

Biológia alapjai gyakorlat

Élettan

1. A laboratóriumi munka rendjének ismertetése

- A gyakorlati teremben a laboratóriumi *gyakorlatok alatt csak az oktató(k), (Ph.D. hallgató), az asszisztens és a gyakorlaton résztvevő hallgatók tartózkodhatnak.*
- *Valamennyi személy köteles betartani a tűzvédelmi és munkavédelmi előírásokat.*
- Valamennyi személy köteles betartani az *állatkísérletekkel kapcsolatos etikai kódex* előírásait, ezzel kapcsolatosan az alább ismertetendő útmutatás egyes pontjait.
- A gyakorlatok végén a hallgatók rendbe teszik a termet (*kéziműszerek és üvegeszközök elmosogatása*).

A laboratóriumi munka rendjének ismertetése

- A gyakorlatokon kötelező a **védőköpeny** használata.
- A **hosszú hajat össze kell fogni**.
- **Dohányozni és étkezni a laboratóriumban tilos!**
(Dohányozni az egész épületben tilos)
- A hallgatók kötelesek az **oktatók és a munkavédelmi felelős instrukcióit betartani**.
- A hallgató köteles a laboratóriumban a **gyakorlat biztonságos elvégzéséhez szükséges állapotban megjelenni**.
A laboratóriumi foglalkozásra kijelölt idő alatt a hallgató nem állhat alkohol, vagy egyéb olyan szer hatása alatt, amely a munkavégzés biztonságát veszélyezteti.
- Ha valamely eszköz a padozatról közvetlenül nem érhető el, úgy annak kezeléséhez csak a biztonsági követelményeknek **megfelelő segédeszköz** (létra, pódium, ...) alkalmazható, forgószék nem!

Tűzvédelem

- Néhány tűzveszélyes anyaggal találkozunk a laboratóriumi munka során (éter, etanol, metanol, stb.).
Ilyen folyadékból csak **kis mennyiséget** öntsünk ki egyszerre és az üveget azonnal zárjuk le.
Ne helyezzük az üveget meleg tárgyak közelébe!
A **félig teli üveg** sokszor **robbanásveszélyes** lehet!
- Tűz esetén azonnal **tájékoztatni kell az oktatót.**
- A **tűzoltó készülék** használata
- A bejáratí ajtók felett elhelyezett "**zuhanyzó**" használata
- **Ne torlaszoljuk el a kijáratot**, sem pedig az asztalok közötti teret.

Érintésvédelmi szabályok

- **Az elektromos berendezéseket a hallgató csak az oktató által történő előzetes kioktatás után használhatja.**
- **Ne nyúljunk elektromos berendezésekhez nedves kézzel.**
- **Ne érintsünk elektromos berendezést és földelt tárgyat egyszerre.**
- **A padló, melyen az elektromos berendezések kezelése közben állunk, legyen száraz.**

Egyéb veszélyforrások

- Azonnal jelentsük a gyakorlatvezetőnek, ha bármiféle **rendkívüli esemény** következik be (sérülés, valamilyen károsodás).
 - Sérülés
 - Állatkarmolás, harapás
 - Mérgező, toxikus anyagokkal való érintkezés
 - Veszélyforrás (meglazult elektromos foglalat)
- **Tartsuk munkahelyünket** rendben. Csak azokkal a műszerekkel, berendezésekkel dolgozzunk, amelyek éppen az adott munkához szükséges. Bármilyen problémánk támad munkaközben kérjük a gyakorlatvezető segítségét.
- A laboratóriumi munka végeztével **gondosan mossunk kezet**, majd használjunk **kézfertőtlenítőt**.
- Ha **maró anyagok** bőrre vagy nyálkahártyára jutnak, azonnal töröljük le puha ruhával, majd **mossuk le bő csapvízzel**.

A kísérletek során alkalmazott üvegeszközök bemutatása



Erlenmayer lombik



Petri csésze

Üvegeszközök, parafilm



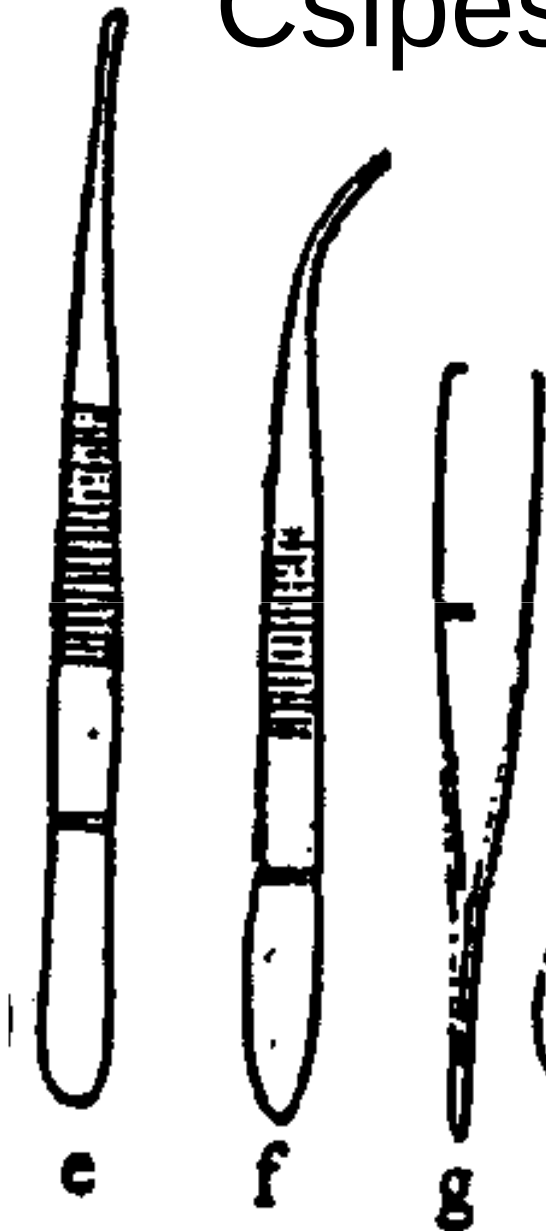
Főzőpohár



A parafilm használata

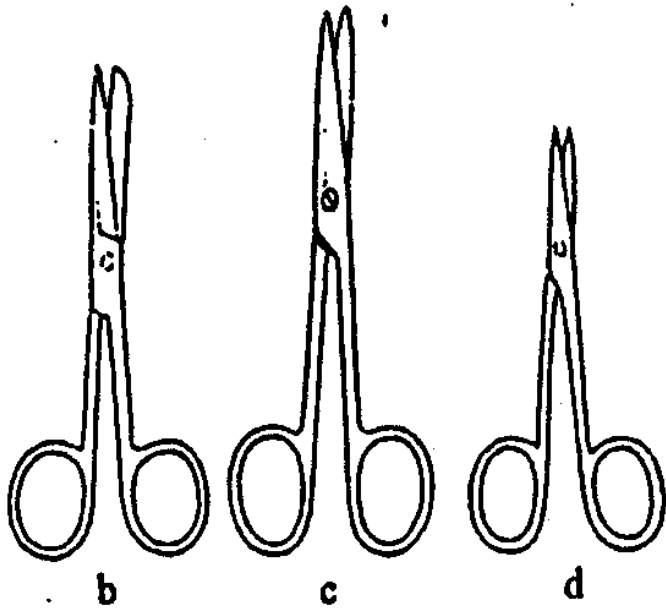


Csipeszek



- e. **anatómiai csipesz** (sima végű)
bőr és egyéb szövetek megfogására.
A bőr megfogására gyakran használt
a horgas végű csipesz is.
- f. **fogászati csipesz** belső szerveken
végzett munkák során használható jól.
- g. **szemészeti csipesz** finomabb szövetek,
belső szervek preparáláskor használatos

ollók



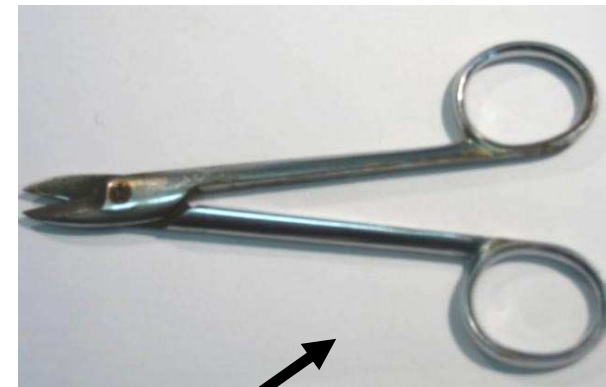
„b és c” - **sebészeti olló**

a bőr felnyitására, izmok
tompá preparálására
használatos



„d”- **iris olló (szemészeti olló)**

a belső szervek (szövetek)
felnyitására, vágására



csontolló a csontok átvágására,
csontos részek eltávolítására való

Érvágók

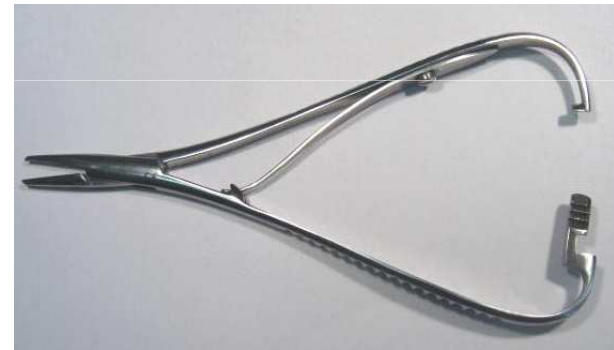
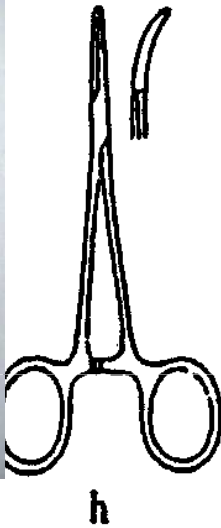


Erek preparálására



buldog szintén érfogásra, szövet rögzítésére, leszorításra használt eszköz

Peánok, tűfogók

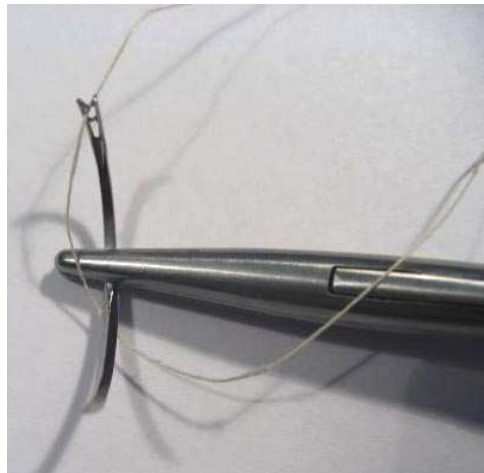
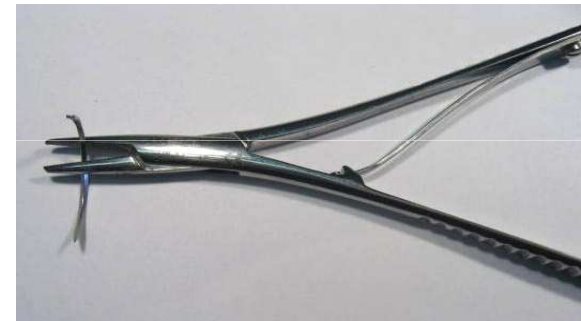
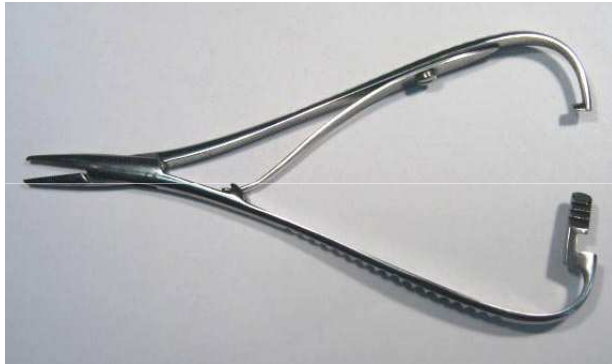
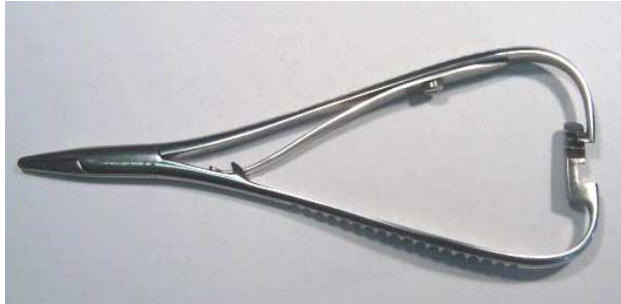


tűfogók

„h” **Peán** érfogásra, bőr, egyéb szövetek rögzítésére és megfogására alkalmas eszköz, melyet fogazott keresztlemeze segítségével rögzíteni lehet anélkül, hogy tartani kellene.

moszkító a Peán-hoz hasonló funkciójú, kisebb méretű, finomabb érfogó

Tűfogó használata



szikék



szike a bőr felnyitására.

Fix vagy cserélhető fejes



A

Állványok, eppendorfok



eppendorf csövek



Falcon csövek



pipetták



Pasteur pipetták



stripettor



Automata pipetták

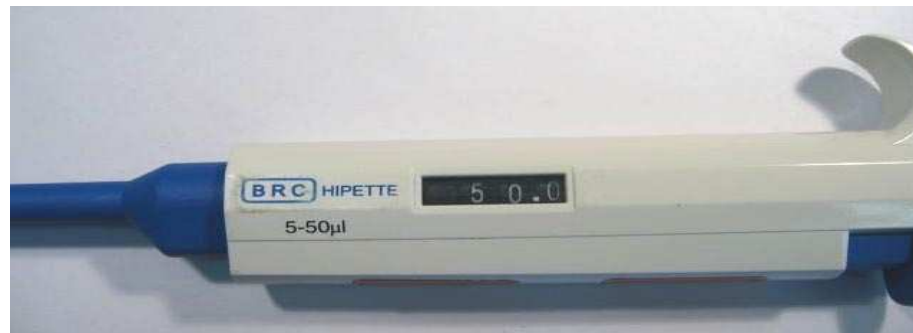


Gilson pipetták



Finn pipetták

Automata pipetták



BRC – Biological Reserach Center – SZBK - pipetták

Pipetta hegyek



**Pipettázási szabályok
beállítás
használat
gondozás**



Keverők



mágneskeverők



vortex



Az anyagok elválasztása és tisztítása, tisztítási műveletek

- Szűrés
- **Centrifugálás**
- Desztillálás
- Szárítás
- Extrahálás

Centrifugák

Kezelési szabályok:

- Tárázás
- beállítás
- gondozás

Típusok

- rotorok szerint
- sebesség szerint
(asztali, ultracentrifugák)
- hűtés szerint (igen-nem)

Az „RPM” és „g” fogalma

Centrifugák



Asztali centrifuga



Rotorok



Szögrotor

- minta végig állandó szögben marad
- nagyobb sebességre képes
150 000 rpm
- Kis mennyiségű mintáknál jó

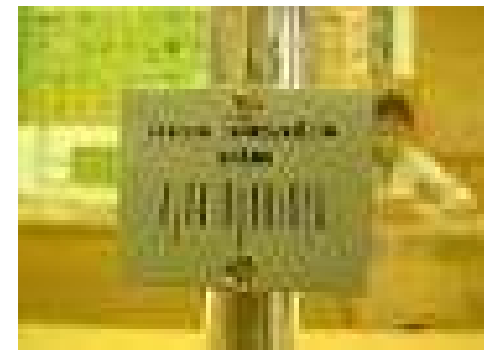


Lengőfejes (kilendülő) rotor

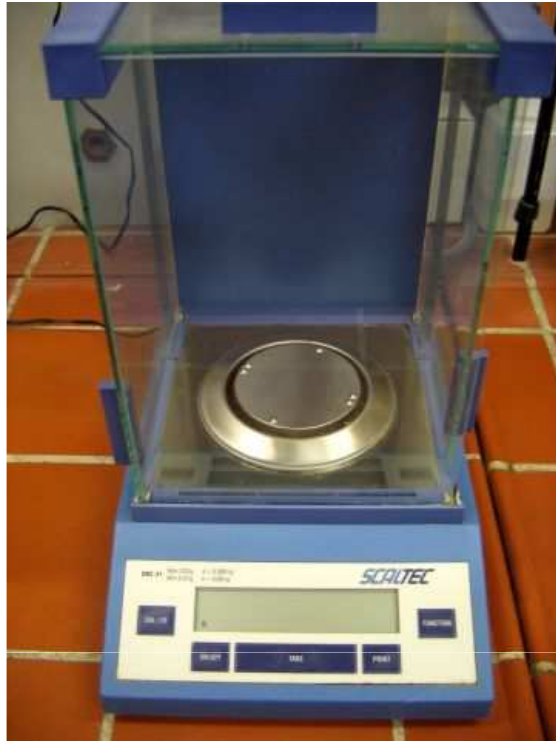
- minta a forgás során változó szögben
- kisebb sebességre képes
(max: 0-10 000 rpm)
- nagy mennyiségű mintáknál jó
pl: vér minták

A kísérletek során alkalmazott mérlegek bemutatása

- Tára mérlegek
- Analitikai mérlegek
- Automata mérlegek
- Mérlegek kalibrálása
- Mérlegek karbantartása
- Mérlegek használata



Automata érlegek



Spatulák használata

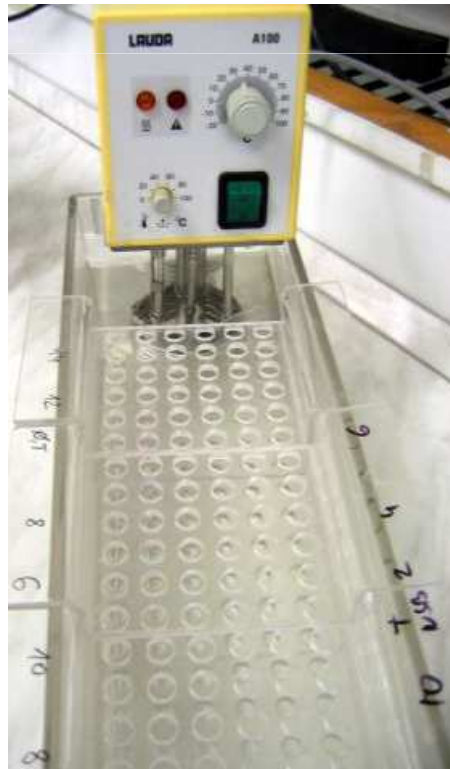


Mérő tálka használata



Egyéb alapvető laboreszközök megismerése

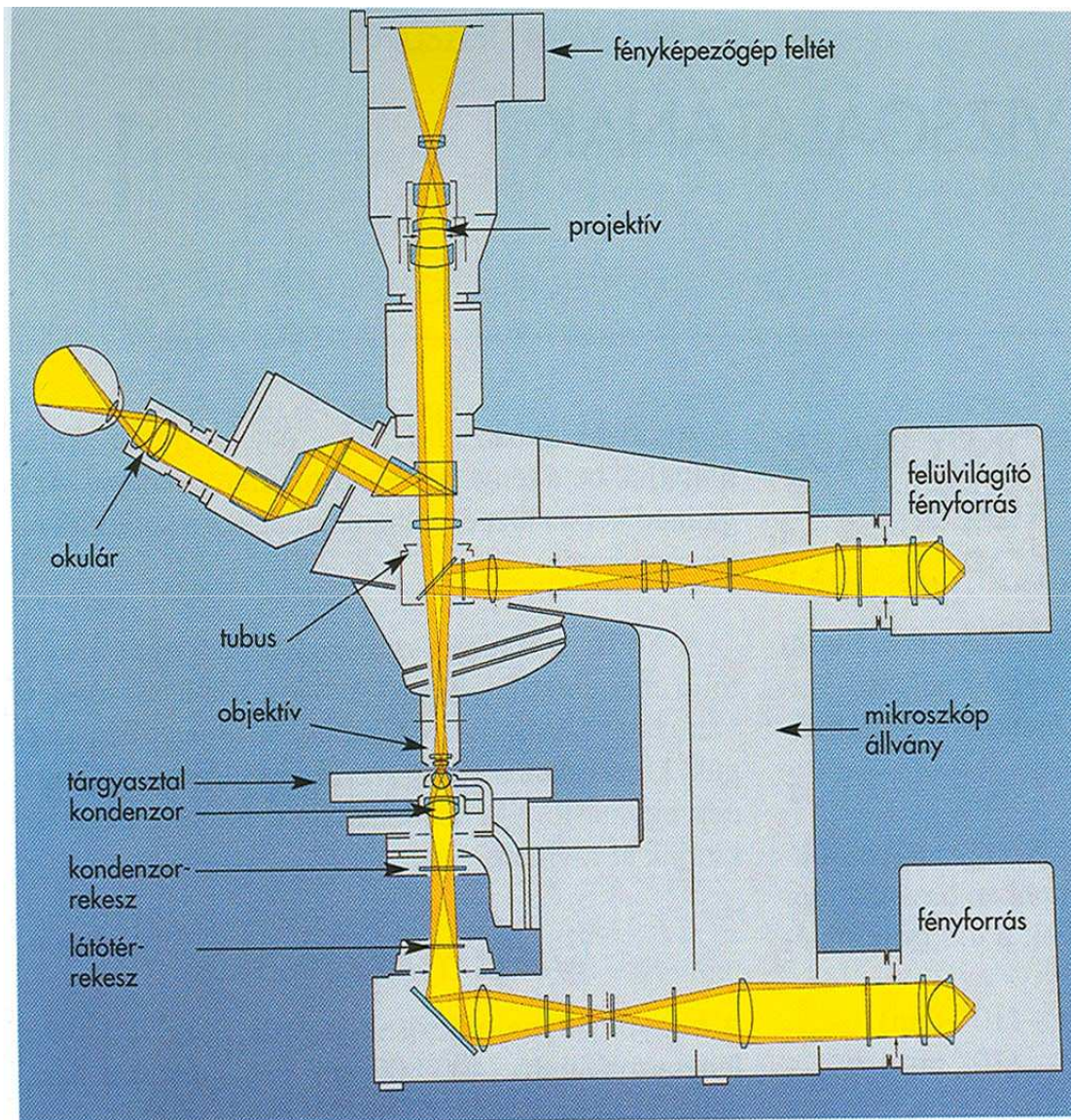
- Vízfürdők
- Termosztátok



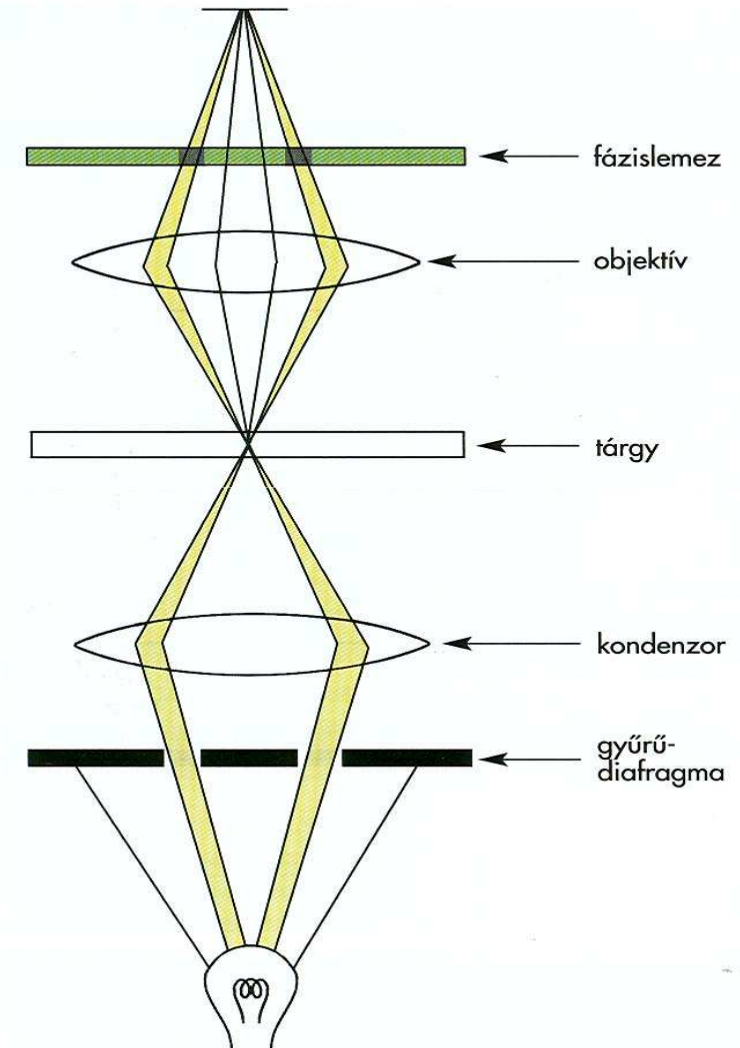
A kísérletek során alkalmazott mikroszkópok bemutatása

- Fénymikroszkópok
 - működés
 - beállítás
 - használat

A mikroszkóp működési elve



1-3. ábra. Korszerű kutatómikroszkóp vázlatos rajza a sugármenettel.

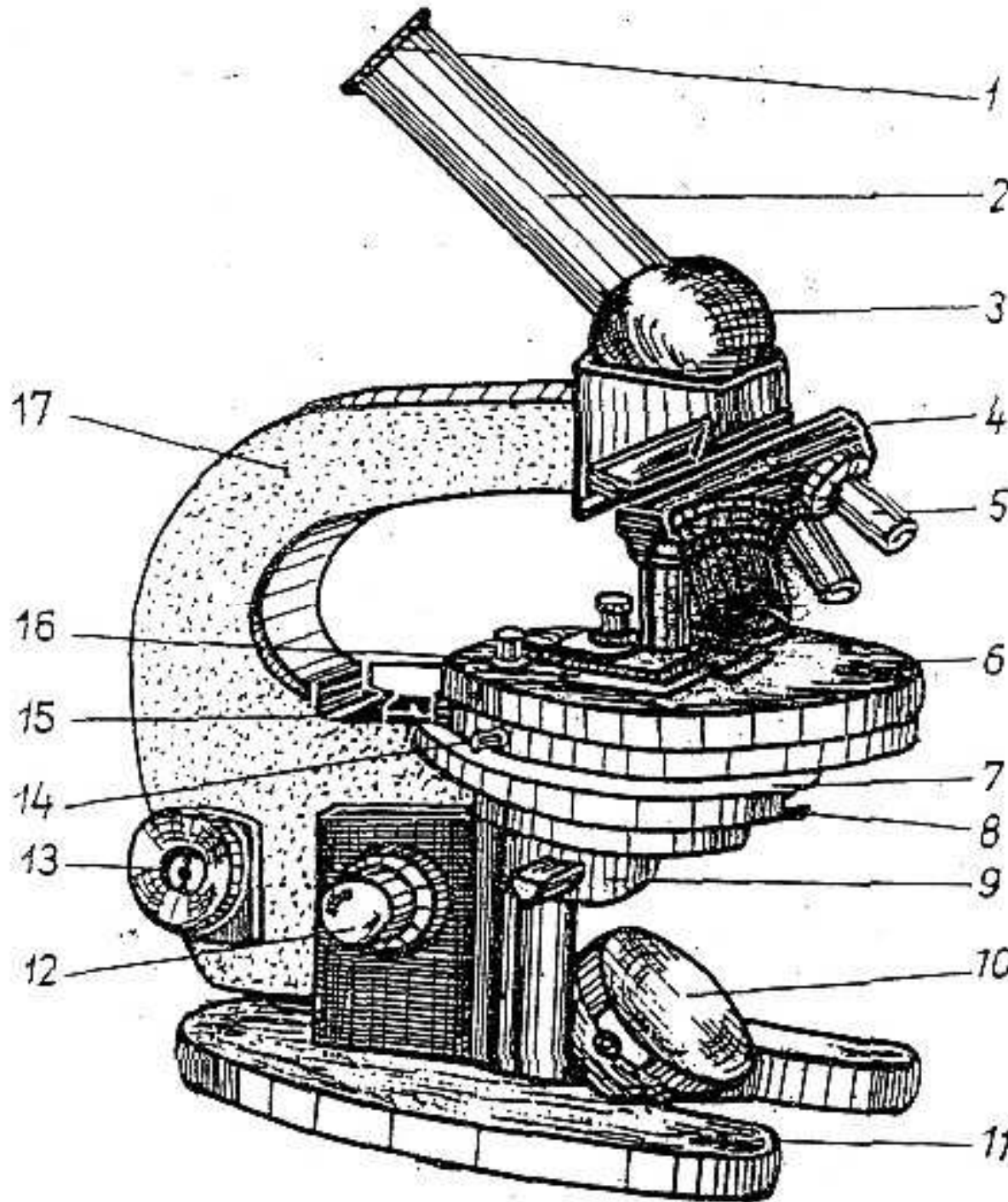


1-6. ábra. A fáziskontraszt elve.

A mikroszkóp részei

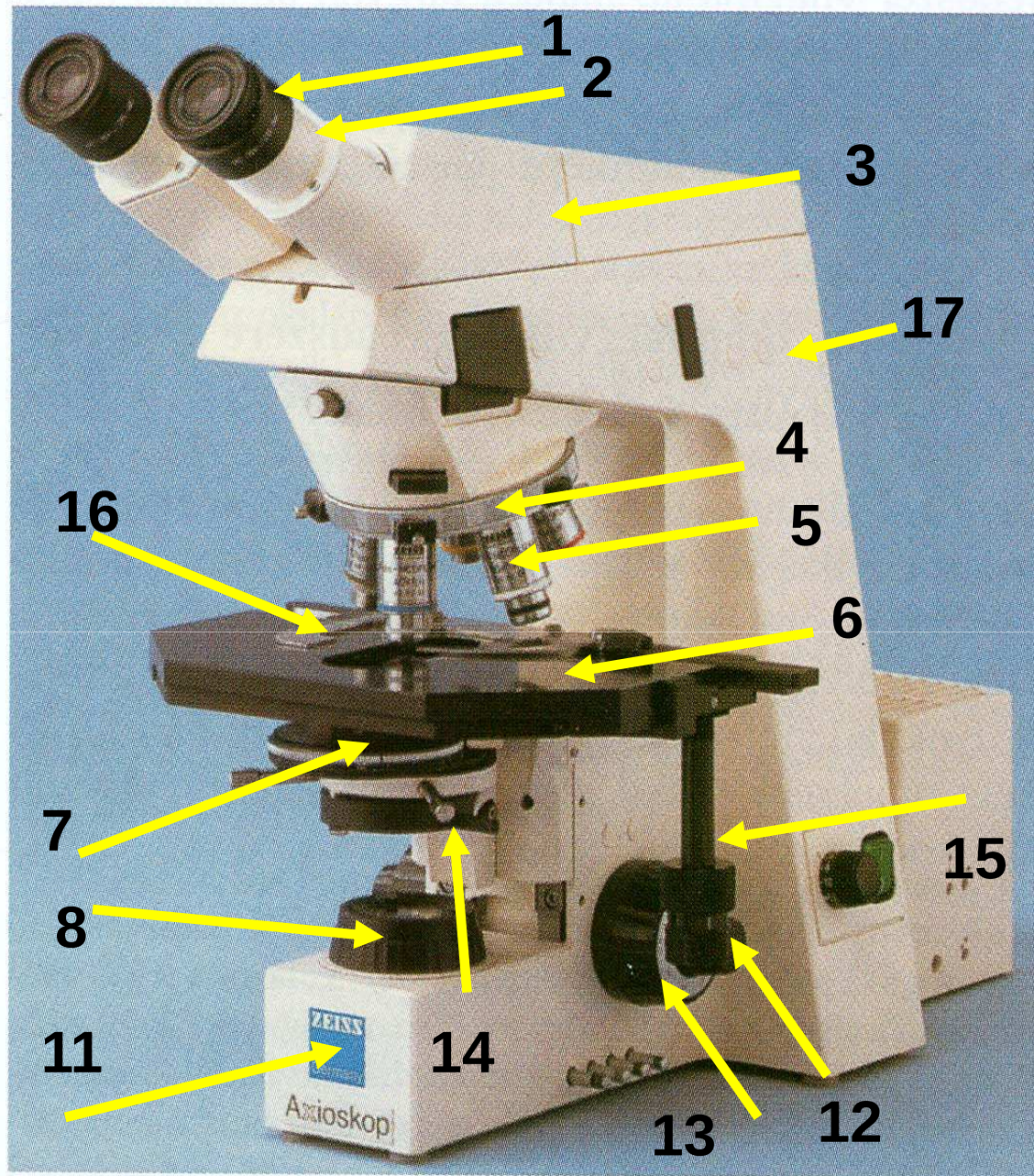
- **Tárgylencsék (objektív)**
 - a tárgyról fordított, valódi képet ad
- **Kondenzor**
 - rövid gyújtótávolságú, összetett gyűjtőlencse rendszer, amely fénysugarakat a tárgyasztal nyílásán át a tárgyra összpontosítja
 - ha nagy nagyítású az objektív: akkor a tárgy kis területét kell világítani- kondenzort felső állásba kell hozni
 - ha kis nagyítású az objektív: akkor a tárgy nagy területét kell világítani- kondenzort alsó állásba kell hozni
- **Színszűrők**
 - olyan színes üvegek, amelyek a különféle színű fénysugarakat különböző mértékben nyelik el.
 - pozitív szűrők (csak a saját színüket engedik át)
 - negatív szűrők (csak a saját színüket nyelik el)
 - semleges szűrők (összes színt gyengítik)

Mikroszkóp Külső megvilágítású



1. szemlencse (okulár)
2. tubus
3. prizmaház
4. revolverfoglalat
5. tárgylencse (objektív)
6. tárgyasztal
7. kondenzor
8. fényrekesz
9. a kondenzor mozgató csavarja
10. tükör
11. talp
12. mikrométercsavar
13. makrométercsavar
14. centrálócsavar
15. arretálócsavar
16. tárgylemezrögzítő kapocs
17. állvány

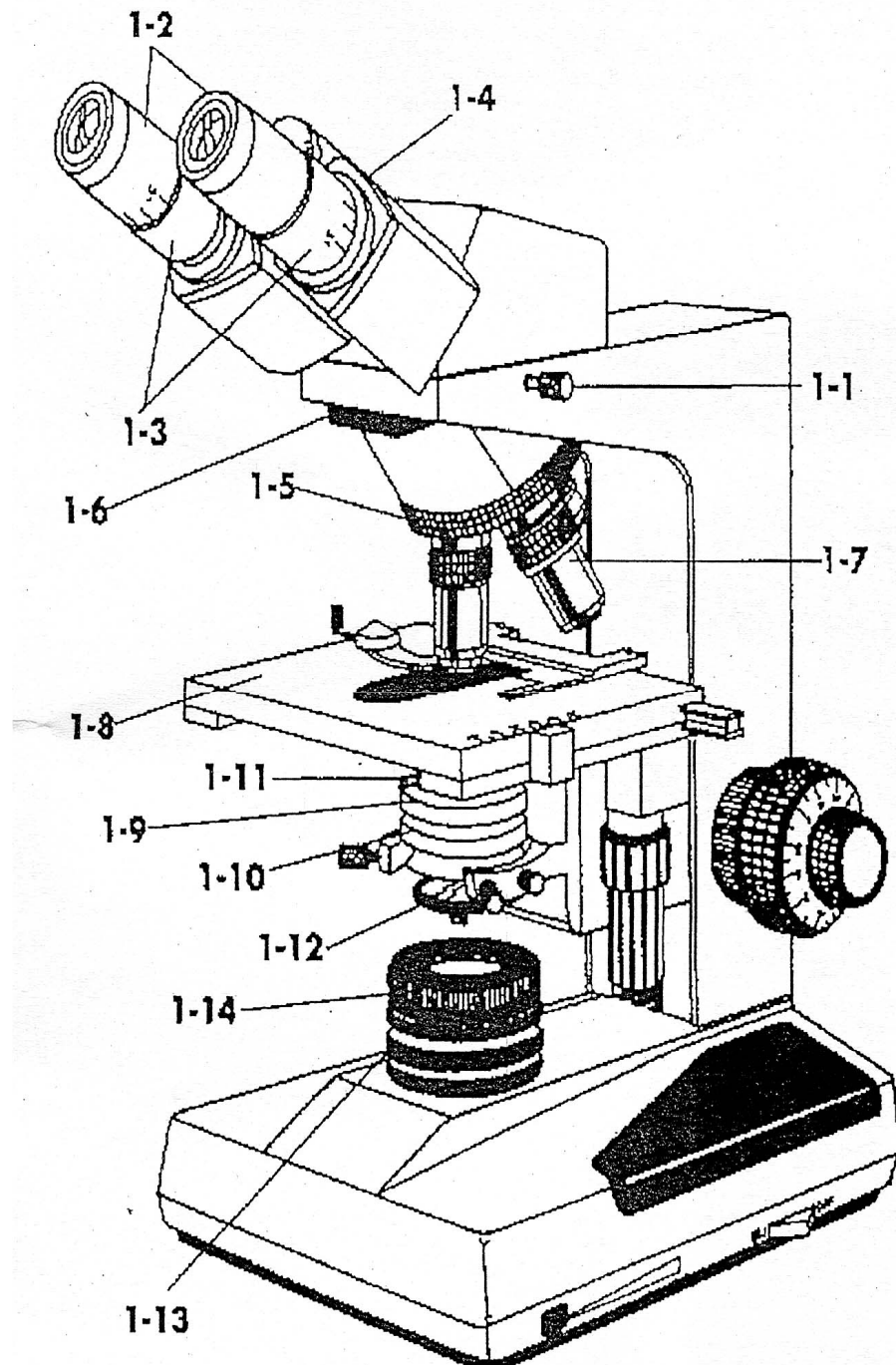
Zeiss mikroszkóp



- 1. szemlencse (okulár)
- 2. tubus
- 3. prizmaház
- 4. revolverfoglat
- 5. tárgylencse (objektív)
- 6. tárgyasztal
- 7. kondenzor
- 8. fényrekesz
- 9. a kondenzor mozgató csavarja
- 10. tükör
- 11. talp
- 12. mikrométercsavar
- 13. makrométercsavar
- 14. centrálócsavar
- 15. Tárgyasztal mozgató
- 16. tárgylemezrögzítő kapocs
- 17. állvány

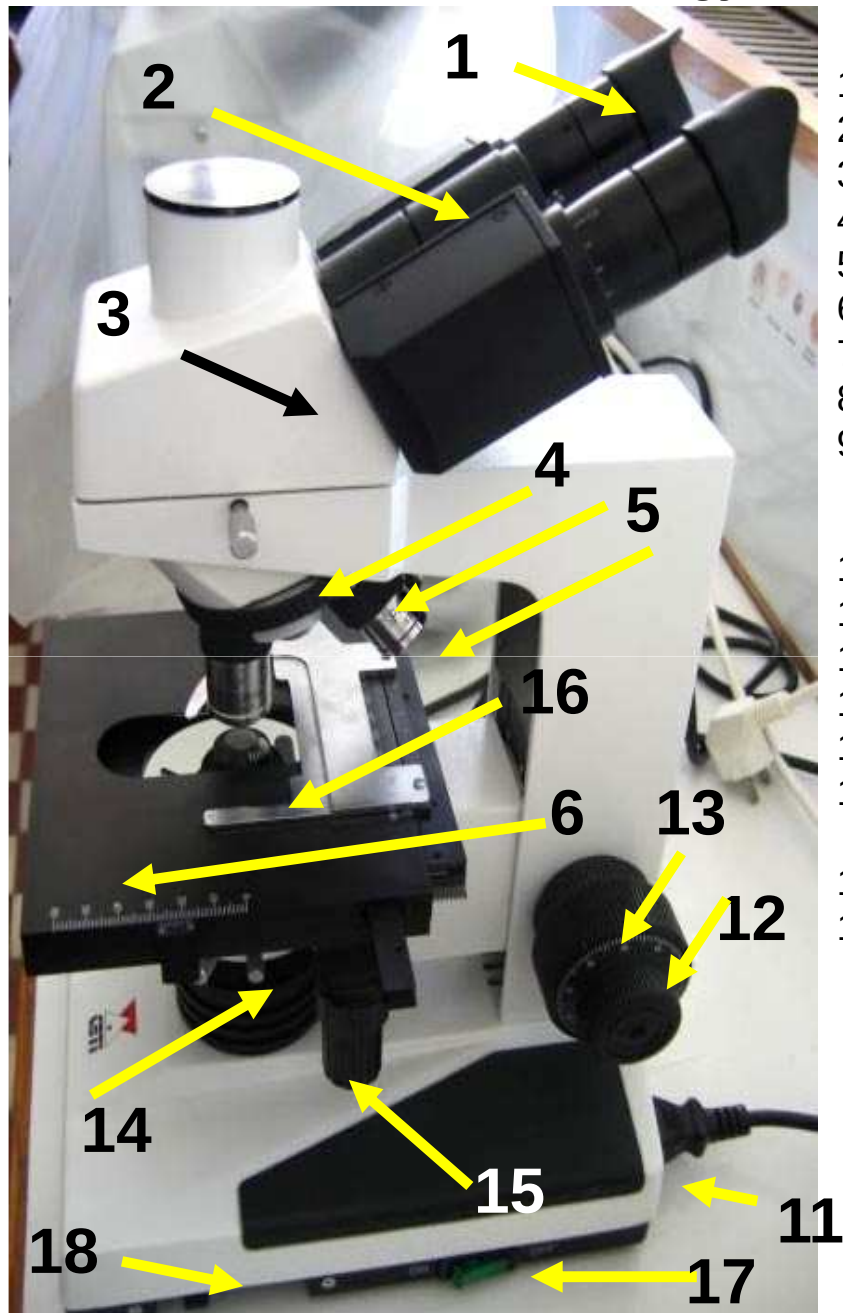
1-2. ábra. Laboratóriumi mikroszkóp fényképe (Zeiss Axioskop).

A gyakorlaton alkalmazott mikroszkóp



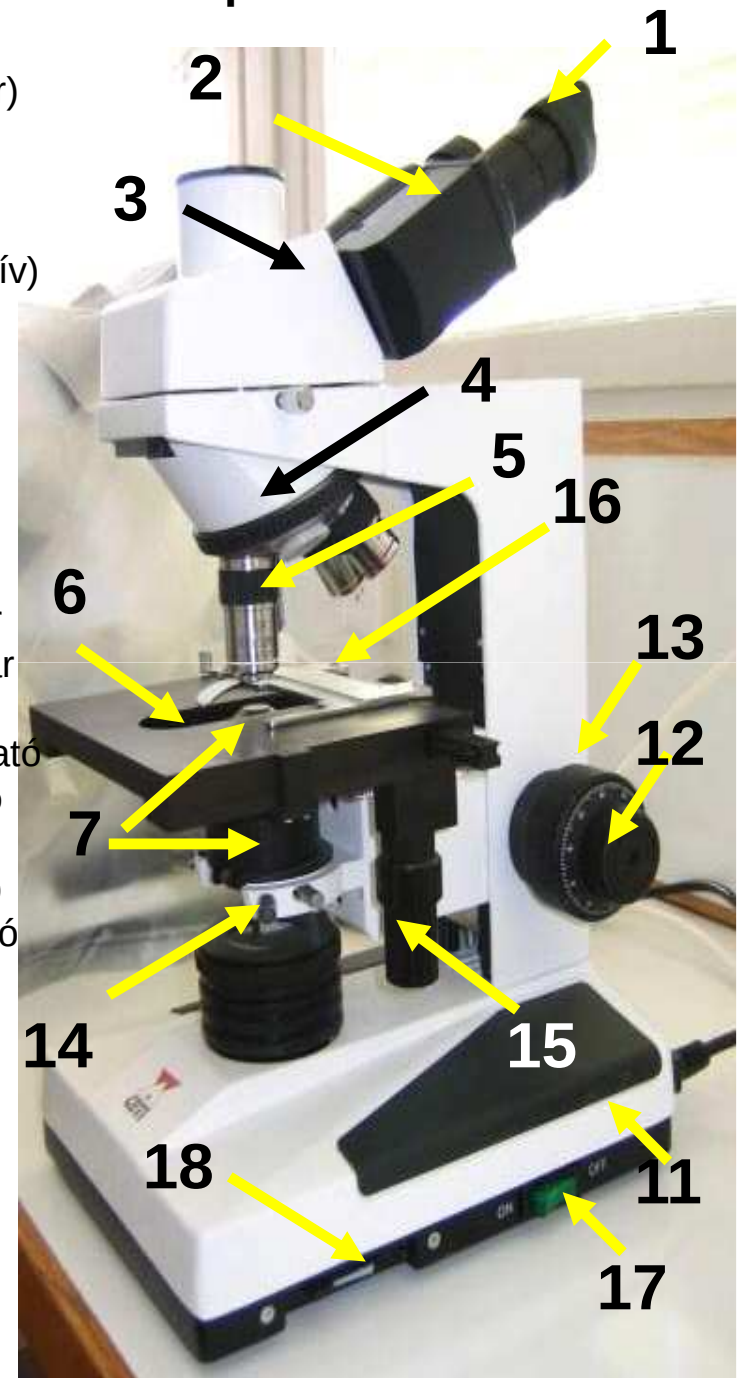
- 1-1 Fejrögztő csavar
- 1-2 Okulár (10x)
- 1-3 Állítható skálázott fókuszállító
- 1-4 30°-ban döntött binokuláris fej
- 1-5 Revolverfej 5 objektívhellyel
- 1-6. Analizátor-szűrő beillesztési nyílás
- 1-7 Objektívek (4x, 10x, 40x, 100x olaj)
- 1-8 Talapzat beépített mechanikus asztallal
- 1-9 Világos Látóterű Abbe-kondenzor
- 1-10 Polarizátor beillesztési nyílása
a kondenzátorba
- 1-11 Apertura-szabályzó írisz-blende
- 1-12 Szűrőtartó
- 1-13 Mozgatható előkondenzor
- 1-14 Mezőrekesz állító írisz-blende

A gyakorlaton használt mikroszkóp

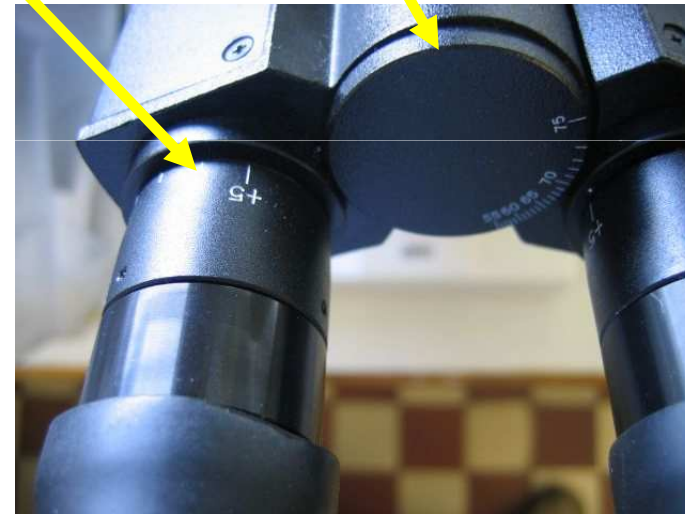
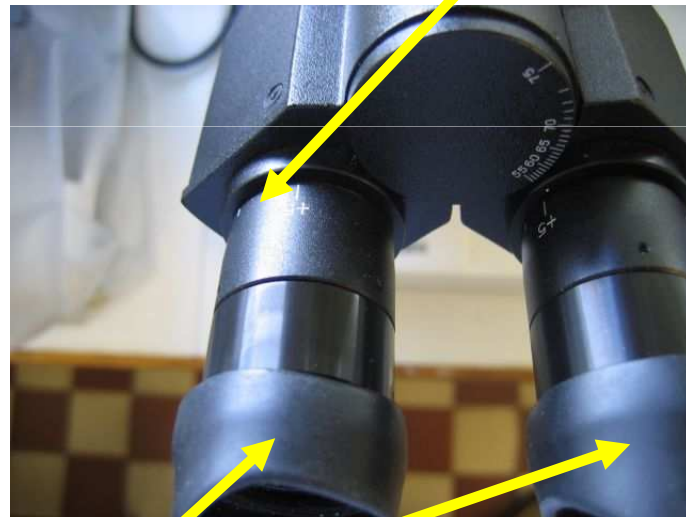


1. szemlencse (okulár)
2. tubus
3. prizmaház
4. revolverfoglat
5. tárgylencse (objektív)
6. tárgyasztal
7. kondenzor
8. fényrekesz
9. a kondenzor mozgató csavarja

11. talp
12. mikrométercsavar
13. makrométercsavar
14. centrálócsavar
15. Tárgyasztal mozgató
16. tárgylemezrögzítő kapocs
17. Bekapcsoló gomb
18. Fényerő szabályzó



Az okulár

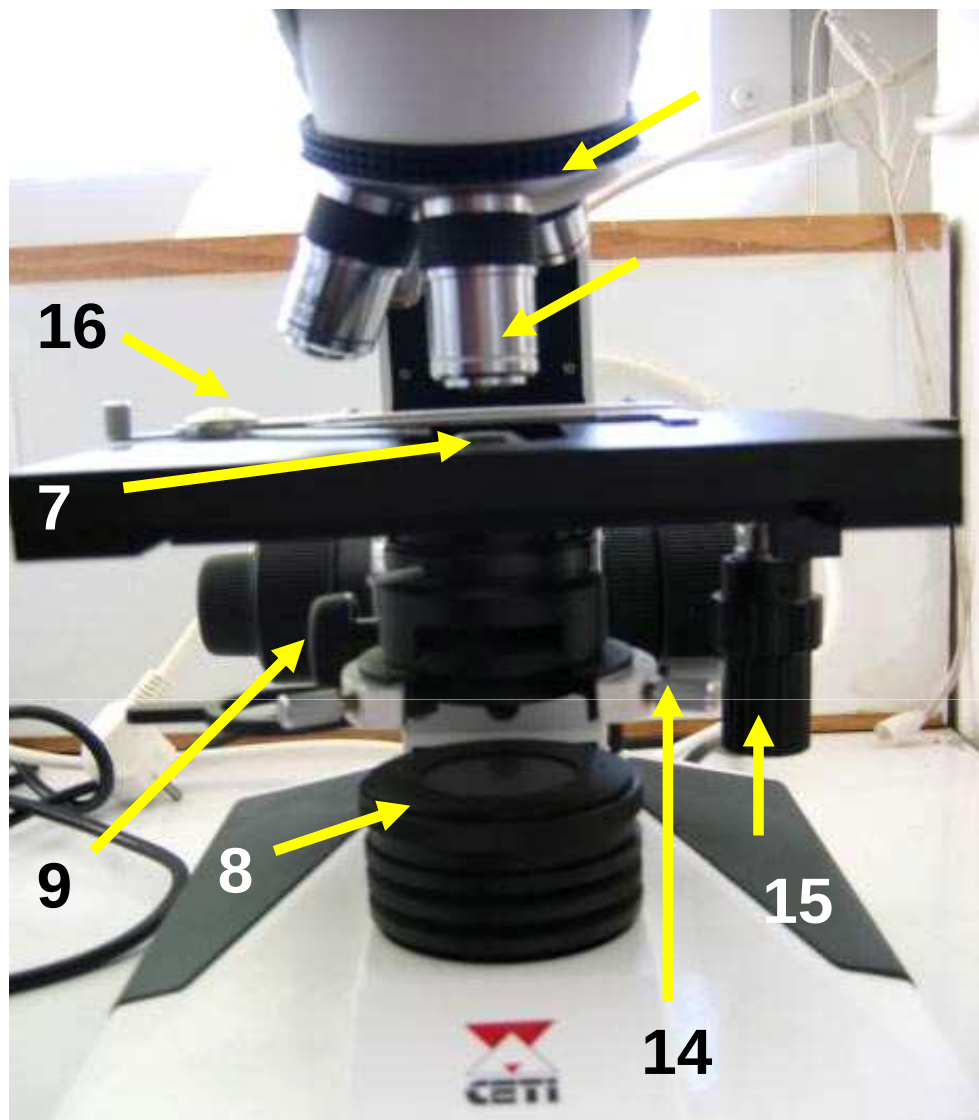


1-2

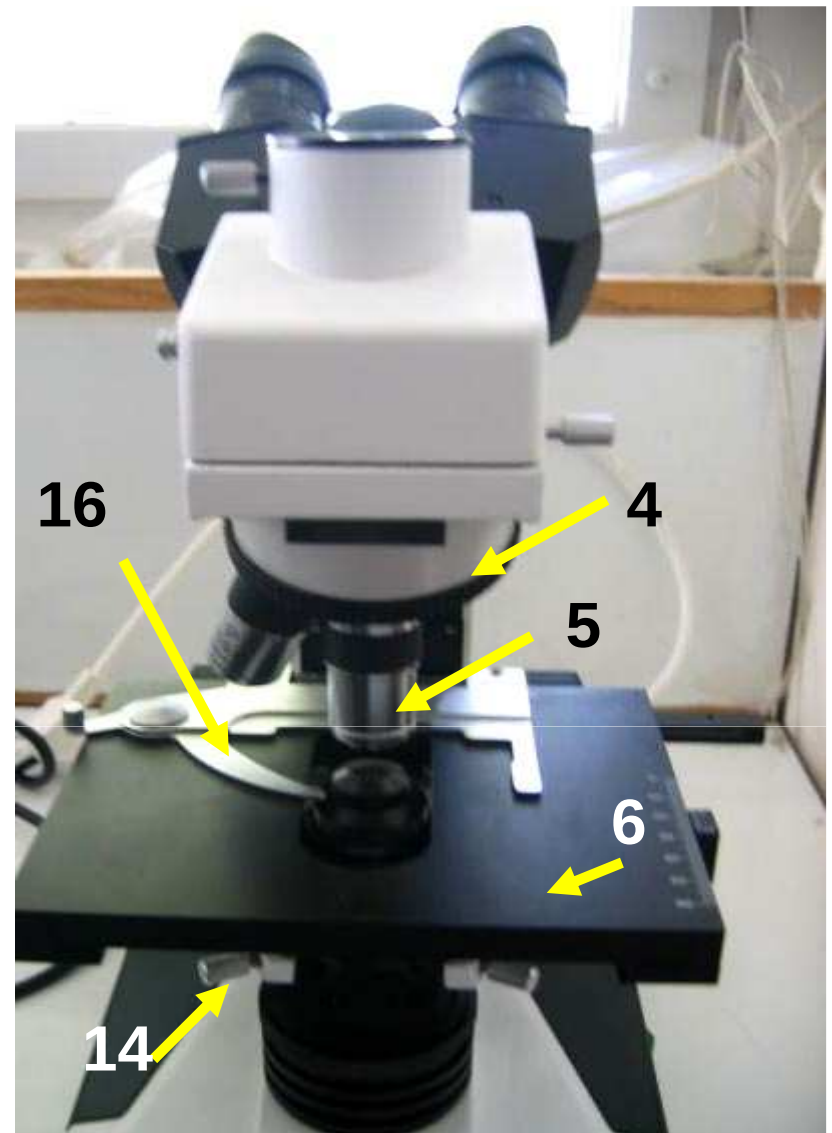
1-2 Okulár (10x)

1-3 Állítható skálázott fókuszállító

1-15 szemtávolság állító



- 6. tárgasztal
- 7. kondenzor
- 8. fényrekesz
- 9. a kondenzor
mozgató csavarja



- 4. revolverfoglat
- 5. tárgylencse (objektív)
- 14. centrálócsavar
- 15. Tárgasztal csavar
- 16. tárgylemezrögzítő
kapocs



A gyakorlatokon használt objektívek

Az objektív szám feliratai:

Első szám (40)

nagyítás

Második szám (0,65)

numerikus apertura

Harmadik szám (160)

tubushossz

Negyedik szám (0.17)

max használható

fedőlemez vastagság



Az objektív betű feliratai:

Apo (apokromát)

objektív színhibát
nem okoz

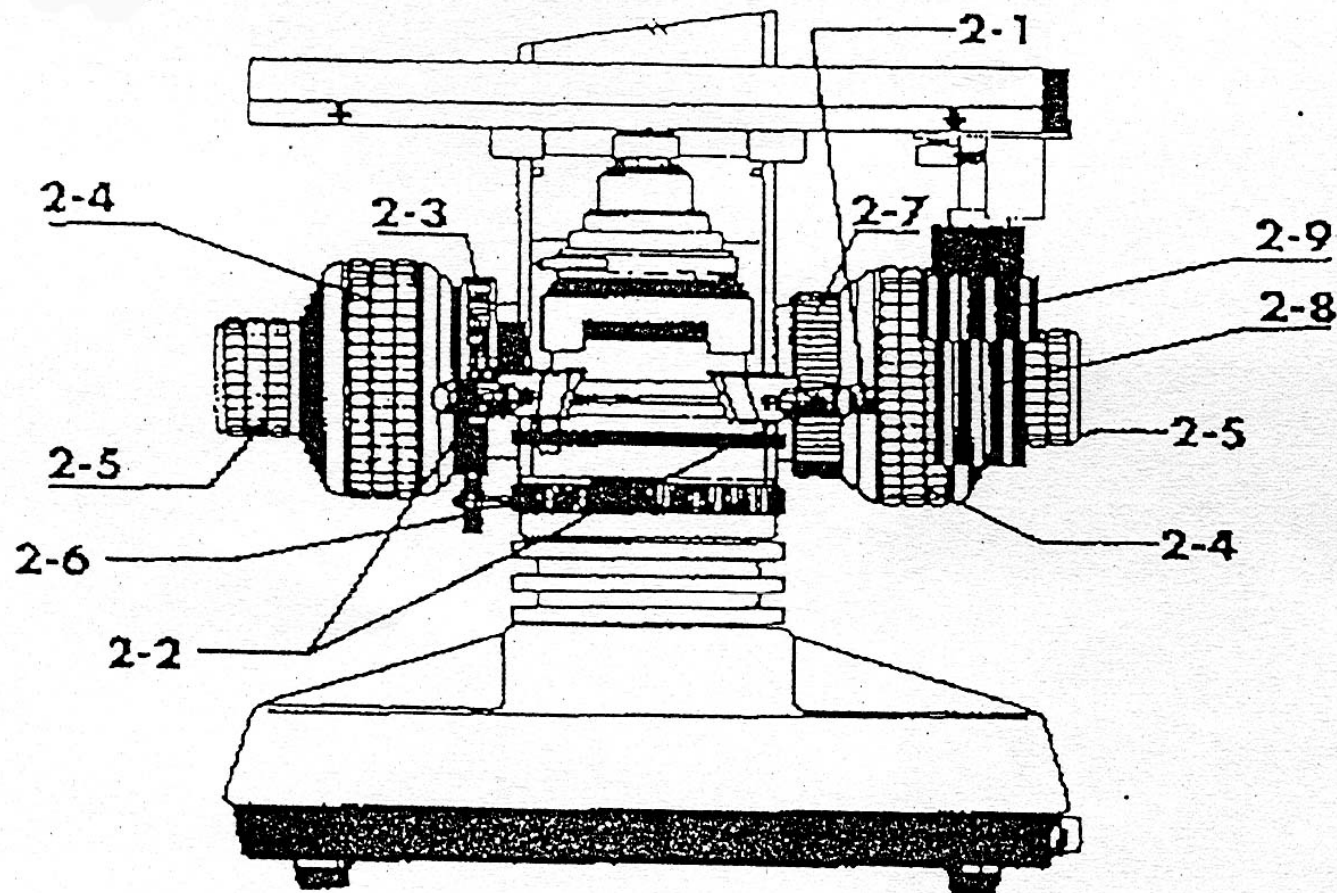
HI

csak immerziós
olajjal használható

SP

normál





2-1 Kondenzor rögzítő csavar

2-3 Kondenzor magasság beállító gyűrű

2-5 Finomfókusz-beállító gomb

2-7 Feszültség beállító gyűrű

2-9 Tárgyasztal előre-hátra mozgató gomb

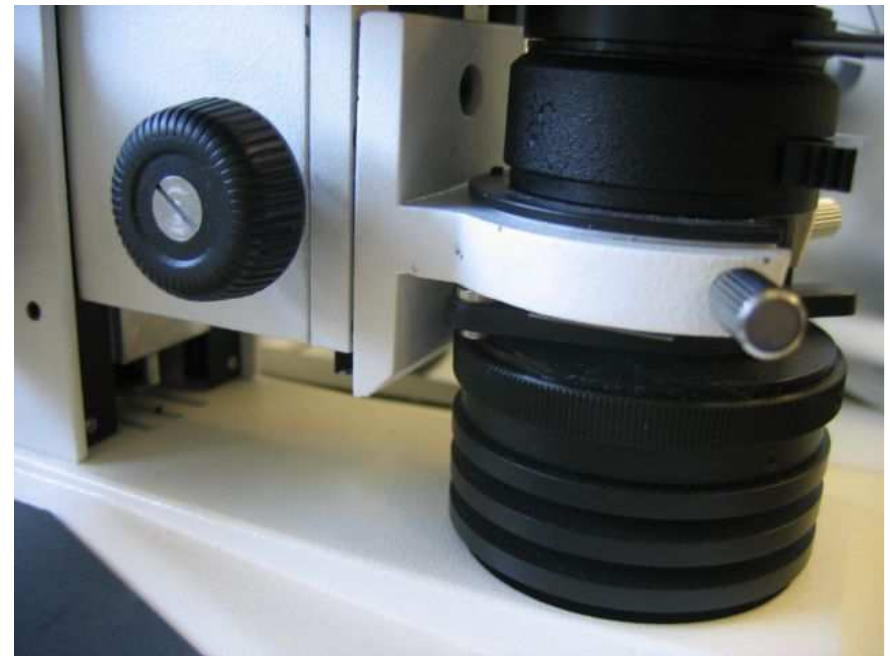
2-2 Kondenzor központosító csavarok

2-4 Fókusz beállító gomb

2-6 Előfókusz kar

2-8 Tárgyasztal oldalirányú mozgató gomb

Kondenzor



Kondenzor

Alsó állásban



felső állásban

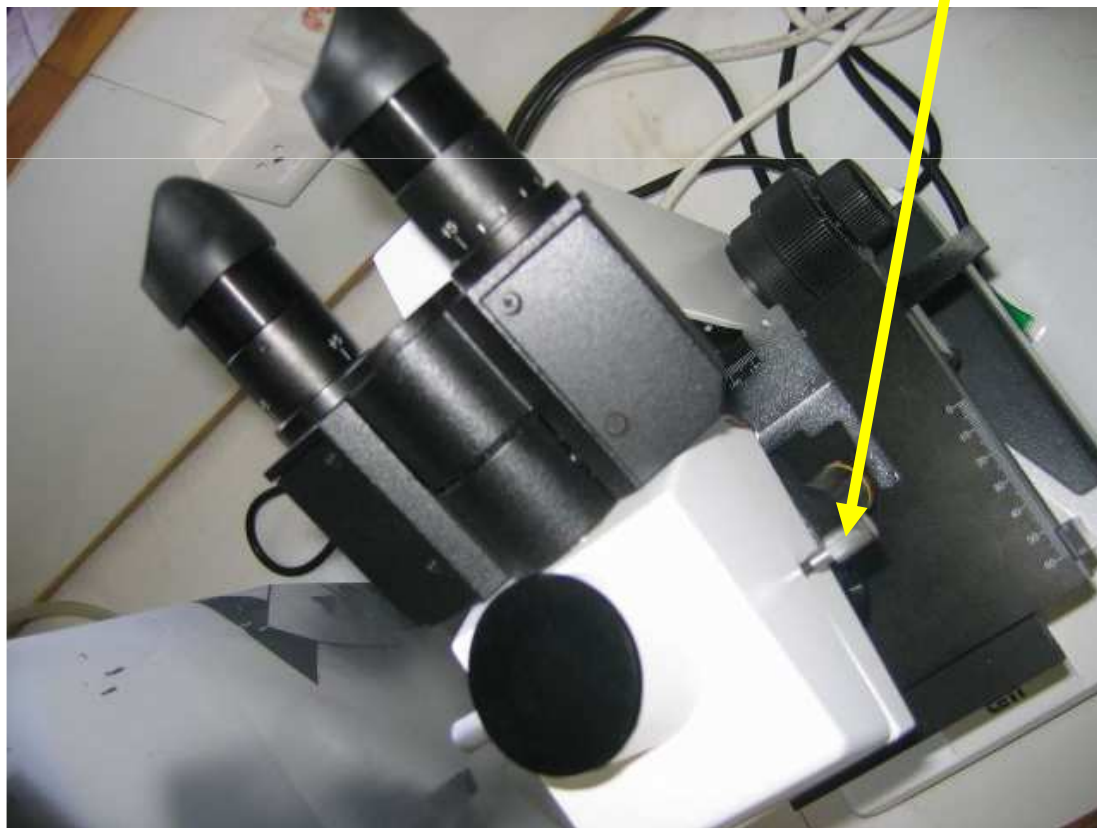


A mikroszkóp beállítása

- A látómezőt élesre állítjuk az objektívvel
- A látótérrekeszt maximálisan beszűkítjük
- A rekesz szélét a kondenzor le-fel mozgatásával élesre állítjuk
- A rekeszt addig nyitjuk ki, hogy a széle a látótér széléig érjen
- (ha nem központos a rekesz nyílása, akkor a centráló csavarokkal központosítani kell)

A mikroszkóp tárolása

Fejrögztítő csavar



Műszerismeret alapjai

Ingerlési módok:

Elektromos; fény, mechanikai, kémiai, hő...

Árammal:

1. Polarizálás:

állandó árammal,

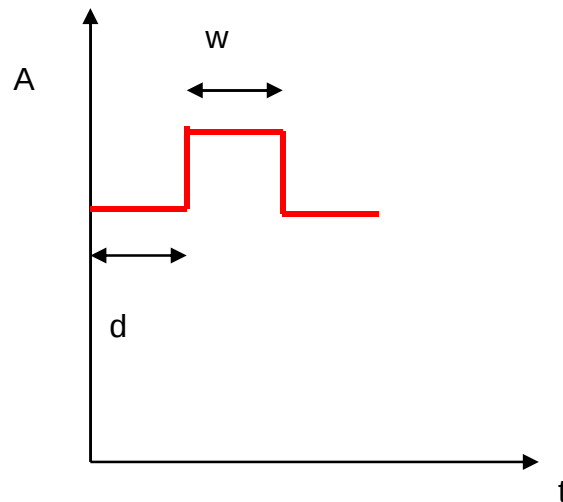
a polarizáló áram, függetlenül a vizsgált szerv ellenállásától a beállított értéken marad.

Az áram nagyságát addig emeljük, még a kívánt hatást el nem érjük.

2. elektromos impulzussal

Négyszögimpulzus jellemzői

Amplitúdó, időtartam, polaritás, frekvencia



D: delay – késleltetés
W: with – szélesség
A: amplitúdó – a jel nagysága
F: frekvencia – $1/T=f$

Single üzemmód – csak egy jel megy ki

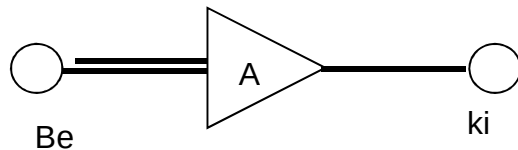
Átalakítók, erősítők

- **Átalakítók (transducerek)**
- Nem elektromos mennyiséget arányosan elektromos mennyiséggé alakítják át
- Valamilyen elektromos áramköri elem paraméterét megváltoztatja a vizsgált jelenség.
- PI: nyomásmérő (elektromechanikus átalakító)
- Laprugó nyúlása – megváltozik az ellenállása – feszültséggel kimutatható változás

Erősítők

A szervezetben mikro, nano, mili amper van – ezeket fel kell erősíteni

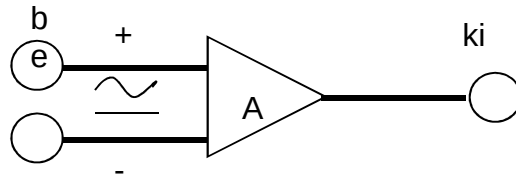
A kis feszültségű bioelektromos potenciálok amplitúdóját növelik meg oly mértékben, hogy azok későbbi feldolgozásra, regisztrálásra alkalmasak legyenek.



$$\text{Az } A = V_{ki} / V_{be} = I_{ki} / I_{be}$$

Ha 1-nél nagyobb, akkor beszélünk erősítőről

Az erősítés akár több 1000x-es is lehet.



Biológiai
objektum

Kioltódás= azonos fázisú
jel elnyomása

A biológiai jeleket fel kell erősíteni, a nem biológiai, zavaró jeleket ki kell hagyni

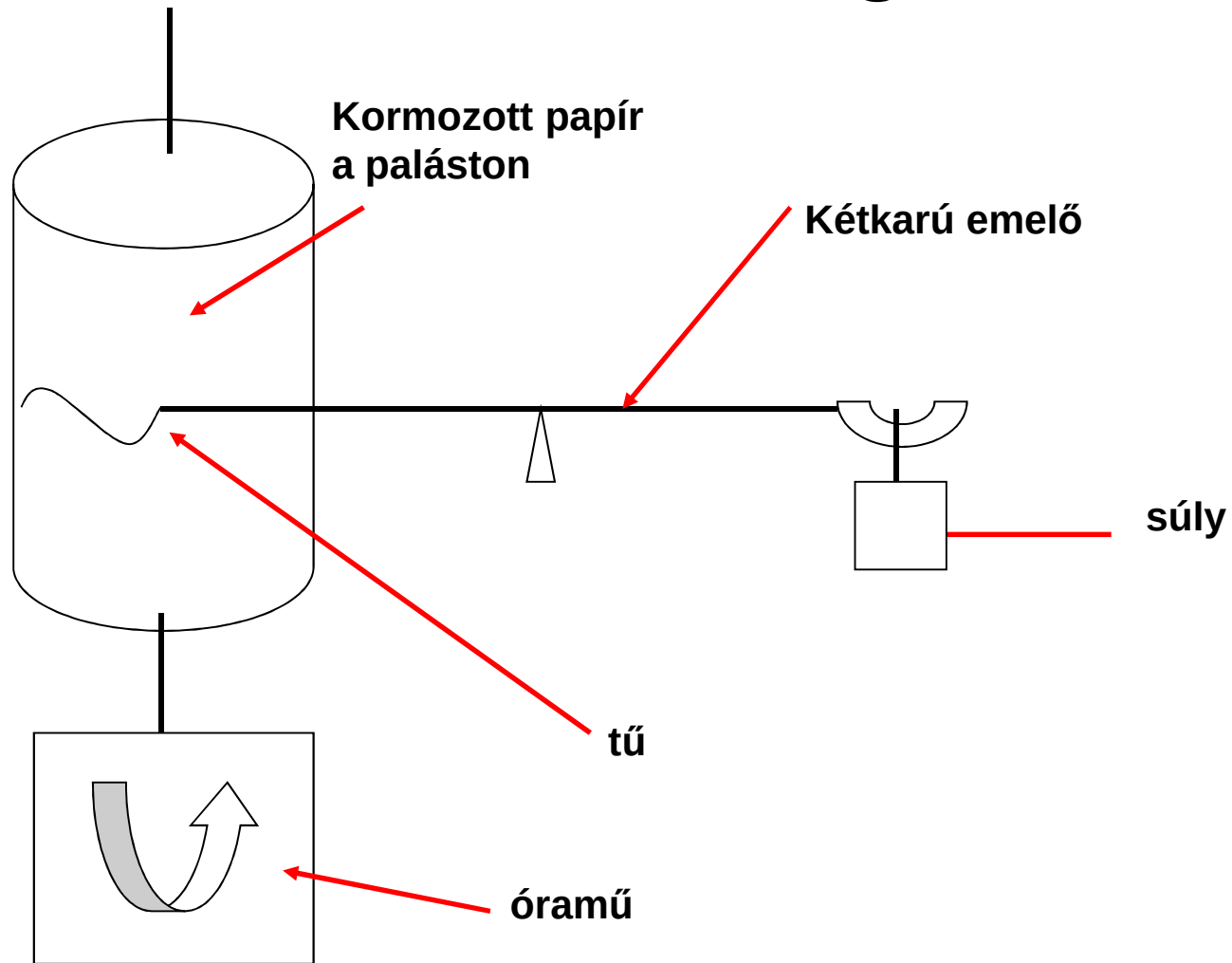
Erősítők

- **Differencia erősítő** (a két bemeneti pontjuk közötti különböző fázisú jeleket erősítik)
- **Elektronikus szűrő áramkörök**
 - A biológiai jel frekvenciatartományába nem tartozó frekvenciák eltávolítására
 - PI: a hálózati 50 Hz-es jel eltávolítása
 - Aluláteresztő, felüláteresztő, lyukszűrő, sávszűrő

Megjelenítő és adatfeldolgozó készülékek

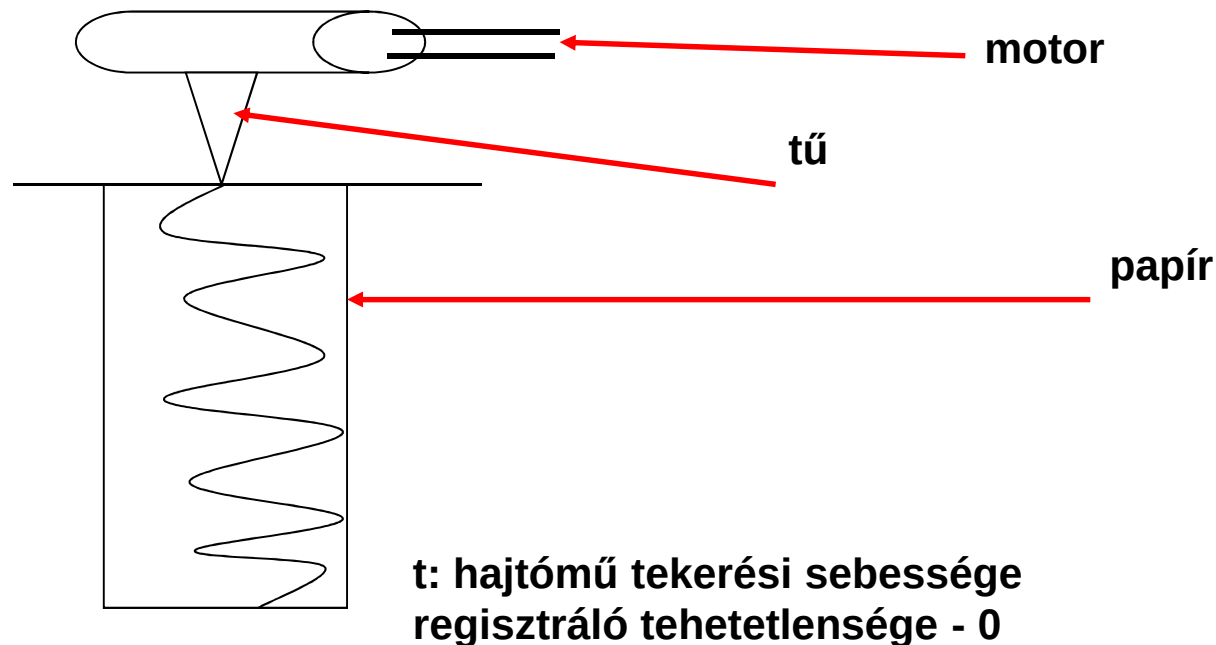
- **Rekorderek**
- Feladatuk a vizsgált jelenség időbeli változásának, illetve valamilyen hatás számszerű értékének analóg vagy digitális megjelenítése.
- **Kimográf**
- az időtengelyt a kerületi sebesség határozza meg
- az amplitúdó a kétkarú emelő kalibrálásával (áttétek változtatása) változtatható

Kimográf



direktíró regisztráló

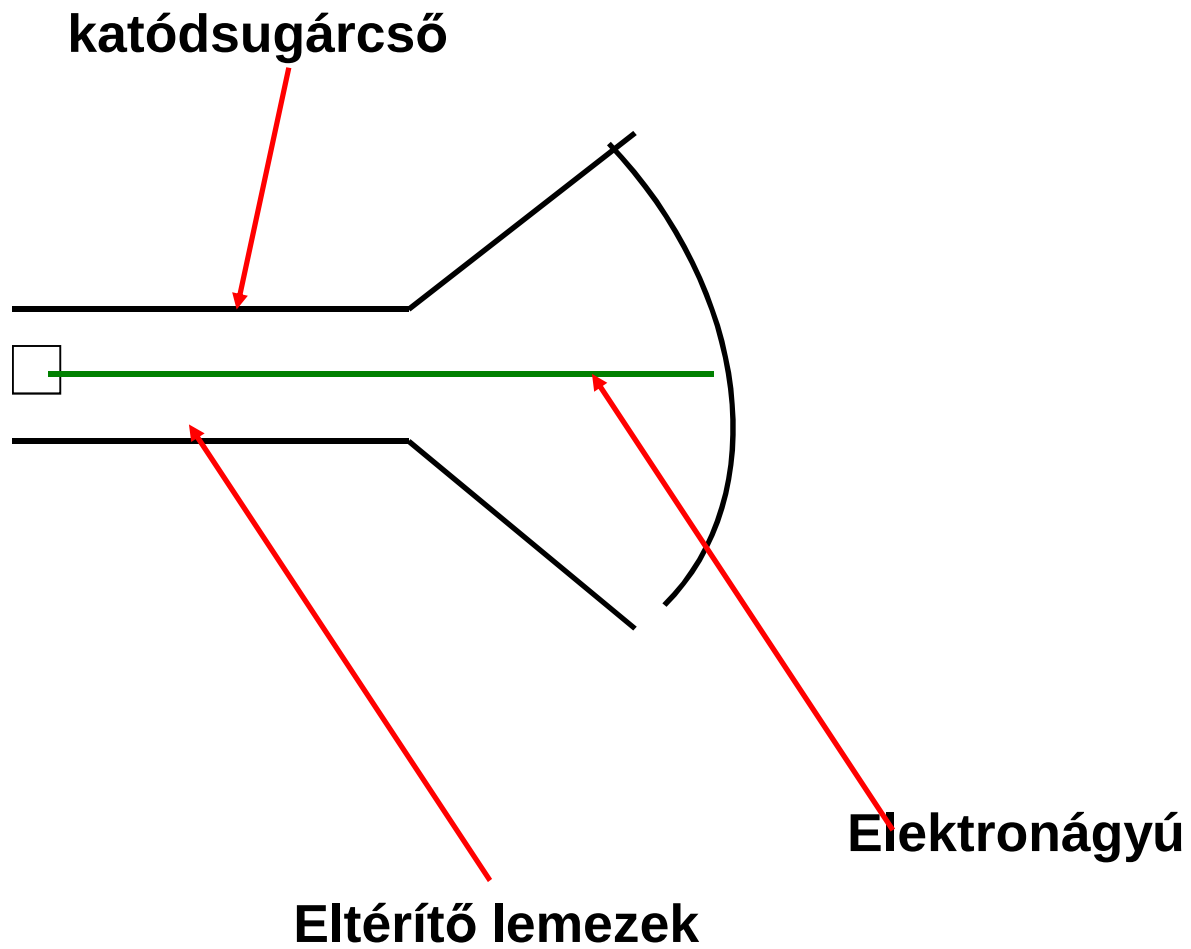
- gyors változás regisztrálására nem alkalmas
- A motor ide-oda húzogatja a tollat.



elektronsugár oszcilloszkóp

- az időtengelyt a katódsugár csőre egy állandó sebességgel futó vízszintes elektronsugár rajzolja.
- Az elektronsugár függőleges kitérése a vizsgált jel nagyságával arányos
- Beosztása. **Divízió**
- Regisztráció, archiválás:
 - Filmkamera
 - Képcsövön tárolt
 - Ha az e- áthalad rajta, akkor ott martad a nyoma
 - Digitálisan tárolt

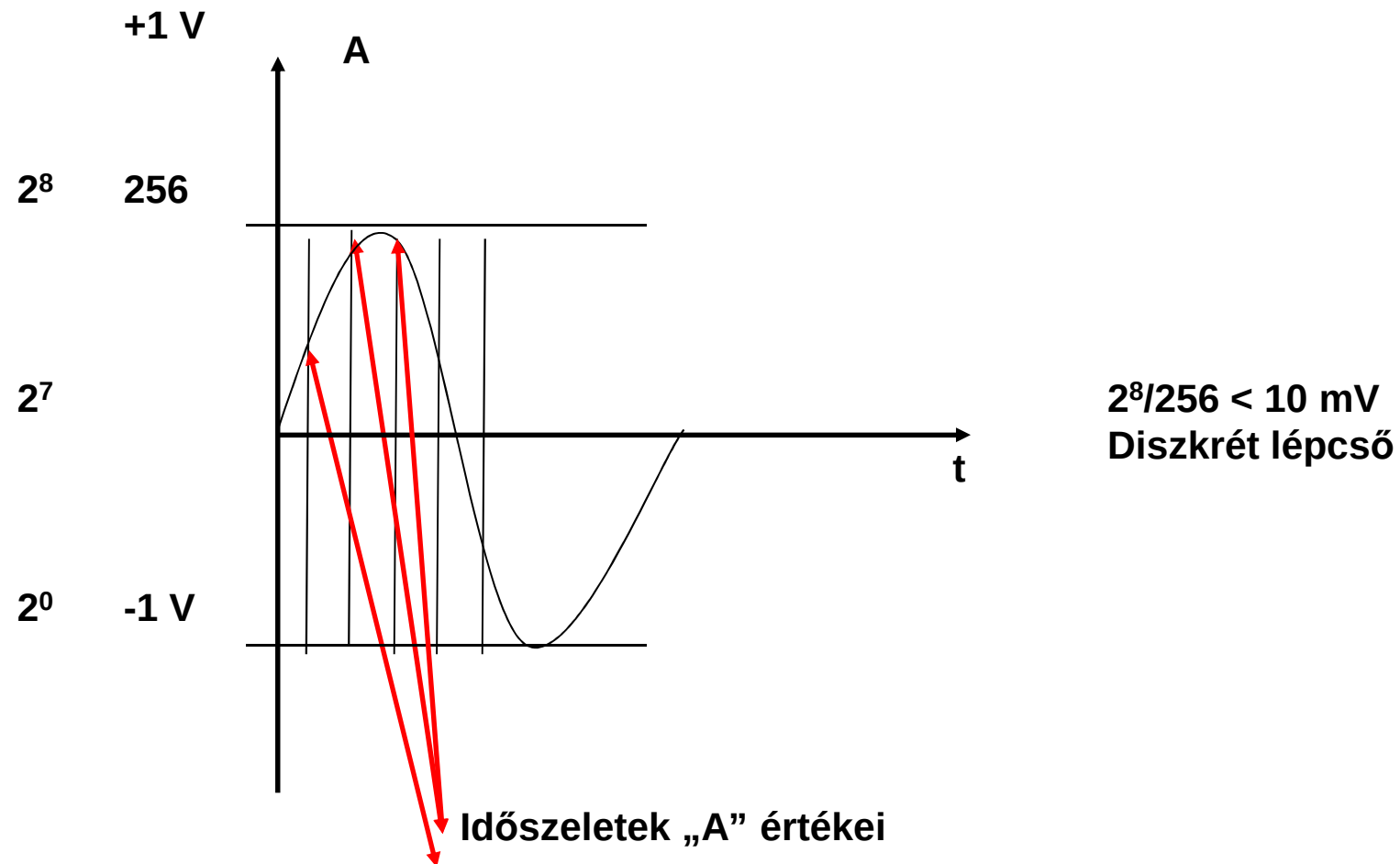
oszilloszkóp



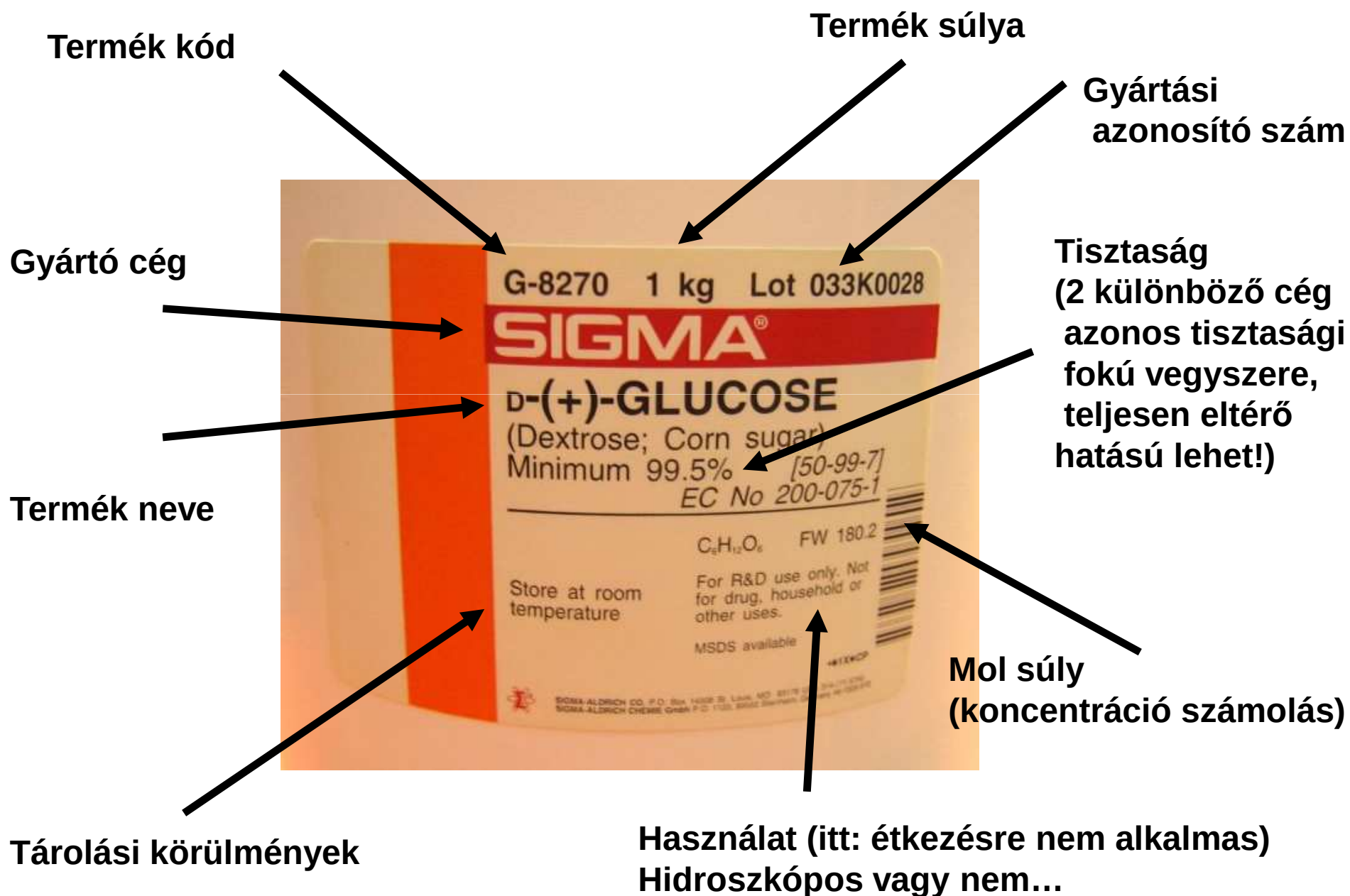
számítógépes megjelenítő és adatfeldolgozó módszerek

- megjelenítés, tárolás, feldolgozás
- A biológiai jel spektruma folyamatos, a számítógép csak a **diszkrét adatokkal** tud dolgozni.
- **analóg-digitál konverterek (AD konverterek)** alakítják át a biológiai jelek folytonos spektrumát diszkrét jelekké
- Működésük lényege, hogy az időben folyamatos analóg jelet, **időszelletekre** osztja és minden időszelvényben megjelenő jel amplitúdójához nagyságának megfelelő számot rendel.
- Az analóg jelekből **binális számsorokat** kapunk, ezt már tudja használni a számítógép

Számítógép



A biológiai labormunkához elengedhetetlen kémiai alapfogalmak



Oldatok készítése

- **Mólos oldat** az anyag molekulasúlynyi (móltömeg) mennyiségét tartalmazza 1 liter térfogatban
- **Normál oldat** az anyag **egyenértéksúly**nyi mennyiségét tartalmazza 1 liter térfogatban.
- Egy sav vagy bázis egyenértéksúlya attól függ, hogy hány H^+ -t képes leadni vagy felvenni.
- Egysége: 1 **N** (egyenértéksúly g/l)

Hígítások

- **1. Százalékos oldat készítése**
- 1.a. **Tömeg % (w : w)**
- g oldott anyag 100 g végtérfogatú oldatban
- 1.b. **Vegyes % (w : v)**
- 10 g anyagot olyan térfogatú vízben oldunk, hogy a feloldás után a végtérfogat 100 ml legyen.
- 1.c. **Térfogat % (v : v).**
(oldatok esetén)

Oldatkészítési szabályok

- **Számolás**
- **Anyagok bemérése**
vissza nem rakunk anyagot
- **Pipettázási szabályok**
üvegbe nem nyúlunk bele pipettával
- **pH beállítás**
a végső térfogat beállítása előtt
- **Térfogat beállítás**

Az oldatok kémhatásának fogalma, mérése és beállítása

- **A pH fogalma**
- **A H^+ koncentráció**
a konjugált sav/bázis párok összetevőinek arányából a **Henderson-Hasselbalch** egyenlet alapján határozható meg.
- $pH = -\log[H^+] \text{ (mol/l)}$
- **Konjugált sav/bázispárt** alkot a disszociálatlan sav és a disszociációjakor keletkező anion , a bázis együttese

pH fogalma

- $\text{Sav} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{bázis}$ (**deprotonált sav**)
- Disszociáció mértékét:
- $K_d = \frac{[\text{H}^+] \times [\text{bázis}]}{[\text{sav}]}$ disszociációs konstans
szabja meg
- Logaritmizálva: $\log K_d = \log[\text{H}^+] + \log (\text{bázis/sav})$
- Továbbrendezve:
 $-\log[\text{H}^+] = -\log K_d + \log (\text{bázis/sav})$
mivel $-\log[\text{H}^+] = \text{pH}$ és $-\log K_d = \text{pK}_d$

$$\text{pH} = \text{pK}_d + \log (\text{bázis/sav})$$

pH mérése



Kombinált üvegelektrod



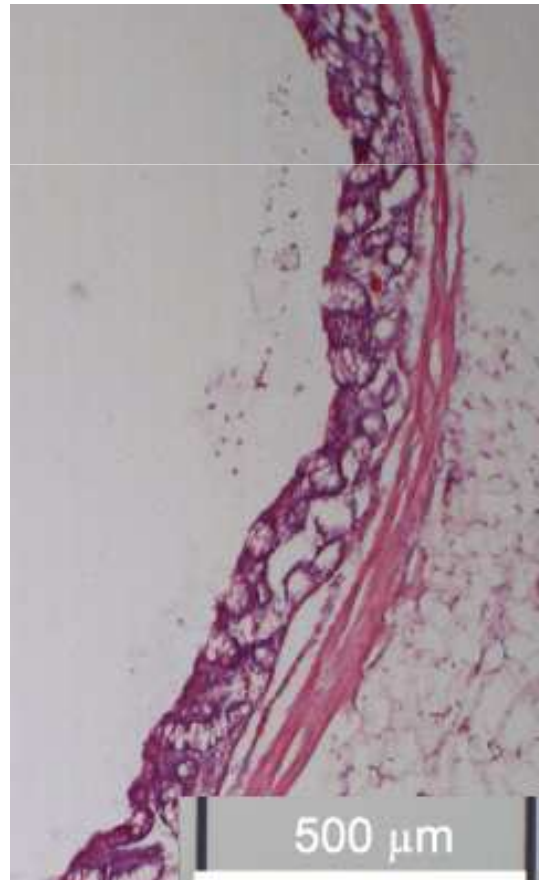
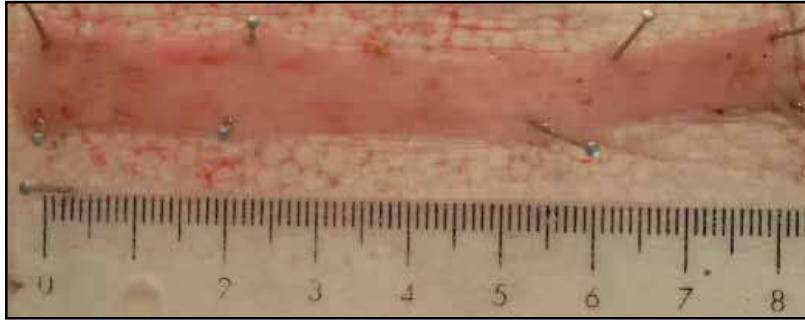
A kombinált üvegelektrod használata

pH mérő használata

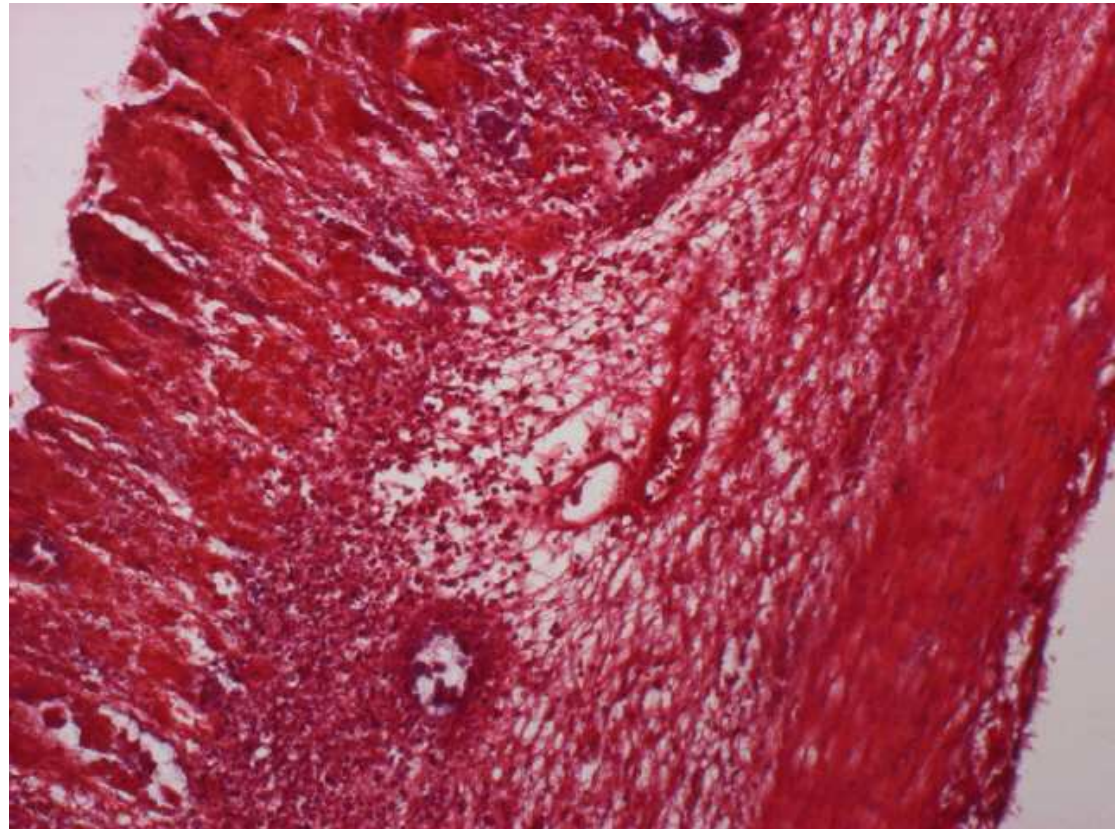
- Típusok
indikátoros, elektromos
- Használat
kalibrálás, mérés
- Karbantartás
- Oldatkészítés

Szövettan

Normál vastagbél



gyulladt vastagbél



Minta előkészítés, homogenizálás

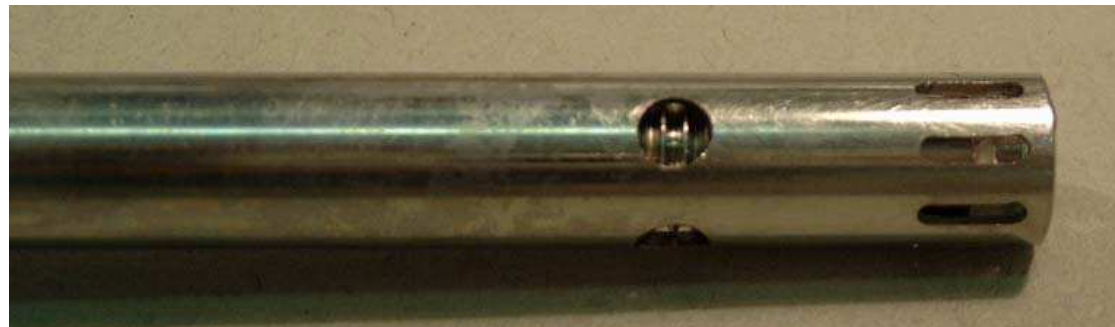
Forgókés



Ultra-thurax használata

- hűtve használjuk
- Adott sebességen mindig
- adott ideig mindig
(3 x 20 sec nem = 1 x 60 sec!)
a forgás hőt termel-elbomlik

Ultra-thurax



Fehérjetartalom meghatározása

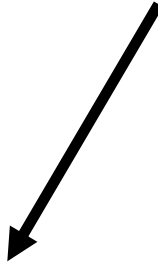
- Biuret próba
- Folin módszer
pontosabb, de körülményesebb
- Bradford módszer
rutin laborban ezt használják

Fehérje meghatározás

(Bradford protein mikromethod)

1/ standard: BSA – 0.4 mg/ml eppendorfban
(BSA= bovine serum albumin)

2/ standard hígítási sor

	μl BSA	μl H ₂ O	μg BSA	Ismert fehérje Koncentráció sorozat készítése
1	0	1000	0	
2	5	995	2	
3	10	990	4	
4	15	985	6	
5	20	980	8	
6	25	975	10	

Mérés

3/ Minta hígítás:

- a/ 20 μ l minta felülúszó + 480 μ l deszt. víz. (25x hígítás)
eppendorfba
- b/ 20 μ l hígított minta + 980 μ l desztvíz

4/ 200 μ l Braddford reagens mindegyik eppendorfba
(standardok + a hígított minták (b))

5/ 5 perc várakozás

6/ 200 μ l standardot vagy mintát 96 lyukú Elisa plate-be bemérni

7/ **mérés : 595 nm-n** (a minták stabilak kb. 1 órán át)

8/**számolás:** $X \mu\text{l} + (1000-X) \mu\text{l H}_2\text{O}$

Vegyelemzés

- **Spektroszkópia (színképelemzés)**
- Kromatográfia
- Módszerek
 - Papírkromatográfia
 - Oszlopkromatográfia
 - Rétegekromatográfia
- Típusai
 - Gélkromatográfia
 - Folyadékkromatográfia
 - Gázkromatográfia
- Elektroforézis

Spektroszkópia

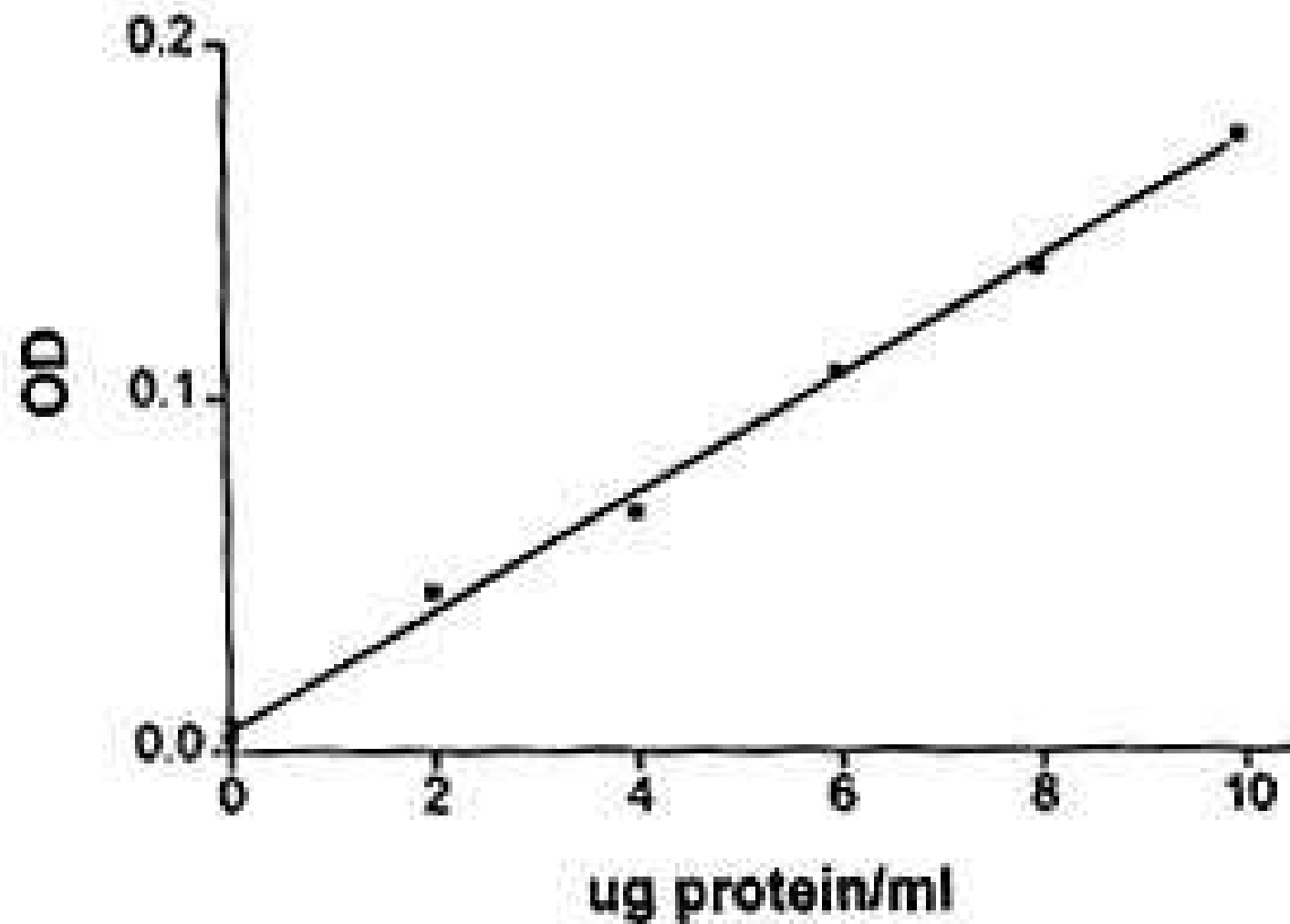
- A spektrofotometriás analízis az oldatok fényelnyelésére vonatkozó **Lambert–Beer törvényen** alapul.
- Ha az oldat 1 cm rétegén I_0 intenzitású monokromatikus fény halad keresztül, akkor a fény hullámhosszától függő mértékben annak egy része elnyelődik, más része, I áthalad.
- A fényelnyelés (abszorpció) nagysága arányos az oldat koncentrációjával (c).

$$E = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \times c \times l$$

- ahol az
 - E **extinkció** = $\log I_0/I$;
 - ε az oldott anyag moláris **extinkciós koefficiense**,
amely megadja, hogy adott hullámhosszon,
1 cm fényút esetén az 1 M-os oldat mennyi fényt nyel el;
 - l az oldat rétegvastagsága (cm).
- Azt, hogy az oldat mennyi fényt enged át, a **transzmisszió (T%)** értéke fejezi ki:

$$\text{Transzmisszió(\%)} = T\% = \frac{I}{I_0} \times 100 \qquad E = \log \frac{100}{T\%}$$

Standard fehérje



Elisa plate



Elisa-mérés



Izotópok

- Típusok (alfa, béta, gamma)
- Sugárvédelmi eszközök
- Detektálási módszerek
- Dekontaminálás, tárolás



Az állatkísérletek etikai szabályai

- **Csak annyi állatot használjunk fel, amennyi feltétlenül szükséges!**

Ezt a gyakorlatra való alapos felkészüléssel, a kísérletek sikerességét maximálisan szem előtt tartó magatartással érhetjük el.

- Mindig szem előtt kell tartani azt a rendkívül fontos alapelvet, hogy az állatkísérletek során **lehetőség szerint elkerüljük a fájdalom okozás minden formáját.**
- Ennek érdekében a kísérleteket **altatott állatokon** végezzük.

Az állatkísérletek etikai szabályai

- A békán végzett kísérletek egy részénél **decapitált és gerincvelő roncsolt állatokon** dolgozunk.
- Használjunk a decapitatio előtt **éternarkózt**.
- **A decapitatio:**

A béka koponyáját egyetlen, határozott metszéssel távolítsuk el.

A decapitatio után fellépő esetleges rángások nem a fájdalomérzés jelei,
hanem spinális reflexmozgások.

Az állatkísérletek etikai szabályai

- Az élettani gyakorlatokon legtöbbször **akut beavatkozásokat** végzünk, azaz a kísérlet végén az állatot feláldozzuk
- **Az állatok életének kioltása:**
 - túlaltatással,
 - koncentrált KCl (intravénás, intracardialis)
 - cervicalis dislocatio
- A gyakorlat végén az **állattetem** eltávolítása előtt győződjünk meg arról, hogy a **kísérleti állat valóban elpusztult-e!**
 - Tág, fénymerev pupillák,
 - a légzőmozgások és a szívműködés teljes hiánya
- **Az állattetekek tárolása**
 - az oktatók által kiosztott zacskóban
 - -20°C-os hűtőben
 - a tetemeket az égetőbe viszik

Érzéstelenítés, altatás

- A fájdalomérzet kikapcsolása
 - **helyi érzéstelenítéssel**
 - **általános érzéstelenítéssel "altatással"**

Helyi érzéstelenítés

- Helyi érzéstelenítéskor az **adott műtéti területen megszüntetjük az**
 - ingerületvezetést vagy a
 - **szinaptikus ingerület átvitelt.**
- A leggyakrabban használt helyi érzéstelenítők **Lidokain, Novokain, Prokain**
- Ezeket az anyagokat vagy nyálkahártya felületre permetezve vagy injekció formájában juttatjuk az alkalmazás helyére.

Az altatással kapcsolatos általános elvek

- Az állatok altatásakor a gyakorlati jegyzet előírásai szerint kell eljárni
(altatószer kiválasztása, dózis, altatás módja).
- A beavatkozás előtt meg kell győződni az **altatás mélységéről**.
A narkózis mélysége akkor megfelelő, ha a **cornea reflex** és a **fájdalomreflexek** nem válthatók ki.
- A **cornea reflexet** úgy váltjuk ki, hogy egy kis papírcsíkot a szaruhártyához érintünk.
- **Fájdalomreflexet** pedig az állat lábának csipesszel történő enyhe csípésével váltjuk ki.
- Ha ezen reflexek enyhe visszatérését tapasztaljuk, ismételten anesztetikumot kell adni.
- Kísérlet alatt is folyamatosan ellenőrizzük az altatás mélységét, szükség esetén gondoskodjunk az **altatószer pótlásáról**.
- **Izomrelaxáns**t csak megfelelő mélységig altatott állatnak szabad adni.

Altatás

- Általános érzéstelenítés "**altatás**" megfelelő narkotikumok alkalmazásával érhető el.
- Ezek **megszüntetik a fájdalomérzetet**, de a többi idegrendszeri funkciót nem bénítják meg teljesen.
- Megfelelő mélységű altatást a dózis helyes megválasztásával érhetünk el, melyet az egyes altatók esetében, **testtömegre** adunk meg.

Altatás

- A **hatásszélesség** az altatók jellemző adata, melyet a közepesen hatásos dózis (**ED50**) és a közepesen letális dózis (**LD50**) különbségeként kapunk meg.
- ED50 az az érték, mely a kezelt állatok felében vált ki hatást, míg az LD50 értéknél a kezelt állatok fele elpusztul.
- Leginkább a **széles hatásspektrumú** altatók a megfelelőek.
- Akkor **megfelelő az altatás** ha a keringési és légzési működés, valamint az izmok tónusa megmarad.
- Az **izomtónus** megszüntetésére külön szereket szoktak alkalmazni. Az altatás kapcsán felmerülő komplikációk többsége éppen a légzés kikapcsolása miatt következik be.
- A használatos **narkotikumok hatássorrendje** általában a következő:
agykéreg, subcortex, kisagy, nyúltagy, gerincvelő.

Altatás

- A narkotikumok többsége zsíroldékony anyag. Halmazállapotuk szerint lehetnek:
 - - **párolgó folyadékok** (éter, kloroform)
 - - **gáznemű anyagok** (nitrogén-oxidul vagy kéjgáz, etilén)
 - - **szilárd anyagok oldatai** (barbiturátok, Urethan, Ketamin)
- Állatkísérletekben az **éter és az oldatba vitt altatók** alkalmazása a leggyakoribb.
- Az utóbbiak beadása történhet
intraperitoneális (i.p.)
egyszerűbb,
de ha véletlenül ***sub cutan (s.c.)*** adjuk, akkor lassabb
felszívódás lesz
intravénás (i.v.) injekció formájában.
nehezebb
gyorsabban hat
jobban adagolható
- A beavatkozásokat zömmel a **tűrési szakaszban** végezzük.

A narkózis szakaszai

- analgetikus szakasz:

a fájdalomérzet megszűnik, a reflexek küszöbe emelkedik

- izgalmi szakasz:

megszűnik az agykéreg gátló hatása, a tudat elvész viszont megjelennek a nem tudatos menekülési reakciók,

a hangadás, fokozódik a vegetatív működés

- tűrési szakasz:

gátlódnak a kéreg alatti mozgatóközpontok, tónus csökken, a szomatikus reflexek megszűnnek, pl. kiesik a cornea-reflex

- légzésbénulási szakasz:

a nyúltvelő működése megszűnik.

A gyakorlatokon használt narkotikumok

- - **Etiléter**: inhalációs altatás, rövid beavatkozások esetében.

Az étert valamilyen jól záródó üvegedényben (pl. **ekszikátor**) lévő papírvattára öntjük, majd az edénybe rakjuk az altatni kívánt állatot. Közben állandóan figyeljük, s amikor izomtónusa láthatóan csökken, testtartása megszűnik, kiemeljük az edényből.

- - **Nembutál**: barbiturát származék.

Szokásos adagja emlősöknek 35-40 mg/kg, i.p. Hosszabb műtétek esetében használjuk.

4-6 óra elmúltával, újabb adag altató adása nélkül az állatok 90%-a felébred.

A gyakorlatokon használt narkotikumok

- - **Urethan**

szintén hosszabb hatóidejű altató.

Szokásos dózisa: 1 g/kg i.p.

az állatok 100%-a kb. 3-4 óra után felébred

- - **Chloralose-Urethan koktél:**

elkészítése és alkalmazása körülményes,
ma már ritkán használják.

- - **Ketavet-Rompun keverék**

rövid hatóidejű (30-40 perc) anyag,
legjobb,

Keverék összeállítása

(100 mg/ml-es Ketavet-ből és 2%-os Rompunból kiindulva):

0,5 ml Ketavet -et és 0,2 ml Rompunit szívunk fel egy fecskendőbe,
majd hozzászívunk 0,7 ml fiziológiás sóoldatot.

Összekeverés után testsúly-dózis táblázat szerint adjuk,
250-300 g testsúlyú állatnak 0,35- 0,4 ml-t.

Az élettani kísérletek főbb állatainak ismertetése

- egér
- patkány
- béka
- törpeharcsa

Az állatok helyes megfogása

Az állatok kezelése

***Intra peritoneális (i.p)* kezelés**

***Sub cután (s.c.)* kezelések**

***Intra vénás (i.v.)* kezelések**

***Intra cranális (i.c.)* kezelések**

Állatházi szabályok ismertetése

- Tartási szabályok
 - ketrec méret/állatszám
 - tisztítás,
- Tenyésztési szabályok ismertetése
- Munka szabályok
 - védőruha
 - védőkesztyű
 - Fertőtlenítés

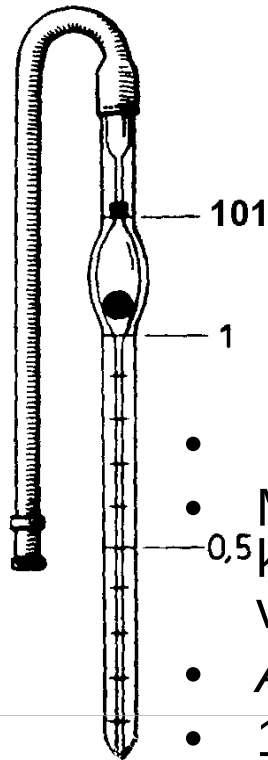
Gyakorlat

- Az automata pipetta használata
- A vörösvérsejt ozmotikus rezisztenciájának vizsgálata
- Vérkenet vizsgálata
- A vörösvérsejtszám (vvt) meghatározása vérben
- A fehérvérsejtszám (fhv) meghatározása vérben
- A vérsejtsüllyedés sebességének mérése
- Vércsoport meghatározás
- Vérnyomásmérés

A vörösvérsejtszám (vvt) meghatározása vérben

- Újszülöttek vvt száma: 5.6 - 6 millió/ μ l.
- Emberi vér vörösvérsejtszáma férfiben 4,5 millió, nőben 4 millió.
- Galambban 2 millió, békában 450 000
 - A számolás hibahatára $\pm 5\%$.
- A vvt szám függ a tengerszintfeletti magasságtól:
 - ezerméterenként kb. 700 000-el nő.

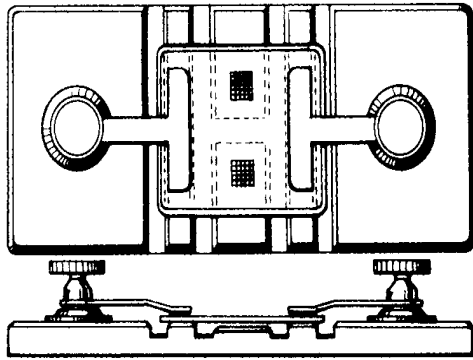
VVT meghatározása



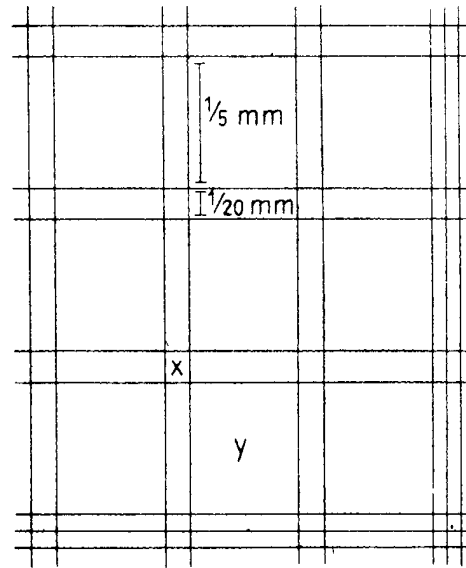
- Vörösvérsejtszám az 1 μ l vérben található vörösvérsejtek száma.
- Meghatározásához a vért előbb hígítanunk kell, majd Bürker-féle kamrába juttatnunk, melyben a tulajdonképpeni számolást végezzük.
- *Az eljárás kiviteléhez szükséges eszközök és anyagok:*
 - 1. Melangeur-pipetta (nagy, piros keverővel),
 - 2. Bürker-kamra,
 - 3. Hayem-oldat.
- A Melangeur-pipetta kapilláris vékonyságúra kihúzott és kalibrált szára módot nyújt pontosan 0,01 ml vér felszívására.
 - A felszívást Hayem-oldatból folytatva megtöltjük a pipetta kiöblösödő részét, ezáltal a vérből százszoros hígítást készítünk.

VVT meghatározása

felülnézet



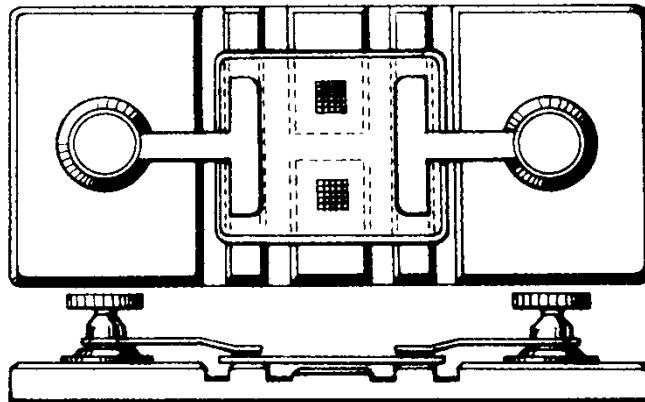
oldalnézet



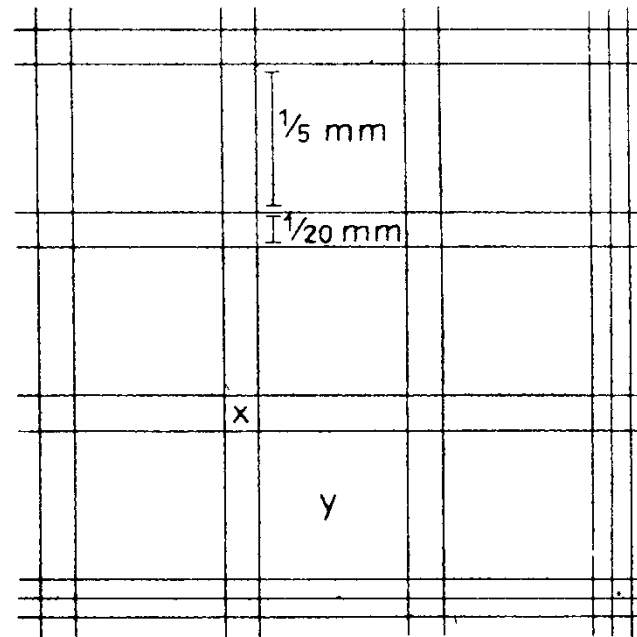
a Bürker-kamra beosztása

- A Bürker-kamra vastag üveglemez, melynek felső oldalán két lapos, lécszerű kiemelkedés van.
- Ezek szintje 0,1 mm-rel magasabban van, mint a közöttük fekvő síklapé. Ezért ha a felső oldalt fedőlemezzel takarjuk le, mely a két kiemelkedő lécre támaszkodik, a középső lap és a fedőlemez között 0,1 mm magasságú rés keletkezik. Ebbe szívadjuk be a hígított vért.

felülnézet



oldalnézet



a Bürker-kamra beosztása

A középső lapon két, egyenes vonalak által beosztott rész van. Az egymástól $1/20$ mm távolságra eső párhuzamos vonalak $1/5$ mm oldalhosszúságú négyzeteket határolnak, ezek területe tehát $1/25$ mm², míg a párhuzamos vonal párok metszési helyeinél $1/400$ mm²-es négyzetek keletkeznek.

A fedőlemez alá beszívott hígított vér - mely $0,1$ mm vastagságú réteget alkot - felülnézetben $1/10 \times 1/400 = 1/4000$ mm³, ill. $1/10 \times 1/25 = 1/250$ mm³ köbtartalmú hasábok összegeként fogható fel, s a bennük található vörösvérsejtek száma mikroszkópos vizsgálattal pontosan megállapítható.

Minden 4×4 nagy négyzet által alkotott területet (1 mm²) hármassal vonal határol. A nagy négyzetek oldalainál levő téglalapok területe $1/100$ mm², a hozzájuk tartozó hasáb köbtartalma $1/1000$ mm³.

VVT meghatározása

- A Hayem-oldat (0,5% NaCl, 2,5% Na₂SO₄, 0,025% HgCl₂) hipertóniás oldat, mely a hígítás során a vörösvérsejteket zsugorítja, optikai sűrűségüket fokozza
- Megszűrt ujjbegyből enyhe nyomással vért sajtolunk ki (erős nyomás esetén a vér szövetnedvvel hígul), a vércseppből a Melangeur- pipetába az 1-es jelig felszívunk, a pipetta hegyét vattával gondosan letörölgetjük, majd a kiöblösödő részbe, a felső száron levő, 101-es jelig Hayem-oldatot szívunk.
- A vért néhány perces rázogatással alaposan összekeverjük, majd a pipetta tartalmának kb. felét vattába itatjuk.
- A hígításból egy cseppet a Bürker-kamra fedőlemeze mellé cseppentünk; a kapillaritás folytán a folyadék az üvegfelületek közé beszívódik. Ugyanezt megismételjük a másik oldalon is.
- Ügyeljünk arra, hogy a két beosztott részt elválasztó üvegvályúba folyadék ne kerüljön. Ha ez megtörténne, vattával a felesleges folyadékot a fedőlemez szélénél kiitatjuk.

VVT meghatározása

- A Bürker-kamrát mikroszkóp tárgyasztalára helyezzük, kis nagyítást állítunk be és elvégezzük a számolást.
- 1. Megszámoljuk a vörösvérsejteket mindkét beosztott területen 40-40 kis négyzetben, s az egyes négyzetek adataiból átlagot képezünk.
- Az átlagot megszorozva 400 000-rel, megkapjuk az 1 μ l-re eső vörösvérsejtszámot. (1/4000 mm³ a hasáb térfogata, 1/100 a hígítás foka.)
- Az alsó és jobb oldali vonalakat érintő sejteket a számolásból kihagyjuk.
- 2. Valamivel gyorsabb (de kevésbé pontos) eljárás a következő. Megszámoljuk a vörösvérsejteket 10 téglában, belőlük összeget képezünk, s ezt tízezerrel megszorozva kapjuk meg a vörösvérsejtszámot (1/1000x10=1/100 mm³ a hasáb térfogata, 1/100 a hígítás foka). Az alsó és jobb oldali vonalat érintő sejteket itt sem számoljuk.
- Mivel a folyadékban eloszlási inhomogenitás lehetséges, mindkét számolási módszernél a beosztott területek különböző helyeiről válasszuk ki a leszámolandó négyzeteket, ill. téglalapokat.

A fehérvérsejtszám (fhv) meghatározása vérben

- A normális fehérvérsejtszám:
- 4 - 8000/ μ l
- A fehérvérsejt változáson alapuló betegségek két fő csoportja:
- - Leukocitózis: fhvszám > 10000 / μ l
- fertőzés, gyógyszerek, daganat
- - leukopénia : fhvszám < 4000 / μ l
- csontvelőre ható gyógyszerek
- A fehérvérsejtszámolás elve és menete:
- - Melangeur pipetta - 10x-es hígítás
- Türk oldat – vvt-ket hemolizálja, a fhv magját kékre festi
- Bürker kamra - 5x5x10x10=2500 / μ l (részletesebben lásd VI.2.2.6. és VI.2.2.7.)

A fehérvérsejtszám (fhv) meghatározása vérben

- Az eljárás elve és kivitele alapvetően azonos a vörösvérsejt-számolásával. Az eljárás kiviteléhez szükséges eszközök és anyagok:
 - 1. Melangeur-pipetta (kicsi, fehér keverővel),
 - 2. Bürker-kamra,
 - 3. Türk-oldat.
- A kis Melangeur-pipetta a felszívott vér 10-szeres hígítását teszi lehetővé.

A fehérvérsejtszám (fhv) meghatározása vérben

- Az eljárás elve és kivitele alapvetően azonos a vörösvérsejt-számolásával.
- 1. Melangeur-pipetta (kicsi, fehér keverővel),
- 2. Bürker-kamra,
- 3. Türk-oldat.
- A kis Melangeur-pipetta a felszívott vér 10-szeres hígítását teszi lehetővé.

A fehérvérsejtszám (fhv) meghatározása vérben

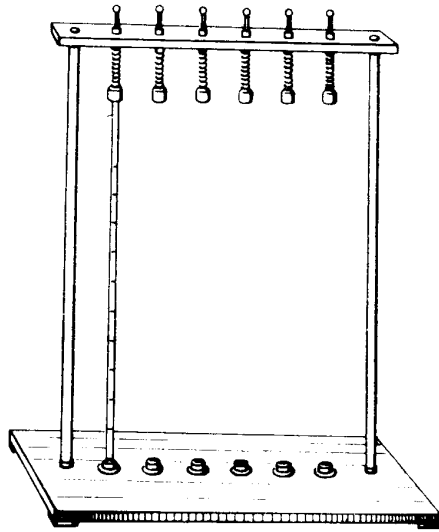
- A Türk-oldat 0,5 %-os ecetsav metilénkékkel színezve. A Hayem-oldathoz hasonlóan a Türk-oldat is a vér hígításához szükséges, de ennek során a vörösvérsejtek hemolizálódnak, a fehérvérsejtek magvai pedig megfestődnek és könnyen láthatóvá válnak.
- *A számolás kivitele:*
- Ujjbegyből vett vért kis Melangeur-pipetta 1-es jeléig felszívunk, majd a pipetta hegyét gondosan letörölve, a felszívást Türk-oldatból a 11-es jelig folytatjuk.
- A pipetta tartalmát néhány percig rázogatójuk (végeit hüvelyk- és mutatóujjunk közé fogva), majd annak kb. felét vattába itatjuk, egy cseppet a Bürker-kamra fedőlemeze mellé ejtünk, ahonnan az, az üvegfelületek közé beszívódik.
- Ezt mindkét oldalon elvégezzük, a felesleges folyadékot a felületekről leitatjuk, s a számolást mikroszkóp kis nagyításával elvégezzük.

A fehérvérsejtszám (fhv) meghatározása vérben

- A számolásnál kétféle módon járhatunk el.
- 1. Megszámoljuk a fehérvérsejteket mindkét beosztott részen 20-20 nagy négyzetben, az értékekből átlagot képezünk, s azt megszorozzuk 2500-zal ($1/250 \text{ mm}^3$ a hasáb térfogata, $1/10$ a hígítás foka).
- 2. Megszámoljuk a fehérvérsejteket legalább 3 hármasonnal határolt (1 mm^2 alapterületű) négyzetben, belőlük átlagot képezünk, s ezt 100-zal megszorozva kapjuk a fehérvérsejt számot
- ($1/10 \text{ mm}^3$ a hasáb térfogata, $1/10$ a hígítás foka).
- Egészséges felnőtt ember fehérvérsejtszáma 4000-8000/ μl között van.

A vérsejtsüllyedés sebességének mérése

- Normál értéke férfiban 2-6, nőben 3-10 mm/óra.
- A süllyedés fokozott különböző betegségekben (gyulladásos folyamatok, rosszindulatú daganatok, stb.) alkalmával.
- Fiziológiásan a terhesség alatt, valamint a menstruációval kapcsolatban fokozott a süllyedés.
- A vörösvérsejtek süllyedése annál gyorsabb, minél nagyobb a durvábban diszpergált fehérjefrakciók (fibrinogén, γ -globulin) relatív koncentrációja a finomabban diszpergált albuminhoz képest. Ilyenkor a γ -globulinok a vörösvérsejt felszínén abszorbeálódnak, valamint elősegítik a vörösvérsejtek aggregálódását.
- Albumin % / Globulin % = 1,5
» a normális fehérje kvóciens



A véresejtsüllyedés sebességének mérése

- vörösvérsejtek süllyedési sebességéből következtetünk a vérsejtek tulajdonságaira, ill. a plazma összetételére.
- A vizsgálathoz 4 rész vér, 1 rész 3,8% Na-citrát keverékét használjuk.
- A mérés kivitele:
- Westergren-állvány
- Milliméteres beosztású - ún. Westergren-csövekbe - a 0 jelig alvadásgátolt vért szívunk fel, és a csöveket az állványba helyezzük, vigyázva arra, hogy a csövek alsó végét a gumialátét jól tömítse.
- A vörösvérsejtek nagyobb fajsúlyuk miatt süllyedni kezdenek, s a véroszlop a fölötte levő plazmarétegtől jól elhatárolható.
- 1 és 2 óra múltán leolvassuk, hány milliméternél van a véroszlop felső szintje. A két érték felének átlaga adja a véresejtsüllyedést.

Az automata pipetta használata

- Táramérlegre egyensúlyozzon ki 2 db főzőpoharat
- Mind a bal, mind a jobb oldali pohárba mérjen be 5 x 200 µl desztillált vizet
- A pipettázás akkor tökéletes, ha a 2 pohár egyensúlyban marad.

A vörösvérsejtek ozmotikus rezisztenciájának vizsgálata

- A normál vér még vékony rétegben sem áttetsző, hanem ún. **fedőfesték** jellegű.
- Bizonyos behatásokkal elérhető, hogy a **hemoglobin kilép** a sejtből, ekkor a vér ún. **lakkfesték** jellegű lesz.
- Ha a vörösvérsejtet **fiziológiás NaCl-dal (0,9 % NaCl)** keverjük össze, térfogatuk és alakjuk változatlan marad.
- **Hiperozmotikus oldatban** a vörösvérsejt **zsugorodik**.
- **Hipozmotikus NaCl oldatban** a vörösvérsejtek **duzzadnak**, ha pedig a sókoncentráció bizonyos határ alá csökken, **hemolizálnak**.

A vörösvérsejtek ozmotikus rezisztenciájának vizsgálata

A jelenség oka:

- a vörösvérsejt mikroszkópos dimenziójú **ozmométer**
- membránja csak a víz számára járható át,

A vörösvérsejt duzzadása

- 0,9%-nál kisebb NaCl koncentráció alatt már bekövetkezik,
- de a hemolízis csak akkor kezdődik, amikor a NaCl koncentráció kb. **0,44%-os**
- Teljes hemolízis, amikor a NaCl koncentráció **0,3%** alatt van

A vörösvérsejt "rezisztenciájának" az oka

- a lapos korong alak, melynek felülete tömegéhez képest nagy.
- Hipozmotikus folyadékban megindul a víz beáramlása és a korong forma fokozatosan közeledik a gömb formához.
- A gömbre jellemző, hogy adott felület mellett a legnagyobb térfogatot foglalja magában.
- Az ozmotikus hemolízis akkor következik be, amikor a sejt már elérte a gömb formát és további térfogat növekedés már a felület "nyújtásával" járna.

Betegségek kimutatása:

- vészes vérszegénység, sarlósejtes vérszegénység

A vörösvérsejtek ozmotikus rezisztenciájának vizsgálata

- **Hipozmotikus** oldatban a vörösvérsejt vizet vesz fel, **megduzzad**, s ez feszítő hatást gyakorol membránjára.
- A **membrán mechanikai szilárdsága** ezért azon ozmotikus koncentrációval mérhető, amelynél még
 - nincs hemolízis (minimális rezisztencia),
 - hemolízis teljes (maximális rezisztencia).

A vörösvérsejtek ozmotikus rezisztenciájának vizsgálata

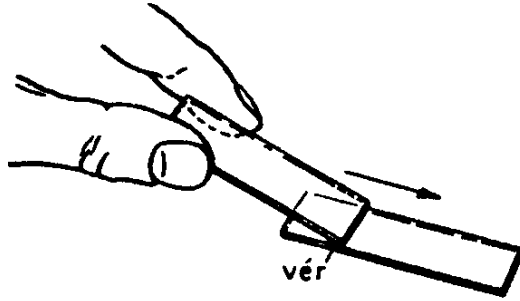
- 1 %-os NaCl-ból kémcsövekbe bemérünk:
- 2,8, 2,6, 2,4, 2,2, 2,0, 1,8, 1,6, 1,4, 1,2, 1,0 ml-t,
- desztillált vízzel valamennyit 4,0 ml-re egészítjük ki, s így rendre a következő koncentrációjú NaCl-oldatokhoz jutunk:
- 0,7, 0,65, 0,60, 0,55, 0,50, 0,45, 0,40, 0,35, 0,30, 0,25 %.
- Ezután minden kémcsőbe 1-1 csepp mosott vörösvérsejt-szuszpenziót adunk, majd 2 óra hosszat állni hagyjuk. Ezen idő alatt a vörösvérsejtek leülepednek, s ha nincs hemolízis, a felülúszó színtelen marad.
- **Kezdődő hemolízisnél az oldat gyengén sárgás.**
minimális ozmotikus rezisztencia

A hígítási sorozat mentén haladva megtaláljuk azt a kémcsövet, melyben **nincs üledék, s a felülúszó egyenletesen vörös színű.**

Itt a hemolízis teljes, s a NaCl-oldat százalékos értéke egyenlő a **maximális ozmotikus rezisztencia** értékével.

A vörösvérsejt-membrán anyagcserezavarok vagy genetikai okok miatti károsodása e módszerrel kimutatható. Ilyenkor mindkét érték magasabb NaCl-koncentrációk felé tolódik el.

Vér vizsgálata natív állapotban és vérkenetben



- **Vérkenetet** a következő módon készíthetünk.
- Tárgylemez egyik végére kicseppentett kevés vért másik, 45 fokos szögben tartott, sima élű tárgylemezzel (ábra) végighúzunk.
- Ha a tárgylemezt gondosan zsírtalanítottuk, a vér vékony rétegben szétterül rajta. A kenetet levegőn száradni hagyjuk, s akár közvetlenül, akár megfestés után vizsgálhatjuk.

Festett vérkenet készítése

- A vérkenetet beszárítjuk,
- PAPPENHEIM szerint megfestjük.

A festéshez

- **May-Grünwald-oldatot** (metilénkék és eozin metil-alkoholos oldatot
Ennek oldószere, a metil-alkohol, fixálja a kenetet,
de a festékek hatása még nem érvényesül.
- **Giemsa-oldatot** (azur-eozinát vizes, glicerines oldata) használunk.
(A Giemsa-oldat hígítása: 3 csepp törzsoldat 2 ml vízhez.)

A festés menete

- A tárgylemezt festőállványra helyezzük,
- May-Grünwald-oldatot öntünk rá.
- 3 perc fixálás
- utána kb. ugyanannyi desztillált vizet öntünk a kenetre, mint a festékoldat, anélkül, hogy utóbbit leöntenénk.
- A hígított festék 1 percig marad a keneten,
- majd leöntjük róla
- hígított Giemsa-oldatot cseppentünk rá,
- állni hagyjuk rajta 10 percig.
- Desztillált vízzel való alapos lemosás
- A tárgylemez másik oldalát metil-alkohollal megtisztítjuk a festéktől,
- majd a kenetet megszárazítjuk.
- fedőlemez felrakása

mikroszkóp

Festett vérkenet készítése, kvalitatív vérkép

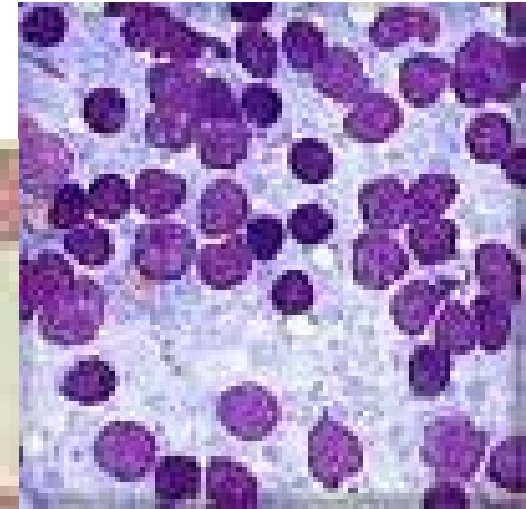
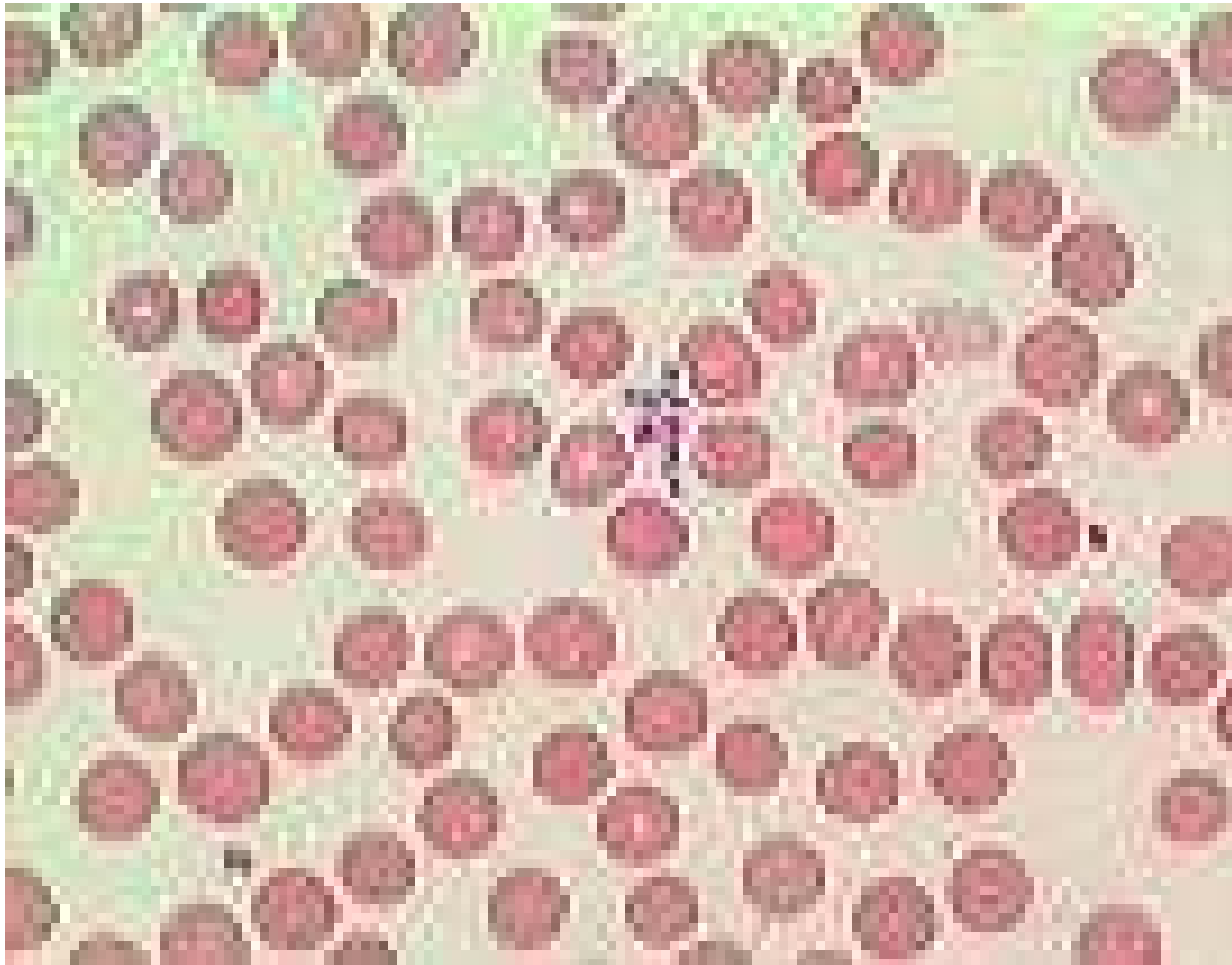
- A helyesen készített és jól festett keneten a **sejtek egyetlen rétegben** helyezkednek el, rajta a **vörösvérsejtek** világos centrumú vörös korongnak látszanak.
- Közöttük helyezkednek el a **fehérvérsejtek** és az összezsapódott **vérlemezhék**.
- Mivel a fehérvérsejtek nagyobb gyakorisággal a **kenet szélén** helyezkednek el, a vizsgálatot a szélen kezdjük, majd a tárgylemez közepe felé mozdulunk el a látótérrel.

Festett vérkenet készítése, kvalitatív vérkép

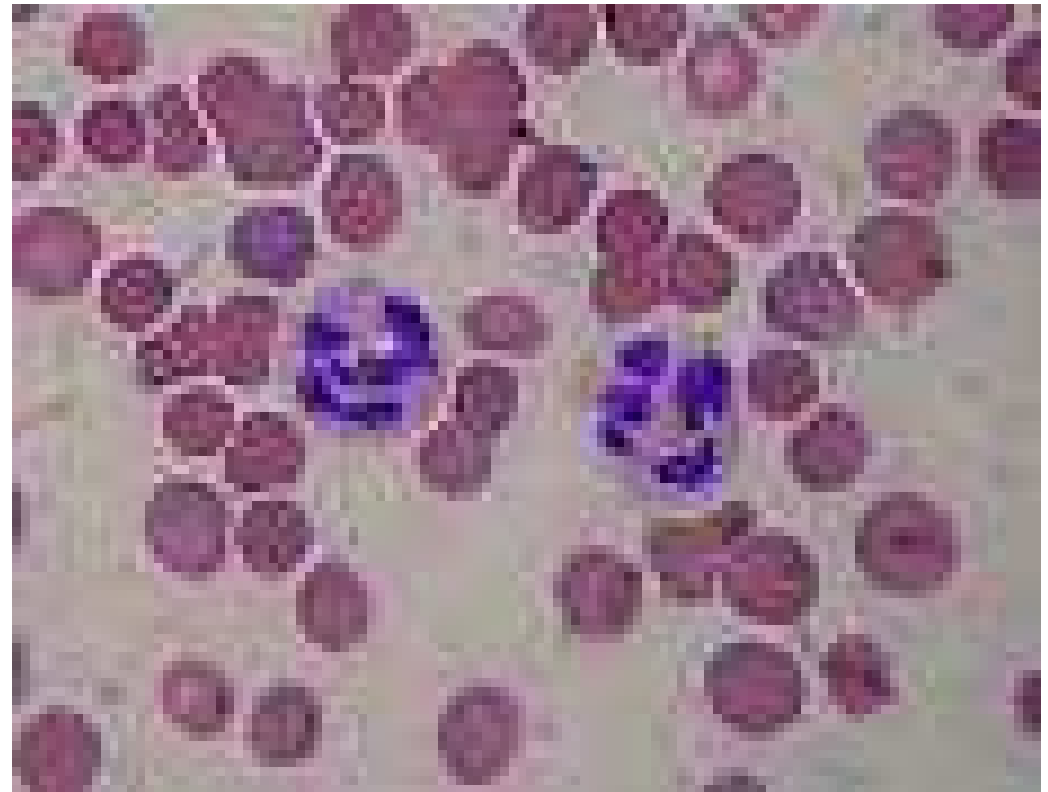
- A normális emberi vér fehérvérsejt képe az alábbi százalékos megoszlást mutatja:
 - neutrofil granulociták 65 - 70 %
 - eozinofil granulociták 2 - 4 %,
 - bazofil granulociták 0,5 %,
 - monociták 4 - 8 %,
 - limfociták 25 - 30 %.
- Vér alakos elemeinek sorrendje (szám szerint)
- vvt>Thromb.>neut.gran.>limfocita>monocita>eosin.gr>bas.gran
- 5x10⁶ 5x10⁵ 65-70% 25-30% 4-8% 2-4% 0.5%

- **Thrombocita:**

magja nincs, vvt-nél kisebb, ovoid v. korong alakú.

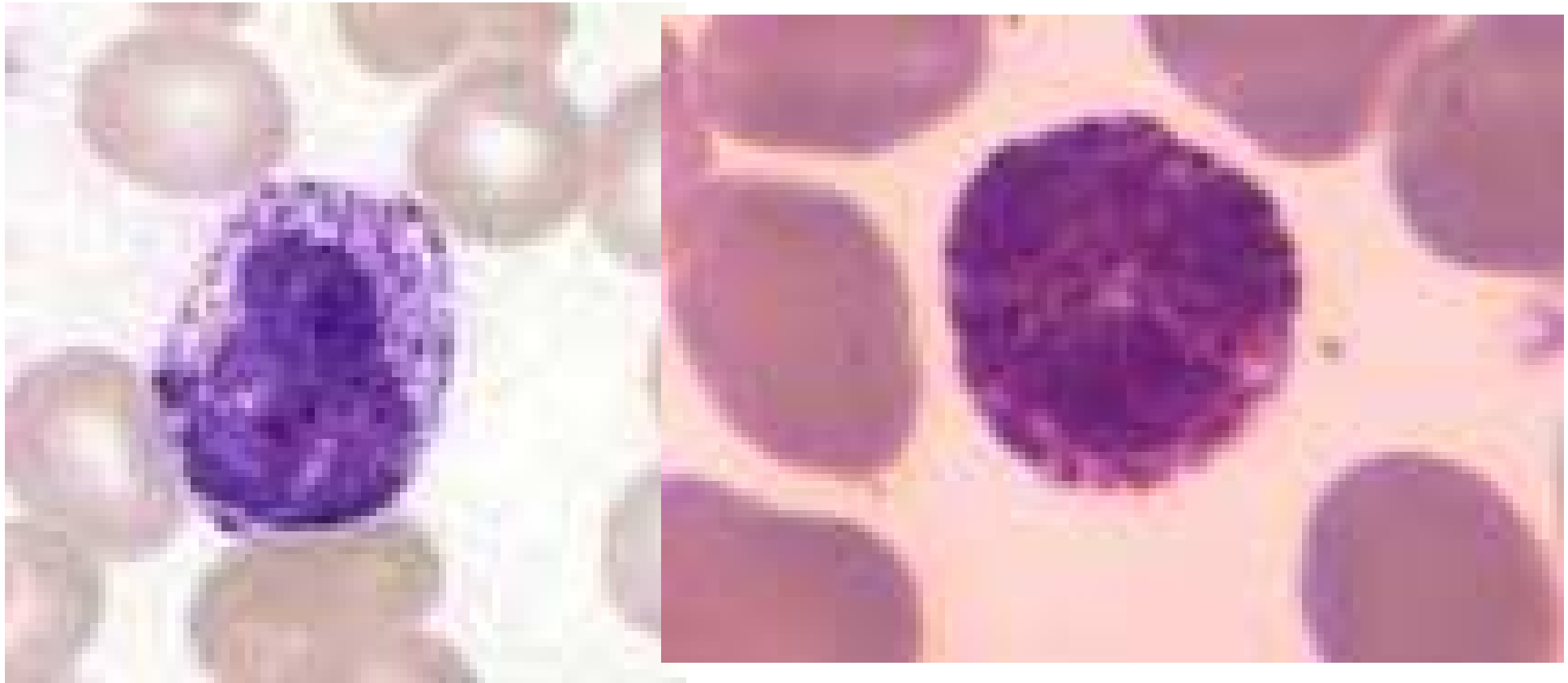


- **Neutrofil granulocita:**
gömbölyű, rózsaszín, szegmentált mag.

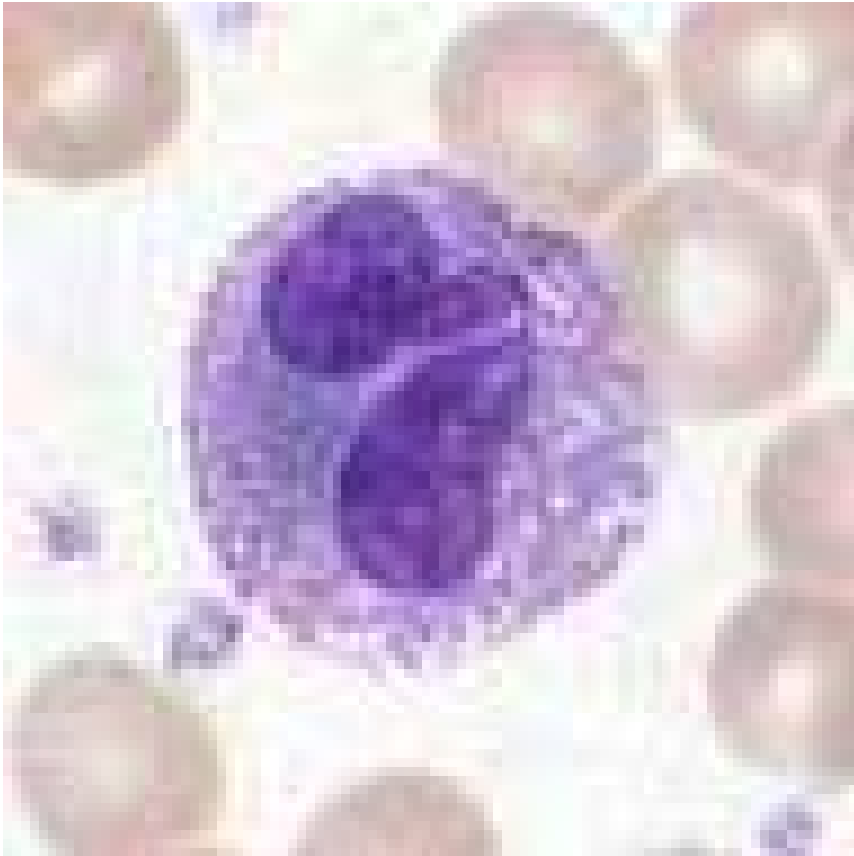


Basofil granulocita:

mag gyakran S alakú, lila pettyes (granulomok).



- **Eosinofil granulocita:**
vvt-nél nagyobb, vörös, lebenyes mag.



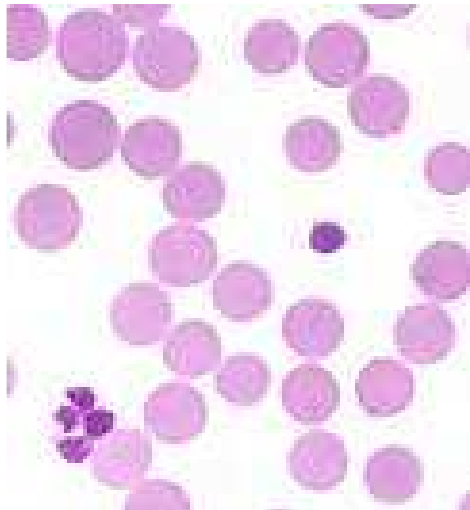
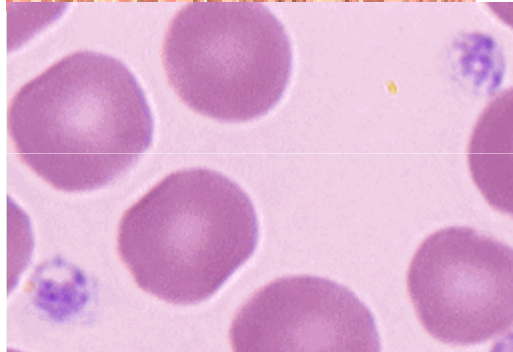
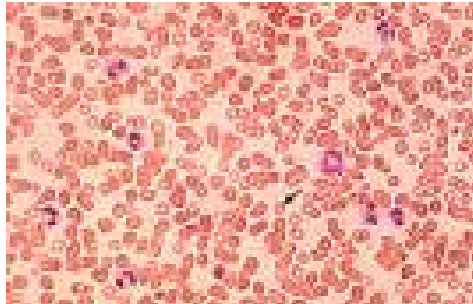
-Monocita:

2x-e a vvt-nek,
szemcse nélküli citoplazma, mag nem lebenyezett,
excentrikus, babalakú, plazma mélykék színű.



- **Vörösvérsejt:**

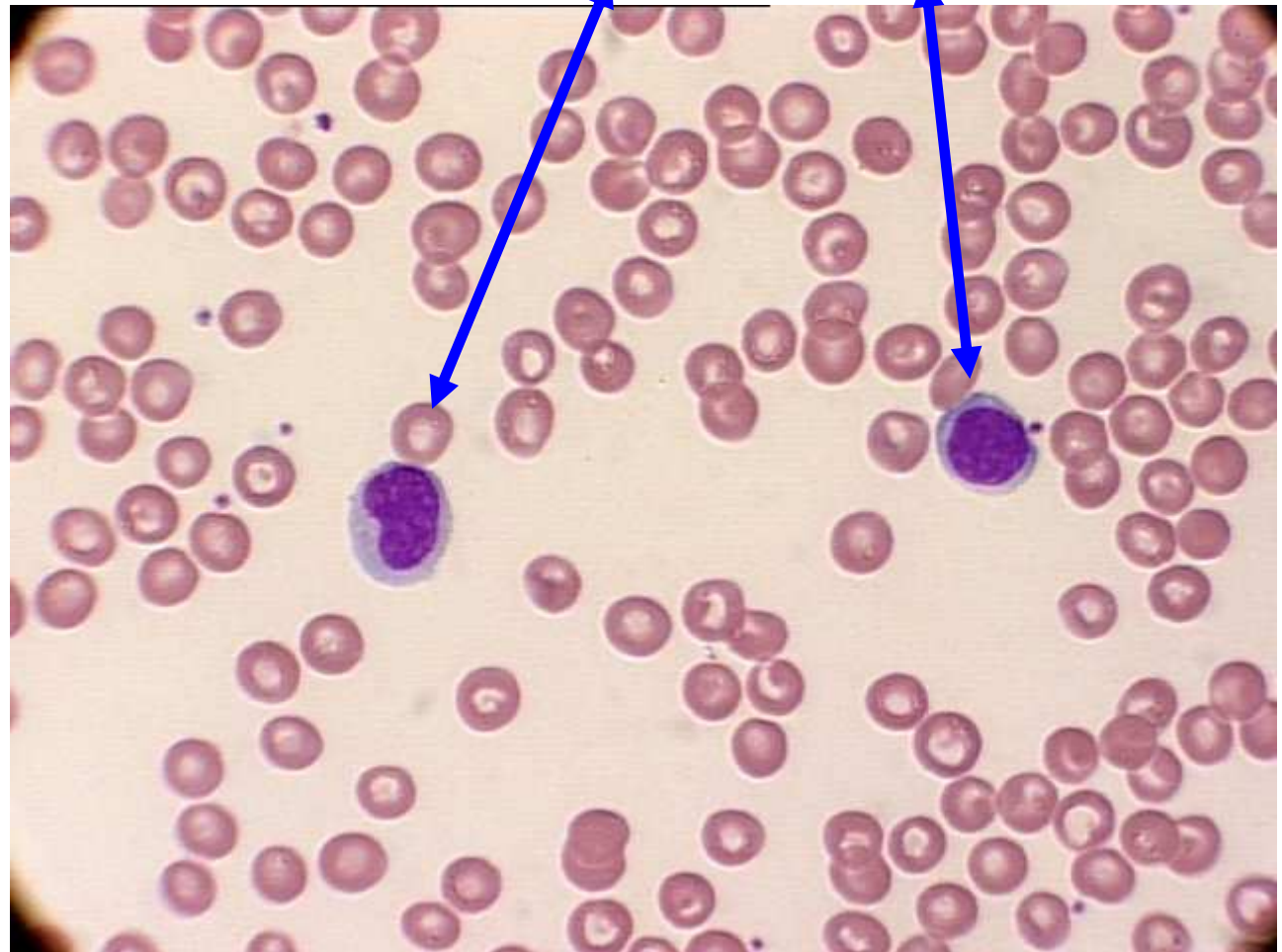
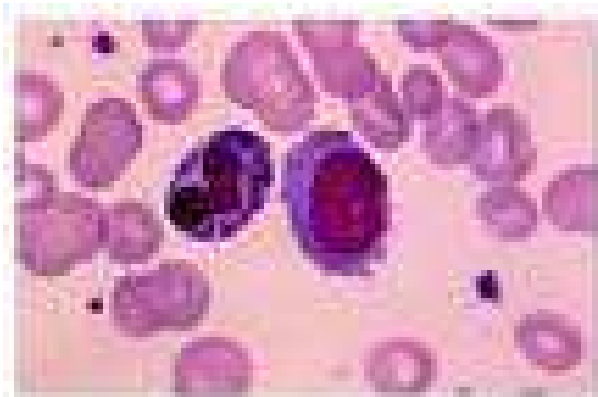
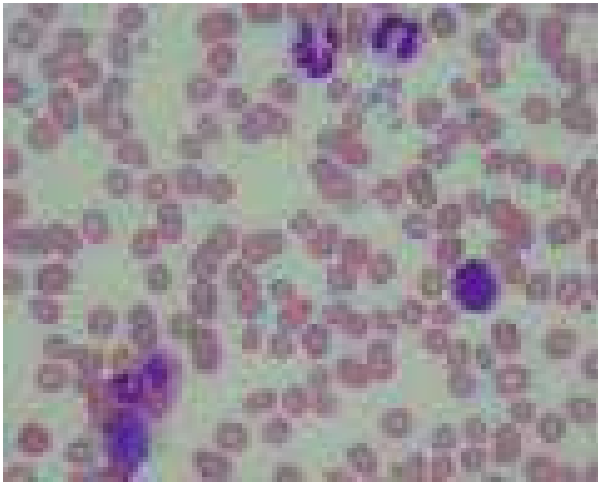
bikonkáv, magja nincs, halványpiros,
gyakran egymáshoz tapad.



- **Limfocita:**

nagy kerek mag és kevés citoplazma,
szabályos gömbölyded sejtek.

Monocita és limfocita



Az alakos elemek feladata:

- **Vörösvérsejt:** oxigén szállítás, vércsoport.
- **Thrombocita:** véralvadás.
- **Granulociták:** fertőzés elleni
védekezés-fagocitózis.
- **Monocita:** szöveti makrofágok-
védekezés-RES.
- **Limfocita:** immunvédekezés,
Ig.-ok termelése.

Az AB0 vércsoport meghatározása

- A vörösvérsejtek membránját kívülről beborító **glikoproteidréteg** (glycocalyx) specifikus **antigéneket** tartalmaz, melyek az egész sejtnak antigén sajátosságokat kölcsönöznek.
- Emberi vörösvérsejtekben legerősebbnek az **A**-val és **B**-vel jelzett antigének bizonyultak (**agglutinogénnek** is nevezik őket), melyek külön-külön és együtt is előfordulhatnak.
- Ezek az antigének **nem specifikusak az emberi fajra**, hanem más élőlények (pl. baktériumok) sejtjeihez kötve is előfordulhatnak. Ez utóbbi körülménynek az **antitestek képződésében** van nagy szerepe.
- Valamelyik vagy mindkét antigén jelenléte vagy hiánya determinálja egy személy hovatartozását az AB0 vércsoportrendszerben.

Az AB0 vércsoport meghatározása

- Ennek alapján megkülönböztetünk **A, B, AB és 0 vércsoport**hoz tartozó egyéneket. Utóbbiak vörsejtjei egyik antigént sem tartalmazzák.
- Az egyéni élet folyamán **bakteriális antigének** hatására az emberi szervezetben ellenanyagok (antitestek) képződnek, de természetesen csak azok maradnak fenn, melyek a szervezetben az ontogenetikus fejlődés kezdetétől jelenlevő antigéneket nem agglutinálják.
- A típusú ember plazmájában anti-A ellenanyag tehát nem lehet jelen, de mindig van anti-B.
- AB típusú emberek vérében sem anti-A, sem anti-B nincs,
- míg 0 típusú emberek vérében mindkettő előfordul.
- Az antigének és ellenanyagok kombinációja az AB0 rendszerben tehát a következőképpen alakul:
 - A típusú ember plazmájában - anti-B,
 - B típusú ember plazmájában - anti-A,
 - AB típusú ember plazmájában - nem található ellenanyag.
 - 0 típusú ember plazmájában - anti-A,anti-B

Az AB0 vércsoport meghatározása

- Hazai elterjedés: A: 42%, B: 9%, O: 46%, AB: 3%
- Antigének és antitestek (agglutininek) kialakulásának ideje:
 - - antigén - magzati élet 6. hetétől
 - - antitest- születés utáni 10. nap körül
- Az AB agglutininek kialakulásának oka:
 - - Baktériumfertőzés hatására
(E. Coli - B; Streptococcus - A)

Ismeretlen csoportú vér hovatartozását ismert csoportú vérszérumok segítségével határozzuk meg (Serotypek).

Háromféle **AB0 serotypet** hoznak forgalomba:

anti-B (fehér csőben),

anti-A (barna csőben),

anti-A, anti-B (kék csíkos csőben).

Rh vércsoport meghatározása

- A **Rhesus** vércsoportrendszernek emberben hat antigénje ismeretes: **C, c, D, d, E, e**.(Landsteiner és Wiener)
- Legerősebb és legelterjedtebb közöttük a **D antigén**, mely az **európai lakosság 85%-ának** (35% DD, 48% Dd, 2% egyéb) vörsejtjeiben megtalálható.
- A gyakorlatban csak a D antigénnel rendelkezőket tekintjük **Rh pozitívoknak**.
- Az Rh vércsoport szerinti hovatartozásnak a **terhes és az újszülött patológiájában** nagy jelentősége van. Rh negatív egyének savójában anti-Rh agglutininek nincsenek, csak ha az Rh-antigének valamelyikével immunizáltak.

Rh vércsoport meghatározása

- Mikor alakulhat ki Rh incompatibilitás? Mit okozhat?
 - Transzfúzió Rh- nő kap Rh+ vért
 - Szülés Rh- anyának Rh+ gyereke születik.
 - A transzfúzió esetén az elsőnél,
 - szülés esetén a második gyereknél - erythroblastosis foetalis →
vérzékenység, sárgaság (bilirubin).
- Az Rh incompatibilitás kivédése szülés után:
 - Nagy adag anti-Rh-D savó kezeléssel a szülés után 3 napon belül
 - ok: Az immunrendszer nem fog antitesteket termelni, mert úgy érzi, hogy már van - memória sejtek nem lesznek.
- Miért nem alakul ki vércsoport incompatibilitás a legtöbb vércsoport esetében
 - Az Rh D antigénje ellen termelődő antitest kis molekulásúlyú (IgG), így átmegy a placentán, a többi vércsoportnál az antitestek molekulásúlya sokkal nagyobb (IgM).

(β)	 +	 -	 +	 -
($\alpha\beta$)	 +	 +	 +	 -
(α)	 +	 +	 -	 -
	AB (0)	A (β)	B (α)	0 ($\alpha\beta$)

Az AB0 vércsoport- meghatározása

- Tárgylemez jelzése
- egy-egy cseppet helyezünk el a három serotypból.
- kézmosás, fertőtlenítés
- vérvétel ujjbegyből
- összekeverjük
(egy tárgylemez sarkával – mindig tisztával)
- néhány percet várni.

Ahol **agglutináció** következett be, ott a vörsejtek pelyhesen, szemcsésen összezsapódnak, ahol nincs agglutináció, ott a csepp homogén marad.

Az agglutinációs reakció képe a négy vércsoport esetében az ábra szerint alakul.

Rh vércsoport meghatározása

- Tárgylemezre cseppentünk három csepp anti-D savót.
- A tárgylemezt melegvizes palackra,
(37 °C)
- 20 perc inkubálás
- Rh pozitivitás esetén is pelyhes agglutinációt látunk, míg ellenkező esetben a vércsepp homogén marad.

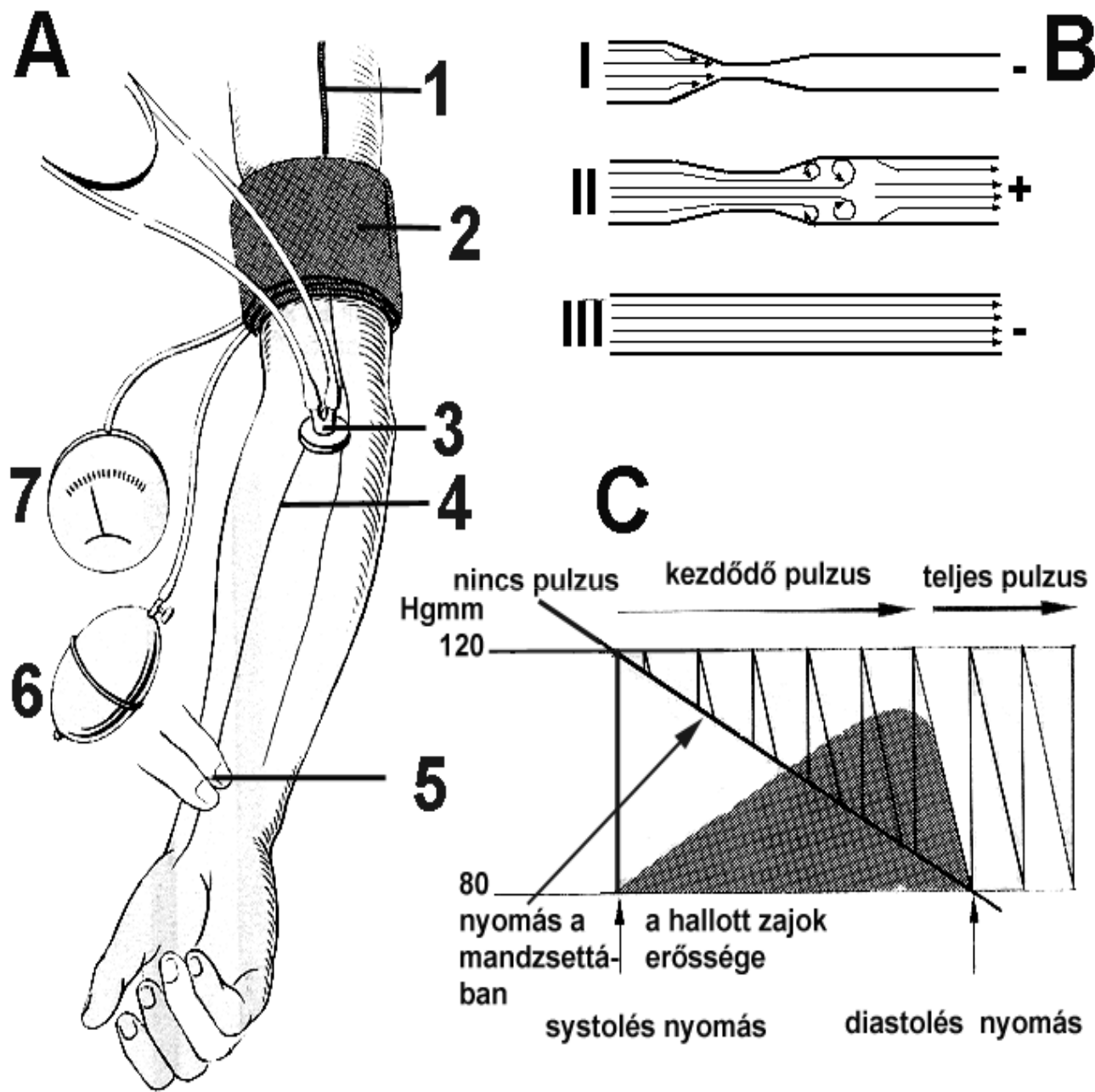
Vérnyomásmérés Riva Rocci szerint (RR)

- Elve,
Gumimandzsettával leszorított felkari artériában (a. brachialis) a véráramlás megszűnik, ha a **szisztolés nyomás fölé érünk (BI)**.

A nyomást a mandzsettában a **szisztolés nyomás alá csökkentve az áramlás megindul**, ez pedig fonendoszkóppal hallható **hangjelenség kíséri (BII)**, ui. az áramlás turbulens az összenyomott érben.

Ezzel egy időben **megjelenik a tapintható pulzus** az artéria radialison.

A gumimandzsettában a **nyomást tovább csökkentve** az említett **hangjelenség megszűnik** a diasztolés nyomásértéknél, ugyanis ekkor nyeri vissza az ér normális keresztmetszetét **(BIII)**.



Vérnyomásmérés.

1. Art. Brachialis.
2. Gumimandzsetta.
3. Sztetoszkóp.
4. A. radialis.
5. A. radialis tapintása
6. Gumiballon.
7. Aneorid manométer.

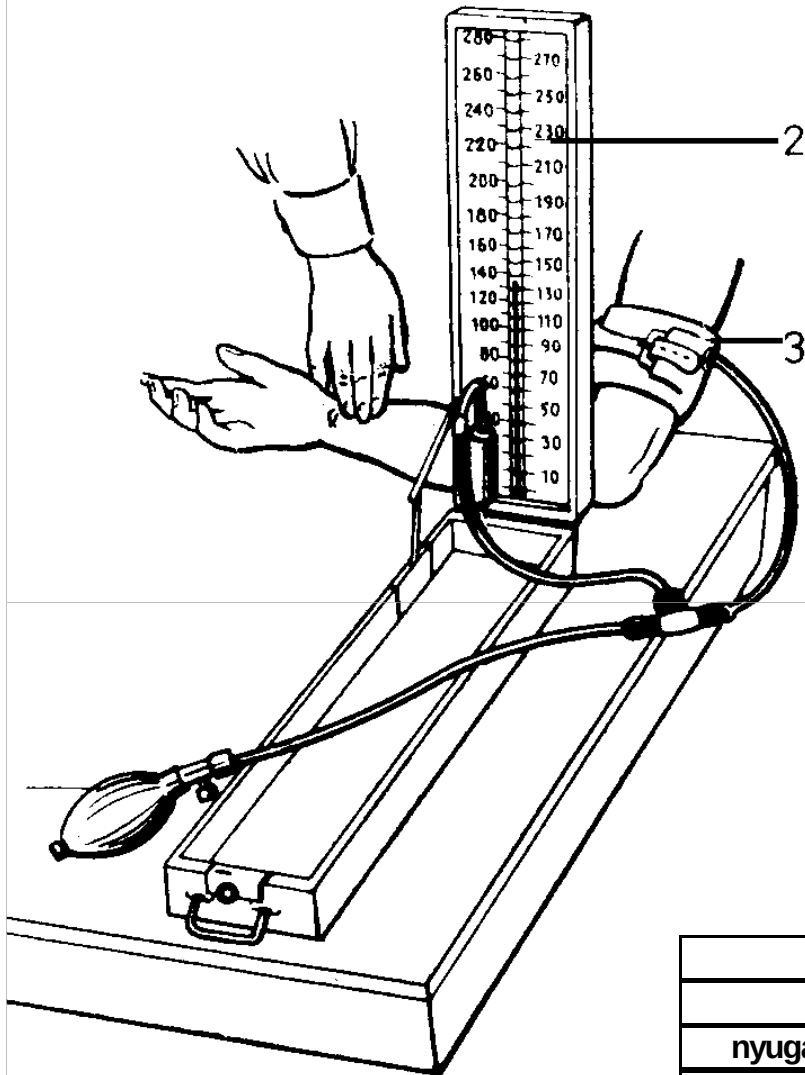
B. Érkeresztmetszet változások

vérnyomásmérés alatt.

- I Teljes kompresszió.
- II Szisztolés nyomás
- III. Diasztolés nyomás észlelésekor.

Nyomásváltozások és hangjelenségek vérnyomásmérés alatt.

Vérnyomásmérés



	Vérnyomás (Hgmm)			Pulzus
	szisztolés	diasztolés	középanyomás	
nyugalomban				
munka végzés után				

Eszköz lista

- Automata pipetta használata
 - automata pipetta (200 ul-es)
 - hegyek
 - 2 db egyforma főzőpohár
 - Táramérleg
 - szemetes
 - desztillált víz

A vörösvérsejt ozmotikus rezisztenciájának vizsgálata

- | | |
|-----------------------------------|-----------|
| • Automata pipetta (200 ul-es) | 1 db |
| • Automata pipetta (1000 ul-es) | 1 db |
| • Pipetta hegyek (200 és 1000 ul) | 1-1 doboz |
| • NaCl | 1 doboz |
| • Analitikai mérleg | 1 db |
| • Spatula | 1 db |
| • Mérő tálka | 1 db |
| • Főzőpohár (100 ml-es) | 1 db |
| • Mérőhenger (100 ml-es) | 1 db |
| • Kémcső | 12 db |
| • Pasteur pipetta | 1 db |
| • Sertés vér | 10 ml |
| • Kémcső állvány | 1 db |

Vérkenet vizsgálata

- Festő tálka
- Tárgylemez (2 db/kenet)
- Pasteur pipetta 3 db
- Sertés vér
- May-Grünwald oldat
- Giemsa oldat
- Desztillált víz
- Főzőpohár 1 db (100 ml-es)
- Papír vatta
- szemetes
- tálca+papír vatta
- Stopper
- Fedőlemez
- mikroszkóp

Vércsoport meghatározás

- **AB0 Serotyp**
 - **Anti-D savó**
 - **Tárgylemezek**
 - **Etanol 96%**
 - **Steril injekciós tűk**
 - **Termosztát (vizes palack)**
 - **Fertőtlenítő szer**
 - **Marker**
- **vatta**
 - **tálca**
 - **szemetes**

Vérnyomásmérés

- Higanys vérnyomásmérő
- Automata vérnyomás mérő
- Fonendoszkóp

A bemutatott tárgyak listája

• Anatómiai csipesz horgas	1 db	- Falcon cső	3 db
• Fogászati csipesz	1 db	- eppendorf	12 db
• Szemészeti csipesz- horgas	1 db	- műanyag pipetta	1 db
• Szemészeti csipesz – sima	1 db	- fecskendő+tű	1 db
• Sebészeti olló	1 db	- stripettor	1 db
• Szemészeti olló	1 db	- gilson pipetta -20	2 db
• Érvágó	1 db	- gilson pipetta -200	2 db
• Bulldog	1 db	- gilson pipetta -1000	1 db
• Peán	3 db	- BRC pipetta -20-200	1 db
• Tű fogó	2 db	- adagoló pipetta+hegy	1 db
• Tű+cérna	2 db	- pipettahegyek -200	1 d
• Fix fejes szike	1 db	- pipettahegyek -1000	1 d
• Cserélhető fejes szike	1 db	- parafilm	4 db
• Szike penge	4 db	- főzőpohár (50)	3 db
• Pasteur pipetta (műanyag)	1 db	- főzőpohár (100)	1 db
• Pasteur pipetta (üveg)	1 db	- keverő mágnes	1 db
• Spricc flaska	1 db	- kémcső – műanyag	2 db
• Üveg pipetta	1 db		