и венској крви (ml/L)}}$$

2. Индикатор – дилуциона метода (одређивање степена дилуције неког индикатора – неутралне боје или радиоактивног изотопа). За ову методу је потребно убризгати индикатор интравенски и сваких 5 секунди узорковати артеријску крв и одредити концентрацију индикатора. Минутни волумен се израчунава на основу следеће формуле:

запремина индикатора (L) $\times$ концентрација индикатора (mg/L)

$$MV = \frac{\text{запремина индикатора (L)} \times \text{концентрација индикатора (mg/L)}}{\text{просечна концентрација индикатора (mg/L)} \times \text{време (min)}}$$

ПРОСТОР ЗА РАД:

Израчунавање на основу *Fickovog* принципа:

Потрошња кисеоника у плућима = _____ ml/min

Концентрација кисеоника у артеријској крви = ml/L

Концентрација кисеоника у венској крви = ml/L

МВ = L/min

Израчунавање на основу индикатор – дилуционе метода:

Запремина индикатора = L

Концентрација индикатора = mg/L

Просечна концентрација индикатора = mg/L

Време = мин

МВ = L/min

ЗАКЉУЧАК:

4.13 Пулс (*bilo*)

Осцилације еластичног зида аорте, које настају проширивањем њеног почетног дела за време сваке систоле и враћањем у почетни положај за време дијастоле, преносе се у виду таласа дуж артеријског крвотока све до артериола. Те ритмичке осцилације артеријских зидова називају се пулс или *bilo*. Брзина простирања пулсног таласа у аорти износи 3-5 m/s и повећава се према мањим артеријама где износи и до 35 m/s. Идући од аорте ка мањим артеријама висина пулсног таласа постаје све мања, тако да у артериолама и капиларима осцилације потпуно нестају, што је резултат повећаног отпора у овим крвним судовима у чијем зиду се налазе глаткомишићне ћелије. Испитивање пулса се врши палпацијом (пипањем) неке од артерија на периферији, која има тврду коштану подлогу, а сама палпација пулса представља обавезни део клиничког прегледа у хуманој и ветеринарској медицини.

Пулс се може регистровати и помоћу сфигмографа (сфигмографија), а на запису разликују се узлазна грана која одговара систоли леве коморе и силазна која одговара дијастоли, а на тој силазној грани се налази мали екстразубац - дикротни зубац.

Палпација пулса се врши нежним притиском јагодица друго, трећег и четвртог прста на неку површину артерије (не сувише малу) која испод себе има коштану подлогу. Код људи пулс се палпира на *a. radialis*, *a. femoralis* и др. У ветеринарској медицини за ту свху користи се код копитара и великих преживара *a. Faci-*

alis, а код мањих преживара, паса и мачака *a. femoralis*. Палпацијом пулса утврђује се стање срца и крвотока утврђивањем својстава и квалитета пулса:

✓ Фреквенца пулса (број пулсних осцилација у минути):

Pulsus normalis – фреквенца пулса у физиолошким границама (табела 4.2);

Pulsus frequens – убрзан пулс (при тахикардији);

Pulsus rarus – успорен пулс (при брадикардији).

Табела 4.2: Физиолошка фреквенца пулса (/min)

Врста	Фреквенца пулса	Врста	Фреквенца пулса
Говече	60-80	Мачка	80-100
Коњ	28-44	Живина	преко 200
Пас	80-100	Човек	60-80

✓ Висина пулса:

Pulsus magnus / altus – висока амплитуда пулсног таласа;

Pulsus parvus – ниска амплитуда пулсног таласа.

✓ Тврдоћа пулса:

Pulsus durus – тврд пулс (већа затегнутост зидова крвних судова);

Pulsus molis – мек пулс (мања затегнутост зидова крвних судова).

✓ Ритам пулса:

Pulsus ritmicus – ритмичан пулс;

Pulsus aritmicus – аритмичан пулс.

✓ Брзина одигравања пулсне осцилације:

Pulsus celer – брзо одигравање пулсне осцилације;

Pulsus tardus – споро одигравање пулсне осцилације.

✓ *Pulsus filiformis* - пулс који се тешко палпира

✓ *Pulsus insensibilis* - пулс који се не може палпирати

ЗАДАТАК: Код човека и неке од животиња на описаном месту палпирати пулс и анализирати његове особине.

ИЗВОЂЕЊЕ: На означеним местима поставити јагодице другог, трећег и четвртог прста и нежно притискати артерију према коштаном подлози која се налази испод ње. У јагодицама прстију осећа се тада сваки талас пулса као удар. При томе избројати фреквенцију пулса и записати.

Обратити пажњу на следеће квалитете пулса: фреквенција, висина пулса, тј. величина екскурзије артеријског зида за време сваког пулног удара, брзина одигравања пулсне осцилације (време настајања и нестајања пулса), тврдоћа пулса (затегнутост, напетост зида артерије) и ритам пулса.

Након палпације у стању мировања, палпирати пулс и након физичке активности (чучњева, пењања уз степенице и сл.) и констатовати разлику.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Запажања (пре физичке активности):

Запажања (након физичке активности):

ЗАКЉУЧАК:

4.14 Мерење крвног притиска

Крвни притисак представља силу којом крв делује на јединицу површине зида крвног суда. Мерење крвног притиска се врши код већих артерија (артеријски притисак): код крупних животиња на горњем делу репа (*a. coccygea*), код малих на задњем екстремитету (*a. femoralis*), а код човека на надлактици (*a. brachialis*). Артеријски притисак ставарају: срце, снагом контракције леве коморе и еластични зидови артерија које се након истезања враћају у првобитно стање. Артеријски притисак обезбеђује стални проток крви у циркулационом систему и тако допремањем крви до капилара ствара услове за сталну размену материја између крви и ткивне течности. Због тога је вредност артеријског притиска важан параметар изоструктуре организма са бројним хомеостатским механизмима који га одржавају у физиолошким границама.

Притисак у аорти и великим артеријама варира током срчаног циклуса. Највишу вредност (*сistolни притисак*) достиже при крају систоле, а затим опада током дијастоле. Најнижа вредност притиска (*дијастолни притисак*) јавља се на почетку систоле комора, непосредно пред отварање семилунарних залистак. Разлика

између вредности систолног и дијастолног притиска назива се *пулсни притисак*. Често се користи и појам *средњи артеријски притисак* и у клиничкој пракси се израчунава тако што се вредност дијастолног притиска увећа за $\frac{1}{3}$ пулног притиска. Највиши притисак у васкуларном систему влада на почетку аорте, док је најнижи на ушћу шупљих вена у срце – централни венски притисак.

Крвни притисак се може мерити директним и индиректним методама. Директне методе мерења крвног притиска се углавном користе у експерименталним условима, мада се користе и у клиничким испитивањима. Заснивају се на увлачењу каниле или катетера у неку од артерија (каротидна, феморална) која се преко еластичне гумене или пластичне цеви доводи у везу са мерним уређајем за регистровање притиска. Цео систем треба да буде испуњен физиолошким раствором и антикоагулансом (хепарин). Као мерни уређај може да се користи живин манометар, али много прецизнији подаци се добијају ако се користе уређаји који механичке промене превode у електрични сигнал (*transducer*).

Код људи и домаћих животиња у клиничке сврхе примењује се индиректна метода мерења артеријског притиска и то аускултационом и палпационом техником. За мерење се користи апарат који се састоји од гумене манжетне, гумене пумпе са вентилом и живиног манометра (сфигмоманометар по *Riva Rocci*) који је гуменим цревом повезан са манжетном. У последње време у употреби су мерачи крвног притиска различитог изгледа и конструкције, али им је принцип рада сличан или исти (Слика 4.1).



Слика 4.1: Сфигмоманометар по *Riva Rocci*

ЗАДАТАК: Измерити крвни притисак индиректним методом користећи палпациону и аускултациону технику.

МАТЕРИЈАЛ: Сфигмоманометар по *Riva Rocci*, фонедоскоп (стетоскоп), вата, алкохол.

ИЗВОЂЕЊЕ: Палпационом методом се одређује само систолни притисак на следећи начин: ставити манжетну око надлактице, затим при затвореном вентилу помоћу гуменог балона у манжетну упумпавати ваздух. Истовремено другом руком палпи-

рати пулс на руци на којој се обавља мерење. Упумпавање ваздуха у манжетну треба прекинути оног тренутка када се више не осећа пулс. Тада је притисак у манжетни већи од оног у артерији, она је потпуно компримована и изостаје ширење пулсног таласа дистално од места компресије. Током читавог поступка потребно је пратити висину живиног стуба.

Сада је потребно полако, сасвим мало, отворити вентил да ваздух из манжетне може лагано излазити. Пажљиво пратити када се поново осети пулс, висина стуба живе тада показује величину систолног притиска (у mmHg или kPa). На овај начин измерена је вредност крвног притиска методом потпуног затварања артерије. Ради увежбавања мерење поновити неколико пута.

Након овог мерења потпуно отворити вентил и узети фонедоскоп, ставити у слушни канал, а други крај поставити испод доњег руба манжетне, а изнад места пројекције артерије. Затворити вентил и упумпати ваздух, аускултирајући артерију и пратећи висину живиног стуба (или скалу) манометра.

Током упумпавања ваздуха, у једном тренутку се чује сасвим слаб шум, затим ће шум постати јачи и јаснији, да би даљим упумпавањем ваздуха шум потпуно исчезао. Тада је артерија потпуно компримована.

Отворити мало вентил и полако испуштати ваздух. У тренутку када се притисак у манжетни изједначи са артеријским, зид артерије затрепери и преко фонедоскопа се чује јасан и јак шум (I шум по *Korotkovu*), затим овај шум постаје слабији да би се, у једном тренутку, поново јасније чуо (II шум по *Korotkovu*) и онда нагло изгубио. Висина живиног стуба код појаве I шума одговара вредности систолног притиска, а код II шума – дијастолном притиску. Ове звучне појаве су последица турбулентног тока крви кроз делимично компримован артеријски крвни суд. Након мерења крвног притиска у стању мировања, измерити притисак након физичке активности (чучњева, пењања уз степенице и сл.) и констатовати разлику.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Пре физичке активности:

Након физичке активности:

Систолни притисак =

Систолни притисак =

Дијастолни притисак =

Дијастолни притисак =

Пулсни притисак =

Пулсни притисак =

Средњи артеријски притисак =

Средњи артеријски притисак =

ЗАКЉУЧАК:

4.15 Регистровање биоелектричних струја срца

Биоелектричне струје срца се региструју дијагностичком методом која се назива *електрокардиографија* (ЕКГ). Акциони потенцијали (деполаризације и реполаризације) миокарда настају као резултат подражаја од стране импулса који је настао у СА чвору и системом за спровођење импулса био пренет до свих ћелија миокарда. Од срца се биоелектричне струје преносе, захваљујући електролитима присутним у свим телесним течностима и ткивима, до површине тела. *Електрокардиограф* региструје те разлике у потенцијалима (реда величине mV) између електрода.

У зависности од промене поларитета ћелијских мембрана миокарда за време акционог потенцијала електрокардиограф региструје разлике у потенцијалима као позитивне или негативне отклоне, односно као изостанак разлике у потенцијалима (изоелектрична линија, базална линија) за време када је ћелија у потпуности поларизована или деполаризована.

Када је срчана мишићна ћелија поларизована не постоји електрична активност па електрокардиограф повезан преко електроде на површини тела региструје равну изоелектричну линију. После стимулације почиње процес деполаризације. Долази до брзе промене у наелектрисањима између спољашње и унутрашње стране ћелијске мембране и тај талас се шири целом дужином ћелије, а затим се преноси до електроде. Ову разлику у потенцијалима електрокардиограф региструје као позитиван отклон – зубац. Када се цела ћелија деполарише више не постоји разлика у потенцијалима што електрокардиограф региструје као изоелектричну линију. Са почетком реполаризације јавља се нова разлика у потенцијалима. Поново долази до промене у наелектрисањима између спољашње и унутрашње стране ћелијске мембране и овај талас се преноси до електроде. Ову разлику у потенцијалима електрокардиограф региструје као негативан отклон – зубац.

ЕКГ се може регистровати на следеће начине:

✓ **Биполарно регистровање**

I одвод/деривација – позитивна електрода на левом предњем екстремитету а негативна на десном предњем екстремитету

II одвод/деривација - позитивна електрода на левом задњем екстремитету а негативна на десном предњем екстремитету

III одвод/деривација - позитивна електрода на левом задњем екстремитету а негативна на левом предњем екстремитету

✓ **Униполарно регистровање**

Појачани одводи са екстремитета:

aVR - позитивна електрода на десном предњем екстремитету

aVL - позитивна електрода на левом предњем екстремитету

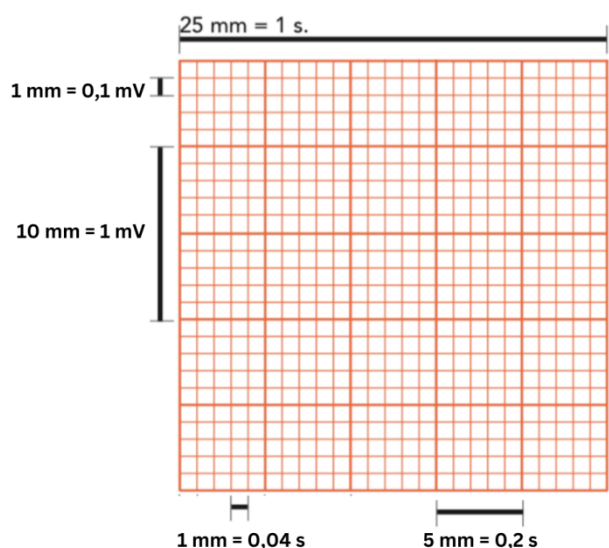
aVF - позитивна електрода на левом задњем екстремитету

Прекордијални одводи:

V_{1-6} – позитивна електрода се поставља на торакс на тачкама пројекције појединих делова срца.

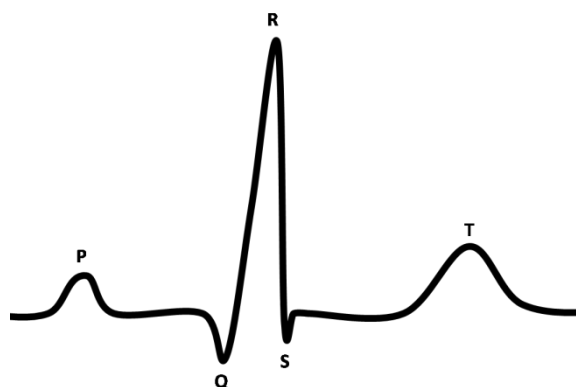
Остали екстремитети су код униполарног регистровања повезани са негативном електродом.

Запис који се добија помоћу електрокардиографа назива се *електрокардиограм*. За записивање електрокардиограма се користи трака милиметарског папира. Папир се приликом штампе стандардно креће брзином од 25 mm/s, при чему сваки хоризонтални милиметар (мали квадратић) траје 0,4 s, а већи квадрат дужине 5 mm траје 0,20 s. На сваких 5 mm линије су подебљане ради лакше оријентације. У вертикалној равни на ЕКГ папиру мери се волтажа. Апарат се стандардно калибрише да потенцијали јачине 1 mV изазивају отклон од 10 mm у вертикалној равни (Слика 4.2).



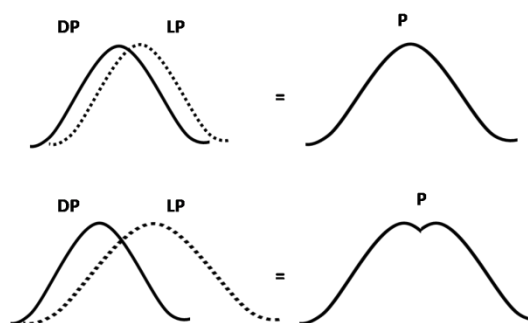
Слика 4.2: ЕКГ папир – хоризонтални милиметри представљају време, а вертикални амплитуду

На слици 4.3 је приказан изглед електрокардиограма (физиолошки) добијен I одводом. Изглед електрокардиограма се разликује код различитих одвода/деривација (зубци и комплекси могу бити различитих амплитуда или поларизације).



Слика 4.3: Електрокардиограм

Зубац-*P* представља зубац деполаризације предкомора. Он има позитиван отклон зато што се талас деполаризације простире од базе срца ка његовом врху. Овај зубац представља процесе деполаризације обе преткоморе и код великих животиња може бити удвојен зато што процес деполаризације започиње у десној преткомори и затим се шири на леву предкомору (слика 4.4).



Слика 4.4: *P*-зубац код малих (А) и великих (Б) животиња

(*DP* – десна предкомора, *LP* – лева предкомора)

За време *PQ*-интервала талас деполаризације пролази кроз АВ-чвор. Преткоморе су потпуно деполаризоване док су коморе потпуно поларизоване па се на електрокардиограму читава само изоелектрична линија.

QRS-комплекс је коморни комплекс који представља деполаризацију комора. За време деполаризације комора долази до реполаризације преткомора али се то на електрокардиограму не уочава зато што тај „негативан *P*-зубац“ покрива *QRS*-комплекс. *QRS*-комплекс чине три зупца од којих сваки одговара деполаризацији одређеног дела комора.

Q-зубац представља зубац деполаризације Хисовог снопа и базе међукоморног септума. Негативна орјентација *Q*-зубца је последица ширења импулса у правцу од ендокарда ка епикарду зато што се Пуркинијева влакна Хисовог снопа налазе субендокардијално. *R*-зубац настаје као одраз деполаризације највећег дела мускулатуре комора. Његову узлазну линију представља разлику у потенцијалима између врха срца и бочних делова миокарда комора, а силазна линија је резултат деполаризације скоро целог миокарда. *S*-зубац је резултат разлике у потенцијалу између нај-

већег дела миокарда и дела миокарда на бази леве коморе. Ово је последица тога што је зид леве коморе знатно дебљи од десне па потпуна деполаризација временски наступа касније. Негативна орјентација овог зубца настаје зато што се импулс креће од правца врха срца ка његовој бази.

За време *ST*-интервала цео миокард комора је деполаризован, а миокард предкомора реполаризован па се на електрокардиограму читава само изоелектрична линија.

T-зубац је резултат реполаризације миокарда комора. Он је позитивно оријентисан (као и зубац деполаризације – *R*) зато што процес реполаризације започиње од врха срца и иде према бази срца. Узрок овоме је то што се врх срца слабије контрахује од базе (мања компресија коронарних крвних судова) и снабдевен је увек довољном количином кисеоника и хранљивих материја па на крају систоле има довољну количину енергије (*АТФ*-а) за процес реполаризације ћелијских мембрана. *T*-зубац код неких животиња (нпр. паса) може бити и негативно оријентисан.

Након *T*-зубца може се уочити и *U*-зубац који представља деполаризацију интервентрикуларног проводног система и/или папиларних мишића.

TP-интервал је време трајања паузе између две срчане контракције.

Тумачење ЕКГ записа се врши тачно одрђеним редом у клиничке сврхе. А то подразумева анализирање срчаног ритма, фреквенције, осовине и тумачења постојања знакова исхемије, лезије или некрозе. На овом месту ћемо тумачити ЕКГ запис са три аспекта, који су значајни са физиолошке стране:

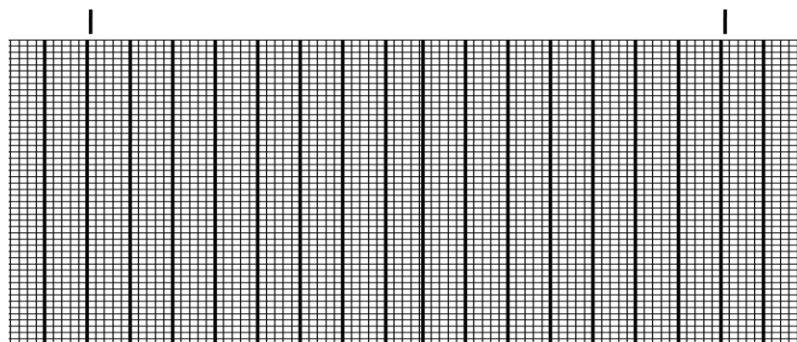
1. Срчани ритам чији је предводник СА чвор једини је физиолошки ритам. Зато је на ЕКГ запису потребно потражити *P*-талас испред сваког *QRS*-комплекса. Уколико сваком *QRS*-комплексу претходи идентичан *P*-талас, знамо да је импулс дошао из СА чвора и овакав ритам означавамо као СИНУСНИ ритам. Уколико је *P*-талас измењен или уопште не постоји разматра се могућност постојања аритмија (СА чвор није водич ритма, него потиче из неког дела преткомора).

2. На основу аускултације срчаних тонова може се проценити да ли је срчана радња ритмична. Међутим и приликом анализе ЕКГ записа мора се обратити пажња на ритмичност. То процењујемо поредећи растојања између два *R*-зупца где физиолошки очекујемо подједнаке *R-R* интервале. Уколико видимо да постоје одступања у дужини трајања *R-R* интервала (да су негде краћа, а негде дужа) неопходна је даља анализа.

3. Фреквенција се најједноставније одређује тако што се пронађе *R*-зубац који се приближно налази на дебљој вертикалној линији. Уколико следећи *R*-зубац пада одмах на следећу подебљану линију фреквенца је 300, следећа је 150, 100, 75, 60, 50/мин. Уколико срчана радња није ритмична или је пацијент у брадикардији, потребно је направити дужи запис и избројати број *R*-зубаца у току 6 секунди (30 већих коцкица) и помножити са 10.

ЗАДАТАК: Са електрокардиограма прецртати запис и обележити све зупце. Одредити да ли се ради о синусном ритму, да ли срчана радња ритмична и установити срчану фреквенцу ако је позната брзина кретања милиметарског папира.

ПРОСТОР ЗА РАД:



Брзина кретања милиметарског папира = mm/s

Синусни ритам:

Ритмична срчана радња:

Срчана фреквенца: /min

ЗАКЉУЧАК:

5.0 Физиологија респираторног система

Анаеробном разградњом глукозе до млечне киселине ослободи се само око 8% енергије од количине која се добије потпуном оксидацијом до CO_2 и воде – то значи да су током еволуције аеробни организми добили извесну предност над анаеробним. Под дисањем се подразумевају физиолошки процеси сталне размене гасова између организма и спољашње средине (ваздуха или воде). Из спољашње средине се прима кисеоник, а из организма одаје угљендиоксид. Стална размена ова два гаса услов је за одржавање живота, јер кисеоник омогућава оксидативне процесе и искоришћавање унетих хранљивих материја, а угљендиоксид се ствара у току оксидационих процеса у ћелијама и његово нагомилавање веома брзо би довело до поремећаја хомеостазе и смрти организма.

Размена гасова може се одвијати дифузијом преко површине тела (код веома малих, примитивних организама) и путем специјализованих респираторних органа уз укључивање развијеног система крвотока за транспорт гасова. Постоје 3 основна типа респираторних органа:

- ✓ Трахеје;
- ✓ Шкрге и
- ✓ Плућа.

Респираторни систем, код сисара, обухвата читав низ органа који омогућавају уношење кисеоника из спољашње средине у крв и одстрањивање угљендиоксида из организма. Крв као посредник омогућава преношење кисеоника од плућа до ткива и угљендиоксид из ткива у плућа.

Уношење ваздуха из спољашње средине и његово избацивање из плућа при дисајним покретима назива се *вентилација плућа*. Размена гасова између плућних мехурића (алвеола) и крви назива се *спољашње дисање*, а размена гасова између ткива и крви *унутрашње дисање*. Оксидациони процеси у ћелијама се означавају као *ћелијско дисање*. У процесу дисања у ширем смислу учествују следећи органи и органски системи:

- ✓ Ваздушни путеви (од носних отвора до респираторних бронхиола);
- ✓ Плућа са плеуром;
- ✓ Грудни кош са структурама које га чине;
- ✓ Респираторни мишићи;
- ✓ Аферентни и еферентни нерви;
- ✓ Кардиоваскуларни систем и
- ✓ Нервни респираторни центри.

Механику дисања, тј. вентилацију плућа обављају респираторни мишићи (инспираторни и експираторни) ритмичким променама запремине грудне шупљине,

а коју прате и промене запремине плућа. Удисај (инспиријум) почиње доласком нервних импулса из инспираторног центра продужене мождине преко интеркосталних нерава до истоимених мишића и путем *n.phrenikusa* до дијафрагме која се тада контрахује. Ово доводи до померања ребара дорзолатерално и кранијално (шири се трансверзални дијаметар торакса), а контракција дијафрагме има за последицу њено померање у каудалном правцу и повећање уздужне осе грудног коша. Повећањем запремине грудног коша повећава се негативност интерплеуралног (интраторакалног) притиска. Плућа се опирају ширењу својим еластичним влакнима; међутим, захваљујући израженој адхезији танког слоја течности између *pleure pulmonalis* и *pleure costalis* (поплућница и поребрица), односно негативном интраторакалном притиску, у току ширења торакса шире се истовремено и плућа. Услед повећане запремине плућа, а првенствено алвеола, у њима опада притисак ваздуха. Због тога из спољашње средине, тј. из правца већег притиска, ваздух улази у плућа-одвија се инспиријум. Значај интраплеуралног притиска види се и по томе што након продора ваздуха у интерплеурални простор долази до слепљивања алвеола, што се назива колапс плућа или *pneumotoraks*.

Код мирног дисања издисај (експиријум) је углавном пасиван процес. Он почиње престанком доласка нервних импулса у инспираторне мишиће, када почиње њихова релаксација при чему се повећана запремина торакса враћа на првобитну величину. Негативност интерплеуралног притиска сада се смањује и ваздух се из плућа истискује у спољашњу средину.

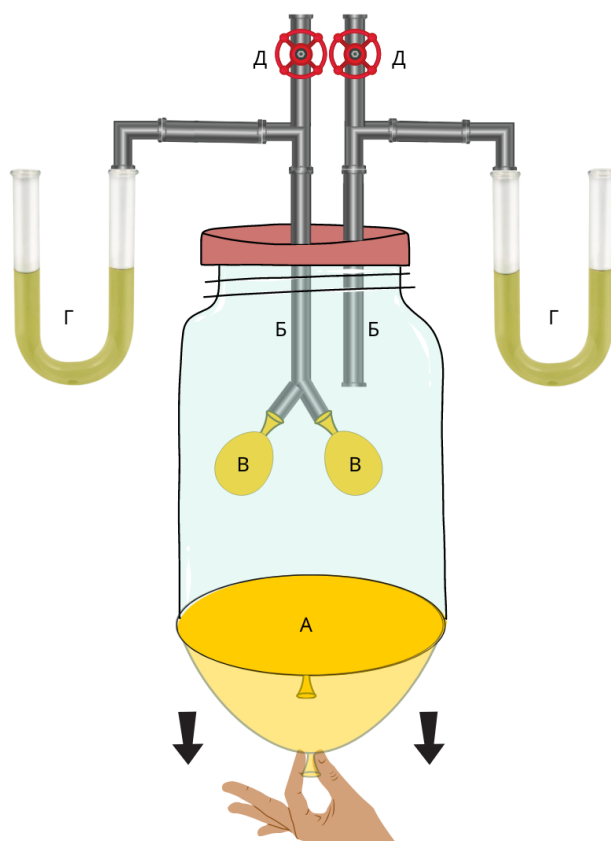
5.1 Улога дијафрагме у механици дисања (Дондерсов оглед)

Улога дијафрагме и значај негативног интерплеуралног притиска у плућној вентилацији могу се и практично доказати. Плућа су еластичан орган који се скупља и шири под дејством неколико сила. Атмосферски притисак ваздуха (101 kPa) делује на плућа преко дисајних путева и тежи да их прошири. Томе се супротставља сила еластичности плућног ткива. Са друге стране, између висцералног и паријеталног листа плеуре влада нормално негативан притисак - нижи је од атмосферског притиска за 0,4-0,6 kPa. Негативан интерплеурални притисак јавља се као последица дејства две супротне силе: снаге ширења грудног коша која растеже плућа, и еластичности плућног крила која се опире растезању. Негативност интерплеураног притиска расте, тј. апсолутна вредност притиска се снижава за време инспиријума, сразмерно дубини удисаја. Обрнуто, при експиријуму негативност притиска опада, тј. његова апсолутна вредност расте, тако да при дубоком дисању, притисак у плеуралном простору може постати и позитиван, тј. виши од атмосферског. Негативност интерплеуралног притиска успоставља се одмах након првог удисаја по рођењу.

Ширење грудне шупљине за време удисаја изазвано је контраховањем великог броја мишића. Дијафрагма је најважнији респираторни мишић. Она је испупчена према грудној шупљини. У току контракције, тј. за време удисаја она се покреће према трбушној шупљини (али не постаје испупчена према трбушној шупљини), при чему се повећава запремина торакса, а опада вредност притиска у интерплеуралном простору (повећава се негативност). Улога дијафрагме у процесима удисаја и издисаја посредством стварања негативног интерплеуралног притиска може се практично показати Дондерсовим огледом.

ЗАДАТАК: Дондерсовим апаратом установити ширење препарата плућа кунића или гумених балончића због снижавања притиска у затвореном стакленом звону (боци).

МАТЕРИЈАЛ: Дондерсов апарат, гумени балончић. Дондерсов апарат (слика 5.1) се састоји из стаклене боце (2-3 L) са одрезаним дном. На месту дна постављена је гумена мембрана („дијафрагма“) која може да се помера горе-доле (А), мењајући запремину боце. Кроз чеп грлића боце пролазе две стаклене цеви (Б). На унутрашњи део једне цеви причвршћује се препарат плућа или гумени балончић (В), спољашњи део комуницира са атмосферским ваздухом, а једним Т наставком је у вези и са воденим манометром (Г). Друга цев комуницира са шупљином боце и преко ње може да се одстрани извесна количина ваздуха, односно да се мења притисак у слободном простору боце („интерплеурални простор“). Ова цев је такође у вези са воденим манометром (Г). Поред наведеног, треба рећи и то да спољашњи крајеви обе цеви имају вентиле (Д) помоћу којих се комуникација између плућа (балончића) и слободног простора боце с једне стране и атмосферског ваздуха с друге стране, може отворити или затворити.



Слика 5.1: Дондерсов апарат

ИЗВОЂЕЊЕ: Гумену мембрану (дијафрагму) на дну боце лагано повући надоле. Манометар, који је у вези са слободним простором боце показује опадање притиска у боци, а истовремено се балончић (плућа) шири. Снажнијим истезањем „дијафрагме“ настале промене су израженије. При враћању гумене мембране у почетни положај притисак у боци се враћа на почетну вредност, а плућа (балончић) при томе спљашњавају (издисају). Затим отворити славину на цеви која комуницира са слобод-

ним простором боце и поновити оглед (имитација пнеумоторакса). Запазити све промене и забележити их.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Запажања при истезању гумене мембране:

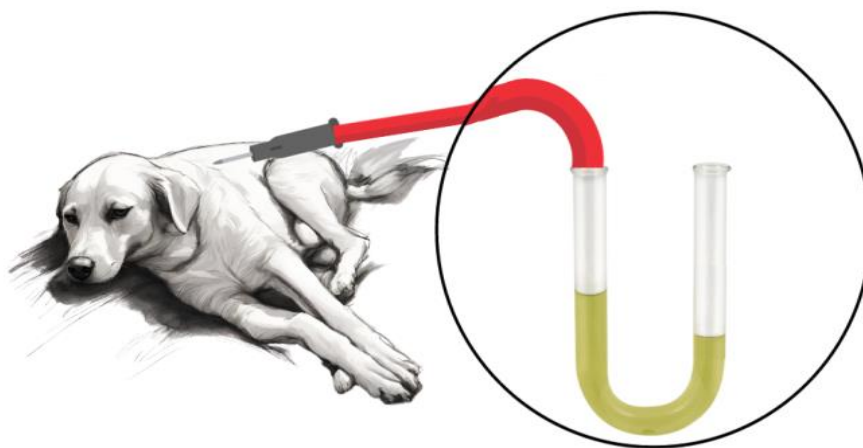
Запажања при враћању гумене мембране:

Запажања при понављању огледа са отвореним вентилом:

ЗАКЉУЧАК:

5.2 Одређивање промена интерплеуралног притиска током дисања

Приликом удисаја (инспиријума) и издисаја (експиријума) долази до промена интраплеуралног притиска. Ово представља резултат промена запремина грудног коша и плућа. Мерење и одређивање промена интраплеуралног притиска током дисања је могуће извести код експерименталних животиња увођењем игле, повезане са манометром у интраплеурални простор (Слика 5.2).



Слика 5.2: Одређивање промена интерплеуралног притиска током дисања

ЗАДАТАК: Одредити промене вредности интраплеуралног притиска пса или куниха у току дисања.

МАТЕРИЈАЛ: Пас или кунџ, водени манометар, стерилна игла, вата, алкохол, маказе.

ИЗВОЂЕЊЕ: Животињу поставити на сто за огледе, ошишати средњи део трећег и четвртог међуребарног простора са десне стране и дезинфиковати. Иглу, која је преко гуменог црева повезана са воденим манометром у којем је обојена вода, пажљиво увести у интраплеурални простор убодом уз кранијалну ивицу каудалног ребра. Констатовати да се при уласку игле у интраплеурални простор ниво течности у левом краку манометра пење навише.

За време удисаја, ниво течности се још више пење, а у току издисаја спушта. Након неколико спонтаних респираторних покрета, огледној животињи, стављањем руке на улаз у респираторне путеве (на носни отвор), на кратко онемогућити улажење ваздуха у респираторне путеве. Констатовати шта се дешава са интраплеуралним притиском.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Запажања при инспиријуму:

Запажања при експиријуму:

ЗАКЉУЧАК:

5.3 Одређивање плућних волумена и капацитета-спирометрија

Као физиолошки респираторни параметри, на основу којих се процењује функционална способност плућа и физичка оспособљеност јединке, могу да послуже запремине ваздуха које се у разним условима издишу, удишу или остају у плућима. Те запремине називају се плућним волуменима и капацитетима.

Примарне јединице запремине плућа су волумени и даље се не могу делити, а други параметри, који се састоје од два или више волумена названи су капацитетима. Овде ћемо навести оне најважније, напомињући да се нормалне вредности величине ових параметара могу прецизно одређивати једино код човека, јер је за њихово мерење потребна сарадња и вољна акција испитаника.

Респираторни волумен (*TV* - engl. *tidal volume*) или респираторни ваздух је запремина ваздуха која се удахне при нормалном инспиријуму или издахне при нормалном експиријуму (мирно дисање без напрезања). Код човека износи око 0,5 L, код пса, овце и козе око 0,3 L, говечета до 3,8 L, коња око 6 L.



Слика 5.3: Спирометар

Резервни инспираторни волумен (IRV – engl. *inspiratory reserve volume*) представља запремину ваздуха која се може удахнути максималним инспиријумом после нормалног (мирног) инспиријума.

Резервни експираторни волумен (ERV – engl. *expiratory reserve volume*) је запремина ваздуха која се издахне максималним експиријумом након нормалног експиријума.

Витални капацитет (VC – engl. *vital capacity*) представља запремину ваздуха која се издахне из плућа максималним издисајем након максималног удисаја. VC је, уствари, по вредности збир претходна три волумена ($VC = TV + IRV + ERV$). VC код људи износи око 4 L, а код тренираних особа 5-6 L.

И након максималног експиријума у плућима остаје извесна запремина ваздуха-резидуални волумен (RV – engl. *residual volume*) - код људи око 1,5 L. Он се састоји од две компоненте: колапсног волумена (запремина ваздуха која се истисне из плућа након обостраног пнеумоторакса) и минималног ваздуха (запремина која се уопште не може истинути из плућа). Присуство минималног ваздуха који настаје одмах након првог удисаја новорођенчета има значај у судској медицини.

Функционални резидуални капацитет је запремина ваздуха која остаје у плућима након нормалног експиријума и представља збир RV и ERV.

Инспираторни капацитет = $TV + IRV$

Укупни (тотални) капацитет плућа (TLC – eng. *total lung capacity*) дефинише се као збир виталног капацитета и резидуалног волумена ($TLC = VC + RV$). То је највећа запремина ваздуха која се може наћи у плућима (коњ око 42 L, човек око 6 L).

Табела 5.1: Плућни волумени и капацитети

Плућни волумен / капацитет	Скраћеница	Коњ (L)	Човек (L)
Респираторни волумен	TV	6	0,5
Резервни инспираторни волумен	IRV	12	3,5
Резервни експираторни волумен	ERV	12	1,5
Витални капацитет	VC (TV + IRV + ERV)	30	4,5
Резидуални волумен	RV (колапсни + минимални)	12	1,2 – 1,6
Тотални капацитет	VC + RV	42	6
Инспираторни капацитет	TV + IRV	18	3,8
Функционални резидуални капацитет	ERV + RV	24	2,2 – 2,7

Плућни волумени и капацитети се могу мерити поступком који се зове спирографија (апарат спирометар).

ЗАДАТАК: Помоћу спирометра одредити плућне волумене и капацитете.

МАТЕРИЈАЛ: Водени спирометар, вата, алкохол.

Најједноставнији водени спирометар састоји се од два цилиндрична суда (Слика 5.3). Спољашњи суд је фиксиран, испуњен водом и са горње стране отворен. Други суд је отвореном страном уроњен у спољашњи суд. Он је покретан, има скалу са ознакама у милилитрима, а кад се ваздух преко гуменог црева убацује у унутрашњост овога система, унутрашњи суд изроњава, па се може прочитати колики је волумен ваздуха унесен. Водени спирометар може бити повезан са кимографом те се на тај начин може добити и запис. Овај спирометар подесан је за одређивање волумена ваздуха који се експирира.

ИЗВОЂЕЊЕ: При одређивању напред наведених параметара неопходна је контролисана сарадња особе којој се испитује плућни волумен и капацитет. Унутрашњи суд треба уронити у воду која се налази у спољашњем суду тако да је нула на скали

унутрашњег суда у висини горњег рубца спољашњег суда. Дезинфиковати део гуме-
ног црева који се ставља у уста. Затим одредити задате параметре следећим редо-
следом:

Респираторни волумен (TV): након мирних, нормалних дисајних циклуса, у
фази издисаја принети устима део црева и лагано, мирно и нормално (без напреза-
ња) издахнути у спирометар и регистровати до ког нивоа је унутрашњи суд изронио
из спољашњег (записати вредност у ml);

Резервни експираторни волумен (ERV): пошто се унутрашњи суд зарони у
воду након мирног дисања, а после завршеног нормалног експиријума, максимално
се удубљава (издише) ваздух у спирометар (записати постигнуту вредност);

Витални капацитет (VC): у току мирних респирација максимално удахнути,
а затим максимално издахнути ваздух у спирометар и записати вредност;

Резервни инспираторни волумен (IRV): израчунати по формули: $IRV = VC - (TV + ERV)$.

ПРОСТОР ЗА РАД:

TV =	ml
ERV =	ml
VC =	ml
IRV =	ml

ЗАКЉУЧАК:

5.4 Пнеумографија

Пнеумографија је метода регистровања покрета грудног коша при дисању
помоћу пнеумографа који ради на принципу зрачне трансмисије. Састоји се од ме-
талног цилиндра пресвученог на оба краја еластичном мембраном, или из металне
удубљене посуде пресвучене на отвореном крају еластичном мембраном. Оба типа
пнеуматографа су помоћу гуменог црева повезана са Mareyevim добошем са пером
за регистровање на кимографу. Добијену криву називамо пнеумограм чијом се ана-
лизом можемо информисати о:

- ✓ Дубини дисања,
- ✓ Фреквенцији и
- ✓ Односу између инспиријума и експиријума.

Физиолошки у миру амплитуда одклона одговара волумену удахнутог или издахнутог ваздуха од 500 ml, фреквенција дисања је 12-16 у минути, а однос трајања инспиријума и експиријума износи 1:1,3 (човек).

Према амплитуди и фреквенцији разликује се више типова дисања које можемо симулирати:

- ✓ *Eupnea* - правилно, мирно дисање;
- ✓ *Dispnea* - отежано, напорно дисање;
- ✓ *Hiperpnea* - повећање фреквенције и/или дубине дисања;
- ✓ *Hiporpea* - смањење фреквенције и/или дубине дисања;
- ✓ *Tahipnea* - убрзано дисање;
- ✓ *Bradipnea* - успорено дисање;
- ✓ *Polipnea* - површно, брзо дисање (дахтање);
- ✓ *Apnea* - престанак дисања.

ЗАДАТАК: Испитати карактер дисајних покрета (фреквенцију и дубину) под различитим условима.

МАТЕРИЈАЛ: Пнеумограф, кимограф, полуга за регистровање, кеса.

ИЗВОЂЕЊЕ: При отвореној бочној цеви на главној цеви, која повезује добош и пнеумограф, фиксирати пнеумограф око грудног коша у нивоу ксифоидне хрскавице. Затим пеаном или посебном стезаљком затворити пострану цев, а перо *Mareyevod* добоша прислонити уз кимограф и регистровати неколико нормалних респираторних покрета. Након тога треба извести следеће огледе:

а) Расавити добош од пнеумографа и замолити испитаника да направи неколико чучњева, а потом брзо спојити систем и неко време регистровати дисајне покрете. Запажа се да за време физичког напора и непосредно иза тога долази до повећања дубине и фреквенције дисајних покрета;

б) Замолити испитаника да неколико минута форсирано дише, па након тога испитати карактер дисајних покрета. Сада су дисајни покрети спорији, мање фреквенције и амплитуде;

ц) Испитати дужину трајања вољног обустављања дисања и регистровати дисајне покрете након тога. Настаје период врло продубљеног и убрзаног дисања;

д) Испитати ефекат дисања у затворени ограничени простор на карактер дисајних покрета (дисање у кесу). Дисајни покрети постају све дубљи и фреквентнији;

е) Испитати шта се дешава са дисајним покретима при гутању (рефлексно заустављање дисања).

ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

5.5 Пулсна оксиметрија

Пулсна оксиметрија представља једноставну дијагностичку методу у току које се уређај (пулсни оксиметар) поставља на прст руке или ушну ресицу код човека. Код животиња се може поставити на танка ткива попут језика и уха, али и дебела ткива као што су екстремитети и реп. На овај начин индиректно меримо засићеност крви кисеоником. Иако ова метода није поуздана као гасне анализе урађене из узорака крви, ова метода нам представља добар оријентир у клиничком раду. Метода се заснива на два принципа: детекцији оксисхемоглобина и деоксисхемоглобина који различито апсорбују црвене и инфрацрвене зраке, што се детектује спектрофотометријом, као и на становишту да се количина артеријске крви у ткиву (према томе и апсорбција светла кроз крв) мења током пулсације, што се мери плетизмографијом. Апарат на једној страни поседује минијатурне диоде које емитују црвене и инфрацрвене зраке ка другој страни где су фотодетектори, а између њих уметнут прст (или друго ткиво) испитаника. На овај начин меримо засићеност (сатурацију) хемоглобина кисеоником коју изражавамо у процентима.



Слика 5.4: Пулсни оксиметар

ЗАДАТАК: Одредити сатурацију хемоглобина кисеоником и срчану фреквенцу испитаника методом пулсне оксиметрије

МАТЕРИЈАЛ: Пулсни оксиметар (Слика 5.4)

ИЗВОЂЕЊЕ: Испитанику (студенту) на кажипрст леве или десне руке поставити пулсни оксиметар и сачекати неколико тренутака до добијања вредности. Физиолошке вредности сатурације (SpO_2) износе од 95 до 100%. Апарат нам поред сатурације показује и срчану фреквенцу. Узорковање крви директно из артерије препоручује се када је $SpO_2 \leq 93\%$. Пулсна оксиметрија нам не даје податке о вредности $PaCO_2$ што јесте њено ограничење. Лажне податке нам може дати повишена кон-

центрација карбоксиемоглобина или метхемоглобина, јер апарат ове форме не може разликовати, самим тим може нам приказивати лажно физиолошке резултате сатурације.

ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

5.6 Аускултација дисајних шума

Кретање ваздуха кроз систем дисајних путева за време инспиријума и експиријума изазива извесне шуме. Настанак шума у систему респираторних цеви условљен је дејством оних истих фактора и на бази истих физичких закона на основу којих се стварају звуци у шупљини гумене цеви када се кроз њен лумен пропуста течност или гасови. Кретање млаза одвија се нечујно све дотле док је брзина кретања пропорционална величини лумена. Када се тај однос поремети, на том месту се одмах појављују звуци.

Од шума које можемо чути при аускултацији нормалних органа за дисање разликујемо:

- ✓ *Ларингеални стенозни шум;*
- ✓ *Везикуларно дисање и*
- ✓ *Бронхијално дисање.*

ЗАДАТАК: Аускултирати ларингеални стенозни шум, везикуларно и бронхијално дисање код пса и/или човека.

МАТЕРИЈАЛ: Стетоскоп.

ИЗВОЂЕЊЕ: Стетоскопом аускултирати ларингеални стенозни шум, везикуларно и бронхијално дисање код коlege и/или пса.

Ларингеални стенозни шум - Апарат за дисање представља систем цеви различитог пречника, где нагла сужења наизменично прелазе у знатна проширења. Узани лумен ноздрва прелази у широку носну шупљину која се даље наставља у уске носне меатусе. Даље, велико проширење ждрела прелази нагло у теснац гласног отвора иза којег се налази широка шупљина гркљана. Према томе, у почетном делу респираторног апарата јасно су изражена три сужења од којих је најјаче изражено сужење гласног отвора са наглим преласком у велико проширење. Интензитет шума који се стварају при проласку ваздуха кроз ова сужења сразмеран је брзини кретања млаза ваздуха и степену сужења. Обзиром да се сви ти звуци стварају истовремено, они се стапају и дају један заједнички звук назван ларингеални стенозни шум. Овај шум се лако чује при аускултацији трахеје. То је јак, јасан звук који има обележје тона.

Везикуларно дисање - Звук који се чује на грудном кошу здравих животиња по свом квалитету представља потпуну супротност трахеалном дисању. То је мекани звук који подсећа на мекано изговарање слова Ф. По свему судећи, везикуларно дисање представља један сложени звук. У његов састав улазе две компоненте. Глав-

на маса звука ствара се у плућном паренхиму, на месту прелаза безбројних бронхиола у широке левкасте плућне инфундибулуме. Са овим стенозним шумом меша се и ларингеални стенозни шум. Звук који се чује за време експиријума је кратак и слаб. Карактер и интензитет везикуларног дисања показује код домаћих животиња јасне разлике. Зависи од врсте животиње, телесне грађе, облика грудног коша, стања ухрањености, старости и интензитета метаболизма. Најгласније је и најоштрије код месоједа, а слабије и тише код говеда.

Бронхијално дисање - Код свих домаћих животиња, изузев коња, бронхијално дисање чује се прилично гласно у пределу лопатице и рамена. Нарочито је јасно и јако изражено код паса. У суштини, бронхијално дисање се сматра остатком везикуларног дисања у чији састав улази до плућа спроведени и резонанцом појачани ларингеални стенозни шум.

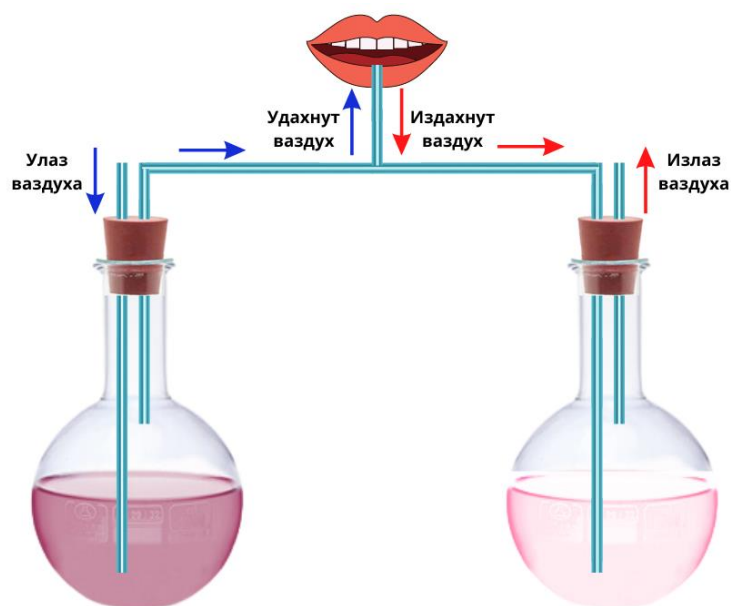
ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

5.7 Присуство CO_2 у издахнутом ваздуху

У дисањем, O_2 из алвеоларног ваздуха одлази у крв, а CO_2 из дезоксигенисаног хемоглобина прелази у алвеоле. У издахнутом ваздуху концентрација CO_2 је и до 100 пута већа него у удахнутом ваздуху (атмосферском).

ЗАДАТАК: Доказати да је концентрација CO_2 у издахнутом ваздуху знатно већа од концентрације овог гаса који се налази у удахнутом ваздуху.

МАТЕРИЈАЛ: Боце са гуменим чеповима, дестилована вода, стаклене цевчице, NaOH , фенолфталеин индикатор.



Слика 5.5: Метода доказивања CO_2

ИЗВОЂЕЊЕ: На слици 5.5 приказане су две боце које се користе за овај експеримент. Оне су напуњене дестилованом водом и затворене гуменим чепом кроз који пролазе стаклене цевчице, од тога једна дужа, а једна краћа. Гумено црево које спаја цевчице просеже се до усника кроз који испитаник мирно дише, уобичајеном фреквенцом и дубином (смер ваздуха је обележен стрелицама). Разблажени раствор NaOH у који је досут индикатор фенолфталеин налази се у обе боце. Тако направљени раствори у боцама су базни и услед тога јасно су розе боје. Фенолфталеин је индикатор који даје боју базним растворима. Принцип повезивања боца врши се као што је приказано на слици, што омогућује да смер удисања буде идентичан и једносмеран. На овај начин кроз раствор једне боце ће увек пролазити удахнути ваздух, а издахнути ће се кретати кроз раствор друге боце. Како испитаник дише, боца кроз коју пролази издахнути ваздух почиње губити боју, да би се раствор на крају потпуно обезбојио. Ова појава настаје услед чињенице да CO_2 са водом даје угљену киселину која реагује са базом (NaOH) и тиме је неутралише. Неутралисањем NaOH концентрација водоникових јона (pH) се мења и креће се ка киселој средини, те ће се раствор постепено обезбојити. Ако испитаник настави са дисањем, доћи ће до обезбојавања и боце кроз коју пролази атмосферски ваздух, за шта је ипак потребно извесно време. На овај начин смо доказали да се CO_2 налази и у атмосферском ваздуху али у знатно мањој концентрацији.

ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

6.0 Физиологија мишића и периферних нерава

Мишићи (скелетна и глатка мускулатура, срчани мишић) чине нешто више од 50% укупне телесне масе. Скелетни мишићи (попречно-пругасти), причвршћени за кости скелета, својим контракцијама и опуштањем омогућавају кретање животиње и одржавање тела у простору. Глатка мускулатура у зиду унутрашњих органа обезбеђује моторику и остале активности тих органа, а срчани мишић омогућује улогу пумпе срца у затвореном систему циркулације.

Основна функционална јединица скелетног мишића је мишићна ћелија (мишићно влакно, због веома издуженог облика – неколико mm до једног метра). Свако мишићно влакно је спојено са најмање једним нервним завршетком аксона моторног неурона соматског нервног система, па се скелетни мишићи још називају вољна мускулатура, за разлику од глатке која је инервисана вегетативним нервним системом.

Заједничка карактеристика мишићних ћелија, за разлику од других ћелија организма, јесте присуство контрактилних протеина у саркоплазми који улазе у састав миофбрила, односно миофиламената. Миофбрили су сноповне структуре, постављени дуж мишићног влакна (неколико стотина до неколико хиљада). Они су носиоци основне функције мишићне ћелије, односно контрактилности која потиче од молекула контрактилних протеина. Састоје се из танких и дебелих филамената.

Танки филаменти имају 3 врсте контрактилних протеина (актин, тропомиозин и тропонин), а дебели филаменти само један контрактилни протеин (миозин). Око сваког дебелог филамента паралелно је постављено 6 танких филамената који су у средини размакнути, а пострано су фиксирани за Z-мембрану. Део миофбрила између две Z-мембране назива се саркомера и она представља основну контрактилну јединицу.

Основне карактеристике свих мишића су *еластичност, раздражљивост и контрактилност*.

✓ Еластичност се огледа у могућности истезања мишића при дејству неке силе и враћање на првобитно стање по њеном престанку. Еластичност је омогућена везивоткивним елементима у структури мишића.

✓ Раздражљивост је способност мишића да прихватају различите врсте надражаја (електрични, механички, хемијски, термички) и да на њих одговарају контракцијом. Раздражење је уствари заједничка особина свих ћелија са поларизованом мембраном (све живе ћелије). На месту надражаја (апсорбоване енергије) долази до локалне деполаризације мембране са настанком јонске струје (биоенергије) која у ћелији покреће биохемијске процесе са исходом контракције (у случају мишићних ћелија). Најмања енергија (надражај) за изазивање процеса деполаризације названа је прагом надражаја. Код скелетне мускулатуре свака мишићна ћелија је инервисана најмање једним нервним завршетком. Група мишићних ћелија инервисана једним моторним неуроном зове се моторна ћелија. Када моторни нерв „пошаље“ импулс, све ће се ћелије те моторне јединице контраховати, јер је сваки импулс изнад прага (на моторној плочи излучи се натпражна количина ацетилхолина). Свака мишићна ћелија појединачно реагује по закону „све или ништа“; међу-

тим, јачина контракције једног мишића зависи од броја активираних моторних јединица.

✓ Контрактилност је основна одлика мишићне ћелије, што је у ствари способност да она по пријему надражаја (нервног импулса) реагује контракцијом. Контракција се одвија у облику скраћивања дужине, а без изразите промене тонуса (изотонусна контракција), или са повећањем напона, а без промене дужине (изометријска контракција). Контракција је веома сложен процес у току којег се одигравају биоелектричне, биохемијске и механичке промене.

За испитивање функције мишића и нерава користе се изоловани препарати мишића са припадајућим моторним нервом.

6.1 Препарација галваноскопске ноге, неуромишићног и мишићног препарата

Најчешће се за експерименте на скелетним мишићима у практикуму користи жабљи мишићни препарат (*m. gastrocnemius*) који је испрепариран из задњег екстремитета жабе заједно са дисталним делом бутне кости ослобођене од мишића. Зависно од тога какве је природе оглед који ће се изводити могуће је испрепарирати 3 врсте препарата:

✓ *Галваноскопска нога*: састоји се од дисталног дела фемура, феморотибијалног зглоба и свих структура дистално од овог зглоба до стопала, укључујући *m. gastrocnemius* и његов моторни нерв (*n. ishiadicus*). Овај препарат се користи када желимо контракцију неуромускуларног препарата само посматрати, без регистрација на кимографу;

✓ *Неуромускуларни препарат*: дистални део разголићене бутне кости са очуваном инзерцијом и читав *m. gastrocnemius* са *n. ishiadicusom* (користи се када желимо регистровати мишићну контракцију);

✓ *Мишићни препарат*: као претходни препарат али без нерва.

Скицирати препарате са модела:



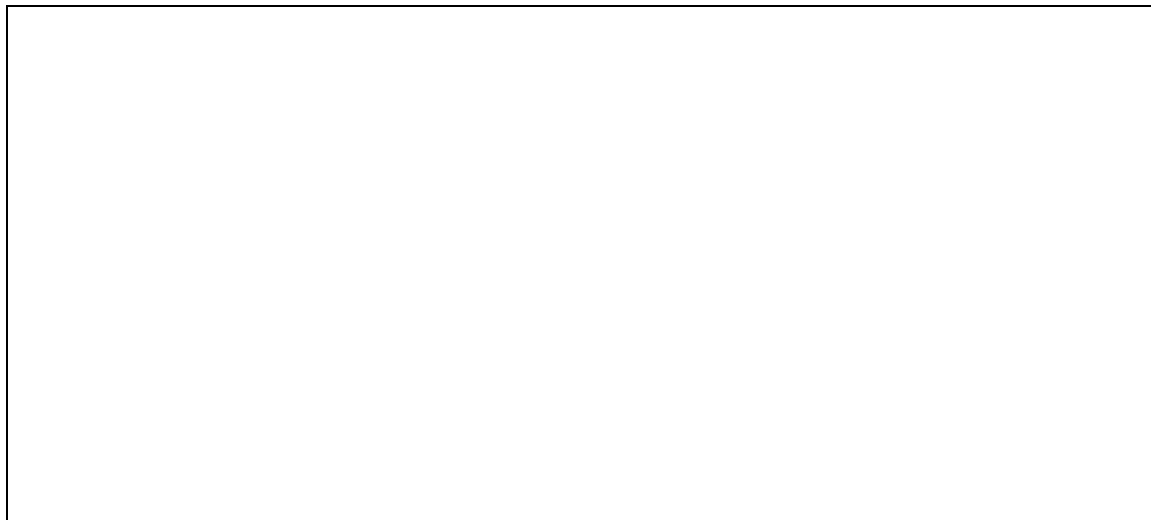
ЗАДАТАК: Препарирати препарате: галваноскопска нога, неуромишићни препарат и мишићни препарат.

МАТЕРИЈАЛ: жаба, маказе, пинцете (мале и велике), конац за лигатуре, плоча за препарацију, папирна вата, Рингеров раствор, капаљке, Галванијева виљушка (најпростији електрични елемент изграђен од две мале лимене плочице, једна од бакра, а друга од цинка).

ИЗВОЂЕЊЕ: За обављање огледа на неуромускуларним препаратима није потребно сачувати ЦНС, па је стога почетак препарације везан за декапитацију и разарање кичмене мождине. Узети жабу у леву руку при чему је обавијемо парчетом крпе тако да јој је слободна само глава; један крак маказа се увуче у уста и повуче кроз уназад и одреже горња чељуст. У кичмени канал увући металну сонду што дубље и њеним ротирањем разорити кичмену мождину.

Већим маказама попречно пресећи труп одмах иза предњих екстремитета. Једном руком ухватити пререзани крај трупа за кичмени стуб, а другом кожу на пресеченом крају и снажним повлачењем према доле свући кожу са трупа и задњих екстремитета. Читав препарат са дорзалном страном надоле ставити на плочу за препарирање. Опрати руке и прибор због штетних материја које се налазе на кожи као резултат продукције кожних жлезда.

Скицирати поступак са модела:



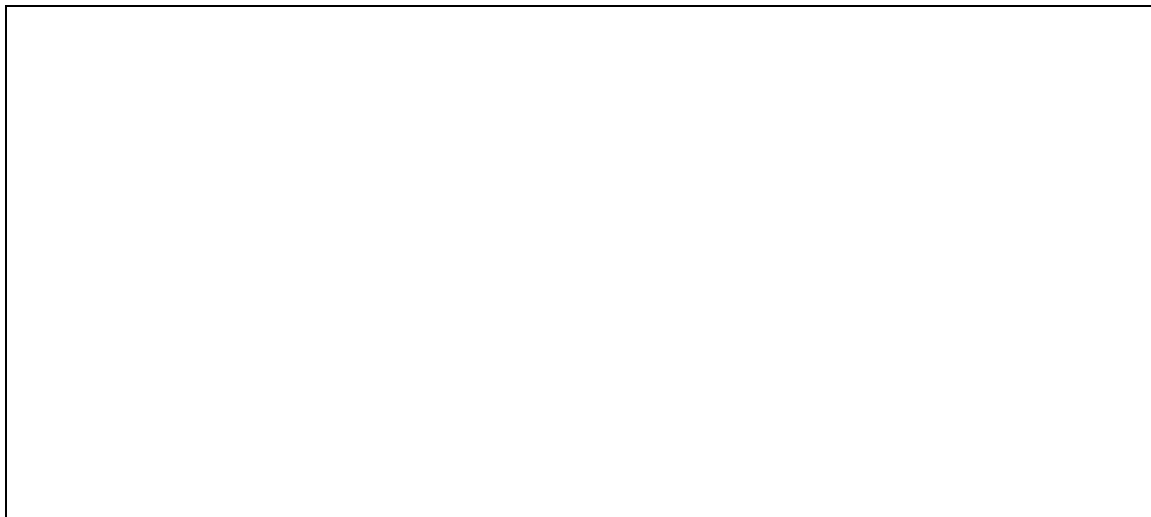
Почев од симфизе, маказама резати мишиће трбушног зида уз латерални руб илијачних костију (лево и десно), odstrанити их, те пинцетом извући све унутрашње органе пазећи да се при томе не ухвате и оштете живци који излазе из лумбосакралног дела кичменог стуба.

Под живчане снопове, најпре једне, а затим и друге стране, подвући стиснуту малу пинцету и лаганим померањем дуж снопа ослободити живце од околног ткива (живце никако не штипати и не гњечити).

Повући конац испод лумбосакралног сплета посебно с једне и друге стране и чврсто подвезати што ближе корену (при овоме се запажа трзај мускулатуре екстремитета, што је знак да је живац функционално сачуван).

Извршити пресецање живца између лигатуре и његовог корена. Сталним држањем живца преко конца извести одвајање од подлоге све до препоне и пребацивати га на предњу страну бута (прво један па други живац).

Скицирати поступак са модела:



Ухватити читав препарат левом руком, превити га у карличном пределу тако да се тртична кост истури према горе, она се маказама пресече, а у настали отвор увуче се један врх маказа и врши обрезивање мускулатуре уз унутрашњи руб илијачних костију (све време пазити да у маказе на упадне живац). Оба наставка илијачних костију палчевима размакнути у страну.

Скицирати поступак са модела:



Даљни ток *n. ishiadica* иде по дорзалној страни бута у једном жлебу прекривеном бутном мускулатуром. Његова препарација се врши тупо - помоћу прстију. Раздвојити мишиће и ослободити жлеб у којем лежи живац и лагано, држећи за конач, повлачити га и одвајати од околног ткива и огранака који су усмерени од главног стабла ка околној мускулатури.

Живац је сада слободан све до феморотибијалног зглоба (колена) и пребацује се преко подколенице.

Бутну кост маказама ослободити од преосталог мишићног ткива и кост пресећи на граници између горње и средње трећине. Исти поступак поновити и са другим препаратом.

Скицирати поступак са модела:



Тако добијен препарат се зове *галваноскопска нога*. У циљу заштите препарата од сушења и губљења физиолошких својстава живца, треба га до употребе држати умотаног у филтер папир навлажен Рингеровим раствором.

Припрема неуромишићног препарата обухвата и наставља се на препарацију галваноскопске ноге. У току даље препарације потребно је издвојити *m. gastrocnemius* са моторним живцем (*n. ishiadicus*). Пинцетом ухватити Ахилову тетиву и маказама је пресећи испод хрскавичавог дела. Одвојити је маказама од њене подлоге изнад скочног зглоба. *M. gastrocnemius* се све до колена од подлоге одваја једноставним повлачењем за тетиву. На горњем крају пресећи феморотибијални зглоб пазећи да нерв не доспе у отвор маказа - на тај начин је добијен препарат *m. gastrocnemius* с инзерцијом на дисталном делу делу бутне кости и с припадајућим живцем – тај препарат се назива *неуромускуларни препарат*.

Скицирати поступак са модела:



У циљу провере успешности и исправности препарације може се живац додирнути Галванијевом виљушком наквашеном Рингером и уколико је препарат исправан, доћи ће до контракције мишића. Препарат држати у филтер папиру навлаженом Рингеровим раствором.

Препарацију *мишићног препарата* извести као што је описано напред, само изоставити препарирање живца.

6.2 Директно и индиректно дражење мишића

У физиолошким условима, *in vivo*, мишићи се надражују преко импулса из нервних завршетака. Приликом експеримената на неуромишићном препарату, мишић може да се надражи индиректно (раздраживањем нерава) или директно (дражењем мишићних влакана). Уколико електроде поставимо директно на *m. gastrocnemius* и преко стимулатора обавимо раздражење доћи ће до контракције мишића. Међутим, ова контракција није резултат директног раздражења мишићних влакана него нервних влакана разгранатих у мишићу. Нервна влакна имају нижи праг надражаја, осетљивија су од мишићних влакана, прва се раздраже и пренесу импулс до мишићних влакана. Директно дражење мишића могуће је остварити онда ако се претходно искључи могућност трансмисије (преноса) надражаја са нервног завршетка на мишићну ћелију (блокада моторне плоче). То се постиже *курареом* који се везује за ацетилхолинске рецепторе на постсинаптичкој мембрани моторне плоче.

ЗАДАТАК: На некураризованом и кураризованом неуромишићном препарату извршити индиректно и директно надраживање мишића.

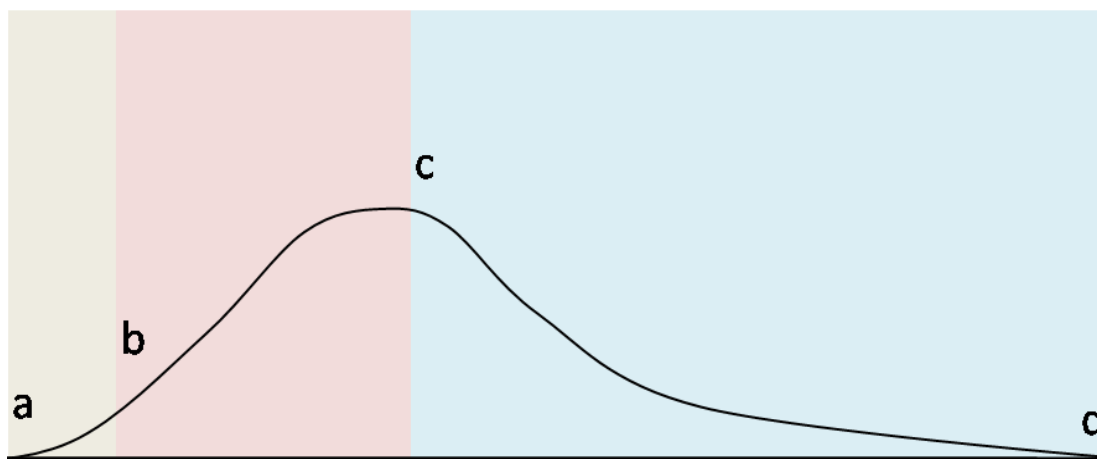
МАТЕРИЈАЛ: Све као у вежби 6.1, електростимулатор, електроде, статив за причвршћивање препарата, раствор д-тубокурарина, шприц, игла.

ИЗВОЂЕЊЕ: У леђну лимфну кесу жабе убризгати 1-1,5 ml раствора д-тубокурарина. 20-30 минуа након тога жаба ће бити парализована, непокретна (због блокаде моторних плоча). Испрепарисати галваноскопску ногу и поставити је на плочу за препарисање. Припремити уређај за подраживање (електростимулатор) и електроде поставити прво на *n. ishiadicus*, а затим директно на мишић и дражити фреквентним (учесталим) надражајима. Запазити да ли ће контракција мишића изостати у случају дражења живца (индиректно дражење) или при директном дражењу мишића. Забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

6.3 Проста мишићна контракција

Када на мишић делујемо само једним појединачним мишићним надражајем довољне јачине (праг), као одговор добијамо једну мишићну контракцију која се назива *проста мишићна контракција* или једноставни трзај. Међутим, у организму, физиолошки, углавном не долази до оваквих контракција. Оне се јављају само у експерименталним условима и служе за ближе анализе тока мишићне контракције. Потребно је имати у виду да у организму мишићи своју функцију претежно обављају тзв. сложеним контракцијама које настају сумацијом појединачних простих мишићних контракција (видети у наредним вежбама). Проста мишићна контракција жабуљег мишићног препарата траје укупно 0,1 секунду и састоји се из три дела (слика 6.1).



Слика 6.1: Проста мишићна контракција

(а тренутак раздражења, а-б латентни период, б-с активна фаза, с-д пасивна фаза)

Латентни период траје око 0,01 секунду и представља период од момента раздражења нерва до почетка скраћивања (контракције) мишића. Овај период подразумева следећа дешавања: дражење моторног нерва, простирање импулса кроз нерв до неуромишићне синапсе и процесе у синапси, простирање импулса у мишићној мембрани и тубуларном систему, активирање саркомере све до видљивог дела скраћења мишића.

Активна фаза контракције траје 0,04 секунде и обухвата процесе клизања филамената у саркомерама.

Пасивна фаза контракције траје око 0,05 секунди. То је фаза деконтракције и у то време се одвијају процеси релаксације мишића.

ЗАДАТАК: Регистровати и анализирати просту мишићну контракцију.

МАТЕРИЈАЛ: Прибор за препарацију неуромускуларног препарата жабе, коморица за изоловани мишић са електродама и полугом за регистровање, кимограф, електро-стимулатор, Рингеров раствор, капаљке.

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити електростимулатор за дражење појединачним надражајима са кимографом као прекидачем у примарном колу струје. Поставити неуроми-

шићни препарат у коморицу испуњену Рингеровим раствором, полугу за регистровање прислонити уз хартију кимографа и слободном вртњом окренути добош за читав круг, водећи рачуна да полуга остави траг читавом дужином круга. На тај начин се добија базална линија.

Пребацити живац преко електрода и установити на електростимулатору јачину надражаја при којој је ефикасно дражење само при отварању примарног кола струје. Подесити на кимографу аутоматски прекидач и аплицирати појединачни надражај. Мишић ће реаговати једном контракцијом и пошто се кимограф не окреће, на хартији ће бити оцртана усправна линија (тачка **а**) која представља моменат раздражења.

Руком лагано завртети добош кимографа, када прође читав круг затвориће се и отворити коло струје код тачке **а**, али ће се запис контракције развући и добићемо целу криву просте мишићне контракције са свим њеним елементима. Запис прецртати и извршити његову анализу.

Изглед криве просте мишићне контракције се мења ако је мишић заморен. Да би то уочили и доказали потребно је мишић подражавати око два минута учесталим надражајима па након тога опет регистровати на истом месту као и претходно, просту мишићну контракцију. Описати и анализирати настале промене.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Запис са кимографа:

ЗАКЉУЧАК:

6.4 Минимална и максимална мишићна контракција

Ако се скелетни мишић дражи појединачним надражајима све већег и већег интензитета он ће одговарати све већом контракцијом. То није случај са срчаним мишићем, јер он реагује по закону „све или ништа“. Међутим, дражењем једног јединог мишићног влакна скелетног мишића надражајем пражне јачине могуће је доказати да се и оно понаша по овом закону. Разлог зашто скелетни мишић, као целина, реагује на описан начин је у томе што је он грађен од великог броја мишићних влакана која појединачно имају различит праг осетљивости, тако да се повећањем интензитета надражаја повећава број влакана укључених у контракцију.

ЗАДАТАК: Регистровати утицај јачине појединачног надражаја на снагу контракције неуромускуларног препарата жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Неуромускуларни препарат жабе и све што је наведено у претходној вежби (6.3).

ИЗВОЂЕЊЕ: Испрепарисати неуромускуларни препарат жабе. Поставити препарат у коморицу испуњену Рингеровим раствором, живац пребацити преко електрода, полугу за регистровање оптеретити тегом од 10 g, а полугу за регистровање прислонити уз добош кимографа који је подешен на слободну вртњу. Окренути добош за читав круг да би се добио запис базалне линије.

Електростимулатор подесити на нулти интензитет струје. Затварањем и отварањем кола струје утврдити да је интензитет надражаја преслаб да изазове контракцију мишића. Надражај испод прага осетљивости се означава као *субминимални надражај*.

Постепено повећавати јачину струје све до оног интензитета када се у једном моменту при отварању кола струје појави мала контракција (види се запис на кимографу). Ово је *минимална контракција* која се добија *минималним надражајем (праг раздражења)*.

Добош кимографа помакнути за око 1 cm и мало повећати јачину надражаја па затворити и отворити коло струје. Висина записа је већа због снажније контракције мишића. Целу претходну процедуру понављати све док повећање јачине струје (надражаја) не буде више изазивало повећање записа на кимографу, тј. када се снага мишићне контракције више не повећава изнад максимално достигнуте, без обзира на повећање јачине надражаја.

Прва у низу добијених контракција после које не долази више до повећања снаге контракције назива се *максимална контракција*, а интензитет надражаја који је ову контракцију изазвао назива се *максимални надражај*.

Надражаји и контракције који се налазе у подручју између минималних и максималних називају се *субмаксимални надражаји* и *субмаксималне контракције*.

Максимална контракција је постигнута оног тренутка када је јачина надражаја била толика (максимални надражај) да су се сва појединачна мишићна влакна надражила и контраховала.

Са кимографа прецртати запис и анализирати га.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Запис са кимографа:

ЗАКЉУЧАК:

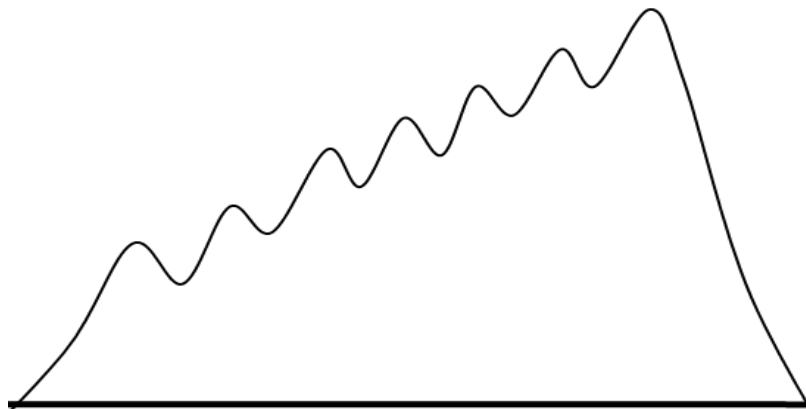
6.5 Сложена мишићна контракција – тетанус

Скелетни мишић на појединачан наддражај пражне вредности реагује једноставним трзајем – простом мишићном контракцијом. Ако се у кратком временском размаку аплицирају два или више наддражаја, долази до сумације, односно *сложене мишићне контракције* или *тетануса*. Ово је могуће због тога што период рефрактарности (неосетљивости мишића на наддражај) траје веома кратко (до 0,01 секунду – латентни период). Значи, ако други (следећи) наддражај уследи у периоду између латентног периода и завршетка читаве прости мишићне контракције (за жабљи мишић око 0,1 секунду), мишић ће се поново контраховати.

Ако је наддражај аплициран у активној фази, мишић ће продужити контракцију, она је јача и то ће бити сумирана контракција са једним врхом. Уколико други наддражај уследи у пасивној фази, мишић се одмах контрахује и долази до сумиране контракције са два врха. Крива друге контракције је утолико више, уколико други наддражај стиже раније у односу на почетак релаксације.

Скелетни мишићи у физиолошким условима, односно у организму, примају преко нерава из моторних центара из ЦНС серије импулса у кратким временским интервалима (дакле, не један или два импулса) са фреквенцијом најчешће око 50 Hz. Сваки од импулса изазива контракцију, оне се сумирају (стапају) и долази до појаве сложене мишићне контракције или тетануса.

Када у серији импулса (наддражаја) сваки следећи пада у време релаксације претходне контракције, развиће се *зупчасти* или *непотпуни тетанус* (слика 6.2).



Слика 6.2: Непотпуни (зупчасти) тетанус

Потпуни тетанус настаје када је учесталост наддражаја већа и када сваки следећи наддражај пада у активној фази контракције проузроковане претходним наддражајем и оне се сумирају (слика 6.3).



Слика 6.3: Потпуни тетанус

ЗАДАТАК: Регистровати непотпуни и потпуни тетанус неуромишићног препарата жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Неуромишићни препарат жабе и све наведено за извођење претходне вежбе.

ИЗВОЂЕЊЕ: Испрепарирани неуромускуларни препарат поставити у коморицу напуњену Рингеровим раствором, живац поставити на електроде, полугу за регистравање прислонити уз добош кимографа, направити базалну линију и подесити кимограф на спору вртњу. Подесити фреквенцију на електростимулатору на 5-7 Hz и дражити нерв, затим подесити фреквенцију на 30-40 Hz и дражити нерв, и на крају, подесити фреквенцију на 100 Hz и дражити нерв. Прецртати и анализирати добијене записе.

ПРОСТОР ЗА РАД

Запис са кимографа:

ЗАКЉУЧАК:

6.6 Секундарна мишићна контракција

При свакој контракцији мишића, или мало пре ње, јављају се неке друге појаве као што су хемијске, термичке и електричне. Према томе, мишићној контракцији претходи деполяризација мишићних мембрана. Овај талас електронегативности (акциони потенцијал) шири се од места моторне плоче на целу површину мишићне ћелије, што коначно доводи до ослобађања јона Са који дифундују у саркоплазму и укључују биохемијски процес који доводи до механичких дешавања – контракције мишића. Акционе струје, које претходе мишићној контракцији, могуће је регистровати не само специјалним инструментима, него и једноставно доказујући тзв. секундарну контракцију.

ЗАДАТАК: Доказати акционе струје у скелетном мишићу помоћу секундарне мишићне контракције.

МАТЕРИЈАЛ: Материјал као у претходној вежби, два неуромускуларна препарата жабе, електростимулатор за појединачне и фреквентне надражаје, електроде и стаклена плоча.

ИЗВОЂЕЊЕ: Испрепарирати два неуромускуларна препарата жабе и поставити их један поред другог на суву стаклену плочу. Живац једног препарата (примарног препарата) ставити на бакарне електроде, а живац другог препарата (секундарни препарат) ставити на мишић примарног препарата тако да га додирује својим пресеченим делом.

Појединачним надражајем дражити живац примарног препарата и истовремено посматрати реакцију секундарног препарата. Подесити стимулатор на фреквентне надражаје и тетанизирати примарни препарат и запазити реакцију секундарног препарата.

У овом огледу је секундарни препарат послужио као галванометар који показује појаву акционих струја у надраженом примарном препарату, јер су те биоелектричне струје са примарног препарата преносе на нерв секундарног препарата и он се истовремено контрахује са примарним.

Да се не ради о једноставном преносу изворне електричне струје може се доказати подвезивањем живца секундарног препарата или његовим физиолошким разарањем помоћу амонијака. Након тога, понављају се наведени поступци. Овог пута ће изостати и појединачна контракција и тетанус секундарног препарата, док ће примарни препарат испољавати контракције. То значи да се ту ради о биоелектричним (акционим) струјама примарног мишића које покрећу талас деполаризације у живцу секундарног мишића, али тај талас се не може раширити због физиолошког прекида (разарања) нерва. То значи да се живац не понаша као обични проводник електричне струје.

ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

ЗАКЉУЧАК:

6.7 Растегљивост и еластичност мишића

Једна од важних карактеристика мишића јесте еластичност. Своју еластичност мишићи манифестују, поред осталог, и тиме што се под дејством оптерећења истежу, а после растерећења поново враћају у првобитни положај. Еластичност је могућа захваљујући везивно-ткивним елементима који улазе у састав мишића. Међутим, мишићи не представљају идеално еластични материјал.

ЗАДАТАК: Упоредити криве истезања скелетног мишића и приближно идеално еластичног материјала (гумене траке).

МАТЕРИЈАЛ: Мускуларни препарат жабе, коморица за изоловани мишић, гумена трака, тегови, кимограф.

ИЗВОЂЕЊЕ: Ставити мишићни препарат у коморицу и повезати га са полугом за регистрацију која је прислоњена уз добош кимографа. На кимографу исписати базалну линију. Полугу затим оптеретити тегом од 10 g и кимограф руком покренути за око 1 cm. Полугу оптерећивати све више окрећући добош кимографа руком након сваког новог оптерећења. Након што су употребљени сви тегови, постепено смањивати оптерећење полуге и регистровати на кимографу промене дужине мишића. Када су скинути сви тегови, извадити мишић из коморице и заменити га гуменом траком, па поновити оглед као и са мишићем.

Након потпуног растерећења полуге, када је она била повезана са мишићем, њен врх се није вратио на исти ниво са којег је кренуо након почетка оптерећивања (базална линија), а јесте када је у коморици била гумена трака. Из тога произилази да је рад који изврши мишић при растерећењу мањи од рада који је извршен за његово истезање. Разлика између једног и другог рада представља онај део енергије који је деградиран у топлоту. Ова разлика потиче отуда што мишић није идеално еластично тело, већ испољава, поред еластичне и вискозну компоненту.

ПРОСТОР ЗА РАД (забележити запажања):

ЗАКЉУЧАК:

6.8 Одређивање мишићне јачине

Основна улога скелетних мишића јесте покретање полуга које у телу чине кости са тачком ослонаца у зглобовима. Различите групе мишића укључене су у бројне врсте покрета попут прегibaња, опружања, циркумдукције, ротације итд. Мишићна јачина се дефинише као интезитет силе који мишић може да генерише приликом максималног напрезања током савладавања отпора. Савладани отпор је дакле пропорционалан мишићној јачини тј. сили која је створена у мишићу. За прецизно одређивање мишићне јачине, користе се тензиометри и динамометри, док се за грубу процену може користити мануелна процена.

Значај мануелне процене мишићне јачине огледа се у процени стања мишића до чијег нарушавања може доћи услед оштећења нерава, моторне плоче или компоненти мишићног ткива (мишићна дистрофија). Метода је погодна јер не захтева додатну опрему.

Да би тест био валидан, неопходно је испоштовати одређене критеријуме. Испитанику мора бити јасан покрет који треба да изведе, мора заузети правилан положај да би се покрет вршио насупрот дејству силе гравитације и да се избегне ангажовање помоћних мишића. Испитивање мишићне јачине оцењује се оценом од 0

до 5. По правилу мануелни тест започиње оценом 3 која корелира са 50% јачине мишића након чега се наставља са тестом у смеру оптерећења или растерећења.

Оцена 0 – При покушају покрета не може се ни визуелно ни палпаторно детектовати траг контракције.

Оцена 1 – Мишић није у стању да изведе покрет али се приликом покушаја палпаторно или визуелно детектује контракција (очувано 10% јачине мишића).

Оцена 2 – Мишић је у стању да савлада тежину сопственог сегмента у хоризонталном, растерећеном положају у пуном обиму покрета (25% јачине мишића).

Оцена 3 – Мишић је у стању да савлада тежину сопственог сегмента тј. да се супростави сили гравитације, кроз пун обим покрета. Уколико се покрет изведе са лакоћом мишић се оцењује са 3+, а уколико се јави замор или се покрет изводи са напоном оценом 3-.

Оцена 4 – Мишић може да савлада мањи мануелни отпор у пуном обиму покрета (75% јачине мишића).

Оцена 5 – Мишић може да савлада јачи отпор испитивача (100% јачине мишића).

На овај начин могуће је тестирати већи број скупина мишића као што су флексори и екстензори главе и врата, тестирање мишића ноге (флексора и екстензора), тестирање мишића руке итд. Ради разумевања принципа тестирања, на овим вежбама ће се вршити мануелна процена јачине флексора и екстензора у зглобу колена на студенту.

ЗАДАТАК: Извршити мануелну процену мишићне јачине флексора и екстензора у зглобу колена на студенту.

ИЗВОЂЕЊЕ:

Тестирање мишића ноге (екстензори у зглобу колена)

За оцену 3 – испитаник лежи на трбуху испружених ногу. Нога која се тестира је савијена у колену око 45 степени, а натколеница фиксирана. Потколеница се примиче натколеници у пуном обиму покрета. Могуће је и одвојено тестирати *m. biceps femoris* уколико се од испитаника тражи да изведе спољашњу ротацију потколенице, односно *m. semimembranosus* и *m. semitendinosus* уколико испитаник изводи покрет унутрашње ротације.

За оцену 4 и 5 – Поступак је исти као за оцену 3, с тим што испитаник при вршењу задатих покрета савладава слабији или јачи отпор који примењује испитивач на задњу страну потколенице изнад скочног зглоба.

За оцену 2 – испитаник лежи на боку ноге која се тестира и која је савијена у колену. Испитивач придржава супротну ногу и истовремено фиксира натколеницу испитиване ноге. Испитаник врши покрет савијања потколенице у растерећеном положају по подлози.

За оцену 1 и 0 – испитаник лежи на трбуху са савијеном потколеницом коју придржава испитивач. Уколико се палпацијом тетива *m. biceps femoris* на спољашњој страни затколене јаме и *m. semimembranosus* и *m. semitendinosus* на унутрашњој страни затколене јаме не региструје контракција, мишићи задње ложе добијају оцену 0. Уколико се детектују трагови контракција, мишић добија оцену 1.

ОЦЕНА:

Тестирање мишића ноге (флексори у зглобу колена)

За оцену 3 – Испитаник лежи на леђима са потколеницом која виси преко ивице стола, а супротна нога је на столу, савијена. Испитивач фиксира натколеницу испитиване ноге, а затим изводи покрет екстензије у зглобу колена у пуном обиму.

За оцену 4 и 5 – Поступак је исти као за оцену 3, али сада испитаник савладава слабији или јачи отпор који пружа испитивач притиском шаке непосредно изнад стопала.

За оцену 2 – Испитаник лежи на боку ноге која се тестира и која је савијена у колену. Бут је опружен у зглобу кука. Испитивач придржава супротну ногу и истовремено фиксира натколеницу испитиване ноге. Испитаник врши покрет екстензије у зглобу колена у растерећеном положају по подлози.

За оцену 1 и 0 – Испитаник лежи на леђима. Потколеница је благо савијена и при покушају покрета или притиска колена о подлогу палпира се контракција мишића, те мишић добија оцену 1. Ако се ово не примети, мишић добија оцену 0.

ОЦЕНА:

7.0 Физиологија варења и метаболизам

Једна од основних карактеристика живота јесте стална размена материја између организма и околне спољашње средине. Биљни и животињски организми чине с околном природом нераздвојну целину, а везу између њих представљају разне органске и неорганске материје које непрекидно круже у свим ћелијама организма. Те, за живот неопходне, храњиве материје уносе се у животињски организам храњењем, изузев кисеоника који се уноси дисањем. Унета храна служи као:

- ✓ извор енергије за организам и
- ✓ материјал за изградњу телесних структура.

Ослобађање енергије и синтеза нове живе материје одигравају се у току сложених биохемијских процеса, који се означавају као метаболизам или промет материја. Промет материја подразумева три групе физиолошких процеса:

- ✓ примање (уношење), разлагање и ресорпција храњивих материја и уношење кисеоника (варење и спољашње дисање),
- ✓ процес хемијских трансформација храњивих материја у ћелијама организма (интермедијарни промет) и
- ✓ процес излучивања крајњих продуката промета материја (екскреција и депоновање).

Организам може да искористи у природном, непромењеном облику само неке материје као што су вода, разни јони (минералне материје) и витамини. Задатак процеса варења састоји се у томе да храну, унету у дигестивни тракт, измени тако да је организам може искористити. Процесом варења у дигестивном тракту долази до постепеног разлагања храњивих материја у њихове просте састојке: беланчевине на аминокиселине, угљених хидрата на глукозу и друге моносахариде, масти на глицерол и масне киселине. Састојци настали процесом варења лако се растварају и дифундују кроз површинске слојеве ћелија, брзо се ресорбују из црева (и бурага), а сем тога они нису “туђи” организму и после ресорпције организам је у стању да их искористи било као енергетски извор, било за изградњу ћелија. У раду органа за варење за све животиње заједничка су четири основна процеса:

- ✓ механички и физички процеси варења хране, односно моторна функција пробавног система,
- ✓ дигестивне секреције, тј. лучење секрета из жлезда које учествују у варењу хране,
- ✓ хемијски процеси варења, под којим се подразумева ензимско разлагање храњивих материја и
- ✓ ресорпција продуката варења из дигестивног тракта у крв и/или лимфу.

Ове активности органа за варење одигравају се повезано и скоро увек истовремено у свим деловима дигестивног тракта; при томе једна активност условљава могућност одигравање друге.

Карактеристична и специфична функција коју, у оквиру заједничког процеса варења, обављају поједини органи дигестивног тракта, у вези је са поступним променама хране током процеса варења. Храна, доспела у било који део пробавног тракта, у многоме се разликује од такве исте хране која је боравила извесно време у другом делу дигестивног тракта. Тако, у усну дупљу бива унета природна и неизмењена храна, али она у желудац доспева већ знатно измењена (сажвакана је, многе материје у њој прешле су из чврстог стања у облик раствора, а неке су се хемијски измениле, итд.). Из желуца храна прелази у црева још више промењена, са изразито киселом реакцијом од излучене HCl, са знатно разложеним беланчевинама под дејством пепсина, а код преживара и са разграђеном целулозом под дејством микрофлоре и микрофауне. Даље мењање хране у цревима одиграва се уз истовремену сталну ресорпцију сварених састојака, док се, најзад, у дебелим цревима не формира измет, који нема никакве сличности са храном која је унета у дигестивни тракт.

Класификација животиња на *месоједе*, *биљоједе* и *сваштоједе* извршена је на основу начина њихове исхране док су биле слободне у природи. Оне су основне састојке хране (протеине, масти и угљене хидрате) добијале хранећи се биљкама или другим животињским врстама. Отуда се еволуција грађе и функције њиховог дигестивног тракта одигравала највећим делом у условима исхране на коју су били упућени у слободној природи. Доместификацијом животиња умногоме је измењен начин њихове исхране, што се мора имати у виду, како са становишта физиологије исхране, тако и са становишта патологије данашњих високопродуктивних животињских врста.

Уопштено се може рећи да се код месоједа храна вари дејством ензима дигестивног тракта, а микробијална дигестија је минимална. Насупрот њима, код биљоједа храна подлеже обимним процесима микробијалне ферментације у посебним деловима дигестивног тракта (бураг, односно дебело црево). Омниворе се хране биљном и животињском храном, али се њихови процеси варења одигравају првенствено под дејством ензима дигестивних сокова, слично као код месоједа. Процесом доместификације свиња је у великој мери постала биљојед, а с тим у вези дошло је до значајног удела бактеријског разлагања хране у дебелом цреву. У данашњим условима процеси варења хране код свиња у великој су мери под утицајем начина исхране и производном наменом.

7.1 Испитивање пљувачке

Пљувачка представља мешавину секрета свих пљувачних жлезда чији се изводни канали уливају у усну дупљу. Најважније су три велике парне пљувачне жлезде: заушне (*gl. parotis*), подвиличне (*gl. submaxillares s. mandibulares*) и подјезичне (*gl. sublinguales*), премда у слузокожи усне дупље и језика постоје и бројне ситне пљувачне жлезде које претежно луче слуз. Ситне пљувачне жлезде код свих домаћих животиња луче пљувачку континуирано, због чега је слузокожа усне дупље стално влажна. Мешовита пљувачка из уста је слузава, прозрачна течност, мало опалесцентна и лако пенушава, без мириса и укуса. Количина дневно излучене пљувачке (табела 7.1) зависи од животињске врсте, од волумена узете хране, њених физичко-хемијских својстава, садржаја воде, трајања жвакања, преживања, итд.

Табела 7.1: Присуство птијалина, електрохемијска реакција и количина дневно излучене пљувачке

Врста	Присуство птијалина	pH	Количина за 24 сата (L)
Овца	-	8,0 – 8,4	6 – 16
Говече	-	8,1	100 – 180
Коњ	-	7,56	30 – 50
Свиња	+	7,2 – 7,5	8 – 15
Пас	-	7,56	0,6 – 1,2
Човек	+	6,63	0,5 - 1

Улога пљувачке је:

- ✓ механичка (натапање и размекшавање хране, помагање да се формира залогај и учини клизавим, подесним за гутање),
- ✓ физичка (растварање састојака хране чиме се подстичу мирис и укус, као и стимулација дигестивних секреција) и
- ✓ хемијска (разлагање скроба код врста које поседују птијалин-човек и свиња).

Код преживара пљувачка је од посебног значаја, јер својим великим количинама и богатим присуством бикарбоната регулише количину течности у бурагу и електрохемијску реакцију садржаја.

Узорци пљувачке за испитивање могу се добити директно из усне дупље или помоћу езофагеалне фистуле. Пљувачком натопљена и прогутана храна излази из једњака кроз фистулу, сакупља се и мери тежина, а разлика у тежини дате хране и прикупљене из фистуле одговара количини излучене пљувачке.

Прављењем привремене или трајне фистуле изводног канала једне од пљувачних жлезда може се добити чиста пљувачка, а могуће је пратити фазе лучења у зависности од регулаторних фактора и може се пљувачка анализирати.

ЗАДАТАК: Узети узорак пљувачке преживара директно из усне дупље. Описати физичке особине.

МАТЕРИЈАЛ: Хватаљка по Пеану, вата, левкови са филтер папиром, лабораторијска чаша.

ИЗВОЂЕЊЕ: Овцу или говече фиксирати и замотуљак вате причвршћен хватаљком увући у усну дупљу са стране уз простор између секутића и кутњака. Повлачећи вату неколико пута по површини слузокоже усне дупље да би се што боље натопила пљувачком, затим је исцедити у левак обложен са филтер папиром. Поступак поновити неколико пута. Описати физичке особине добијеног узорка пљувачке (боја, прозачност, конзистенција, мирис).

ПРОСТОР ЗА РАД

Боја:

Прозачност:

Конзистенција:

Мирис:

7.1.1 Одређивање електрохемијске реакције пљувачке

Код већине домаћих животиња електрохемијска реакција пљувачке је мање или више базна (табела 7.1). Код преживара је електрохемијска реакција изразито базна (8 – 8,4) зато што преовлађује пљувачка *gl.parotis* која је изузетно богата бикарбонатима и протеинима који заједно са фосфатима неутралишу ниже масне киселине које се стварају у преджелуцима. Код месоједа је електрохемијска реакција благо кисела кад нема варења, док је у току оброка око 7,5. Код човека је електрохемијска реакција пљувачке, такође, благо кисела.

ЗАДАТАК: Одредити електрохемијску реакцију у узорку мешовите пљувачке код преживара и/или човека.

МАТЕРИЈАЛ: Хватаљка по Пеану, вата, левкови са филтер папиром, чаша, лакмус папир.

ИЗВОЂЕЊЕ: Узорак пљувачке узети на начин као што је описано у претходној вежби. Електрохемијску реакцију пљувачке утврдити помоћу лакмус папира. Урањањем врха црвеног лакмус папира констатовати промену боје у плаву - алкална електрохемијска реакција. Пљувачка код преживара је базне електрохемијске реакције услед присуства велике количине На-бикарбоната што представља значајан пуфер који доприноси одржавању електрохемијске реакције садржаја бурага у физиолошким границама. Испитивање електрохемијске реакције поновити и на сакупљеном, процеђеном узорку мешовите пљувачке човека.

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.1.2 Испитивање ензимске активности птијалина

У саставу пљувачке свиње, кунића, живине и човека налази се ензим птијалин (дијастаза, алфа-амилаза) који делује на алфа-глюкозидне везе скроба и гликогена разлажући их до малтозе, глюкозе и малтотриозе, као крајњих производа. Преживари не садрже птијалин што је значајно јер би, у супротном, остала несварена целулоза. Лучи се у неактивном облику (проензим), а активирају га јони хлора из NaCl, такође присутног у пљувачки. Под дејством птијалина разложи се свега 3-5% скроба у усној дупљи. Оптимална електрохемијска реакција за његово деловање је од 6,2 до 6,6 па је његово дејство могуће и у желуцу, све док HCl не разложи муцине који облажу болус и тако га штите. Птијалин је термолабилан и при вишим температурама се денатурише (губи своју ензимску активност).

ЗАДАТАК: Испитати ензимску активност птијалина пљувачке човека.

МАТЕРИЈАЛ: Сталак са 5 епрувета (1-5), процеђена сакупљена пљувачка, скроб, водено купатило (37 °C), Луголов раствор, пипете, Фелинг I (7 g кристалног CuSO₄ и дестиловане воде до 100 ml) и Фелиг II (35 g калијум-натријум тартарата, 10 g NaOH, дестилована вода до 100 ml).

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити колоидни раствор скроба: у стаклену чашу унети 1 g скроба, додати 100 ml дестиловане воде, загревати до кључања, а затим охладити. У сваку од 5 епрувета сипати по 4 ml раствора скроба, потом испитивање изводити у 3 фазе:

I У епрувете 1, 2 и 3 усути по једну кап Луголовог раствора и констатовати појаву интензивне плаве боје (колоидне мицеле скроба за своју површину везују молекуле јода из Луголовог раствора);

II Епруветама 2 и 4 додати по 1 ml нативне пљувачке, а у епрувете 3 и 5 по 1 ml прокуване пљувачке;

III Све епрувете ставити у водено купатило 20 минута на 37 °C. Извадити епрувете из воденог купатила и са садржајем из епрувета 4 и 5 извести Фелингову пробу (у две епрувете усути по 1 ml реагенса Фелиг I и Фелинг II и томе додати око 2 ml садржаја епрувете 4 односно 5).

ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: Интензивна плава боја у епруветама са Луголовим раствором указује да скроб није разложен, док губитак те боје указује на разлагање скроба под дејством птијалина. Скроб који је разложен до малтозе даје позитивне редукционе пробе – Фелингова реакција је позитивна (раствор се боји црвено). Фелингова реакција је негативна када није дошло до разлагања скроба до малтозе, јер је птијалин денатурисан.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:

2. епрувета:

3. епрувета:

4. епрувета:

5. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

7.2 Испитивање садржаја бурага

Преджелуци преживара, поред тога што имају важну моторну улогу, представљају и поприште обимне хемијске и микробиолошке активности. Ова функција преджелудаца заснива се на симбиотском односу између организма преживара (домаћина) и бројне микропопулације (бактерије, протозое и гљивице) која својим деловањем обезбеђују главнину енергетских потреба преживара. Обзиром да активност микрофлоре и микрофауне чини један од битних фактора који одређују продуктивне способности преживара, лако је разумети зашто се чине стални напори у правцу што бољег упознавања путева којима микроорганизми врше разградњу хранљивих материја, као и оптималних услова који обезбеђују њихову максималну делатност. У истом смислу су разумљива и настојања да се установе неки специфични тестови у циљу контроле животне активности микрофлоре и микрофауне преджелудаца. Као резултат таквих настојања данас је на располагању велики број метода и тестова од којих ће се неки извести и на нашим вежбама. У ове методе спадају и утврђивање физичко-хемијских својства садржаја бурага (боја, изглед, мирис, електрохемијска реакција), микроскопско посматрање инфузорија и доказивање неких важних хемијских процеса који су израз активности микроорганизама преджелудаца. Садржај бурага се може добити на два начина:

- ✓ желудачном сондом и
- ✓ преко фистуле бурага.

Након вађења садржаја потребно га је процедити кроз газу да би се отклони-ле најкрупније партикуле хране и потом процеђени садржај држати на температури од 38 °C до 40 °C како би се предвиђена испитивања могла извести коректно.

7.2.1 Испитивање физичко-хемијских својстава садржаја бурага

Испитивање физичко-хемијских својстава садржаја бурага се врши непосредно након вађења садржаја и подразумева испитивање:

- ✓ боје,
- ✓ конзистенције,
- ✓ мириса и

✓ електрохемијске реакције.

ЗАДАТАК: Испитати физичко-хемијска својстава садржаја бурага.

МАТЕРИЈАЛ: Процеђен бурагов садржај, лакмус папир и/или рН-метар.

ИЗВОЂЕЊЕ И ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: Непосредно након добијања процедити бурагов садржај и испитати физичко-хемијска својства.

Боја бураговог садржаја је нормално бледо зелена боје, када се животиња држи и храни у стајским условима, док је при пашној исхрани боја изражено зелена. Сиви тон боје се запажа при храни са цибром. Жућкасто-смеђа боја је присутна када у исхрани доминирају сено и силажа. Смеђа боја је индикатор слабе микробне активности бураговог садржаја (микрофлоре и микрофауне). Сива боја се јавља код акутног преждеравања концентратом.

Конзистенција бураговог садржаја је нормално вискозна услед присуства мноштва микроорганизама и ситних партикула хране. Претежно воденаста конзистенција указује на кетозу (ацетонемију) и слабу активност садржаја. Мехуричаста (пенушава) конзистенција настаје код појаве надуна (тимпаније).

Мирис бураговог садржаја је нормално карактеристично ароматичан и углавном долази од својства хране. Мирис на трулеж и фекалије се јавља када доминирају трулежни процеси у бурагу. Кисео мирис настаје код акутног преждеравања житарицама или концентратима. Кисео мирис води порекло, углавном, од присуства млечне киселине у већим количинама.

Нормална (физиолошка) електрохемијска реакција (рН вредност) бураговог садржаја се креће од 6 до 7,4. Међутим, рН вредност се најчешће креће од 6,8 до 7, а најнижа је 2 сата након храњења. Редовна су дневна колебања вредности у зависности од узимања хране.

За приближно одређивање рН вредности користи се лакмус папир, а за прецизнија одређивања мерење се изводи помоћу рН-метра.

Врло кисео садржај настаје при исхрани великим количинама веома киселе силаже (рН је низак). Уколико у бураговом садржају преовлађују трулежни процеси или долази до ослобађања велике количине амонијака електрохемијска реакција постаје алкална.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Боја:

Конзистенција:

Мирис:

Електрохемијска реакција:

ЗАКЉУЧАК:

7.2.2 Микроскопски преглед садржаја бурага

Повољни услови у преджелуцима (температура, влажност, стални рН, анаеробна средина, редукован прилив хране-супстрата за ферментацију, непрестана ресорпција) омогућавају насељавање бројних врста микрофлоре (бактерије и гљивице) и микрофауне (протозоа).

Микрофлора и микрофауна у преджелуцима имају двоструки значај: својим ензимима потпомажу варење тешко сварљивих састојака биљне хране (целулоза, хемицелулоза, пектин и др.), а када са садржајем пређу из преджелудаца у прави желудац и црева домаћина и саме постају извор хранљивих материја за преживара. Производи микробне ферментације могу бити корисни (ниже масне киселине, микробни протеини, витамини и амонијак) или неупотребљиви (метан), а неки од њих су чак и штетни по животињу (амонијак у вишку и нитрати).

У једном граму садржаја бурага има 10^{10} - 10^{11} бактерија и око 10^6 инфузорија. Величина бактерија обично износи 1-2 μm , максимално до 6 μm , а инфузорија 20-200 μm .

Пошто је ензиматска активност бураговог садржаја директно зависна од микрофлоре и микрофауне у њему, јер промене у флори и фауни доводе до промена у начину и интензитету разлагања хране, то је веома важно познавање бројчане заступљености и активности појединих врста микроорганизама у бурагу.

ЗАДАТАК: Микроскопски посматрати и проценити густину (број), величину и виталност инфузорија.

МАТЕРИЈАЛ: Микроскоп, садржај бурага, предметно и покровно стакло, капаљка.

ИЗВОЂЕЊЕ: Ставити кап бураговог садржаја на предметно стакло и покрити покровним стаклом. Загрејати препарат на око 30 °C држећи га пар секунди изнад пламена шибице. Уколико је узорак богат инфузоријама, може се голим оком запазити њихово живахно кретање, било по њима самима, било по ситним честицама хране и мехурићима гаса које они помичу својим кретањем.

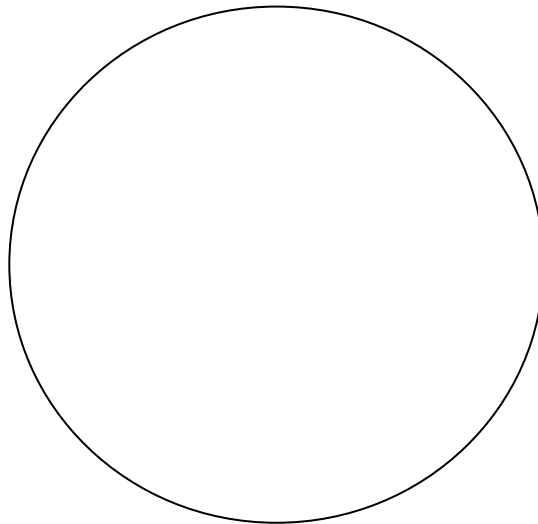
Препарат посматрати под микроскопом (увеличање 100X) и проценити број (густину), величину и виталност инфузорија. Процена виталности се врши на основу односа живих (покретних), према мртвима (непокретним) инфузоријама.

Густина и виталност инфузорија важни су показатељи активности бураговог садржаја, па могу бити од значаја за клиничку дијагнозу и прогнозу појединих обољења.

Смањен број (густина) инфузорија прати гладовање и неке дигестивне поремећаје (индигестије) узроковане грешкама у исхрани. Слаба покретљивост инфузорија запажа се када рН садржаја падне испод 6, а код изразите ацидозе бурага у капи садржаја уопште нема инфузорија.

Скицирати видно поље са микроскопа и забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:



ЗАПАЖАЊА И ЗАКЉУЧАК:

7.2.3 Проба врења глукозе (стварања гасова)

Приликом ферментације хране у бурагу настају велике количине гасова (највише у времену од 30 минута до 4 сата после оброка, у количини и до 40 L/сат). Највише има CO_2 (20-65%) и метана (27-40%), затим азота (око 7%) и веома мало кисеоника, водоника и других. CO_2 настаје ферментацијом угљених хидрата, декарбоксилацијом разних аминокиселина, хидролизом урее итд. Најиздашнији извор метана је мравља киселина, а настаје редукцијом CO_2 у метаногеним бактеријама.

Што су процеси врења у бурагу интензивнији, то настаје више гасова. Према томе, мерећи ниво производње гасова у јединици времена можемо добити увид у дигестивну активност садржаја бурага, односно микробиолошку активност.

ЗАДАТАК: Одредити количину створеног гаса у сахарометру.

МАТЕРИЈАЛ: Садржај бурага, сахарометар по Еинхорну (слика 7.1), епрувете и пипете, 16% раствор глукозе, термостат.



Слика 7.1: Сахарометар по Еинхорну

ИЗВОЂЕЊЕ: У епрувету усути 10 ml процеђеног бураговог садржаја, додати 0,5 ml 16% раствора глукозе (то је количина од 80 mg), измешати, напунити сахарометар и ставити га у термостат на 39 °C. Количину створеног гаса (издваја се у уском продуженом и градуисаном делу сахарометра) читавати након 30, 60 и 90 минута. Обично (физиолошки) се у току једног сата издвоји 1-2 ml гаса.

Стварање гасова је мање ако храна обилује целулозом, а сиромашна је лако сварљивим шећерима и беланчевинама. При гладовању чак и нема стварања гасова. Велике вредности продукције гасова налазе се у случају акутног надуна када је садржај пенушавог изгледа.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Количина створеног гаса након 30 минута: ml

Количина створеног гаса након 60 минута: ml

Количина створеног гаса након 90 минута: ml

ЗАКЉУЧАК:

7.2.4 Доказ способности стварања амонијака из урее

У бурагу се под утицајем микробних протеаза и пептидаза 40-50% протеина хране разгради до кратких пептида и слободних аминокиселина. Један мањи део насталих аминокиселина директно се уграђује у бактеријске протеине. Већи део аминокиселина се под дејством бактеријских дезаминаза разлаже до амонијака и

одговарајућих кетокиселина. Амонијак користе микроорганизми за синтезу својих аминокиселина. Поред тога, знатан део амонијака води порекло из урее која у бураг пристиже не само као додаток храни, него и у саставу пљувачке или дифузијом кроз зид бурага у његов лумен (румено-хепатично кружење азота или циклус регенерације – реутилизације – урее).

ЗАДАТАК: Доказати у садржају бурага настанак амонијака из урее.

МАТЕРИЈАЛ: Бурагов садржај, епрувете, пипете, уреа у супстанцији, Неслеров реагенс (за доказивање амонијака).

ИЗВОЂЕЊЕ: У две епрувете сипати по 5 ml процеђеног бураговог садржаја, у једну од њих додати врхом апотекарске кашичице (или на врху ножића) урее у супстанцији, промешати и обе епрувете ставити у водено купатило на 30 °C и држати 30-60 минута. У међувремену у две чисте епрувете ставити по 5 ml Неслеровог реагенса. Након завршеног инкубирања извадити епрувете из воденог купатила и извести пробу доказивања присуства амонијака додавањем садржаја бурага у епрувете са Неслеровим реагенсом по следећем протоколу

1. епрувета: Неслеров реагенс + 3-5 капи садржаја бурага којем је додата уреа
2. епрувета: Неслеров реагенс + 3-5 капи садржаја бурага којем није додата уреа

ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: Појава црвенкасто-жуте боје доказ је да постоји амонијак настао хидролизом урее помоћу ензима уреазе пореклом из микрофлоре.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

7.2.5 Проба везивања нитрита

Бактерије из простијих и сложенијих азотних једињења могу синтетисати друга органска једињења азота. Тако се повећава биолошка вредност протеина. На пример, биолошка вредност протеина сена износи 60, а протеина који се синтетишу у бурагу, захваљујући микробној активности, 80. Микроорганизми бурага исто тако врше претварање неорганског азота у органски.

Хемијски ток реакције је следећи:



ЗАДАТАК: Доказати у садржају бурага разлагање нитрита.

МАТЕРИЈАЛ: Бурагов садржај, епрувете, пипете, капаљке, 0,025% KNO_2 , термостат, порцеланска плочица, реагенси I и II.

ИЗВОЂЕЊЕ: У три епрувете ставити по 10 ml бураговог садржаја и пребацити их у термостат на 39 °C. Додати у све три епрувете 0,025% KNO_2 и то:

1. епрувета: 0,2 ml
2. епрувета: 0,5 ml
3. епрувета: 0,7 ml

У размацима од 5 минута узети узорак се ставља на порцуланску плочицу и додају се по кап реагенси I и II. Позитивна реакција (присуство нитрита) је појава црвене боје. Брзина ишчезавања нитрита је пропорционална њиховој концентрацији (у првој епрувети нитрити ишчезавају већ за 5-10 минута).

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:
3. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

7.3 Варeње у једнокоморном желуцу

Желудац (грч. *gaster*, лат. *ventriculus*) је проширени део канала за варење који се пружа од једњака (*oesophagus*) до дванаестопалачног црева (*duodenum*). Својим горњим делом желудац комуницира са једњаком преко кардијачног отвора (*ostium cardiacum*), а својим доњим крајем комуницира са дванаестопалачним цревом преко пилоричног отвора (*ostium pyloricum*). Код животиња са простим желуцем, процеси варења се значајно разликују од варења у вишекоморном желуцу (преживари). Опште улоге једнокоморног желуца су:

- ✓ резервоарска,
- ✓ улога у варењу (разградња протеина и скроба),

- ✓ заштитна (бактерицидна захваљујући присуству HCl),
- ✓ регулација електрохемијске реакције,
- ✓ учешће у еритропоези (значај за ресорпцију Fe и витамина B12) и
- ✓ ендокрина улога (ткивни хормон гастрин).

Храна доспела у желудац подлеже разлагању које врше птијалин из пљувачке, код врста које га поседују и ензими желудачног сока (амилолитичка и протеолитичка фаза). Код моногастричних животиња желудачни сок је секрет кардијалних, фундусних и пилорусних жлезда.

Желудачни сок је бистра до лако опалесцентна безбојна изотона течност, специфичне масе од 1,002 до 1,006. Количина и конзистенција желудачног сока варирају зависно од врсте и квалитета хране. Електрохемијска реакција желудачног сока износи од 1 до 2,5. Може бити воденаст и јако кисео (pH око 1) у периоду изражене секреције, или више слузав и мање кисео за време гладовања. Киселост желудачног сока потиче углавном од HCl, а мање од органских киселина и других киселих једињења. HCl изазива денатурацију протеина и преводи их у ацидоалбуминате.

У желудачном соку налазе се следећи ензими: пепсин, липаза, а код младих преживара и лаб-фермент. На ацидоалбуминате (насталих од протеина под дејством HCl) делује пепсин и разлаже их до полипептида. На емулговане масти (млечна маст, маст жуманцета) делује ензим липаза. Треба напоменути да за разлагање масти не постоје оптимални услови у желуцу. Код младих преживара, који се хране млеком, је присутан ензим химозин (лаб-фермент). Химозин разлаже казеин на параказеин и суруткину албумозу и настаје Са-параказеинат (груш) на кога делује пепсин.

Поред ових ензима у желудачном соку се налазе и желатиназе у траговима и полинуклеазе (ДНК-азе и РНК-азе) које хидролизују ДНК и РНК из биљних и животињских ћелија хране и десквамираног епитела до монопнуклеотида.

Желудачни сок садржи и Кастлов (*Castlov*) унутрашњи (*intrinsic*) фактор кога производе ивичне ћелије желудачних жлезда. Он штити витамин B12 од варења, а значајан је за његову ресорпцију у завршном делу танког црева. Желудачни сок свиња је нарочито богат овим фактором.

Желудачни сок се за потребе испитивања може добити помоћу:

- ✓ желудачне сонде и
- ✓ желудачне фистуле.

7.3.1 Укупна киселост желудачног сока

Укупна киселост желудачног сока потиче од састојака који се налазе у желудачном соку али и од појединих састојака из хране. HCl се у желудачном соку налази у виду слободне HCl и везане HCl (углавном за протеине). Улога HCl у желудачном соку је вишеструка:

7.3.2 Ензими желудачног сока

Избор ензима у желудачном соку није јако велики. Желудачни сок садржи проензиме пепсиноген и лаб-фермент (у сиришту младих преживара), мању количину липаза, желатиназе, ДНК-азе и РНК-азе.

Пепсин је протеолитички ензим који припада групи ендопептидаза које кидеју пептидне везе међу аминокиселинама унутар пептидних ланаца. Луче га главне ћелије желудачних жлезда у облику проензима пепсиногена који се ослобађа процесом егзоцитозе. Пепсиноген се под утицајем HCl, односно водоникових јона, претвара у активни пепсин. Аутокаталитичка активација пепсиногена се дешава под утицајем малих количина пепсина. Активација подразумева одвајање инхибиторног пептида, односно пепсин-инхибитора.

Пепсин разлаже протеине доспеле у желудац до пептона (смеша полипептида, са још увек великом молекулском масом). Оптимални рН за дејство пепсина је јако кисела средина (рН од 1,5 до 3). Делује на потпорне протеине везивног ткива (еластине) и тиме ослобађа протеине мишића и омогућава њихово разлагање. Боље делује на денатуриране протеине, а не разлаже протамине, кератине и муцин. Под дејством пепсина се у желуцу разложи свега 10-20% протеина пореклом из хране.

ЗАДАТАК: Доказати дејство пепсина на протеине.

МАТЕРИЈАЛ: Екстракт желудачне слузокоже, 0,3 % HCl, 1 % Na₂CO₃, коагулисано беланце (иситњено у коцкице), 5% NaOH, 0,25% CuSO₄, епрувете, водено купатило.

Коагулисано беланце се користи као супстрат, јер су у њему протеини нерастворљиви. Деловањем пепсина на коагулисано беланце долази до ослобађања пептида, услед ензимског разлагања беланчевина.

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити екстракт желудачне слузокоже. Просећи, очисти од садржаја и опрати свеж свињски желудац или желудац неке друге моногастричне животиње. Испрепарисати слузокожу, а затим је иситнити и мацерирати у 0,2 – 0,3 % раствору HCl. Мацерат оставити на 37 °C кратко време (неколико минута), а затим га чувати расхлађеног (на леду) до употребе.

Реакције извести у четири епрувете према процедури датој у табели 7.2.

Припремљене епрувете лагано измешати, обележити их и ставити у водено купатило на одређену температуру и назначено време (табела 7.2). По истеку времена, епрувете извадити из воденог купатила и урадити биуретску реакцију (описано у вежби одређивања садржаја протеина у крвној плазми и серуму).

Табела 7.2: Извођење вежбе доказа дејства пепсина на протеине

Епрувета	Реагенс и количина	Екстракт слузокоже	Коагулисано беланце	Температура и време инкубирања
1.	0,3% HCl 5 ml	3 капи	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
2.	0,3% HCl 5 ml	-	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
3.	0,3% HCl 5 ml	3 капи ,прокуваног	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
4.	1% Na ₂ CO ₃ 5 ml	3 капи	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата

ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: У епрувети у којој су протеини разложени до пептона биуретска реакција је позитивна. Негативна биуретска реакција указује на одсуство пепсина, његову денатурацију или неадекватне услове средине за његово дејство (алкална средина). При раду треба водити рачуна о количини додатог екстракта желудачне слузокоже, јер он садржи протеине. Ако се дода у већој количини реакција може бити позитивна, иако се очекује негативна (реакција је лажно позитивна).

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:

2. епрувета:

3. епрувета:

4. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

Лаб-фермент (Химозин, Ренин) је ендопептидаза коју производе главне ћелије желудачних жлезда. Налази се у већим количинама у сиришту младих преживара, док код осталих животиња није доказан. За дејство лаб-фермента оптимални рН је између 5 и 6, за разлику од пепсина који делује у изразито киселој средини. Своју активност ренин задржава и у слабо алкалним условима.

Ренин делује на казеин млека и разлаже га на параказеин и суруткину албумозу. Параказеин у заједници са калцијумовим јонима гради калцијум-параказеинат (сир). Код моногастричних животиња казеин се разлаже и под дејством пепсина и неких других протеиназа.

ЗАДАТАК: Доказати дејство лаб-фермента на казеин.

МАТЕРИЈАЛ: Лаб-фермент, млеко, епрувете, водено купатило.

Химозин се може добити екстракцијом из осушених желудаца младих преживара или се може набавити и као готов ензим.

ИЗВОЂЕЊЕ: Узети две епрувете и у сваку сипати по 10 ml млека. У прву додати 1 – 2 капи лаб-фермента, а у другу исто толико денатурисаног (прокуваног ензима). Обе епрувете ставити у водено купатило и након 15 – 20 минута констатовати у којој епрувети се млеко усирило, а у којој остало течно. Објаснити добијен резултат.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:

2. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

7.4 Варење у танком цреву

Химус киселог и течног, полутечног или кашастог карактера у малим порцијама доспева у почетни део танког црева где се темељно механички и хемијски обрађује захваљујући:

- веома доброј моторној активности танких црева и
- интензивној хидролитичкој активности ензима цревног и панкреасног сока и жучи.

Хранљиве материје се у танком цреву разлажу до најједноставнијих једињења која се потом ресорбују. У овом делу дигестивног тракта се врши највећи део ресорпције (око 90 % хранљивих материја).

7.4.1 Цревни сок

Цревни сок представља мешавину секрета Либеркинијевих, Брунерових (дуденалних) жлезда, као и слузи коју луче бројне пехарасте ћелије које су расуте по слузници танког црева. Цревни сок је воденаста, слузава, бледо жута течност, специфичне масе око 1,008, алкалне електрохемијске реакције. Он поседује следеће ензиме: пептидазе, цревна амилаза, цревна липаза, фосфолипазе, полинуклеазе, цревне олигазе - малтаза, сахараза, лактаза (разлажу највећи део дисахарида хране до моносахарида). Пептидазе цревног сока се једним именом називају цревни ерепсин. Аминопептидазе разлажу полипептиде, који на крају имају бар једну аминокиселину са слободном аминогрупом, дајући олигопептиде. Дипептидазе хидролизују дипептиде до појединачних аминокиселина. Количина и деловање цревне амилазе и цревне липазе су безначајне у поређењу са амилазом и липазом пореклом из панкреасног сока. Фосфолипазе разлажу фосфолипиде на глицерол, фосфорну кисели-

ну и азотну базу. Полинуклеазе разграђују ДНК и РНК из биљних и животињских ћелија пореклом из хране, као и десквамираног епитела до мононуклеотида.

7.4.2 Панкреасни сок

Егзокрини део панкреаса представља далеко већи део од његовог ендокриног дела и изграђен је из ацинуса и каналића. Егзокрини део панкреаса лучи панкреасни сок који представља најважнији, најкомплетнији и најефикаснији дигестивни сок свих домаћих животиња. Панкреасни сок је бистра, безбојна течност, слабо алкалне реакције.

Најважнији састојци панкреасног сока су ензими (протеиназе, амилаза, малтаза, липаза и полинуклеазе). Главни протеолитички ензими панкреасног сока су трипсин, химотрипсин и више пептидаза које се означавају заједничким називом као панкреасни ерепсин. Ензими трипсин и химотрипсин су ендопептидазе које се у панкреасу луче у облику профермента – трипсиногена и химотрипсиногена. Трипсиноген се активира у танком цреву под дејством ензима цревне ентерокиназе у активни облик трипсин. Разлог зашто га ацинусне ћелије не синтетишу у овом активном облику јесте његова особина да делује стимулаторно на ензим фосфолипазу-А која је присутна у мембранама различитих ћелија, па и ацинусних. Трипсин врши протеолизу делујући на пептидне везе између карбонилних група аргинина и лизина и аминоксидне групе других аминокиселина. Химотрипсиноген се у танком цреву активира у химотрипсин под утицајем трипсина. Трипсин активира и све остале протеазе панкреасног сока (проеластазу, прокарбоксипептидазе). Химотрипсин прекида пептидне везе између карбоксилних група фенил-аланина и тирозина. Оптимални рН за деловање трипсина и химотрипсина се креће у границама од 7,5 до 9. У панкреасном ерепсину (смеша егзопептидаза) најважније су карбоксипептидаза А и Б које делују на пептиде са слободном карбоксилном групом, разлажући их до аминокиселина и олигопептида.

Панкреасна липаза је најважнији липолитички ензим дигестивног тракта и лучи се углавном у активном облику. Да би овај ензим деловао, неопходно је да су масти емулговане и да је липаза везана за колипазу у односу 1:1. Колипазе су неактивне све док на њих не делује трипсин. Оптимална електрохемијска реакција за њено дејство је око 8. Од липолитичких ензима у панкреасном соку постоје и холестерол-естераза и фосфолипаза А и Б.

Панкреасна амилаза је главни амилитички ензим дигестивног тракта и лучи се у неактивном облику. Њу активирају хлоридни јони (из NaCl-a). Делује само на 1-4 α гликозидне везе полисахарида. Не делује на 1-4 β гликозидне везе (целулоза и хемицелулоза), нити на 1-6 везе у амилопектинима. Малтаза раскида гликозидне везе у малтози и на тај начин даје два молекула глукозе.

Полинуклеазе панкреасног сока разграђују ДНК и РНК из биљних и животињских ћелија пореклом из хране, као и десквамираног епитела до мононуклеотида.

Панкреасни сок садржи доста Na₂CO₃ који је важан за неутралисање киселог садржаја химуса.

ЗАДАТАК: Доказати дејство трипсина на протеине.

МАТЕРИЈАЛ: Екстракт панкреаса, екстракт цревне слузокоже, коагулисано беланце, 1% Na_2CO_3 , 0,3% HCl , реагенси за извођење биуретске реакције (5% NaOH и 0,25% CuSO_4), епрувете, водено купатило.

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити екстракте панкреаса и цревне слузокоже. Очисти-ти потпуно од масти и везивног ткива свеж свињски панкреас. Затим га исећи на ситне комадиће и измешати са Рингеровим раствором у односу 5 g панкреаса на 100 ml раствора. Овако припремљену смешу краткотрајно загрејати на 38 °C а потом чувати расхлађену (на леду) до употребе.

За припрему екстракта цревне слузокоже узети 1 метар дуоденума, изврнути га, испрати од садржаја и слузи, исецкати га и измешати са Рингеровим раствором у односу 5 g ткива на 100ml раствора. Овако припремљену смешу краткотрајно загрејати на 38 °C, а потом чувати расхлађену (на леду) до употребе.

У пет епрувета извести реакцију према протоколу у табели 7.3. Припремљене епрувете лагано измешати, обележити их и ставити у водено купатило на одређену температуру и време (табела 7.3).

После назначеног времена епрувете извадити из воденог купатила и урадити биуретску реакцију (описано у вежби одређивања садржаја протеина у крвној плазми и серуму).

Табела 7.3: Извођење вежбе доказа дејства трипсина на протеине

Епрувета	Реагенс и количина	Екстракт (4 капи)	Коагулисано беланце	Температура и време инкубирања
1.	1 % Na_2CO_3 5ml	Панкреаса и цревне слузокоже	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
2.	1 % Na_2CO_3 5ml	Панкреаса	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
3.	1 % Na_2CO_3 5ml	Цревне слузокоже	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
4.	1 % Na_2CO_3 5ml	Панкреаса (прокуван) и цревне слузокоже	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата
5.	0,3 % HCl 5ml	Панкреаса и цревне слузокоже	3 – 4 коцкице	38 °C ½ сата

ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: Биуретска реакција је позитивна у случају када су се протеини разложили под дејством трипсина на мале пептидне молекуле (трипсино-

ген из екстракта панкреаса активирао се под утицајем цревне ентерокиназе из екстракта цревне слузокоже).

Биуретска реакција је негативна када нема трипсиногена, када није дошло до његове активације или је трипсиноген денатурисан. Биуретска реакција је негативна, такође, када је неадекватна средина за дејство трипсина (кисела средина).

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:
3. епрувета:
4. епрувета:
5. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

Панкреасни и цревни сок садрже ензим амилазу који разлаже скроб и гликоген до малтозе. По свом дејству слична је птијалину, али је ефикаснија. Панкреасна амилаза је активнија од цревне амилазе. Делује само на 1-4 α гликозидне везе полисахарида, а не делује на 1-4 β и 1-6 гликозидне везе. Овај ензим се активира под дејством јона хлора из NaCl, а оптималан рН се креће у граници од 5,5 до 6,9.

ЗАДАТАК: Доказати дејство амилазе из екстракта панкреаса и цревне слузокоже на скроб.

МАТЕРИЈАЛ: Екстракт панкреаса, екстракт цревне слузокоже, 5 % раствор скроба, Фелинг I и II, епрувете и водено купатило.

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити екстракте панкреаса и цревног сока као што је описано претходним вежбама. У четири епрувете сипати по 8 ml 5 % раствора скроба, претходно припремљеног и охлађеног. У 1. епрувету додати 5 – 6 капи екстракта панкреаса, а у 2. епрувету исто толико али претходно прокуваног екстракта панкреаса. У 3. епрувету додати 5 - 6 капи екстракта цревне слузокоже, а у 4. епрувету исто толико прокуваног екстракта цревне слузокоже.

Обележити све четири епрувете и ставити у водено купатило 30 минута на 38 °C. Након вађења из воденог купатила са све четири епрувете урадити Фелингову пробу.

ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА. Фелингова проба је позитивна у епруветама где је амилаза разложила скроб до дисахарида малтозе, која има редукциону способност. Када је ензим амилаза денатурисан кувањем Фелингова проба је негативна.

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:
3. епрувета:
4. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

Олигазе цревног сока делују у завршној фази разлагања угљених хидрата, односно разлагања дисахарида до моносахарида. У ове ензиме спадају малтаза, сахараза и лактаза. Сахараза катализује разградњу сахарозе до глюкозе и фруктозе.

ЗАДАТАК: Доказати дејство сахаразе на дисахарид сахарозу.

МАТЕРИЈАЛ: Екстракт цревне слузокоже, 1 % сахароза, Фелинг I и II, епрувете и водено купатило.

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити екстракт цревне слузокоже. У две епрувете сипати по 5 ml 1 % сахарозе. У 1. епрувету додати 20 капи екстракта цревне слузокоже, а у 2. епрувету исту количину претходно инактивисаног (прокуваног) екстракта цревне слузокоже. Обе епрувете ставити у водено купатило 30 минута на 38 °C. Након вађења из воденог купатила извести Фелингову пробу у обе епрувете.

ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: Дисахариди лактоза и малтоза имају редукционе способности, јер имају малтозни тип везе, док сахароза нема редукциону способност, јер поседује трехалозни тип везе (нема слободних полуацетатних група). Фелингова проба је позитивна (садржај је црвене боје) у епруветама где је сахараза разложила дисахарид сахарозу на глюкозу и фруктозу. Негативна Фелингова проба је у епруветама у којима је ензим сахараза денатурисан кувањем (сахароза нема редукционе способности).

ПРОСТОР ЗА РАД:

1. епрувета:
2. епрувета:

ЗАКЉУЧАК:

7.4.3 Жуч

Ћелије јетре (хепатоцити) непрекидно стварају и излучују жуч у жучне каналиће који се удружују у већи жучни канал, а на крају у јединствен жучни канал - *ductus hepaticus*. *Ductus hepaticus* се код животиња који имају жучну кесу спаја са *ductus cysticus* у заједнички жучни канал - *d. choledochus* који се улива у лумен дуоденума, на чијем крају се налази Одијев сфинктер (регулише утицање жучи у дуоденум). Жуч је густа, слузава течност. Код животиња које имају жучну кесу, жуч је концентрованија 10 – 20 пута, у односу на животиње код којих се она улива директно у дванаестопалачно црево. У жучној кеси се ресорбују електролити (Na и Cl) и вода. Жучну кесу немају: коњ, јелен, жирафа, слон, камила, пацов, голуб и хрчак. Боја жучи зависи од односа жучних боја: мрко-жутог (црвеног) билирубина и зеленог биливердина.

Жуч је секрет и екскрет, јер садржи материје неопходне за варење и материје које су крајњи продукти метаболизма. Жуч има више улога:

- ✓ жучне киселине смањују површински напон и омогућавају стварање фине емулзије масти у цревима; тако липолитички ензими испољавају већу активност, јер делују на мноштво ситних капљица,
- ✓ активира панкреасну липазу која разлаже масти,
- ✓ утиче на моторику црева,
- ✓ неутралише кисело садржај који је доспео из желуца и обезбеђује оптималан рН,
- ✓ жучне киселине обезбеђују ресорпцију масти и липосолубилних витамина.

Жучне киселине настају од холестерола, деривати су холанске киселине. Примарне жучне киселине су: холна, дезоксихолна, литохолна и хенодезоксихолна киселина и излучују се пуферизоване у облику натријумових и калијумових соли. Соли жучних киселина се коњугују са гликоколом и таурином, градећи гликохолну и таурохолну киселину. Значај и улога соли жучних киселина се огледа, пре свега, у емулзификацији масти (снижавањем површинског напона течности у садржају танког црева омогућавају настанак фине стабилне емулзије масти) и активацији панкреасне липазе. Поред тога соли жучних киселина појачавају моторику танког црева, заједно са фосфолипидима (лецитином) одржавају холестерол жучи у растворљивом облику, имају бактерицидно деловање и оштећују вирусе са липопротеинским омотачем.

ЗАДАТАК: Доказати присуство жучних киселина у жучи.

МАТЕРИЈАЛ: Жуч, 10% раствор сахарозе, концентрована H_2SO_4 , дестилована вода, епрувете.

ИЗВОЂЕЊЕ: У прву епрувету сипати 5 ml разблажене жучи, а затим додати 3-4 капи раствора сахарозе. У другу епрувету сипати око 3 ml H_2SO_4 , а затим у њу пажљиво низ зид сипати садржај из прве епрувете. На додирном слоју јавља се прстен

интензивно црвене боје. Реакција се заснива на претварању сахарозе у фурфурол под утицајем сумпорне киселине, који се са распадним производима жучних киселина боји црвено. Забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:

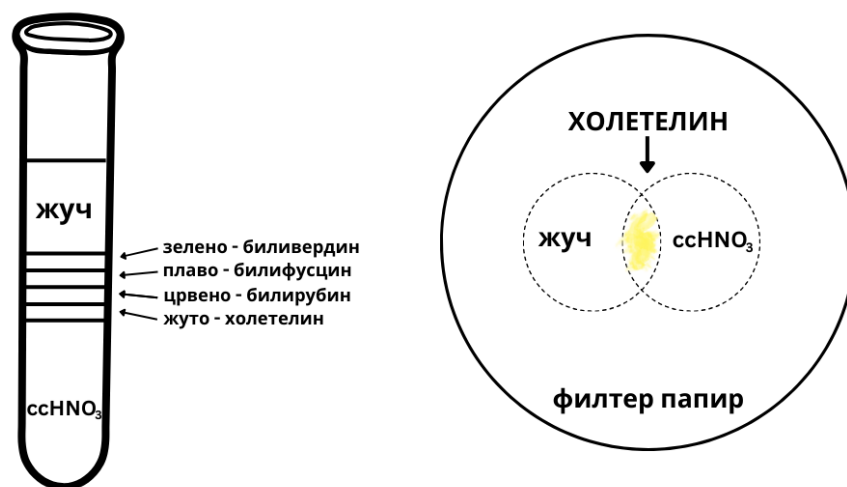
Жучне боје (билирубин и биливердин) немају физиолошку улогу. Настају разградњом хемоглобина (хема) у ћелијама моноцитно-макрофагног система јетре, слезине и коштане сржи. Преко низа међупроизвода настаје жути пигмент билирубин који се везује за албумине крвне плазме (слободни или индиректни билирубин) и доспева у јетру. Потом се ослобађа од албумина и у ћелијама јетре долази до коњугације билирубина са глукуронском киселином (коњуговани, везани или директни билирубин).

ЗАДАТАК: Доказати присуство жучних боја у жучи (Гмелинова проба).

МАТЕРИЈАЛ: Жуч, концентрована азотна киселина, епрувете.

ИЗВОЂЕЊЕ: У прву епрувету улили 4–5 ml жучи, а у другу исту количину азотне киселине. Другу епрувету искосити па у њу опрезно низ зид сипати садржај из прве епрувете. На додирном слоју образоваће се прстенови различите боје - жут - црвен - плав - зелен (посматрано одоздо). Жути потиче од холетелина, црвени од билирубина, плави од билифусцина и зелени од биливердина (Слика 7.2).

Иста проба се може извести и на филтер папиру. Накапати 1-2 капи раствора жучи из цревног сока и сачекати неколико тренутака да се услед капиларности раствор прошири по хартији. Потом додати 1-2 капи концентроване азотне киселине поред ове капи. Уочити да се на месту додира капи на филтер хартије појављује жута боја која потиче од холетелина, облика билирубина облика билирубина који је највише оксидован. Ако су жучне боје присутне у већој количини, појављују се и друге боје, које потичу од осталих оксидационих производа билирубина.



Слика 7.2: Гмелинова реакција

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.5 Физиологија јетре

Јетра је највећа жлезда у организму на коју отпада око 5% укупне телесне масе код новорођенчади и око 2% код одраслих јединки.

Јетра поседује двоструко снабдевање крвљу: артеријска крв-око 300 ml/min или 20% укупног протока, а преосталих 1200 ml/min долази из порталног венског система. Портална крв је богата ресорбованим супстанцама, садржи веће концентрације хормона панкреаса и црева у односу на системску циркулацију, али је релативно сиромашна кисеоником. Артеријска и венска крв се мешају идући кроз синусоиде са јако пермеабилним зидовима ка центру сваког режњића и уливајући се у *v. centralis* које одводе крв до великих хепатичних вена, а ове до *v. cave inferior*. Синусоиди јетре чине богату интралобуларну мрежу и разликују се од конвенционалних капилара-већи су и варијабилног пречника, те садрже доста фагоцита. Синусоиди поседују ендотелне ћелије и велике фиксне макрофаге (Купфер-ове ћелије). Сматра се да зид капилара не представља значајну баријеру за слободно кретање великих молекула између хепатоцита и лумена синусоида. Према томе, ћелије ендотела садрже фенестре који немају „дијафрагму“ видљиву електронским микроскопом (изузев код преживара), ендотел синусоида нема континуирану базалну ламину (изузев код преживара), а ћелије и ретикуларна влакна у перисинусоидалном простору не чине континуалну границу. Јетра је инервисана аутономним нервним влакнима парасимпатикуса који долазе из *p. vagusa* и симпатикусним постганглијским влакнима целиачног ганглиона.

Јетра има многобројне, веома разноврсне улоге:

- ✓ депо је гликогена, масти, протеина, витамина и минералних материја,
- ✓ излучује жуч у дуоденум,
- ✓ синтетише многе супстанције за потребе организма,
- ✓ метаболизира, детоксикује и инактивира егзогене материје,
- ✓ преводи супстанције у активније форме (на пример T_4 у T_3),
- ✓ преузима димерне IgA и излучује их у лумен црева путем жучи,
- ✓ обзиром на велики васкуларни капацитет, служи и као депо крви,
- ✓ место је хематопоезе код фетуса, а под одређеним условима и код одраслих,

- ✓ због присуства фагоцита делује као важан филтер страних материја, нарочито бактерија пореклом из црева,
- ✓ ендокрина улога (соматомедини или инсулински фактори раста),
- ✓ учествује у метаболизму угљених хидрата, масти, холестерола, протеина, воде и минералних материја.

На основу овога може се закључити да јетра представља централни орган за интермедијарни метаболизам и зато испитивања функционалног стања јетре имају основни значај. Лабораторијске пробе за функционално испитивање јетре се могу поделити у три групе:

1. група: Одређивање концентрације серумских протеина (укупни протеини, албумини, А/Г однос, протромбинско време);

2. група: Одређивање активности ензима у крвном серуму (аланин-амино-трансфераза – ALT, аспартат-аминотрансфераза – AST, алкална фосфатаза – ALP, дехидрогеназа млечне киселине – LDH или лактодехидрогеназа, карбамино-трансфераза орнитина – OCT, гама-глутамилтранспептидаза – GGT, дехидрогеназа глутаминске киселине – GLDH, дехидрогеназа сорбитола – SDH);

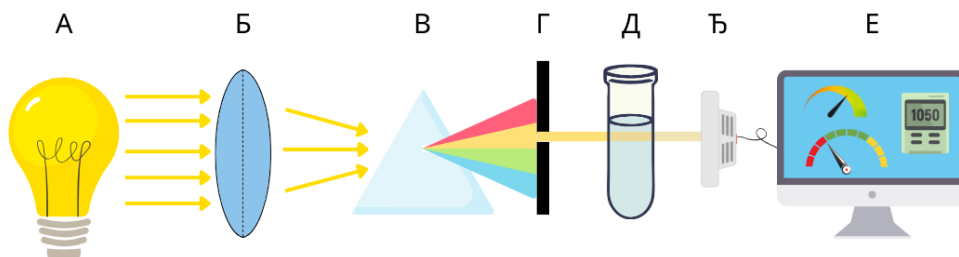
3. група: Одређивање концентрације специфичних јетриних продуката у крвном серуму (глукоза, уреа, билирубин, жучне киселине, липиди – холестерол, триглицериди, фосфолипиди, масне киселине, липопротеиди).

Низ проба за испитивање функционалног стања јетре се заснивају на квантитативним, колориметријским реакцијама које се читавају методом спектрофотометрије. Принцип ове методе се заснива на реакцијама које као резултат имају производе одређене боје, односно који апсорбују светлост одређене таласне дужине.

Количина апсорбоване светлости (екстинкција - E) је пропорционална концентрацији па се на основу познавања екстинкције испитиване материје познате концентрације (стандарда) и екстинкције исте материје непознате концентрације (узорка) може израчунати њена концентрација, а по следећој формули:

$$C_{\text{узорка}} = \frac{E_{\text{узорка}}}{E_{\text{стандарда}}} \times C_{\text{стандарда}}$$

Уређај којим се може прочитати екстинкција испитиваних материја, на одређеној таласној дужини светлости (у nm) назива се спектрофотометар. Принцип рада спектрофотометра је приказан на слици 7.3.



Слика 7.3: Принцип рада спектрофотометра

Светлост која се добија из светлосног извора (А) пролази кроз сабирно сочиво (Б), а затим се разлаже на спектар различитих таласних дужина помоћу призме (В). Уз помоћ селектора таласних дужина (Г) светлост одређене таласне дужине се пропушта кроз узорак који се налази у кивети (Д). Део светлости се апсорбује у узорку, а део који пролази региструје детектор – фотоћелија (Ђ), што се региструје на аналогном или дигиталном дисплеју (Е). Да би се извршила калибрација уређаја, поред узорка и стандарда, потребно је прочитати екстинкцију и слепе пробе (у којој нема испитиване материје).

7.5.1 Одређивање садржаја протеина у крвној плазми / серуму

Протеини крвне плазме и серума су хетерогена група молекула различите молекулске масе, физичко-хемијских и имунохемијских особина. Од укупне количине органских састојака, која износи око 85 у једном литру крвне плазме, на протеине отпада 60-80 g/L.

Познато је око 200 разних врста протеина крвне плазме, а према саставу и облику њихових молекула, физичко-хемијским својствима и физиолошкој улози сврставају се у неколико група. Основна подела је на просте протеине (албумини, глобулини и фибриноген) и сложене протеине, у које спадају липопротеиди и гликопротеиди (табела 7.4).

Одређивањем концентрације укупних протеина у крвној плазми и крвном серуму могуће је установити:

- ✓ *нормопротеинемију* (протеинемија варира унутар физиолошких граница),
- ✓ *хипопротеинемију* (смањена концентрација протеина) и
- ✓ *хиперпротеинемију* (повећана концентрација протеина).

Протеински састав крвне плазме представља одраз здравственог стања једног организма, који се мења при неким физиолошким стањима, али до знатних промена квалитативног и квантитативног односа долази код низа болести и због тога се стално усавршавају постојеће и уводе нове методе за њихово издвајање и проучавање.

Табела 7.4: Концентрација протеина крвне плазме и серума (g/L)

Врста	Протеини плазме	Фибриноген	Протеини серума	Албумини	Глобулини
Коњ	68,4	3,4	65	32,5	32,5
Говече	83,2	7,2	76	36,3	39,7
Овца	57,4	3,6	53,8	30,7	23,1
Коза	72,7	6,0	66,7	39,6	27,1
Свиња	69,0	5,0	63	30,3	32,7
Пас	67,2	5,2	62	35,7	26,3
Мачка	-	-	75,8	40,1	25,7

За одређивање концентрације протеина у крвној плазми и серуму на располагању је велики број метода са различитом тачношћу. Принципи реакција на којима се заснивају поједине методе су доста различити, па отуда разлике и у добијеним подацима када се анализира један исти узорак. Међутим, присутне разлике се крећу у дозвољеним границама и у клиничкој пракси треба користити ону методу која је једноставна за извођење, кратко траје, а даје употребљиве податке. У пракси се за одређивање концентрације укупних протеина у крвној плазми и серуму најчешће користи Биурет метода.

Биуретски реагенс се припрема на следећи начин: У суд од 1 L узети 0,5 L дестиловане воде, додати 1,5 g Cu-сулфата и 6 g K-Na-тартарата, додати 300 ml 10% раствора NaOH и допунити суд до 1 L дестилованом водом. Готов биуретски реагенс се може набавити и у трговини.

Биурет метода спада у групу колориметријских метода, где се на основу интензитета љубичасте боје, која нестаје деловањем Cu-сулфата у алкалној седини на пептидне везе протеина у плазми или серуму и интензитета боје стандарда (позната концентрација протеина), израчунава концентрација у узорку плазме (серума). Интензитет настале љубичасте боје пропорционалан је концентрацији протеина и мери се фотометријски на таласној дужини 546 nm (540 nm). Мерење се врши према слепој проби (у тој проби нема испитиване материје, а у овом случају нема протеина). Значи, у сваком испитивању припрема се једна слепа проба, стандард и серија узорака.

ЗАДАТАК: Одредити концентрацију протеина у крвној плазми/серуму неке животиње Биуретском методом.

МАТЕРИЈАЛ: Готов тест (Биурет метода) за протеине са стандардом, спектофото-метар, сталак са епруветама, пипете, крвна плазма или крвни серум.

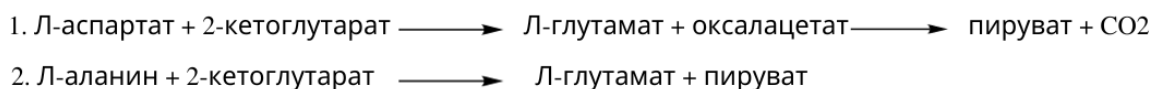
ИЗВОЂЕЊЕ: Према упутству произвођача тест комплета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.5.2 Одређивање активности трансаминаза у крвној плазми / серуму

Одређивање активности серумских ензима данас спада у најчешћа, а према многобројним опажањима и најпоузданија биохемијска испитивања којима се утврђује оштећење јетре. Ипак, треба нагласити да код свих домаћих животиња та испитивања нису ни подједнако истражена нити је њихов релативни значај за дијагностику функционалног стања јетре подједнак за сваку животињску врсту (AST код биљоједа и свиња, ALT и алкална фосфатаза код паса и мачака). Осим тога, веома често није реч о испитивањима којима се испитују функције јетре, већ о поступцима којима се утврђује да ли је и у којем степену нарушен интегритет хепатоцита. Наиме, повећавање активности неког серумског ензима упућује у првом реду на излазак ензима из хепатоцита (или других паренхиматозних ћелија) због оштећења ћелијске опне или ћелијских микроструктура. С друге стране, количина (активност) неких ензима у екстрацелуларној течности и крви може се повећати а да и не настане оштећење ћелијске мембране и то се дешава у случајевима повећане синтезе ензима у тим ћелијама (алкална фосфатаза, нпр.)

Ензими аспартат-аминотрансфераза (AST) и аланин-аминотрансфераза (ALT) катализују следеће реакције:



ЗАДАТАК: Одредити активитет ALT и AST у плазми/серуму неке животиње.

МАТЕРИЈАЛ: Готови тестови за ALT и AST, водено купатило, епрувете, пипете, спектрофотометар, крвна плазма или крвни серум.

ИЗВОЂЕЊЕ: Према упутству произвођача тест комплета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.5.3 Одређивање концентрације глукозе у крвној плазми / серуму

Глукоза је једини облик глукосахарида који се налази у крви, односно у крвној плазми. Знамо да се сви моносахариди ослобођени варењем угљених хидрата из хране ресорбују у дигестивном тракту, а у јетри се преводе (изомеризација моносахарида) у глукозу. Концентрација глукозе (гликемија) је параметер изоструктуре организма, упорно се одржава у физиолошким границама. Гликемија код већине врста домаћих животиња износи 4-6 mmol/L, са одступањем у дозвољеним границама. Код преживара, због специфичности варења угљених хидрата у преджелуцима, упола је мања, а код живине двоструко већа. Концентрација глукозе у крви може пролазно да се повећа после уношења оброка са високим садржајем шећера (алиментарна хипергликемија) и ако тада гликемија пређе праг реапсорпције глукозе у тубулима бубрега, појавиће се глукоза у мокраћи и то обично кратко траје (алиментарна глюкозурија). Код дуготрајног гладовања и после тешког мишићног рада, гликемија може да падне испод физиолошке границе, што се манифестује губитком свести и грчевима (хипогликемична кома или шок).

Јетра је веома значајан орган за одржавање гликемије, захваљујући својој способности да вишак ресорбованих моносахарида привремено депонује у гликоген који се одређеним механизмима врло брзо мобилише између оброка и у току гладовања. Када се потроше резерве гликогена, јетра обезбеђује потребну количину глукозе глуконеогенезом, способношћу да синтетише глукозу из неугљенохидратних једињења (међупроизводи гликолизе, глицерол, пропионат, међупроизводи циклуса лимунске киселине и глукогених аминокиселина). За време гладовања јетра користи Коријев и аланински циклус за стварање потешне глукозе. У регулацији гликемије учествује неколико хормона: инсулин, хормон раста, АСТН, глукостероиди, адреналин, глутагон и тироксин.

ЗАДАТАК: Одредити концентрацију глукозе у плазми/серуму неке животиње.

МАТЕРИЈАЛ: Готови тест за глукозу (GOD-ПАP метода), епрувете, пипете, спектрофотометар, крвна плазма или крвни серум.

ИЗВОЂЕЊЕ: Према упутству произвођача тест комплета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.5.4 Одређивање концентрације урее у крвној плазми / серуму

Азотне материје крвног серума (укупни серумски азот) обухватају азот беланчевина и непротеински азот који остаје у серуму после депротеинизације. Непротеински азот чине азот урее и резидуални азот (азот аминокиселина, мокраћне киселине, амонијака, креатина, креатинина...). Вишак амонијака се из организма излучује у облику самог амонијака-амонотелични организми (животиње које живе у води), урее-уреотелични организми (сувоземни кичмењаци) или мокраћне киселине-урикотелични организми (птице и гмизавци). Уреотеличне животиње синтетишу уреу у јетри у Кребс-Хенселеитовом циклусу.

При спонтаним болестима јетре, лакшим или тежим, синтеза урее није битно нарушена, па је и концентрација урее у серуму у физиолошким границама све док бубрези функционишу нормално. Код паса са акутном атрофијом јетре и при хроничним обољењима јетре јавља се у појединачним случајевима снижена концентрација урее у серуму. Напротив, према бројним новијим подацима концентрација урее у крвном серуму код животиња са оболелом јетром је мање или више повећана (пас-упалне и дегенеративне промене у паренхиму јетре, акутне и хроничне болести јетре код коња).

Референтне вредности: 3-9 mmol/L за већину домаћих животиња.

ЗАДТАК: Одредити концентрацију урее у плазми/серуму неке животиње.

МАТЕРИЈАЛ: Готови тест за уреу (метода са диацетилмоноксином), епрувете, пипете, спектрофотометар, центрифуга, крвна плазма или крвни серум.

ИЗВОЂЕЊЕ: Према упутству произвођача тест комплета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.5.5 Одређивање концентрације укупног билирубина у крвној плазми / серуму

Жучне боје су црвени билирубин и зелени биливердин. Углавном настају разлагањем хемоглобина, односно његове простетичне групе (хема), у ћелијама моноцитно-макрофагног система слезине, јетре и коштане сржи. Само 10% до 20% жучних боја настаје распадом осталих протопорфирина у организму. По насталој хемолизи хаптоглобин прихвата хемоглобин и преноси га до моноцитно-макрофагног система слезине, јетре и коштане сржи, где се он преко низа међупроизвода претвара у билирубин. Преостали биливердин редукцијом прелази у билирубин. Он постепено напушта ћелије моноцитно-макрофагног система и пошто је тешко растворљив, везује се за албумине крвне плазме који га доносе до хепатоцита (слободан, некоњугован, индиректни билирубин). Хепатоцити га преузимају и коњугују га у глатком ендоплазматском ретикулуму са глукуронском и сумпорном киселином и при томе углавном настаје билирубин-диглукуронид (везани, коњуговани, директни билирубин) који је нетоксичан и растворљив у води. Он не може да пређе из хепатоцита у крв, него активним транспортом бива пребачен у жуч. У цреву се дејством микрофлоре од њега одваја глукуронид, а ослобођени билирубин се редукује у уробилиноген и даље, у стеркобилиноген. При одређивању концентрације билирубина у крвном серуму, ређе у крвној плазми, одређује се укупан серумски билирубин, коњуговани и некоњуговани билирубин. Ово је неопходно да би се тумачио облик и порекло настанка иктеруса, тј. да ли је поремећај у виду повећаног стварања билирубина (хемолиза), смањене коњугације (инсуфиција јетре) или отежаног отицања жучи (холестаза).

Референтне вредности за већину животиња се крећу од 1 до 10 mol/L, а за коња 5 до 50 mol/L.

ЗАДАТАК: Одредити концентрацију билирубина у плазми/серуму говечета.

МАТЕРИЈАЛ: Готови тест, епрувете, пипете, спектрофотометар, крвна плазма или крвни серум.

ИЗВОЂЕЊЕ: Према упутству произвођача тест комплета.

ПРОСТОР ЗА РАД:

7.5.6 Одређивање концентрације калцијума у крвној плазми

Калцијум се у крвној плазми налази у два облика: слободни или јонски и везани калцијум (за протеине крвне плазме, највише за албумине). Од укупне количине Са у крви више има јонског Са (око 55%), а концентрација укупног калцијума у крви (калцемија) варира између 2 и 2,7 mmol/L; код кокоши носиља износи 3-8 mmol/L. Концентрација Са у крви се пажљиво одржава у физиолошким границама јер пад концентрације (хипокалцемија) може имати леталан исход.

Калцијум има вишеструку улогу: регулатор је нервно-мишићне раздражљивости (услед хипокалцемије долази до повећане раздражљивости), учествује у коагулацији крви (фактор IV), активатор је неких ензима, важан је чинилац у процесу окоштавања. Гравидитет и лактација су физиолошка стања која представљају критичан период у одржавању калцемије.

Концентрација Са у крвној плазми се одређује колориметријским методама; једна од њих је са крезофталеин комплексом са којим јони Са у алкалном пуферу реагују градећи једињење љубичасто-плаве боје чији је интензитет пропорционалан концентрацији Са. У трговини се набавља припремљен тест-комплет са стандардним раствором Са (2,5 mmol/L) и комплетним упутством за извођење анализе.

ЗАДАТАК: Одредити концентрацију калцијума у крвној плазми говечета.

МАТЕРИЈАЛ: Тест комплет са стандардом Са, пипета (микропипета), спектрофотометар, епрувете, дестилована вода, крвна плазма.

ИЗВОЂЕЊЕ: Према упутству произвођача тест комплекта.

ПРОСТОР ЗА РАД:

8.0 Физиологија екскреције и биланс воде и електролита

Процеси екскреције (излучивања у спољашњу средину) имају суштински значај за одржавање константне запремине и релативно сталног састава телесних течности. Односно, процеси екскреције учествују у одржавање хомеостазе, а одвијају се преко више органа и органских система. Екскреција се врши путем:

- ✓ респираторног система (систем који најбрже реагује),
- ✓ уропоетског система (квантитативно најважнији екскреторни систем),
- ✓ дигестивног система и
- ✓ коже.

Бубрези су парни органи паренхиматозне грађе, имају велики проток крви (око 20% минутног волумена срца) и велику потрошњу кисеоника. Процесом стварања мокраће и њеном елиминацијом путем уретера, мокраћне бешике и уретре у спољну средину, бубрези обављају највећи део посла у одржавању константности састава унутрашње средине (хомеостаза организма) и то изотоније, изохидрије и изојоније. Према томе, бубрези врше ослобађање (пречишћавање) крви од материја које су штетне за организам, које се налазе у вишку и од оних које нису потребне организму. Поред тога, бубрези испољавају значајну ендокрину улогу. Експериментално одстрањивање оба бубрега за кратко време (2-7 дана) доводи до смртог исхода животиње услед иреверзибилних поремећаја хомеостазе (последица тровања организма нагомиланим производима метаболизма).

Основну функцију јединице бубрега чини нефрон чији се број у оба бубрега креће од око 1 милион (овца) до око 5,5 милиона (коњ). Нефрон се састоји од Малпигијевог телашца којег чини педесетак паралелно постављених капиlara (гломерул) обавијених Бовмановом капсулом и система каналића (тубули) који се настављају на паријетални лист Бовманове капсуле. Систем каналића се састоји од 3 основна дела: проксимални део, Хенлеова петља и дистални део.

Бубрег се снабдева крвљу преко бубрежне артерије (*a. renalis*) која се у њему грана на ситније огранке. Гломеруларни капиlари настају гранањем аферентне артериоле (*vas afferens*) која је кратка и релативно великог пречника. Гломеруларни капиlари се скупљају поново у артериолу која излази из Малпигијевог телашца-изводна артериола (*vas efferens*). Еферентна артериола након изласка из Малпигијевог телашца поново се расипа у артеријске капиlаре, па тек тада прелази у венске капиlаре, градећи тако перитубуларну капиларну мрежу у области око проксималних и дисталних тубула. Настали венски капиlари се скупљају у венуле, интертубуларне вене, итд., а излазни крвни суд из бубрега је бубрежна вена (*v. renalis*).

Еферентна артериола је дужа и ужа од аферентне, те тако пружа знатан отпор протицању крви због чега је у мрежи гломеруларних капиlара притисак висок (знатно виши него у капиlарима системске циркулације-износи око 10kPa). С друге стране, притисак у мрежи перитубуларних капиlара је веома низак. Према томе, висок притисак у перитубуларној капиларној мрежи омогућује да се течност непрекидно из околних тубула и перитубуларног ткива ресорбује у ове капиlаре.

У капиларама гломерула се одвија процес ултрафилтрације: из крви кроз гломеруларну мембрану у лумен Бовманове капсуле се филтрира течност – гломеруларни филтрат или примарна мокраћа. То је ултрафилтрат крвне плазме и садржи све састојке плазме осим протеина. Ултрафилтрацијом крви кроз гломеруларну мембрану у току 24 сата код човека се створи око 170 L примарне мокраће, а код говечета и коња преко 1000 L. Међутим, свега 1-1,5% од ове количине се излучује дневно у спољашњу средину као коначна мокраћа, што значи да се у тубулима током протицања насталог ултрафилтрата вода и материје потребне организму поново враћају у крв процесом који се назива тубуларна реапсорпција. Према томе, састојци потребни организму реапсорбују се у потпуности из примарне мокраће, неке се реапсорбују делимично, а има састојака који не само да се не реапсорбују, већ се и активно излучују из крви преко тубулоцита у лумен тубула (тубуларна секреција).

Притисак који обезбеђује филтрацију кроз гломеруларну мембрану назива се филтрациони притисак (Фп) и он је једнак разлици између хидростатског (крвног) притиска у гломеруларним капиларама и збира колоидо-онкотског притиска беланчевина крвне плазме (КОп) и притиска течности у Бовмановој капсули (ИКп):

$$\Phi_{\text{п}} = X_{\text{п}} - (\text{КОп} + \text{ИКп})$$

Фп = филтрациони притисак

Хп = хидростатски (крвни) притисак (усмерава течност кроз гломеруларну мембрану)

КОп = колоидо-онкотски притисак беланчевина крвне плазме (супротставља се филтрацији)

ИКп = интеркапсуларни притисак (хидростатски притисак течности у Бовмановој капсули-супротставља се филтрацији)

Просечне вредности наведених притисака у физиолошким околностима код човека, а и код других сисара, износе:

$$\Phi_{\text{п}} = 9,3 \text{ kPa} - (4 \text{ kPa} + 1,9 \text{ kPa})$$

$$\Phi_{\text{п}} = 9,3 \text{ kPa} - 5,9 \text{ kPa}$$

$$\Phi_{\text{п}} = 3,4 \text{ kPa}$$

Појмови који се користе при описивању количине излучене мокраће су:

- ✓ *полиурија* = излучивање веће количине разређене мокраће,
- ✓ *олигурија* = излучивање мање количине концентроване мокраће и
- ✓ *анурија* = престанак излучивања мокраће.

У клиничкој пракси хумане и ветеринарске медицине постоји велики број метода за испитивање бубрежне функције и за процену степена оштећења појединих функционалних делова нефрона.

Мокраћа је екскрет и представља течну отпадну материју насталу током филтрације крви. Опште особине и физичкохемијске карактеристике мокраће су карактеристичне за врсту домаће животиње, док се хемијски састав битно не разликује међу животињским врстама.

Анализа карактеристика и састава мокраће се врши са оправданим претпоставком да свака евентуална одступања од нормалног могу да укажу на оштећење функције бубрега, а некада се на основу резултата клиничких прегледа мокраће може одредити локализација патолошког процеса на нефрону, па чак проценити и степен оштећења одређеног функционалног дела нефрона. Јасно је да ово залази у задатке патолошке физиологије и клинике.

На овом месту ћемо описати и на вежбама извести само неке методе које се примењују при прегледу мокраће, а све у циљу потврђивања поставки из физиологије бубрега.

План поступка прегледа мокраће приказан је у табели 8.1.

Табела 8.1: План прегледа мокраће

Општи подаци	Подаци о животињи (врста, раса, пол, старост, име / ознака) Подаци о власнику Подаци о дневној количини урина Подаци о начињу узимања узорка Значајне напомене о евентуалном клиничком налазу
Физичке особине	Боја Конзистенција Прозирност Мирис
Физичко-хемијске особине	Густина (специфична тежина) Електрохемијска реакција (pH)
Хемијске особине	Утврђивање присуства одређених органских и неорганских састојака мокраће
Микроскопски преглед	Утврђивање карактеристика мокраћног седимента (организованог и неорганизованог)
Микробиолошки преглед	Уринокултура

У овом поглављу ће бити говора о првих пет наведених фаза прегледа мокраће, док се о микробиолошком прегледу мокраће говори у оквиру других предклиничких и клиничких предмета.

8.1 Општи подаци о узорку мокраће

Општи подаци о узорку урина се добијају од ветеринара клиничара, надлежне институције и/или власника животиње. У ове податке спадају: подаци о животињи (врста, раса, пол, старост, име / ознака), подаци о власнику, подаци о дневној количини урина, подаци о начињу узимања узорка, значајне напомене о евентуалном клиничком налазу. Ови подаци су неопходни у циљу правилне анализе и тумачења добијених резултата прегледа мокраће. Узорак мокраће који ветеринар клиничар шаље у лабораторију на преглед мора пратити пропратни акт у коме су ови подаци назначени.

ЗАДАТАК: За узорак мокраће, који ће бити испитиван на вежбама, навести опште податке.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Подаци о животињи (врста, раса, пол, старост, име / ознака):

Подаци о власнику:

Подаци о дневној количини урина:

Подаци о начињу узимања узорка:

Значајне напомене о евентуалном клиничком налазу:

8.2 Физичке особине мокраће

Боја: Боја мокраће зависи од врсте животиње. Она може бити бледожуте (свиња) до мрке боје (код коња). Боја потиче од пигмената урохрома, уропорфирина и уробилиногена. Правило је да ако животиња лучи више мокраће онда је она светлије боје због разређености пигмената и обрнуто.

Промена боје може да укаже на присуство неког патогеног процеса у организму. Обољење коња (празнична болест) праћено је излучивањем миоглобина мокраћом и она је тада скоро црне боје. Црвена боја мокраће указује на присуство

хемоглобина - *хемоглобинурија* или еритроцита - *хематурија*. Боја мокраће може бити промењена и код узимања неких лекова, а и нека храна може утицати на боју.

Конзистенција: Код већине домаћих животиња и човека мокраћа је бистра и течна. Код коња мокраћа има доста слузи и стајањем се брзо замути јер долази до бактеријског разлагања састојака у њој, а таложе се и неке соли.

Прозирност: Нормално је прозирна али присуство гноја, детритуса ћелија и других састојака који се под нормалним условима не налазе у њој утичу на смањење прозирности.

Мирис: Мирис мокраће је специфичан за врсту животиње. Код коња он је ароматичан, код говеда сладуњав, а код месоједа и свиња оштар и непријатан. Откривање мириса на ацетон при прегледу мокраће указује на присуство дијабетес мелитуса код људи, а код крава и малих преживара на кетозу.

ЗАДАТАК: Испитати физичке особине узорка мокраће.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Боја:

Конзистенција:

Прозирност:

Мирис:

ЗАКЉУЧАК:

8.3 Физичко-хемијске особине мокраће

Специфична тежина: У зависности од врсте животиње специфична тежина мокраће се креће у распону од 1,010 – 1,040. Одређује се урометром (слика 8.1). Нормално је да специфична тежина буде обрнуто сразмерна количини излучене мокраће. Међутим, код шећерне болести се лучи велика количина мокраће (полиурија), јер глукоза повлачи воду из циркулације која је праћена и глукозуријом, а истовремено присуство глукозе утиче да је специфична тежина мокраће велика.



Слика 8.1: Урометар

Електрохемијска реакција: Одређује се лакмус папиром или рН-метром. Мокраћа месоједа је кисела а преживара базна (рН око 8,5). Код човека и омнивора рН мокраће зависи од врсте унете хране (ако се конзумира претежно биљна храна, онда је рН базан, а ако се узима месо, онда је кисео). Код гладовања мокраћа је код свих врста кисела јер се тада троше депои хранљивих материја из сопственог организма.

ЗАДАТАК: Испитати физичко-хемијске особине мокраће.

МАТЕРИЈАЛ: Урометар, мензура, лакмус-папир и/или рН-метар, узорак мокраће.

ИЗВОЂЕЊЕ: Пресути узорак мокраће у мензуру и уронити у њега урометар. Очитати подеок до којег је урометар уроњен у узорак. У зависности од врсте (очекиване електрохемијске реакције) за приближно одређивање рН вредности користити црвени или плави лакмус папир, а за прецизно – рН-метар.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Специфична тежина =

Електрохемијска реакција =

ЗАКЉУЧАК:

8.4 Хемијски састојци мокраће

Хемијски састојци мокраће могу бити органске и неорганске природе. Већина органских састојака који се могу наћи у мокраћи су патолошки састојци, што значи да се у мокраћи здравих животиња они не налазе или се налазе у оним концентрацијама да се уобичајеним клиничко-хемијским методама не могу открити. Постоје ипак случајеви када мокраћа здравих јединки садржи састојке који се нормално не налазе и онда се говори о физиолошкој глукозурији (услед алиментарне хипергликемије), физиолошкој протеинурији, итд.

Појава протеина у коначној мокраћи се означава као *протеинурија*. У примарној мокраћи протеини се налазе у врло малој количини, свега око 0,3 g/L, што је око 200 пута мење од концентрације протеина у крвној плазми. Ако би се та количина исфилтрованих беланчевина, с обзиром на количину примарне мокраће, нашла у коначној мокраћи, онда би се знатне количине протеина губиле из организма. Будући да се одмах у проксималним тубулима процесом пиноцитозе реапсорбују, у коначној мокраћи се они не могу детектовати уобичајеним клиничко-хемијским методама. Међутим, применом веома осетљивих метода и у нормалној мокраћи може да се докаже присуство протеина (физиолошка протеинурија) у траговима.

Глукоза има висок бубрежни праг реапсорпције као и други састојци примарне мокраће, за које се може рећи да су из принуде филтрирани из крви само зато да би се крв, тј. организм, ослободио штетних продуката метаболизма. Праг реапсорпције за глукозу износи око 8,5 mmol/L, а то значи да све док је гликемија испод 8,5 mmol/L, глукоза ће се потпуно реапсорбовати из примарног урина у крв и неће је бити у коначној мокраћи. Појава глукозе у коначној мокраћи - *глукозурија* је знак да је концентрација глукозе у крви већа од 8,5 mmol/L и да се вишак глукозе изнад ове концентрације не реапсорбује, пошто је капацитет тубула за реапсорпцију глукозе у потпуности засићен. Код човека и неких животиња глукоза се може појавити у мокраћи након конзумирања веће количине хране богате угљеним хидратима – алиментарна глукозурија. Патолошка глукозурија настаје код шећерне болести (*diabetes melitus*), реналног дијабета, поремећаја функције хипофизе, надбубрега, тиреоидеје и др.

Кетонска тела (ацетон, ацетосирћетна и бета-хидроксибутерна киселина) су једињења која се стварају у организму у случајевима када ћелије немају довољно глукозе на располагању. Појава ових једињења у крви назива се кетонемија. Појава кетонских тела у мокраћи - *кетонурија* је патолошки налаз у мокраћи и јавља се код кетозе преживара, код људи је пратилац шећерне болести, дуготрајних гладовања итд.

Присуство хемоглобина у мокраћи (хемоглобинурија) је патолошка појава, у нормалној мокраћи га нема. Код појачане интравиталне хемоллизе еритроцита (хемолитичке анемије) долази до појаве већих количина слободног хемоглобина у крви и када се попуни капацитет неких беланчевина крвне плазме да везује Хб (хаптоглобин и др.), слободни Хб се филтрира кроз гломеруле бубрега, реапсорбује, а вишак се излучује мокраћом у спољну средину. Мокраћа која садржи Хб је црвене боје, али и код хематурије има исту боју, што је важно код постављања диференцијалне дијагнозе.

ЗАДАТАК: Испитати хемијске особине узорка урина.

МАТЕРИЈАЛ: Сулфосалицилна киселина, азотна киселина, Фелингов реагенс, Бенедиктов реагенс, натријум-нитропрусид, сирћетна киселина, бензидин, водоникпероксид, епрувете, лабораторијски пламеник, узорак мокраће.

ИЗВОЂЕЊЕ:

Протеини: Квалитативно доказивање протеина у мокраћи је могуће извести следећим пробама:

✓ Сулфосалицилном киселином: У епрувету усугути 3 ml мокраће и додати 3 капи сулфосалицилне киселине. Појава замућења и белих пахуљица талога указује на присуство протеина. Ако мокраћа остане бистра, реакција је негативна. Реакција је позитивна ако се у мокраћи протеини налазе у концентрацији већој од 100 mg/L.

✓ Азотном киселином (Хелерова проба): Узети две епрувете; у прву усугути 3 ml азотне киселине а у другу 3 ml мокраће. Садржај друге епрувете полако низ зид сипати у прву епрувету. У случају позитивне реакције (ако у мокраћи има протеина) на додирном слоју се појави бели прстен који је масивнији ако у мокраћи има више протеина.

✓ Пробом кувања: Заснива се на особини протеина да се денатурише кувањем када денатурисани протеини постају нерастворљиви и појављују се у виду грудвица талога.

Глукоза: Присуство глукозе у мокраћи може се одредити помоћу неколико реакција:

✓ Фелингова проба: у једну епрувету усугути по 1 ml раствора Фелинг I и Фелинг II и прокувати. У другу епрувету сипати 2 ml мокраће и додати садржај прве епрувете. Загрејати на пламену до кључања. Појава црвене боје указује на присуство шећера у узорку мокраће, а ако раствор не промени боју, реакција је негативна.

✓ Бенедиктова проба: Усугути у епрувету 2 ml мокраће и додати исту количину Бенедиктовог раствора, па загрејати до кључања. Појава црвене боје значи да је реакција позитивна - у мокраћи је присутна глукоза.

Кетонска тела: У мокраћи се кетонска тела могу доказати помоћу следеће пробе:

✓ Проба натријум-нитропрусидом се изводи у две епрувете по следећем плану:

1. епрувета: 3 ml мокраће + 2 капи 50% NaOH.

2. епрувета: Натријум-нитропрусид (на врх кашичице) + дестилована вода (да се прах раствори)

Садржај друге епрувете ули у прву и појавиће се црвена боја. Мешавини додати 1-2 ml концентроване сирћетне киселине и ако се црвена боја интензивира то указује да мокраћа садржи ацетон, а ако се црвена боја изгуби и настане прљаво жута то значи да у мокраћи нема ацетона.

Хемоглобин: Присуство хемоглобина у мокраћи се може доказати помоћу бензидинске пробе: У епрувету усути 2-3 ml концентроване сирћетне киселине, а онда додавати бензидин и мешати док се не појави талог бензидина на дну епрувете (засићени раствор), а затим додати око 3 ml водоникпероксида (H_2O_2). У другу епрувету улити 4 ml мокраће и додати неколико милилитара раствора из прве епрувете. Позитивна реакција је појава зеленоплаве или плаве боје. Ова проба ће бити позитивна и у случају хематурије, па се тачна дијагноза поставља прегледом седимента, када се у случају хематурије открива присуство великог броја еритроцита.

На крају, треба нагласити да се за рутинска клиничка испитивања физичко-хемијских и хемијских карактеристика урина данас све више у употреби тест траке (Слика 8.2) за одређивање рН урина, као и присуства и количине крви, леукоцита, билирубина, уробилиногена, протеина, глукозе, кетона и нитрита. Првенствена предност коришћења ових тест трака је добијање резултата у року од само неколико минута.



Слика 8.2: Тест трачице за урин

ПРОСТОР ЗА РАД:

Протеини:

Глукоза:

Кетонска тела:

Хемоглобин:

ЗАКЉУЧАК:

8.5 Микроскопски преглед мокраће

Микроскопски преглед мокраће подразумева преглед мокраћних седимената. У талогу (седименту) мокраће, који се добија центрифугирањем узорка мокраће и одвајањем течног дела, микроскопски се траже тзв. бубрежни цилиндри, кристали и ћелије. Утврђивање присуства мокраћних седимената део је рутинског квалитативног прегледа мокраће, а налази се описују у бројчаним вредностима – полуквантитативно (нпр. 3-5 леукоцита по видном пољу и сл.). Мокраћни седименти се могу поделити на:

- ✓ неорганизовани седимент (неорганске и органске природе) и
- ✓ организовани седимент (ћелијске елементе и бубрежне цилиндри).

ЗАДАТАК: Извршити микроскопски преглед мокраћних седимената.

МАТЕРИЈАЛ: Центрифуга, епрувете за центрифугирање, пипете, предметна стакла, покривна стакалца, узорак мокраће.

ИЗВОЂЕЊЕ: Узорак мокраће пресути у епрувету за центрифугирање и центрифугирати. Након центрифугирања одлити супернатант. Талог ресуспендовати са 0,5 ml супернатанта, пренети кап на предметно стакло и покрити са покривним стакалцем (водећи рачуна да узорак не доспе на његову горњу површину). Овакво припремање узорка се назива „влажна припрема“.

Узорак посматрати на микроскопу под увећањем објектива од 10 и 40 пута. Пошто је у питању нативни препарат (који није обојен) потребно је користити слабије осветљење, спуштени кондензор и затворену бленду на микроскопу. На малом увећању микроскопа могу се посматрати и квантификовати већи кристали и честице, бубрежни цилиндри, јаја паразита.

На великом увећању микроскопа могу се посматрати и квантификовати ћелије (леукоцити, еритроцити, епителне ћелије, сперматозоиди и сл.), масне капљице, мањи кристали и честице, бактерије и гљивице.

У циљу ефикасне идентификације бубрежних седимената створени су атласи са њиховим сликама и описима. Након прегледа неколико видних поља забележити сва запажања и квантификовати неки од пронађених бубрежних седимената.

ПРОСТОР ЗА РАД:

8.6 Испитивање диурезе пацова након оптерећења водом – ефекти адиуретина

У току процеса стварања дефинитивне мокраће, проласком велике количине створеног гломеруларног филтрата (примарне мокраће) кроз тубуларни систем нефрона одиграва се процес реапсорпције, тј. враћање из лумена тубула у перитубулар-

ну капиларну мрежу воде и свих, за организам корисних и неопходних материја. На тај начин долази и до редуковања волумена дефинитивне мокраће која се своди на око 1% од укупно створене примарне мокраће. Задржавање воде у организму или њено повећање излучивање у спољну средину путем бубрега регулисано је повећаном или смањеном секрецијом вазопресина, тј. антидиуретичког хормона (ADH) из задњег режња хипофизе.

Око 80% воде из примарне мокраће се реапсорбује у проксималним тубулима (обавезна или облигаторна реапсорпција). У дисталним тубулима и сабирним каналићима из примарне мокраће може да се реапсорбује знатан део воде и да се мокраћа концентрује, али је услов за то присуство у крви ADH који утиче да зид тубула овог дела нефрона буде пропустљив за воду (необавезна или факултативна реапсорпција). Обим ове реапсорпције зависи од волумена и осмоларитета екстрацелуларне течности.

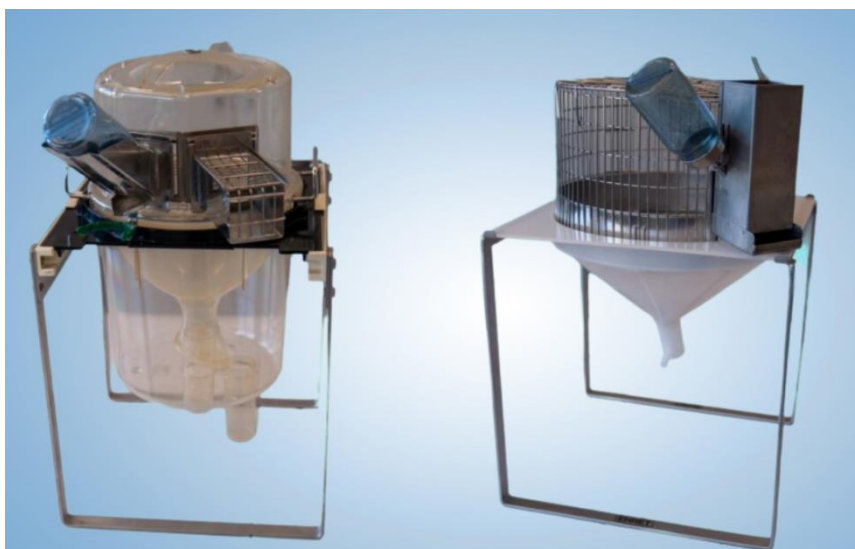
Уношењем веће количине воде у организам долази до повећања волумена екстрацелуларне течности и смањења њене осмотске концентрације. Ово стање не подражује осморецепторе, нема ослобађања ADH, зид дисталних тубула и сабирних каналића није пропустљив за воду и лучиће се велика количина разређене мокраће (полиурија), чиме ће се организам ослободити вишка течности.

Супротно овоме, недостатак воде у организму (губитак воде знојењем, повраћањем, проливом и др.), уношење вишка соли, ускраћивање воде (жеђ), довешће до излучивања мале количине концентроване мокраће (олигурија), а то значи да бубрези воду у максималној количини враћају и задржавају у организму. Према томе, у овом случају је претила опасност од смањења волумена екстрацелуларне течности (мањак воде) и повећање њеног осмоларитета и осмотске концентрације крви. На ово реагују осморецептори у хипоталамусу, долази до подстицања секреције и ослобађања ADH из неуроhipофизе, који се путем крви допрема до дисталних тубула и сабирних каналића где значајно повећава обим реапсорпције воде.

Излучивањем вишка воде и растворених соли, или задржавањем воде, бубрези обављају главни део посла у одржавању осмоларитета, изојоније и изохидрије екстрацелуларне течности, те одржавање волумена телесних течности.

ЗАДАТАК: Пратити обим лучења мокраће код пацова у условима оптерећења водом и третмана антидиуретичким хормоном (ADH).

МАТЕРИЈАЛ: Три пацова, три метаболичка кавеза (коморе) за пацове (слика 8.3), шприцеви и игле, дестилована вода, градуиране посуде (епрувете), ADH (екстракт задњег режња хипофизе).



Слика 8.3: Метаболички кавез

ИЗВОЂЕЊЕ: Припремити 3 метаболичка кавеза тако да се испод левкастог продужетка постави градуисана епрувета у којој ће се, у току тросатног посматрања, прикупљати и мерити количина мокраће. Сваког од 3 пацова поставити у посебан кавез и то уз следећу припрему:

пацов 1. - без икаквог третмана,

пацов 2. - интраперитонеално аплицирати 15-20 ml дестиловане воде и

пацов 3. - интраперитонеално аплицирати 15-20 ml дестиловане воде, а субкутано 5 интернационалних јединица АДН.

Сваких 30 минута контролисати и евидентирати количину мокраће у епрувети и вредности унети у табелу 8.2.

Прокоментарисати добијене резултате.

Скицирати поступак са модела:



ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА: Под претпоставком да су сва три пацова здрава и у експеримент постављени са нормалном функцијом бубрега и факторима који учествују у стварању мокраће (крвни, гломеруларни, колоидоонкотски, интратубуларни притисак и др,) онда ће количина излучене мокраће у току од 3 сата искључиво зависити од третмана који смо извршили.

Први пацов ће испољити нормалну, за свој организам уобичајену диурезу; други пацов ће у опсервираном периоду излучити знатно више мокраће него први (након ресорпције воде путем перитонеума долази до повећања количине воде у унутрашњој средини, хипоосмоларитета, смањења секреције АДН, смањења реасорпције у тубулима, настаје полиурија са смањењем специфичне тежине мокраће); трећи пацов ће имати закаснелу диурезу због тога што је у његовој крви присутан АДН у вишку, унесен ињекционим путем.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Табела 8.2: Испитивање диурезе пацова

Пацов	Диуреза					
	30 мин	60 мин	90 мин	120 мин	150 мин	180 мин
1.						
2.						
3.						

ЗАПАЖАЊА И ЗАКЉУЧАК:

8.7 Клиренс плазме

За процену величине протока крви кроз бубреге, као и за процену основних екскреторних процеса бубрега (гломеруларна ултрафилтрација, тубуларна реапсорпција и тубуларна секреција) користи се одређивање клиренса плазме. Величина “чишћења” различитих супстанци из плазме пружа користан начин за процену делотворности којом бубрези излучују разноврсне материје. По дефиницији бубрежни клиренс неке супстанце је запремина плазме (у ml) која се потпуно очисти од неке супстанце бубрезима у јединици времена. Ако плазма која пролази кроз бубреге садржи 1 mg неке супстанце у 1 ml, а 1 mg те супстанце се излучује сваког минута мокраћом, онда се 1 ml/min. плазме “очисти” од те супстанце.

Ако се неки састојак крви филтрира кроз гломеруларну мембрану, а нема га у коначној мокраћи, онда је клиренс за тај састојак једнак нули. Клиренс плазме 0 имају сви састојци крви који се филтрирају и у потпуности реапсорбују у тубулима (амино киселине, глукоза, протеини, витамини, ниже масне киселине – имају висок праг). Састојци примарне мокраће који се у тубулима делимично реапсорбују, а већим делом излучују (уреа, креатинин) имају клиренс већи од нуле. Састојак плазме који се филтрира, а у тубулима не реапсорбује, него у потпуности излучује мокраћом, има клиренс једнак обиму гломеруларне филтрације.

Да би клиренс плазме за неку супстанцу могао бити искориштен за мерење обима гломеруларне филтрације, та супстанца мора да задовољи неколико критеријума:

- ✓ да има малу молекулску масу и да се лако филтрира,
- ✓ да се не веже за протеине крвне плазме,
- ✓ да се у тубулоцитима не реапсорбује нити не сецернира из крви у примарну мокраћу,
- ✓ да се не метаболише нити депонује у бубрезима,
- ✓ да није токсична и
- ✓ да се концентрација лако одређује у крви и мокраћи.

У крви нема таквих састојака (евентуално креатинин као нузпроизвод метаболизма скелетних мишића), али их има у природи и користе се за мерење обима гломеруларне филтрације. Таква материја је инулин - полимер фруктозе, молекулске масе 5.200, филтрира се слободно као и вода, не реапсорбује се нити сецернира. Из тог разлога величина његовог излучивања мокраћом представља величину гломеруларне филтрације.

ЗАДАТАК: На основу клиренса плазме за инулин израчунати обим гломеруларне филтрације.

ИЗВОЂЕЊЕ: Израчунавање клиренса плазме за све материје које се филтрирају кроз гломерул врши се по обрасцу:

$$\text{Клиренс плазме (ml/min)} = \frac{C_u \times V_u}{C_p}$$

C_u = концентрација супстанце у урину (mg/ml)

V_u = волумен урина (ml/min)

C_p = концентрација супстанце у плазми (mg/ml)

На основу задатих вредности израчунати клиренс плазме за инулин.

ПРОСТОР ЗА РАД:

C_u = mg/ml

V_u = ml/min

C_p = mg/ml

Клиренс плазме = ml/min

ЗАКЉУЧАК:

9.0 Енергетски биланс и терморегулација

Одвијање животних функција заснива се на процесима и реакцијама којима се хемијска енергија трансформише у топлоту. Обим тих реакција зависи од температуре средине на којој се одвијају, тако да подизање температуре за 10 °C доводи до повећања производње топлоте од стране живих ћелија за приближно 2-3 пута. Топлота се у организму стално ствара као споредни производ оксидационих процеса у ћелијама (нарочито у јетри и мишићима који раде). Сматра се да у току сагоревања хранљивих материја у организму око 30% од укупне енергије хране одлази функционалним системима ћелија у облику АТФ-а, а преостали део се ослобађа у облику топлоте. Међутим, промена температуре, такође, мења и карактер многих компликованих биолошких и биохемијских процеса. То значи да одржавање релативно константне температуре организма постоји као потреба за ефикасно и делотворно функционисање сложених животних процеса.

Током еволуције виша жива бића (сисари и птице) су развила прецизне терморегулационе механизме који им омогућавају одржавање (чување) телесне температуре у константним и прилично високим границама, без обзира на висину температуре средине која их окружује. То су *хомеотермне* (топлокрвне) животиње које су у стању не само да одржавају своју телесну температуру, него обављају и своје уобичајене животне активности при великим променама температуре околине. Одржавање сталне телесне температуре хомеотерма на релативно високом нивоу значи да производња топлоте у организму мора бити континуална и висока у хладној средини, а то захтева и стално уношење у организам довољне количине хране и одвијање оксидативних реакција. Такође, хомеотерми морају поседовати механизме који ће у условима веома високе спољашње температуре спречити прегревање организма. Све ово указује на то да је одржавање сталне телесне температуре енергетски врло „скуп“ процес.

Друга група животиња, *појкилотермне* (хладнокрвне) животиње немају сталну телесну температуру, већ она директно зависи од температуре околине (гмизавци, водоземци); у складу с тиме је и њихова активност.

Посебну групу чине сисари *презимари* (медвед, јазавац, хрчак, јеж и др,) који су у принципу хомеотерми, али за време зимског сна (хибернација) код њих долази до снижења телесне температуре тако да се она може само за неколико степени разликовати од температуре околине. За време хибернације интензитет метаболизма је доста низак и тек кад температура околине падне испод 0 °C, онда се метаболички процеси интензивирају у циљу спречавања даљег опадања телесне температуре. Ово је од изузетног значаја јер спречава појаву стварања кристала леда који могу довести до иреверзибилног оштећења ћелија.

Новорођене животиње у првим данима живота понашају се као несавршени хомеотерми пошто им терморегулациони механизми нису у потпуности развијени.

У ветеринарској пракси, температура тела код скоро свих животиња мери се увлачењем термометра у ректум (ректална температура се узима као просечна телесна температура). Мерење се врши медицинским (максималним) термометром (опсега од 35 до 45 °C).

Приликом мерења ректалне температуре мора се узети у обзир и температурни градијент у ректуму (термометар увек стављати до исте дубине). Осим ректалне, може се мерити и потпазушна, вагинална, орална и др. Телесна температура представља обавезан параметар тријаса. Просечна телесна температура код домаћих животиња и човека је дата у табели 9.1.

Различити делови тела имају различиту температуру због различитог стварања и одавања топлоте. Температура коже је најнижа због великог одавања топлоте. Кожа истакнутих делова тела (уши, нос, чело, удови) има нижу температуру од коже трупа. Физиолошка варирања температуре коже су знатна.

Температура телесних шупљина одговара температури ректума и вагине. У устима, носу и плућима је нешто нижа (око 0,5 °C у односу на ректалну) због доласка свежег ваздуха.

Табела 9.1: Телесна температура код домаћих животиња и човека

Врста / узраст	°C	Врста	°C
Коњ	37,5 – 38	Пас	37,5 – 38,5
Ждребе	37,5 – 39	Мачка	38,0 – 39,5
Говече	37,5 – 39,5	Овца	38,5 – 39,8
Теле	38,5 – 39,5	Коза	38,5 – 40,5
Свиња	38,5 – 39,5	Кокош	40,0 – 41,5
Прасе	39,0 – 40,5	Човек	36,5 – 37

Производња, стварање топлоте у организму назива се *термогенеза*, а ослобађање, односно одавање топлоте у спољну средину *термолиза*. Одавање топлоте се врши по законима физике и то на следеће начине:

- ✓ зрачењем (радијација),
- ✓ провођењем (кондукција и конвекција) и
- ✓ испаравањем.

Под нормалним околностима, код сваког хомеотерма, релативно константна телесна температура (*еутермија*) је резултат равнотеже између термогенезе и термолизе, односно важи следећа једнакост:

$$\text{ТЕРМОГЕНЕЗА} / \text{ТЕРМОЛИЗА} = 1$$

Уколико је тај однос мањи од 1 (смањен обим термогенезе или повећана термолитиза), телесна температура се смањује – *хипотермија*. Ако је однос већи од 1 (повећана термогенеза или смањена термолитиза), телесна температура се повећава – *хипертермија*.

Производња топлоте у организму је кључни чинилац одржавања константне температуре тела јер се прилагођава количини топлоте која се губи из организма. Следећи фактори одређују колико ће се топлоте произвести у организму: контракција скелетне мускулатуре (укључујући и дрхтање), функционална активност тироидеје и сржи надбубрега, тонус симпатикуса, базални метаболизам, итд.

Механизми који се активирају када је хомеотерм изложен опасности од прегревања или расхлађивања су рефлексне природе, а покреће их и контролише центар за терморегулацију у хипоталамусу.

Центар се састоји из два дела: једног који контролише одавање топлоте из организма и другог који регулише процес производње у организму. Информација центра о промени температуре омогућена је посредством периферних и централних термоцептора. Периферни термоцептори су смештени на површини тела (у кожи), а централни се налазе у хипоталамусу, а о стању телесне температуре обавештавају се преко крви.

У зависности од топлотног баланса у организму долази до активирања механизма за очувања температуре тела константном. Активирање једне групе механизма и реакција доводи до повећаног одавања топлоте и смањивања њеног стварања, док укључење друге групе механизма смањује обим одавања топлоте, а повећава њено стварање. Механизми који учествују у регулацији телесне температуре су приказани у табели 9.2.

Табела 9.2: Механизми за регулацију телесне температуре

Механизми које активира хладноћа		Механизми које активира топлота	
Повећавају стварање топлоте	Смањују губитак топлоте	Повећавају губитак топлоте	Смањују стварање топлоте
Дрхтање	Вазоконстрикција у кожи	Вазодилатација у кожи	Анорексија
Глад	Стискање	Знојење	Апатија
Повећан апетит	Лежење	Појачано дисање и дахтање	
Повећана вољна мишићна активност	Груписање	Каљужање	
Појачано лучење катехоламина	Накострешење длаке и перја	Навлаживање тела	

9.1 Термогенетски напор

Када се хомеотерм нађе у средини у којој је температура екстремно нижа од телесне и када постоји опасност од расхлађивања услед знатног одавања (губитка) топлоте у околину, организам снажно подстиче термогенезу у циљу успостављања равнотеже са термоллизом. Дакле, он испољава *термогенетски напор* да би одржао константну телесну температуру.

Успешност одбране од расхлађивања (хипотермије) зависи од:

- ✓ стања енергетских резерви организма,
- ✓ стања и ефикасности рада и реаговања центра за терморегулацију и
- ✓ ефикасности снабдевања кисеоником и елиминације угљендиоксида.

ЗАДАТАК: Пратити напор организма за одржавање телесне температуре у условима екстремно ниске температуре околине и то мењајући факторе од којих зависи термогенетски напор.

МАТЕРИЈАЛ: Три пацова, 3 тегле (2-3 L), термометар, лед, већа пластична посуда са водом и ледом, етар.

ИЗВОЂЕЊЕ: Пре почетка расхлађивања пацовима измерити почетну (контролну) ректалну температуру. У све 3 тегле усутити уситњеног леда и прелити малом количином воде. Пацове поставити у тегле по следећем плану:

1. пацов: Осим постављања у теглу не предузимати никакав други третман, теглу поклопити поклопцем са довољним бројем рупа да би овај пацов имао на располагању довољну количину ваздуха; температуру мерити сваких 15 минута.

2. пацов: Извршити лагану наркозу етером, ставити га у теглу; температуру мерити сваких 15 минута.

3. пацов: Теглу са пацовом добро затворири шлифованим поклопцем како би се током времена у тој тегли створили хипоксични услови (смањује се количина кисеоника, а повећава CO_2); ректалну температуру први пут мерити тек након 45 минута (да се не наруше хипоксични услови).

Након 45 – 60 минута, трећег пацова (који је био у хипоксичним условима) расхладити до око 15 – 18 °C и увести га у стање клиничке смрти (престанак дисања и рада срца). Када се констатује клиничка смрт, одмах треба започети процес реанимације и то прво постепеним загревањем регије срца (смотуљци вате натопљени топлим водом) и вештачким дисањем (може послужити обична пумпица са мерила притиска), а тек када се поврате функција срца и дисања осушити животињу и постепено је загревавати. Појава дрхтања током реанимације представља повољан прогностички знак.

Скицирати поступак са модела:

Забележити добијене резултате (у табелу 9.3) и запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Табела 9.3: Термогенетски напор пацова

Пацов	Телесна температура (°C)					
	15 мин	30 мин	45 мин	60 мин	75 мин	90 мин
1.						
2.						
3.	-	-				

ЗАПАЖАЊА И ЗАКЉУЧАК:

10.0 Физиологија ендокриног система

Регулације које се остварују посредством ткивних течности (крви) се називају хуморалне регулације. У категорију хуморалних фактора регулације спадају све супстанције, без обзира да ли су егзогеног или ендогеног порекла, под следећим условима:

- ✓ делују на ћелијском нивоу,
- ✓ до ћелија доспевају ношене крвљу,
- ✓ ћелијама доносе "поруку" да прекину, отпочну или промене интензитет животних процеса.

Хормони представљају фактор хуморалне регулације. Сам моменат појављивања хормона, у процесу еволуције, је нејасан. Јављају се пре ендокриних жлезда. Хормони су специфичне супстанце које излучују мање или више специјализоване ћелије, а доспевши до одређених циљних ћелија или ткива, на мањој или већој удаљености од места њиховог стварања, мењају интензитет већ постојећих метаболичких процеса. Појам *хормон* има много шире значење од појма *ендокрини хормон*.

Улога хормона је да регулишу брзину специфичних процеса - већ постојећих реакција посредованих ензимима. Допринос хормона укупној хомеостази организма веома је значајан зато што делују на:

- ✓ метаболичке реакције,
- ✓ диференцијацију ћелија,
- ✓ процесе раста и развоја,
- ✓ процесе сазревања и старења.

Хормони своје дејство остварују преко унутарћелијског посредничког система регулација и са њим чине функционално јединство. Хормони се могу класификовати на више начина.

Подела хормона према хемијској структури:

- ✓ Протеински хормони различите структуре (протеини, гликопротеини, пептиди):
 - хормони аденохипофизе,
 - хормони неуроhipофизе,
 - хормони паратиреоиде,
 - хормони ендокриног панкреаса,
 - неурохормони и

- хормони дигестивног тракта.

Сви протеински хормони су хидрофилни, имају велику молекулску масу па не могу пролазити кроз ћелијску мембрану већ се везују за рецепторе у ћелијској мембрани.

✓ Деривати аминокиселина:

- катехоламини (производе их ћелије сржи надбубрега и параганглија) и
- хормони тиреоиде.

✓ Стероидни хормони:

- хормони полних жлезда и
- хормони коре надбубрега.

Тиреоидни и стероидни хормони су липосолубилни и могу пролазити кроз ћелијску мембрану.

✓ Еикосаноиди:

- простагландини,
- простациклин,
- тромбоксан и
- леукотријени.

Деривати више незасићених масних киселина (арахидонска киселина) имају хормонске особине - делују локално.

Подела хормона према пореклу:

- ✓ ендокрини хормони,
- ✓ ткивни хормони,
- ✓ хормони дигестивног тракта и
- ✓ неурохормони.

Подела хормона према месту деловања:

- ✓ ендокрини (делују на већој удаљености од места излучивања),
- ✓ паракрини (делују на мањој удаљености – на суседне ћелије) и
- ✓ аутокрини (делују на саме ћелије које их излучују).

У принципу, хормони се депонују у малим количинама у односу на укупну дневну производњу. Изузетак од овог правила чини тиреоидна жлезда. Протеински хормони се привремено депонују у ћелијама у виду секреторних гранула. У транспорту хормона често посредују протеински носачи. Након што изведу своје дејство, хормони се најчешће инактивирају у циљном ткиву, али и у другим органима (јетра, бубрези, плућа). Излучивање хормона по правилу није стално већ се по времену и интензитету усклађује са потребама организма. Основни принцип регулације је механизам *негативне повратне спреге* који се може остваривати на више нивоа. Хормони остварују своје деловање углавном тако што се везују за високоафинитетне специфичне рецепторе (молекуле протеина) који могу бити лоцирани било на плазматској мембрани или у унутрашњости ћелије. Своје регулацијско дејство хормони остварују на различите начине:

- ✓ променом интензитета транспорта неке супстанције кроз ћелијску мембрану,
- ✓ продукцијом неког медијатора ("другог гласника") или
- ✓ активацијом гена.

Опште функције хормона су:

- ✓ регулација метаболизма,
- ✓ регулација раста и развоја (морфогенеза),
- ✓ развој репродуктивних органа и регулација репродукције,
- ✓ контрола понашања животиња,
- ✓ реаговање и адаптација организма на промене и различита деловања из спољашње и унутрашње средине,
- ✓ ендокрини (хормонски) систем је основни регулатор производних способности домаћих животиња.

Модерно схватање ендокриног система подразумева изучавање ендокриних функција у оквиру интегрисаног *неуроендокриног система* којег код сисара чине:

- ✓ нервне ћелије у централном и периферном нервном систему,
- ✓ ендокрине ћелије "класичних" ендокриних жлезда и
- ✓ појединачне неуроендокрине ћелије у слузници дигестивног тракта.

Појединачне ендокрине жлезде или појединачне ендокрине ћелије функционишу уз веома присно садејство делова централног, периферног и вегетативног нервног система. Посебна улога у интегрисању регулаторних процеса припада *хипоталамусу*. Хипоталамус код кичмењака физички и функционално повезује ендокрини и нервни систем и служи као главни регулатор активности појединих ендокриних жлезда.

10.1 Физиологија ендокриног панкреаса

Ендокрина функција панкреаса огледа се у раду ендокриних ћелија груписаних у тзв. Лангерхансова острвца. Ова острвца су разбацана по егзокрином панкреасу, а највише их има у репу панкреаса. Ова острвца се састоје из три типа ћелија: алфа, бета и делта. Бета ћелије излучују хормон инсулин (*lat. insula* - острво), док алфа излучују глюкагон. Инсулин и глюкагон су са антагонистичким дејством: док инсулин смањује концентрацију глукозе у крви, глюкагон је повећава. Делта ћелије луче хормон соматостатин који инхибира секрецију осталих хормона.

Повећана концентрација глукозе (шећера) у крви доводи до појачаног лучења инсулина па он смањује ниво шећера у крви. Када се ниво глукозе смањи на нормалу, смањује се и лучење инсулина. Међутим, када се инсулин недовољно излучује или постоји резистенција на њега долази до нагомилавања глукозе у крви, тј. хипергликемије што доводи до настанка шећерне болести (*diabetes mellitus*).

Инсулин су изоловали 1921./1922. године Фредерик Бантинг и Чарлс Бест. Излучивање инсулина подстиче глукоза, а инсулин смањује садржај глукозе у крви (гликемију), уколико је то потребно. Глукоза помоћу инсулина прелази у ћелије разних ткива и тамо се метаболише или се складишти за касније потребе. Када је шећер у крви низак (за време obroка, а нарочито при гладовању), инсулин се готово не излучује. Инсулин нарочито подстиче гомилање енергетских залиха и спречава њихову разградњу. Како висок шећер у крви подстиче излучивање инсулина, у крви га има више након сваког obroка мешовите хране са угљеним хидратима. Инсулин делује не само на глукозу, већ и на друге хранљиве материје (беланчевине, масти) које храна садржи. Глукоза у крви прецизно указује на потребу организма за енергијом. Када хране има довољно, довољно има и глукозе у крви и излучивање инсулина је непрестано повећано. Уз његову помоћ, вишак енергије, који стиже са храном, таложи се у ткивима (депои гликогена, масно ткиво).

Ако хране нема довољно, глукоза у крви опадне. Претерани пад шећера може да поремети рад мозга (тада глукоза мора стално да стиже из енергетских залиха), зато је одржавање минималног нивоа глукозе у крви од животног значаја. Између obroка, глукоза се обнавља из гликогена из јетре. Низак шећер у крви не подстиче излучивање инсулина, а мала количина инсулина, затим, омогућава разграђивање залиха. Међутим, у физиолошким условима, никада не наступа претерано разграђивање, чији би метаболити могли да шкоде организму.

Одржавање равнотеже између инсулина и глукозе је веома прецизно. Само несметано функционисање те повратне везе обезбеђује одржавање енергетске равнотеже и правилну исхрањеност организма. Инсулин се користи и као лек за регулацију нивоа шећера у крви.

Глукагон је полипептидни хормон кога луче алфа ћелије ендокриног дела панкреаса. Основно дејство овог хормона је повећање концентрације глукозе у крви

(хипергликемијско дејство). Глукагон је по томе хормон супротног дејства (антагониста) инсулину. Он изазива још и разградњу масти (липолитички ефекат) и повећање концентрације слободних масних киселина у крви. Повећање лучења глукагона је праћено падом лучења инсулина и обрнуто. Један од најјачих стимулуса за ослобађање глукагона је пад концентрације глукозе у крви (хипогликемија). Кад се концентрација глукозе повећа слаби лучење глукагона, а повећа се инсулина. На тај начин се узајамним дејством глукагона и инсулина одржава стална концентрација глукозе у крви.

Хормони стреса: адреналин, кортизол и хормон раста повећавају лучење глукагона. Такође, хормони вазопресин и ендорфини стимулишу ослобађање овог хормона. Адреналин заједно са норадреналином као део симпатичког система такође може изазвати повећано лучење кортизола.

Хормони инсулин и соматостатин смањују ослобађање глукагона.

Основни ефекат глукагона је повећање концентрације глукозе у крви тј. хипергликемијски ефекат. Највећи део дејства глукагон остварује у јетри. Ћелије панкреаса луче глукагон директно у крв, која порталним крвотоком прво доспева у јетру. Јетра садржи велике концентрације резервног шећера, гликогена, који представља депо глукозе која се ослобађа његовом разградњом. Глукагон остварује дејство везивањем за рецепторе на ћелијама јетре, хепатоцитима. Разлагањем гликогена прво настаје глюкозо-1-фосфат, који се затим преводи у глюкозо-6-фосфат. Активирањем ензима глюкозо-6-фосфатазе (специфичан ензим за ћелије јетре), под чијим дејством настаје обичан молекул глукозе, који може напустити ћелије јетре и отићи у крвоток.

Поред процеса разградње гликогена, глюкоза може настати и процесима стварања глукозе из других супстанци - глуконеогенеза. Глуконеогенеза се такође повећава под утицајем хормона глукагона.

У ћелијама масног ткива, повећава се разградња масти и ослобађање слободних масних киселина у циркулацију. Транспорт масних киселина у митохондрије ћелија, где се врши сагоревање масти путем β оксидације, је такође повећано. Такође, стимулише се и стварање ацетонских тела из масних киселина преко ацетил ко-ензима А.

Соматостатин је полипептидни хормон кога луче делта ћелије ендокриног панкреаса, хипоталамус као и неке неуроендокрине ћелије гастроинтестиналног тракта. Соматостатин инхибише лучење других хормона: инсулина, глукагона, хормона раста, гастрина, секретина и тиреотропног хормона итд. Такође инхибише контракцију жучне кесе и лучење жучи. Делује као локални хормон, са паракриним дејством (делује на околне ћелије).

Испитивање функционалног стања ендокриног панкреаса је врло битно, како у хуманој тако и у ветеринарској медицини, у циљу дијагностиковања шећерне болести (*diabetes mellitus*). Апсолутни или релативни мањак инсулина резултира хи-

пергликемијом, а када ниво глукозе у крви пређе бубрежни праг реапсорпције глукозе долази до појаве глукозурије. Глукозурија узрокује осмотску диурезу што доводи до дехидратације и полидипсије (повећан унос воде). Губитак глукозе у урину доводи до губитка енергије и због тога и до губитка телесне масе, па се јавља полифагија (повећан унос хране). Дијабетес је стање потпуног изгладњивања организма због немогућности коришћења глукозе, па се почињу користити други доступни извори енергије.

Испитивање функционалног стања панкреаса се може вршити континуираним праћењем нивоа глукозе у крви и мокраћи. Међутим, битно је напоменути да присуство хипергликемије, такође, прати многа друга стања осим шећерне болести. Потребно је истакнути и појаву тзв. стресне хипергликемије код мачака (концентрација глукозе у крви до 24 mmol/L). Такав облик хипергликемије се јавља код великог броја мачака у стресу, а интервенција ветеринара и узимање узорка крви представља изразити стрес за мачке. Међутим, стресна хипергликемија код мачака је краткотрајна и не резултира глукозуријом. Глукозурија, такође, прати и неке друге болести.

Постоји могућност и појаве граничне хипергликемије која се обично открије рутинским лабораторијским тестирањем. Пси код којих се концентрација глукозе у крви стално креће између 6,66 и 11,1 mmol/L представљају пример овог стања, јер при тим концентрацијама глукоза не прелази бубрежни праг, па се не може наћи у мокраћи. У оваквим случајевима је потребно извршити и тест оптерећења глюкозом (праћење концентрације глукозе након оптерећења организма већом количином глукозе).

ЗАДАТАК: Објаснити како је на резултате добијене у вежбама испитивања концентрације глукозе у крвној плазми и утврђивања присуства глукозе у мокраћи могло утицати функционално стање ендокриног панкреаса.

ПРОСТОР ЗА РАД:

10.2 Ендокрина регулација калцемије

Еволуција живог света и премештање из воденог на копнени начин живота захтевала је адаптацију организама на окружење сиромашно калцијумом. Због тога се код виших сисара и развијају бројни хомеостатски механизми који одржавају плазма ниво калцијума у врло уским границама. Истовремено, није случајно да је овај катјон остао основни градивни минерал и минерал неопходан за одвијање многих физиолошких процеса (структурна и метаболичка улога).

У плазми се калцијум налази у три основна облика: јонизованом (око 45%), везаном за протеине плазме (око 45%) и у комплексу са малим дифузибилним лигандима: цитрат, лактат, фосфат, бикарбонат и други (око 10%), при чему јонизована фракција представља физиолошки активан облик који се налази у динамичкој равнотежи са осталим фракцијама. Концентрација калцијума у ћелијама је изузетно ниска, али ова фракција игра виталну улогу у контроли функција свих ћелија.

Одржавање биланса калцијума је врло комплексан процес у који су укључене кости, дигестивни систем и бубрези. Паратхормон (РТН), калцитриол и у мањој мери калцитонин и неки стероидни хормони (полни хормони и глукокортикоиди) играју директну или индиректну улогу у одржавању плазма нивоа калцијума односно укупног биланса овог минерала у организму.

Паратироидни хормон (РТН, паратхормон, паратирин) луче паратироидне ћелије параштитасте жлезде као полипептид. РТН делује тако што повећава концентрацију калцијума у крви.

На лучење РТН стимулативно делују снижени ниво серумског калцијума, благо повећање нивоа серумског магнезијума и повећање нивоа серумског фосфата (повећање концентрације фосфата узрокује формирање калцијум фосфата).

На лучење РТН инхибиторно делују повишени ниво серумског калцијума и јако снижење серумског магнезијума.

Калцитриол (1,25-дихидроксихолекалциферол, 1,25-дихидроксивитамин Д₃) је хормонски активна форма витамина Д са три хидроксилне групе. Он повећава ниво калцијума у крви путем повећања уноса калцијума из црева у крв и могућег повећања отпуштања калцијума у крв из костију.

Калцитонин је пептидни хормон, који се производи у парафоликуларним ћелијама (С-ћелијама) штитасте жлезде и има улогу у регулацији концентрације калцијума у крви. То је полипептид који се најпре синтетише као знатно већи молекул, претходник овом хормону или прохормон из кога се даљом модификацијом добија калцитонин. Он спречава ресорпцију калцијума из костију тако што инхибише ћелије, остеокласте, које разграђују кости и на тај начин се смањује концентрација калцијума у крви. Има супротно дејство паратхормону. Кости су махом састављене из соли калцијума, у мањој мери магнезијума и фосфата, тако да се њиховом разградњом у крв ослобађају поменуте супстанце. Калцитонин такође у мањој мери смањује ресорпцију калцијума у бубрежним тубулима и цреву. Хиперкалцемија (повећана концентрација калцијума у крви) стимулише, а хипокалцемија (смањена концентрација калцијума у крви) инхибише секрецију овог хормона.

ЗАДАТАК: Објаснити како је на резултат добијен у вежби испитивања концентрације калцијума у крвној плазми могао утицати ендокрини систем.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.0 Физиологија централног нервног система (ЦНС)

Основни задаци регулаторних процеса у организму су:

- ✓ међусобно усклађивање појединих фаза физиолошких процеса (по редоследу и по интензитету) у циљу обезбеђивања складног функционисања целине сложеног процеса који се једним именом зове *живот*,
- ✓ усклађивање сложених животних функција с карактеристикама средине у којој се одвијају, односно одржавање *хомеостазе* (интрацелуларне и екстрацелуларне),
- ✓ усклађивање размене материја и енергије са околином према актуелним потребама и
- ✓ репродукција и одржавање врсте.

Пошто се живот и животни процеси одвијају у веома промењивој средини, животиње и човек морају поседовати адаптивне механизме помоћу којих ће на промене околине реаговати доста брзо, ефикасно и сврсисходно. Интеграција и координација функција и адаптивних реакција је задатак за то посебно усавршених система организма: нервног, ендокриног и имуног система. Функције ова три система су међусобно испреплетане, сваки од њих утиче и модулише активност другог, а сви заједно обезбеђују хармоничан рад читавог организма. Првенствени задатак нервног система је у регулацији брзих промена у организму (појачање рада срца, повишење крвног притиска, мишићне контракције и др.). Супротно томе, ендокрини и имуни систем су спорији системи. Одговори и ефекти нервног система се временски мере у секундама, а реаговање ендокриног и имуног система настаје тек после више минута, сати или дана, јер они регулишу метаболичке и хомеостатске процесе, односно заштиту организма

Са функционалног становишта, нервни систем се састоји из три дела: сензитивни, моторни и анализаторски (асоцијацијски или компјутерски). Прва два могу да се поделе на периферни (нерви) и централни (кичмена можина, možдано стабло, мали и велики мозак), мада су све поделе дидактичког карактера ради јаснијег излагања, јер нервни систем функционише као једна јединствена целина.

Рефлекс представља одговор (реакцију) ефектора на специфично дражење одређених рецептора. У суштини, рефлекс је аутоматско реаговање ефектора (нпр. реакција на губитак равнотеже). Рефлекси имају просторни однос између места надражаја и одговарајућих мишића (ефектора) који се тада контрахују. Та анатомско-функционална јединица (целина) рефлекса се означава као *рефлексни лук* који се састоји из најмање пет делова:

1. *Сензитивни рецептор* (налазе се у кожи, мишићима или чулним органима), који је специјализиран за примање специфичних надражаја и трансформише их у енергију нервног импулса,
2. *Сензитивни или аферентни неурон* проводи импулс од рецептора до ЦНС-а у који претежно улази путем дорзалних коренова кичмене мождине,

3. *Нервни центар* (централна синапса) се налази у сивој маси ЦНС-а и представља место функционалног контакта аферентног и еферентног неурона,
4. *Еферентни* (ефекторни, моторни) *неурони* полазе из нервних центара, а тело неурона је смештено у сивој маси ЦНС-а (вентрални рогови кичмене мождине) и проводе импулсе до ефектора и
5. *Ефектор* (извршни орган) може бити мишићна или жлездана ћелија и његова активација представља, уствари, рефлексни одговор.

Рефлексни лук, који се састоји само из ових пет елемената, тј. има само два неурона и само једну синапсу, назива се *моносинаптички рефлексни лук* (заступљен је у организму сисара само код миотактичког рефлекса – рефлекс на истезање, који је значајан у регулацији тонуса мишића, одржавању положаја тела и др.). Међутим, у већини случајева између аферентног (сензитивног) и еферентног (моторног) неурона у ЦНС уметнут је већи број *интернеурона* – *полисинаптички рефлексни лук*.

Познавање и испитивање рефлекса има велики клинички значај, јер рефлексни указују на евентуалне промене у грађи и функционисању елемената рефлексног лука.

Подела рефлекса:

✓ Обзиром на број синапси рефлекс се могу поделити на просте (моносинаптичке) и сложене (полисинаптичке) рефлексе.

✓ Обзиром на локализацију централне синапсе рефлекс могу бити спинални (синапса у кичменој мождини), булбарни (синапса у продуженој мождини), мезенцефалички (синапса у мезенцефалону), хипоталамусни (синапса у хипоталамусу), кортикални (синапса у кортексу), итд.

✓ На основу положаја рецептора рефлекс могу бити екстерорецептивни (рецептор је на површини тела у кожи или слузокожи) или интерорецептивни (рецептор је у дубљим ткивима или органу).

✓ На основу типа рецептора:

Механорецепторни рефлекс – овде спадају рецептори коже, слободни нервни завршеци око коренова длаке и рецептори дубоких унутрашњих органа, рефлексна регулација крвног притиска – барорецептори у *sinus caroticus* и аорти, кинестетички рецептори – мишићно вретено, Голџијеви тетивни рецептори и нервни завршеци у зглобним капсулама, рецептори на истезање у плућима, рецептори специјализованих чула: ћелије Кортијевог органа у пужу, вестибуларни рецептори за равнотежу, итд.

Хеморецепторни рефлекс – овде спадају рецептори чула: ћелије густативних телашаца и ћелије олфактивне слузокоже, рецептори крвних судова који реагују на промене концентрације CO_2 – рецепторне ћелије које се налазе у структурама *glomus aorticum* и *glomus caroticum*, инспираторном центру, рецептори у хипоталамусу који реагују на промене концентрације глукозе, аминокиселина и масних киселина.

Терморекторни рефлеси – рецептори су у кожи и слузокожи језика: за топло и хладно.

Електромагнетски рефлеси – то су рецептори мрежњаче ока – чепићи и штапићи.

Ноциоцепторни рефлеси – рецептори за бол. То су нервни завршеци танких сензитивних нервних влакана који се налазе у кожи и унутрашњим органима.

✓ По брзини рефлексног одговора: брзи рефлеси – са дебелим мијелинским неуронима и спори рефлеси – са танким амијелинским нервним влакнима.

✓ На основу типа ефектора рефлеси могу бити моторни (ефектор је мишић), секреторни (ефектор је жлезда), вазомоторни (ефектор је крвни суд, односно глатка мишићна влакна у његовом зиду).

✓ Према начину настанка: безусловни и условни рефлеси.

✓ Према карактеру еферентних путева: вегетативни и соматски рефлеси.

11.1 Испитивање неких клинички важнијих рефлекса код сисара

Рефлеси се испитују као обавезан део неуролошког прегледа и то посебно у хуманој медицини, мада је испитивање рефлекса заступљено и у ветеринарској пракси.

Полазећи од тога да су рефлеси одговори ефектора на надражаје који долазе из спољашње или унутрашње средине путем рефлексног лука и да су ови одговори увек исти на исти надражај који је примењен на исте рецепторе, онда се може схватити значај испитивања рефлекса и стицања одређеног искуства у практичном раду при процени горе наведених промена.

Ово испитивање даје драгоцене податке о стању нервног система, а термини којима се описује рефлексни одговор организма су следећи:

✓ *норморефлексија* – одговор организма у физиолошким границама,

✓ *хиперрефлексија* – појачани рефлеси,

✓ *хипорефлексија* – ослабљени рефлеси и

✓ *арефлексија* – угашени рефлеси.

11.1.1 Пателарни рефлекс (рефлекс квадрицепса)

Овај рефлекс је рефлекс дубоке сензитивности и није промењив. Адекватан одговор на надражај је краткотрајна контракција *m. quadricepsa*. Рефлексни лук се састоји од следећих компоненти: рецептора (мишићно вретено у *m. quadricepsu*),

аферентног влакна (*n. femoralis*), центра (синапса је смештена од другог до четвртог сегмента лумбалног дела кичмене мождине), еферентног влакна (*n. femoralis*) и ефектора (*m. quadriceps*).

ЗАДАТАК: Испитати пателарни рефлекс код човека и пса.

МАТЕРИЈАЛ: Неуролошки (перкусиони) чекић (слика 11.1).



Слика 11.1: Неуролошки (перкусиони) чекић

ИЗВОЂЕЊЕ: Човека поставити да седи на уздигнуту површину (ноге висе) или са прекрштеним ногама. Пса поставити да лежи на бок. Мишићи треба да буду опуштени. Неуролошким чекићем нагло куцнути по тетиви квадрицепса испод чашице колена при чему долази до опружања ноге, тј. екстензије потколенице. Забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.1.2 Рефлекс Ахилове тетиве

Адекватан одговор на надражај је плантарна флексија (померање уназад стопала). Рефлексни лук се састоји од следећих компоненти: рецептора (мишићно вретено у *m. gastrocnemius*), аферентно влакно (*n. tibialis*), центра (синапса је смештена у L5, S1 и S2 сегменту кичмене мождине), еферентног влакна (*n. tibialis*) и ефектора (*m. gastrocnemius*).

ЗАДАТАК: Испитати рефлекс Ахилове тетиве код човека и пса.

МАТЕРИЈАЛ: Неуролошки (перкусиони) чекић.

ИЗВОЂЕЊЕ: Човек клечи на мекој подлози на столици или седи на уздигнутој површини. Пас лежи на боку. Испитивач перкусионим чекићем лагано удара по Ахиловој тетиви, док другом руком може држати стопало како би боље регистровао јачину рефлексне реакције. Забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.1.3 Рефлекси ока

На овом месту ће бити описана два рефлекса који спадају у различите групе. Један је корнеални рефлекс који спада у групу површинских рефлекса, а други је рефлекс пупиле (зенице) који спада у групу вегетативних рефлекса.

11.1.3.1 Корнеални рефлекс

Физиолошка улога овог рефлекса је у заштити ока од упада страних честица, инсеката и сл. или у заштити од механичких оштећења. Испољава се у затварању очних капака или трептању до отклањања страних честица. Исто тако, користи се у клиници за процену дубине наркозе код животиња и људи. Предозирање наркотика доводи до слабљења или потпуног губитка овог рефлекса, што сигнализира опасност, обзиром на то да се центар налази у продуженој моздини где се налазе и центри за регулисање виталних функција (дисање, рад срца).

Рефлексни лук се састоји од следећих компоненти: рецептора (механорецептори у рожњачи), аферентног влакна (*n. ophthalmicus*, грана *n. trigemina*), центра (продужена моздина), еферентног влакна (*n. facialis*) и ефектора (*m. orbicularis oculi* и *m. levator palpebrae*).

ЗАДАТАК: Испитати корнеални рефлекс код човека.

МАТЕРИЈАЛ: Замотуљак вате или штапић са ватом на крајевима.

ИЗВОЂЕЊЕ: Замотуљком вате лагано додирнути рожњачу ока са стране, при чему настаје одбрамбена реакција – затварање очних капака, односно затварање ока. Забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.1.3.2 Пупиларни рефлекс

У зависности од количине светлости која улази у око овај рефлекс ће реаговати сужавањем (*миоза*) или ширењем (*мидријаза*) зенице. Рефлекс представља „аутоматску бленду“ ока. Јача светлост изазива миозу, а слабији интензитет светлости изазива мидријазу. На тај начин се контролише количина светлости која пада на фоторецепторе мрежњаче.

Рецептори пупиларног рефлекса су фоторецептори (чепићи и штапићи) мрежњаче (ретине), а импулси одлазе у центар влакнима *n. opticus*. Центар је смештен у субкортикалном центру чула вида (*corpora quadrigemina* и *corpora geniculata lateralia* у таламусу). Еферентни пут и ефектор зависе од тога колика је јачина светлости стигла до фоторецептора. Јачи интензитет светла доводи до миозе, што је последица контракције *m. sphincter pupillae*, а импулс је стигао преко *n. oculomotorius* (парасимпатикус). Мидријаза је резултат контракције *m. dilatator pupillae*, а инервисан је симпатикусним нервним влакнима.

Атропин, који блокира ацетилхолинске мускаринске рецепторе, изазива мидријазу због преовладавања тонуса *m. dilatator pupillae*.

Влакна *n. opticus* се укрштају у хијазми и због тога се при осветљењу једног ока сужава зеница, не само тог ока (директна реакција), већ и другог ока (индиректна, консензуална реакција), јер се импулси преносе на оба једра *n. oculomotorius*.

ЗАДАТАК: Испитати пупиларни рефлекс код човека.

МАТЕРИЈАЛ: Батеријска лампа.

ИЗВОЂЕЊЕ: У делимично замраченој просторији дланом прекрити једно око испитаника, а друго око осветлити батеријском лампом – запажа се миоза. Консензуална реакција се испитује тако што испитивач поставља длан окомито између оба ока испитаника, а затим нагло осветли једно око и посматра реакцију другог ока – долази до миозе, иако то око није директно осветљено. Супротно томе, ако се у осветљеној просторији дланом руке затвори једно око, на другом оку ће доћи до ширења зенице – мидријаза. Забележити запажања.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.2 Рефлекси спиналне жабе

Кичмена мождина је седиште нервних центара (синапси) рефлекса чији се рецептори налазе у кожи, скелетној мускулатури тупа и екстремитета и у унутрашњим органима. Центри се налазе у сивој маси кичмене мождине која је смештена централно и на попречном пресеку има облик лептира раширених крила. Сас-

тоји се из тела и дендрита моторних неурона, нервних завршетака сензорних неурона, бројних интернеурона и глија ћелија. Поред соматских спиналних центара, у кичменој мождини се налазе и неки вегетативни центри, као што су центри за контролу рефлекса микције и дефекације. Спинални центри су под контролом виших структура ЦНС-а, одакле до њих долазе фацилитацијски (олакшавајући, стимулацијски) и инхибиторни импулси.

11.2.1 Наркоза жабе

Наркоза омогућава лакши рад и манипулацију са лабораторијским животињама. Такође, хумани рад са лабораторијским животињама је један од основних постулата у раду са њима, а уједно представља и моралну и законску обавезу. Ова процедура је неопходна у циљу спречавања излагања лабораторијских животиња непотребној патњи, болу и стресу.

ЗАДАТАК: Извршити наркозу жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Жаба, етар, вата, тегла, 10% раствор уретана, шприц са иглом, лабораторијски сат.

ИЗВОЂЕЊЕ: Ставити жабу у обичну стаклену теглу, убацити вату добро натопљену етром, а затим поклопити. Када је жаба постала непокретна (адинамија екстремитета) значи да је наркотисана. Наркоза се може извести и убризгавањем 1ml 10% раствора уретана у дорзалну лимфну кесу. Забележити запажања и констатовати разлике у времену потребном да се постигне наркоза помоћу етра и помоћу уретана.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.2.2 Спинални шок

Испитивање функције кичмене мождине врши се на животињама код којих је пресецањем нервног стабла кичмена мождина одвојена од осталих (виших) делова ЦНС-а. То је најједноставније извести на препарату спиналне односно декапитоване жабе.

ЗАДАТАК: Утврдити спинални шок жабе

МАТЕРИЈАЛ: Жаба, прибор за наркозу, статив са држачем за доњу вилицу жабе, маказе, пинцета, лабораторијски сат.

ИЗВОЂЕЊЕ: Жабу увести у наркозу. Извршити декапитацију жабе одсецањем маказама горње вилице неколико милиметара иза очију. На овај начин су одстрањени мозак и продужена мождина и одвојени од кичмене мождине. Укључити лабораторијски сат у циљу одређивања дужине трајања спиналног шока.

Скицирати поступак са модела:



Посебним држачем обухватити доњу вилицу и фиксирати у статив тако да жаба виси. Пинцетом штипкати прсте стопала и пратити реактивност. Запазити да је жаба млитава и не реагује на механичке надражаје – она се налази у *спиналном шоку* који траје од 5 до 10 минута. У току трајања спиналног шока постоји потпуна парализа, губитак тонуса мускулатуре, као и гашење рефлекса што је последица искључења фацилитацијских (ексцитаторних) дејстава из виших делова ЦНС-а. После 5 до 10 минута реактивност се потпуно успоставља. Жаба на штипкање одговара подизањем екстремитета. Забележити колико је трајао спинални шок и остала запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.2.3 Ширење (радијација) рефлекса

Ширење рефлекса се одвија на нивоу кичмене мождине, а омогућено је постојањем интернеурона који у центру врше пренос надражаја са једног рецептивног поља на више удаљених моторних неурона, при чему се у одговору на дражење укључује већи број мишићних влакана, иако они и њихови рефлексни центри немају директне везе са надраженим рецепторима.

У кичменој мождини се импулси преносе из центра рефлексног лука (синапса) помоћу интернеурона и кранијално и каудално („вертикално“ ширење рефлекса код човека), а и ипсилатерално – у истој равни попречног пресека кичмене мождине („хоризонтално“ ширење рефлекса код човека).

ЗАДАТАК: Доказати ширење рефлекса постепеним повећавањем интензитета надражаја.

МАТЕРИЈАЛ: Спинална жаба из претходног огледа.

ИЗВОЂЕЊЕ: Жаба која се опоравила од спиналног шока поставља се на статив фиксирана за доњу вилицу. Пинцетом штипкати један задњи екстремитет у одређеним временским размацима и све јачим интензитетом и пратити реакције (одговоре на штипкање). Лагано штипкање доводи само до флексије мишића стопала, мало јаче штипкање изазива интензивније повлачење екстремитета, веома јако штипкање изазива флексију не само надраженог екстремитета, већ и супротног – контралатерална ирадијација рефлекса. Могу реаговати чак и предњи екстремитети. Забележити запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.2.4 Рефлекс брисања (заштитни рефлекс)

Овај рефлекс спада у сложене рефлексе, а омогућен је ширењем и сумацијом јаким наддражаја који трају дуже време. Манифестује се наизменичном флексијом и екстензијом, а исто тако абдукцијом и адукцијом одговарајућих група мишића екстремитета.

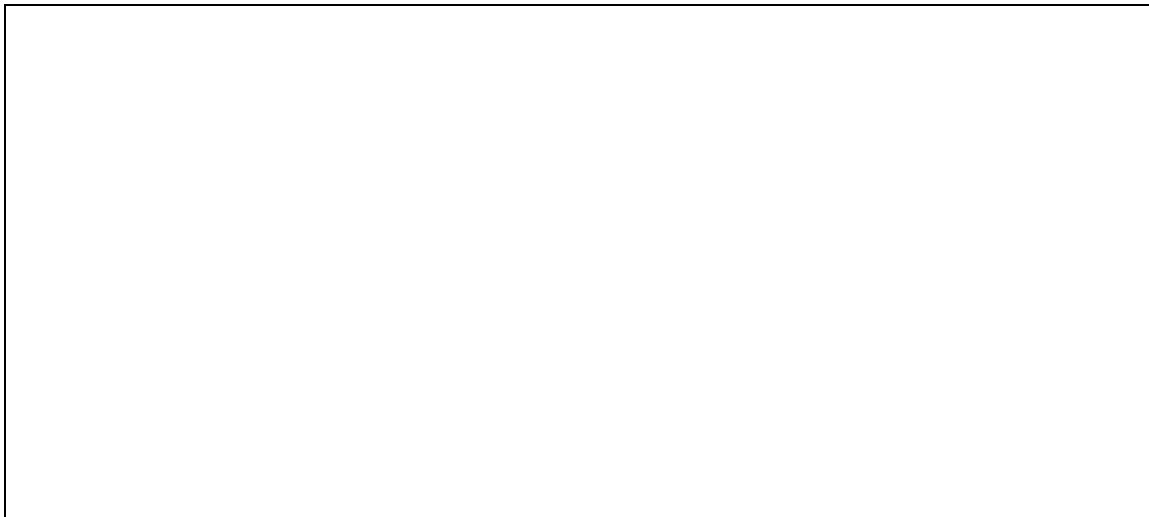
Рефлекс брисања доказује комуникацију између великог броја центара у кичменој мождини која се остварује помоћу активације бројних интернеурона. Присутно је и хоризонтално и вертикално ширење рефлекса, као и временска сумација.

ЗАДАТАК: Известити оглед рефлекса брисања на спиналној жаби.

МАТЕРИЈАЛ: Исто као у претходним вежбама на спиналној жаби, филтер папир, 0,5% H_2SO_4 .

ИЗВОЂЕЊЕ: Спиналној жаби обешеној на статив, на леђа са једне стране кичменог стуба ставити комад филтер папира натопљеног у 0,5% сумпорној киселини. После неколико секунди, жаба након неколико покушаја понављаном абдукцијом и флексијом задњег екстремитета исте стране на којој је и натопљени филтер папир, успева да га „брисањем“ уклони. Након што оперемо жабу потапањем у воду, оглед се понавља, али сада са држањем екстремитета на страни на којој је филтер папир, спречавајући рефлекс. Запажа се да ће жаба „покушати“ да уклони папир екс-тремитетом исте стране, али пошто је то спречено, она ће папир уклонити другим екстремитетом. Забележити запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.2.5 Рефлексно време

Рефлексно време је време које протекне од момента апликације надражаја на рецепторно подручје па до одговора одговарајућих ефектора. То је тзв. *целокупно рефлексно време* за које надражај прође читав рефлексни лук. *Централно рефлексно време* се односи на време провођења надражаја кроз синапсу (центар) са аферентног на еферентно подручје.

Од свих карактеристика рефлекса једино целокупно рефлексно време зависи од периферних делова рефлексног лука, тј. квалитета аферентних и еферентних неурона. Амијелинска нервна влакна спорије проводе импулсе, док мијелинска нервна влакна брзо проводе импулсе.

Дужина целокупног рефлексног времена зависи од јачине надражаја и величине рецепторске површине (обрнуто је сразмерна јачини надражаја и величини рецепторске површине на коју се аплицира надражај).

ЗАДАТАК: Одредити целокупно рефлексно време спиналне жабе.

МАТЕРИЈАЛ: Спинална жаба, 5 лабораторијских чаша са раствором сумпорне киселине у концентрацији од 0,1 до 0,5%, штоперица.

ИЗВОЂЕЊЕ: Прст једног задњег екстремитета спиналне жабе која виси на стативу сукцесивно урањати, увек једнако дубоко, у лабораторијске чаше са 0,1 до 0,5% раствором сумпорне киселине. После сваког појединачног урањања у киселину потребно је опрати екстремитет потапањем у чашу са водом. Штоперицу покренути у моменту урањања прста у киселину, а зауставити када уследи реакција екстремитета (извлачење из киселине). Резултате забележити.

На крају, исти екстремитет потопити знатно дубље него први пут у 0,1% раствор сумпорне киселине и опет одредити рефлексно време (на овај начин се повећава рецепторска површина).

Забележити добијене резултате и запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

0,1% H_2SO_4 :

0,2% H_2SO_4 :

0,3% H_2SO_4 :

0,4% H_2SO_4 :

0,5% H_2SO_4 :

0,1% H_2SO_4 (дубље потапање):

ЗАПАЖАЊА И ЗАКЉУЧАК:

11.2.6 Синапса пружа отпор провођењу надражаја

Област контакта два неурона назива се синапса. Установљено је да баш ова област контакта има својства која одређују оне особености које карактеришу рефлексну активност (једносмерно провођење надражаја, заморљивост рефлексног лука, сумација надражаја и др.).

Појединачни надражај који стиже у центар аферентним путем неће се пренети на еферентно влакно ако не прелази одређени праг (ако није довољне јачине). Због тога се каже да синапса пружа одређени отпор провођењу надражаја. То се може веома једноставно доказати апликацијом минималних надражаја на различите делове рефлексног лука и истовременим посматрањем реакције ефектора (мишића).

ЗАДАТАК: Доказати да минимални појединачни надражаји имају различит ефекат зависно од тога да ли се аплицирају на аферентном или еферентном подручју рефлексног лука (испред или иза синапсе).

МАТЕРИЈАЛ: Спинална жаба са делимично испрепарираним *n. ischiadicusom*, уређај за надраживање (електростимулатор), бакарне електроде.

Електростимулатор је уређај којим се може вршити надраживање различитих структура (мишићно ткиво, нерви). Електростимулатором се могу апликовати електрични импулси различитог интензитета (волтаже) и учесталости (појединачни, фреквентни).

ИЗВОЂЕЊЕ: Декапитирати жабу, затим прорезати кожу на дорзалној страни једног бедра и тупим размицањем мишића ослободити *n. ischiadicus* од околног ткива у његовом каналу. Испод живца провући бакарне електроде, електростимулатор подесити тако да се добије појединачни надражај најмањег интензитета који може изазвати контракцију мишића испод места дражења (празни надражај). Након тога електроде преместити на пресечени крај кичмене мождине и поновити дражење истом јачином појединачног надражаја. У овом случају реакција мишића изостаје.

Не мењајући јачину надражаја, електростимулатор подесити на учесталу апликацију надражаја и поново дражити на пресеченом месту кичмене мождине. Настаје ефекат сумације појединачних минималних надражаја у синапси и долази до реакције екстремитета.

Електростимулатор поново подесити за стимулацију појединачним надражајима и повећати интензитет надражаја. Овакво дражење у подручју пресеченог дела кичмене мождине ће изазвати реакцију екстремитета.

Забележити сва запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.2.7 Арефлексија изазвана уклањањем делова рефлексног лука

Да би се рефлекс могао нормално одвијати потребно је да све компоненте рефлексног лука буду функционално очуване. У случају потпуног уништења и/или уклањања појединих компоненти рефлексног лука долази до потпуног губитка рефлекса – арефлексije.

ЗАДАТАК: Изазвати арефлексiju уклањањем рецептора и разарањем центара на препарату спиналне жабе.

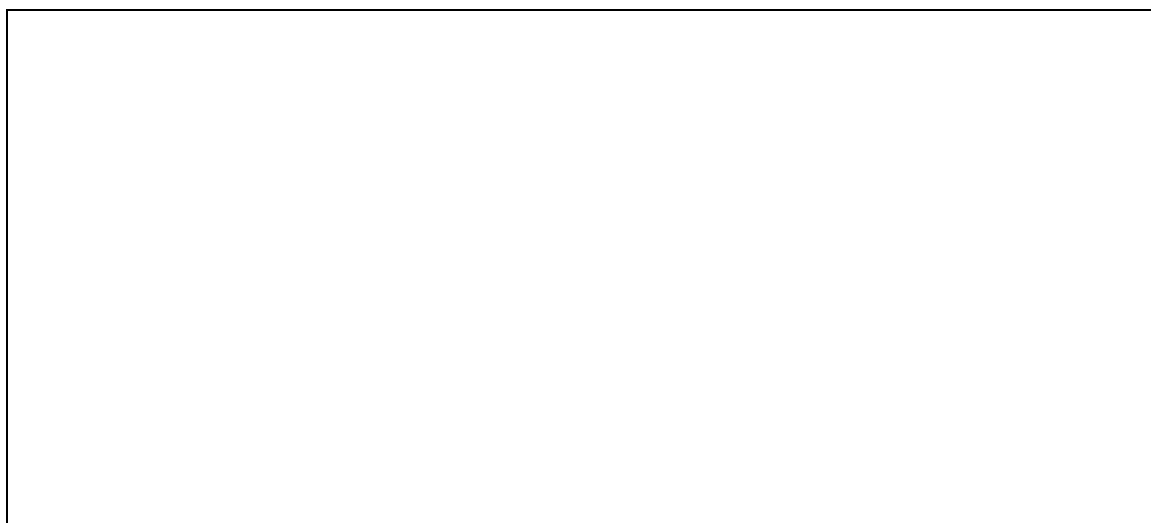
МАТЕРИЈАЛ: Материјал за препарацију спиналне жабе, 0,1% H_2SO_4 , лабораторијска чаша, сонда.

ИЗВОЂЕЊЕ: Спиналној жаби која виси у стативу направити зарез маказама на кожи једног задњег екстремитета и затим повлачењем уклонити кожу дистално од зареза (уклањање рецептора). Уронити екстремитет без коже у раствор сумпорне киселине и констатовати арефлексiju. Затим уронити други задњи екстремитет и констатовати постојање рефлексне реакције.

Сондом разорити кичмену мождину спиналне жабе. На овај начин су разорени рефлексни центри који се налазе у кичменој мождини. Поновити оглед на оба задња екстремитета и констатовати изостанак рефлекса.

Забележити сва запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.3 Утицај ацетилхолина, адреналина и атропина на пупиларни отвор жабе

Величина (дијаметар) пупиларног отвора (зенице) регулишу два глатка мишића инервисана вегетативним нервним системом. Влакна једног окружују пупилу и чине *m. sphincter pupillae* (инервисан парасимпатикусом), а влакна другог мишића су распоређена радијално – *m. dilatator pupillae* (инервисан симпатикусом).

Дражење симпатикуса доводи до контракције *m. dilatator pupillae* и ширења пупиларног отвора (мидријаза). Исти ефекат се постиже када се аплицира адреналин, односно норадреналин који је неуротрансмитер периферних симпатикусних нервних влакана.

Стимулацијом парасимпатикуса надражује се *m. sphincter pupillae* и пупиларни отвор се сужава (миоза). Ацетилхолин (Ach), као неуротрансмитер постганглијских парасимпатикусних нервних влакана доводи до исте реакције.

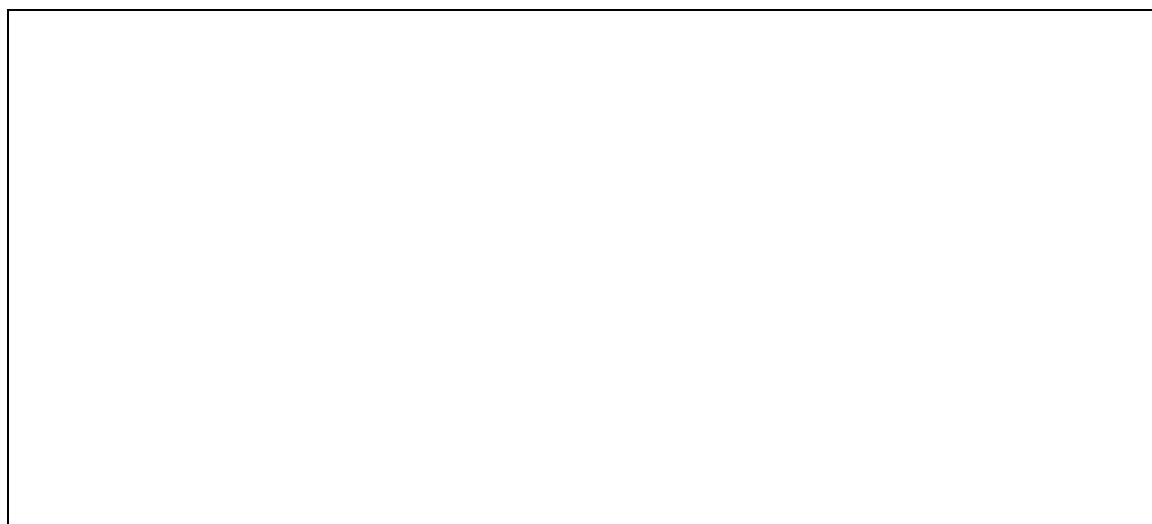
Атропин изазива мидријазу, али не директно као адреналин и норадреналин, него индиректно, тако што блокира дејство парасимпатикуса, односно ацетилхолина.

ЗАДАТАК: Доказати деловање ацетилхолина, адреналина и атропина на пупиларни отвор жабе.

МАТЕРИЈАЛ. Два препарата ока жабе, Петријеве шоље, раствори ацетилхолина, адреналина и атропина, Рингеров раствор за жабе (физиолошки раствор).

ИЗВОЂЕЊЕ: Горњи део главе жабе, након декапитовања, уздужним пресеком поделити на два препарата. Сваки препарат ставити у посебну Петријеву шољу тако да су очи окренуте према горе. Препарат засенити и посматрати величину пупиларног отвора. Једно око прелити раствором ацетилхолина, а друго раствором адреналина. Посматрати зенице док се не запазе промене на њима. Записати запажања. Око које је било преливено раствором ацетилхолина испрати Рингеровим раствором за жабе, а затим прелити раствором атропина. Забележити запажања.

Скицирати поступак са модела:



ПРОСТОР ЗА РАД:

11.4 Испитивање функција малог мозга

Анатомски посматрано, мали мозак се састоји из две хемисфере које су повезане *vermisom*. Функционално гледано, може се поделити на: *vestibulocerebelum*, *spinocerebelum* и *cerebrocerebelum*. Велики број аферентних путева долази у мали мозак носећи информације из сензорних рецептора, možданог стабла, моторног, премоторног, аудитивног, визуелног, соматосензорног и лимбичког кортекса. Еферентни путеви носе информације у кичмену мождину, možдано стабло и моторни кортекс. Због овако богатих веза мали мозак је одговоран за просторну и временску интеграцију покрета. Он омогућава извођење глатких, временски усклађених и прецизних покрета што се постиже координацијом активности агониста и антагониста. Неопходан је за одржавање мишићног тонууса, усправног положаја и равнотеже, задатак му је да уочи разлике између намере и изведеног покрета и исправи грешку.

11.4.1 Испитивање хода

Од испитаника се тражи да хода у једном смеру; уколико је ход уредан, сматра се да је функција малог мозга очувана. Ако је ход тетурав и на широј основи, ради се о атаксичном ходу. Потом кажемо испитанику да затворених очију иде пар корака напред, а потом пар корака назад; уколико долази до скретања на једну страну и описивања звезде на поду, ради се о компасном ходу. Атаксични и компасни ход карактеристични су знаци поремећаја функције малог мозга.

Забележити сва запажања на испитанику - студенту.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.4.2 Испитивање равнотеже

Испитивање поремећаја равнотеже се изводи помоћу Ромбергове пробе. Испитаник стоји мирно са састављеним стопалима, испружених руку, прво са отвореним, а потом и са затвореним очима. Неопходно је стајати близу испитаника у случају да због губитка равнотеже крене да пада. Ако испитаник одржава равнотежу са отвореним очима, а губи када затвори очи, највероватније се ради о поремећају на ниво *cerebellum* или унутрашњег уха.

Забележити сва запажања на испитанику - студенту.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.4.3 Тест дијадохокинезе

Овај тест подразумева процену брзих, наизменичних (антагонистичких) покрета. Од испитаника се најчешће тражи да изводи брзе покрете пронације/супинације. *Дисдијадохокинеза* подразумева неправилност, а *адијадохокинеза* немогућност извођења брзих антагонистичких покрета.

Забележити сва запажања на испитанику - студенту.

ПРОСТОР ЗА РАД:

11.4.4 Дисметрија

Дисметрија представља поремећај у путањи кретања. Испитује се пробама прст-нос и пета-колело. Код извођења пробе прст-нос испитаник стоји раширених руку и тражи се од њега да наизменично кажипрстом једне па друге руке додирне врх свога носа, прво са отвореним, а потом и са затвореним очима. Проба пета-колело се изводи тако што испитаник лежи на леђима и петом једне ноге додирује колело супротне ноге и обрнуто. Код оштећења малог мозга може се запазити *интен-циони тремор* који подразумева подрхтавање при крају вољног покрета (тремор пред циљем), пребацивање (*хиперметрија*) или подбацивање (*хипометрија*) циља покрета.

Забележити сва запажања на испитанику - студенту.

ПРОСТОР ЗА РАД:

12.0 Физиологија чула

Пријем сигнала из, спољашње или унутрашње средине, омогућују специјализоване ћелије - рецептори, који функционишу појединачно или у комбинацији са другим типовима ћелија градећи чулне (перцепцијске) органе, као што су, на пример, ухо или око. Регистровање различитих сигнала је општи процес који подразумева претварање енергије стимулуса у акционе потенцијале који се преносе сензитивним нервним влакнима до централног нервног система, где се обрађују и препознају.

Сваки чулни орган специјализован је да претвори одређену врсту енергије у акциони потенцијал сензорног нерва. Сваки модалитет осећаја има стално одређен пут до мозга, а који осећај ће бити перципиран, као и део тела у који ће се осећај локализовати одређен је посебним делом мозга који је активиран. Разлике у интезитету неког осећаја сигнализирају се на два начина: променом броја активираних рецептора и променом фреквенције акционог потенцијала у сензорном нерву. Повећање интезитета надржаја на неки осећајни орган има врло мали ефекат на квалитет произведеног осећаја.

Постоје 4 типа чулних рецептора који препознају различите видове енергије: хеморецептори, механорецептори, терморецептори и фоторецептори. Поред наведених постоје и ноцицептори (рецептори за бол) које представљају нервне завршетке сензитивних влакана А δ и С, а која се налазе у кожи и унутрашњим органима.

Осетљивост (праг рецептора) није иста за све типове рецептора. Надражај за који је рецептор специјализован и за који има најнижи праг назива се пражни надражај. Рецептори могу да реагују и на друге врсте надражаја, али ако су они знатно већег интензитета од оних који делују на специфичне рецепторе. Адаптација рецептора је својство да престају да стварају импулсе и ако надражај још делује. Модалитет осећаја је одређена врста осећаја која настаје као одраз дражења специфичних рецептора, а након перцепције сигнала у специфичним областима коре великог мозга (места пројекције). Начин на који се осећа и интерпретира одређено раздражење рецептора зависи, поред својстава рецептора и неурона и од претходног искуства које је упамћено.

Соматски (телесни) осећаји представљају сензибилитет тела који се доживљава преко адекватних рецептора. Овај сензорни систем преноси и обрађује информације из екстерорецептора (осећаји из спољашње средине) и проприорецептора (осећај положаја тела). Рецептори соматског сензибилитета тела су механорецептори, терморецептори и ноцицептори. На основу рецептора се разликују механорецептивни осећаји, терморецептивни осећаји и осећај бола. Механорецептивни осећај може бити: осећај додира, осећај притиска и осећај вибрација.

За све ове модалитете рецептори су слободни или учаурени завршеци сензитивног неурона који представљају неуроне I реда. Неурони I реда у кичменој мождини остварују синапсе са неуронима II реда чији аксони формирају усходни пут до таламуса који представља главни релеј сензорних путева. Таламус је структура у којој се остварује синапса неурона II реда са неуронима III реда. Из таламуса неурони III реда одлазе у одређену зону сензорне коре великог мозга. Неурони I реда се означавају као сензитивни, а неурони II и III реда као централни неурони. У неким

усходним путевима може да постоји и више од наведена три неурона. Сваки сензорни неурон, као и централни неурони имају своје рецепторно поље.

У кожи су присутни следећи рецептори:

- ✓ механорецептори: Меркелове плоче, Пачинијева телашца, Руфинијеви завршеци, нервни завршеци око фоликула длака, Мајснерова телашца,
- ✓ терморецептори - слободни нервни завршеци и
- ✓ ноцицептори - слободни нервни завршеци.

Део коже у коме се налазе завршеци једног сензитивног неурона, који се одговарајућим стимулусом могу активирати, чини његово рецепторно поље. Централни неурони имају веће и сложеније рецепторно поље. Ово је последица тога што на њих конвергира одређен број неурона нижег реда.

Између сензорних и централних неурона се могу укључити и интернеурони. Ови интернеурони омогућавају постојање екситаторне и инхибиторне регије на рецепторном пољу неурона вишег реда. Постојање ових регија омогућава боље просторно раздвајање (резолуцију), односно повећава контраст између појединих стимулуса. Информације из механорецептора преносе се мијелизираним нервним влакнима (брже), а могу и немијелизираним нервним влакнима (спорије).

Сви сензитивни путеви, изузев чула мириса, пролазе кроз једра таламуса на путу за кору великог мозга. Поред коре великог мозга таламус је повезан и са многим другим структурама у централном нервном систему (мали мозак, базалне ганглије, хипоталамус итд.). Сваки рецептор има своју пројекцију у таламусу, а затим и у сензитивној кори великог мозга. Пројекциони делови кортекса су означени као примарна сензитивна поља или зоне. Кортикална пројекција појединих делова тела зависи од густине рецептора у кожи на појединим деловима тела. Величина кортикалних пријемних подручја за импулсе из појединих делова тела је директно сразмерна броју рецептора у тим деловима. Подручја у сензитивној кори великог мозга за осећаје из трупа и леђа су мала, док се врло велика поља односе на импулсе који долазе са екстремитета и главе. Обе стране сензитивне коре великог мозга примају информације искључиво са супротне стране тела (изузетак је глава).

За разлику од примарних соматских сензитивних зона које су уско ограничене на одређено рецептивно поље, неке зоне реагују на дражење већих површина тела. Оне нису оштро ограничене и означавају се као секундарне соматске сензитивне зоне. За разлику од примарних, примају сигнале са обе стране тела.

12.1 Праг за две тачке

Праг за две тачке је минимална удаљеност која мора постојати између места два додир да би се осетили као раздвојени. Коришћењем овог теста могуће је оквирно одредити колика је густина рецептора за додир на одређеном делу тела.

Величина прага за две тачке зависи од:

- ✓ густине рецептора,

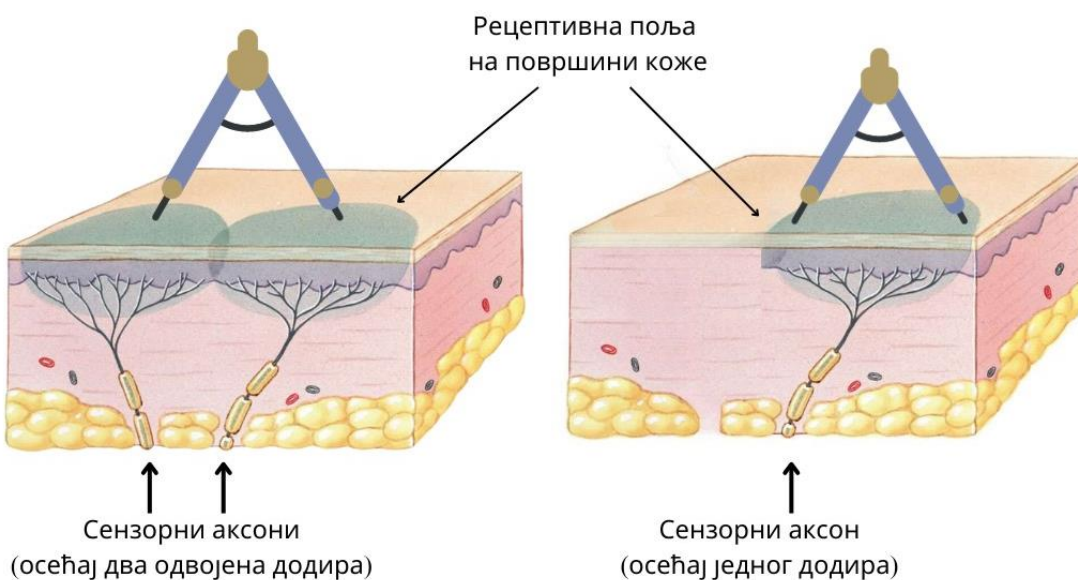
- ✓ величине рецепторског поља неурона,
- ✓ постојања инхибиторне компоненте централног неурона,
- ✓ самог надражаја (додира и постојања додатног стимулуса),
- ✓ узраста (са старошћу се смањује број рецептора) и
- ✓ пола (код женских јединки је праг мањи).

ЗАДАТАК: Извршити мерење прага за две тачке без утицаја и са утицајем додатног стимулуса.

МАТЕРИЈАЛ: Шестар (са две игле), лењир, цимет, лед.

ИЗВОЂЕЊЕ: Извршити прво мерење прага за две тачке без утицаја додатног стимулуса. Вежба се ради на студенту – субјекту, а потребно је да студент - субјекат жмури током тестирања. Експеримент се врши на различитим деловима тела: чело, образ, врат, подлактица, длан, врх палца и врх кажипрста. Циљ је упоредити њихову међусобну осетљивост која је последица различите густине сензорних рецептора у кожи и веза које сензорни неурони праве у мозгу.

Први размак између врхова шестара који експериментатор примењује на студента-субјекта је 50mm (оба врха шестара треба да дотакну кожу у истом моменту). Уколико студент-субјекат осети две тачке (слика 12.1 лево), потребно је приближити врхове шестара на 45mm, и тако се редом размак између врхова шестара смањује за по 5mm, док се не достигне најмањи размак при коме се осети додир у две тачке.



Слика 12.1 Осећај две тачке

Када субјект први пут осети додир у једној тачки (слика 12.1 десно), потребно је размицати врхове шестара за по 1mm док се не достигне осећај додира у две тачке.

Измерену вредност прага за две тачке је потребно уписати у табелу 12.1.

Затим одредити утицај додатног стимулуса на праг за две тачке. Измерити праг за две тачке на појединачним деловима тела (чело, образ, врат, подлактица, длан, врх палца и врх кажипрста), док је субјекат изложен јаком мирису (цимет). Измерене податке забележити и упоредити их са вредностима добијеним у претходном делу задатка.

Након тога, ледом третирати кожу на појединачним деловима тела (у трајању до 10 секунди). Затим поново измерити праг за две тачке на свим наведеним деловима тела.

Забележити добијене вредности у табелу 12.1 и упоредити их са вредностима добијеним у претходном делу задатка.

ПРОСТОР ЗА РАД:

ЗАПАЖАЊА:

Табела 12.1: Мерење прага за два надражаја*

Део тела који се тестира	Вредности прага за две тачке у mm		
	Без третмана	Третман са ледом	Третман са циметом
Чело			
Образ			
Врат			
Подлактица			
Длан			
Врх кажипрста			
Врх палца			

*У табелу унети средње вредности прага за две тачке (средња вредност се израчунава из појединачних вредности које су добијене уколико је експеримент урађен на више субјеката).

ЗАКЉУЧАК:

12.2 Осетљивост на различите структуре

ЗАДАТАК: Испитати осетљивост чула додира на текстуру материјала.

МАТЕРИЈАЛ: Шмиргла папир различите грубости (десет различитих врста).

ИЗВОЂЕЊЕ: Вежба се ради на студенту – субјекту, а потребно је да студент – субјекат жмури током тестирања. Испред субјекта се поставља десет врста шмиргла папира различите грубости, које је експериментатор предходно измешао. Студент – субјекат затворених очију треба да испита шмиргла папир најпре врхом кажипрста, затим дланом па лактом и затим их поређа по степену храпавости (од најмање храпавог до највише храпавог).

Израчунати степен (проценат) тачности поређаног низа шмиргла папира за сваки појединачни део тела и податке унети у табелу 12.2. Прокоментарисати добијене резултате.

ПРОСТОР ЗА РАД:

Табела 12.2: Осетљивост на различите структуре

Део тела који се тестира	% тачности
Врх кажипрста	
Длан	
Лакат	

ЗАПАЖАЊА И ЗАКЉУЧАК:

12.3 Меморија и осећај додира

ЗАДАТАК: Одредити способност меморисања места додира на различитим деловима тела.

МАТЕРИЈАЛ: Два маркера различите боје, шестар (са две игле), лењир.

ИЗВОЂЕЊЕ: Вежба се ради на студенту – субјекту, а потребно је да студент – субјекат жмури током тестирања. Овај експеримент се ради на следећим деловима тела: длан, врх кажипрста и подлактица. Експериментатор дотакне маркером одређене боје студента - субјекта који након тога покуша да другим маркером дотакне себе на то исто место. Затим измерити размак између ове две тачке (помоћу шестара) и унесите податке у табелу 12.3 и прокоментаришите добијене вредности.

Табела 12.3: Меморија осећаја додира

Део тела који се тестира	Растојање између две тачке (mm)
Врх кажипрста	
Длан	
Подлактица	

ЗАПАЖАЊА И ЗАКЉУЧАК:

Литература

1. Барак О.: Практикум из физиологије. Медицински факултет Нови Сад, Србија, 2020.
2. Branstorm M.J.: Interactive Physiology: cardiovascular system. A.D.A.M. software, Inc. and Benjamin/Cummings Publishing, 1996.
3. Branstorm M.J.: Interactive Physiology: muscular system. A.D.A.M. software, Inc. and Benjamin/Cummings Publishing, 1996.
4. Branstorm M.J.: Interactive Physiology: respiratory system. A.D.A.M. software, Inc. and Benjamin/Cummings Publishing, 1996.
5. Cunningham J.G.: Textbook of Veterinary Physiology. Third Edition. W.B. Saunders Company, USA, 2002.
6. Ђуричић И.: Физиолошки практикум. 5. издање. Научна књига Београд, Србија, 1978.
7. Experimental Physiology. Natural Sciences Tripos and Medical and Veterinary Sciences Tripos, University of Cambridge, UK, 1997.
8. Guyton A.C., Hall J.E.: Medicinska fiziologija (prevod). 11. издање. Савремена администрација, Србија, 2011.
9. Јоксимовић-Тодоровић М., Божић А.: Практикум из физиологије домаћих животиња. Пољопривредни факултет Земун и Пољопривредни факултет Нови Сад, Београд – Нови Сад, Србија, 2002.
10. Каначки З.: Практикум из физиологије 1. Пољопривредни факултет Нови Сад, Србија, 2014.
11. Каначки З.: Практикум из физиологије 2. Пољопривредни факултет Нови Сад, Србија, 2015.
12. Крнић Ј., Хоџић А.: Основи примењене физиологије у ветеринарској медицини. Ветеринарски факултет Сарајево, Сарајево, БиХ, 2008.
13. Rebar A.H., MacWilliams P.S., Feldman B.F., Metzger F.L., Pollock R.V.H., Roche J.: IDEXX Laboratories Guide to Hematology in Dogs and Cats. Teton NewMedia, USA, 2002.
14. Reece W.O.: Physiology of Domestic Animals. Lea & Febiger Ltd, USA and UK, 1991.
15. Савић В., Стојић В.: Практикум из физиологије. ИТП Научна д.о.о., Београд, Србија, 1999.
16. Sjaastad Q.V., Hove K., Sand O.: Physiology of Domestic Animals. Scandinavian Veterinary Press, Norway, 2003.
17. Стојић В.: Ветеринарска физиологија. 5. измењено и допуњено издање. Научна КМД Београд, Србија, 2010.
18. Swenson M.J.: Dukes Physiology of Domestic animals, Tenth Edition. Cornell University Press, USA, 1984.

Евиденција о активностима студента на вежбама

Име и презиме: _____

Број индекса: _____

Редни бр.	Назив вежбе	Датум	Потпис
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			
13.			
14.			
15.			
16.			
17.			
18.			
19.			
20.			
21.			
22.			
23.			
24.			
25.			
26.			
27.			

О ауторима

Др Зоран Ружић рођен је 27.02.1991. године у Зрењанину. Основну школу је завршио као носилац Вукове дипломе у Равном Тополовцу 2006. године. Након основне школе завршио је средњу Медицинску школу у Зрењанину 2010. године. Уписао је затим Пољопривредни факултет у Новом Саду, смер Ветеринарска медицина. Интегрисане академске студије Ветеринарске медицине завршио је 2015. Године са просечном оценом 9,33 као први у својој генерацији. 2015. године уписао је докторске студије Ветеринарске медицине на Пољопривредном факултету у Новом Саду. Од прве године докторских студија стипендиста је Министарства просвете, науке и технолошког развоја за развој научно-истраживачких кадрова све до момента запослења. Од 2018. године запослене је на Пољопривредном факултету у Новом Саду на Департману за ветеринарску медицину у својству асистента за ужу научну област Анатомија, хистологија и физиологија животиња. У звање доцента изабран је 2021. године. У својству доцента ангажован је на студијским смеровима: Ветеринарска медицина, Анимална производња и Органска пољопривреда. Аутор је већег броја радова домаћег и међународног карактера. Као истраживач учествовао је у реализацији једног научног пројекта републичког карактера.

Др Зденко Каначки рођен је 15. августа 1977. године у Панчеву, где је завршио основну школу и гимназију. Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду уписао је 1996. године, а дипломирао 2002. године са просеком 9,70 и проглашен за најбољег студента генерације. Последипломске, магистарске студије уписао је на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду 2002. године, а магистарску тезу одбранио је 2006. године. Докторску дисертацију одбранио је 2011. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду. Као студент постдипломац и стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије укључен је у наставни процес и научно-истраживачки рад на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду. Од 2004. године запослен је на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду, на Департману за ветеринарску медицину у звању асистента приправника. У звање асистента изабран је 2009. године, у звање доцента 2011. године, у звање ванредног професора 2016. године, а у звање редовног професора 2021. године за ужу научну област Анатомија, хистологија и физиологија животиња. До сада је објавио више од 100 научно-истраживачких радова, два уџбеника и два практикума. Као истраживач учествовао је у реализацији шест пројеката.

Кратки изводи из рецензија

Представљени практикум “Ветеринарска физиологија 1 и 2 – практикум” написан је изузетно једноставним стилем изражавања чињеница и законитости које постоје у науци, што је одраз великог труда и дидактичко-методичких вештина аутора. Текст је концизан и лако разумљив а у исто време и садржи све податке који су неопходни да се практична вежба у оквиру наставне јединице студентима најбоље објасни. Зато сам сигурна да ће овај рукопис својим квалитетом пронаћи пут до свих департмана и факултета где се изучавају анимална и хумана физиологија.

Практичне вежбе које су укључене у овај практикум су изузетно корисне за студенте ветеринарске медицине. Оне пружају прилику студентима да примене теоријско знање у пракси кроз различите лабораторијске вежбе и задатке. Ово је посебно важно јер студентима омогућава да развију вештине које су кључне за њихову будућу праксу.

Предност практикума “Ветеринарска физиологија 1 и 2 – практикум” је то што прати трендове модерних писања и концепта израде практикума јер има све што је потребно студенту за успешно урађене вежбе на једном месту. Кад то кажем мислим да текст практикума садржи теоријска знања потребна за разумевање циља и задатка наставне јединице представљене вежбом, прецизна упутства са детаљним описом за практично извођење вежбе, простор за рад и унос резултата, модела, шема и цртежа неопходних за извођење закључака са вежбе, као и литературе која омогућава упориште у све речено и представљено у практикуму.

Један од главних квалитета овог практикума је његова јасноћа. Аутори су успели да сложене концепте представе на разумљив начин, користећи се једноставним језиком и сликама које додатно појашњавају градиво. Речено је доказ великог искуства у наставничком послу аутора на чему им искрено честитам, јер најквалитетнији уџбеници су дестилати вишегодишњих часова предавања и вежби.

Проф. др Смиљана Параш

Рукопис је заснован на савременим научним и стручним достигнућима из области ветеринарске физиологије. Једна од главних предности овог практикума је његова добро организована структура. Свака тема је пажљиво разрађена и пружа детаљно објашњење физиолошких процеса код различитих врста животиња. Поред тога, садржај практикума је богат сликама и табелама које додатно олакшавају разумевање градива.

Проф. др Марко Цинцовић

„Ветеринарска физиологија 1 и 2 – практикум” је свеобухватан и интерактиван ресурс који пружа студентима ветеринарске медицине неопходне алате за ефикасно учење физиолошких процеса код животиња. Овај практикум комбинује теоријско знање са практичним вежбама, како би студентима омогућио да дубље разумеју и примене концепте. Овај практикум нуди широк спектар практичних вежби и активности које помажу студентима да примене своје знање у пракси. Вежбе обухватају велики број задатака - лабораторијских експеримената. Ово омогућава студентима да стекну драгоцену искуство и вештине које ће им бити од користи у њиховој будућој каријери.

Проф. др Слободан Стојановић

ISBN: 978-86-7520-612-5

