**МЕТОДЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Физиология – наука, изучающая механизмы функционирования организма в его взаимосвязи с окружающей средой (эта наука о жизнедеятельности организма), физиология – наука экспериментальная и основными методами физиологической науки являются экспериментальные методы. Однако физиология как наука зародилась внутри медицинской науки еще до нашей эры в Древней Греции в школе Гиппократа, когда основным методом исследования был метод наблюдения. Выделилась физиология в самостоятельную науку в XV веке благодаря исследованиям Гарвея и ряда других ученых естествоиспытателей, и, начиная с конца XV – начала XVI веков, основным методом в области физиологии являлся метод эксперимента. И.Н. Сеченовым и И.П. Павловым был внесен значительный вклад в развитие методологии в области физиологии, в частности в разработке хронического эксперимента.

Литература:

1. Физиология человека. Косицкий
2. Корбков. Нормальная физиология.
3. Зимкин. Физиология человека.
4. Физиология человека под ред. Покровского В.Н., 1998 г.
5. Физиология ВНД. Коган.
6. Физиология человека и животных. Коган. 2 т.
7. Под ред. Ткаченко П.И. Физиология человека. 3 т.
8. Под ред. Ноздрочева. Физиология. Общий курс. 2 т.
9. Под ред. Кураева. 3 т. Переводной учебник ? физиологии человека.

*Метод наблюдения* – самый древний, зародился в Др. Греции, хорошо развит был в Египте, на Др. Востоке, в Тибете, в Китае. Суть этого метода заключается в длительном наблюдении изменений функций и состояний организма, фиксирование этих наблюдений и по возможности сопоставление визуальных наблюдений с изменениями организма после вскрытия. В Египте при мумифицировании трупы вскрывались, наблюдения жреца за больным: изменения кожных покровов, глубина и частота дыхания, характер и интенсивность выделений из носа, ротовой полости, а также объем и цвет мочи, ее прозрачность, количество и характер выделяемого кала, его цвет, частота пульса и другие показатели, которые сопоставлялись с изменениями во внутренних органах, фиксировались на папирусе. Таким образом уже по изменению выделяемых организмом кала, мочи, мокроты и т.д. можно было судить о нарушении функций того или иного органа, например, если кал белого цвета допустимо предполагать нарушение функций печени, если кал черного или темного цвета, то возможно предположить желудочного или кишечное кровотечение. Дополнительным критерием служили изменения цвета и тургора кожи, отечность кожи, ее характер, окраска склера, потливость, дрожь и т.д.

Гиппократ к наблюдаемым признакам относил характер поведения. Благодаря своим тщательным наблюдениям им было сформулировано учение о темпераменте, согласно которому все человечество по особенностям поведения делится на 4 типа: холерики, сангвиники, флегматики, меланхолики, однако Гиппократ ошибся в физиологическом обосновании типов. В основу каждого типа им было положено соотношение основных жидкостей организма: сангви – кровь, флегма – тканевая жидкость, холеа – желчь, меланхолеа – черная желчь. Научное теоретическое обоснование темпераментов было дано Павловым в результате длительных экспериментальных исследований и оказалось, что в основе темперамента лежит не соотношение жидкостей, а соотношение нервных процессов возбуждения и торможения, степень их выраженности и преобладание одного процесса над другим, а также скорость смены одного процесса другими.

Метод наблюдения широко используется в физиологии (особенно в психофизиологии) и в настоящее время метод наблюдения сочетается с методом хронического эксперимента.

*Метод эксперимента*. Физиологический эксперимент в отличие от простого наблюдения – это целенаправленное вмешательство в текущее отправление организма, рассчитанное на выяснение природы и свойств его функций, их взаимосвязей с другими функциями и с факторами внешней среды. Также вмешательство часто требует хирургической подготовки животного, которое может носить: 1) острую (вивисекционную, от слова vivo – живое, sekcia – секу, т.е. секу по живому), 2) хроническую (экспериментально-хирургическую) формы.

В связи с этим эксперимент подразделяют на 2 вида: острый (вивисекция) и хронический. Физиологический эксперимент позволяет ответить на вопросы: что происходит в организме и как происходит.

Вивисекция представляет собой форму эксперимента, проводимую на обездвиженном животном. Впервые вивисекция начала применятся в средние века, но широко стала внедряться в физиологическую науку в эпоху Возрождения (XV-XVII в). Наркоз в то время не был известен и животное жестко фиксировалось за 4 конечности, при этом оно испытывало мучения и издавало душераздирающие крики. Эксперименты проводились в в специальных комнатах, которые народ окрестил «дьявольскими». Это послужило причиной появления философских групп и течений. Анимализм (течения, пропагандирование гуманного отношения к животным и выступление за прекращение издевательств над животными, анимализм пропагандируется в настоящее время), витализм (ратовало за то, не проводились эксперименты на ненаркотизированных животных и волонтерах), механицизм (отожествляли правильно протекающие в животном с процессами в неживой природе, ярким представителем механицизма был французский физик, механик и физиолог Рене Декарт), антропоцентризм.

Начиная с XIX века в остром эксперимента стали применять наркоз. Это привело к нарушению процессов регуляции со стороны высших отростков ЦНС, в результате нарушается целостность реагирования организма и его связь с внешней средой. Такое применение наркоза и хирургическая травля при вивисекции вносит в острый эксперимент неконтролируемые параметры, которые трудно учесть и предвидеть. Острый эксперимент, как и любой экспериментальный метод, имеет свои достоинства: 1) вивисекция – один из аналитических методов, дает возможность моделировать разные ситуации, 2) вивисекция дает возможность получать результаты в относительно короткий срок; и недостатки: 1) в остром эксперименте отключается сознание при применении наркоза и соответственно нарушается целостность реагирования организма, 2) нарушается связь организма с окружающей средой в случаи применения наркоза, 3) при отсутствии наркоза идет неадекватный нормальному физиологическому состоянию выброс стрессорных гормонов и эндогенных (вырабатываемых внутри организма) морфиноподобных веществ эндорфинов, оказывающих обезболивающий эффект.

Все это способствовало разработке хронического эксперимента – длительного наблюдения после острого вмешательства и восстановление взаимоотношений с окружающей средой. Преимущества хронического эксперимента: организм максимально приближен к условиям интенсивного существования. Некоторые физиологи к недостаткам хронического эксперимента относят то, что результаты получаются в относительно длительный срок.

Хронический эксперимент впервые был разработан отечественным физиологом И.П. Павловым, и, начиная с конца XVIII века, широко применяется в физиологических исследованиях. В хроническом эксперименте используется ряд методических приемов и подходов.

Метод, разработанный Павловым – метод наложения фистул на полые органы и на органы, имеющие выводные протоки. Родоначальником фистульного методы был Басов, однако при наложении фистулы его методом, содержимое желудка попадало в пробирку вместе с пищеварительными соками, что затруднило изучение состава желудочного сока, этапов пищеварения, скорости протекания процессов пищеварения и качества отделяемого желудочного сока на различный состав пищи.

Фистулы могут накладываться на желудок, протоки слюнных желез, кишечник, пищевод и др. Отличие павловской фистулы от басовской состоит в том, что Павлов накладывал фистулу на «малый желудочек», сделанный искусственно хирургическим путем и сохраняющий пищеварительную и гуморальную регуляцию. Это позволило Павлову выявить не только качественный и количественный состав желудочного сока на принимаемую пищу, но и механизмы нервной и гуморальной регуляции пищеварения в желудке. Кроме того, это позволило Павлову выявить 3 этапа пищеварения:

1. условнорефлекторный – при нем выделяется аппетитный или «запальный» желудочный сок;
2. безусловнорефлекторная фаза – желудочный сок выделяется на поступившую пищу независимо от ее качественного состава, т.к. в желудке располагаются не только хеморецепторы, но и нехеморецепторы, реагирующие на объем пищи,
3. кишечная фаза – после того как пища попадает в кишечник, то пищеварение усиливается.

За свои работы в области пищеварения Павлов был удостоен Нобелевской премии.

*Гетерогенные нервно-сосудистые или нервно-мышечные анастенозы.* Это изменение эффекторного органа в генетически детерминированной нервной регуляции функций. Проведение таких анастеноз позволяет выявить отсутствие или наличие пластичности нейронов или нервных центров в регуляции функций, т.е. может ли седалищный нерв с остатком позвоночника управлять дыхательной мускулатурой.

При нервно-сосудистых анастенозах эффекторними органами являются кровеносные сосуды и соответственно расположенные в них хемо- и барорецепторы. Анастенозы могут выполняться не только на одном животном, но и на разных животных. Например, если сделать анастеноз нервно-сосудистый у двух собак на каротидную зону (разветвление дуги сонной артерии), то можно выявить участи различных отделов ЦНС в регуляции дыхания, кроветворения, сосудистого тонуса. При этом режим вдыхаемого воздуха изменяют у донной собаки, а регуляцию видят у другой.

*Пересадка различных органов. Подсадка и удаление органов или различных участков мозга (экстирпация).* В результате удаления органа создают гипофункцию той или иной железы, в результате подсадки создают ситуацию гиперфункции или избытка гормонов той или иной железы.

Экстирпация различных участков головного мозга и коры головного мозга выявляют функции этих отделов. Например, при удалении мозжечка было выявлено его участи в регуляции движения, в поддержании позы, статокинетических рефлексов.

Удаление различных участков коры головного мозга позволило Бродману картировать мозг. Он разделил кору на 52 поля по функциональным отправлениям.

*Метод перерезки головного спинного мозга.* Позволяет выявить функциональную значимость каждого отдела ЦНС в регуляции соматических и висцеральных функций организма, а также в регуляции поведения.

*Вживление электронов в различные участки мозга.* Позволяет выявить активность и функциональную значимость той или иной нервной структуры в регуляции функций организма (двигательных функций, висцеральных функций и психических). Электроды, вживляемые в мозг, делаются из инертных материалов (т.е. они должны быть интоксичными): платина, серебро, палладий. Электроды позволяют не только выявлять функцию того или иного участка, но и наоборот, зарегистрировать в каком участке мозга появление вызывает потенциал (ВТ) в ответ на те или иные функциональные отправления. Микроэлектродная техника дает человеку возможность изучить физиологические основы психики и поведения.

*Вживление канюль (микро).* Перфузия – пропускание растворов различного химического состава по нашему компоненту или по наличию в нем метаболитов (глюкоза, ПВК, молочная кислота) или по содержанию биологически активных веществ (гормоны, нейрогормоны, эндорфины, энкефамины и др.). Канюль позволяет вводить растворы с разным содержимым в ту или иную область мозга и наблюдать изменение функциональной активности со стороны двигательного аппарата, внутренних органов или поведения, психологической деятельности.

Микроэлектродная технология и конюлирование применяются не только на животных, но и на человеке во время хирургических операций на мозге. В большинстве случаев это делается с диагностической целью.

*Введение меченых атомов и последующее наблюдение на позитронно-эмиссионном томографе (ПЭТ).* Чаще всего вводят ауро-глюкозу, меченную золотом (золото+глюкоза). По образному выражению Грине, универсальным донором энергии во всех живых системах является АТФ, а при синтезе и ресинтизе АТФ основным энергетическим субстратом является глюкоза (ресинтез АТФ может так же происходить из креатин-фосфата). Поэтому по количеству потребляемой глюкозы судят о функциональной активности того или иного участка мозга, о его синтетической активности.

Глюкоза потребляется клетками, а золото не утилизируется и накапливается в этом участке. По разноактивному золоту, его количеству судят о синтетической и функциональной активности.

*Стереотаксические методы.* Это методы, при которых проводятся хирургические операции по вживлению электродов в определенной области мозга в соответствии со стереотаксическим атласом мозга с последующей регистрацией отведенных быстрых и медленных биопотенциалов, с регистрацией вызванных потенциалов, а также регистрацией ЭЭГ, миограммы.

При постановке новых целей и задач одно и тоже животное можно использовать в течение длительного времени наблюдения, изменения расположения микроэлементов или перфузируя различные области мозга или органы различными растворами, содержащими не только биологически активные вещества, но и метатолиты, энергетические субстраты (глюкоза, креотинфосфат, АТФ).

*Биохимические методы.* Это большая группа методик, с помощью которых в циркулирующих жидкостях, тканях, а иногда и органах, определяют уровень катионов, анионов, неноницированных элементов (макро и микроэлементов), энергетических веществ, ферментов, биологически активных веществ (гормоны и др.). Эти методы применяются как in vivo (в инкубаторах) или в тканях, которые продолжают секретировать и синтезировать вырабатываемые вещества в инкубационную среду.

Биохимические методы позволяют оценивать функциональную активность того или иного органа или его части, а иногда и целой системы органов. Например, по уровню 11-ОКС можно судить о функциональной активности пучковой зоны коры надпочечников, но по уровню 11-ОКС можно судить и о функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В целом, поскольку 11-ОКС является конечным продуктом периферического звена коры надпочечников.

*Методы изучения физиологии ВНД.* Психическая работа мозга долго оставалась недоступной для естествознания в целом и для физиологии в частности. Главным образом потому, что о ней судили по ощущениям и впечатлениям, т.е. с помощью субъективных методов. Успех в этой области знаний определился тогда, когда о психической деятельности (ВНД) стали судить с помощью объективного метода условных рефлексов разной сложности выработки. В начале XX века Павловым была разработана и предложена методика выработки условных рефлексов. На основе этой методики возможны дополнительные приемы изучения свойств ВНД и локализации процессов ВНД в головном мозге. Из всех приемов наиболее часто используются следующие приемы:

Пробы возможности образования разных форм условных рефлексов (на высоту тона звука, на цвет и т.д.), что позволяет судить о условиях первичного восприятия. Сопоставления этих границ у животных разных видов позволяет выявить: в каком направлении шла эволюция сенсорных систем ВНД.

Онтогенетическое изучение условных рефлексов. Сложное поведение животных разных возрастов при его изучении позволяет установить, что в этом поведении является врожденным, а что приобретенным. Например, Павлов брал щенков одного помета и вскармливал одних мясом, а других молоком. По достижению зрелого возраста вырабатывал у них условные рефлексы, и оказалось, что у тех собак, которые с детства получали молоко, условные рефлексы вырабатывались на молоко, а у тех собак, которых с детства кормили мясом, условные рефлексы легко вырабатывались на мясо. Таким образом, строгого предпочтения виду плотоядной пищи у собак нет, главное, что бы она была полноценной.

Филогенетическое изучение условных рефлексов. Сравнивая свойства условнорефлекторной деятельности животных разного уровня развития, можно судить: в каком направлении идет эволюция ВНД. Например, оказалось, что скорость образования условных рефлексов резко от беспозвоночных и позвоночных, сравнительно мелко изменяется на протяжении всей истории развития позвоночных и скачком достигает способностей человека сразу связывать ?, совпавшие события (импринтинг), импринтинг также свойственен выводковым птицам (вылупившиеся из яйца утята могут следовать за любым предметом: курица, человек и даже за движущейся игрушкой. В переходах беспозвоночные животные – позвоночные животные, позвоночные животные – человек отразились переломные этапы эволюции, связанные с возникновением и развитием ВНД (у насекомых нервная система неклеточного типа, у кишечнополостных – ретикулярного типа, у позвоночных – трубчатого типа, у птиц появляются бальные ганглии, некоторые обуславливают высокое развитие условнорефлекторной деятельности. У человека хорошо развита кора больших полушарий, что и обуславливает скачек.

Экологическое изучение условных рефлексов. Потенциал действия, возникающий в нервных клетках, участвующих в образовании рефлекторных связей, позволяет выявить основные звенья условного рефлекса.

Особенно важно то, что биоэлектронные показатели дают возможность наблюдать формирование условного рефлекса в структурах мозга еще до того, как он появится в двигательных или вегетативных (висцеральных) рефлексах организма. Прямое раздражение нервных структур мозга позволяет ставить модельные опыты по образованию нервных связей между искусственными очагами возбуждения. Можно также прямо определять, как изменяется при условном рефлексе возбудимость участвующих в нем нервных структур.

Фармакологическое действие при формировании или переделке условных рефлексов. Вводя в мозг определенные вещества можно определить, какое влияние они имеют на скорость и прочность образования условных рефлексов, на способность к переделке условного рефлекса, что позволяет судить о функциональной подвижности ЦНС, а также на функциональное состояние нейронов коры и их работоспособность. Например, было выявлено, что кофеин обеспечивает образование условных рефлексов при высокой работоспособности нервных клеток, а при низкой их работоспособности даже небольшая доза кофеина делает возбуждение непосильным для нервных клеток.

Создание экспериментальной патологии условно-рефлекторной деятельности. Например, хирургическое удаление височных долей коры больших полушарий ведет к псической глухоте. Методом экстирпации выявляется функциональная значимость участков коры, подкорки и стволовых отделов мозга. Таким же образом определяют локализацию корковых концов анализаторов.

Моделирование процессов условно-рефлекторной деятельности. Еще Павлов привлекал математиков для того, чтобы выразить формулой количественную зависимость образования условного рефлекса от частоты его подкрепления. Оказалось, что большинства здоровых животных, включая человека, условный рефлекс вырабатывался у здоровых людей после 5 подкреплений безусловным раздражителем. Особенно это важно в служебном собаководстве и в цирке.

Сопоставление психологических и физиологических проявлений условного рефлекса. Поддержка произвольного внимания, полета, эффективность обучения.

Сопоставление психологических и физиологических проявлений с биоэлементами и морфологическими с биокинетическими: выработка белков памяти (S-100) или участков биологически активных веществ в формировании условных рефлексов. Доказано, что если ввести вазопроессии, то условные рефлексы вырабатываются быстрее (вазопрессии – нейро-гормон, вырабатываемый в гипоталамусе). Морфологические изменения структуры нейрона: голый нейрон при рождении и с денуритами у взрослого человека.

**Лабораторное занятие №1**

**Тема:** Методы экстирпации и подсадки

**Цель:** Знакомство с методами экстирпации и подсадки паращитовидных желез. Моделирование гипо- и гипрепаратиреоза.

**Оборудование:** лабораторные животные (5 крыс), электрокоагулятор, пинцет, ножницы, скальпель, йод, иглы для зашивания кожи, шовный материал, операционный столик, эфир для наркоза, воронка.

**Ход работы**

**Работа 1.** Моделирование дефицита паратиреоидных гормонов у крыс.

Дефицит паратгормонов создается удалением обеих паращитовидных желез при помощи аппарата эклетрохирургичесоко высокочастотного ЭХ-30. Принцип работы прибора заключается в следующем: за счет тока высокой частоты происходит быстрое нагревание тканей и испарение содержимого клеток. Аппарат работает в 2 режимах: «резание» и «коагуляция». Удаление желез происходит в режиме коагуляцией тонким электродом d примерно равен размерам ОЩЖ. Для коагуляции желез достаточно соприкосновение в течение 1-1,5 с. В режиме резания железы можно экстилировать. Преимущества коагуляции по сравнению с экстилацией ОЩЖ заключается в том, что исключается кровопотеря и не повреждается ткань щитовидной железы. Послеоперационный период 2 недели.

**Работа 2.** Моделирование избытка паратиреоидных гормонов у крыс.

Для моделирования гиперпаратиреоза использовали метод трансплантации ОЩЖ. Сущность метода заключается в трансплантации крысам-реципиентам под кожу шеи 3-х пар ОЩЖ от 3-х крыс доноров. Крысы-доноры должны быть примерно одного веса с крысой-реципиентом.

Донорам под эфирным наркозом делают разрез кожи в области передней плотности шеи длиной 2-3 см, следовательно тупым способом раздвигают мышцы, делаю доступными ОЩЖ. В этом состоянии крысу-донора помещают под воронку, продолжая давать эфирный наркоз. Животное-реципиента перед операцией фиксировали на спинке на хирургическом столике, также как и у крыс-доноров производили разрез кожи длиной 2-3 см в области передней плотности шеи. Затем ? скальпелем делали в подкожной клетчатке 6 неглубоких надрезов, которые служили своего рода ячейками для трансплантируемых ОЩЖ. Затем у 3-х крыс-доноров быстро отсекали ОЩЖ и помещали их в подготовленные разрезы у крысы-реципиента. Разрез кожи репициента зашивали хирургическим шелком и обрабатывали йодом. В последующие дни производили ревизию операционной раны. Полное заживление раны наблюдалось через 7-8 дней. Трансплантационные ОЩЖ хорошо приживаются. Данная модель убытка парат. гормонов позволяет обеспечить круглосуточное увеличение его в крови за счет естественного парат. гормона.

**Задание для самостоятельной работы.**

Пронаблюдать за состоянием оперированных животных вплоть до полного заживления раны и повторного их взятия в эксперимент.

Спустя 2 недели определить у оперированных животных уровень общего кальция, косвенно свидетельствующего о функциональной активности ОЩЖ и с-клеток щитовидной железы, а также уровня 11-ОКС, изменяющейся как в ответ на стрессорное хирургического воздействие, так и в ответ на нарушение функции ОЩЖ (точнее на нарушение гомеостаза кальция).

**Лабораторное занятие №2**

**Работа 1.** Двусторонняя овариоэктомия.

Для изучения электрогенов в адаптационно-приспособительной деятельности организма, самок крыс подвергали двусторонней овариоэктомии. Операция выполняется в соответствии с рекомендациями, изложенного в руководстве Бунока, 1968.

Животных наркотизировали эфиром и фиксировали на операционном столе в положении на спине. Шерсть на брюшке от грудины до лобковой области выстригали и кожу обработали спиртом. Скальпелем, осторожно, чтобы не повредить кишечник делали продольный разрез длиной 4-5 см по вредней линии живота. Найдя правый или левый рог матки, исследуя далее по нему по яйцеводу, находим яичник. Накалываем лигатуру на верхнюю часть яйцевода и связку, поддерживающую яичник, после чело обрезали его ножницами. Аналогично удалили и второй яичник. После этого мышцы и конец ушивали и шов обрабатывали 5% йодной настойкой.

После операции животных помещали в чистую клетку, в течение первых 4-5 дней проводили ежедневную обработку раны дезинфицирующими средствами. Заживление раны происходило за 8-10 дней.

**Работа 1.** Односторонняя адреналэктомия.

Для моделирования дефицита эндогенных глюкокортикоидов животных подвергании АЭ (адреналэктомии).

Оперативное удаление одного надпочечника производили по метотдике, представленной в руководстве Кабак Я.М. Операцию проводили под эфирным наркозом. Крысу фиксировали на операционном столе в положении на животе. Слева от позвоночника выстригали шерсть и обрабатывали операционное поле йодом. Разрез кожи и мышцы производили на расстоянии 1 см. слева от позвоночника, отступая на 1,5 см. книзу от реберной дуги. Далее небольшой мышечный разрез расширяли крючками. Надпочечник вместе с окружающей его жировой тканью и соединительнотканным тяжом захватывали анатомическим пинцетом и удаляли. Операционную рану послойно ушивали.

В послеоперационный период каждую рану ежедневно обрабатывали антисептическими средствами. Заживление происходило через 5-7 дней.

Вывод: Оварио- и адреналэктомия одновременно привели к резкому снижению адаптивных возможностей животных в связи с нарушениями гормнального баланса (гипофункция надпочечников привела к гипокартицизму и гипоэстрагении) и его гибели на 9 сутки после операции.

**Лабораторное занятие №3**

**Тема:** Методы введения фармацевтических препаратов лабораторным животным . Тестирующие методы.

**Цель:** Ознакомиться с методическими приемами и способами введения фармацевтических препаратов и различного рода пероральных и парэнтеральных нагрузок лабораторным животным.

**Оборудование:** шприцы для перорального, внутримышечного и перэнтерального введения, лекарственные вещества или водной нагрузки, 2 воронки с колпаками, 2 пробирки для сбора мочи (мирные), 2 пеленки, раствор петуитрина (содержит антидиуретический гормон – вадопресин), физиологический раствор, дистиллированная вода.

**Ход работы**

**Работа 1.** Влияние водной и гиперсоматической нагрузки на диурез. Влияние антидиуретического гормона на диурез.

Крыс взвесить и записать массу тела. Затем дать крысам водную нагрузку методом перорального введения. Для этого крысу подвесить в штатив «мягко», запеленать, в шприц, соединенный с зондом, набрать теплую воду (37оС) из расчета 5% от массы тела. Держа крысу вертикально вводят зонд в рот, и осторожно продвигают его в желудок до упора, после чего постепенно выдавливают из шприца воду. Затем одной крысе вводят петуитрин из расчета 20 мл на 100 г. массы тела. После этого обеих крыс помещают в воронки и в течение 1 часа собирают мочу. Петуитрин вводится внутримышечно. С этой целью корцнгом берут за кожу головы и держат одной рукой одновременно и корцанг, и хвост крысы, стараясь, чтобы крыса касалась всеми 4 лапами поверхности стола и ее размеры соответствовали физиологическим размерам. Второй рукой производится инъекция в бедро (мышцы) при этом задняя лапка удерживается вместе с хвостом.

Вывод: Без петуитрина: 1,2 мл, с петуитрином 0,7 мл, т.е. петуитрин способствует задержке воды в организме.

*Метод парентерального введения.* Используется, когда введенные вещества должны как можно быстрее попасть в общий кровоток, и в том случае, когда объем вводимых препаратов превышает дозы, допустимые для внутримышечного введения. При парентеральном способе введения объем может достигать 5 см3. Парентерально предпочтительнее вводить масленые растворы лекарственных веществ.

При парентеральном способе введения животное держат вниз головой, нельзя позволять животному резко двигаться в согнутом положении. С этой целью животное корцангом фиксируют за голову, а руками за хвост. С помощью анатомического пинцета или небольшого зажима Кохера оттягивают стенку брюшной полости, при этом органы брюшной полости опускаются вниз, затем делаю прокол брюшной стенки, фиксирую 2 прокола: 1 через кожу, 2 через мышечную стенку брюшины. После этого лекарство вводиться в брюшную полость. Свидетельством правильного введения лекарственного препарата в брюшную полость является отсутствие осложнений в области брюшной полости и активное состояние животного после инъекции при условии введения не наркотических веществ. При одном проколе введение будет подкожные.

**Лабораторное занятие №4**

**Тема:** Методы биологического тестирования.

**Цель:** Ознакомиться с методами биологического тестирования функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

**Оборудование:** гипофиз крысы-реципиента, гипоталамус крысы-реципиента, крыса-донор, реактивы, необходимые для приготовления экстракта гипофиза и гипоталамуса, корнцанг, зажим Кохера, шприц для внутривенного введения, ножницы, гепарин, пробирки для сбора крови, штатив, торсионные весы, водная баня, термометр, эфир для наркоза.

**Ход работы**

**Работа 1.** Определение содержания кортикотропина в гипофизе.

Перспективность метода заключается в определении прироста объема 11-ОКС в плазме крови крыс-реципиентов. После введения им тестируемых экстрактов гипофиза. Для определения содержания кортикотрпина предварительно строится колебательная кривая.

Техника определения: гипофиз взвешивали на торзионных весах и помещали в бокс с безводным ацетоном на 10 суток. Затем гипофиз взвешивали и тщательно растирали в 100 млк ледяной уксусной кислоты. Палочку ополаскивали таким же количеством уксусной кислоты. После этого чашечку помещали на водяную баню и выпаривали при t 70оС в течение 30 минут. Полученный экстракт разводили в 2 мл бидистиллята и нейтрализировали 1 молярным NaHCO3, затем разбавляли до нужной массы раствором Кребса-Рингера, содержащим бикарбонат и глюкозу. При разведении гипофизарных экстрактов учитывали, что одной крысе-реципиенту надо ввести 100 мкг ацетонированного порошка.

Биологическое тестирование с целью определения содерджания кортикотропина в гипофизе предпочтительно проводить на крысах самцах. В сутки до опыта крысам подкожно вводили преднизаон из расчета 6 мг на 100 г массы тела. Указанная доза кортикостероида по принципу обратной связи блокирует гипофизарно-надпочечниковую систему крыс-реципиентов, прекращая эндогенную секрецию кортикотропина. Через сутки у крыс определяется уровень 11-ОКС в плазме крови. Необходимое количество гипофизарного экстракта вводили внутривенно и через 1 час повторно определяли уровень 11-ОКС после введения крысам-реципиентам тестируемых экстрактов гипофиза. Пользуясь кривой «логарифм доул-эффект» устанавливали содержание кортикотропина в гипофизе опытной крысы в мед/ 100 мгм ткань.

**Лабораторное занятие №5**

**Тема:** Биохимические методы в физиологии.

**Занятие 1.** Определение 11-ОКС в плазме крови.

**Цель:** определить изменение объема 11-ОКС в плазме крови после воздействия оперативного вмешательства физиологического эксперимента.

**Методика:** 1. У животного взять 1-1,5 мл крови (из хвостовой вены или бедренной вены);

2. Кровь отцентрифугировать в течение 10 мин при 2000 об/мин;

3. Отделить плазму от форменных элементов и перенести ее в пробирку с притертой пробкой. Плазмы должно быть 1 мл или довести до этого количества бидистиллятом.

4. В пробирку добавить 6 мл гексана, встряхивать в течение 20 с. При этом у плазмы удаляется холестерин. Удалить отработанный гексан с помощью водоструйного насоса.

5. Добавить хлороформа 10 мл, встряхивать в течение 1 мин. При этом кортикостероиды растворяются в хлороформе. Оставшуюся фракцию плазмы удалить насосом.

6. Экстракт промыть 0,1 М раствором NaOH, добавляя по 1 мл. Встряхиваем 1 мин и удаляем водоструйным насосом.

7. 1 мл воды бидистиллируем, а дальше встряхиваем 1 мин и удаляем водоструйным насосом.

8. После отобрать 8 мл экстракта и перенести в чистую сухую пробирку с притертой пробкой.

9. В экстракт добавить 6 мл смеси абсолютного спирта (этилового) с H2SO4, которая выдерживает пробу во Савамо. Соотношение спирта и кислоты 1:3 (3 спирта и 1 кислоты). Встряхивают в течение 1 мин и оставляют на холоде в теплом месте в течение часа. При этом в смеси кислоты со спиртом растворяются кортикостероиды. После этого определяется объем 11-ОКС с помощью спектрофотометра «Квант».

**Оборудование:** двойной набор пробирок с притертой пробкой, штативы, центрифужные пробирки, водоструйный насос, 3 ппипетки по 1 мл, 2 пипетки на 10 мл, 1 пипетка на 6 мл.

**Реактивы**: бидистиллят, гексан, 0,1 раствор NaOH, хророформ, 100% этиловый спирт, H2SO4 по Савамо (100%).

**Методы исследования эмоционального статуса у крыс**

1. *Тест открытого поля*

Латентный период выхода из центрального квадрата, число пересеченных линий, вертикальных стоек, обследованных отверстий, умываний, дефекаций. По продолжительности латентного периода выхода из центрального квадрата и числу пересеченных линий судили о двигательной активности, по количеству вертикальных стоек и обследованных отверстий – об исследовательской деятельности, число умываний говорит об эмоциональном состоянии, а по количеству дефекаций судили о тревожности.

2. *Многопараметрический метод определения тревожно-фобического статуса крыс*

**Цель:** оценить комплексную характеристику индивидуального тревожно-фобического уровня животного.

**Методика:** исследование проводят в открытом поле при электрическом освещении 3000 люкс в фиксированное время.

Тест 1. Латентный период спуска с высоты. Данный тест используется для оценки интенсивного оборонительного поведения у крыс. Крысы помещаются на пенал из непрозрачного материала размером 20х14х14 см и отмечается время спуска с пенала, когда крыса коснется всеми 4 лапами поля.

Тест 2. Латентный период прохождения через отверстие. Крыса помещается в прозрачный пенал, разделенный поперек на 2 отсека с отверстием 7х10 см в перегородке. Действие считается выполненным, когда крыса перелезает во 2 отсек двумя лапами. При наличии колебаний при выполнении действия, заглядывания в отверстие или начатый, но не завершенный перенос оценки на 0,5 балле.

Тест 3. Время выхода из домика. Животное помещается в домик из прозрачного плексигласа 16х15х12 см и выход на 15 мин закрывается заслонкой. Отчет времени начинается с момента открытия выхода. В тестах 1-3 крысу из экспериментальной обстановки возвращали не ранее, чем через 20 мин после выполнения соответствующего действия или по истечению времени тестирования (180 с) в случае невыполнения действия. Интервалы между тестами не менее 15 мин.

Тест 4. Выход из центра открытого поля. Этот тест позволяет выявить реакции страха, связанные со снижением двигательной активности. Тестирование начинали с помещения крысы в центр поля и с этого момента фиксировали время, за которое животное посещало 4 центральных квадрата.

По тестам 1-4 оценки выставлялись в соответствии со шкалой:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № теста | Время выполнения, с | оценки |
| 1 | 0<t<3030<t<6060<t<180не спуск за 180 | 0123 |
| 2 | 0<t<3030<t<6060<t<180не выход за 180 | 0123 |
| 3 | 0<t<1515<t<3030<t<180свыше | 0123 |
| 4 | 0<t<1515<t<3030<t<60свыше | 0123 |

Тест 5. Пячение. Оценка функционирования реакции пячения спонтанно и при резкой смене освещенности в обстановке открытого поля. Через 180 с после момента помещения животного в поле освещенности резко меняли: выключали яркий свет и включали простую лампу на 60 с, затем восстанавливали освещенность. За 300 с наблюдения определяли измеренное расстояние в квадратах, на которое пятилось животное. Отсутствие изменений 0 баллов, на полквадрата – 1 б, до 2 квадрата – 2 б, более 2 квадратов – 3 б.

Тест 6. Пячение-2. Попытка экспериментатора взять животное на руки. Оценивается также.

Тест 7. Реакция вокализации.

Тест 8. Реакция затаивания. Животное замирает в напряженной позе на выпрямленных лапах или, прижимаясь к полу, иногда с прижатыми ушами и закрытыми глазами.

Тест 9. Прижатие ушей.

Тесты 6-9 осуществляют путем постепенного приближения руки экспериментатора со стороны морды так, чтобы крыса видела руку. Приближение руки к животному осуществляется 2-3 раза подряд. Оценка:

0 б. – реакция отсутствует

1 б. – реакция при поглаживании

2 б. – реакция при приближении руки

3б. – реакция сохраняется после удаления руки

При наличии спонтанных реакций по тестам 7-9 за каждый добавляли по 3 баллам дополнительно. Далее высчитывали суммарную оценку по всем тестам, по которой судили об общем уровне тревожности (интегральный показатель тревожности ИПТ).

Вывод по глюкозе: после построения калибровочной кривой (определяют которую по 10 стандартным размерам) было получено, что у экспериментального животного в крови содержалось 42 ммом (л глюкоза).

Исследование физиологических механизмов поведения животных – наиболее интенсивно развивающаяся область знаний, которая в нашей стране традиционно именуется физиологией высшей нервной деятельности. Интерес к этой науке в последние десятилетия существенно возрос прежде всего в связи с потребно­стями технического моделирования систем и процессов мозга, объединенных в понятие искусственного интеллекта. Естественно, что и сама наука о мозговых механизмах поведения и психики обогатилась кибернетическими идеями, сформировались новые направления исследований – бионика, нейрокибернетика и др.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСНОВ ПОВЕДЕНИЯ**

*Эволюция видов — это результат совершенствования адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды.* Высшие организмы могут существовать только в относительно узком диапазоне физических (температура, радиация, гравитация) и химических (запас метаболитов, электролитов и воды, состав атмосферы) факторов, которые определяются генетически детерминированными морфологическими и метаболическими свойствами. Статичные формы адаптации дополняются постоянно изменяющимися динамическими приспособлениями организма к окружающей среде. Это пове­дение, в самом широком смысле слова, основано на регуляции метаболической активности в целом и на контроле за специфическими исполнительными системами в частности. Мышцы и железы – это самые важные исполнительные органы, которые обеспечивают почти все формы поведения высших организмов. Организм оснащен разнообразными рецепторами, способными воспринимать свойства окружающей среды и трансформировать их в значимую информацию. Поведение определяется окружающей средой и опосредуется центральными механизмами, оценива­ющими входящую информацию и формирующими наиболее адекватные реакции.

*Основной целью поведения является обеспечение выживания отдельной особи или вида.* Поведенческие акты можно произвольно подразделять на *аппетентные реакции,* направленные на достижение необходимых внешних условий (например, запасание или принятие пищи, спаривание), и на *реакции противоположно­го знака,* включающие *бегство* или *избегание вредных факторов* (например, температура, радиация, механическое повреждение), факторы окружающей среды часто образуют *непрерывность,* определенный диапазон которой животное предпочитает, тогда как другой диапазон избегает. Животное перемещается в многомерном градиенте факторов окружающей среды для оптимизации общей суммы воспринимаемых воздействий (например, когда доступ к пище может быть получен только при неблагоприятных температурных диапазонах или при оптимальных или даже вредных механических воздействиях).

*Такая* схема взаимоотношений между организмами и окружающей средой позволяет предположить существование *гипотетических центральных состояний* (например, *драйвы, мотивация),* которые запускаются и поддерживают специфические формы поведения. Предполагается, что в организме имеется модель оп­тимума внутренних (и внешних) состояний и что любое поведе­ние постоянно оценивается в зависимости от уменьшения или уве­личения расхождения между этой моделью и реальным состоянием. Значимые условия окружающей среды, к которым организм стремится, – это *привлекающие стимулы, а* те, которых избегают) – это *аверзивные стимулы.* Модификация поведения и контроль за ним *(оперантное обусловливание)* путем предъявления привлекающих стимулов или устранения аверзивных стимулов называются, соответственно, *положительным* или *отрицательным подкреплением.* Сочетание определенного поведения с аверзив-ными стимулами называется *наказанием* и приводит к подавлению этого поведения.

Наряду с ответом на вопрос, почему животное действует, столь же важно понять, как оно действует. Рефлекторная теория, предложенная Декартом в XVII в., оказала влияние на мышление физиологов и психологов и по-прежнему остается важной отправ­ной точкой современной нейрофизиологии. Основной поведенче­ский репертуар жестко заложен в определенных нервных сетях, которые связывают определенную реакцию (безусловную реакцию – БР) с определенным стимулом (безусловный стимул – БС). Эти *врожденные* (не приобретенные при обучении) *реакции* дополняются *приобретенными (условными) реакциями* на первоначально нейтральные стимулы, которые при повторяющихся со­четаниях с БР становятся условными стимулами (УС), т. е. сигналами пространственного и/или временного приближения БР (Павлов, 1927).

Если врожденное поведение отражает генетически закодиро­ванные реакции, приобретенные поколениями в процессе естественного отбора, то индивидуально приобретенное поведение связано с опытом, записанным в памяти организма. Последовательность внешних и/или внутренних событий, в которых участвует животное, может вызывать более или менее длительные изменения в его нервной системе, лежащие в основе ответной реакции на ранее неэффективные стимулы. Соответствующий процесс, на­зываемый *обучением,* ведет к накоплению опыта в форме следов памяти (энграммы), извлечение которых влияет на поведение животного. Навыки, которые более не соответствуют новым условиям, угашаются, а навыки, которые длительное время вообще не использовались, могут быть забыты.

Взаимодействие между организмом и окружающей средой может быть различным, чему соответствуют определенные формы поведения. Если *ответное поведение* состоит из реакций, выз­ванных дискретными стимулами, например болевыми, пищей, то оперантное поведение может быть стимулировано внутренними потребностями и состоять в спонтанном проявлении различных реакций, которые, в конечном счете, влекут за собой .желаемое изменение окружающей среды (например, получение доступа к пище).

Такие формы *приобретенного поведения* подчеркивают раз­личия между классическим и инструментальным обусловливанием: в первом случае УС, как правило, вызывает такую же реакцию, как и БС (слюновыделение, вызванное акустическим УС о предъ­явлении пищи). Наличие или отсутствие условного ответа, выработанного по классическому типу, не влияет на вероятность применения БС. Инструментальные реакции обычно существенно отличаются от соответствующих безусловных реакций, с помощью инструментальных реакций открывается доступ к привлекающим стимулам или, наоборот, животное избегает аверзивных стимулов (например, нажатие на рычаг, подкрепляемое подачей пищи, избегание болевых стимулов прыжком). Как правило, инструментальное обусловливание влияет на двигательные реакции скелетных мышц, тогда как классическое обусловливание ограничивается вегетативными функциями, выполняемыми висцеральными мышцами и железами. Однако в этом правиле много исключений.

В традиционной психологии «стимул-реакция» (например, как это предлагает Скиннер (Skinner, 1938)) поведенческий анализ состоит в установлении системы правил, связывающих условия входа (стимулы) с состояниями выхода (реакции). Таким образом, не учитываются предполагаемые в нервных центрах процессы или гипотетические механизмы концептуального мозга. Хотя подход, в котором используется гипотеза «черного ящика», способствовал значительному вкладу в наше понимание роли окружающей среды в управлении поведением, применение его лишь незначительно расширило сведения о внутренней структуре и функции этого «черного ящика», т. е. о мозге, как о преобразователе или опосредующем органе между входом и выходом. Последнее и является областью исследований специалистов – физиологов и психологов и сферой различных специальных дисциплин (нейрофизиологии, фармакологии, нейрохимии), которые вхо­дят в комплекс нейронаук. В нейрофизиологии достигнуты значи­тельные успехи в области анализа простых безусловных рефлексов спинного мозга. Понимание рефлекса растяжения или сгибания настолько детализировано, что можно точно проследить распространение афферентного потока импульсов от дорзальных корешков в спинном мозге вплоть до образования эфферентного залпа в вентральных корешках. Понятие условного рефлекса (УР), введенное Павловым, позволяет применить тот же аналитический подход к классическим условным рефлексам. Однако даже самые простые УР пока не дают возможность обнаружить решающее пластическое звено, ответственное за переключение потока УС на путь БР. Столь же не ясны и нейронные механизмы, участвующие в оперантном обуславливании (инструментальных условных рефлексах).

Основными методами исследования нервных механизмов по­ведения являются удаление, стимуляция, электрическая регистрация и химический анализ. Например:

(A) Расположение *нервных структур*, отвечающих за опре­деленное поведение, может быть установлено путем максимального удаления участков мозга, при котором это поведение сохраняется, и/или путем минимального удаления, при котором оно исчезает. Той же цели может служить и функциональная блокада нервных центров.

(Б) Нервный субстрат реакции можно проанализировать путем нахождения области и оптимальных параметров электрической и химической ее стимуляции, вызывающих такую же реакцию.

(B) Электрическая активность, сопровождающая поведенческий акт, может отражать процессы, важные для его реализации. Электрофизиологические методы могут использоваться для выявления распространения афферентных импульсов в мозге, активности, предшествующей возникновению внешней реакции, или для соотнесения вероятности и/или величины поведенческой и электрической реакции.

(Г) Активация и возможная модификация нервных цепей, вызванная обучением, может отражаться в локальных изменениях метаболизма медиаторов, нуклеиновых кислот и белков.

Нейрофизиологическое исследование направлено на учет ди­намики поведения и пространственно-временной организации активности головного мозга. Приобретение нового опыта, ведущего к образованию энграммы (обучение), может осуществляться с участием нервных сетей, отличных от тех, которые участвуют в последующем воспроизведении зафиксированного опыта. Место накопления информации может быть точкой конвергенции отдель­ных механизмов записи и считывания. Эффективность приобрете­ния опыта и воспроизведения его зависит от таких факторов, как уровень бодрствования, мотивации и эмоции. Все эти переменные должны учитываться при объяснении изменений поведения, вы­званных стимуляцией и разрушением, и объяснении соотношения между поведенческими, электрическими или биохимическими сдвигами. Очень трудно отличить специфические механизмы, общие для целого класса реакций (например, аппетентные и аверзивные).

Общее описание нервных структур, участвующих в различных формах поведения, – необходимое условие для подробного исследования клеточных и молекулярных изменений, лежащих в основе пластических перестроек нервных сетей. Имеющиеся электрофизиологические, нейрохимические и морфологические микрометоды полностью отвечают такому требованию при условии их примене­ния в соответствующее время и в существенно важных звеньях. Создание подходящей поведенческой модели, пригодной для эффективного применения микрометодов, является предпосылкой дальнейших быстрых успехов. А пока исследования концентрируются на функциональной организации нервных сетей, участвую­щих в различных процессах, таких, как обработка сенсорных сигналов, мотивация, образование следов памяти, местонахождение энграммы и т. д.

**Планирование экспериментов**

Для планирования опытов необходимо знать принципы и тактику исследования, научного подхода, которые лучше всего формиру­ются при непосредственном осуществлении опытов. Данная книга – практическое руководство к проведению опытов. При этом предполагается, что читатель знаком с основными принципами статистики. Вводные практические советы по проведению опытов по физиологии поведения можно найти у Сидовски и Локарда (Sidowski and Lockard, 1966) и Вейнера (Wayner, 1971). Ниже приводится краткое описание, цель которого сориентировать студентов на некоторые сложные проблемы, связанные с планирова­нием опытов и их проведением.

Преимущество лабораторного изучения перед натуралистиче­ским наблюдением заключается в том, что исследователь может контролировать условия опыта, т. е. устанавливать точный контроль за так называемыми *независимыми переменными,* чтобы выявить их влияние на *зависимые переменные.* Зависимыми переменными в физиологической психологии могут быть любые по­веденческие или физиологические характеристики, тогда как независимые переменные – это условия, которые контролируются экспериментатором и иногда навязываются организму. Под условиями подразумевают *прямое вмешательство* (удаление отделов головного мозга, его стимуляция или применение различных препаратов), *изменение окружающей среды* (температуры и освещенности), *изменение режима подкрепления, сложность зад­ний по обучению, длительность пищевой депривации или такие факторы, как возраст, пол, генетическая линия* и т. д.

Чтобы свести до минимума неправильное толкование опытов, связанное со сложностью отличить эффекты экспериментальных вмешательств от воздействий других переменных, необходимо ввести *контрольные процедуры.* Так, например, при тестировании эффективности определенной процедуры (независимая переменная) используется контрольная группа. В идеальном варианте контрольную группу исследуют так же, как и экспериментальную, исключая воздействие изучаемого фактора, ради которого и намечается сам эксперимент. Одно и то же животное можно использовать и в контроле, и в эксперименте, если, например, необходимо сравнить поведение его до и после удаления отделов головного мозга. Другая обычная контрольная процедура, цель которой состоит в уменьшении одновременного влияния переменных факторов, – это сбалансированное применение разных влияний на одном и том же животном (например, инъекции различных препаратов или различных доз одного и того же препарата). Еще одним важным моментом контроля является произвольное распределение животных по различным группам. Это лучше всего осуществлять с помощью таблицы случайных чисел, которая приводится во многих книгах по статистики (простой отлов животных из клетки для формирования группы не является адекваным, так как самые слабые или пассивные животные будут отловлены в первую очередь).

Из-за возможных ошибок или вариабельности получаемых результатов, вызванных неконтролируемыми переменными, измерения обычно повторяют и выявляют *среднюю* или медианную *величину.* При повторных измерениях проводят множественные наблюдения за теми же животными или же одно наблюдение за многими животными, или же и то и другое вместе. Чем больше вероятность ошибок или колебаний, связанных с некоторыми неизвестными или неконтролируемыми переменными, тем больше вероятность того, что повторные измерения будут отличаться и, таким образом, вариабельность измерений относительно средней величины будет выше. *Статистический анализ* обычно используется для оценки степени достоверности наблюдаемых различий между экспериментальными и контрольными группами или условиями опыта. Например, различие между двумя средними тради­ционно считается значимым (т. е. не случайным), когда вероятность того, что различие на самом деле является истинным, до­стигается не менее чем в 95 случаях из 100.

Научный анализ, основывающийся на натуралистических наблюдениях или на лабораторных опытах, опирается на измерения, с помощью которых наблюдениям придается количественный ха­рактер. От так называемого уровня измерения зависит, какие арифметические операции могут быть применены к числам, что, следовательно, и обусловливает использование соответствующих статистических методов. Исследователь должен учитывать уро­вень измерений и предвидеть природу статистической обработки результатов уже при планировании опытов, так как эти сообра­жения помогут решить вопрос о точности измерительных приборов и требуемом количестве опытов.

Необходимо различать четыре общих уровня измерения или оценки: номинальный, ординарный, интервальный и соотноситель­ный. Низшим уровнем является *номинальный,* где такие символы, как буквы или цифры, используются просто для классификации объектов или явлений. В этом случае количество измерений, по­падающих в различные классы в условиях эксперимента и контроля, сравниваются с использованием *биномиальной статистики.* Если возможно упорядочить наблюдения так, чтобы они находи­лись в каких-то отношениях один к другому (например, «больше чем», «меньше чем» и т. д.), то будем иметь дело с *ординарной шкалой.* Если, кроме того, можно обнаружить интервалы между числами на такой шкале, то будем иметь дело с *интервальной шкалой,* которая имеет произвольную нулевую точку (как в случае температурной шкалы). Если же шкала имеет еще и истинную нулевую точку в начале, как, например, шкалы высоты, массы, то будет достигнут наивысший уровень измерения, т. е. *соотносительная шкала.* Параметры, измеряемые с помощью номикалькой или ординарной шкалы, обрабатываются с применением *непараметрической статистики* (например, χ2-есты(Connover, 1971; Siegel, 1956)), тогда как данные, измеряемые по интервальной и соотносительной шкале, как правило, обрабатываются с помощью *параметрических статистических методов* (например, t-тесты) (если различные предположения о параметрах популя­ции, из которой взят пример, соответствуют данным). Параметры популяции, подвергаемые непараметрическим статистическим процедурам, не обязательно должны соответствовать определенным условиям, например нормальному распределению. Поэтому эти процедуры широко используются в опытах по физиологической психологии, где измерения, как правило, проводятся па ординарном уровне и объем выборки часто является небольшим. В план проведения опытов, описанных в этой книге, включено сопоставление экспериментальных и контрольных данных. Для таких данных, полученных из независимых событий, полезной непараметрической статистикой является U-гест *Манна – Уитни.* При использовании другой схемы опытов животное служит контролем самого себя, как в случае сравнения поведения до и после введения препарата и при удалении отделов головного мозга. Стандартной непараметрической оценкой для таких данных, полученных при наличии связанных событий, является критерий для *сопряженных пар знаковых рангов Вилкоксона* (Siegel, 1956). Кроме того, непараметрические методы используются для анализа данных, полученных в повторных текстах, по результатам которых и строят кривые обучения и кривые реактивности (Krauth, 1980).

В этой книге в качестве подопытных животных для большей части экспериментов используют крыс. Для подробного ознакомления с общими лабораторными процедурами, включая уход за животными и обращение с ними, в особенности с крысами, читателям рекомендуем обратиться к работам Бейкера с сотрудниками (Baker et al., 1979), Ферриса (Harris, 1957), Гудмана и Гилмана (Goodman and Oilman, 1975), Лейн-Петтера с сотрудниками (Lane-Petter et al., 1967), Леонарда (Leonard, 1968), Майерса (Myers, 1971 а), Манна (Munn, 1950) и Шорта и Вуднотта (Short

and Woodnott, 1969).

В поведенческих исследованиях чаще всего используют такие линии крыс, как капюшонные линии Лонг-Эванса; белые линии Спраг-Доули и Вистар. В целях получения и сопоставления результатов желательно применять стандартные линии. Однако степень универсальности результатов может зависеть от использо­вания нескольких линий (а также видов).

Для проведения опытов на животных необходимо содержать их в чистоте, удобстве и обезопасить от болезней. Этого можно достичь, руководствуясь подробно разработанными стандартами размещения, кормления, гигиены, постоперационного ухода (см. приведенные выше ссылки) и зная обычные заболевания живот­ных (Myers, 1971 a; Short and Woodnott, 1969).

Большая часть поведенческих опытов вызывает дискомфорт у животных, независимо от того, вызван ли он пищевой деприва-цией, использованием центральной или периферической аверсив-ной стимуляции, введением препаратов или просто поднятием животного в воздух. Экспериментатор должен постоянно помнить об этом и стараться по возможности уменьшить дискомфорт подопытного животного.

Ниже приводятся рекомендации для проведения опытов на животных, которые составляют один из разделов «Принципов использования животных» в «Руководстве к дотациям и контрактам Национального института здравоохранения США» от 1978 г.:

**«1. Опыты, в которых используются живые позвоночные и ткани живых организмов для проведения исследований, должны выполняться под контролем квалифицированных ученых-биологов, физиологов или медиков.**

**2. Размещение, уход и кормление всех экспериментальных животных должны находиться под контролем квалифицированного ветеринара или другого ученого, компетентного в данных вопросах.**

**3. Исследование по своему характеру должно дать полезные результаты на благо общества и не должно быть случайным и бесполезным.**

**4. Эксперимент должен опираться на знание исследуемой болезни или проблемы и планироваться так, чтобы ожидаемые результаты оправдывали его проведение.**

**5. Статистический анализ, математические модели или биологические системы *in vitro* должны использоваться, если они соответственно дополняют результаты опытов на животных и позволяют сократить число используемых животных.**

**6. Опыты должны проводиться так, чтобы не подвергать животное ненужным страданиям и не наносить ему вреда.**

**7. Ученый, отвечающий за опыт, должен быть готов прекратить его, если он/она считает, что продолжение опыта может вызвать ненужное увечье или страдание животных.**

**8. Если сам опыт вызывает больше дискомфорта у животного, чем наркоз, то необходимо довести животное (путем применения наркоза) до состояния, когда оно не воспринимает боль, и поддерживать это состояние до тех пор, пока опыт или процедура не будут завершены. Исключение составляют только те случаи, когда наркоз может повредить цели опыта, а данные нельзя получить никаким иным способом, кроме как проведением подобных опытов. Такие процедуры должны тщательно контролироваться руководством или другим квалифицированным старшим сотрудником.**

**9. Постэкспериментальный уход за животным должен свести до минимума дискомфорт и последствия травмы, нанесенной животным в результате опыта, в соответствии с принятой практикой ветеринарной медицины.**

**10. Если необходимо умертвить экспериментальное животное, то это дела­ют так, чтобы достичь мгновенной гибели. Ни одно животное не должно быть уничтожено до тех пор, пока не наступит его смерть».**

Почти во всех случаях поведенческого и нейрологического тестирования, которые описаны в последующих главах, необходимо брать животных в руки. Животное нужно приучать к этой процедуре на протяжении нескольких дней перед началом опыта. Такое обращение предполагает доставание животного рукой из клетки, помещение его на стол, осторожное поглаживание и перенесение с одного места на другое. Со временем животные перестают сопротивляться таким процедурам, если их осуществлять бережно.

Не держите животное за хвост и старайтесь не прихватить кожу и сильно не надавливать на животное. Лучше брать животное сзади под лопатки, подводя большой палец под одну переднюю конечность, а остальные пальцы – под вторую конечность. Сила захвата животного должна соответствовать сте­пени его сопротивления. Если животное держать так, чтобы его передние конечности перекрещивались, то оно не сможет укусить.

При частом взятии на руки лабораторные крысы становятся довольно ручными и ими легко управлять. Для введения препаратов желательно использовать помощника, при этом вторую ру­ку экспериментатор использует для вытягивания задних конечностей животного. При достаточной практике внутрибрюшинные инъекции можно производить самостоятельно, путем захвата зад­них конечностей крысы и одновременного инъецирования ее другой рукой.

Перед инъекцией полезно успокоить животное; для этого нужно захватить животное так, как это описано выше, и затем медленно раскачивать его вперед и назад по широкой дуге.

Обычным методом *маркировки* крыс является нанесение на уши животного прорезей или отверстий, пока оно находится под наркозом. Уши животного тонкие и не очень кровоточат. Предпочтительным является метод маркировки тела и хвоста каким-либо биологическим красителем, например желтой пикриновой кислотой или красным карбофуксином. Такая бинарная система позволяет осуществить индивидуальное кодирование 63 крыс. (Если исполь­зуете несколько крыс, то кодируйте их только четными числами, так как это уменьшает число необходимых отверстий или меток.)

**АППАРАТУРА И МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ**

Успехи современной физиологии в изучении функций целостного организма, его систем, органов, тканей и клеток во многом обусловлены широким внедрением в практику физиологического эксперимента электронной техники, анализирующих устройств и электрон­ных вычислительных машин, а также биохимических и фармакологических методов исследования. В последние годы в физиологии качественные методы дополняют количественными, что позволяет определять изучаемые параметры различных функций в соответствующих единицах измерения. Совместно с физиологами в разработке новых методических подходов участвуют физики, математики, инже­неры и другие специалисты.

Быстрое совершенствование электронной техники открыло новые пути для познания многих физиологических процессов, что ранее было принципиально невозможно.

Создание разнообразных систем датчиков, преобразующих неэлектрические процессы в электрические, совершенствование измеритель­ной и регистрирующей аппаратуры позволили разработать новые, высокоточные методы объективной регистрации (например, биотеле­метрия) физиологических функций, что в значительной мере расширило возможности эксперимента.

**СХЕМА СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПРИБОРАМИ И ОБЪЕКТАМИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

При исследовании физиологических функций с использованием различной аппаратуры в эксперименте и клинике формируют своеобразные системы. Их можно разделить на две группы: 1) системы для *регистрации* различных проявлений жизнедеятельности и анализа полученных данных и 2) системы для *воздействия* на организм или его структурно-функциональные единицы.

Для того, чтобы наглядно представить взаимодействия отдельных элементов системы, необходимо рассмотреть их в виде блок-схем. Такие блок-схемы и их символы удобно использовать студентам для иллюстрации протоколов экспериментов во время практических занятий. По нашему мнению, подобная форма изображения хотя бы части условий эксперимента значительно сократит его описание и будет способствовать пониманию схем устройств и приборов.

Блок-схемы, отражающие основные формы взаимодействия между объектом исследования и различными устройствами для регистрации функций.

Многие функции организма можно исследовать без *электронной аппаратуры* и регистрировать процессы либо непосредственно, либо после некоторых преобразований*.* Примерами могут служить измерение ртутным термометром температуры, регистрация сердечных сокращений с помощью пишущего рычажка и кимографа, регистрация дыхания с использованием капсулы Марэ,плетизмография с применением водяного плетизмографа, определение пульса и т. д. Реальные схемы установок для плетизмографии, регистрации моторики желудка и записи дыхания приведены на рис.

Блок-схема системы, позволяющей регистрировать биоэлектрические процессы в организме, показана на рис. *\, В.* Она состоит из объекта исследования, отводящих электродов, усилителя, регистратора и блока питания. Регистрирующие системы такого рода используют для электрокардиографии, электроэнцефалографии, электрогастрографии, электромиографии и др.

При исследовании и регистрации с *помощью электронной аппаратуры* целого ряда неэлектрических процессов необходимо их предварительно преобразовать в электрические сигналы. Для этого используют различные датчики. Одни датчики сами способны генерировать электрические сигналы и не нуждаются в питании от источника тока, другим это питание необходимо. Величина сигналов датчика обычно невелика, поэтому для регистрации их необходимо предварительно усиливать. Системы с применением датчиков используют для баллистокардиографии, плетизмографии, сфигмографии, регистрации двигательной активности, кровяного давления, дыхания, определения газов в крови и выды­хаемом воздухе и т. д.

Если системы дополнить и согласовать с работой *радиопередатчика*, то становится возможным передавать и регистри­ровать физиологические функции на значительном расстоянии от объекта исследования. Этот метод получил название *биотелеметрии.* Развитие биотелеметрии определяется внедрением микроминиатюри­зации в радиотехнику. Она позволяет исследовать физиологические функции не только в лабораторных условиях, но и в условиях свободного поведения, во время трудовой и спортивной деятельности, независимо от расстояния между объектом исследования и исследователем.

Системы, предназначенные для воздействия на организм или его структурно-функциональные единицы, оказывают различные влияния: пусковые, стимулирующие и тормозящие. Методы и варианты воздействия могут быть самыми разнообразными*.*

При исследовании *дистантных анализаторов* стимулирующий импульс может восприниматься на расстоянии, в этих случаях стимулирующие электроды не нужны. Так, например, можно воздействовать светом на зрительный анализатор, звуком - на слуховой и различными запахами - на обонятельный.

В физиологических экспериментах в качестве раздражителя часто используют *электрический ток,* в связи с чем широкое распространение получили *электронные импульсные стимуляторы* и *стимулирующие электроды*. Электрическую стимуляцию применяют для раздражения рецепторов, клеток, мышц, нервных волокон, нервов, нервных центров и т. д. При необходимости может быть применена биотелеметрическая стимуляция (рис. 4, *В).* Причем воздей­ствия на организм могут быть как локальными, так и общими

Исследования физиологическихфункций проводят не только в состоянии покоя, но и при различныхфизических нагрузках*.* Последние могут создаваться либо. выполнением определенных упражнений (приседания, бег и т. д.), либо с помощью различных устройств (велоэргометр, бегущая дорожка и др.), дающих возможность точно дозировать нагрузку.

Регистрирующие и стимулирующие системы часто используют одновременно, что значительно расширяет возможности физиологических экспериментов. Эти системы можно комбинировать в различных вариантах.

**ЭЛЕКТРОДЫ**

В физиологических исследованиях *электроды* являются связующим звеном между объектом исследования и приборами. Они применяются для нанесения разряжения или регистрации (отведения) биоэлектрической активности клеток, тканей и органов, поэтому их принято подразделять на *стимулирующие*. *Один и тот же электрод может быть использован и как стимулирую­щий, и как отводящий, так как принципиальной разницы между ними нет.*

В зависимости от способа регистрации или раздражения различают биполярные и униполярные электроды. При биполярном способе чаще используют два одинаковых электрода, при униполярном – электроды различаются и по функциональному назначению, и по конструкции. В этом случае активный (дифферентный) электрод располагают в зоне отведения биопотенциалов или на участке ткани, который нужно стимулировать.

Активный электрод, как правило, имеет относительно небольшие размеры по сравнению с другим пассивным (индифферентным) электродом. Индифферентный электрод обычно фиксируют на некотором удалении от активного. При этом необходимо, чтобы зона фиксации индифферентного электрода либо не имела собственного потенциала (например, умерщвленный участок ткани, жидкая электропроводная среда, окружающая объект исследования), либо этот участок должен быть выбран с более низким и относительно стабильным потенциалом (например, мочка уха). Индифферентные электроды часто представляют собой пластины из серебра, олова, свинца или другого металла.

В зависимости от расположения электроды делятся на *поверхностные* и *погружные*. Поверхностные электроды фиксируют или на поверхности объекта исследования (например, при регистрации ЭКГ, ЭЭГ), или на отпрепарированных и обнаженных структурах (при стимуляции нерва, отведении вызванных потенциалов от поверхности коры головного мозга и т. п.).

Погружные электроды используют для исследования объектов, расположенных в глубине органов или тканей (например, при стимуляции нейронов, расположенных в подкорковых структурах головного мозга, или отведении от них биоэлектрической активности). Эти электроды имеют особую конструкцию, которая должна обеспечить хороший контакт с объектом исследования и надежную изоляцию остальной токопроводящей части электрода от окружающих тканей. Все электроды независимо от типа и способа их использования не должны оказывать вредного влияния на объект исследования.

Недопустимо, чтобы сами электроды становились источником потенциалов. Следовательно, электроды не должны иметь поляриза­ционных потенциалов, которые в ряде случаев могут значительно искажать результаты исследований. Величина поляризационного потенциала зависит от материала, из которого изготовлен электрод, а также свойств и параметров электрического тока.

Меньшую способность к поляризации имеют электроды из благо­родных металлов: золота, серебра и платины. Поляризация практически не возникает, если через электроды течет *переменный* или *импульсный электрический ток* с изменяющейся полярностью импульсов. Возможность поляризации электрода увеличивается при его взаимодействии с постоянным или импульсным монофазным током. Вероятность поляризации тем больше, чем больше сила тока, протекающего через электрод, и длительное время его действия. Она связана с электрохимическими процессами, происходящими между материалом электрода и окружающей его электролитической средой. В результате этого электроды приобретают определенный заряд, противоположный по знаку стимулирующему или отводимому току, что приводит к неконтролируемому положению условий эксперимен­та. Поэтому при воздействии на объект постоянным током и при отведении постоянных или медленно изменяющихся потенциалов используют *неполяризующиеся электроды.*

В электрофизических экспериментах наиболее часто используют неполяризующиеся электроды следующих типов: серебро - хлористое серебро, платина - хлористая платина и цинк - сернокислый цинк.

*Серебряные электроды* при соприкосновении с тканевой жид­костью, содержащей хлориды, быстро покрываются слоем хлористого серебра и после этого поляризуются с трудом. Однако для точных экспериментальных исследований серебряные электроды покрывают слоем хлористого серебра до их использования в эксперименте. Для этого серебряный электрод зачищают мелкой наждачной бумагой, тщательно обезжиривают, промывают дистиллированной водой и погружают в сосуд с 0,9% раствором NaCl или 0,1 н. НС1, в котором уже имеется угольный электрод.

К серебряному электроду подключают анод (+), а к угольному -катод (-) любого источника постоянного тока (батареи, аккумулятора, выпрямителя и т. п.) напряжением 2 - 6 В. Через электроды пропуска­ют ток плотностью от 0,1 до Ю А/м 2 до тех пор, пока электрод не покроется сплошным слоем хлористого серебра. Эту операцию рекомендуется проводить в темноте. Готовые хлорированные электроды хранят в растворе Рингера в темноте.

Неполяризующиеся *платиновые электроды* можно изготовить следующим образом. Платиновую проволоку промывают дистиллированной водой и опускают на несколько минут в концентрированную серную кислоту, а затем тщательно промывают в дистиллирован­ной воде, после чего два платиновых электрода опускают в сосуд с раствором хлористой платины. Один электрод подключают к аноду, другой – к катоду источника постоянного тока с напряжением в 2 В.

С помощью переключателя через них пропускают ток то в одном, то в другом направлении (4-6 раз по 15 с). Электрод, который будет использован в исследованиях, в последней операции по пропусканию тока должен быть соединен с анодом источника тока. Готовый электрод необходимо промыть и хранить в дистиллированной воде.

Неполяризующиеся электроды типа *цинк – серно-кислый цинк* представляют собой стеклянные трубки, заполненные раствором серно-кислого цинка *2,* в который помещен амальгамированный цинковый стержень *3.* Амальгамирование цинка получается путем его погружения на несколько минут сначала в 10% раствор серной кислоты, а затем - в ртуть. Нижний конец стеклянной трубки закрывают каолином *4,* замешенным на растворе Рингера. Наружной части каолиновой пробки придают форму, удобную для контакта с объектом. Иногда пробку делают из гипса и вставляют в нее ватный фитиль или мягкую волосяную кисточку 5. Ионы цинка имеют большую диффузионную способность, поэтому эти электроды хранятся не более 1 сут.

Электроды для стимуляции и отведения применяются и в остром, и в хроническом экспериментах. В последнем случае за несколько дней до эксперимента их имплантируют (вживляют) в ткани объекта исследования. Это – *вживленные* электроды.

**ДАТЧИКИ**

*Датчики -* это устройства, преобразующие различные физические величины в электрический сигнал. Различают *генераторные* и *пара­метрические* датчики.

*Генераторные датчики* под тем или иным воздействием сами генерируют электрическое напряжение или ток. К ним можно от­нести следующие типы датчиков: пьезоэлектрические, термоэлектрические, индукционные и фотоэлектрические.

*Параметрические датчики* под действием измеряемой функции изменяют какой-либо параметр электронной схемы и модулируют (по амплитуде или частоте) электрический сигнал этой схемы. Основные типы параметрических датчиков следующие: омические, емкостные и индуктивные.

Следует отметить, что такое деление датчиков условно, так как на основе термоэлектрического и фотоэлектрического эффектов созданы как генераторные, так и параметрические датчики. Например, фотодиоды и термопары служат для создания генераторных датчиков, а фото- и терморезисторы - параметрических.

Внедрение различных типов датчиков в физиологические и клинические исследования позволяет получать объективную информацию о многих функциях организма, например о сокращении мышц, смещении центра тяжести тела при перераспределении крови, давлении крови, кровенаполнении сосудов, степени насыщения крови кислородом и углекислым газом, о тонах и шумах сердца, температуре тела и многих других.

*Пьезоэлектрические датчики.* Создание этого типа датчиков основано на пьезоэлектрическом эффекте, который выражается в следующем: некоторые кристаллические диэлектрики (кварц, сегнетова соль, титанат бария) под действием механической деформации способны поляризоваться и генерировать электрический ток. Пьезоэлектрический датчик состоит из кристалла, на который путем напыления нанесены металлические контакты для отведения генерируемого датчиком электрического потенциала. При деформации пьезоэлектрического датчика с помощью механической системы можно регистрировать различного рода смещения, ускорения и вибрацию (например, пульс), а пьезоэлектрические микрофоны могут быть использованы для регистрации *фоноэлектрокардиограммы*.

Пьезоэлектрические датчики имеют некоторую емкость (100-2000 пф), поэтому они могут искажать сигналы с частотой ниже нескольких герц. Они практически безынерционны, что позволяет их использовать для исследования быстроменяющихся процессов.

*Термоэлектрические датчики.* Этот тип датчиков преобразует изменения температуры в электрический ток *(термопара)* или изменяет под влиянием температуры силу тока в электрической цепи *(терморезисторы).* Термоэлектрические датчики широко используют для измерения температур и определения различных параметров газовой среды – скорости потока, процентного содержания газов и т. д.

*Термопара* состоит из двух разнородных проводников, соединенных друг с другом. Для ее изготовления применяют различные материалы: платину, медь, железо, вольфрам, иридий, константен, хромель, копель и \_др. В термопаре, состоящей из меди и константана, при разности температур ее соединений в 100°С возникает электродвижущая сила, равная примерно 4 мВ.

*Терморезисторы –* это полупроводниковые резисторы, способные уменьшать свое сопротивление по мере повышения температуры. Существуют резисторы, сопротивление которых с повышением температу­ры увеличивается, их называют *позисторами.* Терморезисторы выпускают в самом разнообразном конструктивном оформлении. Терморезисторы следует включать в цепи измерительного моста постоянного тока*.* Их широко используют для создания электротермометров.

*Фотоэлектрические датчики, или фотоэлементы.* Этот тип датчиков представляет собой устройства, которые изменяют свои параметры под действием света. Различают три типа фотоэлементов: 1)с внешним фотоэффектом, 2) с запирающим слоем (фотодиоды), 3) с внутренним фотоэффектом (фоторезисторы).

*Фотоэлементы с внешним фотоэффектом* представляют собой вакуумные или наполненные газом баллоны*.* В баллоне расположе­ны два электрода: катод, покрытый слоем металла (цезий, сурьма), способного под действием света испускать электроны (внешний фотоэффект), и анод. Фотоэлементы этого типа требуют дополнительного пита­ния для создания внутри элемента электрического поля; их включают в сеть постоянного тока. Под действием света катод испускает электроны, которые устремляются к аноду. Возникающий таким путем ток служит показателем интенсивности светового потока. Газонаполненные фотоэлементы более чувствительны, так как фототек в них усиливается за счет ионизации электронами наполняющего газа. Однако по сравне­нию с вакуумными фотоэлементами они более инерционны.

*Фотоэлементы с запирающим слоем* используют в ряде медицинских приборов (например, в пульсотахометрах, оксигемометрах и др.). Фотоэлемент этого типа представляет собой железную или стальную пластинку *1,* на которую нанесен слой полупроводника *2.* Поверхность полупроводникового слоя покрыта тонкой металлической пленкой *4.* Одним из электродов является пластинка, другим – металлическая пленка на полупроводнике 5. Для надежности кон­такта пленка по периметру уплотнена более толстым слоем металла *3.* При изготовлении фотодиода запирающий слой формируется или между полупроводником и пластиной, или между полупроводником и пленкой.

При освещении фотодиода кванты света выбивают из полупроводника электроны, которые проходят через запирающий слой и заряжают отрицательно один электрод; сам полупроводник и другой электрод приобретают положительный заряд. Следовательно, фотодиод при его освещении становится генератором электрической энергии, величина которой зависит от интенсивности светового потока. Фототек у фотодиодов можно значительно увеличить, если к электродам фотодиода приложить напряжение от внешнего источника постоянного тока.

*Фоторезисторы* обладают свойством менять свое активное сопро­тивление под влиянием светового потока. Они имеют высокую чувствительность в широком диапазоне излучения от инфракрасного до рентгеновского. Их чувствительность зависит от величины напряжения измерительной схемы. Фоторезисторы включают в цепь измерительного моста, который питается от источника постоянного тока.Изменение сопротивления фоторезистора под действием света нарушает балансировку моста, что приводит к изменению величины тока, текущего через измерительную диагональ моста.

Фотодиоды менее чувствительны, чем фоторезисторы, но и менее инерционны. Внешний вид датчика с фотоэлементом, используемого для пульсотахометрии.

*Индукционные датчики.* Этот тип датчиков применяют для измерения скорости линейных и угловых перемещений, например вибрации. Электродвижущая сила в индукционных датчиках возни­кает пропорционально скорости перемещения проводника в магнитном поле перпендикулярно направлению магнитных силовых линий или при перемещении магнитного поля относительно проводника.

*Омические датчики.* Эти датчики способны изменять свое сопротивление при линейных и угловых перемещениях, а также при деформации и вибрации.

Существуют различные типы омических датчиков*.* В реостатных и *потенииометрических* омических датчиках изменение их сопротивления достигается за счет перемещения подвижного контакта, который имеет механическую связь с объектом преоб­разуемого перемещения. Чувствительность этих датчиков сравнительно невелика и составляет 3-5 В/мм. Точность преобразования может быть довольно высокой (до *0,5%)* и зависит от стабильности питающего напряжения, точности изготовления сопротивления датчика, его атурной стабильности и других факторов. Эти датчики имеют простую конструкцию, малые габариты и массу, могут быть включены в цепь постоянного и переменного токов. Однако наличие подвижного контакта ограничивает срок службы этих датчиков.

В проволочных омических датчиках *(тензодатчиках)* подвижный акт отсутствует (рис. 8, *Г).* Под влиянием внешних сил эти датчики меняют свое сопротивление за счет изменения длины, сечения и удельного сопротивления металлической проволоки. Точность преобразования составляет 1 - 2%. Тензодатчики имеют малые габариты, массу инерциальность и удобны для исследования малых перемещений.

Кроме обычных проволочных датчиков в последние годы нахо­дят широкое применение *полупроводниковые датчики* (например, гедисторы), у которых тензочувствительность в 100 раз выше, чем у проволочных.

*Емкостные датчики.* Принцип действия этих датчиков основан на том что преобразуемые физиологические показатели (давление, изменение объема органа) влияют на определенные параметры датчика (диэлектрическую проницаемость, площадь обкладок, расстояние между обкладками) и тем самым изменяют его емкость. Эти датчики имеют высокую чувствительность и малоинерционных Использование дифференциальных емкостных датчиков позволяет повышать их чувствительность и помехоустойчивость. Этот тип датчиков нашел широкое применение в электрофизиологической и диагностической аппаратуре. Они используются, например, в измерителях кровяного давления, плетизмографах, сфигмографах и других приборах, которые предназначены для преобразования неэлектрических величин, отражающих физиологические функции, в пропорциональные электрические величины. Реальная конструкция емкостного датчика приведена на рис. 2, Г и 7, Г, а на рис. 81 показана схема установки для регистрации моторики желудка с помощью емкостного датчика.

*Индуктивные датчики.* Преобразующее действие этих датчиков основано на свойстве катушки индуктивности изменять свое сопро­тивление. Этого можно достигнуть при введении в нее ферромагнитного сердечника или при изменении величины зазора в магнитном сердечнике, на котором находится катушка.

Для преобразования сравнительно больших перемещений (более 5-10мм) используют индуктивные датчики с подвижным сердечником*.* Такой тип датчика использован в некоторых конструкциях баллистокардиографов. Для преобразования малых перемещений (менее 5мм) могут использоваться датчики с изменяющимся зазором магнитопровода*.* Индуктивные датчики могут быть выполнены в виде трансформатора или дифференциального трансформатора с двумя встречными обмотками. В последнем случае выходной сигнал будет более мощным. Индуктивные датчики высокочувствительны. Их инерционность зависит от Динамических свойств подвижных элементов датчика.

**ИЗМЕРИТЕЛЬНЫЕ СХЕМЫ**

Любой тип датчика, преобразующего ту или иную функцию в электрический сигнал, должен быть включен в измерительную цепь. Наиболее широкое распространение получили следующие измерительные схемы: *мостовая схема* с питанием постоянным или переменным током, *дифференциальная схема*, а также *колебательный контур*, в которые включаются измерительные (регистрирующие) приборы. Чувствительность дифференциальных измерительных схем выше, чем мостовых.

Таким образом, электрические приборы, применяемые для измерения неэлектрических величин различных функций, состоят из датчика, измерительной схемы и измерителя, или регистратора. Часто выходной сигнал датчика, имея малую величину, не может быть зарегистрирован измерительной схемой, поэтому в нее вводят усили­тели постоянного или переменного тока.

Преобразование неэлектрических процессов в электрические представляет широкие возможности для их регистрации. Это объясняется не только чисто техническими преимуществами, но и точностью измерения регистрируемых величин, удобством сопоставления данных различных опытов и возможностью их обработки с помощью вычислительных машин. Важно, что этот метод позволяет в одних и тех же временных координатах вести синхронную запись электриче­ских и неэлектрических процессов, сопоставлять их, выявлять существующие между ними причинно-следственные отношения и т. д., т. е. дает новые возможности изучения физиологических процессов.

**УСИЛИТЕЛИ**

Электрическая активность биологических объектов и электриче-параметры многих датчиков, преобразующих неэлектрические процессы в электрические, характеризуются относительно малыми величинами: сила тока – милли- и микроамперами, напряжение – милли-микровольтами. Поэтому регистрировать их без предварительного усиления чрезвычайно трудно или вообще невозможно. Для усиления электрических сигналов малой величины используют *усилители.* Они необходимы для многих измерительных схем и конструируются с использованием электронных ламп или полупроводниковых приборов.

Кратко рассмотрим принцип работы триода и усилителя, сконструированного на основе этой лампы*. Если в цепь накала триода (А)* включить источник питания, то катод нагревается и испускает электроны, т. е. возникает *электронная эмиссия катода (Б).* При дополнительном включении источника постоянного тока между анодом и катодом электроны, испускаемые разогретым катодом, перемещаются к аноду, что вызывает *появление тока* определенной силы *(В).* Силой этого тока можно управлять, прикладывая напряжение к сетке триода. Если к сетке триода прикладывается положительный потенциал, то поток электронов от катода к аноду и ток, проходящий через лампу (анодный ток), увеличиваются *(Г),* при отрицательном потенциале на сетке поток электронов и ток уменьшаются *(Ц).*

Чтобы зафиксировать изменения тока, проходящего через триод, и преобразовать его в изменяющееся напряжение, в анодную цепь включают сопротивление *Ra (E),* величина которого существенно влияет на свойства усилительного каскада. Допустим, что на вход усилителя подается переменное напряжение VBX, равное 1 В. Оно вызывает изменение анодного тока на 0,001 А; причем сопротивление анодной цепи составляет 10 кОм, тогда перепад напряжений на этом сопротивлении будет равен 10 В. При увеличении одного сопротивления до 100 кОм и прочих равных условиях перепад напряжений составит 100В. Следовательно, в первом случае входное напряжение усиливается в 10, а во втором – в 100 раз, т.е. коэффициент усиления соответственно будет равен 10 и 100.

В тех случаях, когда один усилительный каскад не дает нужного усиления, используют *усилители с несколькими каскадами.* Связь между каскадами в усилителях переменного тока осуществляется через *разделительные конденсаторы C1* и *С2*,с помощью которых переменная составляющая анодного напряжения от предшествующего каскада передается на вход следующего. В усилителях постоянного тока разделительных конденсаторов нет. Коэффициент усиления всего усилителя зависит от коэффициента усиления отдельных каскадов, их количества и определяется произведением коэффициентов усиления всех каскадов усилителя.

Усилители выполняют роль промежуточного звена между объектом исследования (а также электродами, датчиками) и регистратора­ми, т. е. представляют собой *канал связи.* Они не должны искажать характер исследуемого процесса. Поэтому, прежде чем обращаться к техническим характеристикам усилителя, необходимо знать электри­ческие свойства сигнала (биопотенциала) живого объекта или датчика, а также учитывать внутреннее сопротивление источника сигнала

Достаточно полную характеристику сигнала дает формула, опр деляющая объем сигнала: V = TFH, где *V –* объем сигнала (биопотенциала), Т – его длительность, *F –* ширина частотного спектра сигнала *Н –* превышение амплитуды сигнала над шумом. Канал связи также можно охарактеризовать тремя величинами: Тк – время, в течение которого канал выполняет свои функции, FK – полоса частот, которую канал способен пропустить, и *Нк –* полоса уровней, зависящая от допустимых пределов нагрузок, т. е. минимальная чувствительность и предельная амплитуда сигнала, подаваемого на вход усилителя Произведение этих величин называют *емкостью канала:* VK = Гк • FK • Як

Передача сигнала по каналу связи (через усилитель) возможна лишь в том случае, когда основные характеристики сигнала не выхо­дят за соответствующие границы характеристик канала связи. Если же параметры сигнала превышают характеристики канала связи, то передача сигнала по этому каналу без потери информации невозможна.

Некоторые влияния усилителя на амплитудно-временные харак­теристики сигнала иллюстрирует рис. 12.

Верхний и нижний потенциалы на каждом рисунке регистриро­вались одновременно от одного электрода с помощью двух одинаковых усилителей, у которых были заданы разные постоянные времени входа. Параметры вызванных потенциалов и характеристики усили­телей представлены в виде таблицы, геометрические эквиваленты этих же потенциалов - на рис. 13.

Несмотря на то, что в каждом кадре регистрировался один и тот же потенциал, амплитудно-временные характеристики полученных записей заметно отличаются друг от друга, что определяется только параметрами усилителей. Усилитель, с помощью которого регистри­ровались нижние записи, имел параметры, превышающие характе­ристики сигнала, поэтому вызванные потенциалы записаны без искажений. Усилитель, с помощью которого регистрировались верх­ние записи, имел разные параметры, но во всех случаях не превышающие характеристики сигнала, поэтому вызванные потенциалы искажены (потеря информации).

Значение внутреннего сопротивления источника сигнала, завися­щего не только от свойств объекта исследования, но и от свойств выходных цепей (например, размеров, формы и сопротивления электродов, коммутирующих проводов и Т. п.), можно показать на следующем примере. Если внутреннее сопротивление источника сигнала больше или равно входному сопротивлению усилителя, то сигнал вообще не будет регистрироваться или его амплитуда будет значительно уменьшена. Поэтому иногда возникает необходимость значительно увеличить входное сопротивление усилителя. В этих случаях используют усилители с катодным повторителем, а в транзисторных схемах – с эмиттерным повторителем, выполненным на полевых транзисторах.

В физиологических лабораториях наиболее часто применяют два типа усилителей: усилители переменного тока и усилители постоян­ного тока.

*Усилители переменного тока.* Усилители этого типа состоят из нескольких усилительных каскадов, соединенных между собой с помощью разделительных конденсаторов. Такие приборы используют для усиления переменных составляющих сигнала благодаря их способности пропускать частоты от 0,1 Гц до 10-15 кГц. Они, как правило, имеют большой коэффициент усиления и могут усиливать входной сигнал в миллионы раз, что позволяет отчетливо регистри­ровать сигналы с исходной амплитудой в несколько микровольт. Усиление и полоса пропускания частот обычно регулируются. В качестве примеров усилителей отечественного производства можно назвать УБП-1-03, УБФ-4-03. Эти устройства применяют для усиления биопотенциалов мозга и сердца, а также сигналов, генерируемых различными датчиками; по выходным характеристикам они легко согласуются с большинством отечественных регистраторов.

*Усилители постоянного тока.* Эти усилители не имеют разделительных конденсаторов. Между отдельными каскадами у них существует гальваническая связь, поэтому нижняя граница пропускаемых частот доходит до нуля. Следовательно, данный тип усилителей может усиливать сколь угодно медленные колебания. По сравнению с усилителями переменного тока эти усилители имеют значительно меньший коэффициент усиления. Например, УБП-1-0,2 имеет коэффициент усиления по переменному току 2,5-1 06, а по постоянному - 8 · 103. jto связано с тем, что у усилителя постоянного тока с увеличением коэффициента усиления уменьшается стабильность работы, появляется дрейф нуля. Поэтому они применяются для усиления сигналов, величина которых превышает 1 мВ (например, мембранный потенциал нейронов, мышечных и нервных волокон и т. п.).

**РЕГИСТРИРУЮЩИЕ ПРИБОРЫ (РЕГИСТРАТОРЫ) ОБЩЕГО НАЗНАЧЕНИЯ**

Регистраторы необходимы для трансформации электрических потенциалов, которые поступают к ним от отводящих электродов или датчиков (чаще после необходимого усиления), в процессы, воспринимаемые нашими органами чувств. Регистраторы могут преобразовывать и отображать исследуемый процесс или функцию в различных формах, например, в отклонении стрелки измерительного прибора, цифровой индикации, отклонении луча на экране осциллографа, графической регистрации на бумаге, фотографической или магнитной ленте, а также в виде световых или звуковых сигналов и пр.

В большинстве типов регистраторов основными элементами являются: преобразователь энергии колебаний электрических потен­циалов в механические (гальванометр, вибратор), инструмент записи (перо с чернилами, струя чернил, пишущий стержень, электронный луч и др.) и механизм развертки процесса во времени (лентопротяж­ный механизм, электронная развертка). Кроме того, современные регистраторы могут содержать ряд вспомогательных блоков и систем, например коммутаторы, усилители, калибраторы усиления и времени, оптические системы для фотографирования и др.

В медицинской регистрирующей аппаратуре наиболее широко используются три вида преобразователей, создаваемых на основе трех различных принципов трансформации энергии колебаний элект­рических потенциалов.

1. Использование силы, действующей на проводник с током или ферромагнетик в магнитном поле. На основе этого принципа конструируют различные системы гальванометров, вибраторов, которые применяются в шлейфных и чернильно-пишущих осциллографах (регистраторах).

2. Использование отклонения потока электронов (электронного луча) в электрическом и электромагнитном поле. Этот принцип реализуют с помощью электронно-лучевых трубок, которые являются основной частью электронных (катодных) осциллографов.

3. Использование свойства ферромагнитных материалов намагничиваться под влиянием магнитного поля и сохранять это *состояние.* На этом принципе конструируют различные типы магнитофонов и магнитографов.

*Гальванометры и вибраторы.* Эти приборы имеют одинаковый принцип действия, но отличаются по конструктивному исполнению, в связи с чем значительно разнятся друг от друга по чувствительности, инерционности и способности воспроизводить сигналы различной частоты. Существуют гальванометры и вибраторы магнитоэлектрической и электромагнитной системы.

В гальванометрах (вибраторах) *магнитоэлектрической системы* преобразование электрических сигналов в механический эффект достигается за счет движения проводника (по которому течет электрический ток) в постоянном магнитном поле. Проводник электрического тока может быть выполнен в виде тонкой струны,петли или многовитковой рамки. Многовитковую рамку используют для конструирования магнитоэлектрических вибраторов.

В гальванометрах (вибраторах) *электромагнитной системы* магнитное поле, в которое помещается ферромагнетик *8,* создается за счет постоянного магнита *1* и специальной обмотки *4.* Эта обмотка при прохождении через нее электрического тока создает электромагнитное поле, свойства которого определяются направлением силой тока, проходящего через обмотку. При взаимодействии эти, полей создается вращающий момент, под влиянием которого перемещается ферромагнитный якорь.

Использование различных систем, способных отображать перемещение подвижных элементов гальванометров (вибраторов), позволяет конструировать различные типы регистраторов, например, струнный гальванометр, зеркальный гальванометр, шлейфный осциллограф, регистраторы с непосредственно видимой записью (чернильно-перьёвой, струйной, копировальной, тепловой, печатной и др.).

*Струнный гальванометр*. В этих приборах направление перемещения струны в сильном магнитном поле определяется на­правлением приложенного к ней тока, а величина перемещения определяется силой тока, проходящего через нее. Колебания струны с помощью оптической системы можно проецировать на экран, а для записи - на движущуюся фотографическую бумагу или пленку.

Струнные гальванометры сравнительно малоинерционны; их совершенные модели способны воспроизводить сигналы с частотой до 1000 Гц. Их чувствительность зависит от величины магнитного поля и свойств струны (упругости и диаметра). Чем тоньше струна (2-5 мкм) и чем сильнее магнитное поле, тем выше чувствительность струнного гальванометра. Многие струнные гальванометры имеют такую чувстви­тельность, что могут использоваться без усилителей. Раньше их применяли для регистрации электрокардиограммы и мембранных потенциалов клеток.

Зеркальный гальванометр. Если на петлеили многовитковой рамке укрепить маленькое легкое зеркальце *6,* то при пропускании тока оно будет перемещаться вместе с петлей или рамкой (направление движения на рис. 14 показано стрелкой). На зеркальце с помощью осветителя направляется луч света, а отраженный луч (зайчик) проецируется на полупрозрачный экран, по шкале которого судят о направлении и величине отклонения отраженного луча. При этом зеркальные гальванометры могут использоваться как самостоятельные регистрирующие приборы.

В настоящее время зеркальные гальванометры применяют в качестве выходных устройств в так называемых *шлейфных осциллографах.*

Для регистрации исследуемого прогресса и наблюдения за ним в шлейфных осциллографах используется особая оптическая система*.* От лампы осветителя *1* луч света через линзу 2 и диафрагму *3* с помощью зеркала *4* направляется на зеркальце галь­ванометра 5 и линзой *6* делится на два пучка. Один пучок света линзой 7 фокусируется на поверхности движущейся фотобумаги (фотопленки), которая протягивается лентопротяжным механизмом *8.* Второй пучок с помощью цилиндрической линзы – призмы *9* направляется на вращающийся многогранный зеркальный барабан *10* и, отражаясь от него, падает на матовый экран *11.* За счет вращения зеркального барабана исследуемый процесс развертывается на экране и служит для визуального наблюдения.

Сочетание струнных и зеркальных гальванометров с оптическими системами позволяет производить регистрацию исследуемых процессов с применением фотографического метода или метода ультрафиолетовой записи. Последний позволяет получать видимую запись спустя несколько секунд после экспозиции без проявления.

*Регистраторы с непосредственно видимой записью.* В регистраторах этого типа преобразователями электрических сигналов являются магнитоэлектрические (рамочные) или электромагнитные вибраторы, на подвижные элементы которых вместо зеркальца укрепляют различные инструменты записи.

Чернильно-перьевые регистраторы. Этот тип устройствшироко используют при регистрации физиологических функций. В них перо 5 укреплено на рамке или ферромагнитном якоре 2, которые находятся в поле магнита *1*. Перо соединено эластичной трубкой *4* с резервуаром для чернил *3.* Исследуемый процесс записывается на бумажной ленте *6.* Чернильно-перьевые регистраторы удобны в эксплуатации и вполне пригодны для решения многих задач. Их успешно используют в электроэнцефалографах, электрокардиографах, электрогастрографах и других приборах. Однако чернильно-перьевые регистраторы имеют ряд существенных недостатков. Они инерционны и не позволяют регистрировать электрические колебания с частотой, превышающей 150 Гц. В связи с этим они непригодны, например, для регистрации быстрых процессов, таких как биотоки нервов и нервных клеток и т. п. Кроме того, чернильно-перьевая регистрация (без специальной коррекции) вносит в исследуемый процесс радиальные искажения, обусловленные дугообразным движением пера на бумаге.

Струйный метод регистрации. Этот метод основан на пропускании через капилляр (диаметром 5-8 мкм), укрепленный на вибраторе, струи чернил под давлением 20 кг/см2: чернила, попадая на движущуюся бумажную ленту, оставляют след в виде кривой исследуемого процесса.

Струйный метод регистрации высокочувствителен и малоинерционен. Он позволяет совмещать удобство видимой записи с возможностью регистрации электрических сигналов в широком частотной диапазоне (от 0 до 1500 Гц). Однако эти регистраторы требуют применения особых чернил, обладающих весьма высоким качеством (однородность состава).

Во всех регистраторах с непосредственно видимой записью скорость движения носителя записи (бумаги) определяется механической разверткой и не превышает 200 мм/с, в то время как для развертывания быстропротекающих процессов требуются большие скорости записи, что достигается с помощью электронной развертки в катодных осциллографах.

Электронные (катодные) осциллографы. Это – универсальные регистрирующие приборы. Они практически безынерционны и за счет наличия усилителей имеют высокую чувствительность. Эти приборы позволяют исследовать и регистрировать как медленные, так и быстрые колебания электрических потенциалов с амплитудой до 1 мкВ и менее. Выходным регистрирующим устройством катодного осциллографа является *электронно-лучевая трубка* с электростатическим или электромагнитным отклонением электронного луча.

Принцип действия электронно-лучевой трубки заключается во взаимодействии потока электронов, испускаемого катодом и сфокусированного системой электронных линз, с электростатическим или электромагнитным полем отклоняющих электродов.

Электронно-лучевая трубка состоит из стеклянного баллона, внутри которого в высоком вакууме находятся источник электронов и системы электродов (направляющие, фокусирующие и отклоняющие), управляющие электронным лучом.

Источником электронов является катод *2,* подогреваемый нитью накала *1.* Отрицательно заряженные электроны через управляющую сетку *3* притягиваются системой положительно заряженных анодов *4, 5* и *6.* При этом из электронов формируется электронный луч, кото­рый проходит между вертикальными 7 и горизонтальными *8* откло­няющими пластинами и направляется на экран 9, покрытый люминофором (веществом, обладающим способностью светиться при взаимо­действии с электронами). Управляющая сетка *3* имеет по отношению к катоду отрицательный потенциал, величина которого регулируется потенциометром *10.* При изменении (с помощью потенциометра) потенциала сетки изменяется плотность потока электронов в электронном луче, а следовательно, яркость свечения луча на экране. Фокусирование электронного луча осуществляется потенциометром *10*, т. е. за счет изменения положительного потенциала на втором аноде 5.

Горизонтальные и вертикальные отклоняющие пластины управ­ляют движением электрического луча соответственно в горизонтальной и вертикальной плоскостях, для чего на них подаются потенциалы с усилителей горизонтального *(б, х1* и *х2)* и вертикального *(а, у1* и *у2)* отклонения луча. Если на горизонтальные отклоняющие пластины подавать пилообразное напряжение, то луч осциллографа будет перемещаться в горизонтальной плоскости слева направо. Изменяя режим работы генератора пилообразного напряжения, можно регулировать скорость развертки, т. е. скорость прохождения луча по экрану осциллографа. Это необходимо потому, что исследуемые процессы (сигналы) имеют разные частотно-временные параметры.

Исследуемый процесс (сигнал) обычно подается на вертикальные отклоняющие пластины, которые перемещают луч вверх или вниз, в зависимости от знака и величины приложенного к ним напряжения. Таким образом, потенциалы, приложенные к пластинам, управляют перемещением луча по горизонтальной (*х*)и вертикальной (*у*) осям, т. е. развертывают исследуемый процесс.

Регистрацию исследуемых процессов с экрана катодного осциллографа осуществляют фотографическим способом с применением световых фотоаппаратов или специальных фотокамер.

*Магнитографы.* Регистрация электрических процессов на ферромагнитную ленту удобна тем, что записанная таким образом информация может длительно храниться и многократно воспроизводиться. С помощью различных регистраторов ее можно переводить в видимую запись с различным масштабом развертки. Эту информацию можно обрабатывать после окончания эксперимента с помощью различных автоматических устройств и электронно-вычислительных машин. Магнитографы позволяют записывать и протокол эксперимента.

**ЭЛЕКТРОННО-ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ МАШИНЫ**

В современных условиях ЭВМ являются неотъемлемой частью научно-исследовательских лабораторий, так как электронно-вычислительные машины значительно повышают эффективность труда исследователей Ввод данных об исследуемом процессе можно производить различными способами: ручным (когда предварительно рассчитанные амплитудно-временные параметры, например, электрокардиограммы вводят с клавиатуры ЭВМ) или с промежуточного носителя информации (например, с перфокарты или перфоленты, на которых закодирована информация).

Однако наиболее удобно и экономично вводить информацию в ЭВМ с помощью специального устройства – амплитудно-цифрового преобразователя (АЦП). Амплитудно-цифровой преобразователь трансформирует амплитудно-временные параметры исследуемого процесса (например, амплитуду и длительность различных компонен­тов ЭКГ) в цифровой код, который воспринимается, анализируется и обрабатывается процессором ЭВМ. Математически обработанная (по заданным программам) в ЭВМ информация может быть представлена в различных формах: в виде таблицы, отпечатанной на цифропечатаюшем устройстве; в виде графика, построенного графопостроителем; в виде изображения на экране дисплея или в другой форме. При этом исследователь освобождается от рутинной работы не только по измерению, обсчету, математическому анализу результатов, но и от необходимости составлять таблицы и строить графики.

**ПРИБОРЫ СПЕЦИАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

Приборы специального назначения обычно предназначены для регистрации какой-либо одной функции или процесса, например электрокардиограммы, электроэнцефалограммы, электрогастрограммы и др. Такая специализированная аппаратура, как правило, компактна, проста в эксплуатации и удобна для проведения клинических исследований. В ее состав входят различные блоки (системы) общего назначения, поэтому знание принципиального устройства отдельных блоков позволяет легко разобраться в работе приборов специального назначения. Общая структура прибора специального назначения включает электроды или датчик, коммутатор, усилитель, регистратор и блок питания. Более детальное знакомство с каждым прибором осуществляется с помощью инструкции по эксплуатации, прилагаемой к прибору.

*Электростимуляторы.* Для электрической стимуляции биологических объектов вплоть до середины текущего столетия применяли индукционные катушки, которые в настоящее время полностью заменены *электростимуляторами.* Электростимулятор – один из самых распространенных и необходимых приборов. Он обеспечивает оптимальные условия раздражения тканей (с наименьшим их травмированием при длительной стимуляции) и удобен в работе.

Для исследовательских целей целесообразно использовать стимулятор, который в зависимости от условий эксперимента может служить либо *генератором тока,* либо *генератором напряжения.* Внутреннее сопротивление выходного устройства такого стимулятора можно изменять в соответствии с целями эксперимента. Оно должно быть или в 30-40 раз больше сопротивления объекта исследования (при работе в режиме «генератор тока»), или во столько же раз меньше (в режиме «генератор напряжения»). Однако подобные универсальные стимуляторы сложны и громоздки, поэтому в условиях физиологического практикума лучше применять более простые приборы.

Стимулятор состоит из нескольких блоков (каскадов), принципиальное назначение которых не зависит от типа стимулятора. Рассмотрим назначение отдельных каскадов стимулятора и связанных с ними органон управления на примере стимулятора импульсного физиологического СИФ-5.

Генератор частоты следования импульсов (задающий генератор) часто конструируют по схеме мультивибратора; он может работать в ждущем и непрерывном режимах. При работе в ждущем режиме задающий генератор может генерировать импульсы или при нажатии кнопки «Пуск» *9,* или при подаче на вход мультивибратора запускающих сигналов от другого источника импульсов. В первом случае генерируется только один импульс, во втором - частота импульсов будет соответствовать частоте запускающих сигналов. При непрерыв­ном режиме работы *8* задающий генератор стимулятора генерирует импульсы непрерывно, их частоту / можно изменять от долей герца до нескольких сотен герц.

Импульсы от задающего генератора подаются на следующий каскад стимулятора – каскад задержки, а также могут быть использованы для запуска развертки осциллографа (импульс синхронизации *10),* В каскаде задержки *2* импульс задающего генератора может задержаться на время 1 – 1000 мс. Каскад задержки позволяет (например, при исследовании вызванных потенциалов) независимо от скорости развертки осциллографа установить потенциал на экране осциллографа в удобном для регистрации месте.

Импульсы от каскада задержки могут быть использованы для запуска других стимуляторов, если в эксперименте применяют несколько стимуляторов и их работу нужно синхронизировать. Кроме того, от каскада задержки подаются импульсы на вход каскада формирования выходных сигналов. В этом каскаде формируются импульсы прямоугольной (или другой) формы с определенной длительностью *3,* затем они передаются на усилитель мощности, который позволяет регулировать их амплитуду *4.*

С выхода стимулятора *5* посредством соединительных проводов и стимулирующих электродов импульсы необходимой формы, дли­тельности и амплитуды передаются на объект исследования. Полярность выходных импульсов *6* можно изменять. Для умень­шения артефакта раздражения некоторые типы стимуляторов имеют изолирующие трансформаторы 7, другие - высокочастотные выходные устройства.

Как для учебных, так и для исследовательских целей используют стимуляторы и других типов, например, НСЭ-01, ЭСТ-10А, ИС-01 и др.

Кроме импульсных стимуляторов в физиологических экспериментах используют *фото-* и *фоностимуляторы.* Их устройство во многом принципиально сходно с устройством импульсного стимулятора. Отличие состоит в основном в структуре *выходного блока,* формирующей световые сигналы в фотостимуляторе или звуковые - в фоностимуляторе.

Эргометры. Для создания функциональной нагрузки на отдель­ные органы, системы и организм в целом широко применяют *эрго­метры* различных типов. Они позволяют создавать или локальную, или общую функциональную нагрузку, дозировать и опре­делять ее величину. Наиболее распространенными приборами этого типа являются *пальцевый эргограф, велоэргометры* и *бегущая дорожка.* Существуют бегущие дорожки *(третбаны)* и для животных.

Камеры. Камеры различного назначения широко используют при создании определенных условий для объекта исследования. Существуют *сурдокамеры, термокамеры, барокамеры с* повышенным и пониженным давлением, камеры с *лучевыми и звуковыми уста­новками* и т. д. В настоящее время сконструированы камеры, позволяющие создать *искусственный микроклимат* и изучать реакции объекта исследования на разнообразные воздействия.

**ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА ЭКСПЛУАТАЦИИ ЭЛЕКТРОННОЙ АППАРАТУРЫ**

Помимо общих правил обращения с аппаратурой, необходи­мо в каждом отдельном случае вначале ознакомиться с прави­лами эксплуатации незнакомого прибора и лишь затем присту­пать к работе с ним. Это приобретает особое значение в усло­виях клиники, поскольку некоторые приборы при неумелом обращении представляют опасность для пациента (прибор для исследования возбудимости нервов и мышц – электроимпульса-тор и ряд других). Основные правила состоят в следующем.

*До включения прибора в сеть* необходимо: 1) убедиться, что напряжение сети соответствует напряжению, на которое рассчитан прибор или на которое переключен в данный момент его силовой трансформатор; 2) заземлить прибор, т. е. соединить клемму (или гнездо «земля») с шиной контура заземления или водопроводной сетью (ни в коем случае нельзя заземлять приборы на элементы проводки газа); 3) проверить все провода сетевого тока (исправность изоляции и наличие вилок), катего­рически запрещается включать в розетки питания оголенные концы проводов; 4) проверить провода, предназначенные для коммутации приборов и составления рабочей схемы (они не должны иметь лишенных изоляции мест); 5) проверить у всех приборов тумблеры и другие переключатели сети - они должны находиться в положении «выкл.».

Включение приборов в сеть должно проводиться переключателя­ми, расположенными на приборах.

После включения приборов следует: 1) проверить по свето­вым индикаторам, все ли приборы получили питание (если индикатор не горит, необходимо обратиться к преподавателю и совместно установить причину неисправности; чаще всего это бывает связано с перегоранием предохранителя прибора или лампочки светового индикатора); 2) помнить, что ламповые электронные приборы начинают стабильно работать только после предварительного прогрева в течение 15-30 мин; для большинства транзисторных приборов этот срок составляет до 2-5 мин.

**Работа 1**

**Тема**: «Тестирующие нагрузки в физиологическом эксперименте»

**Цель**: изучить наиболее известные методы тестирования и комбинированные модели, и тесты, используемые для исследования физической выносливости у лабораторных животных, эмоциональной устойчивости и тревожности.

Вопросы для самоподготовки

1. Условия и порядок проведения оценки субмаксимальной работоспособности (тест RWC170).
2. Тестирование физической выносливости у лабораторных животных (бег на тредбане, плавание). Значение.
3. Тест «Открытое поле». Его описание и значение.
4. Сущность многопараметрического теста, его описание.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 2**

**Тема**: «Аппаратура и методы изучения электрофизиологических функций»

**Цель**: ознакомиться с условиями и тенденциями возникновения и развития электрофизиологии, внесению сферы практического использования аппаратуры. Изучение электрофизиологических методов.

Вопросы для самоподготовки

1. Предмет и задачи электрофизиологии.
2. Возникновение и первые шаги электрофизиологии.
3. Области практического использования электрофизиологии.
4. Схемы связей между приборами и объектами исследования.
5. Электронная аппаратура и правила эксплуатации электронной аппаратуры.
6. Электрофизиологические методы (внеклеточное и внутриклеточное отведение и регистрация биопотенциалов, метод вызванных потенциалов, электроэнцефалография, электрокарунография.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 3**

**Тема**: «Методические приемы, используемые при проведении хронического эксперимента»

**Цель**: изучить основные теоретические вопросы, связанные с практикуемыми операционными приемами в экспериментальной физиологии.

Вопросы для самоподготовки

1. Условия проведения.
2. Наложение фистул. Техника наложения различных видов швов.
3. Гетерогенные нервные, нервно-мышечные, нервно-сосудистые и нервно-железистые анастомозы.
4. Перфузия тканей и органов.
5. Канюлирование.
6. Введение меченых атомов и биологических субстратов.
7. Позитронно-эмиссионная томография.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 4**

**Тема**: «Электрофизиологические методы»

Вопросы для самоподготовки

1. История изучения биоэлектрических явлений.
2. Электрические генераторы тока и напряжения.
3. Электроды и усилители.
4. Регистрирующие приборы.
5. Микроэлектродная техника и изготовление микроэлектродов.
6. Физиологическая универсальная комплексная установка.
7. Стереотаксическая техника. Стереотаксические атласы.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 5**

**Тема**: «Биохимические и гистохимические методы в физиологии»

Вопросы для самоподготовки

1. Химическое картирование мозга.
2. Методы выявления локализации резисторов в структурах периферической нервной системы.
3. Выявление локализации резисторов в структурах центральной нервной системы.
4. Выявление локализации рецепторов в органах-мишенях.
5. Определение функциональной активности органа или системы органов по концентрации секретируемого гормона, нейрогормона или другого биологически активного вещества.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 6**

**Тема**: «Гистологические и нейроанатомические методы»

Вопросы для самоподготовки

1. Перфузия.
2. Извлечение мозга.
3. Изготовление блоков ткани мозга.
4. Изготовление срезов.
5. Подготовка желатинизированных предметных стекол.
6. Монтирование срезов.
7. Фотографирование неокрашенных срезов.
8. Окрашивание.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 7**

**Тема**: «Исследование различных методов и приемов при изучении соматосенсорных систем организма»

Вопросы для самоподготовки

1. Общие принципы координированной иннервации мышц.
2. Реципрокная иннервация мышц-антагонистов.
3. Спинальное животное.
4. Моносимпатическая и полисимпатическая рефлекторная дуга.
5. Обратимое выключение мозжечка у крысы.
6. Химическое разрушение мозговых структур.
7. Метод аспирации.

 **Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 8**

**Тема**: «Исследование различных методов и приемов при изучении висцеральных систем организма»

Вопросы для самоподготовки

1. Регистрация потенциала действия (ПД) миокарда желудка и его изменения при раздражении вагосимпатического ствола.
2. Изучение парасимпатических и симпатических влияний на силу и частоту сердечных сокращений.
3. Ауторегуляторная функция внутрисердечной нервной системы.
4. Висцеро-кардиальные рефлексы.
5. Топография и анатомическая характеристика эндокринных желез крысы.
6. Роль гонад в регуляции вторичных половых признаков.
7. Биохимическое и иммунноферментативное определение уровня кортикостероидных гормонов в биологических жидкостях крысы и человека.

 **Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.

**Работа 9**

**Тема**: «Методы исследования высшей нервной деятельности»

Вопросы для самоподготовки

1. Метод выработки условных рефлексов.
2. Классические и оперантные методики выработки условных рефлексов.
3. Методы изучения кратковременной и долговременной памяти.
4. Неврологическое тестирование на крысах.
5. Измерение структуры поведения.
6. Выработка инструментальных условных рефлексов.
7. Статистические методы, используемые в физиологии.

**Литература**

1. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. М., 1991 г.
2. Большой практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. Б.А. Кудряшова – М.: Высшая школа, 1984 г.
3. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей физиологии. – М.: Просвещение, 1990 г.
4. Малый практикум по физиологии человека и животных. / Под ред. А.С. Батуева – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001 г.
5. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Я. Буреш, О. Бурешива, Д. Хьюстон / Перевод с англ. – М.: Высшая школа, 1991 г.
6. Методы исследований в психофизиологии. / Под ред. А.С. Батуева – СПб, 1994 г.
7. Методы клинической нейрофизиологии. / Под ред. В.Б. Гречина – Л., 1977 г.
8. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 Т. / Под ред. А.Д. Ноздрачева – М., 1991 г.
9. Практикум по нормальной физиологии. / Под ред. Н.А. Агаджаняна – М.: Изд-во РУДН, 1996 г.