

ФИЗИОЛОГИЯ МЕТАБОЛИЗМА И ЭНДОКРИННЫХ СИСТЕМ

Словарь обозначений

Вес	- Weigh
Взвешивание бумаги	- Weighing paper
Выход	- Exit
Главное меню	- Main menu
Гормональная заместительная терапия	- Hormone replacement therapy
Идите в	- Go to
Инструменты	- Tools
Инсулин и диабет	- Insulin and diabetes
Инъекции	- injections
Инъекции физраствора	- saline injections
Инъекция эстрогена	- estrogen injection
Калькулятор	- Calculator
Метаболизм	- Metabolism
Модуль	- Module
Наборы данных	- Data Sets
Объем	- Volume
Очистить	- Clean
Очистить набор данных	- Clear data set
Печать данных	- Print data
Повторение	- Reset
Повторение эксперимента	- Reset experiment
Помощь	- Help
Прошедшие дни	- Elapsed Days
Регистрация данных	- Record data
Солевой (физиологический) раствор	- Saline
Тара	- Tare
Удаление матки	- Remove Uterus
Удалить Линию	- Delete Line
Эксперимент	- Experiment
Эстроген	- Estrogen

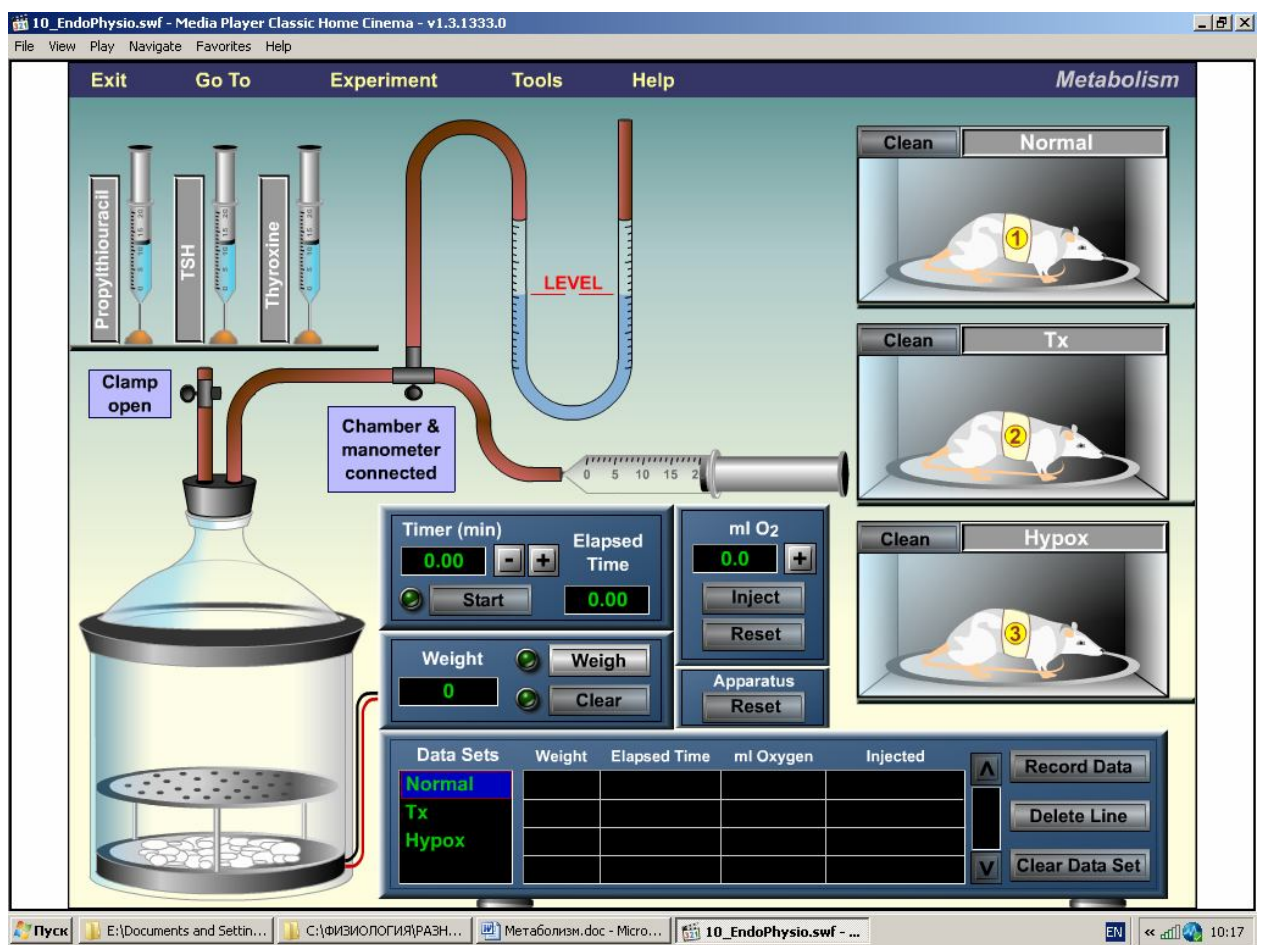
Работа 1.

ИЗМЕРЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА В НОРМЕ И ПРИ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ГОРМОНОВ.

Выберите в меню «Эксперимент» на верхней планке окна программу «Metabolism».

На экране слева изображен метаболиметр для животных. Манометр показывает объем поглощенного животным кислорода. Шприц с кислородом служит для измерения этого объема. Справа - клетки для крыс, уровень метаболизма которых Вы будете изучать.

Рис. 1. Модель установки для исследования метаболизма.



Ход работы:

1. С помощью курсора, нажимая на «время» (**Time**) – устанавливаем 2 минуты.
2. С помощью курсора, удерживая левую кнопку мыши, перемещаем контрольное животное в камеру метаболиметра.

3. Закрываем левый выводной кран метаболиметра, нажав на него курсором (**Clamp closed**). Правый кран должен быть в положении «**Chamber and manometer connected**».
4. Измеряем вес крысы, нажав курсором на кнопку «взвешивание» (**Weigh**).
5. Начинаем исследование, нажав на старт (**Start**).
6. После того, как прошло необходимое время, включается подсказка – «**Time elapsed! Click on the T-connector to proceed**» (Время вышло! Кликните на Т-образный кран для продолжения). Нажмите курсором на правый кран и переведите его в состояние “**Manometer and syringe connected**”.
7. Для измерения объема потребленного кислорода наберите в мерный шприц 4-5 мл O_2 и нажмите “**Inject**”.
8. Если риски на манометре не совпали – добавьте в шприц еще немного кислорода и снова нажмите “**Inject**”. Поступайте так до тех пор, пока риски не встанут ровно. Цифра в окошке будет указывать объем поглощенного животным кислорода.
9. Нажмите «Ввод данных» (**Record Data**) на таблице внизу. Перепишите эти данные в протокольную тетрадь.
10. Нажмите в окошке “**Apparatus**” кнопку “**Reset**” для возвращения крысы в клетку и обнуления всех данных.
11. Повторите шаги 1-10 с другими животными, которые являются экспериментальными, так как были подвергнуты частичной тиреоэктомию (Tx) или перенесли экстирпацию гипофиза (Нурох).
12. Введите имеющиеся в вашем распоряжении препарат **пропилтиоурацил** с помощью шприца обеим крысам (наведите курсор на шприц и перенесите его на нужное животное), и проведите исследование метаболизма после введения препарата (**шаги 1-10**). Занесите результаты в протокол. Нажмите **Clean** на клетке для возврата животного в прежнее состояние.
13. Повторите эти шаги с другими препаратами (тиреотропным гормоном - **TSH**, тироксином -**Thyroxine**). Не забывайте после каждого эксперимента нажимать **Clean** на клетке для возврата животного в прежнее состояние.
14. Заполните таблицу №1 и сделайте выводы.

Таблица 1. Влияние различных гормонов на метаболизм

Вид животного	Вес крысы	Время	Объем поглощенного кислорода	Введенное вещество
Нормальное животное				Нет
				Пропилтиоурацил
				Тиреотропный гормон (TSH)
				Тироксин
Тиреоэктомированное животное				Нет
				Пропилтиоурацил
				Тиреотропный гормон (TSH)
				Тироксин
Гипоксическое животное				Нет
				Пропилтиоурацил
				Тиреотропный гормон (TSH)
				Тироксин

Попробуйте ответить на следующие вопросы:

1. Чем отличается метаболизм гипоксического животного от нормы?
2. Почему уровень потребления кислорода тиреоэктомированной (Tx) крысы отличается от контроля?
3. Как влияет тироксин на метаболизм животных? Почему?
4. Чем отличается эффект тиреотропного гормона от эффекта тироксина? Каков механизм действия тиреотропного гормона?
5. Как меняется метаболизм при гиперфункции щитовидной железы?
6. Каков механизм влияния пропилтиоурацила на метаболизм?

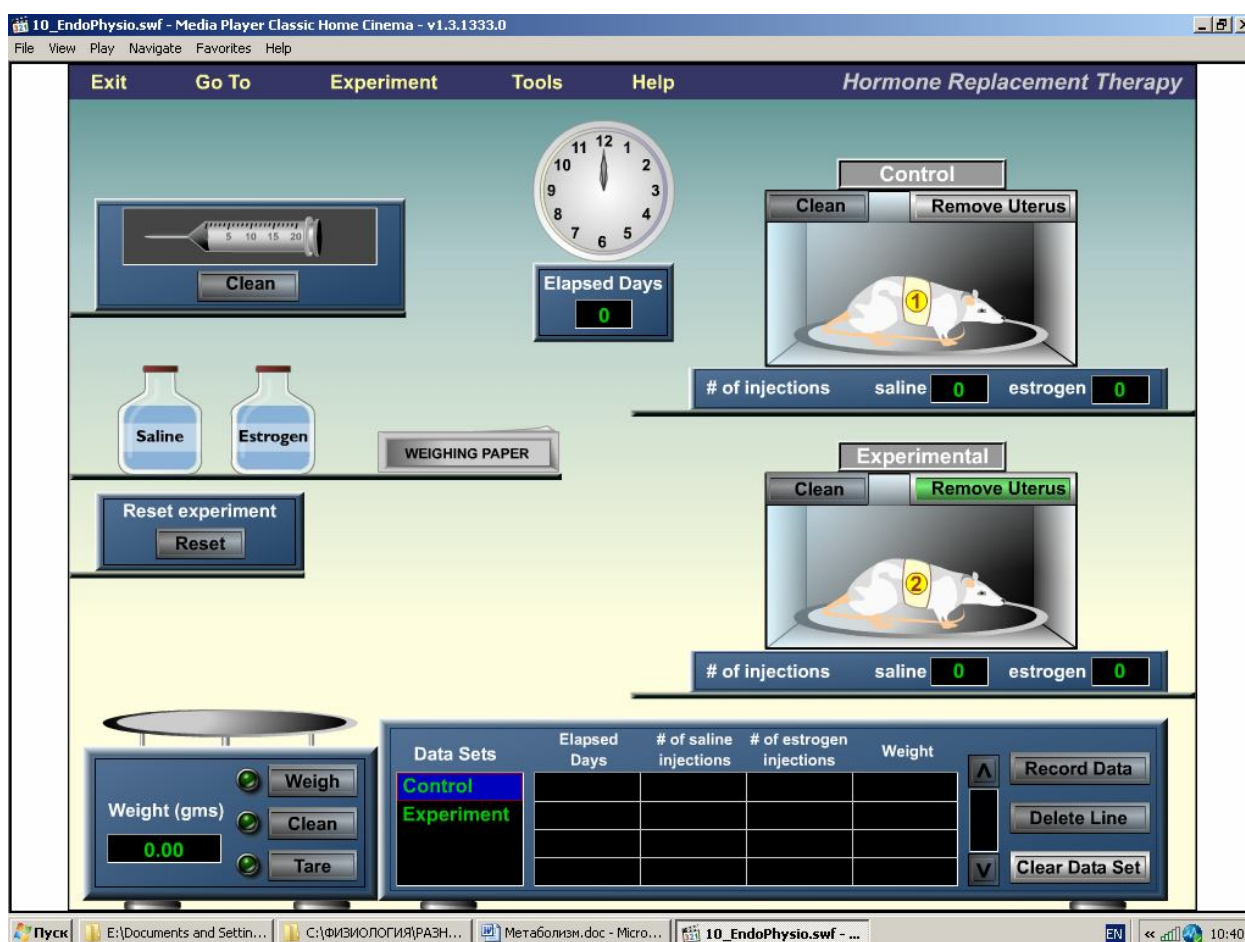
Работа 2.

ГОРМОНАЛЬНАЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ.

В данном эксперименте Вы будете изучать, как влияет введение гормона эстрогена на вес матки крысы. Контролем служит введение крысе солевого (физиологического раствора). Процедура эксперимента занимает одни сутки.

Войдите в меню «Эксперимент» и выберите «Hormone Replacement Therapy». На экране появится оборудование для этого виртуального эксперимента (рис. 2)

Рисунок 2. Обстановка виртуального эксперимента с заместительной терапией.



Справа вы видите клетки с животными – сверху контрольное, внизу – экспериментальное. Слева вверху – шприц для инъекций. На полке ниже шприца – растворы для инъекций – физиологический (Saline) и эстроген (Estrogen), а также контейнер для бумажных салфеток. Внизу расположены весы и таблица экспериментальных данных.

Дизайн исследования заключается в том, что контрольной крысе Вы должны сделать инъекцию физраствора, а экспериментальной – эстрогена. Через 3 суток выделяется матка животных и взвешивается. Эстроген инициирует рост матки, поэтому ее вес должен стать больше, чем в контроле.

Алгоритм действий:

1. Наведите курсор мышки на шприц, и, удерживая нажатой левую кнопку мыши, погрузите иглу в солевой раствор (**Saline**), и перенесите шприц к верхней (контрольной) крысе. Отпустите кнопку мышки – произойдет инъекция.
2. Нажмите кнопку «**Clean**» под шприцом, чтобы подготовить его к работе.
3. Наведите курсор мышки на шприц, и, удерживая нажатой левую кнопку мыши, погрузите иглу в раствор с эстрогеном (**Estrogen**), и перенесите шприц к нижней (экспериментальной) крысе. Отпустите кнопку мышки – произойдет инъекция.
4. Нажмите курсором на часы и дождитесь, когда пройдут 2 суток.
5. Выделите матку животных, нажимая на кнопку «**Remove Uterus**» справа наверху каждой клетки.
6. Нажмите курсором на контейнер для бумаги (**Weighing paper**), захватите салфетку и перенесите ее на весы слева внизу экрана. Нажмите «**Weigh**» для того, чтобы узнать вес листа. Запишите его в протокольную тетрадь, и нажмите кнопку «Тара» (**Tare**).
7. Перенесите матку контрольного животного на весы и нажмите кнопку «взвесить» (**Weigh**). Нажмите «**Control**» на табло данных в колонке **Data Sets** и затем зарегистрируйте данные, нажав «**Record data**».
8. Освободите весы, нажимая **Clean** на весах, чтобы подготовить их к взвешиванию матки экспериментальной крысы.
9. Перенесите матку экспериментального животного на весы и нажмите кнопку «взвесить» (**Weigh**). Нажмите «**Experiment**» на табло данных в колонке **Data Sets** и затем зарегистрируйте данные, нажав «**Record data**».
10. Запишите полученные данные в тетрадь и нажмите **Reset** на блоке «**Reset experiment**». Установка готова к повторению эксперимента.
11. Для того, чтобы выяснить, через сколько дней после инъекции препарата будет наблюдаться наибольший эффект, повторите этот эксперимент, устанавливая экспозицию до 3,4 и 5 суток.

Таблица 2. Влияние эстрогена на вес матки крысы

Вид крысы Data Sets	Прошло дней Elapsed Days	Солевой раствора Of saline injections	Эстроген Of estrogen injections	Вес матки Weigh uterus
Контрольная				
Экспериментальная				

Попробуйте ответить на следующие вопросы:

1. Почему эстроген изменяет вес матки?
2. Через сколько дней после инъекции наблюдается наибольший эффект?

Работа 3.

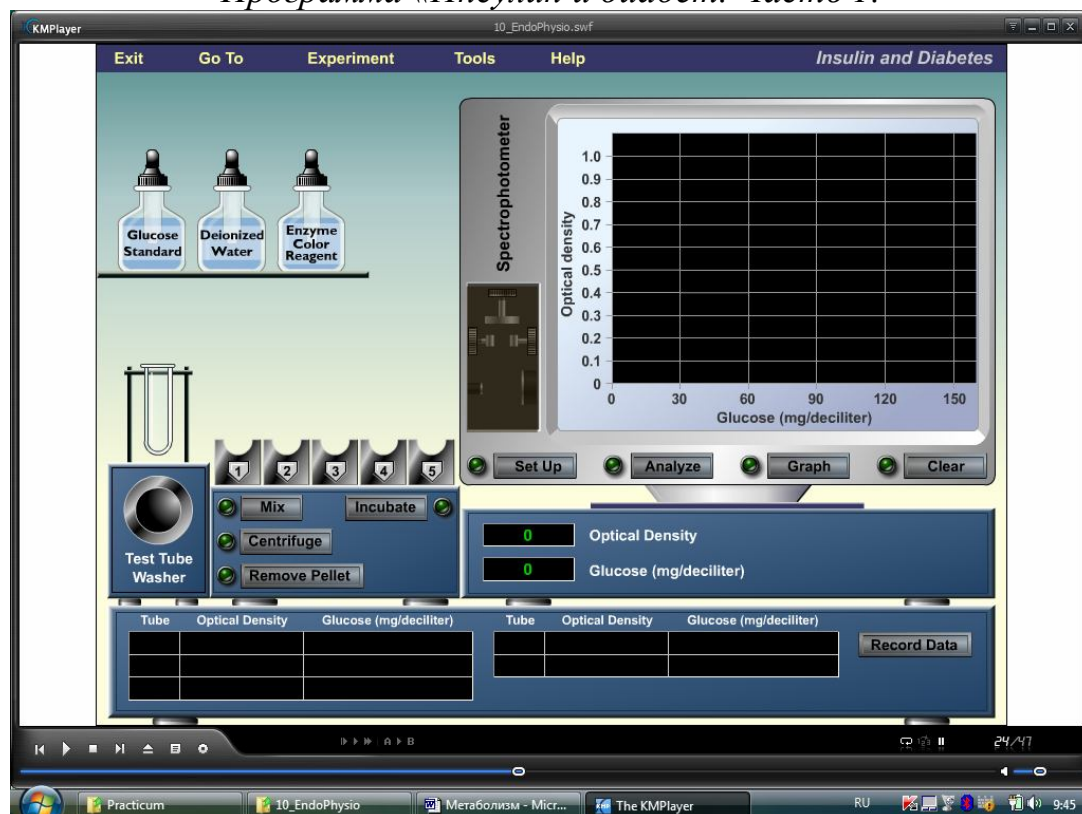
ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА НА СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ

Эксперимент заключается в исследовании содержания глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом и в крови здорового животного при введении в организм инсулина. Инсулин – гормон эндокринной части поджелудочной железы – способствует усвоению глюкозы и переводу ее в гликоген. При недостатке этого гормона в организме развивается сахарный диабет, при котором концентрация глюкозы в крови возрастает (гипергликемия) и она появляется в моче (глюкозурия). Экспериментальный диабет вызывается инъекцией животному аллоксана (т.н. аллоксановый диабет)

На первом этапе эксперимента мы должны получить калибровочную кривую для определения концентрации глюкозы. Для этого в части 1 виртуального опыта мы будем измерять концентрацию вещества в растворах глюкозы, разбавленных различным количеством дистиллированной воды.

В верхней части экрана выбираем **Experiment** и затем **Insulin and diabetes – Part I**. Появится оборудование для построения калибровочной кривой.

Рисунок 3. Оборудование для формирования калибровочной кривой.
Программа «Инсулин и диабет. Часть 1.



Алгоритм действий:

Часть 1.

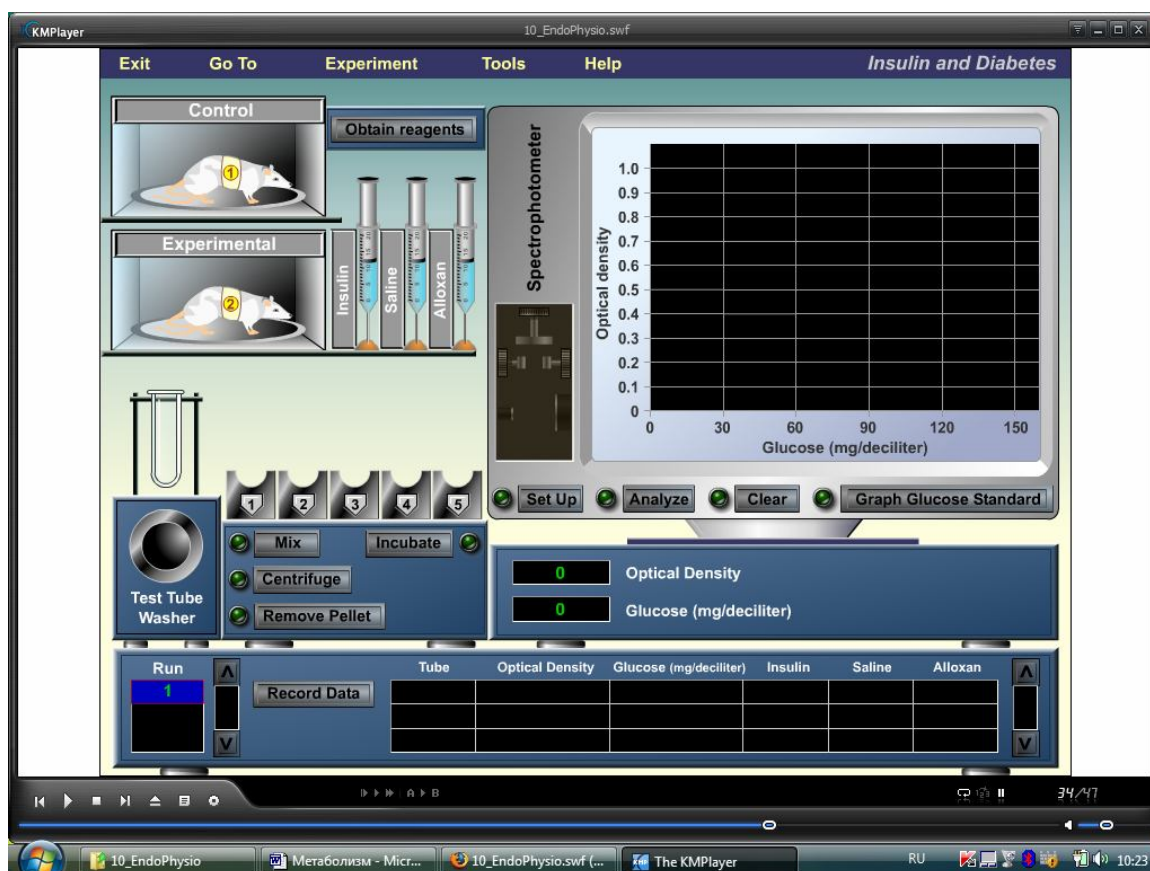
1. С помощью мышки из банка пробирок слева переместите по очереди 5 пробирок в штатив.
2. С помощью мышки заполните каждую пробирку раствором глюкозы, выбирая пипетку с глюкозой на полке с растворами (**Glucose standard**). Программа наполнит пробирки различным количеством глюкозы.
3. Добавьте в первые четыре пробирки дистиллированной воды (**Deionized Water**).
4. Нажмите «**Mix**» для перемешивания раствора в пробирках.
5. Нажмите «**Centrifuge**» для центрифугирования содержимого пробирок.
6. Нажмите «**Remove Pellet**» для удаления осадка.
7. Добавьте в каждую пробирку цветной индикатор (**Enzyme Color Reagent**).
8. Нажмите «**Incubate**» для начала инкубации содержимого пробирок.
9. Открыть шторку спектрофотометра справа – нажмите «**Set Up**».
10. Переместите первую пробирку в держатель спектрофотометра и нажмите кнопку «**Analise**». На экране появится красная точка, показывающая концентрацию глюкозы в первой пробирке. Зарегистрируйте результат в таблице, нажав **Record Data**
11. Перенесите пробирку из спектрофотометра в контейнер для тары слева (**Test Tube Washer**).
12. Повторите измерения концентрации раствора в остальных пробирках. Не забывайте после окончания каждого измерения выбрасывать пробирку в контейнер и нажимать «**Record Data**».
13. Запишите результаты в протокол и постройте калибровочную кривую, нажав кнопку «**Graph**» под экраном спектрофотометра

Часть 2.

В верхней части экрана выбираем **Experiment** и затем **Insulin and diabetes – Part II**. Появится оборудование для измерения концентрации глюкозы в крови.

В этой модели кроме спектрофотометра, контейнера для пробирок и штатива, имеются клетки с экспериментальными животными и шприцы с различными веществами (инсулин, физраствор, аллоксан), которые Вы будете вводить крысам.

Рисунок 3. Оборудование для измерения концентрации глюкозы в крови.
Программа «Инсулин и диабет. Часть 2».



Алгоритм действий:

1. Выберите с помощью мышки шприц с физиологическим раствором (**Saline**) и сделайте инъекцию контрольной крысе. Заберите пробирку из контейнера и перенесите ее к основанию хвоста контрольного животного для забора крови. Затем пометите пробирку с кровью в первую лунку штатива.
2. Выберите с помощью мышки шприц с аллоксаном (**Alloxan**), который блокирует выделение инсулина бета-клетками поджелудочной железы, и сделайте инъекцию экспериментальной крысе. Заберите пробирку из контейнера и перенесите ее к основанию хвоста экспериментального животного для забора крови. Затем пометите пробирку с кровью во вторую лунку штатива.
3. Сделайте инъекции инсулина (**Insulin**) обеим крысам и заберите их кровь так же, как и раньше. Пробирки с кровью пометите в 3-ю (контроль) и 4-ю (опыт) лунки штатива.
4. Нажмите (**Obtain reagents**) для перехода к процедуре анализа. Клетки с животными исчезнут, вместо них появятся необходимые растворы.

5. Добавьте в каждую пробирку дистиллированную воду (**Deionized wather**), гидроксид бария (**Barium hydroxide**) и гепарин (**Heparin**).
6. Нажмите **Mix** для перемешивания раствора в пробирках.
7. Нажмите **Centrifuge** для центрифугирования содержимого пробирок.
8. Нажмите **Remuve Pellet** для удаления осадка.
9. Добавьте цветного индикатора (**Enzyme Color Reagent**)
10. Нажмите **Incubate** для начала инкубации содержимого пробирок.
11. Открыть шторку спектрофотометра справа – нажмите **Set Up**.
12. Нажмите «**Graph Glucose Standard**» под экраном спектрофотометра для появления калибровочной кривой.
13. Переместите первую пробирку в держатель спектрофотометра и нажмите кнопку «**Analise**». На экране появится горизонтальная линия, показывающая показатель экстинции прибора. С помощью мышки переместите вертикальную линию в точку пересечения горизонтали с калибровочной кривой. Эта точка соответствует концентрации глюкозы в первой пробирке. Зарегистрируйте результат в таблице, нажав **Record Data**
14. Перенесите пробирку из спектрофотометра в контейнер для тары слева (**Test Tube Washer**).
15. Повторите измерения концентрации раствора в остальных пробирках (как в пункте 13). Не забывайте после окончания каждого измерения выбрасывать пробирку в контейнер и нажимать **Record Data**.
16. Запишите результаты в протокол и сделайте выводы.

Таблица 3. Влияние инсулина на концентрацию глюкозы в крови.

Пробирка №	Показатель экстинции (Optical Density)	Концентрация глюкозы (мг/децилитр	Инсулин	Физраствор	Аллоксан
1					
2					
3					
4					

Попробуйте ответить на следующие вопросы:

1. Чем отличается реакция на инсулин у контрольного и большого диабетом животного?
2. Каков механизм действия инсулина?