

Министерство науки и высшего образования Р Ф
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«УЛЬЯНОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Медицинский факультет
Кафедра Физиологии и патофизиологии

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ
ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ ДЛЯ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО
ФАКУЛЬТЕТА (СПЕЦИАЛЬНОСТЬ 31.05.02 «ПЕДИАТРИЯ») ПО
ДИСЦИПЛИНЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ
ПАТОФИЗИОЛОГИЯ**

**Часть 1
ОБЩАЯ ПАТОФИЗИОЛОГИЯ**

Методическое пособие

Ульяновск, 2019

ББК 52.52
А18

*Печатается по решению Ученого совета
Института Медицины Экологии и Физической Культуры
Ульяновского государственного университета*

Разработчики - к.м.н., доцент М.Н.Авакова, к.б.н., доцент Д.А.Ксейко.

Рецензент - д.м.н., профессор, зав.кафедрой морфологии УлГУ
Е.В.Слесарева

Методическое пособие для выполнения практических работ для студентов медицинского факультета (специальность «Педиатрия») по дисциплине патофизиология, клиническая патофизиология Часть 1 Общая патофизиология. – Ульяновск, УлГУ, 2019. 40 с.

Методическое пособие подготовлено в соответствии с требованиями рабочей программы и содержит методические указания по основным разделам учебной дисциплины «Патофизиология, клиническая патофизиология» согласно действующему учебному плану. Методическое пособие предназначено для студентов медицинского факультета, обучающихся по специальности 31.05.02 «Педиатрия».

©.2019
О г л а в л е н и е

	Тема занятия	Стр.
1.	Предмет и задачи патофизиологии. Общая нозология.	4
2.	Болезнетворное действие факторов внешней среды.	4
3.	Повреждение клетки.	6
4.	Реактивность и резистентность организма, их роль в патологии.	8
5.	Нарушения микроциркуляции.	12
6.	Нарушения периферического кровообращения.	14
7.	Патофизиология кислотно-основного состояния (КОС). Патогенез основных синдромов при ацидозах и алкалозах.	17
8.	Патофизиология водно-электролитного обмена. Патогенез основных синдромов при патологии водно-электролитного обмена.	19
9.	Воспаление.	21
10.	Воспаление.	23
11.	Ответ острой фазы. Лихорадка. Гипертермия.	26
12.	Гипоксия.	28
13.	Нарушения углеводного обмена.	31
14.	Патофизиология иммунной системы. Аллергия. Аутоаллергия	33
15.	Патофизиология иммунной системы. Аллергия. Аутоаллергия	35
16.	Патофизиология опухолевого роста.	37
17.	Список рекомендуемой литературы	39

З а н я т и е № 1

Тема. Введение. Предмет и задачи патофизиологии. Общая нозология.

Цель занятия. Определить место патофизиологии и клинической патофизиологии в системе высшего медицинского образования.

Работа № 1. Работа с экспериментальными животными (приобретение практических навыков фиксации, наркотизации, инъекций и т.д.).

Материальное оснащение:

1. Дощечка для фиксации мыши	-	2 шт.
2. Завязки для фиксации животных	-	8 шт.
3. Шприц на 2 мл.	-	2 шт.
4. Шприц на 5 мл.	-	2 шт.
5. Анатомический пинцет	-	2 шт.
6. Препаровальная игла	-	2 шт.
7. Корнцанг	-	2 шт.
8. Марлевые салфетки		
9. Ватные тампоны		
10. Гексинал 1 % раствор	-	3 мл.
11. Эфир этиловый	-	1 фл.
12. Раствор хлористого натрия 0,85 %	-	50 мл.
13. Раствор хлористого натрия 0,65 %	-	50 мл.
14. Эксикатор	-	1 шт.
15. Животные: лягушка,	-	2 шт.
мышь,	-	2 шт.
крыса .	-	2 шт.

Методика проведения опыта:

Методика проведения манипуляций излагается на занятии.

З а н я т и е № 2

Тема. Болезнетворное действие факторов внешней среды.

Цель занятия. Изучить роль причин и условий в возникновении болезней. Получить экспериментальные доказательства болезнетворного действия на организм ускорений и перегрузок.

Работа № 1. Развитие кинетоза у мышей при действии радиального ускорения.

Материальное оснащение:

1. Центрифуга ручная с пеналами для вращения мелких лабораторных животных - 1 шт.
2. Животные: белая мышь - 2 шт.

Методика проведения опыта:

У мышей до начала эксперимента определяют позу, двигательную активность и характер походки. Затем их помещают в пеналы центрифуги и вращают в течение 20 – 30 секунд. Тотчас после окончания вращения животных вынимают и наблюдают за их поведением. При этом подопытные мыши совершают маневренные движения по направлению вращения центрифуги вследствие резкого повышения тонуса мышц конечностей на стороне раздражения вестибулярного аппарата.

Работа № 2. Изменение вестибулярной функции при ротационной пробе.

Материальное оснащение

1. Кресло Барани - 1 шт.
2. Аппарат для измерения артериального давления - 1 шт.

Методика проведения опыта

У испытуемого в исходном состоянии подсчитывают пульс, измеряют артериальное давление. Проводят с закрытыми глазами пальце-носовую и динамическую пробу (с закрытыми глазами испытуемый проходит по прямой линии). Затем испытуемого с закрытыми глазами вращают слева направо, делая примерно 10 оборотов за 20 сек; в момент прекращения вращения включают секундомер. Испытуемый открывает глаза и фиксирует взгляд на какую-либо точку. В норме при этом появляется горизонтальный нистагм продолжительностью около 0,5 минут. Измеряют артериальное давление и подсчитывают число сердечных сокращений. В последующем испытуемый вновь закрывает глаза и его вращают справа налево. В результате наблюдается горизонтальный нистагм вправо. Проводят пальце-носовую и динамическую пробы.

Полученные результаты заносят в таблицу и анализируют механизмы развития основных симптомов кинетоза.

Таблица.

№ п/п	Условия	Исходные данные	после вращения
	Показатели		
1.	Артериальное давление		
2.	Частота пульса в 1 мин.		
3.	Нистагм		
4.	Статическая проба		
5.	Динамическая проба		

З а н я т и е № 3

Тема. Повреждение клетки.

Цель занятия. Изучить причины, общие механизмы развития повреждения клеток; механизмы защиты и адаптации клеток при действии повреждающих факторов.

Работа № 1. Изучение изменения специфической двигательной функции ресничек мерцательного эпителия при альтерации слизистой полости рта лягушки.

Материальное оснащение.

1. Дощечка для фиксации	-	2 шт.
2. Препаровальная игла	-	2 шт.
3. Ножницы	-	2 шт.
4. Раствор соляной кислоты 1 %	-	10 мл.
5. Глазная пипетка	-	2 шт.
6. Шелковая нить	-	20 см.
7. Тампоны ватные		
8. Салфетки марлевые		
9. Животные: лягушка	-	2 шт.

Методика проведения опыта.

Лягушку обездвигить разрушением спинного мозга, отрезать нижнюю челюсть и фиксировать животное на препаровальном столике брюш-

ком вверх. На слизистую неба поместить несколько волокон шелковой нити длиной примерно 1 мм и в течение 3 – 5 мин наблюдать за их перемещением к пищеводу. Затем слизистую неба обработать в течение нескольких минут 1 % раствором соляной кислоты и вновь поместить волокна шелковой нити. Убедиться в том, что после альтерации слизистой перемещение волокон прекращается в результате угнетения ресничек.

Работа № 2. Изучение реакции тучных клеток на повреждение.

Материальное оснащение.

1. Шприц на 5 мл	-	1 шт.
2. Ножницы глазные	-	1 шт.
3. Пинцет анатомический	-	2 шт.
4. Корнцанг	-	2 шт.
5. Пипетка Пастеровская	-	2 шт.
6. Стекло предметное	-	8 шт.
7. Подставка для высушивания мазков	-	2 шт.
8. Микроскоп	-	10 шт.
1. Тампоны ватные		
2. Салфетки марлевые		
11. Раствор для смыва тучных клеток с серозных оболочек: раствор хлористого натрия 0,7 % и 1,5 % раствор лимоннокислого натрия	-	100 мл.
	-	20 мл.
12. Раствор для фиксации мазков: смесь спирта этилового 96 % и эфира в пропорции 1 : 1	-	50 мл.
13. Краска Романовского-Гимза	-	50 мл.
14. Иммерсионное масло	-	1 фл.
15. Раствор соляной кислоты 1 %	-	30 мл.
16. Раствор хлористого натрия 0,85 %	-	50 мл.
17. Животные: крыса	-	1 шт.

Методика проведения опыта

Крысе ввести внутримышечно кортизон в дозе 5 мг/100 г веса с целью увеличения числа тучных клеток в перитонеальной жидкости. Через сутки крысе в брюшную полость ввести подогретую до 37° С смесь 0,7 % раствора поваренной соли и 1,5 % раствора лимоннокислого натрия для смыва тучных клеток с серозных оболочек. Спустя 3 мин животное наркотизировать эфиром, вскрыть брюшную полость, пастеровской пипеткой набрать жидкость и перенести ее по капле на два предметных стекла. К капле перитонеальной жидкости добавить 1 каплю 1 % раствора соляной кислоты (опыт), а к другой – каплю физиологического раствора (контроль). Через 30 сек из капель сделать мазки, высушить, фиксировать в смеси

Частота дыхания в 1 мин								
Глубина дыхания в баллах*								
Двигательная активность в баллах**								
Наличие акроцианоза (+; -)								
Прочие признаки								

Примечание: * 1 балл – поверхностное дыхание
 2 балла – дыхание средней амплитуды
 3 балла – глубокое дыхание.

** 1 балл – двигательная активность снижена (животное заторможено);
 2 балла – двигательная активность в норме;
 3 балла – двигательная активность повышена (животное возбуждено).

Построить график, характеризующий изменение частоты дыхания в динамике гипоксической гипоксии. Определить сроки появления стадий компенсации и декомпенсации при изучаемой патологии.

Работа № 2. Изменение реактивности организма в условиях высокой температуры окружающей среды.

Материальное оснащение.

- | | | |
|--|---|--------|
| 1. Широкогорлая коническая колба на 100 мл с плотно пригнанной резиновой пробкой | - | 1 шт. |
| 2. Парафин расплавленный, в ванночке | - | 50 мл. |
| 3. Эксикатор | - | 1 шт. |
| 4. Вода теплая (45 – 50 ⁰ C) | | |
| 5. Термометр химический | - | 1 шт. |
| 6. Животные: белая мышь | - | 1 шт. |

Методика проведения опыта.

У животного в исходном состоянии оценивают двигательную активность, определяют частоту и глубину дыхания. Затем мышь помещают в колбу, которую герметически закрывают пробкой. Колбу ставят в эксикатор с теплой водой. Дальнейший ход эксперимента аналогичен вышеописанному. Полученные результаты занести в таблицу (см. выше) и сопоставить с опытом № 1.

Работа № 3. Изменение реактивности организма путем воздействия на центральную нервную систему.

Материальное оснащение:

1. Широкогорлая коническая колба на 100 мл с плотно пригнанной резиновой пробкой	-	1 шт.
2. Парафин расплавленный, в ванночке	-	50 мл.
3. Эксикатор с холодной водой	-	1 шт.
4. Тазик со льдом	-	1 шт.
5. Термометр химический	-	1 шт.
6. Шприц на 1 мл	-	1 шт.
7. 1 % раствор гексенала	-	5 мл.
8. Животные: белая мышь	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

Мышь наркотизируют подкожным введением 1 % раствора гексенала из расчета 0,1 мл на 10 г массы животного. После оценки двигательной активности, определения частоты и глубины дыхания в исходном состоянии мышь помещают в колбу, которую герметически закрывают пробкой. Колбу ставят в эксикатор с холодной водой ($t = 0 - 2^{\circ} \text{C}$). Последующий ход опыта аналогичен предыдущим. Результаты исследования занести в таблицу (см. выше) и сопоставить с результатами опыта № 1.

Эксперимент показывает закономерность изменения реактивности организма в условиях наркоза и гипотермии.

Работа № 4. Изменение реактивности организма в условиях чрезмерной физической нагрузки.

Материальное оснащение

1. Широкогорлая коническая колба на 100 мл с плотно пригнанной резиновой пробкой	-	1 шт.
2. Парафин расплавленный, в ванночке	-	50 мл.
3. Эксикатор с теплой (38°C) водой	-	1 шт.

- | | | |
|-------------------------|---|-------|
| 4. Термометр химический | - | 1 шт. |
| 5. Животные: белая мышь | - | 1 шт. |

Методика проведения опыта.

Мышь предварительно заставляют плавать около 5 мин в эксикаторе с теплой водой. После этого оценивают двигательную активность, измеряют частоту и глубину дыхания (исходные показатели). Затем животное помещают в колбу, которую герметически закрывают пробкой. Последующий ход опыта аналогичен предыдущим. Результаты исследования занести в таблицу (см. выше) и сопоставить с опытом № 1.

Опыт демонстрирует характер изменения компенсаторно-приспособительных процессов в условиях чрезмерного физического напряжения.

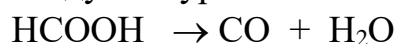
Работа № 5. Чувствительность различных видов животных к гипоксии вызванной действием угарного газа.

Материальное оснащение

- | | | |
|--|---|--------|
| 1. Установка для получения угарного газа | - | 1 шт. |
| 2. Пинцет анатомический | - | 1 шт. |
| 3. Спиртовка | - | 1 шт. |
| 4. Серная кислота (концентрированная) | - | 20 мл. |
| 5. Муравьиная кислота | - | 20 мл. |
| 6. Животные: белая мышь, | - | 1 шт. |
| лягушка | - | 1 шт. |

Методика проведения опыта.

Лягушку и белую мышь помещают в герметически закрытую колбу, в которую порциями вводится угарный газ. Угарный газ (СО) получают, прибавляя муравьиную кислоту к нагретой серной кислоте. Последняя отнимает воду от муравьиной кислоты, выделяя оксид углерода:



Наблюдают за поведением животных Эксперимент демонстрирует видовую реактивность животных на действие гипоксии.

При обсуждении результатов, полученных в опытах №№ 2 – 5 обратить внимание на выраженность и сроки проявления компенсаторных реакций при гипоксической гипоксии на фоне действия изученных экстремальных факторов.

Оформить обсуждения и выводы к выполненным работам.

З а н я т и е № 5

Тема. Нарушение микроциркуляции.

Цель занятия. Изучить причины и механизмы нарушения кровотока в сосудах микроциркуляторного русла и их роль в развитии патологии.

Работа № 1. Изменения микроциркуляции в сосудах брыжейки тонкого кишечника лягушки при перевязке приносящей артерии.

Материальное оснащение

1. Фиксирующая дощечка с боковым отверстием	-	1 шт.
2. Булавки	-	10 шт.
3. Препаровальная игла	-	1 шт.
4. Пинцет глазной	-	2 шт.
5. Ножницы глазные	-	1 шт.
6. Хирургическая круглая игла	-	1 шт.
7. Иглодержатель	-	1 шт.
8. Лигатура	-	10 шт.
9. Ватные тампоны		
10. Микроскоп	-	1 шт.
11. Раствор хлорида натрия 0,65 % (во флаконе с пипеткой)	-	30 мл.
12. Животные: лягушка	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

Лягушку обездвигивают разрушением спинного мозга. Для этого завернутую в марлевую салфетку животное берут в левую руку. Указательным пальцем той же руки голову слегка пригибают кпереди. В результате на черепной покрывке появляется небольшое углубление, куда вращательным движением вставляют препаровальную иглу и продвигают в спинномозговой канал лягушки. Эффективность разрушения спинного мозга оценивают по наличию паралича конечностей.

Обездвиженную лягушку помещают на фиксирующую дощечку спиной вверх так, чтобы правый край живота прилегал к круглому отверстию. Боковым продольным разрезом вскрывают брюшную полость, извлекают петли тонкого кишечника осторожно растягивают брыжейку над отверстием и закрепляют ее булавками.

Препарат брыжейки рассматривают под малым увеличением микроскопа (окуляр – 15^x , объектив – 8^x). Для изучения выбирают артериолы, капилляры и вены. Сосуды в поле зрения не должны быть толстостенными; в них необходимо четко различать два слоя: центральный, в кото-

ром движутся форменные элементы и периферический (плазменный), свободный от клеток крови.

Затем с помощью хирургической иглы прокалывают брыжейку, берут на лигатуру крупную приносящую артерию и перевязывают. Для предотвращения подсыхания, во время опыта брыжейку обильно орошают физиологическим раствором (примерно 1 раз в 2 мин).

Работа № 2. Влияние острой кровопотери на микроциркуляцию в сосудах брыжейки тонкого кишечника лягушки.

Материальное оснащение

1. См. в работе № 1

Методика проведения опыта.

У спинальной лягушки указанным выше способом готовят препарат брыжейки тонкого кишечника. Под малым увеличением микроскопа (окуляр – 15^x, объектив -8^x) изучают картину нормального кровотока во всех микрососудах, попавших в поле зрения. После этого ножницами перерезают артерию бедра лягушки.

Во всех опытах оценивают изменения просвета сосудов микрогемодинамического русла, особое внимание обращают на изменение характера кровотока в функциональных капиллярах. При этом регистрируют отдельные стадии нарушения микрогемодинамики: замедление кровотока, маятникообразное движение эритроцитов и стаз. Наблюдают наличие краевого стояния форменных элементов крови, агрегацию эритроцитов и микротромбообразование. Полученные данные зарисовывают при оформлении протоколов, обсуждают возможные механизмы развития обнаруженных фаз нарушений микрогемодинамики. По результатам исследования делают соответствующие выводы.

З а н я т и е № 6

Тема. Нарушения периферического кровообращения.

Цель занятия. Изучить причины, механизм развития, клинические проявления нарушений периферического кровообращения и их роль в развитии патологии.

Работа № 1. Артериальная гиперемия уха морской свинки

Материальное оснащение:

- | | | |
|---|---|--------|
| 1. Пробирка с теплой водой (45 – 50 °С) | - | 1 шт. |
| 2. Ватные тампоны | | |
| 3. Этиловый эфир | - | 50 мл. |
| 4. Животные: морская свинка | - | 3 шт. |

Методика проведения опыта:

Эксперимент ставят на трех морских свинках. К уху одной из них прикладывают пробирку с холодной водой, к уху другой прикладывают пробирку с теплой водой. Затем уши подопытных животных визуальным образом сравнивают с ушами третьей (контрольной) свинки.

В протоколе опыта описывают характер сосудистого рисунка (изменение диаметра и конфигурации артериол и венул, а также плотность капиллярной сети), температуру, наличие пульсаций и др.

Работа № 2. Демонстрация феномена «ноу- рефлюу».

Материальное оснащение

- | | | |
|--|---|-------|
| 1. Шприц на 2 мл. | - | 2 шт. |
| 2. Пинцет глазной | - | 2 шт. |
| 3. Ножницы глазные | - | 1 шт. |
| 4. Лупа исследовательская (8 ^x) | - | 2 шт. |
| 5. 1 % раствор гексенала | - | 5 мл. |
| 6. Очищенная черная тушь (частицы черной туши осаждают путем центрифугирования при 300 об/мин в течение 15 мин.) | - | 5 мл. |
| 7. Животные: белая крыса | - | 2 шт. |

Методика проведения опыта:

Эксперимент проводят на двух крысах, которых наркотизируют внутрибрюшинным введением 1 % раствора гексенала из расчета 30 мл на 1 кг массы животного.

Одной из них (контрольная крыса) после вскрытия грудной клетки в левый желудочек с помощью тонкой иглы вводят 1,5 – 2 мл черной туши. Полноту заполнения сосудов индикатором контролируют по почернению языка и конъюнктивы глаза. После остановки кровотока и гибели животного вскрывают брюшную полость, извлекают почку, печень и селезенку. Поверхность органов рассматривают под лупой. В протоколе опытов отмечают равномерность распределения туши в соответствующих сосудах.

У другой (опытной) крысы осуществляют дозированное кровопускание путем перерезки с последующим пережатием поврежденного участка бедренной артерии в проксимальном отделе. Техника постановки опыта аналогична предыдущей, определяют форму и размеры очагов авскульции (белые пятна на черном фоне сосудистого рисунка) – феномен «ноу-рефлю». При обсуждении результатов каждого опыта выясняют возможные механизмы нарушения локального кровообращения в тканях, делают выводы.

Работа № 3. Жировая эмболия микрогемодициркуляторного русла брыжейки тонкого кишечника лягушки.

Материальное оснащение

1. Фиксирующая дощечка с боковым отверстием	-	1 шт.
2. Булавки	-	10 шт.
3. Препаровальная игла	-	1 шт.
4. Пинцет анатомический	-	1 шт.
5. Пинцет глазной	-	2 шт.
6. Ножницы глазные	-	1 шт.
7. Шприц на 1 мл	-	1 шт.
8. Ватные тампоны		
9. Микроскоп	-	1 шт.
10. Раствор хлорида натрия 0,65 % (во флаконе с пипеткой)	-	30 мл.
11. Вазелиновое масло	-	2 мг.
12. Животные: лягушка	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

После разрушения спинного мозга обездвиженную лягушку помещают на фиксирующую дощечку брюшком вверх. Иссечением грудины и мягких тканей обнажают сердце и в полость желудочка вводят 0,2 мл слегка подогретого вазелинового масла.

Затем лягушку переворачивают на дощечке спинкой вверх и готовят препарат брыжейки тонкого кишечника (см. работу № 1 занятия 4).

Под малым увеличением микроскопа (окуляр – 15^x, объектив -8^x) наблюдают за появлением в просвете сосудов брыжейки эмболы, которые продвигаются по току крови и закупоривают сосуды. Детально характеризуют выявленные стадии нарушения микрогемодициркуляции в зоне эмболии и в перифокальных участках брыжейки.

Работа № 4. Закономерности изменений кровоснабжения тканей при эмболии.

Материальное оснащение.

1. Препаровальный парафиновый столик	- 1 шт.
2. Булавки	- 3 шт.
3. Шприц на 2 мл.	- 2 шт.
4. Пинцет глазной	- 2 шт.
5. Ножницы глазные	- 1 шт.
6. Лупа исследовательская (8 ^x)	- 2 шт.
7. 1 % раствор гексенала	- 5 мл.
8. Очищенная черная тушь (частицы черной туши осаждают путем центрифугирования при 300 об/мин в течение 15 мин.)	- 5 мл.
9. Вазелиновое масло	- 2 мг.
10. Животные: белая крыса	- 2 шт.

Методика проведения опыта.

Эксперимент проводят на двух наркотизированных гексеналом (30 мг/кг, внутривенно) крысах. Опытной крысе после вскрытия грудной клетки внутрисердечно (в левый желудочек) вводят 0,5 мл подогретого вазелинового масла. После этого сразу же вводят (с помощью той же иглы) очищенную черную тушь в количестве 1,5 – 2,0 мл. Полноту заполнения сосудов индикатором контролируют по почернению языка и конъюнктивы глаза. После гибели животного вскрывают брюшную полость; в почках печени и селезенки с помощью исследовательской лупы выявляют очаги аваскуляции. В протоколе опыта подробно описывают локализацию зон «ноу- рефлюу», их форму и величину.

Для контроля распределения туши в сосудах указанных органов оценивают у интактной крысы. Ход эксперимента (без введения вазелинового масла) аналогичен описанному выше.

В заключении обсуждаются возможные механизмы местного нарушения кровотока при эмболии. Делаются выводы по проделанной работе.

З а н я т и е № 7

Тема. Патопфизиология кислотно-основного состояния (КОС). Патогенез основных симптомов при ацидозах и алкалозах.

Цель занятия. Изучить причины развития, механизмы компенсации и значение для организма нарушений КОС.

Работа № 1. Нарушение кислотно-основного состояния при алоксановом диабете у крыс.

Материальное оснащение.

1. Градуированные пипетки на 2 мл, на 5 мл, на 10 мл	-	по 4 шт.
2. Колба (стакан) на 50 мл	-	4 шт.
3. Цилиндр мерный на 50 мл	-	2 шт.
4. Сыворотка контрольного и опытного животных	-	по 10 мл.
5. Вода дистиллированная	-	10 мл.
6. Спиртовый раствор диметиламиноазобензола 0,5 %	-	5 мл.
7. Раствор соляной кислоты 0,1 N	-	50 мл.
8. Раствор едкого натра 0,1 N	-	50 мл.
9. Моча контрольного и опытного животных	-	по 20 мл.
10. M/15 фосфатный буфер рН = 7,4 (80,8 мл р-ра двухзамещенного фосфата)	-	50 мл.
11. Индикатор фенолрот (100 мг фенолрота растворяют в 14,2 мл 0,02 N р-ра едкого натра и доводят дистиллированной водой до 250 мл)	-	10 мл.
12. Животные: крыса с аллоксановым диабетом,	-	1 шт.
крыса интактная	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

За 7 дней до эксперимента подопытной крысе вводят аллоксан из расчета 20 мг на 100 г массы животного (5 % раствор аллоксана в физиологическом растворе).

На занятии у подопытной и контрольной (интактной) крыс определяют буферную емкость плазмы крови и титрационную кислотность мочи.

Полученные показатели кислотно-щелочного равновесия сопоставляют, анализируют и делают соответствующие выводы.

А. Определение буферной емкости сыворотки крови при аллоксановом диабете

В одну колбочку набирают 5 мл дистиллированной воды, в другую 5 мл исследуемой сыворотки, разведенной в 5 раз. В обе колбочки добавляют по 2 капли индикатора – метилоранжа и титруют 0,1 N раствором соляной кислоты из бюретки до появления слабо-розового окрашивания. В две другие колбочки набирают такое же количество разведенной сыворотки и дистиллированной воды, прибавляют к ним по 2 капли индикатора-

фенолфталеина, титруют 0,1 N раствором NaOH из бюретки до появления слабо-розового окрашивания. Полученные результаты занести в таблицу.

Таблица.

Титруемые растворы	Кол-во мл 0,1N раствора NaOH, пошедшего на титрование	Кол-во мл 0,1N раствора HCl, пошедшего на титрование
Дистиллированная вода		
Сыворотка крови		

По данным отношения $\text{H}_2\text{CO}_3 / \text{NaHCO}_3$ вычислить щелочные резервы крови и оценить состояние кислотно-щелочного равновесия крови.

Б. Определение титрационной кислотности мочи

Мочу крысы собирают в отстойник за 24 часа. Измеряют диурез, затем 10 мл мочи переносят в мерный цилиндр (опытная проба). Исследуемую мочу разбавляют дистиллированной водой до исчезновения собственной окраски мочи. Отмечают объем воды, пошедшей на разбавление мочи. В другой мерный цилиндр наливают 10 мл фосфатного буфера $\text{pH} = 7,4$ (контрольная проба). Затем прибавляют такое же количество, как в опытной пробе, дистиллированной воды. В оба цилиндра добавляют по 2 мл индикатора фенолрота. Мочу титруют 0,1 N раствором едкого натра до тех пор, пока цвет жидкостей не выравняется.

В итоге, измеряют объем щелочи, пошедшей на титрование взятого для анализа образца мочи; полученную величину умножают на 10. Титрационную кислотность мочи при этом выражают в миллиэквивалентах на литр (мэкв/л). В окончательном виде данную величину умножают на суточное количество мочи, выраженное в литрах.

В норме титрационная кислотность мочи составляет 20–40 мэкв/сутки, что соответствует 200 – 400 мл 0,1 N р-ра NaOH, пошедшего на титрование суточного количества мочи до $\text{pH} = 7,4$.

Работа № 2. Решение ситуационных задач.

З а н я т и е № 8

Тема. Патофизиология водно-электролитного обмена. Патогенез основных синдромов при патологии водно-электролитного обмена.

Цель занятия. Изучить этиологию, механизм развития основных клинических синдромов при типовых нарушениях водно-электролитного обмена.

Работа № 1. Определение гидрофильности ткани по Мак-Клюру и Ольдричу.

Материальное оснащение

1. Ножницы для стрижки волос	-	1 шт.
2. Шприц на 1 мл	-	1 шт.
3. Раствор хлорида натрия 0,85 %	-	5 мл.
4. Животные: морская свинка	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

У морской свинки за 2 часа до начала эксперимента перевязывают одну из передних конечностей, что приводит к развитию локального отека. Для сравнения берут другую переднюю лапу (контрольную). На ограниченном участке обеих лап симметрично тщательно выстригают шерсть, а затем вводят внутрикожно по 0,2 мл физиологического раствора. Отмечают время появления волдыря («волдырное время») и длительность его рассасывания на опытной и контрольной конечностях.

В заключении проводят анализ полученных результатов и делают выводы.

Работа № 2. Качественный анализ содержания белка в выпотных жидкостях (проба Ривальта).

Материальное оснащение.

1. Цилиндр мерный на 100 мл	-	1 шт.
2. Пипетка глазная	-	3 шт.
3. Уксусная кислота ледяная	-	5 мл.
4. Вода дистиллированная	-	200 мл.
5. Транссудат (получен из брюшной полости у больного с асцитом)	-	5 мл.
6. Экссудат (взят из плевральной полости при плеврите)	-	5 мл.

Методика проведения опыта:

В цилиндр наливают 100 мл дистиллированной воды, подкисленной 3 – 5 каплями концентрированной уксусной кислоты. При добавлении в

раствор 1 – 2 капли экссудата образуется белое облачко, которое опускается до дна цилиндра («дым от папирозы»). Транссудат дает отрицательную пробу Ривальта или образует значительно более слабую полоску, которая спустя 2 – 3 мин исчезает.

Пробу используют для отличия транссудата от экссудата. Экссудат обычно содержит серомуцин, дающий положительную пробу Ривальта.

Работа № 3. Количественное определение белка в выпотных жидкостях (унифицированный метод).

Материальное оснащение

1. Пробирки лабораторные	-	10 шт.
2. Штативы для пробирок на 5 гнезд	-	2 шт.
3. Пипетки на 0,1 мл, на 2 мл, на 5 мл, на 10 мл	-	по 1 шт.
4. Стакан химический на 50 мл	-	2 шт.
5. Стеклограф	-	1 шт.
6. Фотоэлектроколориметр	-	1 шт.
7. Раствор сульфасалициловой кислоты 3 %	-	10 мл.
8. Раствор хлорида натрия 0,85 %	-	100 мл.
9. Стандартный раствор альбумина 1 % (в мерную колбу емкостью 100 мл помещают 1 г лиофилизированного альбумина, растворяют в небольшом количестве 0,85 % р-ра хлорида натрия и этим же раствором доводят до метки)	-	10 мл.
10. Транссудат	-	5 мл.
11. Экссудат	-	5 мл.

Методика проведения опыта:

В стаканчик с (мл 0,85 % р-ра хлорида натрия прибавляют 0,1 мл экссудата (разведение 1 : 100). В опытную пробирку помещают 1,25 мл разведенного экссудата и 3,75 мл 3% раствора сульфасалициловой кислоты. Содержимое пробирки перемешивают. В контрольную пробирку наливают 1,25 мл разведенного экссудата и 3,75 мл 0,85 % р-ра хлорида натрия. Через 5 мин опытную пробу измеряют против контроля на фотоэлектроколориметре при красном светофильтре (длина волны – 650 нм) в кювете с длиной оптического пути равным 0,5 см. Расчет концентрации белка в пробе производят по калибровочному графику, учитывая разведение взятой выпотной жидкости. Для построения калибровочного графика из стандартного альбумина готовят следующие разведения (табл.) и обрабатывают их как опытную пробу.

Аналогичным способом осуществляют анализ транссудата. В заключении полученные результаты обобщают. Исходя из содержания белка в пробе, определяют тип выпотной жидкости.

Таблица

Пробирка	Стандартный р-р альбумина, мл	Р-р хлорида натрия, 0,85 %, мл	Концентрация белка, мг %
1 - я	0,05	9,95	5
2 – я	0,1	9,9	10
3 – я	0,2	9,8	20
4 – я	0,5	9,5	50
5 – я	1,0	9,0	100

Примечание. Прямолинейная зависимость калибровочной кривой сохраняется до концентрации белка в пробе равным 1000 мг/л.

З а н я т и е № 9

Тема. Воспаление.

Цель занятия. Изучить причины и механизм развития воспалительной реакции. Определить роль медиаторов в патогенезе воспаления и нарушениях микроциркуляции в очаге воспаления.

Работа № 1. Сосудистые реакции в воспаленной брыжейке тонкого кишечника лягушки (опыт Конгейма).

Материальное оснащение.

- | | | |
|---|---|--------|
| 1. Фиксирующая дощечка с боковым отверстием | - | 1 шт. |
| 2. Булавки | - | 10 шт. |
| 3. Препаровальная игла | - | 1 шт. |
| 4. Пинцет глазной | - | 2 шт. |
| 5. Ножницы глазные | - | 1 шт. |
| 6. Тампоны ватные в стакане | | |
| 7. Микроскоп | - | 1 шт. |
| 8. Животные : лягушка | - | 1 шт. |

Методика проведения опыта.

Спинальную лягушку фиксируют на дощечке с отверстием, вскрывают брюшную полость, осторожно извлекают тонкий кишечник. Затем брыжейку растягивают над отверстием с помощью булавок (способ приготовления препарата брыжейки тонкого кишечника лягушки подробнее см. в работе № 1 занятия).

Под малым увеличением микроскопа (окуляр – 15^x , объектив -8^x) определяют стадии локальных сосудистых реакций при воспалении:

- кратковременное сужение сосудов с последующим их расширением и ускорением кровотока;
- дальнейшее расширение сосудов и замедление кровотока ;
- маятникообразное движение крови в сосудах и стаз.

Под большим увеличением микроскопа (окуляр – 15^x , объектив - 40^x) изучают краевое стояние и эмиграцию лейкоцитов. Необходимо отметить, что наблюдаемые сосудистые сдвиги вызваны острой воспалительной реакцией брыжейки при ее подсыхании. При этом к флогогенным факторам относятся также воздействия механических, химических и бактериальных агентов после вскрытия брюшины. Поэтому к началу изучения препарата брыжейки ранняя стадия сосудистых сдвигов, как правило, уже развивается и она остается вне поля зрения экспериментатора.

Работа № 2. Характер изменений микрогемоциркуляции брыжейки тонкого кишечника лягушки в очаге альтерации.

Материальное оснащение.

См. работу № 1 данного занятия.

Методика проведения опыта.

У спинальной лягушки готовят препарат брыжейки тонкого кишечника (см. работу № 1 занятия № 4). Под малым увеличением микроскопа выбирают для наблюдения небольшой разветвленный сосуд. На поверхность данного сосуда помещают небольшой кристаллик хлорида натрия, что ведет к повреждению (механическому и химическому) сосудистой стенки, и тканей брыжейки и последующему тромбообразованию. Процесс образования тромба в участке повреждения сосудистой стенки обычно регистрируется через 2 – 4 мин. после аппликации кристаллика хлорида натрия.

После каждого опыта оформляют протокол. Зарисовывают краевое стояние лейкоцитов, пристеночный и абтурационный тромб в зоне альтерации. Обсуждают вероятные механизмы развития обнаруженных фаз локальных сосудистых реакций в воспаленной ткани и делают выводы.

З а н я т и е № 10

Тема. Воспаление

Цель занятия. Изучить явления экссудации и фагоцитоза в очаге воспаления. Дать характеристику различных видов

экссудатов. Определить биологическое значение воспаления.

Работа № 1. Определение протеолитической активности гнойного экссудата.

Материальное оснащение.

1. Пробирки лабораторные	-	2 шт.
2. Штатив для пробирок на 5 гнезд	-	1 шт.
3. Пипетка на 1 мл.	-	1 шт.
4. Стеклограф	-	1 шт.
5. Термостат установленный на 38 ⁰ С		
6. Раствор казеина 0,25 % (2,5 г казеина растворяют в 100 мл 0,1 N р-ра едкого натра при подогревании, затем нейтрализуют 0,1 N р-ром соляной кислоты и доводят дистиллированной водой до 1 л)	-	5 мл.
7. Гнойный экссудат, полученный из абсцесса (5 мл гноя центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 мин. Для анализа берут прозрачную надосадочную жидкость)	-	3 мл.
8. Раствор уксусной кислоты 4 %	-	5 мл.
9. Раствор хлорида натрия 0,85 %	-	5 мл.

Способ определения

В две пробирки наливают по 1 мл 0,25 % раствора казеина. В опытную пробирку прибавляют 10 капель гнойного экссудата, в контрольную – равное количество физиологического раствора. Пробирки встряхивают и ставят в термостат на 30 мин. Затем в обе пробирки добавляют по 2 капли 4 % раствора уксусной кислоты. По степени просветления раствора в опытной пробирке судят о протеолитической активности исследуемого экссудата. Прозрачный раствор в пробе свидетельствует о полном расщеплении казеина до аминокислот. В контрольной пробирке наблюдается существенное помутнение раствора от осажденного уксусной кислотой нерасщепленного казеина.

Работа № 2. Определение аминолитической активности гнойного экссудата.

Материальное оснащение.

1. Пробирки лабораторные	-	2 шт.
2. Штатив для пробирок на 5 гнезд	-	1 шт.
3. Пипетка на 1 мл.	-	1 шт.

4. Стеклограф	-	1 шт.
5. Термостат установленный на 38 ⁰ С		
6. Раствор крахмала 0,25 (в стакан к 1 г крахмала прибавляют при помешивании 400 мл кипящего раствора хлорида натрия 0,85 %)	-	5 мл.
7. Раствор Люголя (к 0,5 г кристаллического йода прибавляют 2 г йодистого калия и растворяют в 200 мл дистиллированной воды)	-	5 мл.
8. Прозрачный центрифугат гноя (способ приготовления см в работе № 1)	-	3 мл.
9. Раствор хлорида натрия 0,85 %	-	5 мл.

Способ определения.

В две пробирки наливают по 1 мл 0,25 % раствора крахмала. В опытную пробирку прибавляют 10 капель гнойного экссудата, в контрольную – равный объем физиологического раствора. Пробирки встряхивают и ставят в термостат на 30 мин. Затем в обе пробирки добавляют по 2 капли раствора Люголя. Характер окраски раствора в опытной пробе свидетельствует об амилолитической активности исследуемого гнойного экссудата. При неполном гидролизе крахмала амилазой образуется более или менее сложные полисахариды – декстрины (амилодекстрины, эритродекстрины, мальтодекстрины и т.д), которые с раствором Люголя фиолетовую, красную, красную, светло-желтую окраску. При полном ферментативном гидролизе крахмала исследуемый раствор будет бесцветным, при отсутствии гидролиза (контрольная проба) – синим.

Работа № 3. Определение липолитической активности гнойного экссудата.

Материальное оснащение.

1. Пробирки лабораторные	-	2 шт.
2. Штатив для пробирок на 5 гнезд	-	1 шт.
3. Пипетка на 1 мл.	-	1 шт.
4. Стеклограф	-	1 шт.
5. Термостат установленный на 38 ⁰ С		
6. Взвесь жира (молоко прокипяченное и охлажденное до 30 – 35 ⁰ С)	-	5 мл.
7. Прозрачный центрифугат гноя (способ приготовления см. в работе № 1)	-	1 мл.
8. Спиртовый раствор фенолфталеина 1 %	-	2 мл.
9. Раствор едкого натра 0,01 N	-	10 мл.
10. Раствор хлорида натрия 0,85 %	-	5 мл.

Способ определения.

В две пробирки наливают по 12 капель жировой взвеси. В опытную пробирку прибавляют 10 капель гнойного экссудата, в контрольную – такое же количество физиологического раствора. Пробирки встряхивают и ставят в термостат на 30 мин. Затем в обе пробирки добавляют по 2 капли фенолфталеина и раствор титруют щелочью (при непрерывном и тщательном помешивании) до бледно-розового окрашивания.

О липолитической активности гнойного экссудата судят по количеству 0,01 N раствора едкого натра, пошедшего на титрование жирных кислот, которые образовались при гидролизе взятого в опыт субстрата (жира). В контрольной пробирке объем, пошедший на титрование щелочи, свидетельствует о содержании жирных кислот в самом субстрате.

В общем заключении по результатам проведенных анализов дают биохимическую характеристику изучаемого гнойного экссудата.

Работа № 4. Морфологические особенности гнойного экссудата.

Материальное оснащение.

1. Обезжиренное предметное стекло	-	2 шт.
2. Стекло со шлифованными гранями	-	1 шт.
3. Ванночка для окраски мазков со стеклянными рельсами	-	1 шт.
4. Микроскоп	-	1 шт.
5. Гнойный экссудат (цельный)	-	2 мл.
6. Смесь Никифорова	-	100 мл.
7. Краска Романовского-Гимза (1 мл краски на 9 мл дистиллированной воды)	-	10 мл.
8. Иммерсионное масло в масленке	-	1 шт.

Способ определения.

На предметном стекле готовят тонкий мазок гнойного экссудата. После его высушивания фиксируют в смеси Никифорова в течение 5 мин и заливают свежеприготовленной краской Романовского-Гимза на 20 – 25 минут. Затем краску сливают, мазок ополаскивают водопроводной водой и высушивают. Окрашенный мазок гнойного экссудата рассматривают под иммерсионной системой микроскопа (окуляр – 15^x, объектив – 90^x). В тетрадях зарисовывают клеточные элементы гноя (лейкоциты, гнойные тельца). В заключении обсуждают возможные механизмы образования выявленного клеточного состава гнойного экссудата.

З а н я т и е № 11

Тема. Ответ острой фазы. Лихорадка. Гипертермия.

Цель занятия. Изучить состояние терморегуляторных механизмов в организме при лихорадке и гипертермии.

Работа № 1. Экспериментальное воспроизведение лихорадки.

Материальное оснащение.

1. Термометр медицинский	-	1 шт.
2. Шприц на 1 мл.	-	1 шт.
3. Пирогенал	-	1 мл.
4. Вазелин	-	50 мл.
5. Животные: морская свинка	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

У морской свинки измеряют температуру тела. Для этого кончик термометра слегка смачивают вазелином и погружают в прямую кишку. Одновременно подсчитывают число дыханий в 1 мин. После регистрации исходных показателей животному вводят внутримышечно (в заднюю 1/3 бедра) 50 МПД (МПД – максимальная пирогенная доза. 1 МПД соответствует 0,01 мл или 0,1 мкг пирогенала) пирогенала. Температуру тела, а также частоту дыхания измеряют через 15; 30; 45; 60 и 90 мин после введения препарата. В динамике лихорадочной реакции наблюдают за состоянием и поведением животного, обращают внимание на цвет кожных покровов.

По полученным результатам строят график изменения температуры и дыхания у животного. Обсуждают механизмы развития выявленной стадии лихорадки, делают выводы.

Работа № 2. Модель перегревания теплокровного животного.

Материальное оснащение.

1. Термометр медицинский	-	1 шт.
2. Шприц на 1 мл.	-	1 шт.
3. Термостат, установленный на 52 ⁰ С		
4. Раствор гексенала 1 %	-	5 мл.
5. Вазелин	-	50 мл.
6. Животные: белая крыса	-	1 шт.

Методика проведения опыта.

Белой крысе вводят внутрибрюшинно 1 % раствор гексенала из расчета 30 мг на 1 кг массы животного. В исходном состоянии измеряют рек-

тальную температуру и подсчитывают частоту дыхания в 1 мин. Затем крысу помещают в термостат при температуре 52⁰С. Через каждые 15 мин измеряют температуру тела, оценивают характер дыхания. При этом наблюдают за состоянием и двигательной активностью животного, выясняют цвет кожных покровов.

На основании полученных данных строят график изменения температуры и дыхания у крысы. Отмечают особенности функционирования терморегуляторных механизмов при перегревании организма. После сопоставления результатов выполненных экспериментов делают общий вывод по теме занятия.

З а н я т и е № 12

Тема. Гипоксия.

Цель занятия. Изучить этиологию и патогенез основных типов гипоксий, компенсаторно-приспособительные реакции организма и последствия острой и хронической гипоксий.

Работа № 1. Экспериментальная модель высотной болезни.

Материальное оснащение.

- | | |
|---|---------|
| 1. Установка, состоящая из насоса Комовского, толстостенного сосуда и вакуумметра | - 1 шт. |
| 2. Счетная камера с сеткой Горяева и шлифованное покровное стекло к ней | - 1 шт. |
| 3. Гемометр Сали | - 1 шт. |
| 4. Пипетка от гемометра Сали на 0,02 мл | - 1 шт. |
| 5. Стеклянная палочка в стакане | - 2 шт. |
| 6. Пробирки лабораторные | - 2 шт. |
| 7. Стеклограф | - 1 шт. |
| 8. Ватные тампоны | |
| 9. Лезвие безопасной бритвы | - 1 шт. |

- | | |
|---------------------------------------|----------|
| 10. 0,1 N раствор соляной кислоты | - 5 мл. |
| 11. 1 % раствор натрия хлорида | - 10 мл |
| 12. Этиловый спирт (96 ⁰) | - 10 мл. |
| 13. Животные: белая крыса | - 3 шт. |

Методика проведения опыта.

Одну из крыс помещают в толстостенный стеклянный сосуд аппарата Комовского. Через 5 минут отмечают состояние животного: подвижность, цвет ушей и лапок, оценивают частоту и глубину дыхания. Затем осуществляют дозированное откачивание воздуха из толстостенного сосуда, следя за показаниями встроенного в аппарат манометра. Регистрируют «высоту» (исходя из показателей представленной ниже таблицы 1), при которой наблюдаются: а) стадия компенсации (гиперпноэ, двигательное возбуждение, взъерошивание шерсти); б) стадия декомпенсации (боковое положение животного, акроцианоз, судороги); в) смерть. Этот этап опыта является исходным для последующих двух.

Таблица 1

Показания манометра	Давление в мм рт. ст.	«Высота» над уровнем моря , в м
0	760	0
0,1	684	1500
0,2	608	2000
0,3	532	3000
0,4	456	3800
0,5	380	5100
0,6	304	6500
0,7	238	9000
0,8	148	12000
0,9	70	20000

Так, вторую крысу поднимают на «высоту», при которой регистрируется компенсаторная стадия высотной болезни. В дальнейшем откачивание воздуха из аппарата Комовского прекращают, толстостенный сосуд разгерметизируется и у подопытного животного берут кровь из краевой вены хвоста. Кровь берут после обработки спиртом корня хвоста и надреза бритвой боковой его поверхности над просвечивающей веной. Первую каплю крови вытирают, вторую – набирают до метки в пипетку (0,02 мл) и выдувают на дно градуированной пробирки гемометра Сали, в которую за-

Глубина дыхания в баллах*									
Двигат. активность в баллах**									
Наличие акроцианоза (+; -)									
Концентр. гемоглобина в г/л									
Кол-во эритроцитов в 1 мкл									

Примечание: * 1 балл – поверхностное дыхание
 2 балла – дыхание средней амплитуды
 3 балла – глубокое дыхание.

** 1 балл – двигательная активность снижена (животное заторможено);
 2 балла – двигательная активность в норме;
 3 балла – двигательная активность повышена (животное возбуждено).

В заключении анализируют обнаруженные признаки проявления высотной болезни. Обсуждают механизмы развития компенсаторных реакций и причины их срыва при экзогенной гипоксии. По проделанной работе делают выводы.

З а н я т и е № 13

Тема. Нарушение углеводного обмена.

Цель занятия. Изучить причины развития и последствия для организма гипо- и гипергликемии; этиологию и патогенез сахарного диабета.

Работа № 1. Экспериментальное воспроизведение гипогликемической комы.

Материальное оснащение:

1. Шприц на 1 мл. и на 2 мл.	-	по 1 шт.
2. Электрокардиограф	-	1 шт.
3. Инсулин	-	1 мл.
4. Раствор глюкозы 40 %	-	10 мл.
5. Животные: белая мышь	-	2 шт.

Методика проведения опыта.

Эксперимент ставят на двух мышах, которых за сутки лишают пищи (при свободном доступе к воде). В это же время вводят инсулин на физиологическом растворе, подкожно из расчета 2 МЕ (1 МЕ соответствует 0,05 мл инсулина) на 100 г массы животного.

За 2 часа до занятия мышам повторно вводят инсулин (дозировка и способ введения препарата те же). В период развития гипогликемической комы (боковое положение животного, дрожание конечностей, судороги) у первой мыши регистрируют электрокардиограмму, подсчитывают частоту дыхания. Второй мыши в это время вводят подкожно 1 мл 40 % раствора глюкозы. Вышеперечисленные параметры определяют через 1 час после введения глюкозы, отмечая при этом общее состояние и поведения животного.

В протоколе опыта полученные результаты сопоставляют и анализируют. Обсуждаются механизмы развития гипогликемии, при введении инсулина и эффективность коррекции ее введением глюкозы.

Работа № 2. Оценка метаболических сдвигов в организме при сахарном диабете.

Материальное оснащение.

1. Пробирки лабораторные	-	6 шт.
2. Штатив для пробирок на 5 гнезд	-	2 шт.
3. Пипетка на 1 мл	-	1 шт.
4. Пипетка на 2 мл	-	3 шт.
5. Цилиндр мерный на 25 мл	-	1 шт.
6. Спиртовка	-	1 шт.
7. Стеклограф	-	1 шт.
8. Раствор едкого натра 10 %	-	10 мл.
9. Раствор сернокислой меди 5 %	-	10 мл.
10. Водный раствор нитропруссиды натрия 10 % (свежеприготовленный)	-	5 мл.

- | | | |
|--|---|-----------|
| 11. Уксусная кислота ледяная | - | 5 мл. |
| 12. Раствор аммиака концентрированный | - | 10 мл. |
| 13. Исследуемая моча больного и здорового человека
(в двух стаканчиках) | - | по 20 мл. |

Методика проведения опыта.

В суточной моче больного сахарным диабетом определяют наличие глюкозы и кетоновых тел. Контролем служит суточная моча здорового человека.

Качественная реакция на глюкозу в моче (проба Троммера)

В пробирку наливают 2 мл мочи больного (опытная проба) и прибавляют равный объем раствора едкого натра. Затем по каплям добавляют 5 % раствор сернокислой меди до появления не исчезающей мути гидроксида меди. Осторожно нагревают верхнюю часть содержимого пробирки. Появление желтого окрашивания (гидрат закиси меди), переходящего в красное (закись меди) свидетельствует о положительной реакции Троммера.

Аналогичным способом обрабатывают мочу здорового человека (контрольная проба).

Качественная реакция на кетоновые тела в моче (проба Легалья)

В пробирку наливают 10 мл мочи больного (опытная проба), куда прибавляют 1 мл ледяной уксусной кислоты и 3 – 5 капель нитропрусида натрия. Смесь взбалтывают и сверху наслаивают 2 мл концентрированного раствора аммиака. Фиолетовое кольцо на границе жидкостей свидетельствует о наличии ацетоновых тел в моче.

Тем же способом обрабатывают мочу здорового человека (контрольная проба).

В заключении, сопоставляют полученные результаты, обсуждают вероятные механизмы формирования выявленных сдвигов метаболизма у больного сахарным диабетом. По проделанной работе делают выводы.

З а н я т и е № 14

Тема. Патофизиология иммунной системы. Аллергия. Аутоаллергия

Цель занятия. Изучить этиологию и патогенез аллергии. Изучить в эксперименте основные проявления анафилактического шока.

Работа № 1. _ Экспериментальное воспроизведение анафилактического шока.

Материальное оснащение.

- | | | |
|--|---|-------|
| 1. Столик для крепления мелких лабораторных животных | - | 1 шт. |
| 2. Жгут | - | 1 шт. |
| 3. Шприц на 1 мл | - | 1 шт. |
| 4. Термометр медицинский | - | 1 шт. |
| 5. Ножницы для стрижки волос | - | 1 шт. |
| 6. Ножницы глазные | - | 1 шт. |
| 7. Тампоны ватные в стакане | | |
| 8. Сыворотка нормальная лошадиная | - | 2 мл. |
| 9. Раствор новокаина 0,5 % | - | 5 мл. |
| 10. Настойка йода | - | 10 мл |
| | | |
| 11. Сенсibilизированная морская свинка (сенсibilизацию животного проводят за 2 – 3 недели до опыта лошадиной сывороткой в дозе 0,1 мл подкожно, трехкратно через день) | - | 1 шт. |

Методика проведения опыта.

Сенсibilизированную морскую свинку фиксируют к столику. Измеряют ректальную температуру, подсчитывают число дыхания в 1 мин. Затем с задней поверхности бедра выстригают шерсть. Под местной анестезией (0,5 % раствор новокаина, подкожно) после обработки операционного поля раствором йода, глазными ножницами аккуратно срезают кожу для облегчения доступа к подкожной вене. После наложения жгута дистальнее быстро прокалывают вену по току крови. Жгут снимают, а к игле присоединяют шприц с разрешающей дозой антигена (лошадиная сыворотка в количестве 0,3 мл). После внутривенного введения сыворотки отмечают основные признаки развития анафилактического шока, которые заносят в таблицу.

Таблица

Показатели	Типичные симптомы анафилактического шока у морских свинок	Наличие и характер симптомов в данном эксперименте
Поведение жи-	Возбуждение, взъерошивание	

вотного	шерсти, почесывание мордочки, судороги	
Дыхательная функция	Экспираторная одышка	
Температура тела	Понижение на 1 – 3 ⁰ С	
Прочие признаки	Непроизвольные мочеиспускание и дефекация	
Продолжительность шока	Минуты, часы	

Погибшее животное вскрывают, обращают внимание на состояние легких на фоне полнокровия других внутренних органов (печень, селезенка, головной мозг). Полученные результаты анализируют, обсуждают ведущие механизмы развития патофизиологической стадии анафилактического шока.

Занятие № 15

Тема. Патофизиология иммунной системы. Аллергия. Аутоаллергия.

Цель занятия. Изучить этиологию и патогенез аллергических реакций. Изучить реакцию перитоннальных тучных клеток сенсibilизированной крысы на антиген.

Работа № 1. Экспериментальное изучение прямой реакции дегрануляции перитоннальных тучных клеток.

Материальное оснащение:

- | | | |
|---|---|--------|
| 1. Эксикатор на 1,5 л | - | 1 шт. |
| 2. Ножницы глазные | - | 1 шт. |
| 3. Пинцет анатомический | - | 2 шт. |
| 4. Бюкс (стакан) | - | 2 шт. |
| 5. Шприц на 2,0 мл | - | 2 шт. |
| 6. Предметное стекло с нанесенными на него заранее и подсушенными на воздухе двумя каплями краски “нейтральной красной” | - | 12 шт. |
| 7. Покровное стекло | - | 24 шт. |
| 8. Глазная пипетка | - | 4 шт. |
| 9. Препаровальная дощечка | - | 1 шт. |
| 10. Микроскоп | - | 10 шт. |
| 11. Эфир | - | 1 фл. |
| 12. Гепарин | | |
| 13. Вазелин | | |
| 14. Раствор антигена | | |

1. Раствор Кребса (0,9 % натрия)
2. Тампоны ватные
3. Салфетки марлевые
4. Животные: крыса - 1 шт.

Методика проведения опыта

Получение перитонеального клеточного смыва (перитонеальной взвеси тучных клеток)

Усыпить крысу эфиром. Для этого на дно эксикатора емкостью 1,5 л положить ватный тампон, обильно смоченный эфиром. Поместить в эксикатор крысу, закрыть эксикатор крышкой и держать крысу в эксикаторе до прекращения у нее дыхания. Уснувшую крысу извлечь из эксикатора, положить ее на препаровальную дощечку брюшком вверх и ввести внутрибрюшинно 7 – 8 мл раствора Кребса. В течение 1 – 2 минут массировать пальцами брюшную стенку для получения перитонеального смыва. Вскрыть брюшную полость, сделав с помощью ножниц разрез передней брюшной стенки по средней линии живота в средней ее трети длиной 3 - 5 см. Взять химический стаканчик, ополоснуть его гепарином. Перевернуть крысу на стаканчиком брюшком вниз для того, чтобы перитонеальный смыв стекал в стаканчик по петлям кишечника. Полученную таким образом взвесь тучных клеток осторожно взболтать в течение 15 сек.

Постановка теста дегрануляции тучных клеток.

Тотчас после взбалтывания с помощью глазной пипетки нанести по капле перитонеальной взвеси на окрашенные нейтральным красным части предметного стекла. К опытной капле взвеси добавить 1 каплю антигена. К контрольной капле добавить 1 каплю раствора Кребса. Накрыть капли смеси слева и справа покровными стеклами, углы которых заранее смазаны вазелином. Вазелин должен быть обращен к предметному стеклу.

Микроскопия препарата.

Держать препарат при комнатной температуре 10 минут.

Используя объектив 8 и окуляр 7, произвести обзорную микроскопию контрольной капли. Среди неокрашенных лейкоцитов, составляющих большую часть клеток в поле зрения, найти окрашенные в сиреневый цвет тучные клетки. Выбрать поле зрения с относительно большим числом тучных клеток.

Сменить объектив 8 на 40. В установленном поле зрения найти интактные и дегранулированные тучные клетки, лейкоциты. Итактные туч-

ные клетки, по диаметру приблизительно в 1,5 раза больше лейкоцитов, имеют правильную круглую или овальную форму. Цитоплазма заполнена окрашенными в сиренево-красный цвет гранулами. На месте ядра обнаруживается просветление. Оболочка непрерывная, четко контурирует при вращении винта микроскопа. Дегранулированные тучные клетки имеют неровный наружный контур. Цитоплазма их вакуолизирована. На внешнем контуре клеток можно видеть стому, через которую гранулы изливаются наружу. Лейкоциты, преобладающие в поле зрения, либо неокрашены, либо окрашены в светло-желтый цвет.

Оценка степени дегрануляции тучных клеток.

Ознакомившись с морфологией клеток, подсчитать процент дегранулированных тучных клеток в контрольной капле. Для этого передвигать препарат по ломанной линии до тех пор, пока общее число «случайно попавших» в поле зрения тучных клеток не будет равно 50. Отметить, какое число из них составляют дегранулированные клетки. После этого произвести микроскопию и подсчет относительного числа дегранулированных тучных клеток в опытной капле взеси. Данные занести в таблицу. Сопоставить процент дегранулированных клеток в опытной и контрольной капле.

Таблица

№ опыта	Контрольная капля взеси		Опытная капля взеси	
	% интактных тучных клеток	% дегранулированных тучных клеток	% интактных тучных клеток	% дегранулированных тучных клеток
1.				
2.				
3.				

На основании полученных данных сделать вывод о реакции перитонеальных тучных клеток сенсibilизированной крысы на специфический аллерген.

Занятие № 16

Тема. Патофизиология опухолевого роста.

Цель занятия: изучить этиологию и патогенез опухолевого роста.

Опухолевый рост

1. «Опухоль» - определение понятия.
2. Доброкачественные и злокачественные опухоли их характеристика.
3. Классификация рака TNM.
4. Опухолевые маркеры, определение понятия, виды, значение.
5. Роль наследственных факторов, пола, возраста, хронических заболеваний и др. в возникновении и развитии опухолей у человека.
6. Химические канцерогены, классификация, этапы химического канцерогенеза.
7. Канцерогены биологической природы (вирусы), виды, этапы вирусного канцерогенеза.
8. Физические канцерогенные факторы, виды, этапы физического канцерогенеза.
9. Стадия трансформации. Протоонкогены, онкогены, онкосупрессоры их роль в процессе онкогенеза.
10. Стадия промоции. Виды злокачественного атипизма трансформированных клеток (атипизм роста, метаболический, функциональный и др.)
11. Метастазирование, пути, этапы.
12. Опухолевая прогрессия, определение понятия, механизм развития, клинические проявления.
13. Взаимоотношения опухоли и организма. Местное и общее действие опухоли на организм
14. Противоопухолевая защита организма.
15. Принципы профилактики и лечения опухолей.

Работа №1 Решение тестов и ситуационных задач

Задача 1.

У пациента М. 52 лет через год после хирургического удаления раковой опухоли лёгкого и последующего химиотерапевтического лечения обнаружено увеличение левых подключичных лимфоузлов. При их биопсии выявлены раковые клетки, по структуре сходные с клетками удалённого новообразования лёгкого.

Вопрос:

Как Вы объясните описанный в задаче феномен?

- развитием новой опухоли?
- рецидивом рака лёгкого?
- метастазом рака лёгкого?

Ответ обоснуйте, описав возможный механизм развития феномена.

Задача 2.

Мужчина М. 50 лет жалуется на общую слабость, немотивированное снижение аппетита, тошноту. В последнее время отмечает значительное интенсивно нарастающее похудание, лихорадку, бледность. Результаты лабораторных исследований крови и желудочного сока указывают на наличие анемии и пониженную кислотность желудочного сока.

При гастроскопическом исследовании обнаружена опухоль. Больной дополнительно сообщил, что последние 30 лет он болеет атрофическим гастритом.

Вопросы:

1. Может ли хронический атрофический гастрит быть фактором риска развития опухоли желудка? Если да, то какой именно – доброкачественной или злокачественной?
2. Какие дополнительные исследования необходимо провести, чтобы определить вид опухоли, развившейся у пациента М?
3. Каков механизм прогрессирующего похудания М.?

Список рекомендуемой литературы**а) основная литература:**

1. Литвицкий П.Ф., Патофизиология. В 2 т. Т. 1 [Электронный ресурс] : учебник / П.Ф. Литвицкий. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 624 с. - ISBN 978-5-9704-3837-4 - Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970438374.html>.

2. Литвицкий П.Ф., Патофизиология. В 2 т. Т. 2 [Электронный ресурс] : учебник / П.Ф. Литвицкий. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 792 с. - ISBN 978-5-9704-3838-1 - Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970438381.html>.
3. Порядин Г.В., Патофизиология [Электронный ресурс] / под ред. Г. В. Порядина - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 592 с. - ISBN 978-5-9704-2903-7 - Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970429037.html>.

б) дополнительная литература:

1. Долгих, В. Т. Патофизиология. В 2 т. Том 1. Общая патофизиология : учебник и практикум для вузов / В. Т. Долгих. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 371 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-11893-3. — Текст : электронный // ЭБС Юрайт [сайт]. — URL: <https://biblio-online.ru/bcode/446370> (дата обращения: 13.09.2019).
2. Долгих, В. Т. Патофизиология. Иммунология. Тесты : учебное пособие для вузов / В. Т. Долгих, О. В. Корпачева. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 307 с. — (Специалист). — ISBN 978-5-534-11257-3. — Текст : электронный // ЭБС Юрайт [сайт]. — URL: <https://biblio-online.ru/bcode/446576> (дата обращения: 13.09.2019).
3. Литвицкий П.Ф., Патофизиология Pathophysiology : лекции, тесты, задачи [Электронный ресурс] : учеб. пособие для студентов учреждений высш. проф. образования / Литвицкий П. Ф., Пирожков С. В., Тезиков Е. Б. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 432 с. - ISBN 978-5-9704-3600-4 - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970436004.html>
4. Новицкий В.В., Патофизиология. Руководство к практическим занятиям [Электронный ресурс] : учебное пособие / Под ред. В.В. Новицкого, О.И. Уразовой. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 336 с. - ISBN 978-5-9704-1819-2 - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970418192.html>