

МИНИСТЕРСТВО ОБЩЕГО И ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Кафедра физиологии человека и животных

О.А.Ведясова, Л.И.Сергеева

**РУКОВОДСТВО
К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ ПО ФИЗИОЛОГИИ
ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

Учебное пособие

Рекомендовано отделением биологии УМО университетов России
в качестве учебного пособия по физиологии человека и животных
для студентов биологических специальностей университетов

Издательство «Самарский университет»
1998

ББК 28.91
В 261
УДК 612.82/83

Ведясова О.А., Сергеева Л.И. Руководство к лабораторным занятиям по физиологии центральной нервной системы: Учебное пособие. Самара: Изд-во «Самарский университет», 1998. 136 с.
ISBN 5-230-06107-3

В учебном пособии представлены лабораторные работы, способствующие глубокому изучению общих закономерностей деятельности центральной нервной системы, а также роли спинного и различных отделов головного мозга в регуляции функций организма. Каждой работе предшествует теоретическое обоснование, что обеспечивает понимание изучаемых явлений и целенаправленное выполнение экспериментальных задач. Подробные рекомендации по материальной оснащённости и проведению наблюдений значительно облегчают студентам самостоятельную постановку опытов. Подбор лабораторных работ предусматривает проведение исследований как в классическом, так и современном вариантах, и позволяет проанализировать особенности функционирования и регуляторные механизмы структур центральной нервной системы у животных и человека.

Учебное пособие предназначено для студентов биологических факультетов университетов.

Ответственный редактор зав. кафедрой физиологии человека и животных Самарского госуниверситета, заслуженный деятель науки РФ, проф. Н.А. Меркулова

Рецензенты: д-р мед. наук, проф. В.Ф. Пятин; канд. биол. наук, доц. Ю.М. Попов

$$B \frac{1903010000 - 020}{6K4(03) - 98} 5 - 98$$

ISBN 5-230-06107-3

© Ведясова О.А., Сергеева Л.И., 1998

ФИЗИОЛОГИЯ СПИННОГО МОЗГА

В основе интегративной и координационной деятельности спинного мозга лежат рефлексы различной степени сложности. Нейрофизиологическими исследованиями установлено, что принципы функционирования спинальных нервных центров удивительно схожи у животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития. В этой связи многие физиологические механизмы и закономерности реализации рефлекторных реакций центральной нервной системы (ЦНС) могут быть изучены на таком классическом объекте, как лягушка. По указанной причине значительное число работ настоящего лабораторного практикума предполагает использование при постановке экспериментальных задач именно этого животного.

Понимание сложнейших нервных механизмов рефлекторной деятельности спинного мозга невозможно без детального изучения макроанатомической конструкции и микроморфологии данного отдела ЦНС. Поэтому в отдельных работах, посвященных функциям спинного мозга, содержатся задания по изучению его структурной организации у разных позвоночных животных. Перед выполнением этих заданий следует подробно ознакомиться с анатомией спинного мозга кошки (Ноздрачев А.Д., 1973), крысы (Гамбарян П.П., Дукельская Н.М., 1955), лягушки (Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., 1994).

Работа 1.1.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИЙ СПИННОГО МОЗГА И СПИНОМОЗГОВЫХ КОРЕШКОВ У ЛЯГУШКИ

Спинальный мозг лягушки в своей передней части представляет округлый, а в задней - несколько сплюснутый в дорсовентральном направлении нервный тяж. Подобно спинному мозгу теплокровных, у лягушек он характеризуется сегментарным планом устройства, имеет два утолщения (шейное и поясничное), а на его дорсальной и вентральной сторонах проходят срединные и латеральные борозды.

От каждого сегмента спинного мозга отходят две пары корешков спинномозговых нервов - дорсальные и вентральные. У лягушки насчитывается девять пар (II-X) корешков спинномозговых нервов (рис. 1.1). В нейрофизиологии придерживаются следующей нумерации корешков у амфибий: существующая первая пара является второй, т.к. первая верхняя пара из имеющихся у эмбриона двух пар шейных корешков атрофируется. Это II (шейные) корешки. Затем следуют III и IV пары корешков плечевые; V-VII - грудные; VIII-X - поясничные. X пара - это последняя пара корешков, отходящая от мозгового конуса. В позвоночном канале II и III корешки идут наружу почти перпендикулярно оси тела. Корешки IV-VI пар отходят косо вдоль позвоночного канала, VII-X корешки направляются каудально.

Дорсальные (задние) корешки образованы волокнами афферентных нейронов, тела которых лежат в спинальных ганглиях, а аксоны вступают в задние рога серого вещества спинного мозга. В составе вентральных (передних) корешков из спинного мозга выходят эфферентные волокна мотонейронов, тела которых располагаются в передних рогах серого вещества, а также всех симпатических и части парасимпатических нейронов спинного мозга. Соответственно дорсальные и вентральные корешки выполняют различные функции: первые являются чувствительными, вторые - двигательными. Это различие в функциях корешков было открыто Ч.Беллом (1811) и Ф.Мажанди (1822) и получило название правила спинномозговых корешков или закона Белла-Мажанди. В правильности этого заключения можно легко убедиться в опыте с перерезкой корешков. Если у лягушки перерезать справа задние, а слева - передние корешки пояснично-крестцовых сегментов, то правая задняя конечность полностью теряет чувствительность, но может совершать движения. Левая, наоборот, сохраняет чувствительность, но оказывается неспособной к движениям. Классическими способами

изучения функций спинномозговых корешков наряду с перерезкой являются электрофизиологические методики, в том числе электростимуляция и отведение вызванных потенциалов.

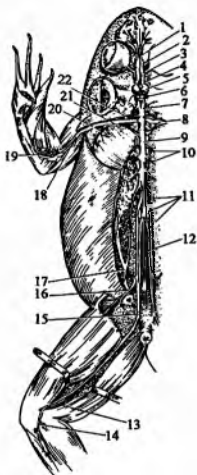


Рис. 1.1. Центральная нервная система лягушки (спинной и головной мозг в дорсальной проекции) с отходящими нервами (по А.Д.Ноздрачеву, Е.Л.Полякову, 1994):

- 1 - *n. olfactorius*; 2 - *lobus olfactorius*;
- 3 - *n. opticus*; 4 - *cerebrum*;
- 5 - *lobus opticus*; 6 - *cerebellum*;
- 7 - *medulla oblongata*; 8 - *pl. brachialis*;
- 9 - *medulla spinalis*; 10 - *n.n. spinales*;
- 11 - *pl. ischiadicus*; 12 - *filum terminale*;
- 13 - *n. tibialis*; 14 - *n. peroneus*;
- 15 - *n. ischiadicus*; 16 - *n. cruris*;
- 17 - *n. iliohypogastricus*;
- 18 - *n. ulnaris*; 19 - *n. radialis*;
- 20 - *r.r. musculares*; 21 - *n. brachialis*;
- 22 - *n. hypoglossus*

Микроскопическое строение спинного мозга амфибий довольно сложное и представлено большим разнообразием клеточных тел нейронов, дендритов, миелинизированных и немиелинизированных аксонов, синапсов и глиальных клеток, в основном, астроцитов (рис. 1.2). Содержание указанных элементов неодинаково в нейропиле разных отделов спинного мозга.



Рис. 1.2. Схема расположения нейронов и направления ветвления дендритного дерева в спинном мозге амфибий (по L.Stensaas & S.Stensaas, 1971):

1 - коллатерали волокон задних спинальных корешков; 2 - центральный нейрон заднего рога; 3, 4 - нейроны промежуточной зоны; 5 - мотонейрон переднего рога

В задних рогах расположены вступающие сюда волокна дорсальных корешков, образующие сложную систему коллатерального ветвления. Здесь также присутствуют мелкие нейроны, имеющие короткие дендриты, разветвления которых не доходят до канатиков белого вещества. Сомы этих клеток на 60% покрыты астроцитами. В промежуточной зоне серого вещества локализованы вставочные нейроны с горизонтально ориентированными дендритами, достигающими белого вещества и перимедуллярного сплетения. Интернейроны в целом характеризуются малыми размерами клеточных тел. Одна их группа лежит в дорсальной части промежуточного серого вещества и связана с афферентными волокнами, приходящими из задних рогов. Другая группа промежуточных нейронов располагается в области дендритного дерева мотонейронов. Аксоны некоторых клеток этой группы имеют коллатерали, достигающие сомы мотонейронов. В вентральных рогах на границе между белым и серым веществом группируются двигательные нейроны. Тела их имеют вытянутую или веретенообразную форму и весьма крупные размеры (25 мкм в ширину и до 70 мкм в длину). До 30% поверхности сомы мотонейронов покрыто глиоцитами. Характерными особенностями мотонейронов спинного мозга амфибий являются большая длина дендритов и их ветвление в ростро-каудальном направлении.

Цель работы. Отработать технику препаровки спинного мозга и спинномозговых корешков у лягушки. Детально ознакомиться с макро- и микроанатомией спинного мозга и топографией его корешков. Исследовать функции спинного мозга, передних и задних спинномозговых корешков методами перерезки, электростимуляции и регистрации биопотенциалов.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная дощечка, булавки, марлевые завязки, вата, салфетки, нитки, пипетка, ванночка-почка, чашка Петри, раствор Рингера для холоднокровных, эфир, стеклянный сосуд с крышкой для наркотизации, препаровальные инструменты, лупа, микроскоп, гистологические препараты спинного мозга амфибий, серная кислота (0,3; 0,5; 1,0% растворы), установка для электростимуляции спинальных корешков и регистрации вызванных потенциалов (электростимулятор, биполярные раздражающие электроды, усилитель биопотенциалов, осциллограф, фотооптический регистратор или самописец, отводящие погружные биполярные электроды).

Задача 1.

Изучение макрнатомии спинного мозга и топографии спинномозговых корешков у лягушки

Ход работы. Лягушку наркотизируют в течение 5-10 минут в 3-процентном водном растворе эфира, после чего фиксируют булавками и завязками на препаровальной доске спинкой вверх. Для удобства препаровки под брюшко подкладывают небольшой валик (примерно 1,5 см в диаметре). Делают разрез кожи по средней линии и расширяют края раны. Тупым краем глазного скальпеля отсепааровывают от позвоночника мышцы спины, останавливая кровотечение ватными тампонами. Затем остроконечными ножницами перерезают сухожильную связку между копчиком и последним поясничным позвонком и осторожно вводят браншу ножниц в позвоночный канал. При этом острие направляют слегка вверх, стараясь не повредить спинной мозг. Перерезают как можно латеральнее дуги позвонков с одной, а затем с другой стороны. Удаляют верхнюю костную стенку позвоночника по всей длине. Тонким глазным пинцетом осторожно снимают твердую мозговую оболочку, не нажимая на ткань мозга, и сразу смачивают его во избежание пересыхания раствором Рингера. Рассматривают (можно через лупу) спинной мозг и отходящие от него передние и задние корешки. Обращают внимание на утолщения - спинальные ганглии, имеющиеся на задних корешках. Находят все девять пар корешков, изучают их длину, толщину и направление хода в позвоночном канале.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте внешний вид спинного мозга с отходящими корешками спинальных нервов. Сделайте пояснения к рисунку.

Задача 2.

Изучение микроморфологии спинного мозга лягушки

Ход работы. Рассматривают гистологические препараты спинного мозга сначала под малым, а затем под большим увеличением микроскопа. Выявляют особенности строения различных отделов спинного мозга, отмечают соотношение серого и белого вещества. Изучают клеточный состав серого вещества.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте поперечный срез спинного мозга лягушки и поясните рисунок. На отдельном рисунке нанесите положение нейронов в передних рогах, промежуточной зоне, студенистой субстанции задних рогов. Отметьте нейроны, относящиеся к различным функциональным группам (двигательные, вставочные).

Задача 3.

Наблюдение последствий перерезки спинного мозга у лягушки

Спинной мозг выполняет две основные функции - рефлекторную и проводниковую. Рефлекторная деятельность спинного мозга возможна благодаря тому, что в нем находятся центры большинства двигательных (за исключением мышц головы) и вегетативных реакций. Проводниковая функция состоит в проведении возбуждения по нервным волокнам, соединяющим различные сегменты спинного мозга между собой, а также с отделами головного мозга. В соответствии с функциональными особенностями нервных волокон их объединяют в propriospinalные (ассоциативные и комиссуральные) и проекционные (афферентные и эфферентные) проводящие тракты. В естественных условиях рефлекторные центры спинного мозга подчиняются корригирующим влияниям из высших отделов ЦНС. Поэтому степень проявления спинальных рефлексов зависит от целостности не только его нервных центров, но и проводящих путей, и в частности, от того, сохраняются ли связи структур спинного мозга с отделами головного мозга. Как известно, после спинализации, а также в результате частичного повреждения (например, гемисекции) спинного мозга многие, особенно сложные формы его деятельности, нарушаются или полностью прекращаются.

Ход работы. Лягушку наркотизируют, помещая на 5-10 минут в 3-процентный водный раствор эфира, а затем укрепляют на пробковой пластинке спиной вверх. Разрезают кожу по средней линии на уровне

верхних конечностей. Маленькими ножницами с обеих сторон четырех последних позвонков отделяют мышцы. Очень осторожно, действуя лишь кончиками ножниц, вскрывают спинномозговой канал и удаляют дужки позвонков, останавливая кровотечение ватными тампончиками. С поверхности мозга удаляют оболочки. Находят продольную срединную борозду спинного мозга и тонким скальпелем (нож Грефе) или глазными ножницами производят перерезку правой или левой половины спинного мозга. Рану закрывают, накладывая швы на мышцы и кожу. Через несколько часов или на следующий день проводят наблюдения.

Сравнивают реакции правой и левой задних конечностей лягушки при воздействии на них, а также на передние конечности механических, химических и электрических раздражений. Убеждаются, что задняя конечность на стороне гемисекции парализована, а у лапки противоположной, не оперированной стороны, снижена чувствительность (паралич Броун-Секара).

Раздражают конечность на стороне гемисекции щипками. Отмечают общее движение животного. Однако раздражаемая конечность в эту реакцию почти не вовлекается. Повторяют наблюдения при воздействии других раздражителей.

Раздражают кожу верхней конечности электрическим током или аппликацией кусочка фильтровальной бумаги, смоченной в растворе серной кислоты. Лягушка отвечает общей двигательной реакцией, которая также не захватывает нижнюю конечность оперированной стороны. Это объясняется тем, что после гемисекции спинного мозга прекращается передача импульсов из вышележащих отделов ЦНС к спинальным центрам оперированной стороны, вследствие чего наступает потеря сложных двигательных реакций на стороне операции. Иногда при движении животного по поверхности стола оперированная конечность может подтягиваться к туловищу, что осуществляется за счет местных спинальных рефлексов.

Воздействуют электрическим током различной силы, в том числе болевыми стимулами на заднюю конечность интактной стороны. Убеждаются, что общего возбуждения животного не происходит, так как афферентные импульсы не достигают вышележащих отделов ЦНС.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта опишите характер изменений чувствительности и двигательных реакций лягушки вследствие нарушения целостности проводящих путей спинного мозга при гемисекции. Сделайте вывод о роли восходящих и нисходящих трактов ЦНС.

Задача 4.

Перерезка спинномозговых корешков у лягушки

Ход работы. Для опыта берут лягушку, слабо наркотизированную в 2-процентном водном растворе эфира, укрепляют ее на препаровальной доске спинкой вверх и отпрепаровывают дорсальные и вентральные корешки спинномозговых нервов задних конечностей. Операция препаровки подробно описана в задаче 1. Однако, учитывая цель проводимого опыта, следует разрез кожи и препаровку мышц позвоночника делать только в поясничном отделе, а спинномозговой канал вскрывать на уровне четырех последних позвонков. После вскрытия позвоночника в указанном месте тонким пинцетом снимают твердую мозговую оболочку и находят три последние пары корешков (X, IX и VIII). На одной стороне (правой), приподняв тонким стеклянным крючком три последних дорсальных корешка, перерезают их острыми глазными ножницами. На другой (левой) стороне, отодвинув дорсальные корешки стеклянным крючком в сторону, вторым заранее приготовленным таким же крючком приподнимают вентральные корешки и перерезают их. Операцию надо проводить очень осторожно, без резких движений, чтобы не повредить спинной мозг и весьма нежные корешки. Кроме того, необходимо регулярно смачивать место препаровки раствором Рингера из пипетки.

После перерезки корешков полость позвоночника закрывают, зашивая мышцы и кожу, и оставляют животное на 3-4 часа. За это время должны пройти шоковые явления, вызванные травмой спинного мозга в ходе перерезки корешков. Через указанный срок или на следующий день на оперированной лягушке можно проводить наблюдения.

Помещают лягушку на столик и подтапкивают, вынуждая совершать движения. Обращают внимание на то, что при передвижении животное не пользуется той конечностью, на стороне которой перерезаны передние спинальные корешки. Раздражают (сильный щипок пинцетом) кожу этой же конечности. Животное отвечает бурными рефлекторными реакциями всех конечностей за исключением раздражаемой, что указывает на ее паралич.

Раздражают лапку на той стороне, где перерезаны задние корешки, но сохранены передние. Никакой ответной реакции не наблюдается, что свидетельствует об отсутствии чувствительности в раздражаемой лапке.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта опишите результаты наблюдений. Сделайте заключение о распределении функций между передними и задними корешками спинного мозга.

Задача 5.

Раздражение спинномозговых корешков у лягушки

Ход работы. Наркотизированную лягушку укрепляют на препаративной доске спинкой вверх и препарируют у нее спинной мозг на уровне отхождения трех последних пар корешков. Находят задние корешки справа и слева. На одной стороне спинного мозга берут на лигатуру *периферический* конец заднего корешка (например, VIII), перевязывают его как можно ближе к мозгу и перерезают проксимальнее от места перевязки. На другой стороне берут на лигатуру *центральный* конец симметричного заднего корешка, перевязывают его как можно дальше от спинного мозга и перерезают дистальнее перевязки. После этого извлекают стеклянным крючком из позвоночного канала два передних корешка, отходящих от противоположных сторон спинного мозга. При этом используют другой сегмент мозга, например соответствующий отхождению IX пары корешков, и также берут на лигатуры у одного корешка центральный, а у другого - периферический конец. Во избежание путаницы в качестве лигатур можно использовать нитки разного цвета, а длину свободных концов лигатур оставлять равной 4-5 см.

Собирают установку для электростимуляции корешков. Подводят электроды под перевязанные концы корешков и поочередно раздражают периферический и центральный концы задних корешков. Затем стимулируют поочередно периферический и центральный концы передних корешков.

Отмечают наличие или отсутствие двигательной реакции при разных вариантах раздражения электрическим током концов корешков.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта зарисуйте в виде схемы условия раздражения корешков. Опишите наблюдаемые эффекты, объясните их. Сделайте выводы о том, какие корешки являются центростремительными, а какие - центробежными.

Задача 6.

Отведение биопотенциалов от передних и задних спинномозговых корешков у лягушки

Ход работы. Опыт рекомендуется проводить на спинальной лягушке. Для этого животное декапитуруют или перерезают у него спинной мозг под продолговатым на уровне атланта-окципитального сочленения. Спинальную лягушку укрепляют на операционной доске, вскрывают спинномозговой канал на уровне каудальных позвонков и препарируют

спинномозговые корешки. На одной стороне находят и берут на лигатуры периферические концы заднего и переднего корешков одного и того же сегмента. *Лигатуры туго перевязывают!*

Собирают установку для регистрации вызванных потенциалов действия, подключают отводящие электроды ко входу усилителя, а раздражающие - к выходу стимулятора. Под задние корешки, приподнимая их с помощью стеклянного крючка, подводят раздражающие электроды. Передние корешки помещают на погружные отводящие электроды (рис.1.3).

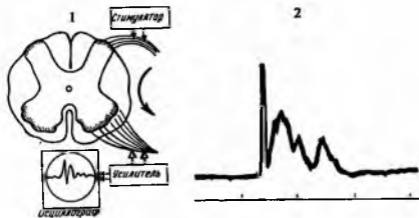


Рис. 1.3. Схема опыта с отведением вызванных потенциалов от спинномозговых корешков (по К.М.Кулланде, 1975):

1 - отведение биопотенциалов от передних корешков при раздражении задних;
2 - вызванная электрическая активность переднего спинального корешка при раздражении заднего корешка того же сегмента (отметка времени 5 мс)

Раздражают одиночными импульсами тока пороговой силы задние корешки и наблюдают на экране осциллографа, что в ответ на каждый стимул в передних корешках возникают высокоамплитудные вызванные потенциалы действия. После этого, меняя амплитуду одиночных стимулов и применяя ритмическую стимуляцию разной частоты, наблюдают за изменением характера регистрируемых потенциалов. Регистрируют вызванные потенциалы на диаграммную ленту или фотобумагу. На полученной записи по калибровочным меткам определяют характеристики вызванных ответов: латентный период, длительность и амплитуду.

Затем меняют расположение электродов. Раздражают передние корешки и убеждаются, что в задних корешках при этом потенциалов действия не возникает.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта сделайте схематичный рисунок экспериментальной установки, вклейте фрагменты записи биопотенциалов или зарисуйте их форму. Укажите частотно-амплитудные характеристики ответов и охарактеризуйте их зависимость от параметров раздражения. Сделайте выводы о функциях передних и задних корешков спинного мозга.

Работа 1.2.

ИЗУЧЕНИЕ АНАТОМИИ СПИННОГО МОЗГА И ФУНКЦИЙ СПИНОМОЗГОВЫХ КОРЕШКОВ У ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ

Спинной мозг представляет собой уплощенный в дорсовентральном направлении цилиндрический нервный тяж. Верхней его границей считается уровень большого затылочного отверстия. Нижней границей спинного мозга у теплокровных животных является промежуток между телами четвертого и пятого поясничных позвонков, что следует учитывать при ламинэктомии. По продольной оси спинной мозг имеет два веретенообразных утолщения - шейное и поясничное, которые соответствуют местам отхождения толстых нервов передних и задних конечностей. По дорсальной поверхности спинного мозга проходит срединная борозда, а по вентральной - глубокая срединная щель, которые делят его на две симметричные половины. По обе стороны от дорсальной срединной борозды расположены дорсальные латеральные бороздки, в которые вступают дорсальные (афферентные) корешки. По бокам от вентральной срединной щели проходят вентральные боковые бороздки, из которых выходят вентральные (эфферентные) корешки спинальных нервов (рис. 1.4).

Дорсальные и вентральные корешки отходят от каждого сегмента спинного мозга пучками волокон, которые затем объединяются в один смешанный спинномозговой нерв. Перед слиянием (в основном, в межпозвоночном отверстии) дорсальный корешок образует утолщение - межпозвоночный спинномозговой узел (спинальный ганглий).

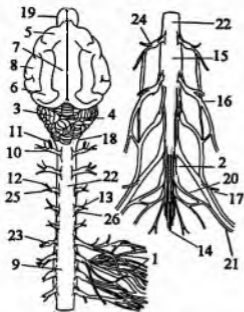


Рис. 1.4. Центральная нервная система кошки (головной и спинной мозг в дорсальной проекции) с отходящими нервами (по А.Д.Ноздрачеву, 1973):

- 1 - *pl. brachialis*; 2 - *cauda equina*;
- 3 - *hemisphaerae cerebelli*; 4 - *vermis*;
- 5 - *lobus frontalis*; 6 - *lobus occipitalis*;
- 7 - *lobus parietalis*; 8 - *lobus temporalis*;
- 9 - *intumescencia cervicalis*;
- 10 - *n. cervicalis*; 11 - *r. communicans*;
- 12 - *r. dorsalis*; 13 - *radix dorsalis*;
- 14 - *filum terminale*;
- 15 - *intumescencia lumbalis*;
- 16 - *pl. lumbalis*; 17 - *pl. lumbosacralis*;
- 18 - *medulla oblongata*;
- 19 - *bulbus olfactorius*; 20 - *pl. sacralis*;
- 21 - *n. ischiadicus*; 22 - *medulla spinalis*;
- 23 - *gnl. spinale*; 24 - *n. spinalis*;
- 25 - *r. ventralis*; 26 - *radix ventralis*

На поперечном сечении спинного мозга теплокровных животных отчетливо дифференцируется серое и белое вещество. В составе белого вещества, разделенного на симметрично расположенные слева и справа передние, боковые и задние канатики, проходят проводящие пути: собственные проприоспинальные и проекционные. Последние делятся на восходящие (сенсорные) и нисходящие (моторные). Серое вещество на поперечном срезе мозга подразделяется на дорсальные (задние) и вентральные (передние) рога и промежуточную зону и представлено телами нейронов.

Общее число нейронов в спинном мозге теплокровных животных (кошка, собака) составляет $1 \cdot 10^7$, при этом они характеризуются структурно-функциональной неоднозначностью. По функциям выделяют моторные и промежуточные нейроны. На долю мотонейронов приходится всего 3% всех клеток, они сосредоточены в вентральных рогах серого вещества и подразделяются на два вида: α -мотонейроны - крупные мультиполярные клетки (диаметр сомы 25-75 мкм), иннервирующие экстрафузальные мышечные волокна, и γ -мотонейроны - клетки среднего диаметра (15-25 мкм), осуществляющие иннервацию мышечных веретен. Интернейроны доминируют количественно, имеют наименьшую величину (диаметр 6-15 мкм), широко распространены в различных

участках серого вещества. Специфическим скоплением интернейронов является желатинозная субстанция Роланда, расположенная в дорсальной части заднего рога. Аfferентные нейроны спинного мозга, представленные крупными биполярными клетками, вынесены за его пределы. Тела этих нейронов располагаются в спинномозговых ганглиях дорсальных корешков. Пониманию нейронной организации спинного мозга способствует предложенное в 1952 году американским анатомом Б. Рекседом деление серого вещества на 10 пластин (слоев), располагающихся параллельно дорсальной поверхности спинного мозга (рис. 1.5). Каждая пластинка отличается размером и формой нейронов и несет определенную функциональную нагрузку. Перед выполнением работы следует ознакомиться с классификацией Б. Рекседа по специальным руководствам или учебникам (Чепурнов С.А., Баскакова Г.М., Чепурнова Н.Е., 1978; Шульговский В.В. 1997).

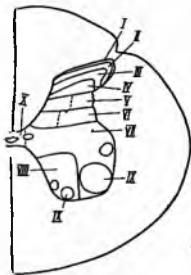


Рис. 1.5. Схема деления серого вещества спинного мозга кошки на пластины по Б. Рекседу

Цель работы. Освоить методику оперативного подхода к спинному мозгу (ламинэктомия) и технику препаровки спинномозговых корешков у теплокровного животного. Детально ознакомиться с макро- и микроанатомией спинного мозга. Изучить топографию и функции спинальных корешков у теплокровного животного.

Объект исследования: кошка, кролик или крыса.

Материалы и оборудование: препаровальная доска, марлевые завязки, салфетки, бинты, вата, набор препаровальных инструментов (в том числе распатор, костные щипцы, ранорасширители), шприц, нитки, хирургические режущие и круглые иглы, 1-процентный спиртовой раствор йода, 3-процентный раствор перекиси водорода, раствор Рингера для теплокровных, эфир и нембутал для наркоза, электроплитка или водяная баня, термометр лабораторный, термостойкие стаканчики, ванночка, ручная лупа, бинокулярная лупа, микроскоп, окуляр-микрометр, объект-микрометр, рисовальный аппарат, гистологические препараты (спинного мозга, спинномозгового ганглия, симпатического ганглия пограничного ствола теплокровных животных).

Задача 1.

Изучение макроанатомии спинного мозга и топографии спинномозговых корешков у теплокровного животного

Ход работы. В случае использования в качестве подопытного животного кошки или кролика операция проводится под эфирно-небуталовым наркозом, в опыте на крысе желательно применять только небуталовый наркоз. После наркотизации животное фиксируют на препаровальной доске спиной вверх. Готовят операционное поле, для чего выстригают шерсть вдоль всего позвоночника, смазывают кожу настойкой йода. Операцию удобно начинать с грудино-поясничного отдела спинного мозга. При этом следует ориентироваться на последний грудной и последний поясничный позвонки. Двенадцатый грудной позвонок находят по месту прикрепления к нему последней пары ребер, а последний поясничный - по сросшемуся с тазовыми костями первому крестцовому позвонку. После этого делают разрез кожи вдоль остистых отростков позвонков, начиная его примерно на 2 позвонка ниже последнего поясничного и заканчивая на уровне атланта-окципитального сочленения.

Очищают дужки позвонков от прикрепленных к ним мышц. Для этого скальпелем надсекаются фасции окологривовонковых мышц, с обеих сторон прикрепляющихся к вершинам остистых отростков. Затем с одной стороны надрезают на вершинах остистых отростков надкостницу до кости и начинают отслойку мышц от тел позвонков тупым способом, используя для этого распатор. Тампонируют щель между отслоенными мышцами и остистыми отростками и аналогичную препаровку проводят на другой стороне. Кровотечение останавливают сухими или смоченными в горячем физиологическом растворе тампончиками.

После этого приступают к ламинэтомии (вскрытию позвоночника). Сначала костными щипцами убирают вершины остистых отростков трех позвонков (от Th₁₂ до L₂), а затем скусывают оставшиеся их основания, стараясь при этом захватывать как можно больше кости с поверхности дужек. Истончив дужки, выкусывают их, открывая спинной мозг как можно латеральнее, стараясь при этом не повредить прикрепленные к стенкам межпозвоночных отверстий крупные межпозвоночные вены. В случае венозного кровотечения останавливают его тампонами, смоченными в 3-процентном растворе перекиси водорода. По окончании описанного этапа производят вскрытие спинномозгового канала по всей длине. После вскрытия становится видна твердая мозговая оболочка. Приподняв оболочку глазным пинцетом над мозгом, разрезают ее по средней линии, разводят края в стороны.

После ламинэктомии приступают к изучению внешнего строения и топографии спинного мозга и корешков спинальных нервов. Внимательно рассматривают спинной мозг, определяют его длину и толщину. Отмечают наличие на его дорсальной поверхности срединной и латеральных борозд. Находят шейное и поясничное утолщения, определяют их размеры, локализацию и скелетотопию (т.е. соответствие определенным позвонкам).

Рассматривают спинномозговые корешки. Приподнимая их стеклянными крючками или с помощью подведенных лигатур, изучают места отхождения от спинного мозга и взаимное расположение передних и задних корешков. Находят на задних корешках спинномозговые узлы, рассматривают их через лупу, определяют примерные размеры, форму.

Изучают топографию и скелетотопию корешков разных отделов спинного мозга. Обращают внимание на то, что уровни отхождения корешков от мозга и выхода из позвоночного канала не совпадают. Это обусловлено скелетотопией спинномозговых сегментов. В частности, примерная скелетотопия у кошек следующая: в шейном и верхнегрудном отделах сегменты располагаются на 1 позвонок выше соответствующего по счету позвонка, в нижегрудном - на 2 позвонка выше, в поясничном - это смещение еще более увеличивается. В этой связи в шейном и грудном отделах спинальные корешки отходят почти на уровне межпозвоночных отверстий, в поясничном - идут косо вниз вдоль позвоночного канала, в крестцовом и хвостовом - почти строго каудально.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте внешний вид спинного мозга с отходящими от него корешками спинальных нервов, сделайте пояснения к рисунку.

Задача 2.

Изучение микроструктуры спинного мозга теплокровных животных

Ход работы. Под бинокулярной лупой и при малом увеличении микроскопа просматривают поперечные срезы спинного мозга. Находят на препарате серое и белое вещество (передние и задние рога, промежуточную зону, канатики), передние и задние корешки. С помощью окуляр-микрометра определяют размеры и соотношение площадей серого и белого вещества. Затем при большом увеличении микроскопа рассматривают нейроны в передних и боковых рогах, а также в желатинозной субстанции заднего рога. Подсчитывают число клеток в разных областях. При помощи окуляр-микрометра определяют размеры клеточных тел.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте поперечный срез спинного мозга и укажите его основные структуры. На крупном по размеру рисунке поперечного сечения спинного мозга нанесите расположение нейронов, правильно отражая их форму. В пояснении к рисунку укажите, к какому типу (мотонейрон или интернейрон) относятся найденные клетки. Обоснуйте свое заключение. На отдельном рисунке изобразите схему Рекседа и сделайте описание пластин спинного мозга.

Задача 3.

Изучение строения спинномозгового узла теплокровных животных

Ход работы. При малом увеличении микроскопа рассматривают препарат среза узла, знакомятся с его общей структурой. Обращают внимание на периферическую локализацию тел афферентных нейронов и центральное расположение нервных волокон (отростков этих нейронов). Изучают препарат под большим увеличением. Находят отдельный крупный псевдоуниполярный нейрон, окруженный тонкой соединительнотканной капсулой и сателлитами, лежащими между перикарионом нервной клетки и капсулой. Особое внимание следует обратить на ход отростков вблизи сомы нейрона. Находят на срезе клетку, где одновременно видны центробежный и центростремительный отростки.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте весь срез спинального ганглия, детально выделяя лишь половину его. Сделайте отдельный рисунок афферентного нейрона, включая его сому и отростки. На обоих рисунках отметьте:

- а) соединительнотканную оболочку узла;
- б) соединительнотканную строму узла;
- в) крупные шаровидные тела чувствительных псевдоуниполярных нейронов, их пузыревидные ядра с резко контурированными ядрышками и цитоплазму, заполненную слабо окрашенными глыбками хроматофильного вещества;
- г) соединительнотканную капсулу каждого нейрона;
- д) ядра сателлитов;
- е) пучки нервных волокон в центральной части узла.

Задача 4.

Изучение микроструктуры симпатического ганглия пограничного ствола теплокровных животных

Ход работы. Рассматривают под малым увеличением общий вид узла на срезе, обращают внимание на равномерное распределение нервных клеток и нервных волокон по всей территории узла. Затем приступают к изучению препарата при большом увеличении микроскопа. Обращают внимание на малые размеры клеток по сравнению с афферентными нейронами спинального ганглия. Отмечают наличие глиальных клеток (при этом следует ориентироваться на их интенсивно окрашенные ядра), лежащих между соединительнотканной капсулой и перикарионом нейрона.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте симпатический ганглий. На рисунке отметьте:

- а) соединительнотканную капсулу ганглия;
- б) нервные клетки и их эксцентрично расположенные ядра;
- в) тонкие соединительнотканнные капсулы, окружающие каждый нейрон;
- г) пучки нервных волокон между нейронами ганглия.

Задача 5.

Изучение функций спинномозговых корешков у теплокровного животного

Ход работы. На животном, подготовленном, как указано в задаче 1, проводят опыты по изучению функций передних и задних корешков спинальных нервов, используя при этом методику отведения биопотенциалов, описанную в работе 1.1 (задача 6).

Рекомендации к оформлению работы. Подробно опишите результаты проведенных исследований, внесите в протокол опыта графический материал и дайте объяснения полученным данным.

Работа 1.3.

ТЕХНИКА ПРЕПАРОВКИ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ МЫШЦ И НЕРВОВ ЗАДНЕЙ КОНЕЧНОСТИ У ЛЯГУШКИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ РЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СПИННОГО МОЗГА

В спинном мозге замыкаются дуги множества соматических рефлексов. К разряду наиболее простых относятся сухожильные рефлексы. Более сложную структуру имеют фазные (сгибание, разгибание), а также ритмические (чесание, потирание) рефлексы. Реализация этих сложных рефлекторных актов осуществляется за счет координированных сокращений мышц, входящих в различные функциональные группы. По функциональному признаку скелетные мышцы принято делить на синергисты и антагонисты. Мышцы-синергисты осуществляют движение сустава в одном и том же направлении (например, все сгибатели сустава), а мышцы-антагонисты - в противоположных направлениях (сгибатели и разгибатели сустава). Регистрация рефлекторных ответов антагонистических мышц на раздражение афферентных нервов является классическим методом изучения свойств нервных центров и функций спинного мозга. Наиболее удобным объектом для этого могут служить мышцы задней конечности лягушки.

Цель работы. Освоить технику препаровки антагонистических мышц и нервов задней конечности амфибий с целью последующего изучения нервных механизмов координации рефлекторных реакций спинного мозга.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная доска, булавки, завязки, эфир и сосуд для наркотизации, препаровальный набор, вата, раствор Рингера для холоднокровных, ванночка, нитки, спирт.

Ход работы. Опыт проводят на децеребрированной (спинальной) лягушке с исключением всех супраспинальных влияний. Перед началом операции животное наркотизируют в 2-3-процентном водном растворе эфира, а затем осуществляют закрытую децеребрацию, вводя лезвие узкого глазного скальпеля в область сочленения черепа с первым позвонком. После децеребрации лягушку прикрепляют бинтами и булавками к препаровальной дощечке спиной кверху и приступают к препаровке мышц и нервов. На левой задней конечности выпрепаровывают антагонистические мышцы: трехглавую мышцу бедра (*m. triceps femoris*), являющуюся разгибателем дистального (коленного) и сгибателем проксимального (тазобедренного) суставов и полусухожильную мышцу (*m. semitendinosus*), являющуюся сгибателем дистального и раз-

гибателем проксимального суставов бедра, а также иннервирующие их нервы - малоберцовый (n. peroneus), большеберцовый (n. tibialis) и боковой кожный нерв бедра (n. cutaneus femoris lateralis), как показано на рис. 1.6.

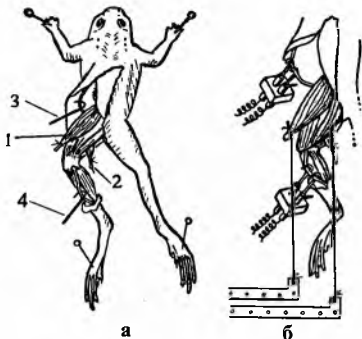


Рис. 1.6. Расположение антагонистических мышц и нервов (а) и схема соединения мышц с многографом (б) в ходе изучения механизмов координации рефлекторных реакций спинного мозга у лягушки:

1 - трехглавая мышца бедра; 2 - полусухозжильная мышца; 3 - боковой кожный нерв бедра; 4 - малоберцовый нерв

Разрезают кожу от верхней части бедра до середины голени и обнажают мышцы бедра и голени. Находят и рассматривают трехглавую мышцу, покрывающую переднюю часть бедра. Отыскивают в ее нижней части дистальное сухожилие, которое проходит над коленным суставом и прикрепляется высоко на передней поверхности берцовой кости. Подводят под сухожилие лигатуру, завязывают ее и отделяют нижний конец мышцы от коленного сустава вместе с частью суставной сумки. Затем осторожно отделяют мышцу от окружающих тканей примерно на треть

ее длины, стараясь не повредить верхнюю половину мышцы, т.к. в верхней части средней трети в нее входит сосудисто-нервный пучок.

Затем начинают препарировать полусухожильную мышцу. Эта мышца относится к медиальной группе мышц бедра, которые, сокращаясь, вызывают сгибание и приведение голени к бедру. Полусухожильная мышца располагается в глубине бедра среди других мышц, и удобным ориентиром для ее нахождения служит тонкое блестящее цилиндрическое сухожилие, дистальный конец которого веерообразно расширяется в треугольную пластинку (сухожильный треугольник). Наибольшая сторона этого треугольника прикрепляется к проксимальному участку голени ниже коленного сустава. Повернув заднюю лапку слегка наружу, находят на медиальной поверхности голени сразу ниже коленного сустава сухожилие полусухожильной мышцы и подводят под него лигатуру. Лигатуру завязывают, сухожилие перерезают дистальнее перевязки и отсепааровывают нижнюю треть мышцы. При этом не следует сильно вытягивать мышцу из глубины бедра, чтобы не повредить нервы, входящие в нее в нижней трети.

После завершения препаровки мышц-антагонистов приступают к выделению иннервирующих их нервов - большеберцового, малоберцового и бокового кожного нерва бедра. Все эти нервы являются ветвями седалищного нерва. Большой и малый берцовые нервы образуются в результате деления общего ствола седалищного нерва в дистальной части бедра выше коленного сустава на две ветви, идущие по обе стороны вдоль голени. Боковой кожный нерв бедра отходит от седалищного в верхней части бедра. Топография нервов показана на рис. 1.7.

На одной из лапок со спинной поверхности разрезают кожу вдоль голени и на наружной ее стороне находят малоберцовый нерв. Малоберцовый нерв сразу после отхождения от седалищного нерва направляется латерально, проходит под сухожилием подвздошно-малоберцовой мышцы и переходит на наружную поверхность голени (рис. 1.7,б). Здесь он располагается между малоберцовой и короткой передней большеберцовой мышцами. На уровне середины голени нерв разделяется на медиальную и латеральную ветви. Медиальная малоберцовая ветвь направляется к внутренней стороне голени, огибает короткую переднюю большеберцовую мышцу и выходит из-под нее на предплюсну. Латеральная малоберцовая ветвь после расхождения с медиальной направляется дистально, располагаясь между короткой и длинной передними большеберцовыми мышцами. В области предплюсны ветви соединяются.

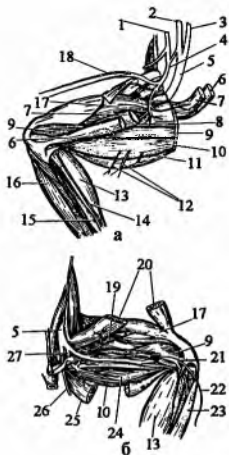


Рис. 1.7. Нервы и мышцы бедра лягушки в вентральной (а) и дорсальной (б) проекциях (по А.Д.Ноздрачеву, Е.Л.Полякову, 1994):

- 1, 2, 3 - *n.n. spinales* (VII, VIII, IX),
- 4 - *n. cruris*, 5 - *n. ischiadicus*,
- 6 - *m. sartorius*, 7 - *m. adductor longus*,
- 8 - *m. pictineus*, 9 - *m. adductor magnus*
- 10 - *m. gracilis major*, 11 - *m. gracilis minor*, 12 - *n. cutaneus femoris med.*,
- 13 - *m. gastrocnemius*,
- 14 - *r. superficialis*, 15 - *m. tibialis post.*,
- 16 - *m. tibialis ant. longus*,
- 17 - *m. triceps femoris*,
- 18 - *r. cutaneus femoris lat.*,
- 19 - *r. profundus ant.*, 20 - *m. vastus ext.*,
- 21 - *n. peroneus*, 22 - *r. cutaneus cruris lat.*, 23 - *m. peroneus*,
- 24 - *m. semitendinosus*,
- 25 - *m. semimembranosus*,
- 26 - *r. cutaneus femoris post.*,
- 27 - *r. profundus post*

Приподняв малоберцовый нерв стеклянным крючком, маленькими глазными ножницами перерезают отходящие от него к мышцам голени тонкие веточки и осторожно отделяют нерв от окружающих тканей. Под дистальный конец нерва подводят лигатуру, туго ее завязывают, а нерв за лигатурой перерезают.

Находят большеберцовый нерв, внимательно рассматривают его топографию и ветвление (рис. 1.8). Большеберцовый нерв, отделившись от малоберцового, направляется по средней линии бедра. В подколенной области он отдает заднюю кожную ветвь голени, идущую по поверхности икроножной мышцы вплоть до ахиллова сухожилия, и мышечную ветвь, иннервирующую проксимальный участок икроножной мышцы. Дистальнее большеберцовый нерв разделяется на тонкую поверхност-

ную и более мощную глубокую ветви. Поверхностная или икроножная ветвь идет в дистальном направлении по поверхности икроножной мышцы. Глубокая ветвь большеберцового нерва идет в подколенной области под сухожилием большой тонкой мышцы и выходит в проксимальную область предплюсны, где разветвляется на 4 подошвенные пальцевые ветви.

Берут на лигатуру дистальный конец большеберцового нерва, перевязывают и перерезают.

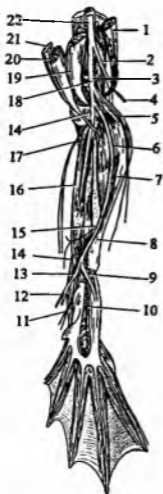


Рис. 1.8. Ветвление большеберцового нерва лягушки в области голени:

- 1 - *m. iliotibularis*, 2 - *n. peroneus*,
 3 - *r. articularis genu*, 4 - *r. cutaneus cruris lat.*, 5 - *r. cutaneus cruris post.*,
 6 - *r. superficialis*, 7 - *m. gastrocnemius*,
 8 - *tendo calcaneus*,
 9 - *r. subaponeuroticus proprius*,
 10 - *m. plantaris profundus*,
 11 - *r. cutaneus plantaris et dors. pedis med.*, 12 - *r. cutaneus plantaris lat.*,
 13 - *n. cutaneus marginalis*,
 14 - *r. profundus*, 15 - *r. cutaneus cruris med. inf.*, 16 - *m. tibialis post.*,
 17 - *r. cutaneus cruris sup. med.*,
 18 - *n. tibialis*, 19 - *m. semimembranosus*,
 20 - *m. gracilis major*, 21 - *m. gracilis minor*, 22 - *n. ishiadicus*

Чтобы отпрепаровать боковой кожный нерв бедра (*n. cutaneus femoris lateralis*), острыми глазными ножницами со стороны спины делают полукруглый разрез кожи, захватывающий нижнюю часть боковой поверхности живота и верхнюю часть бедра. Если приподнять образовавшийся кожный лоскут, то становится виден разветвляющийся в нем тонкий боковой кожный нерв, отходящий от седалищного нерва в верхней части бедра (рис. 1.7,а). Нерв аккуратно выпрепаровывают стеклянным крючком с тонким длинным кончиком и берут на лигатуру вместе с кусочком кожи как можно дальше от бедра. Лигатуру туго перевязывают, нерв перерезают.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта охарактеризуйте функции, морфологические особенности и топографию отпрепарированных мышц и нервов. Сделайте детальные рисунки и поясните их.

Работа 1.4.

СВОЙСТВА НЕРВНЫХ ЦЕНТРОВ

Нервным центрам спинного мозга, как и других отделов ЦНС, присущи некоторые общие свойства и особенности функционирования, которые определяются характером синаптической передачи и структурой нейронных сетей, образующих эти центры.

Одним из свойств является относительная *зависимость интенсивности рефлекторной реакции от силы афферентного раздражения*. При нарастании силы раздражения до известных пределов происходит градуальное увеличение рефлекторного ответа. Наибольшая выраженность рефлекса наблюдается при действии средних (оптимальных) и максимальных по силе и частоте афферентных раздражений, что связано с вовлечением в реакцию высокопороговых интер- и мотонейронов. При действии сверхмаксимальных стимулов в нервных центрах нарушается синаптическая передача возбуждения, и сила рефлекторного ответа понижается.

Аналогичное снижение эффективности деятельности нервных центров происходит и при чрезмерно продолжительных афферентных стимулах, что расценивается как утомление ЦНС. *Утомление нервных центров* обусловлено, в первую очередь, утомлением синапсов (расход медиатора и снижение синаптической проводимости) и метаболическими сдвигами (энергетическое истощение) в самих нейронах.

Характерным свойством нервных центров является *суммация возбуждений*. Каждый центр имеет множество параллельных входных (афферентных) волокон от своего рецептивного поля, которые конвергируют на одном вставочном или двигательном нейроне. Одновременные подпороговые раздражения нескольких участков рецептивного поля, неспособные в отдельности реализовать рефлекс, вызывают на мембранах нейронов центра возникновение нескольких возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП), которые, суммируясь, приводят к формированию потенциала действия, распространяющегося по эфферентным путям и вызывающего рефлекторный ответ. Это явление называется *пространственной суммацией*. В развитии пространственной суммации важную роль играет конвергенция возбуждений, приходящих по разным афферентным волокнам, на одном мотонейроне. Эффект суммации определяется и тем, что при поступлении в нервный центр импульсов с нескольких афферентных путей в реакцию вовлекается большее число нейронов, а, следовательно, и нейромоторных единиц. Это способствует усилению рефлекторного ответа. *Временная суммация* наблюдается при нарастании частоты подпороговых стимулов, поступающих в ЦНС от ограниченного участка рецептивного поля. При этом в нервном центре происходит суммация и увеличение амплитуды ВПСП до критического уровня вследствие активации синаптической передачи, возникает возбуждение и в итоге развивается рефлекторная реакция. После прекращения афферентных раздражений большой интенсивности и длительности может наблюдаться рефлекторное последствие. Оно обусловлено длительными следовыми потенциалами на нейронах центра, облегчением синаптического проведения, наличием нейронных "ловушек" и реверберацией возбуждения в них.

Важным свойством нервных центров является их тонус, под которым понимают определенный уровень активности нейронов, обеспечивающей их готовность к рефлекторному ответу. *Тонус нервовых центров* имеет рефлекторную природу, т.е. обусловлен слабыми афферентными импульсами от различных рецептивных полей, а также связан с гуморальными влияниями на нервные клетки. Тонус отдельных нервных центров внешне проявляется в постоянной низкочастотной (тонической) эфферентной импульсации к рабочим органам. Отражением тонуса нервных центров, в частности, является фоновая активность эффекторов, к примеру, тонус скелетных мышц или гладкомышечных клеток сосудистой стенки.

Цель работы. На примере регистрации флексорного ответа полусуживательной мышцы необходимо: 1) установить зависимость выраженности рефлекторного ответа от силы раздражения афферентных нервов (градуация рефлекторного ответа); 2) пронаблюдать явления суммации и

последствия в нервных центрах, определить наименьшую частоту раздражения, при которой возникают первые признаки суммации; 3) убедиться в повышенной утомляемости нервных центров.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная доска, набор препаровальных инструментов, булавки, бинты, вата, раствор Рингера для холонокровных, эфир и сосуд для наркоза, установка для регистрации мышечных сокращений, 2 электростимулятора, 2 пары биполярных погружных электродов, грузики в 5 и 10 граммов.

Задача 1.

Грация рефлекторного ответа

Ход работы. Опыт выполняют на спинальной лягушке. С этой целью у лягушки, предварительно выдержанной на холоде или слабо занаркотизированной в 2-процентном водном растворе эфира, бескровным методом делают перерезку спинного мозга под продолговатым. Надежно укрепляют животное с помощью бинтов и булавок на препаровальной доске спинкой кверху и отпрепаровывают на одной задней конечности для регистрации полусухожильную мышцу, а для раздражения - малоберцовый нерв. Ход препаровки описан в работе 1.3. На периферический конец нерва накладывают лигатуру и туго перевязывают. Эта перевязка необходима для того, чтобы во время раздражения нерва не возбуждались двигательные волокна, идущие в его составе к мышцам пальцев. Можно нерв перерезать дистальнее перевязки. Прооперированной конечности при помощи булавок придают полусогнутое положение, после чего закрепляют дощечку с лягушкой в штативе вертикально и собирают установку для регистрации мышечных сокращений. Располагают миографический рычажок несколько ниже нижнего края вертикальной препаровальной дощечки и привязывают к его свободному концу строго под прямым углом лигатуру, идущую от сухожилия полусухожильной мышцы. Устанавливают скорость вращения барабана кимографа 5-10 мм/с. Укрепляют рядом с отпрепарированной лапкой раздражающие электроды, соединенные с выходом стимулятора, и помещают на них малоберцовый нерв.

Не забывайте, что успешность опыта во многом зависит от функционального состояния нерва, который нельзя травмировать механически (растягивать), а в перерывах между раздражениями следует прикрывать тонкой ватной турундой, смоченной в растворе Рингера.

После того как препарат и установка подготовлены, приступают к опыту. Устанавливают на стимуляторе частоту раздражения 20-40 имп/с

и находят пороговую силу раздражения (напряжение тока) малоберцового нерва, вызывающую минимальное рефлекторное сокращение мышцы. Делают запись этого сокращения. После нахождения порога приступают к исследованию зависимости величины рефлекторного ответа полусухожильной мышцы от силы раздражения нерва. Не меняя частоты, ступенчато увеличивают силу (напряжение) тока и регистрируют сокращения. Длительность раздражения нерва в каждом случае должна быть одинаковой (1-5 с). Во время регистрации обязательно делают отметку раздражения. После окончания опыта под миограммами следует записать на заданной скорости отметку времени, по которой определяют длительность раздражения и временные характеристики рефлекторного ответа.

Рекомендации к оформлению работы. В протокол вклейте кимограммы и подробно их проанализируйте. Отметьте форму и продолжительность сокращений, длительность латентных ответов, наличие последствия. Укажите характер зависимости выраженности рефлекторного сокращения мышцы от силы афферентного раздражения. Объясните полученные данные с точки зрения одновременного вовлечения в рефлекторную реакцию разнопороговых мотонейронов и двигательных единиц.

Задача 2.

Временная суммация возбуждения

Ход работы. Опыт проводят на том же животном или готовят свежую бульбарную (спинальную) лягушку, у которой так же, как в предыдущей задаче выпрепаровывают на задней конечности полусухожильную мышцу и малоберцовый нерв. Собирают установку для регистрации рефлекторных ответов мышцы, как указано в задаче 1, и приступают к опыту.

Устанавливают на стимуляторе следующие параметры раздражения: режим одиночного импульса; длительность импульса 0,5-1,5 мс. Находят пороговую силу (напряжение тока) раздражения нерва, при которой наблюдается минимальное рефлекторное сокращение мышцы. После этого снижают силу тока до заведомо подпорогового значения. Воздействуют на малоберцовый нерв током этой подпороговой силы и убеждаются, что в ответ на одиночное раздражение нерва реакция полусухожильной мышцы не возникает.

Затем, не меняя силы тока, начинают последовательно раздражать нерв сериями импульсов, ступенчато увеличивая их частоту от 1 до 20 Гц. При этом в каждом случае длительность раздражения должна составлять 20-40 с. Убеждаются, что в то время как одиночные подпороговые

стимулы не вызывают рефлекторного ответа мышцы, серия раздражающих импульсов той же силы вызывает рефлекс. Находят наименьшую частоту импульсов, при которой впервые проявляется эффект временной (последовательной) суммации. Записывают рефлекторные ответы мышцы. После этого ступенчато увеличивают частоту импульсов в серии до 30-40-60 Гц и также регистрируют ответы мышцы на кимографе. Обычно в таких условиях стимуляции отмечается возрастание амплитуды мышечного сокращения и укорочение латентного периода рефлекторной реакции по мере увеличения частоты раздражения. Нередко после прекращения стимуляции нерва наблюдается несколько дополнительных сократительных актов полусухожильной мышцы (последствие).

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте в протокол опыта кимограммы с записью рефлекторных ответов полусухожильной мышцы и поясните их. В выводах укажите, какой вид суммации имел место в эксперименте и обоснуйте свое заключение. Объясните механизмы временной суммации и последствие.

Задача 3.

Пространственная суммация возбуждения

Ход работы. У лягушки делают дополнительную препаровку, в частности, на той же конечности находят и выпрепаровывают большеберцовый нерв. Берут на лигатуру его дистальный конец, перевязывают и перерезают. Вносят дополнения и в экспериментальную установку: включают в нее второй электростимулятор, а на пластинке рядом с лапкой лягушки укрепляют вторую пару стимулирующих электродов. Устанавливают на обоих стимуляторах следующие параметры работы: длительность импульса 0,5 -1,5 мс; частота импульсов в серии 30-40 Гц. Находят пороги раздражения (силу тока) сначала малоберцового, а затем большеберцового нервов, при которых развиваются минимальные по амплитуде рефлекторные ответы полусухожильной мышцы. Регистрируют сократительную реакцию мышцы в ответ на стимуляцию каждого афферентного нерва в отдельности. Не меняя частоты, снижают силу раздражения каждого нерва до заведомо подпороговой величины. Раздражают каждый нерв подпороговым током и убеждаются в отсутствии ответной реакции мышцы. Затем, не меняя параметров тока, начинают одновременно раздражать оба нерва и через некоторое время наблюдают развитие рефлекторного ответа в виде сокращения полусухожильной мышцы (рис. 1.9), что служит проявлением пространственной (одновременной) суммации.

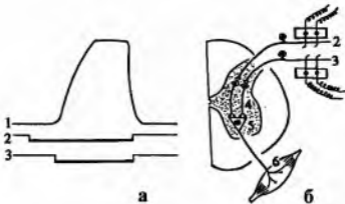


Рис. 1.9. Кривая рефлекторного ответа полусухожильной мышцы (а) и схема конвергенции афферентных импульсов и нервном центре (б) при пространственной суммации:

1 - кривая сокращения мышцы, 2 - отметка раздражения малоберцового нерва, 3 - отметка раздражения большеберцового нерва, 4 - интернейроны, 5 - мотонейрон, 6 - мышца

Рекомендации к оформлению работы. В протокол опыта вклейте киограммы, объясните их с точки зрения механизмов пространственной суммации. Зарисуйте экспериментальную установку и схему пространственной конвергенции возбуждения в спинном мозге.

Задача 4.

Утомляемость нервных центров

Ход работы. Поскольку в опыте предполагается регистрация рефлекторных сокращений полусухожильной мышцы при стимуляции малого и большого берцовых нервов задней конечности лягушки, то для работы можно использовать предыдущее животное и ту же экспериментальную установку.

Сначала выбирают параметры стимуляции: длительность импульса 0,5-1,0 мс; частота импульсов в серии 30-40 Гц (силу тока подбирают в процессе опыта). Находят силу тока, вызывающую максимальное сокращение полусухожильной мышцы при раздражении малого и большого берцовых нервов в отдельности. Начинают раздражать током

подобранных параметров малоберцовый нерв и добиваются полного утомления полусухожильной мышцы. При этом регистрируют рефлекторные тетанические сокращения мышцы на кимографе, не забывая делать отметку раздражения. Затем, не останавливая регистрации, отключают первый стимулятор, сразу же включают второй и начинают раздражать большеберцовый нерв. Наблюдается сокращение полусухожильной мышцы, утомленной в процессе стимуляции первого нерва (рис. 1.10).



Рис. 1.10. Кривая рефлекторного сокращения полусухожильной мышцы, демонстрирующая утомляемость нервных центров (по А.А.Гуминскому с соавт., 1990):

1 - кривая мышечного сокращения;
2 - отметка раздражения малоберцового нерва;
3 - отметка раздражения большеберцового нерва

Полученный результат можно расценивать как доказательство того, что при раздражении малоберцового нерва снижение рефлекторной реакции мышцы было вызвано утомлением не мышечных волокон, а центральных синапсов, участвующих в передаче возбуждения по дуге анализируемого рефлекса. Во время полного утомления одного рефлекса мотонейроны полусухожильной мышцы сохраняют способность возбуждаться импульсами, приходящими по другим афферентным путям, и включаться в дугу второго рефлекса.

Рекомендации к оформлению работы. Внесите зарегистрированные кривые в протокол опыта, объясните их. Проанализируйте полученные результаты с позиций механизма развития утомления в ЦНС. Сделайте выводы об утомляемости нервных центров.

Задача 5.

Тоническая иннервация скелетных мышц

Ход работы. Приготавливают спинальную лягушку, удаляя головной мозг методом декапитации. После прекращения спинального шока и восстановления рефлекторной деятельности спинного мозга приступают к опыту.

Лягушку подвешивают за нижнюю челюсть на крючок, укрепленный в штативе. Отмечают, что тонус и положение правой и левой задних конечностей одинаковы. Сняв лягушку со штатива, захватывают пинцетом копчиковую кость и подрезают ее крепкими ножницами вместе с кожей. На одной стороне туловища находят седалищное сплетение,

осторожно отделяют его от кровеносных сосудов и перерезают. Симметрия расположения задних конечностей нарушится. На стороне перерезки конечность будет лишена тонуса и опустится ниже конечности с сохраненной иннервацией.

Вводят в спинномозговую канал зонд, разрушают спинной мозг и наблюдают за изменениями в расположении конечностей. Симметрия расположения конечностей восстанавливается, т.к. тонуса лишилась и вторая лапка.

Из опыта следует, что нервные (моторные) центры спинного мозга обладают тонусом и непрерывно посылают к скелетным мышцам импульсы, поддерживающие известную степень их тонического напряжения.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта опишите результаты наблюдений. Сделайте выводы.

Работа 1.5.

КООРДИНАЦИЯ РЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СПИННОГО МОЗГА

Координационная деятельность спинного и головного мозга, направленная на регуляцию и адаптацию функций организма к условиям жизнедеятельности, возможна благодаря существованию сложнейших нервных механизмов, обеспечивающих взаимодействие (соподчинение и объединение) между несколькими рефлексам, одновременно и последовательно реализующимися через тот или иной отдел ЦНС. Ведущими механизмами координации рефлекторных реакций являются *принципы реципрокной иннервации, общего конечного пути, обратной связи, субординации нервных центров, доминанты*. В основе всех этих механизмов лежит согласованное формирование и взаимодействие процессов возбуждения и торможения в клетках одного или нескольких нервных центров. Одним из первых такое представление о координации рефлексов высказал И.М.Сеченов после открытия им же явления центрального торможения. В частности, он рассматривал торможение как специфическую форму нервной деятельности, при которой возбуждение нейронов в одном центре сопровождается угнетением других центров, функционально связанных с первым. Согласно современным взглядам, возникновение или прекращение рефлекторной реакции определяется соотношением уровней активности возбуждающих или тормозных синаптических входов на нейронах центра, ответственного за данный рефлекс.

В рамках лабораторного практикума по физиологии ЦНС наиболее целесообразно начинать изучение механизмов координации рефлектор-

ной деятельности спинного мозга с анализа принципа реципрокной (сопряженной) иннервации мышц-антагонистов, который является достаточно показательным и легко воспроизводится в эксперименте. Впервые этот принцип был сформулирован П.Спиро (1867), который изучал рефлекторные ответы симметричных флексорных центров задних конечностей у лягушки, а окончательное обоснование получил в опытах Н.Е.Введенского (1896) на собаках и Ч.Шеррингтона (1897) на обезьянах. Принцип реципрокной иннервации лежит в основе современных представлений о регуляции движений и состоит в том, что при осуществлении функционально однонаправленных рефлексов (например, флексорных) происходит торможение рефлекторных реакций противоположной направленности (экстензорных). Такое взаимодействие между центрами мышц-антагонистов основано на реципрокном торможении, при котором стимулы, поступающие по афферентным путям, обеспечивают возбуждение гомонимных мотонейронов и одновременно через тормозные интернейроны вызывают постсинаптическое торможение мотонейронов антагонистической мышцы (рис.1.11). При такой форме торможения происходит снижение уровня возбудимости постсинаптической мембраны нейрона за счет формирования на ней тормозных постсинаптических потенциалов (ТПСП). Благодаря реципрокно-тормозным связям между моторными центрами сгибателей и разгибателей достигаются координированность ритмических и цепных двигательных актов (ходьба, бег, чесание и т.п.), а также адекватность фазных движений, поддержание позы и равновесия.

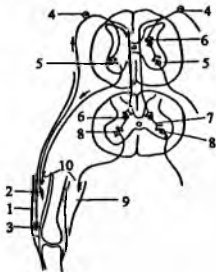


Рис. 1.11. Схема реципрокной иннервации спинным мозгом мышц-антагонистов задней конечности:

- 1 - четырехглавая мышца бедра (разгибатель);
- 2 - мышечное веретено;
- 3 - сухожильный рецептор Гольджи;
- 4 - афферентные нейроны;
- 5 - мотонейроны мышцы-разгибателя;
- 6 - тормозные интернейроны;
- 7 - возбуждающие интернейроны;
- 8 - мотонейроны мышцы-сгибателя;
- 9 - полусухожильная мышца (сгибатель);
- 10 - двигательные нервные окончания

Реципрокные отношения могут возникать не только между мышца-ми-антагонистами одной стороны, но и между мышцами-синергистами противоположных конечностей. Так, например, у лягушки раздражение малоберцового нерва правой лапки приводит к сокращению гомолатеральной полусухожильной мышцы, а через тормозной интернейрон вызывает расслабление левой полусухожильной мышцы. Однако у лягушки мотонейроны, управляющие мышцами задних конечностей, могут влиять друг на друга и возбуждающе. Есть мнение, что такая форма взаимодействия мотонейронов связана с тем, что у этого животного основным способом перемещения в пространстве является прыжок, требующий одновременного сокращения одноименных мышц обеих конечностей. Итоговый результат взаимодействия мотонейронов - торможение или возбуждение - будет зависеть от степени активности тормозных и возбуждающих синапсов и соотношения ТПСР и ВПСР на клеточной мембране. На практике в этом можно убедиться, применяя разную силу раздражения симметричных афферентных нервов (в частности, малоберцовых) и наблюдая преобладание торможения или возбуждения, а иногда двухфазный эффект в деятельности полусухожильной мышцы одной стороны.

Цель работы. На примере регистрации рефлекторных сократительных ответов трехглавой и полусухожильной мышц бедра выявить реципрокный характер взаимоотношений мышц-антагонистов. Пронаблюдать эффекты перераспределения возбуждения и торможения между двигательными центрами, управляющими обеими мышцами, на фоне раздражения различных ипси- и контралатеральных афферентных нервов.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная доска, бинты, булавки, вата, набор препаровальных инструментов, раствор Рингера для холоднокровных, тазик-почка, грузики (от 1 до 10 г), кимограф, универсальный штатив с двумя миографическими рычажками, два электростимулятора, две пары раздражающих электродов.

Задача 1.

Влияние силы раздражения афферентного нерва на характер рефлекторных ответов мышц-антагонистов

Ход работы. Эту и последующие экспериментальные задачи выполняют на спинальном препарате, т.е. лягушке с разрушенным головным мозгом. С этой целью животному на уровне сочленения черепа с позвоночником посредством остроконечного глазного скальпеля перерезают спинной мозг, а затем вводят в затылочное отверстие зонд и разрушают

головной мозг. Убедиться в полном разрушении головного мозга можно по отсутствию у лягушки дыхательных движений диафрагмы рта. Спинальное животное укладывают на препаровальную доску спинкой вверх и фиксируют туловище бинтами, а задние конечности - булавками, прикалывая их к доске. В процессе опыта регулярно смачивают кожу лягушки водой или физраствором.

На одной (например, левой) задней конечности выпрепаровывают и берут на лигатуры для регистрации сокращений полусухожильную и трехглавую мышцы бедра, а для раздражения - малоберцовый нерв. На этой же стороне отпрепаровывают и готовят для стимуляции боковой кожный нерв бедра, а на правой задней лапке - только малоберцовый нерв, которые будут использоваться в задачах 2 и 3. Погружают эти нервы в рану и прикрывают их салфетками, смоченными в физиологическом растворе. Придают левой конечности с помощью булавок полусогнутое положение и закрепляют дощечку с животным в штативе вертикально. Соединяют лигатуры, идущие вниз от дистальных концов мышц, с горизонтально расположенными миографическими рычажками. При этом устанавливают рычажки один под другим в одной вертикальной плоскости ниже нижнего края препаровальной доски и выравнивают кончики перьев. Во время опыта мышцы следует нагрузить, для чего к миографическим рычажкам подвешивают грузы. Причем груз, подвешенный к рычажку, соединенному с экстензором, должен быть примерно в 3 раза больше, чем груз, подвешенный к миографу флексора, т.е. к более тонкой и нежной полусухожильной мышце.

Укрепляют на препаровальной дощечке рядом с левой задней лапкой раздражающие электроды, соединенные с выходом стимулятора, и помещают на них левый малоберцовый нерв. Устанавливают на стимуляторе следующий режим работы: импульсный ток; длительность импульса 0,5-1,0 мс; частота импульсов 10-20 Гц; продолжительность серии импульсов 5-10 с. Необходимо помнить, что воспроизводимость эффектов раздражения зависит от функционального состояния нервных центров. Поэтому между сериями раздражений обязательно делают перерывы не менее 5-10 мин.

Начинают раздражать малоберцовый нерв сериями импульсов, ступенчато увеличивая их силу, и регистрируют рефлекторные ответы полусухожильной и трехглавой мышц на кимографе, не забывая при этом делать отметку раздражения. Обращают внимание на то, что в зависимости от силы афферентного раздражения в реакцию вовлекается только сгибатель или разгибатель, или же обе мышцы сразу. По окончании опыта прикрывают нерв ватной полоской, смоченной в растворе Рингера.

Рекомендации к оформлению работы. В протокол опыта вклейте зарегистрированные кривые, поясните и проанализируйте их. Сделайте выводы.

Задача 2.

Торможение мышцы-сгибателя при возбуждении мышцы-разгибателя (реципрокное торможение)

Ход работы. Опыт выполняют на той же лягушке, но вносят дополнение в установку. Включают в нее еще один электростимулятор, а на препаровальной доске рядом с левой же лапкой укрепляют вторую пару раздражающих электродов, соединенных с его выходом. На эти электроды помещают боковой кожный нерв бедра, прикрыв его влажной салфеткой или ватой. После этого на обоих стимуляторах устанавливают следующие параметры импульсного тока: длительность импульса 0,5-1,0 мс; частота импульсов 30-40 Гц. Продолжительность раздражения, как и в предыдущем случае, не должна превышать 5-10 с.

Сначала раздражают левый малоберцовый нерв и боковой кожный нерв бедра по отдельности и находят силу тока, достаточную для вызова рефлекторного ответа сгибателя (полусухожильная мышца) и разгибателя (трехглавая мышца) соответственно. После этого с использованием подобранных параметров тока регистрируют сокращение полусухожильной мышцы в ответ на изолированное раздражение малоберцового нерва, а затем подсоединяют раздражение бокового кожного нерва бедра, не выключая первого стимулятора. Отмечают развитие сократительной реакции трехглавой мышцы и одновременное торможение рефлекса полусухожильной мышцы. Через 1-3 с выключают второй стимулятор (первый все еще работает) и вновь наблюдают сокращение сгибателя (рис. 1.12).

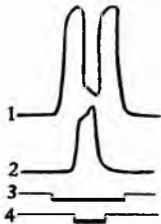


Рис. 1.12. Реципрокное торможение рефлекторных ответов сгибателя и разгибателя при раздражении их афферентных нервов (по А.А.Гуминскому с соавт., 1990):

1 - кривая сокращения полусухожильной мышцы; 2 - кривая сокращения трехглавой мышцы бедра; 3 - отметка раздражения малоберцового нерва; 4 - отметка раздражения бокового кожного нерва бедра

В ходе регистрации рефлекторных ответов мышц обязательно указывают моменты включения и выключения стимуляторов, а после опыта под миограммами вычерчивают отметку раздражения. Повторное наблюдение начинают только по истечении 10-15 мин после предыдущей стимуляции нервов.

Дополнительное задание. Торможение сгибателя можно вызвать путем возбуждения разгибателя, включающегося в реакцию с другого сегмента спинного мозга. В частности, флексорный ответ полусухожильной мышцы угнетается при включении раздражения, вызывающего рефлекс потирания, который можно вызвать электростимуляцией плечевого нерва или химическим раздражением кожи передней лапки или боковой поверхности тела той же стороны. В этих случаях, также как при раздражении бокового кожного нерва бедра, происходит возбуждение мотонейронов, иннервирующих разгибатель, и он сокращается, реципрокно тормозя сгибатель.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте в тетради схему экспериментальной установки. Вклейте зарегистрированные миограммы и сделайте пояснения к ним. Объясните механизм реципрокного торможения, представьте его в виде схемы.

Задача 3.

Эффекты контралатеральных раздражений афферентных нервов

Ход работы. Задание выполняют на той же лягушке, меняют лишь условия опыта. Поскольку в опыте будут регистрировать сокращения только полусухожильной мышцы, то лигатуру трехглавой мышцы отвязывают от миографического рычажка, а боковой кожный нерв бедра снимают с электродов. Мышцу и нерв погружают в рану и прикрывают ваткой, смоченной в растворе Рингера. Освободившуюся пару электродов переносят на другую сторону препаровальной дощечки и укрепляют рядом с правой задней конечностью. Накладывают на электроды правый малоберцовый нерв. Закрывают оба малоберцовых нерва, лежащих на электродах, влажной ваткой.

Находят пороговую силу раздражения левого малоберцового нерва, необходимую для рефлекторного сокращения гомолатеральной полусухожильной мышцы, используя следующие параметры импульсного тока: длительность импульса 1,0 мс; частота импульсов 30-40 Гц, продолжительность серии импульсов не более 5-10 с. После нахождения пороговой силы тока увеличивают ее на 2-3 деления ручкой плавной регули-

ровки и точно такие же параметры устанавливают на втором стимуляторе для раздражения правого малоберцового нерва.

Включают барабан кимографа на достаточно большую скорость и регистрируют ответы сгибателя сначала при изолированном раздражении гомолатерального афферентного нерва, а затем при одновременном раздражении малоберцовых нервов обеих сторон. Через 2-4 с прекращают раздражать правый нерв, а еще через несколько секунд выключают стимуляцию и левого нерва. На зарегистрированной миограмме видна следующая картина (рис. 1.13)



Рис. 1.13. Торможение рефлекторного ответа полусухожильной мышцы при раздражении контралатерального афферентного нерва:

1 - сокращения левой полусухожильной мышцы при раздражении левого малоберцового нерва; 2 - торможение сокращения при подключении раздражения правого малоберцового нерва; 3 - последствие; 4 - отметка раздражения левого малоберцового нерва; 5 - отметка раздражения правого малоберцового нерва

Нанесенное на фоне сокращения полусухожильной мышцы одной лапки раздражение малоберцового нерва противоположной стороны вызывает реципрокное торможение мотонейронов мышцы (амплитуда сокращения снижается). То, что это действительно торможение, а не утомление мышцы или нервных центров, подтверждается тем, что прекращение стимуляции контралатерального нерва вновь приводит к увеличению амплитуды рефлекторного ответа.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте полученные кимограммы в протокол опыта, сделайте их анализ. Зарисуйте схему, отражающую механизмы торможения сгибателя при возбуждении афферентного нерва контралатеральной половины спинного мозга.

Работа 1.6.

«СЕЧЕНОВСКОЕ» ТОРМОЖЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОВ СПИННОГО МОЗГА

В 1862 году И.М.Сеченов, измеряя методом Тюрка время сгибательного рефлекса задней конечности у таламической лягушки при наложении кристаллика поваренной соли на срез зрительного бугра, открыл явление центрального торможения. Впоследствии этот опыт получил название «опыта Сеченова», а наблюдаемое в нем торможение стали называть «сеченовским». И.М.Сеченов объяснял обнаруженный тормозный эффект существованием в таламической области головного мозга специфических тормозных центров. Согласно современным представлениям, «сеченовское» торможение двигательных рефлексов обусловлено передачей нисходящих влияний ретикулярной формации на спинальные мотонейроны и последующим вовлечением механизмов возвратного торможения, осуществляемого клетками Реншоу. В настоящее время изучение динамики алирированных (союзных) и антагонистических двигательных рефлексов в условиях «сеченовского» торможения является одним из важнейших способов анализа механизмов координации рефлекторной деятельности ЦНС.

Цель работы. Пронаблюдать явление «сеченовского» торможения спинномозговых рефлексов в условиях регистрации рефлекторных ответов мышц-антагонистов.

Объект исследования – лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная доска, препаровальные инструменты, булавки, бинты, вата, раствор Рингера для холоднокровных, поваренная соль (крупная), ампула с раствором адреналина, фильтровальная бумага, стимулятор, раздражающие электроды, универсальный штатив, установка для графической регистрации мышечных сокращений.

Ход работы. Опыт проводят на таламической лягушке. Перед приготвлением таламического препарата животное наркотизируют в 2-процентном водном растворе эфира в течение нескольких минут. После этого лягушку фиксируют спинкой кверху на препаровальной дощечке бинтами и булавками и приступают к препаровке мозга. Маленькими глазами ножницами делают небольшой поперечный разрез кожи в области носовых отверстий, а от его краев два боковых разреза назад по направлению к затылочному отверстию. Образовавшийся кожный лоскут откидывают назад. Затем вскрывают костную крышку черепа. Для этого браншу ножниц вводят в полость черепа в области обоня-

тельных долей и, постепенно расширяя трепанационное отверстие, обнажают головной мозг (рис. 1.14). При этом необходимо помнить, что при удалении костей и мышц браншу ножниц не следует заводить далеко в сторону от центральной продольной линии черепа во избежание кровотечения.

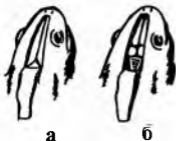


Рис. 1.14. Последовательные этапы препаровки головного мозга у лягушки:

а - отогнут кожный лоскут;
б - удалена крыша черепа

Затем малыми ножницами или глазным скальпелем делают разрез мозга в области верхней трети зрительного бугра. Удаляют большие полушария и обонятельные доли из черепной коробки (рис. 1.15). На место удаленных структур сразу же помещают маленький ватный тампон и оставляют его там на 10-15 мин, чтобы остановить возникшее кровотечение. По той же причине не следует слишком тщательно очищать основание черепа от оставшихся частиц мозга. Прикрывают мозг ватной полоской, смоченной в растворе Рингера.

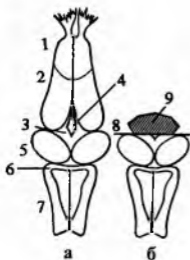


Рис. 1.15. Схема головного мозга (*а*) и «сеченовского» разреза (*б*) у лягушки:

1 - обонятельные доли; *2* - большие полушария; *3* - промежуточный мозг (зрительный бугор); *4* - третий желудочек; *5* - средний мозг; *6* - мозжечок; *7* - продолговатый мозг; *8* - линия разреза; *9* - кристалл соли

У приготовленной таламической лягушки на одной задней конечности отпрепаровывают трехглавую и полусухожильную мышцы и иннервирующие их нервы - большой или малый берцовые, как указано в работе 1.3. Дистальные концы мышц берут на лигатуры, перевязывают и отсоединяют от костей на расстояние, достаточное для миографической регистрации (примерно, на треть длины). Периферические концы нервов туго перевязывают ниткой. Дощечку с лягушкой закрепляют в штативе вертикально и подготавливают установку для регистрации сокращений (см. работу 1.5). Рядом с оперированной лапкой в дощечку вкалывают стимулирующие электроды. После восстановления функционального состояния и возбудимости нервных центров спинного мозга приступают к опыту.

Подводят под один из афферентных нервов - большой или малый берцовый - стимулирующие электроды. Раздражают нерв импульсным током (длительность импульса 0,5 мс; частота импульсов 20-30 Гц) и находят силу тока, оптимальную для развития сократительной реакции обеих мышц. Регистрируют на барабане кимографа 3 рефлекторных мышечных ответа.

Затем на промытую раствором Рингера и обсушенную фильтровальной бумагой поверхность промежуточного мозга накладывают кристаллик хлористого натрия, после чего также записывают 3 последовательных мышечных сокращения на электростимуляцию нерва прежней силы. Обращают внимание, что рефлекторные реакции мышц ослабевают или даже полностью исчезают.

Немедленно снимают кристаллик соли, промывают и просушивают мозг и снова регистрируют 3 ответа на раздражение нерва. При этом вновь развивается положительная реакция мышц. На миограмме обязательно отмечают момент наложения и снятия соли.

Повторяют наблюдения с использованием вместо хлористого натрия для раздражения промежуточного мозга фильтровальной бумаги, смоченной раствором адреналина (1:1000).

При выполнении работы учитывают тот факт, что эффект раздражения таламической области в определенной степени зависит от исходного функционального состояния спинномозговых центров. Например, у утомленного животного или в условиях отравления имеют место извращения нормальной реакции и вместо классического эффекта Сеченова может происходить взаимное подкрепление и усиление рефлексов спинного мозга.

Рекомендации к оформлению работы. Зарисуйте в протоколе опыта схему головного мозга лягушки с «сеченовским» разрезом. Вклеите полученные кривые рефлекторных ответов мышц и проанализируйте их. Объясните с учетом роли ретикулярной формации мозгового ствола механизм «сеченовского» торможения спинальных рефлексов и представьте его в виде схемы.

Работа 1.7.

ИЗМЕНЕНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНЫХ ЦЕНТРОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТРИХНИНА И ФЕНОЛА

Нервные центры спинного и головного мозга обладают высокой чувствительностью к различным химическим веществам эндогенной и экзогенной природы, точкой приложения которых являются синапсы ЦНС. Среди этих веществ есть блокаторы и активаторы секреции медиаторов, медиаторных рецепторов и систем, разрушающих медиаторы. Действуя каким-либо из указанных способов на процессы в возбуждающих или тормозных синапсах, фармакологические вещества существенно меняют (понижают или повышают) возбудимость центров вегетативных или двигательных рефлексов. В частности, к веществам, способным снимать тормозные влияния на мотонейроны спинного мозга, относятся столбнячный токсин, стрихнин. Механизм действия этих веществ сводится к прекращению химической передачи возбуждения в тормозных нейронах Реншоу за счет значительного понижения чувствительности постсинаптической мембраны к тормозному медиатору. В результате выключения влияний клеток Реншоу (возвратное торможение) происходит резкое повышение возбудимости мотонейронов. Поэтому после попадания в организм столбнячного токсина или стрихнина начинают возникать рефлекторные сокращения всей скелетной мускулатуры тела даже в ответ на очень слабые и неадекватные раздражения, которые до введения перечисленных веществ не оказывали никакого влияния на организм. При локальном воздействии стрихнина на моторные или сенсорные отделы спинного мозга происходит повышение возбудимости только в отравленных нервных центрах. В них возникает доминантное состояние, определяющее особенности иррадиации возбуждения по ЦНС в сторону отравленных спинальных сегментов.

Аналогичная картина усиления произвольных мышечных сокращений и развитие судорог наблюдается при общем отравлении фенолом или его локальном воздействии на ЦНС. Однако механизм действия фенола, вероятно, сводится к облегчению передачи в возбуждающих синапсах за счет увеличения длительности возбуждения в нервных окончаниях. Кроме того, в условиях общего отравления фенолом и его аналогами (пирокатехин, гидрохинон, резорцин) последние могут влиять на двигательную функцию и через нервно-мышечные соединения. Фенольные вещества действуют на пресинаптическом уровне, модулируя амплитуду потенциалзависимого калиевого тока и увеличивая количество медиатора, освобождаемого из нервной терминали.

Цель работы. Пронаблюдать за изменением двигательных рефлексов спинного мозга и возбудимости мотонейронов, управляющих мышцами-антагонистами, при отравлении стрихнином и фенолом.

Объект исследования - лягушки.

Материалы и оборудование: ампула раствора стрихнина (1,0 мл; 1:1000) или готовый 0,02-процентный раствор стрихнина; 0,5 и 3-процентные растворы фенола; раствор Рингера для холоднокровных; шприц; эфир и сосуд для наркоза; препаровальный набор; пробковая доска; булавки; бинты; вата; марлевые салфетки; нитки; ванночка-почка; установка для регистрации мышечных сокращений с двумя миографическими рычажками; электростимулятор; раздражающие биполярные электроды.

Задача 1.

Наблюдение за нарушением двигательного поведения лягушки при общем отравлении стрихнином

Ход работы. Под кожу живота интактной лягушки вводят с помощью шприца 1,0 мл 0,02-процентного раствора стрихнина, приготовленного на основе раствора Рингера. Для этого ампулу стрихнина (1,0 мл; 1:1000) нужно разбавить 5 мл физиологического раствора. Помещают животное на стол (можно под большой стеклянный колпак) и начинают наблюдение.

Обычно уже в первые минуты после инъекции лягушка становится более подвижной, время осуществления рефлекторных реакций у нее заметно укорачивается. Через 3-7 мин усиливается тонус мускулатуры конечностей, передние лапки поворачиваются внутрь, начинают нарушаться позные реакции и локомоция. У животного затрудняются прыжки. После каждого прыжка лягушка с трудом подтягивает вытянутые во время совершенного движения задние лапки. Эти изменения свидетельствуют о повышении возбудимости мотонейронов и нарушении реципрокных взаимоотношений между центрами сгибателей и разгибателей.

Постепенно возбудимость двигательных нейронов повышается настолько, что даже легкое прикосновение к лягушке или постукивание по столу, на котором она сидит, вызывают у нее сильные и длительные судороги всех скелетных мышц. Удлинение периода мышечной активности в ответ на слабое раздражение является результатом нарушения процессов возвратного торможения спинальных нейронов вследствие выключения тормозных интернейронов.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта опишите изменения двигательного поведения лягушки после введения стрихнина и объясните механизмы наблюдаемых нарушений. Зарисуйте схему, отражающую нарушение процессов возвратного торможения в условиях конкретного опыта. Сделайте выводы.

Задача 2.

Измерение порога возбудимости сгибательного рефлекса при общем отравлении стрихнином и фенолом

Ход работы. Готовят спинальную лягушку, укрепляют ее на пробковой пластинке спиной кверху и на одной задней конечности отпрепаровывают для регистрации полусухожильную и трехглавую мышцы, а для стимуляции - большой или малый берцовые нервы, как указано в работе 1.5.

Пластинку с лягушкой помещают в штатив вертикально, сухожилия мышц соединяют с миографами, а нерв кладут на электроды, размещенные вблизи лапки.

Несколько раз с интервалом 5 мин определяют рефлекторную возбудимость двигательных центров спинного мозга. Для этого измеряют минимальную силу тока, необходимую для вызова сгибательного рефлекса. Записывают кривые рефлекторных ответов.

После нескольких измерений, показывающих пределы колебаний рефлекторной возбудимости, лягушке вводят под кожу 1 мл 0,02-процентного раствора стрихнина. Постепенно с развитием отравления наступает повышение рефлекторной возбудимости вплоть до появления общих судорог. Измеряют величину порога рефлекторной возбудимости до появления судорог, во время судорог и в перерывах между ними. Параллельно регистрируют рефлекторные ответы мышц на кимографе.

Повторяют опыт на другой спинальной лягушке, которой после измерения исходного уровня возбудимости сгибательного рефлекса вводят подкожно 1-2 мл 3-процентного раствора фенола. Наблюдения проводят в той же последовательности.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте в протокол опыта зарегистрированные миограммы и дайте пояснения к ним. Изменения рефлекторной возбудимости в норме и при развитии стрихнинного и фенольного отравлений вычертите в виде кривых. Сделайте выводы.

Задача 3.

Наблюдение эффектов локального действия стрихнина и фенола на спинной мозг

Ход работы. Лягушку наркотизируют в 2-процентном водном растворе эфира, прикрепляют к пробковой дощечке, подкладывают под брюшко катушку и вскрывают позвоночник, как это указано в работе 1.1. Осторожно удаляют твердую мозговую оболочку и обнажают спинной мозг. Отвязывают лягушку и после прекращения шоковых явлений, вызванных операцией, приступают к опыту.

Сначала накладывают унилатерально (справа или слева) на дорсальную поверхность спинного мозга маленький кусочек фильтровальной бумаги, смоченной в 0,02-процентном растворе стрихнина. Отмечают, что вскоре после аппликации развивается резкое повышение рефлекторной возбудимости в зоне отравленных сегментов спинного мозга. В этом можно убедиться, раздражая кожу животного, например щипками пинцетом. Реакция лягушки в ответ на раздражение любого участка тела такова, как будто локально раздражают участок кожи, связанный с отравленными сегментами. В частности, при аппликации стрихнина на заднюю поверхность лямбального отдела спинного мозга в ответ на любое раздражение кожи всегда возникает обтирательный рефлекс, направленный на дерматомеры, соответствующие отравленным сегментам. Это свидетельствует о том, что все афферентные импульсы направляются в сторону очага повышенной возбудимости (сенсорная доминанта).

Промывают спинной мозг раствором Рингера и на слегка обсушенную дорсальную поверхность унилатерально апплицируют бумажку, смоченную 0,5-процентным раствором фенола. Наблюдают за реакциями на раздражение кожи. Отмечают, что после кратковременного повышения рефлекторной возбудимости на уровне отравленных сегментов происходит ее быстрое снижение.

Снова промывают спинной мозг физиологическим раствором и накладывают бумажку, смоченную стрихнином, на вентральную (переднюю) поверхность спинного мозга унилатерально. Происходит повышение возбудимости моторных центров спинного мозга в области отравления. Поэтому в ответ на раздражение, приложенное к любой части тела, в первую очередь развивается двигательная реакция мышц, иннервируемых отравленными сегментами (моторная доминанта).

Повторяют наблюдения с применением растворов фенола.

Рекомендации к оформлению работы. Опишите в протоколе опыта результаты наблюдений. Сделайте выводы о механизмах повышения возбудимости сенсорных и моторных отделов спинного мозга при локальном воздействии стрихнина и фенола.

Раздел 2.

ФИЗИОЛОГИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Работа 2.1.

РОЛЬ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОСУЩЕСТВЛЕНИИ СЛОЖНЫХ ЛОКОМОТОРНЫХ АКТОВ У ЛЯГУШКИ

С помощью методов перерезок и экстирпаций у разных классов позвоночных животных были выявлены общие черты, а также некоторые особенности в механизмах центральной регуляции мышечного тонуса. В частности, оказалось, что удаление у лягушки высшего отдела ЦНС - конечного мозга - существенно не отражается ни на позе, ни на способности животного производить сложные координированные двигательные акты. В отличие от лягушки у обезьяны и человека удаление полушарий большого мозга ведет к отчетливым расстройствам движений.

Однако бульбарные лягушки утрачивают способность поддерживать естественную для них позу сидения. Тем не менее у таких лягушек сохраняется один из выпрямительных рефлексов - рефлекс переворачивания со спинки на живот. У млекопитающих он осуществляется при обязательном участии среднего мозга.

Цель работы. Ознакомиться с методом экстирпации и проанализировать последствия удаления некоторых отделов головного мозга у лягушки.

Объект исследования - лягушки.

Материалы и оборудование: препаровальный столик; деревянный брусок размером 2×8×12 см; площадка, вращающаяся вокруг вертикальной оси; большая стеклянная воронка; тарелка; набор хирургических инструментов; нитки; раствор Рингера; таз с водой.

Ход работы. Наблюдают за естественной позой лягушки, её реакциями на болевое раздражение, способностью осуществлять сложные ло-

комоторные акты. Отмечают, что голова её ориентирована теменем вверх, голова и туловище расположены по продольной оси тела, задние лапки согнуты, передние разогнуты.

В ответ на раздражение задней лапки лягушка совершает прыжок — сложный локомоторный акт. Она способна осуществлять целенаправленные движения и самостоятельно.

Сажают лягушку на брусок, который затем медленно переводят из горизонтального положения в вертикальное и обратно. Отмечают, что в этих условиях, стремясь сохранить равновесие, лягушка переползает с одной грани бруска на другую.

Переворачивают лягушку на 180 градусов по продольной оси тела и кладут на спину. Она переворачивается и принимает нормальную позу.

Вращают лягушку с ускорением в горизонтальной плоскости. Во время вращения лягушка поворачивает голову в сторону, противоположную направлению вращения. В ту же самую сторону изгибается и её туловище.

Сажают лягушку на дощечку, которую затем быстро то опускают, то поднимают. Отмечают, что в начале подъема лягушка прижимается к плоскости опоры, а в конце его приподнимается на лапках. В начале и конце спуска наблюдаются противоположные реакции.

Делают заключение о способности лягушки осуществлять выпрямительные рефлексы, статокINETические рефлексы и сложные локомоторные акты.

Последствия двустороннего удаления конечного мозга. Туловище лягушки заворачивают в марлевую салфетку, затем надрезают кожу позади ноздрей и делают два косых боковых разреза до границы головы и туловища. Кожный лоскут откидывают вниз, под ним виден просвечивающий через кости черепа головной мозг. Маленькими ножницами осторожно, стараясь не повредить мозг, подрезают крышу черепа с обеих сторон и удаляют её.

Знакомятся с топографией отделов головного мозга (рис. 2.1). Находят конечный мозг и удаляют его, отделив скальпелем от нижележащих отделов. Кожный лоскут поднимают, края кожи подтягивают друг к другу и сшивают.

После операции лишённая конечного мозга лягушка сидит неподвижно, но через 15-30 мин её двигательная активность восстанавливается и она принимает нормальную позу. Если отвести заднюю лапку лягушки в сторону, то она подтягивает её к туловищу; на сильное болевое раздражение лапки лягушка отвечает либо прыжком, если она находится на столике, либо уплывает, если её поместить в таз с водой. Таким образом, у лишённой конечного мозга лягушки сохраняется нормальная поза и способность совершать сложные локомоторные акты.

Кроме того, у такой лягушки сохраняются выпрямительные рефлексы на угловое ускорение.

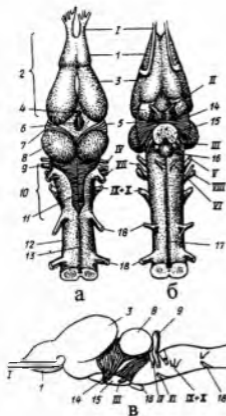


Рис. 2.1. Головной мозг лягушки с дорсальной (а), вентральной (б) и латеральной (в) поверхностями (по А.Д.Ноздрачеву, Е.Л.Полякову, 1994):

1 - обонятельные доли; 2 - конечный мозг; 3 - большие полушария; 4 - эпифиз; 5 - промежуточный мозг; 6 - третий желудочек; 7 - зрительный тракт; 8 - зрительные доли; 9 - мозжечок; 10 - продолговатый мозг; 11 - ромбовидная ямка; 12 - ствальной мозг; 13 - задняя срединная борозда; 14 - зрительный перекрест; 15 - воронка; 16 - гипофиз; 17 - передняя срединная щель; 18 - спинномозговые нервы; I-X - черепные нервы

Последствия двустороннего удаления мозжечка, среднего, промежуточного и конечного мозга. Для этого опыта используют другую лягушку. Сначала устанавливают её способность совершать перечисленные выше тонические рефлексы и сложные локомоторные акты. Затем обнажают мозг, отделяют зрительные доли и мозжечок от продолговатого мозга и удаляют их вместе с промежуточным и конечным мозгом, в результате чего у лягушки остаются только продолговатый и спинной мозг (так называемая *бульбарная лягушка*). Останавливают кровотечение ватными тампонами, прикрывают мозг лоскутом кожи и помещают

лягушку под стеклянный колпак. Через 20-30 мин повторяют описанные выше наблюдения, используя те же критерии.

Убеждаются в том, что у бульбарной лягушки поза при посадке неправильная, голова её опущена вниз, туловище прижато к плоскости опоры. Лягушка утрачивает способность совершать почти все сложные локомоторные акты, все статокинетические и почти все статические рефлексы. Она не реагирует прыжком на болевое раздражение (хотя лапки её приходят в движение), не совершает плавательных движений в воде в ответ на щипок, утрачивает способность сохранять равновесие и переползает с одной грани бруска на другую и потому падает, если брусок, на котором она сидит, перемещают из горизонтального положения в вертикальное. У бульбарной лягушки отсутствуют "лифтные" рефлексы и рефлекс противовращения. У нее сохраняется лишь один тонический выпрямительный рефлекс - рефлекс переворачивания: перевернутая на спинку лягушка, хотя и с нескольких попыток, но все же переворачивается на живот и принимает естественное положение.

Последствия удаления продолговатого мозга у бульбарной лягушки. Для работы используют бульбарную лягушку предыдущего опыта. Острым скальпелем делают разрез на уровне лопаток и отделяют продолговатый мозг от спинного: животное становится *спинальным*. Через 5-10 мин (по прошествии спинального шока) приступают к опыту.

У спинальной лягушки поза отсутствует: голова и туловище распластаны на плоскости опоры, мышцы конечностей расслаблены. Исчезает последний статический выпрямительный рефлекс: положенная на спинку лягушка больше не переворачивается. Сохраняется лишь минимальный мышечный тонус, способность отвечать на раздражение кожи туловища и конечностей простыми сегментарными рефлекторными актами - сгибанием, разгибанием, потиранием и т.п.

Рекомендации к оформлению работы. Изобразите схематически головной мозг лягушки, обозначьте его отделы и места перерезок. Опишите в протоколе результаты исследований. На основании проведенных наблюдений сделайте заключение о значении различных отделов головного мозга в регуляции мышечного тонуса и в осуществлении локомоторных актов у лягушки.

Работа 2.2.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ФУНКЦИЙ В ПРОДОЛГОВАТОМ МОЗГЕ ЛЯГУШКИ

При изучении локализации функций в ЦНС, в том числе и головном мозге, с давних пор используют методы раздражения, экстирпации, перерезок мозга на разных уровнях, отведения биоэлектрических потенциалов и т.п. Наиболее простым является метод локального электрического раздражения, применяемый как в остром, так и в хроническом экспериментах.

Цель работы. Ознакомиться с методом локального электрического раздражения продолговатого мозга и убедиться в функциональной неоднозначности различных его отделов.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование : электронный стимулятор, два электрода: пластинчатый (индифферентный) и игольчатый (активный), препаративный набор, лоток, марлевая салфетка, ватные тампоны, раствор Рингера.

Ход работы. У лягушки разрезают и удаляют кожу с поверхности черепной коробки; осторожно, стараясь не повредить мозг, вскрывают полость черепа. С помощью острого скальпеля полностью перерезают мозг по задней границе мозжечка и одновременно удаляют его вместе с кончным, промежуточным и средним мозгом. Затем подсушивают оставшийся продолговатый мозг ватными тампонами и помещают лягушку спинкой кверху на мокрую металлическую пластинку, являющуюся индифферентным электродом.

Готовят стимулятор для раздражения продолговатого мозга однократными ударами. С этой целью подбирают пороговый ток, прикладывая активный игольчатый электрод к мышцам головы. Затем приступают к опыту. Касаются игольчатым электродом различных участков продолговатого мозга. Наблюдают за характером ответной реакции животного. В переднем отделе продолговатого мозга находятся участки, раздражение которых вызывает мигание и западение глазных яблок. В среднем его отделе находят участки, раздражение которых ведет к сокращению мышц диафрагмы рта, что вызывает её перемещение вверх и вниз.

Рекомендации к оформлению работы. Нарисуйте схему установки для раздражения продолговатого мозга у лягушки. Перечислите известные сегментарные и надсегментарные центры продолговатого мозга.

Работа 2.3.

ОЦЕНКА СУБОРДИНАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

При удалении различных отделов головного мозга, либо изменении функционального состояния структур ЦНС, вызванном электростимуляцией или воздействием фармакологических препаратов, выявляются выраженные нарушения в жизнедеятельности организма. Они находят выражение не только в изменении различных форм поведения или показателей сенсорной, двигательной, вегетативных функций, но и в виде колебаний основных физиологических характеристик тканей животного.

Цель работы. В условиях острого опыта выяснить, какое влияние на возбудимость тканей оказывает удаление или изменение функционального состояния различных отделов головного мозга.

Объект исследования: кролик, кошка или крыса.

Материалы и оборудование: хронаксиметр (электростимулятор ИСЭ-01), электроды для хронаксиметрии, электростимулятор, раздражающие электроды, станок для животного, набор хирургических инструментов, физиологический раствор, растворы кофеина (1-процентный), адреналина (1:1000), прозерина (1:2000), дибазола (1:2000), наркотическое вещество.

Ход работы. Наркотизированное животное привязывают к станку брюшком вверх. Разрезают кожу на шее, обнажают сонные артерии и перевязывают их. Рану зашивают двумя-тремя кожными швами и переворачивают животное спиной кверху. Производят трепанацию черепа, удаляют твердую мозговую оболочку и обнажают кору больших полушарий справа и слева. На обеих задних конечностях отпрепаровывают четырёхглавые и полусухожильные мышцы. Предоставляют животному 30-40-минутный отдых. Измеряют порог возбудимости (реобазу) и хронаксию антагонистических мышц бедра (четырёхглавой и полусухожильной). Измерения повторяют несколько раз с 5-минутными интервалами. Устанавливают пределы колебаний этих показателей.

Исследуют динамику изменений субординационных показателей после введения лекарственных препаратов. Растворы кофеина, адреналина, прозерина, дибазола вводят по 0,5 мл подкожно. На фоне действия каждого из названных веществ в течение одного часа с интервалами по 5-10 мин измеряют величины субординационных показателей. Иссле-

дуют динамику изменений *коэффициента Бургиньона* (отношения хро-наксий задних и передних мышц конечности) под влиянием этих веществ.

После часового перерыва исследуют динамику изменений субординационных влияний ЦНС на антагонистические мышцы обеих конечностей при раздражении коры головного мозга. Эти изменения исследуют как во время раздражения коры больших полушарий, так и после него (*следовой эффект*). Затем удаляют кору больших полушарий и изучают влияние последствий этой операции на субординационные показатели и коэффициент Бургиньона антагонистических мышц обеих конечностей.

Исследуют влияние раздражения межучного мозга на субординационные показатели. Децеребрируют животное и снова исследуют субординационные показатели мышц обеих задних конечностей.

Исследуют влияние раздражения мозжечка на субординационные показатели. Удаляют мозжечок и снова измеряют субординационные показатели.

Рекомендации к оформлению работы. Полученные результаты оформите в виде таблицы и проанализируйте зависимость исследуемых показателей от характера субординационных влияний ЦНС. Вычертите кривые изменения субординационных показателей и коэффициента Бургиньона антагонистических мышц обеих конечностей животного под влиянием фармакологических веществ, а также при раздражении или экстирпации различных отделов головного мозга.

Работа 2.4.

ТАЛАМИЧЕСКОЕ ЖИВОТНОЕ. РАЗДРАЖЕНИЕ МОЗЖЕЧКА

Удаление части головного мозга или ее раздражение по-прежнему являются наиболее распространенными подходами для установления функций или для выявления связей этой структуры с другими отделами мозга, а также в исследовании взаимоотношений между головным мозгом и различными функциями организма. В результате таких воздействий обычно обнаруживаются определенные изменения двигательных, сенсорных или вегетативных функций, поведения животного и таких психофизиологических процессов как, например, обучение, память, мотивация (голод, агрессия и т.д.).

Цель работы. Выяснить значение влияний со стороны переднего мозга и мозжечка на мышечный тонус, соматические и вегетативные функции у млекопитающих животных.

Объект исследования: кролик, кошка или крыса.

Материалы и оборудование: электростимулятор, раздражающие электроды, станок для животного, набор хирургических инструментов, грелка, стеклянный колпак для наркотизации, маска, физиологический раствор, эфир.

Ход работы. Наркотизированное эфиром животное помещают в станок. Производят трепанацию черепа, удаляют твердую мозговую оболочку и обнажают кору обоих больших полушарий. Мозговой ложечкой, отправляясь от медиальной поверхности полушария, входят в полость бокового желудочка и по частям удаляют кору головного мозга правого и левого полушарий, стараясь не повредить подкорковые ядра и межполушарный мозг. Ложечку продвигают вбок кверху, не нажимая на остающиеся части головного мозга. После удаления лобной, затылочной, теменной и височной долей полушарий головного мозга в образовавшуюся полость кладут ватный или марлевый тампон и закрывают рану несколькими кожными швами. Прекращают наркоз и согревают животное.

Через час или полтора после операции приступают к наблюдениям. Отмечают характерное учащенное дыхание и наличие сложных автоматических движений, а также псевдоагрессивные реакции при болевых раздражениях.

На таламическом животном исследуют шейные и лабиринтные рефлексy, наблюдают изменение тонуса конечностей при изменении положения головы в пространстве и по отношению к туловищу. Изучают состояние вегетативной нервной системы: частоту дыхания, сердечных сокращений и т.д. Отмечают наличие пластического тонуса (животное длительно может сохранять приданную ему позу).

На этом же животном можно изучить эффекты, наступающие при раздражении мозжечка. Для этого, удаляя кости черепа и твердую мозговую оболочку, обеспечивают доступ к мозжечку. Переносными электродами раздражают различные участки червячка и полушарий мозжечка. Отмечают медленные тонические сокращения мышц на одноименной с раздражаемым полушарием мозжечка стороне тела. Отмечают вегетативные реакции, наступающие при раздражении мозжечка (изменение частоты дыхания, пульса).

Если хорошо децеребрировать животное (произвести разрез под задними холмами среднего мозга) и получить хорошо выраженную ригидность, то при раздражении мозжечка ригидность на одноименной стороне исчезает или значительно ослабляется.

Рекомендации к оформлению работы. Опишите явления, наблюдавшиеся после удаления коры больших полушарий и при раздражении мозжечка, проанализируйте полученные результаты и сформулируйте выводы.

Работа 2.5.

УДАЛЕНИЕ УЧАСТКОВ МОЗГА МЕТОДОМ ОТСОСА (АСПИРАЦИИ). ХРОНИЧЕСКОЕ ТАЛАМИЧЕСКОЕ ЖИВОТНОЕ

Метод аспирации (отсоса) можно использовать для удаления достаточно больших структур, которые доступны с поверхности головного мозга (например, мозжечок, неокортекс, гиппокамп). Для этого нужна лишь аппаратура для отсоса и стеклянные пипетки. Кривизна пипетки и ее внутренний диаметр зависят от условий удаления. Удобно использовать всасывающий насос с меняющимся давлением, хотя насос, состоящий из резиновой трубки, соединенной с краном для воды, является достаточным для аспирации мозга крысы.

Аспирационная методика может быть использована в качестве примера для получения хронической «таламической крысы», у которой удалены все структуры переднего мозга, кроме гипоталамуса и таламуса, т.е. билатерально удаляется неокортекс, гиппокамп, полосатое тело, перегородка и миндалина.

Крысы с сохраненным таламусом производят различные поведенческие акты, они могут использоваться для изучения подкоркового контроля за потреблением пищи, двигательной активности, обучения и действия фармакологических препаратов. Еще более обширные разрушения, включающие дополнительное удаление или отделение гипоталамуса и таламуса от ствола мозга, дает препарат «децеребрированная крыса».

Цель работы. Освоить аспирационную методику удаления структур головного мозга и использовать ее для получения хронической «таламической крысы». Изучить поведение животного после удаления структур переднего мозга.

Объект исследования - крыса.

Материалы и оборудование: операционный столик, набор хирургических инструментов, стеклянные пипетки, резиновые трубки, груши, гемостатическая губка, зубной акрил, наркотическое вещество, физиологический раствор.

Ход работы. Работу выполняют в стерильных условиях. Наркотируют крысу массой 300 г внутрибрюшинным введением пентобарбитала натрия (50 мг/кг) либо комбинацией пентобарбитала (например, 20 мг/кг) с ингаляционным наркозом (например, эфир). Для уменьшения выделений из носа, рта и бронхов можно использовать внутрибрюшинное введение атропина сульфата (1 мг/кг).

Готовят поверхность черепа согласно ранее данному описанию. Применение стереотаксической установки не обязательно, также как и крепление головы животного в головодержателе. С помощью трепана и щипцов продельвают большие отверстия в черепе над задней частью коры, оставляя тонкую полоску кости над сагиттальным синусом, стараясь его не повредить. Затем разрезают твердую мозговую оболочку и откидывают ее в стороны. Используя пипетку, слегка согнутую на расстоянии 4 мм от кончика с отверстием 2 мм, производят быструю аспирацию неокортекса и гиппокампа последовательно одного и другого полушарий латерально от сагиттального синуса (не следует обращать внимание на кровотечение). Затем устраняют костный мостик над синусом щипцами и производят удаление нижележащей ткани. Проводят аспирацию полосатого тела, перегородки и миндаины.

Процедура аспирации должна быть сначала отработана на выделенном мозге, на глубоко наркотизированных или мертвых животных, у которых для лучшего зрительного контроля удаляют большие участки черепа. По мере тренировки можно производить аспирацию и при меньшем открывании черепа. С приобретением опыта процедура отсоса структур мозга становится простой и ее можно осуществлять за несколько минут.

Кровотечение можно ослабить, если промывать полость черепа теплым физиологическим раствором или использовать гемостатическую губку. Если откинута твердая оболочка сохранилась, ее расправляют над оставшейся частью ткани мозга. Когда кровотечение остановлено, заполняют пустые части черепа кусочками гемостатической губки. Вводят крысе внутрибрюшинно 5 мл физиологического раствора, чтобы компенсировать потерю жидкости. Рану закрывают. Это можно сделать, зашив кожу или просто покрыв оголенный череп зубным акрилом. Вата или губка, покрывающие мозг, не дадут акрилу проникнуть в углубление. Внутрибрюшинно вводят еще 5 мл физиологического раствора.

В течение первых двух дней после операции животных можно кормить 20-процентным раствором глюкозы внутривенно через трубку и введением изотонического физиологического раствора внутрибрюшинно. Кормление осуществляют при помощи шприца объемом 10 мл, соединенного с мягкой пластмассовой или резиновой трубкой, которую медленно погружают в горло крысы во время глотательных движений. Через двое суток продолжают кормление, используя какую-либо жидкую пищу.

На оперированном животном проводят соответствующие наблюдения.

Двигательная активность. Если используется эфир или другой быстро действующий наркотик, то некоторые животные становятся очень активными уже через несколько минут после операции. У других жи-

вотных уровень активности медленно нарастает в течение нескольких дней. У животных наблюдается интересная форма активности, состоящая из коротких циклов (10-60 мин) отдыха и активности.

Регуляция температуры. Оперированные животные являются частично пойкилотермными, т.е. они не регулируют температуру тела, как нормальные животные, что отчасти зависит от объема повреждения преоптической области. Обнаружено, что комнатная температура (20-30°C) является адекватной для оперированных животных. Температура тела у них поддерживается в диапазоне от 37 до 41°C, и животные чаще погибают от гипертермии, чем от гипотермии.

Поведенческие акты. Таламические крысы могут ходить, сидеть и подниматься на задние лапы, а также часто настойчиво пытаются влезть на стенку. Некоторые животные непременно грызут какой-либо предмет. Животные реагируют на акустические и болевые стимулы. Есть данные, свидетельствующие о том, что у таких крыс можно выработать инструментальные условные рефлексы. Животные лакают воду, жуют и глотают пищу, помещенную в рот, но для того, чтобы они выжили, их необходимо кормить через трубку.

Дополнительную информацию можно получить, используя различные нейрофизиологические тесты. Определяют также сенсорные способности (например, реакции на слуховые, зрительные, тактильные, термические и болевые стимулы). Исследуют изменения рефлексов «таламической крысы» и поведенческие акты во времени (восстановление функций).

Можно модифицировать препарат, оставив неповрежденными некоторые структуры (например, комплекс перегородки, миндалину, хвостатое ядро).

Можно попробовать получить хронический децеребрированный препарат, произведя шпателем отделение гипоталамуса и таламуса от ствола мозга.

Можно удалить аспирицией мозжечок и изучить поведенческие акты такого животного, используя различные тесты.

Рекомендации к оформлению работы. Подробно опишите в протоколе результаты проводимых в различных условиях наблюдений за поведением животного и сделайте соответствующие выводы о роли подкоркового контроля в жизнедеятельности организма. Дайте объяснение полученным результатам.

ИЗУЧЕНИЕ ТОПИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ

Кора больших полушарий представляет собой филогенетически наиболее молодой и вместе с тем самый сложный отдел головного мозга. Особенности структурно-функциональной организации коры связаны с тем, что в эволюции происходила *корттиколизация* функций ЦНС, т.е. передача ей функций нижележащих мозговых структур. В этом высшем отделе головного мозга в ходе прогрессивного развития сложились механизмы обработки сенсорной информации, формирования двигательных команд и интеграции сложных форм поведения организма.

Кора больших полушарий характеризуется различной структурной организацией и функциональной специализацией ее областей. Степень локальности и специализации корковых структур возрастала в эволюции. Если у крысы обнаружались их диффузность, широкая взаимозаменяемость, что дало основание для концепции «эквивалентности» (К.Лешли, 1929), то у собаки, а тем более у обезьяны зрительные, слуховые, осязательные и другие проекционные поля оказались более четко определенными и специализированными.

Хорошо изучены специфические проекционные сенсорные и моторные системы коры у высших животных и человека. Несмотря на обширные внутрикоровые связи, удается достаточно четко определить моторные (мотосенсорные) области в коре больших полушарий, используя для этого методику раздражения отдельных ее зон. Важнейшая двигательная область коры у человека локализована в передней центральной извилине (поля 4 и 6 по Бродману). Слабое электрическое раздражение конкретных точек прецентральной извилины вызывает сокращение определенных групп мышц на противоположной стороне тела.

В 30-х гг. текущего столетия У.Пенфилд на основе результатов, полученных во время нейрохирургических операций, установил наличие *правильной пространственной проекции соматических мышц* различных отделов тела на двигательную область коры. В дальнейшем на медиальной поверхности полушария рядом с этой первичной моторной областью была обнаружена еще одна - вторичная двигательная зона. В связи с тем, что эти области помимо моторного выхода из коры имеют самостоятельные сенсорные входы от кожных и мышечных рецепторов, они были названы *первичной и вторичной мотосенсорной корой* (McI и McII).

Последующие экспериментальные исследования показали, что в лежащей позади роландовой борозды постцентральной извилине (поля 1,

2, 3) находится *первая соматосенсорная (сенсомоторная) область*, куда через специфические ядра таламуса приходят афферентные проекции от рецепторов кожи и двигательного аппарата. Так же как и в двигательной коре, эти проекции имеют соматотопическую организацию.

Кроме первой соматосенсорной области у хищников и приматов обнаружена *вторая соматосенсорная область*, локализованная вентральнее в районе силвиевой борозды. Оказалось, что первая и вторая соматосенсорные области кроме афферентных входов содержат моторные выходы и, следовательно, их правильнее называть *первичной и вторичной сенсомоторными зонами* (СмI и СмII).

Следовательно, в коре имеются *четыре чувствительные области* (СмI, СмII, МсI и МсII), перечисленные в порядке убывания их значимости. Равным образом в коре существуют *четыре двигательные области* (МсI, МсII, СмI и СмII), причем ведущая роль в этом ряду принадлежит *первичной мотосенсорной коре*.

Знание топографии моторной и сенсомоторной зон имеет большое значение в клинической практике в связи с лечением, прогнозированием и предупреждением расстройств при сосудистых нарушениях в коре.

Приступая к выполнению задания, следует вначале познакомиться с анатомией головного мозга экспериментального животного по книгам А.Д.Ноздрачева (1973) и М.М.Курепиной (1981), а также с морфофизиологическим обоснованием к работе, которое подробно дано С.А.Чепурновым с соавторами (1978).

Цель работы. Используя точечные электроды для электрического раздражения, составить схематическую карту представительства отдельных групп мышц в двигательной области коры больших полушарий.

Объект исследования - кошка или крыса.

Материалы и оборудование: электростимулятор, раздражающие электроды, станок для животного, стеклянный колпак, маска, набор хирургических инструментов, 2-процентный раствор новокаина, раствор Рингера, эфир.

Ход работы. Для наркотизации животное помещают под стеклянный колпак, куда положен ватный тампон, хорошо смоченный эфиром. Тщательно следят за поведением животного, отмечая стадии наркоза. О необходимой глубине наркотического сна судят по отсутствию мигательного рефлекса. После укрепления животного в станке продолжают наркотизацию эфиром через маску.

На дорсальной части головы удаляют шерсть с залобно-теменной области. Затем скальпелем делают два перпендикулярных разреза кожи: один по сагиттальной линии, другой — по верхней границе ушей. Каждый лоскут кожи берут пинцетом за свободный угол и, постепенно отслаивая от подлежащих тканей, откидывают вниз. Затем отделяют

мышцы от места прикрепления их к костям черепа. Поскольку эта операция протекает довольно болезненно, ее надо проводить при дополнительной местной анестезии. Для этого мышцы, по мере их отслоения от костей черепа, периодически смачивают раствором новокаина. Кости черепа очищают от надкостницы с помощью шпателя.

При проведении работы на крысе намечают трепанационное отверстие в соответствии со следующими границами: передняя граница — задний край зрачка; задняя — параллельно ламбдовидному шву (на 1-1,5 мм орально); латеральная граница проходит на 1,5-2 мм ниже верхнего наружного края черепа. Толщина костей черепа колеблется от 0,8 до 1,2 мм. После нанесения насечек зубным бором кость выкусывают щипцами, стараясь не повредить мозг. После удаления костной пластинки хирургической иглой приподнимают твердую мозговую оболочку и, не касаясь мозга, вскрывают ее глазными ножницами. При этом может возникнуть диффузное кровотечение, которое останавливают, прикасаясь к поверхности мозга марлевой салфеткой, смоченной горячим раствором Рингера.

Прежде чем начать раздражение коры, следует уменьшить подачу эфира и освободить конечности животного. В протоколе делают рисунок раскрытого участка больших полушарий.

Рекомендуется периодически смачивать кору теплым раствором Рингера. Перед раздражением необходимо удалить сгустки крови и раствор Рингера из области, на которой помещаются раздражающие электроды, чтобы избежать закорачивания или затекания петель раздражающего тока.

При раздражении моторной области используют стимулятор типа ЭСЛ. Частота раздражающих стимулов 10-20 имп/с, продолжительность стимула 0,5 мс. Сила раздражения подбирается экспериментально.

Не следует злоупотреблять сильными и длительными раздражениями, после которых наблюдается общее движение судорожного характера. Длительность раздражения каждой точки коры не должна превышать 1-2 с; это даст возможность избежать иррадиации возбуждения и судорожных реакций.

Меняя местоположение раздражающих электродов, находят точки двигательной области коры, раздражение которых приводит к движению передних и задних конечностей, головы, хвоста, век, глаз, челюстей, отдельных мышц конечностей. Нанося эти точки на схему, получают карту представительства различных групп мышц в двигательной области.

Рекомендации к оформлению работы. Сопоставьте данные, полученные в нескольких группах, и составьте общую карту двигательной области коры у исследуемого животного. При обсуждении результатов

следует учитывать, что при кортикальном раздражении одного полушария можно зарегистрировать движения, требующие участия симметричной области второго полушария (например, опускание нижней челюсти), или движения, связанные с антагонистическими реакциями (боковые движения глаз), или нейтральные движения, получаемые только при раздражении коры одного полушария (движения пальцев).

Работа 2.7.

РЕГИСТРАЦИЯ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ В ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Электрофизиологические исследования головного мозга и электрические характеристики его коры имеют очень большое значение при изучении работы мозга.

Кора больших полушарий является источником ритмических потенциалов с амплитудой от десятков до сотен микровольт и характерной частотой. Регистрацию биоэлектрической активности от поверхности головы через кожу и кости черепа или с помощью подкожно введенных игл называют *электроэнцефалографией (ЭЭГ)*. Регистрацию потенциалов с помощью электродов, которые вводят в глубь коры или располагают на её поверхности, называют *электрокортикалографией (ЭКоГ)*.

ЭКоГ можно получать либо путем регистрации с обнаженных участков мозга после обширной краниотомии, либо отведением активности от поверхности коры через небольшие отверстия, сделанные трепаном.

Зарегистрировать потенциалы можно с помощью правильно размещенных электродов путем биполярного или униполярного отведения. Активность, регистрируемая с поверхности коры головного мозга, представляет собой сумму потенциалов, возникающих в ганглиозных клетках, дендритах и аксонах. Их амплитуда определяется расстоянием электродов от активного участка, сопротивлением тканей и расположением индифферентного электрода. Для расположения последнего используют кости черепа, мочки ушей, поврежденные участки мозга и т.д. (Заземлять объект следует через индифферентный электрод.)

При униполярном отведении регистрируют потенциалы под отдельными электродами по отношению к общему индифферентному (неактивному) электроду. Предполагается, что при этом регистрируют потенциалы участка под активным электродом.

При биполярном отведении разность потенциалов регистрируют между двумя электродами, расположенными сравнительно близко друг от друга. Чем ближе расположены электроды, тем меньше участок, от которого регистрируют потенциалы, и тем надежнее локализуются ограниченные источники потенциалов. Имеет место следующая закономерность: при равных расстояниях между электродами биполярная продольная регистрация дает волны большей амплитуды, чем поперечная биполярная регистрация. Дело в том, что при соединении симметричных точек возникает меньшая разность потенциалов, так как потенциалы этих точек в какой-то степени синхронизованы. Вместе с тем, как правило, регистрацию ЭЭГ (ЭКоГ) осуществляют униполярно, поскольку при биполярном способе иногда вообще не удается зарегистрировать электрическую активность из-за отсутствия разности потенциалов между однозначно возбужденными участками коры больших полушарий. Кроме того, трактовка результатов, получаемых при биполярной регистрации электрических полей, обычно сложнее, чем при монополярном отведении.

Форма ЭЭГ и ЭКоГ зависит от способа и методики регистрации, но главным образом от функционального состояния животного. ЭЭГ и ЭКоГ у ненаркотизированного животного выражают основные состояния корковой активности - торможение (сон) и возбуждение (бодрствование) и в основных чертах одинаковы у разных видов млекопитающих.

Во время наркоза в записи электрической активности возникают характерные изменения. Они соответствуют различной глубине наркоза, которая определяется по рефлексам. По проявлению начальных изменений различается действие барбитуратов и эфира. Действие барбитуратов характеризуется синхронизацией и повышением амплитуды потенциалов коры головного мозга. Эфир, наоборот, вызывает десинхронизацию ЭЭГ (ЭКоГ) и уменьшение её амплитуды. Это указывает на то, что наркоз не является результатом простого подавления процессов обмена в мозгу, а обусловлен различным характером действия наркотических препаратов на разные отделы ЦНС, находящиеся в сложных взаимоотношениях друг с другом.

На стадии умеренного наркоза (животное все еще можно разбудить, раздражая рецепторные образования) регистрируется ЭКоГ, характерная для сна, которая, в случае применения барбитуратов, переходит в разряды большой амплитуды, синхронизированные по всей коре - так называемые *веретёна*. Эти разряды чередуются с периодами низкой асинхронной активности. По мере усиления действия наркотических препаратов начинает преобладать нерегулярная синхронизованная высоковольтная активность. Частота этой активности становится все

меньше, пока, наконец, отдельные высоковольтные волны или короткие серии таких волн не уступают место длительным периодам покоя (выключение). При максимальной глубине наркоза электрическая активность исчезает полностью и регистрируется непрерывная изопотенциальная линия. На этой стадии наркоза дыхание заметно замедляется, но остается правильным и глубоким.

Цель работы. Освоить методику регистрации спонтанной электрической активности коры головного мозга. Пронаблюдать характер изменения ЭКоГ в зависимости от глубины эфирного или барбитуратного наркоза. Исследовать влияние стрихнина на активность корковых нейронов.

Объект исследования - крыса.

Материалы и оборудование: электроэнцефалограф или электронно-лучевой осциллограф с усилителем биопотенциалов, столик для животного со стереотаксическим головодержателем, отводящие электроды, набор хирургических инструментов, грелка, нембутал или эфир, 1-процентный раствор стрихнина, новокаин, раствор Рингера.

Ход работы. Опыт проводят в экранированной камере, которая предотвращает появление артефактов, обусловленных внешними причинами. Наркотизированное животное фиксируют на столике. После инъекции новокаина производят разрез мягких тканей головы по средней линии, начиная от точки, расположенной на 1 см выше линии, соединяющей верхние края глазниц, до уровня наружного слухового прохода. Кожу оттягивают по возможности дальше в стороны. Освобождают кости черепа в лобной и теменной областях от кожи и мягких тканей. Удаляют надкостницу и кости черепа над этими областями мозга. Не повреждая вещества мозга, снимают твердую мозговую оболочку. Обязательным условием для получения хорошего отведения является жесткое крепление головы с помощью специального держателя. Электрофизиологические эксперименты, которые проводят в условиях обнаженной поверхности коры головного мозга, требуют постоянного её увлажнения и термостатирования, поскольку колебания температуры и подсыхание коры приводят к резким изменениям её биоэлектрической активности. В этой связи следует орошать обнаженную кору больших полушарий подогретым физиологическим раствором. Для поддержания постоянной температуры тела животное обогревают на термостоліке стереотаксиса или с помощью грелки.

На поверхности обнаженного мозга устанавливают отводящие пружинящие электроды из серебряной или платиновой проволоки толщиной около 0,1-0,3 мм с петлей или шариком на конце для предотвращения травмирования коры больших полушарий. Количество электродов определяется числом каналов в электроэнцефалографе. Индифферентный

электрод, представляющий собой стальную иглу, вводят в лобную кость по средней линии, т.к. эта область имеет минимальную наведенную активность и считается практически индифферентной. В зависимости от числа каналов электроэнцефалографа одновременно или последовательно производят ряд отведений. Для каждой пары электродов активность регистрируют в течение нескольких минут при скорости 1,5 или 3 см/с.

Работу продолжают в условиях моделирования фокальной эпилепсии. Для этого на участок мозга около одного из электродов помещают кусочек фильтровальной бумаги, смоченной раствором стрихнина.

В опытах активность нейрональных элементов коры головного мозга значительно повышается в те периоды, когда в ЭКоГ регистрируются спонтанные вспышки веретеной активности. При аппликации раствора стрихнина на поверхность коры через 20-30 с наблюдают появление типичных стрихнинных спайков, возникновение которых совпадает с моментом развития спонтанных веретен. Стрихнинные спайки регистрируются не только в месте нахождения стрихнина, но и в соседних областях, а также в симметричной области противоположного полушария.

Перерезают мозолистое тело, не повреждая сосудов, и наблюдают исчезновение стрихнинных эпилептиформных спайков на противоположном от аппликации полушарии головного мозга.

Рекомендации к оформлению работы. Проанализируйте полученную запись биоэлектрической активности коры головного мозга. Выберите и вклейте в протокол участки ЭКоГ, характеризующие постепенное углубление барбитуратного или эфирного наркоза. Сопоставьте фрагменты ЭКоГ животного до и после аппликации раствора стрихнина. Проанализируйте на записи веретенную активность, измерив частоту, длительность, амплитуду, полярность отдельных потенциалов.

Работа 2.8.

РЕГИСТРАЦИЯ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Вызванными потенциалами (ВП) называют биоэлектрическую активность, которая возникает в определенных областях коры больших полушарий при раздражении рецепторов, афферентных нервов, различных подкорковых структур, а также самой коры.

При регистрации от поверхности мозга в норме не находят отражения большое число асинхронных потенциалов действия, поступающих непрерывно к тому или иному участку коры (например, от глаза к зри-

тельной зоне), поскольку они взаимно уничтожаются и маскируются электрической активностью других нейронов. К иным результатам приводят сравнительно сильные и непродолжительные раздражения периферических структур. Эти воздействия вызывают синхронизированные залпы импульсов в большом числе волокон афферентных систем. Эти импульсы почти одновременно по специфическим трактам поступают в ограниченный участок коры и вызывают синхронные изменения полярности мембраны в большой группе корковых клеток и их отростков. При этом возникают характерные электрические потенциалы, которые легко выявляются на основном фоне спонтанной ЭЭГ- активности. Их локализация позволяет электрофизиологическим методом определить точные границы проекции различных анализаторов в коре (рис. 2.2).

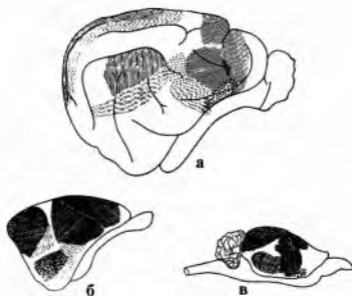


Рис. 2.2. Карты проекционных зон коры головного мозга: а - у кошки, б - у кролика и в - у крысы (по Я.Бурешу с соавт., 1962):

горизонтальная штриховка - зрительная зона; вертикальная штриховка - слуховая зона; наклонная штриховка (справа сверху - вниз налево) - соматическая зона; наклонная штриховка (слева сверху - вниз направо) - двигательная зона; крестики - вестибулярная зона; точки - вкусовая зона. Прерывистая штриховка обозначает соответствующие вторичные и третичные проекционные зоны

Конфигурация ВП, степень распространенности, амплитуда и длительность различных фаз зависят от места расположения стимулирующих электродов, характера раздражающего тока, состояния препарата, вида и уровня наркоза и т.д.

На фоне спонтанной биоэлектрической активности в коре головного мозга при периферических воздействиях с наименьшим латентным периодом возникает *первичный ответ (ПО)* — особая электрическая реакция, генерируемая в проекционных корковых зонах соответствующих анализаторов. В ответ на одиночное адекватное раздражение соответствующих рецепторов (звук, свет, прикосновение и т.д.) или при стимуляции соответствующего чувствительного нерва в корковых зонах через 10-12 мс генерируется положительное колебание потенциала длительностью около 7-15 мс, за которым следует отрицательный потенциал продолжительностью 15-40 мс. ПО регистрируется в границах корковой области того или иного анализатора, т.к. его проводящие пути и центральная проекция имеют строгую топическую организацию.

Кроме ПО могут возникнуть дополнительные электрические реакции — *вторичные ответы (ВО)*, амплитуда которых в несколько раз больше, а латентный период равен 50-100 мсек. По форме вторичный ответ похож на первичный, но его положительная и отрицательная компоненты растянуты примерно на 50 мс. Большой латентный период указывает на сложную полисинаптическую природу ВО. В противоположность первичным ответам ВО не ограничены специфической зоной проекции. Их можно регистрировать практически по всей поверхности обнаженного полушария, правда их форма в различных участках коры неодинакова. Следовательно, ВО распределены диффузно по всей коре независимо от природы вызывающего их раздражения.

При проведении работы целесообразно применять сравнительно глубокий барбитуратный наркоз, чтобы убедиться в том, насколько спонтанная активность мозговых структур при таком наркозе подавляется быстрее, чем ВП, которые на фоне угнетения ЭЭГ проявляются более отчетливо.

Цель работы. Освоить технику отведения ВП от коры больших полушарий головного мозга. Определить расположение на поверхности коры зоны кожно-мышечной (общей соматической) чувствительности при стимуляции седалищного нерва.

Объект исследования - крыса или кошка.

Материалы и оборудование: энцефалограф или катодный осциллограф и усилитель переменного тока, электростимулятор, электроды для раздражения седалищного нерва, электроды для отведения ВП, зажим для заземления животного, стереотаксический прибор или столик со стереотаксическим головодержателем для крысы, набор хирургических инструментов, нембутал, новокаин, раствор Рингера.

Ход работы. Крысу, наркотизированную внутривенно раствором нембутала, препаруют так же, как описано в предыдущей работе. Дополнительно обнажают всю боковую поверхность височной кости. Производят трепанацию черепа. Отпрепаровывают оба седлищных нерва в области бедер на протяжении 2 см. Крысу фиксируют на столике, а голову укрепляют в держателе. После окончания операции по трепанации черепа и препаровки седлищных нервов делают перерыв на 15-20 мин.

Под один из седлищных нервов подводят погрязные электроды, укрепленные в корпусе, защищающем окружающие ткани от раздражения. Электроды изготавливаются из серебряной проволоки толщиной 1,5 мм; межэлектродное расстояние равно 3-4 мм.

Для регистрации ВП используют электроды, изготовленные из серебряных проволочек с шариками на концах. Индифферентный игольчатый электрод втыкают в лобную кость над передним краем обонятельных луковиц на глубину около 3 мм. Регистрацию ВП при раздражении седлищного нерва производят в разных точках сенсомоторной области. Можно, например, для локализации проекционной зоны правого седлищного нерва использовать расположение отводящих электродов, соответствующее схеме на рис. 2.3.

Сначала производят контрольные записи. Затем раздражают седлищный нерв одиночными или ритмическими импульсами тока и регистрируют ПО. Сила раздражения седлищного нерва должна быть достаточной, чтобы вызвать слабое подергивание конечности.

Чтобы снизить величину артефакта во время раздражения нерва, животное заземляют. Для этого лучше всего использовать зажим, укрепленный в разрезе кожи бедра над раздражающими электродами.

Перемещая отводящие электроды, находят участки, в которых регистрируется максимальная амплитуда положительных волн в соответствии с максимальной афферентной проекцией в коре больших полушарий. Примером характерного распределения ответов на раздражение седлищного нерва в различных участках коры головного мозга крысы служат записи электрической активности, представленные на рис. 2.3.

Как правило, для получения ВО необходимо применять более сильное раздражение. Одновременное раздражение обоих седлищных нервов приводит к заметному увеличению ВО, амплитуда которого часто возрастает в несколько раз по сравнению с ответом на раздражение каждого нерва в отдельности.

Рекомендации к оформлению работы. На зарисованной в протоколе схеме поверхности коры больших полушарий отметьте расположение отводящих электродов. Зарегистрированные записи вклейте в протокол. Проанализируйте полученные записи. Определите фокус максимальной амплитуды ВП.

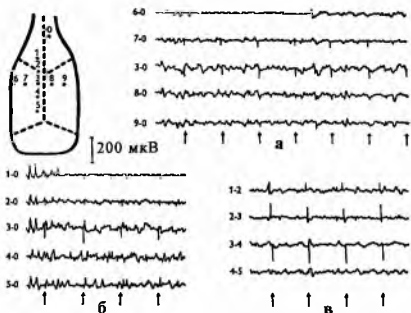


Рис. 2.3. Локализация первичной проекционной зоны правого седлищного нерва у крысы при монополярной (а, б) и биполярной (в) регистрации ЭКОГ (по Я.Бурету с соавт., 1962):

стрелки соответствуют моментам электрического раздражения седлищного нерва одиночными импульсами, которые даются повторно каждую секунду. Отклонение вниз при монополярной регистрации соответствует положительному потенциалу на активном электроде

Работа 2.9.

ОТВЕТЫ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ПРЯМОЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЕ РАЗДРАЖЕНИЕ

Раздражение обнаженной поверхности коры электрическими стимулами небольшой длительности (до 1 мс) приводит к возникновению биоэлектрических потенциалов, которые могут быть зарегистрированы на незначительном расстоянии от раздражающего электрода. Характер отдельных фаз ответа, их амплитуда, длительность зависят от интенсивности раздражающего стимула, а также от уровня наркоза. Не

меньшее значение имеет выбор участка поверхности коры, что легко объяснить морфофизиологической спецификой отдельных её зон (рис. 2.4).

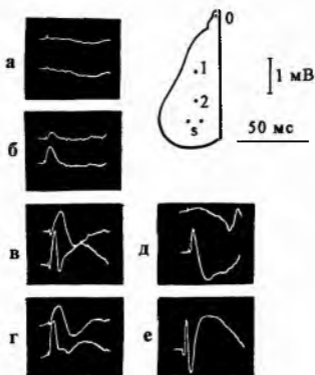


Рис. 2.4. Ответы коры на прямое электрическое раздражение у крысы в состоянии диалогового наркоза (по Я. Бурешу с соавт., 1962):

а, б, в, г - ответы у проксимальных и дистальных электродов при постепенном повышении силы раздражения (s - расположение стимулирующих электродов); д - через 5 мин после приложения между электродами 1 и 2 кусочка фильтровальной бумаги, смоченной 5-процентным новокаином; е - через 5 мин после приложения между электродами 1 и 2 кусочка фильтровальной бумаги, смоченной 1-процентным раствором стрихнина (регистрация от более дистального электрода). Верхняя кривая - 0-1; нижняя - 0-2. Отклонение вверх соответствует отрицательному потенциалу на активном электроде. Калибровка - 50 мс для а-д и 100 мс для е

Для обозначения вызванных потенциалов, регистрируемых на поверхности коры в непосредственной близости от раздражающего элек-

трода, приспосабливают несколько терминов: дендритный потенциал, прямой корковый ответ, локальный ответ, поверхностный ответ и т.д. Однако прямой корковый ответ (ПКО) является наиболее распространенным названием для такого рода вызванных потенциалов. Изучение механизма генеза ПКО дает ценную информацию об электрофизиологических характеристиках коры головного мозга, ПКО регистрируют вокруг электрода на площади около 2 см². По мере перемещения отводящего электрода к периферии ПКО изменяется по длительности, амплитуде и латентному периоду.

Потенциалы, возникающие в коре при стимуляции её поверхности, обусловлены деятельностью корковых нейрональных элементов. Характер ПКО не меняется при перемене полюса раздражающего стимула. Полное угнетение ПКО наступает при глубоком наркозе, а также через несколько десятков секунд после остановки сердца или при замене вдыхаемого воздуха чистым азотом. Аналогичное действие оказывает охлаждение корковой поверхности под отводящим электродом и, наоборот, усиление потенциала происходит при локальной аппликации слабого раствора стрихнина. При раздражении поверхности коры возбуждение может охватить не только поверхностно расположенные нейрональные элементы, но и тела звездчатых и пирамидных нейронов, а также их аксоны, проходящие в молекулярном слое коры больших полушарий. При повышении интенсивности раздражающего тока вслед за отрицательной фазой развивается положительный потенциал ПКО. Длительность этой фазы варьируется от 30 до 100 мс, что обусловлено деполяризацией глубоко расположенных элементов коры и последующими процессами синаптического электрогенеза в сетях нейрональных элементов коры. Отрицательная фаза ПКО генерируется в поверхностных слоях коры, в области апикальных дендритов. Возникновение ПКО связано с развитием как деполяризационных, так и гиперполяризационных постсинаптических потенциалов апикальных дендритов. Влияние различных синаптоактивных веществ на генез ПКО подтверждает его постсинаптическое происхождение.

Цель работы. Освоить методику воспроизведения ПКО на электрическое раздражение коры. Познакомиться с основными характеристиками ПКО.

Объект исследования - кошка или крыса.

Материалы и оборудование: катодный осциллограф с фотооптическим регистратором, усилитель переменного тока, электростимулятор, электроды для раздражения коры, электроды для регистрации ПКО, стереотаксический прибор или столик со стереотаксическим головодержателем для крысы, набор хирургических инструментов, нембутал, раствор Рингера.

Ход работы. Подготовку животного проводят так же, как в работе 2.7. Для раздражения поверхности коры применяют биполярные серебряные электроды. Толщина проволоки не должна превышать 0,15-0,20 мм, а расстояние между электродами - 0,20 мм. Раздражение коры наиболее рационально осуществлять от стимулятора редкими одиночными импульсами тока напряжением от 0,1 до 20 В. Расстояние между отводящими и раздражающими электродами устанавливают равное 3 мм. Начинают работу с минимальной амплитудой (0,1 В) и длительностью (0,1 мс) раздражающих стимулов. Увеличивая амплитуду раздражающего тока, определяют пороговую величину стимула при неизменной длительности. В дальнейшем регистрируют изменения конфигурации ПКО при увеличении силы стимула. Устанавливают амплитуду раздражающего тока, втрое превышающую пороговую, увеличивают длительность раздражающего стимула и наблюдают характер прямого коркового ответа.

Зарегистрировав ПКО и установив максимальную амплитуду и длительность стимула (дальнейшее увеличение приводит лишь к увеличению артефакта от раздражающего тока), начинают перемещать отводящий электрод, постепенно увеличивая расстояние между ним и раздражающим электродом. Вновь приближают отводящий электрод к раздражающему. Убеждаются в том, что амплитуда ПКО зависит от расстояния между электродами.

Рекомендации к оформлению работы. Результаты наблюдений занесите в протокол. Зарисуйте схему установки. Если невозможно провести фоторегистрацию, тщательно зарисуйте конфигурацию ПКО с экрана осциллографа. Опишите изменения основных параметров регистрируемых ВП в зависимости от параметров раздражающего стимула, а также от положения раздражающего и отводящего электродов.

Работа 2.10.

ЯВЛЕНИЕ ДЕЦЕРЕБРАЦИОННОЙ РИГИДНОСТИ. ШЕЙНЫЕ И ЛАБИРИНТНЫЕ РЕФЛЕКСЫ

Наряду с приемами микрокоагуляции и микрораздражения различных областей мозга перерезки на разных уровнях ЦНС позволяют изучить отдельные структуры головного мозга и целые системы мозговых образований, давая возможность выявить взаимосвязи различных отделов мозга. К числу наиболее известных перерезок мозга относится *интерколликкулярная перерезка*, т.е. пересечение на уровне среднего мозга (между буграми четверохолмия), позволяющая продемонстрировать

закономерности регуляции позы. Следствием интерколликкулярной перерезки является развитие *децеребрационной ригидности*, в результате которой у животного не сгибаются конечности и хвост, голова запрокидывается назад (опистотонус). Проявление ригидности у разных животных различно и может выражаться в усилении как экстензорного, так и флексорного тонуса в связи с особенностями настройки центральных механизмов, с экологическими и другими признаками. Для большинства животных — это усиление активности антигравитационной мускулатуры.

Экспериментально доказано, что *децеребрационная ригидность* является рефлекторным процессом и поддерживается импульсами из ряда источников.

Решающую роль в генезе ригидности играют связи красного ядра. В результате пересечения среднего мозга между буграми четверохолмия устраняются тормозные посылки со стороны красного ядра, в связи с чем соотношение различных нисходящих влияний, участвующих в интеграции супраспинальной регуляции тонуса, нарушается.

Цель работы. Освоить операцию по интерколликкулярной перерезке, приводящей к *децеребрационной ригидности*. Показать шейные и лабиринтные рефлексы по Магнусу на ригидном животном.

Объект исследования - кошка.

Материалы и оборудование: станок для животного, стеклянный колпак, маска, набор хирургических инструментов, 2-процентный раствор новокаина, раствор Рингера, эфир.

Ход работы. Работу выполняют на животном, наркотизированном эфиром. Для доступа к поверхности мозга проводят трепанацию черепа, вскрывая теменные кости с обеих сторон от тенториума. Перед операцией *децеребрации*, т.е. самой перерезки, необходимо усилить эфирный наркоз. Освобождают конечности животного.

Вводят шпатель или глазной скальпель за большие полушария головного мозга, скользя по тенториуму (рис. 2.5).

Осторожно надавливают шпателем на мозг у конца тенториума. Если при этом наблюдается вздрагивание конечностей, значит инструмент ориентирован правильно. Переводят шпатель в положение, перпендикулярное оси мозга, и одним резким движением делают перерезку, которая должна пройти между буграми четверохолмия.

В зависимости от степени наркоза и точности перерезки ригидность развивается сразу же после перерезки или спустя несколько минут и длится не более 5-10 мин. Наблюдают характерную для проявления ригидности позу животного: стояние на вытянутых конечностях с поднятым хвостом и запрокинутой головой.

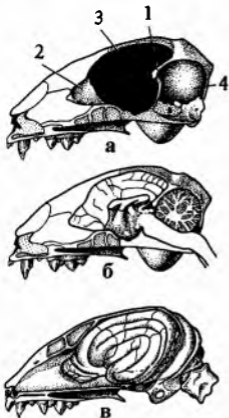


Рис. 2.5. Анатомическое обоснование подходов к операции по интерколликкулярной перерезке:

а, б - сагиттальный разрез черепа и мозга кошки; *а* - положение больших полушарий и обонятельной луковицы в черепе: 1 - тенториум, 2 - обонятельная ямка, 3 - мозговая ямка, 4 - мозжечковая ямка

Отмечают изменение тонуса мускулатуры при следующих пассивных движениях головы: вверх, вниз, вправо, влево, вверх с поворотом по оси вправо и влево, вниз с поворотом по оси вправо и влево. При этом происходит перераспределение тонуса мышц: при повороте головы вправо увеличивается тонус разгибателей правой передней конечности и одновременно снижается тонус разгибателей левой передней конечности; отчетливо наблюдается изменение тонуса при опускании или резком поднятии головы.

Шейные и лабиринтные рефлекторные реакции возникают при изменении положения головы животного. Состояние ригидности — удобный фон, на котором отчетливо выявляется перераспределение тонуса при влиянии афферентных сигналов с рецепторов мышц шеи и лабиринтов. Современное толкование этих феноменов можно найти в соответствующих руководствах.

Рекомендации к оформлению работы. Оформите протокол, опишите характерные изменения тонуса мускулатуры животного после перерезки ствола головного мозга на уровне бугров четверохолмия. Представьте рисунок поперечного среза мозга с обозначением уровня перерезки. Зарисуйте схемы шейных и лабиринтных рефлексов.

Работа 2.11.

РЕГИСТРАЦИЯ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ КОРЫ МОЗЖЕЧКА

Изучение физиологии мозжечка показало, что он тем или иным образом участвует во всевозможных реакциях организма. Он оказывает разнообразное влияние на двигательную активность и функциональное состояние локомоторного аппарата, влияет на работу внутренних органов, оказывает регулирующее воздействие на вегетативную нервную систему, афферентные системы и т.д.

Развитие электрофизиологических методов исследования принесло новые данные относительно функции мозжечка. Так, путем регистрации вызванных потенциалов (ВП) удалось показать, что они возникают в коре мозжечка в ответ на возбуждение любой из сенсорных систем. Таким образом, было установлено, что афферентные системы имеют в коре мозжечка определенные зоны представительства. На рис. 2.6 приведена схема представительства в мозжечке кошки кожных и мышечных афферентов.

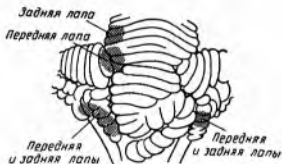


Рис. 2.6. Представительство в мозжечке кожно-мышечной чувствительности конечностей

Зрительная, слуховая чувствительность представлены в области червя, висцеральные системы - в районе передней доли и т.п. Следует заметить, что в проекции различных афферентных систем на мозжечок нет строгой специфичности. В отличие от подобных зон коры больших полушарий эти зоны не столь четко очерчены и между ними имеется широкое взаимное перекрытие. На рис. 2.7 в качестве примера распределения ВП на поверхности коры мозжечка приведены записи потенциалов,

возникающих при раздражении афферентного висцерального нерва (тазового нерва).

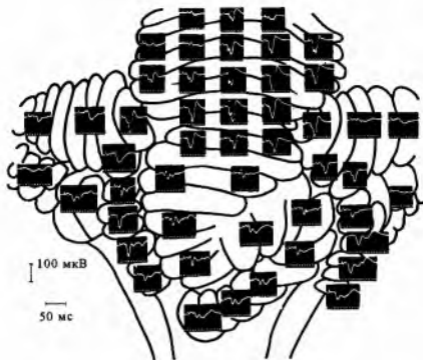


Рис. 2.7. Распределение вызванных потенциалов на поверхности коры мозжечка, возникающих в ответ на стимуляцию афферентного висцерального (тазового) нерва (по К.М.Кулланде, 1975)

Несмотря на значительное непостоянство, ВП состоят, главным образом, из поверхностных положительных волн продолжительностью 10-20 мс и амплитудой 50-100 мкВ. Такая положительная волна очень напоминает первичный ответ в коре головного мозга. Обычно вслед за ней регистрируется более медленная и менее выраженная отрицательная волна. Латентный период ответа зависит от типа раздражаемых структур. При раздражении периферических нервов латентный период ответа мозжечка равен 10-20 мс, при слуховой стимуляции — 10-14 мс, при зрительной — 40-50 мс, а при раздражении коры головного мозга ответ появляется через 4-10 мс. Иногда за 4-6 мс до появления основного по-

ложительного отклонения регистрируется меньшая положительная волна или волны (20-50 мкВ).

Цель работы. Освоить методику отведения ВП от коры мозжечка. Познакомиться с особенностями ВП и расположением на поверхности коры мозжечка зон отведения потенциалов, возникающих в ответ на стимуляцию седлищного нерва.

Объект исследования - кошка.

Материалы и оборудование: катодный осциллограф с фотооптической приставкой, усилитель переменного тока, электростимулятор, электроды для раздражения седлищного нерва, электроды для отведения ВП, стереотаксический прибор, набор хирургических инструментов, наркотическое вещество, физиологический раствор.

Ход работы. Наркотизированное животное закрепляют в станке спиной вверх. Разрезают кожу от затылочного бугра до шеи. Шпателем отделяют мышцы от костей черепа, освобождают от них всю затылочную область до первых шейных позвонков. Нужно очень внимательно следить за тем, чтобы не поранить идущих справа и слева вен и артерий. Трепаном вскрывают костную часть черепа и, пройдя в отверстие желобоватым зондом, отслаивают твердую мозговую оболочку. Вскрывают полость черепа. Следует крайне осторожно отделять костные покровы черепа, так как они часто срастаются с твердой оболочкой и их отделение приводит к травме паратерминальной вены. Мозжечок плохо переносит кровотечение и его активность вследствие этого может быть резко снижена. Далее поступают так, как обычно при регистрации ВП (см. работу 2.8). Стимулы наносят на седлищный нерв и, перемещая униполярный отводящий электрод по коре мозжечка, наблюдают за характером возникающих потенциалов. В процессе исследования рекомендуется установить: а) зоны отведения потенциалов; б) характер ответов в них; в) пороги ответов; г) отношение их к ритмической стимуляции (высший ритм воспроизведения).

Рекомендации к оформлению работы. Все данные занесите в протокол. Зарисуйте схему поверхности мозжечка и отметьте на ней наиболее активные зоны. Сравните результаты собственных наблюдений с записями, приведенными на рис. 2.7. Сделайте выводы о свойствах ВП мозжечка.

Работа 2.12.

СТЕРЕОТАКСИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ВЖИВЛЕНИЯ ЭЛЕКТРОДОВ В ПОДКОРКОВЫЕ СТРУКТУРЫ МОЗГА КРЫСЫ

Большая часть экспериментальных манипуляций над мозгом (удаление, химическая инъекция, стимуляция, регистрация электрической активности) требует использования стереотаксического прибора. С помощью стереотаксиса можно производить точное погружение электродов, вводить канюли в отдельные структуры на основе координат, приведенных в специальных атласах головного мозга.

Голову животного укрепляют в головодержателе стереотаксического прибора таким образом, чтобы костно-черепные швы, служащие ориентирами, заняли определенное положение. Это обеспечивает нужную ориентацию мозговых структур. Точкой отсчета является средняя точка между ограничителями, накладываемыми на нижние поверхности орбит, благодаря чему осуществляется совмещение плоскостей координатных систем прибора и теоретически проводимых координатных плоскостей в мозге животного. У крыс нулевые координаты определяют по костно-черепным швам. Основная горизонтальная плоскость является и *нулевой горизонтальной плоскостью*. Эта плоскость проходит через *брегму* (пересечение сагиттального и коронарного швов) и точку, расположенную на 1 мм выше *лямбды* (пересечение сагиттального и затылочного швов); она перпендикулярна сагиттальной плоскости.

Определение стереотаксических координат исследуемой структуры мозга проводят по специальным картам, которые представляют собой схемы фронтальных срезов мозга, изготовленные с учетом его объемных изменений после фиксации. Каждая карта имеет свой индекс, показывающий, на каком расстоянии от фронтальной нулевой плоскости сделан срез. *Фронтальной нулевой плоскостью* служит плоскость, проходящая через брегму и перпендикулярная базальной плоскости. Структуры, расположенные роstralнее этой плоскости, обозначаются AP-, каудальнее AP+. Расстояние влево от сагиттальной нулевой плоскости обозначается L, вправо - R. Координаты глубины относительно горизонтальной нулевой плоскости выше ее уровня обозначаются V+, ниже - V-. Все расстояния на картах даны в миллиметрах.

Стереотаксический метод, обеспечивая неподвижность введенного в мозг электрода, позволяет осуществлять неоднократное раздражение исследуемых структур или отведение их электрической активности в разных условиях эксперимента. Регистрация электрической активности подкорковых структур позволяет выявить их связи с другими мозговы-

ми образованиями, функциональные особенности, чувствительность к различным воздействиям.

Цель работы. Овладеть методикой точного введения электродов в определенные структуры мозга с использованием стереотаксического прибора. Произвести вживление электродов в латеральный гипоталамус крысы.

Объект исследования - крыса.

Материалы и оборудование: стереотаксический прибор, набор хирургических инструментов, электроды для вживления, цемент-фосфат, перекись водорода, новокаин, йод, вата, физиологический раствор, наркотическое вещество, пенициллин, стрептоцид.

Ход работы. Опыт проводят в стерильных условиях. Наркотизируют крысу массой не менее 200 г внутрибрюшинным введением пентобарбитала натрия или нембутала (60 мг/кг).

Вводят маркирующую иглу в электродный держатель стереотаксиса и производят отсчет показаний в передне-задней (AP) плоскости, когда кончик иглы расположен непосредственно между ушными яремками (интерауральная линия, или стереотаксический нуль). Устанавливают держатель для резцов так, чтобы он находился на высоте 5,0 мм над интерауральной линией. Вводят ушные яремки так, чтобы голова животного была жестко закреплена. Затем подводят зубы животного на держатель для резцов и закрепляют клемму для носа.

В области предполагаемого разреза состригают шерсть и дезинфицируют кожу головы раствором йода. Вводят подкожно новокаин (2 мл 0,5-процентного раствора). Через 5 мин скальпелем производят надрез кожи длиной 3 см вдоль средней линии черепа, начиная от уровня чуть ниже глаз, и отводят кожу по бокам с помощью зажимов. Тщательно очищают череп от надкостницы с помощью перекиси водорода.

По стереотаксическим картам находят ту структуру головного мозга, которую хотят исследовать (в данной работе латеральный гипоталамус). Можно воспользоваться следующими координатами: 4,8 мм кпереди от интераурального нуля, или 1,0 мм кзади от брегмы; 1,8 мм вбок (от средней линии) и 9,0 мм на глубину от твердой мозговой оболочки. Передвигают маркирующую иглу на 4,8 мм кпереди от показания AP, записанного при интерауральном нуле. Для определения средней линии используют сагиттальный шов или линию, проведенную между брегмой и лямбдой. Передвигают держатель на среднюю линию (не изменяя его AP положения) и затем отводят на 1,8 мм в сторону. В этой точке иглой производят небольшую насечку, чтобы отметить место для сверления. Просверливают отверстие диаметром 2 мм, достаточное для введения электрода.

Для стимуляции могут использоваться моно- или биполярные электроды. Широко применяют биполярные электроды, расположенные

близко друг к другу (0,5 - 1,0 мм между кончиками электродов). Электрод можно изготовить из нержавеющей стали в виде скрученных проволок (диаметр 0,2 мм), которые должны быть изолированы по всей длине, за исключением кончиков, каким-либо инертным материалом. На рис. 2.8 приведены три типа электродов с различными способами соединения с подводящими проводами.

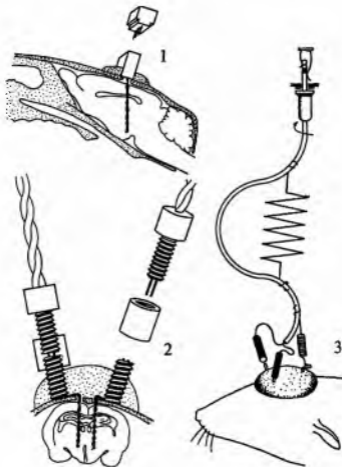


Рис. 2.8. Электродное устройство для хронической стимуляции или регистрации активности мозга с различными типами соединений с отводящими проводами (по Я.Бурешу с соавт., 1991)

Просверливают 2-4 небольших отверстия (в зависимости от размеров крепящих винтов) и вставляют винты из нержавеющей стали для крепления электрода к черепу в хроническом опыте. Помещают электрод в держатель, предварительно проверив, чтобы он был направлен строго вертикально. Закрепляют электрод так, чтобы его кончик находился над центром отверстия, и проверяют передне-задние и боковые координаты. Опускают кончик к корковой поверхности и записывают показания вертикальной шкалы в этом положении. Затем погружают электрод в мозг на 9,0 мм. Цементируют обнаженную поверхность черепа цемент-фосфатом, шапочка из которого должна иметь достаточную толщину, чтобы обеспечить надежное крепление электродов. Посыпают рану пенициллином или стрептоцидом и вводят раствор пенициллина внутримышечно (2 мл 200 000 ед.) После того как операция закончена, животное помещают в клетку. Обеспечивают тщательный послеоперационный уход за животным. Через 2-3 дня животное можно брать в опыт. Можно регистрировать электрическую активность исследуемой подкорковой структуры мозга крысы.

Рекомендации к оформлению работы. Оформите протокол проведенной операции. Укажите координаты участка мозга, в который вживлены электроды. При регистрации электрической активности подкорковой мозговой структуры произведите анализ полученной записи.

Работа 2.13.

РЕАКЦИЯ САМОРАЗДРАЖЕНИЯ У КРЫСЫ

Феномен самостимуляции впервые был показан Дж.Олдсом и П.Милнером (1954) на крысах с электродами, вживленными в септум и области вблизи передней комиссуры. Крысу помещали в камеру, и ей предоставлялась возможность, нажимая на педаль, наносить себе раздражения. Стимул прерывался каждые 0,5 с, поэтому крыса для нанесения нового раздражения должна была отпустить педаль и снова ее нажать.

Вопрос о локализации в мозге точек, из которых могут быть вызваны реакции самораздражения, стал важнейшим в нейрофизиологических исследованиях. Хотя реакцию самостимуляции получают у животных с электродами, вживленными в различные области мозга, включая кору, самой эффективной является стимуляция латеральной гипоталамической зоны и медиального пучка переднего мозга, который эту зону

пересекает. Самораздражение несомненно является *положительным подкреплением* и связано со стимуляцией лимбических структур мозга.

В мозге обнаружены также точки, раздражение которых вызывает противоположно направленную реакцию - *избегание*. После однократного замыкания электрической цепи животное не подходит к педали. Реакции самораздражения и избегания - сложные поведенческие акты.

Феномен самостимуляции вызывает большой интерес специалистов. Он привел к появлению огромного числа исследований, которые поднимают много теоретических проблем, таких, как формирование эмоций, механизмы возникновения ощущений, мотиваций, вопросы дифференцировки различного рода воздействий на категории «приятных», «нейтральных», «неприятных». Кроме того, эта методика открыла новые возможности в изучении физиологии стволовых структур мозга. Несомненные успехи принесло сочетание ее с методом условных рефлексов. Реакция самораздражения является удобным тестом для изучения действия фармакологических препаратов и психотропных средств.

Электрическая самостимуляция мозга через электроды, вживленные в подкорковые структуры, в настоящее время исследована отечественными и зарубежными учеными у разных видов животных (птицы, рыбы, собаки, обезьяны) и человека. Установлено, что электрическое раздражение глубинных структур мозга человека может вызвать чувство удовольствия и стремление к повторению стимуляции или, напротив, неприятные ощущения и попытки избежать стимуляцию этих зон. Полученные данные позволяют говорить о наличии мотивационных подкрепляющих систем в мозге человека.

Цель работы. Освоить приемы обучения крысы реакции самораздражения при хронически вживленных электродах в область положительного подкрепления (латеральный гипоталамус).

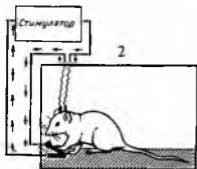
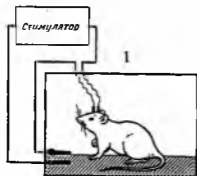
Объект исследования - крыса.

Материалы и оборудование: экспериментальная камера (камера Скиннера) с рычагом для самостимуляции (длина камеры 25 см, ширина 20 см, пол решетчатый; стенки высотой 40 см сделаны из непрозрачной пластмассы; зеркало, расположенное над камерой, служит для наблюдений за животным; горизонтальный рычаг крепится к одной из узких стенок); электродное устройство для хронической стимуляции (рис. 2.8); стимулятор; самописец со скоростью движения бумажной ленты 4 мм/с, наркотическое вещество, набор хирургических инструментов.

Ход работы. Под пентобарбиталовым (50 мг/кг) или нембуталовым (60 мг/кг, внутривенно) наркозом вживляют биполярный стимулирующий электрод в латеральный гипоталамус крысы согласно описанию процедуры и координатам, приведенным в предыдущей работе. Необходимо выждать 2 - 4 дня, чтобы животное оправилось после опе-

рации. Перед операцией в течение нескольких дней и в послеоперационный период животное приучают к рукам.

Крысу с вживленными электродами помещают в камеру с рычагом (педалью) для самостимуляции. На рис. 2.9 приведены упрощенная схема технической стороны методики самораздражения и вид животного, готового нажать на рычаг.



3

Рис. 2.9. Опыты с самораздражением:

1-2 - упрощенная схема техники самораздражения через вживленные электроды;
3 - крыса находится у контактной площадки, лапа лежит на рычаге-замыкателе цепи

Подключают провода от стимулятора к вживленным электродам и замыкают ток в тот момент, когда крыса подойдет к педали. Раздражение начинают с небольшой силы тока (10-20 мкА). Путем ручного управления электростимулятором подают 0,5-секундные серии импульсов с частотой до 100 Гц. Внимательно наблюдают за поведением жи-

вотного при воздействии каждой серии стимулов. Если животное не реагирует, то силу тока увеличивают на 2-5 мкА до появления какой-либо ориентировочной реакции. Такое «научение» повторяют несколько раз (каждый раз, когда крыса в процессе ориентировочной деятельности подходит к педали). Со временем животное случайно нажмет на педаль и осуществит первую самостимуляцию. Если самостимуляция подкрепляющая, то животное постепенно научится нажимать на педаль с высокой частотой. При правильном положении электродов в мозге «научение» занимает не более 5-10 мин. Когда электрод находится в соответствующей активной точке, крыса с явным удовольствием производит самораздражение.

Каждое замыкание тока вызывает у крысы реакцию поиска, и с определенного момента она начинает нажимать на педаль систематически. В это время включают самописец и записывают сигналы, возникающие в результате замыкания электрической цепи при нажатии на педаль. Частота нажатия на педаль служит количественным показателем интенсивности реакции животного. При сериях стимуляции длительностью 0,5 с крыса может реагировать с частотой 60-90 нажатий в 1 мин. При сокращении серии стимулов до 0,1 с частота нажатия возрастает.

Подсчитав число зубцов на записи, строят график, характеризующий реакцию самораздражения испытуемого животного: по оси абсцисс откладывают время, по оси ординат - число нажатий на педаль за каждые 5 или 10 мин (если в работе не производится запись сигналов на бумажной ленте самописца, данные могут быть получены в результате подсчета частоты нажатий в течение 5 мин).

Меняя значения силы тока при определенной длительности импульса, а также длительность импульса при каждом значении силы тока, устанавливают зависимость частоты самораздражения от параметров раздражающего тока (при разных значениях силы тока и длительности импульсов наблюдения проводят в течение 5 мин).

Исследования могут быть продолжены, если предварительно произведено вживление электродов в другие мозговые структуры, такие как область перегородки, фронтальная кора, гиппокамп, хвостатое ядро, миндалина, голубое пятно, вентромедиальный таламус и т.д. Переключая провода стимулятора на электроды, вживленные в эти структуры, сопоставляют получаемую при этом реакцию самораздражения с латеральной гипоталамической стимуляцией.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта подробно опишите поведение животного. Зарисуйте схему установки. Произведите реконструкцию положений кончиков электродов на иллюстрациях, взятых из атласа мозга крысы. При обсуждении полученных результатов сделайте заключение о зависимости реакции самостимуляции от силы раздражающего тока и длительности импульсов, а также от структуры мозга, в которую вживлены электроды.

Работа 2.14.

ЭЛЕКТРОЛИТИЧЕСКОЕ РАЗРУШЕНИЕ ГИПОТАЛАМУСА

Электролитические и термокоагуляционные воздействия используют для локального разрушения, как правило, в таких подкорковых структурах, как специфические ядра миндалин или гипоталамуса. Под *электролитическим разрушением* подразумевают пропускание постоянного анодного тока через электрод (анод), изолированный по всей длине, кроме той его части, которая находится в разрушаемой структуре. Катод (заземление) обычно соединяют со стереотаксисом, имеющим надежный контакт с ушами и ртом животного. Другой способ заключается в подсоединении катода к металлическому зонду, введенному в прямую кишку или под кожу спины животного. Воздействие постоянным током разрушает ткань с выделением пузырьков газа и диффузией ионов металла.

Термокоагуляция осуществляется путем пропускания высокочастотного тока (ВЧ) через электрод, что приводит к разрушению ткани мозга посредством теплоты, возникающей на конце электрода. При сопоставлении морфологических последствий разрушения постоянным током и ВЧ обнаружено, что электролитические повреждения ведут к разрушению клеточной ткани и наносят сравнительно небольшой ущерб пучкам миелинизированных волокон, тогда как разрушения ВЧ уничтожают без разбора и клетки, и волокна. При электролитических разрушениях объем повреждения вокруг кончика электрода зависит, главным образом, от силы тока и от длительности его пропускания, а также от следующих параметров: диаметра кончика электрода; объема неизолированного участка; типа металла, из которого сделан электрод; полярности тока (анод или катод); природы разрушаемой ткани (например, серое или белое вещество).

Согласно литературным данным (Thompson, 1971), например, разрушение диаметром 1 мм в миндалине крысы можно произвести, пропуская анодный ток в 1 мА в течение 10 с через кончик электрода из нержавеющей стали, имеющий диаметр 0,2 мм. Увеличение силы и длительности пропускания тока вдвое дает разрушение диаметром около 2 мм (для мозга крысы не рекомендуется использовать ток больше 5 мА). Типичное разрушение, получаемое при применении постоянного тока, представляет собой центральную впадину, заполненную некротическим материалом, которая граничит с коагулированной тканью и окружена областью глиоза. При выборе металла для электродов важно учитывать тот факт, что ионы металла проникают в ткань в результате электроли-

за. Для сведения диффузии к минимуму лучше использовать платиновые электроды. Часто для разрушения головного мозга используют электроды из нержавеющей стали. Проволока не должна быть слишком тонкой, т.к. может раствориться, прежде чем пропустит необходимый ток. Как правило, для разрушений диаметром 1-3 мм у крыс используют электроды диаметром от 0,2 до 1,0 мм. Естественно, что чем тоньше проволока, тем меньше механическое повреждение, которое она вызовет при самом погружении ее в ткань.

Для изоляции электродов можно использовать разнообразные инертные материалы, такие, как эпоксилит, полиэтилен и эмали. Чтобы проверить полноту изоляции, следует измерить ее сопротивление, когда электрод погружают в физиологический раствор. Удаление изоляции с кончика электрода производят скальпелем под микроскопом, причем процедуру производят так, чтобы в других местах изоляция не потрескалась и не осыпалась.

Цель работы. Освоить методику электролитического разрушения подкорковых структур. Исследовать влияние разрушения гипоталамуса на поведенческие реакции у крыс.

Объект исследования - крыса.

Материалы и оборудование: стереотаксический прибор, источник постоянного тока, электроды, набор хирургических инструментов, наркотическое вещество, физиологический раствор.

Ход работы. Работу выполняют с соблюдением правил стерильности. Наркотизируют крысу массой 300 г внутрибрюшинным введением пентобарбитала натрия (50 мг/кг).

Закрепляют череп животного таким образом, чтобы лямбда находилась на 1 мм ниже брегмы, и устанавливают координаты $A = 6,0$; $LR = 2,0$ и $8,0$ мм вентрально от поверхности коры. С двух сторон симметрично просверливают отверстия достаточно большие (диаметр 2,0 мм) для введения разрушающих электродов. Стереотаксически на 8 мм в глубь мозга погружают разрушающий электрод (проволока из нержавеющей стали диаметром 0,5 мм, с кончика удалена изоляция). Соединяют электрод с анодом, а держатель для зубов - с катодом стимулятора постоянного тока. Пропускают ток 1-2 мА в течение 10 с согласно показаниям миллиамперметра. Повторяют процедуру на другом полушарии, затем закрывают обнаженный череп зубным цементом и зашивают рану.

В качестве контроля на другом животном производят ложное разрушение: опускают электрод на 8 мм ниже твердой мозговой оболочки, но не пропускают ток.

Наблюдают за поведением животных. После разрушений у крыс развиваются афагия (они отказываются от пищи) и адипсия (отказываются от воды) и поэтому их нужно питать внутрижелудочно с помощью

трубки. При правильном уходе у животных наблюдаются 4 стадии выздоровления. Первая стадия общей афагии и адипсии длится от 2 до 10 дней. Если животным предлагать очень приятную на вкус влажную пищу, то они вступают во вторую стадию, длящуюся от 5 до 30 дней и определяемую как период анорексии плюс адипсии, т.е. хотя животные поглощают влажную пищу, но не потребляют ее в количестве, достаточном для удовлетворения питательных потребностей, и поэтому кормление следует продолжать через трубку. Третья стадия состоит в адипсии и афагии, когда животное по-прежнему отказывается от воды, но может регулировать прием калорий при получении предпочитаемой влажной пищи. На четвертой стадии животные наконец начинают пить воду, но питьевое поведение связано только с поглощением сухой пищи. Поглощение воды в ответ на обезвоживание организма (регуляторное питьевое поведение) нарушено. У животных также нарушается пространственная ориентация.

Уделяют особое внимание послеоперационному уходу за животными. Как правило, животные умирают чаще непосредственно после операции и на различных этапах первой стадии синдрома. Поэтому в течение опыта тщательно контролируют прием пищи и воды. Животные должны иметь доступ к воде, к нормальной пище и к приятной на вкус жидкой пище, например, размоченное печенье, гоголь-моголь, смесь сладких круп и молока или смесь из яиц, сахара, сухого молока и витаминов.

Начинают кормить из трубки тех крыс, которые к третьему дню после операции поглощают около 5 г пищи в день. Чтобы поддерживать массу тела на уровне 80 % от дооперационного, необходимо кормить крыс через трубку, вводя по 10 мл пищи 2-4 раза в день. Для кормления через трубку используют либо пюре обычной пищи для крыс, смешанное с водой, либо смесь из яиц, сахара, молока и витаминов, которая уже упоминалась.

Исследуют способность крыс с разрушениями латерального гипоталамуса реализовывать различные поведенческие и вегетативные реакции, описанные в других разделах практикума. Изучают поведение крыс на различных стадиях выздоровления.

Можно произвести нейрофизиологическое тестирование, описанное в разд. 4 настоящего практикума (работа 4.2)

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе подробно опишите результаты исследований, сравните поведение крыс на различных стадиях восстановления. На основании проведенных наблюдений сделайте заключение о значении гипоталамуса в поведении животного. Воссоздайте разрушения латерального гипоталамуса по иллюстрациям стереотаксического атласа мозга крысы.

Работа 2.15.

РАСПРОСТРАНЯЮЩАЯСЯ ДЕПРЕССИЯ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

Распространяющаяся депрессия (РД) представляет собой резкое снижение амплитуды волн спонтанной ЭЭГ, которое не ограничивается областью возникновения, а распространяется во всех направлениях по коре полушария. Она возникает при воздействии ряда механических, электрических и химических агентов, способных сильно возбудить группу нейронов. Наиболее эффективным способом получения РД можно считать аппликацию КСІ. Повторяющиеся волны корковой РД могут возникать после изготовления трепанационного отверстия в черепе и прикладывания к обнаженной коре кусочка фильтровальной бумаги, пропитанной 25-процентным раствором КСІ. При диаметре трепанационного отверстия, равном 4 мм, волны РД запускаются с оптимальной скоростью (каждые 2-4 мин) и ведут к более длительному подавлению активности ЭЭГ, вызывая так называемую *функциональную декорткацию*. Такое явление обратимо, т.к. ЭЭГ-активность постепенно возвращается к своему нормальному уровню после устранения бумажки с КСІ и омывания коры физиологическим раствором.

Одновременно с депрессией спонтанной ЭЭГ может происходить также подавление первичных ответов, стрихнинных спайков и значительное повышение порогов электрического раздражения двигательных областей коры. РД сопровождается глубокими изменениями функций апикальных дендритов; сначала возникает резкий негативный сдвиг постоянного потенциала нейронов коры, что указывает на их деполяризацию, а через 1-2 мин он сменяется более длительным позитивным отклонением.

Скорость распространения депрессии по коре составляет 2-6 мм/мин, а длительность - до нескольких часов в зависимости от дозы и концентрации вызвавшего ее агента. Кроме коры РД описана в гиппокампе, стриатуме и некоторых других структурах с соответствующей концентрацией клеточных тел и дендритов.

Обратимость выключения коры и других структур делает РД удобной методикой для изучения ряда вопросов физиологии мозга. Однако следует учитывать, что РД, вызванная в одной структуре, может распространиться и в другие мозговые образования. Поэтому для избирательного выключения какого-то отдела необходимо точно подбирать соответствующие концентрацию и дозу вещества.

Цель работы. Изучить возможность распространения РД из коры полушария в гиппокамп при разных концентрациях КС1 и сравнить вызванные потенциалы на свет до и во время РД.

Объект исследования - крыса.

Материалы и оборудование: электроэнцефалограф, стереотаксический прибор, экранированная камера, операционный столик, регистрирующие электроды (описание в тексте), фосфат-цемент, источник света, набор хирургических инструментов, физиологический раствор, новокаин, перекись водорода, наркотическое вещество; 2,5 и 25-процентные растворы КС1, микропипетка.

Ход работы. Наркотизированную крысу фиксируют на операционном столике. Под кожу головы ей вводят 1,0 мл новокаина и состригают шерсть с головы. Через 5-6 мин после введения новокаина ножницами удаляют лоскут кожи с головы, поверхность черепа тщательно обрабатывают раствором перекиси до полного удаления надкостницы и остановки кровотечения. В каудальной части теменной кости справа просверливают отверстие для введения микропипетки. Затем в черепе сверлят отверстия для электродов по координатам, указанным в табл. 1.

Подготавливают электроды: погружные концы электродов зачищают, наружные сгибают вдвое и зажимают с помощью зажима. Затем электроды вводят в соответствующие отверстия и заливают фосфат-цементом в два-три приема.

Таблица 1

Координаты структур головного мозга крысы

Область введения электрода	Расстояние от брегмы, мм	Расстояние от сагиттального шва, мм	Сторона введения
Двигательная кора	-1,0	1,2	правая
Затылочная кора	+7,0	2,3	левая
Гиппокамп	+3,0	3,0	правая

Крысу переносят в экранированную камеру, подключают к колодке коммутатора электроэнцефалографа. РД может регистрироваться путем определения общей ЭЭГ.

Следует отметить, что существует и другой способ - регистрация постоянного потенциала. Когда волна депрессии достигает коркового неполяризуемого электрода, этот постоянный потенциал уменьшается до 5-10 мВ за 1-2 мин. Постоянные потенциалы регистрируются неполяризуемыми электродами, такими, как проволочки или винты (диаметром 2 мм) из серебра, покрытые хлоридом серебра, помещенные

на поверхность коры. Для регистрации медленных потенциалов от более глубоких структур, таких, как гиппокамп, необходимо использовать капиллярные электроды. В опытах на наркотизированных животных стеклянный капилляр можно заполнять физиологическим раствором; его обычно просто соединяют с каломельным электродом кусочком ватного тампона.

На фоне спонтанной ЭЭГ регистрируют вызванные потенциалы на свет. После регистрации фоновой активности в кору последовательно с помощью микропипетки вводят небольшие количества 2,5-процентного КСl до получения РД. Прослеживают время появления РД в гиппокампе и в контралатеральном полушарии. На том же или другом животном прослеживают действие 25-процентного КСl. В период максимального развития РД снова проверяют реакцию на свет.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе изложите сущность РД. Опишите ход работы, отметьте и проиллюстрируйте соответствующими участками ЭЭГ, какие дозы и концентрации КСl вызывали тот или иной эффект. Сравните частоту и амплитуду волн ЭЭГ до и после действия КСl. Данные занесите в табл. 2.

Таблица 2

Параметры ЭЭГ различных областей мозга до и после воздействия хлорида калия

Сроки наблюдения	Двигательная кора	Затылочная кора	Гиппокамп
	частота/амплитуда	частота/амплитуда	частота/амплитуда
До воздействия вещества			
На фоне воздействия (через каждые 10-15 сек)			

ФИЗИОЛОГИЯ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Работа 3.1.

АДАПТАЦИОННО-ТРОФИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН НА СКЕЛЕТНЫЕ МЫШЦЫ

Представления о трофической функции нервной системы возникли на основании наблюдений метаболических сдвигов в денервированных органах, а также клинических данных о мышечных дистрофиях и трофических язвах вследствие повреждения ЦНС или периферических нервов. Первоначально механизм трофического влияния нервной системы на периферические ткани сводился к представлению о наличии специальных трофических нервов, которое было разработано Самуэлем (1860) в его книге "Трофические нервы". Этой точки зрения придерживался и И.П.Павлов. На основании изучения трофических нарушений он выдвинул идею трофических рефлексов, которая затем была последовательно разработана А.Д.Сперанским и его сотрудниками (1937, 1952). Исследователи отмечали рефлекторный характер нейродистрофических процессов, возникающих после перерезки периферических нервов, особо подчеркивая при этом роль афферентных стимулов. Тауэр (1937), используя в качестве модели для изучения трофических влияний поперечно-полосатую мышцу, впервые указала, что денервационные изменения в ней развиваются исключительно вследствие перерезки эфферентных корешков спинного мозга. Было отмечено, что общая трофическая функция эфферентных нервов прежде всего сводится к регуляции восстановительных метаболических процессов в мышечной клетке.

Представления об участии симпатических нервов в трофических процессах были выдвинуты Л.А.Орбели, после того как в их совместной работе с А.Г.Гинецинским было обнаружено, что сократительная способность скелетной мышцы, истощенной предшествующими сокращениями, восстанавливается после раздражения симпатических волокон (феномен Орбели-Гинецинского). То есть сама по себе стимуляция симпатических нервов не вызывает сокращения мышцы, но изменяет состояние мышечной ткани, повышая ее чувствительность к соматическим импульсам. Возможно, местом приложения этих симпатических влияний служит нервно-мышечный синапс. Впоследствии Л.А.Орбели сформулировал учение об адапционно-трофической функции симпатической нервной системы, согласно которому последняя не оказывает видимого эффекта, но значительно меняет функциональную реактивность и адаптивные свойства тканей. Симпатическая нервная система обеспечивает постоянное приспособление тканей, органов и систем, в том числе ЦНС, к текущим потребностям организма, реализующимся через соматическую нервную систему.

Постепенно исследование трофической функции нервной системы перешло от наблюдений за изменениями в тканях после денервации к конкретному изучению механизмов нейрофизиологических влияний путем анализа межклеточных взаимоотношений на молекулярном уровне. С использованием методов клеточной физиологии, в том числе тканевых культур, было показано, что существуют два типа связей между нейронами, а также между нейронами и мышечными волокнами: во-первых, возникающие при проведении нервного импульса через синапс чрезвычайно быстрые процессы, связанные с выделением медиатора и базирующиеся на ионной основе; во-вторых, длительные нейротрофические процессы неимпульсной природы, осуществляющиеся при участии специфических нейротрофических агентов (например, ц-АМФ, некоторые кислые белки, полипептиды). Последние высвобождаются в синапсах независимо от импульсной активности нейрона и контролируют через ДНК и РНК синтез и деградацию белков в иннервируемых тканях. В этом плане эфферентные (двигательные и периферические вегетативные) нейроны можно рассматривать как нейросекреторные клетки, которые передают органам, в том числе скелетным мышцам, информацию, необходимую для поддержания структуры, метаболизма и функциональных способностей постсинаптических клеток. Для понимания роли нейросекреторных механизмов в нейротрофических процессах решающее значение имело открытие в нейроне аксо-

плазматического транспорта белков и перехода веществ из пресинаптической терминали в постсинаптическую клетку, что, видимо, является соединяющим звеном в ходе нейротрофических коммуникаций.

Цель работы. Убедиться в повышении работоспособности утомляемой икроножной мышцы при раздражении симпатических нервных волокон.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная доска, набор препаровальных инструментов, энтомологические булавки, бинты, вата, тазик-почка, раствор Рингера для холоднокровных, грузики (10, 20, 50 г), установка для графической регистрации мышечных сокращений, универсальный штатив, 2 электростимулятора, 2 пары биполярных раздражающих электродов, изготовленных из тонкой платиновой проволоки.

Ход работы. У лягушки при помощи зонда, вводимого через затылочное отверстие в череп, разрушают головной мозг, а затем вскрывают спинномозговой канал и на одной стороне (например, слева) берут на лигатуру VII, VIII и IX передние корешки или участок мозга, соответствующий их выходу. Задние корешки при этом надо перерезать.

Затем отпрепаровывают на той же стороне симпатический пограничный ствол. Пограничный симпатический ствол лягушки обычно состоит из 10 пар ганглиев и преганглионарных нервных волокон (рис.3.1). Эти волокна идут от нейронов, лежащих в латеральных столбах спинного мозга, выходят через межпозвоночные отверстия в составе спинальных нервов, но вскоре отделяются от них и вступают в грудные и поясничные ганглии симпатического ствола в виде белых веточек.

Симпатический ствол лежит на вентральной поверхности тел грудных, поясничных и крестцовых позвонков, и поэтому препаровка его достаточно сложна. Лягушку укладывают спиной вверх на препаровальную дощечку и поворачивают боковой (левой) стороной к себе. По краю подвздошной кости (в ее верхней трети) и по нижней части позвоночника вдоль боковых отростков позвонков делают продольный разрез кожи и косой мышцы живота. Лягушку слегка приподнимают, взяв пинцетом за верхние сочленения подвздошной кости, и тогда вся полость тела животного становится хорошо видимой. Полостные органы, заключенные в брюшину, а также аорту и идущие вдоль нее по обе стороны симпатические цепочки оттягивают от позвоночника.

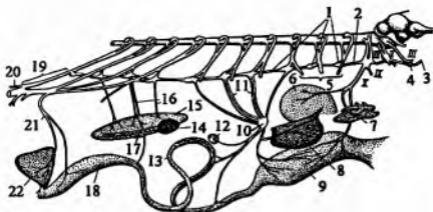


Рис. 3.1. Схема расположения симпатического пограничного столба у лягушки (по А.Д.Ноздрачеву, Е.Л.Полякову, 1994):

1 - *truncus sympathicus et ganglii sympathici*, 2 - *r.r. sympathici* (к черепным нервам),
 3 - *oculus*, 4 - *gnl. ciliare*, 5 - *pl. brachialis*, 6 - *pulmon*, 7 - *cor*, 8 - *hepar*, 9 - *gaster*,
 10 - *gnl. coeliacum*, 11 - *n.n. splanchnici cran.*, 12 - *lien*, 13 - *intestinum*, 14 - *testis*,
 15 - *ren*, 16 - *n.n. splanchnici caud.*, 17 - *gnl. suprarenalis*, 18 - *rectum*, 19 - *pl. sacralis*,
 20 - *n. ishiadicus*, 21 - *n.n. splanchnici pelvici*, 22 - *vesica urinaria*;
 III, V, VII, IX, X - *n.n. craniales*

Симпатические цепочки четко видны, благодаря обильному скоплению темных пигментных клеток в окружающей их соединительнотканной оболочке. Следует препарировать левую брюшную цепочку, лежащую ближе к оператору. Для этого в соединительную ткань, связывающую аорту с пограничным столбом, вкалывают 1-2 энтомологические булавки и разрывают связку тонким стеклянным крючком или пинцетом. Под симпатический ствол на уровне выхода 5-6 спинномозговых нервов подводят очень тонкую лигатуру. Не перерезая симпатического ствола, его отпрепаровывают от аорты в каудальном направлении.

После этого на левой же задней лапке делают разрез кожи вдоль голени, отпрепаровывают для регистрации икроножную мышцу. Отделяют от кости ахиллово сухожилие, подводят под него лигатуру, туго перевязывают и перерезают его каудальнее перевязки.

Для получения записи кривой утомления икроножной мышцы пробковую пластину с приколотой к ней лягушкой укрепляют в штативе вертикально, и соединяют сухожилие с миографом. Мышцу следует нагрузить, подвесив к ней груз в 20,0-50,0 граммов.

Под передние корешки (или выпрепарованные сегменты спинного мозга) подводят электроды из платиновой проволоки и фиксируют их в этом положении на все время опыта. Подсоединяют электроды к выходу одного из стимуляторов. Устанавливают режим работы «импульсный ток», подбирают оптимальную амплитуду раздражения, регулятор частоты импульсов ставят в положение 0,5-2 Гц. При таком ритме раздражения утомление мышцы развивается примерно через 10 мин. В этой связи следует отрегулировать скорость вращения барабана кимографа так, чтобы она не превышала 1-2 см в минуту.

Под симпатический пограничный ствол также подводят платиновые электроды, соединенные с выходом электростимулятора, работающего в импульсном режиме (частота 80-110 Гц). *Во время опыта строго соблюдают условия влажной камеры!*

Опыт начинают с записи кривой утомления икроножной мышцы при длительном раздражении передних корешков спинного мозга ритмическими импульсами сверхпороговой силы. Когда амплитуда мышечных сокращений уменьшится по сравнению с исходной примерно наполовину, на фоне продолжающегося раздражения двигательных корешков начинают раздражать симпатический пограничный ствол. Раздражение пограничного ствола производят током достаточной силы в течение не менее 30-60 с (рис. 3.2).



Рис. 3.2. Влияние раздражения симпатического ствола на амплитуду сокращений икроножной мышцы, утомляемой ритмической стимуляцией двигательных корешков:

1 - кривая сокращений икроножной мышцы лягушки; 2 - отметка раздражения двигательных нервных волокон; 3 - отметка раздражения симпатических волокон

Полученная кривая свидетельствует, что под влиянием раздражения иннервирующих мышцу симпатических нервных волокон происходит улучшение работоспособности утомляемой мышцы. Эта реакция улучшения, как правило, развивается в конце периода стимуляции симпатических нервных волокон или после прекращения стимуляции.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте зарегистрированные миограммы в протокол опыта, проанализируйте их. Рассчитайте латентное время, с которым развивается улучшение деятельного состояния икроножной мышцы в ответ на электростимуляцию симпатических цепочек. Сделайте выводы о трофической функции симпатического отдела нервной системы.

Работа 3.2.

«СЕЧЕНОВСКОЕ» ТОРМОЖЕНИЕ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Структуры, участвующие в регуляции сердечной деятельности, представлены на разных уровнях ЦНС (от спинного мозга до коры больших полушарий). В основе их взаимодействия лежит принцип иерархии: каждый более высокий уровень регуляции обеспечивает более высокую степень интеграции деятельности сердечно-сосудистой системы. Особое место в этой иерархии занимают стволовые центры - бульбарный и гипоталамические, которые могут оказывать на сердце посредством парасимпатических нервов тормозное, а посредством симпатических - стимулирующее влияние.

Реализация тормозных влияний на сердце осуществляется при участии ядер блуждающих нервов. Выраженность этих влияний зависит от функционального состояния, например, уровня возбудимости названных ядер, что в значительной мере обусловлено характером афферентных и центрифугальных импульсов, поступающих в продолговатый мозг. В этом легко убедиться экспериментальным путем. Так, раздражая структуры промежуточного мозга у лягушки воздействием кристаллика хлористого натрия, можно вызвать эффект «сеченовского» торможения сердечной деятельности. Причем «сеченовское» торможение работы сердца у таламического животного выражено в большей степени, чем у лягушки с сохраненными большими полушариями. Это объясняется тем, что после удаления больших полушарий повышается возбудимость ядер блуждающих нервов, потерявших связь с передним мозгом, и поэтому развитие «сеченовского» торможения сердечной деятельности облегчается. Раздражение промежуточного мозга у таламической лягушки вызывает более быстрое развитие возбуждения в указанных ядрах, приводя к остановке сердца. Повышение возбудимости ядер блуждающих нервов наблюдается и при ограничении притока импульсов в продолговатый мозг не только из переднего мозга, но и с периферии.

Так, если у нормальной лягушки удалить нижнюю челюсть и тем самым исключить дыхательные движения или перерезать задние корешки спинного мозга, то это влечет за собой повышение возбудимости ядер блуждающих нервов так же, как и после удаления больших полушарий.

Цель работы. Изучить условия проявления и характер тормозных влияний структур головного мозга на работу сердца.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: хлорид натрия (крупные кристаллы), раствор адреналина ($1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл), фильтровальная бумага, эфир и сосуд для наркоза, раствор Рингера для холоднокровных, серфин для сердца, вата, марля, бинты, булавки, нитки, препаровальная дощечка, набор хирургических инструментов, установка для графической регистрации сердечных сокращений.

Задача 1.

«Сеченовское» торможение сердечной деятельности у лягушки с интактным головным мозгом

Ход работы. Лягушку наркотизируют в течение нескольких минут в 3-процентном водном растворе эфира, после чего укрепляют на пробковой дощечке бинтами и булавками брюшком вверх. Фиксируют нижнюю челюсть, приколов ее булавками к дощечке. Затем пинцетом лягушке раскрывают рот, прошивают иглой с длинной нитью мышцы дна ротовой полости вместе с языком и оттягивают нижнюю челюсть назад, закрепляя нить на краю препаровальной дощечки. Строго по средней линии делают разрез слизистой оболочки, выстилающей крышу ротовой полости; отводят края слизистой в стороны и рассматривают обнажившуюся крестообразную основную кость (парасфеноид), через центральную часть которой просвечивают структуры гипоталамуса и хорошо виден красноватый гипофиз. Глазными ножницами перерезают основную кость в нескольких местах, удаляют образовавшуюся костную пластинку. Сняв твердую мозговую оболочку, обнажают гипофиз, серый бугор и зрительную хиазму. Закрывают гипоталамическую область тонкой ватной полоской, смоченной в рингеровском растворе. После этого приступают к обнажению сердца.

Делают T-образный разрез кожи на уровне грудины. Приподняв грудину пинцетом, удаляют ее, широко пересекая ключицы с обеих сторон. Сердце освобождают от перикарда и захватывают его верхушку легким серфином, который посредством вертикально идущей тонкой нити соединяют с миографическим рычажком. Последний располагают горизонтально над дощечкой с лягушкой. Во избежание ошибок при

оценке ритма сердечной деятельности необходимо, чтобы скорость вращения барабана кимографа была постоянной на протяжении всего опыта.

Записывают исходную кардиограмму на барабане кимографа, определяют амплитуду и частоту сокращений сердца. Затем, желательно не прекращая записи, через трепанационное отверстие в основной кости на заранее просушенную фильтровальную бумагой гипоталамическую область промежуточного мозга накладывают кристаллик хлорида натрия. Оставляют соль на поверхности мозга на время, достаточное для развития изменений в работе сердца. На кардиограмме отмечают начало раздражения. Наблюдают, что при воздействии соли деятельность сердца слегка ослабевает, но не прекращается. Удаляют соль, промывают раздраженный участок раствором Рингера. На кардиограмме отмечают момент снятия соли. Постепенно сердечная деятельность восстанавливается.

Повторяют наблюдения, используя для раздражения промежуточного мозга маленький кусочек фильтровальной бумаги, смоченной раствором адреналина в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл.

Задача 2.

«Сеченовское» торможение сердечной деятельности у таламической лягушки

Ход работы. Для приготовления таламического препарата можно использовать предыдущую лягушку, у которой проводят дополнительную препаровку. Острым глазным скальпелем перерезают ствол мозга за хиазмой и удаляют все структуры, лежащие выше перерезки. Образовавшуюся после экстирпации больших полушарий полость в черепе тщательно просушивают и располагают там небольшой ватный тампончик. Через несколько минут приступают к опыту.

Регистрируют фоновую кардиограмму у таламической лягушки, а затем, также как в предыдущей задаче, наблюдают за изменениями сердечной деятельности при аппликации на срез промежуточного мозга хлорида натрия. Отмечают, что у таламической лягушки при наложении кристаллика соли происходит существенное угнетение работы сердца, вплоть до остановки в диастоле (чего нет у лягушки с интактными полушариями). Удаляют соль, промывают мозг и регистрируют кардиограмму в период восстановления.

Повторяют наблюдения с использованием раствора адреналина в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл.

Задача 3.

Торможение сердечной деятельности при ограничении афферентации в центральную нервную систему

Ход работы. Лягушку, слегка наркотизированную в водном растворе эфира, укрепляют на препаровальной доске брюшком кверху. Вскрывают у нее грудную полость, обнажают сердце и, как указано в задаче 1, записывают исходную кардиограмму. Затем раздражают кожу лягушки щипками, наносимыми пинцетом, и регистрируют реакции сердца. Отмечают, что, как правило, остановки сердца при этом не происходит. Удаляют нижнюю челюсть вместе со дном ротовой полости и вновь регистрируют кардиограмму. Повторяют щипки пинцетом и отмечают, что теперь на раздражение кожи часто наступает остановка сердечной деятельности, т.е., уменьшение притока афферентных импульсов в продолговатый мозг путем выключения дыхательных движений диафрагмы рта способствует повышению возбудимости ядер блуждающих нервов, вызывая торможение сердечной деятельности.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте в тетрадь кардиограммы, зарегистрированные при всех условиях опыта. С учетом скорости записи подсчитайте частоту сердечных сокращений и проведите анализ изменений их амплитуды. Объясните механизм «сеченовского» торможения сердечной деятельности и представьте пути его реализации в виде схематичного рисунка. Сделайте выводы о роли отделов ЦНС в регуляции работы сердца.

Работа 3.3.

РЕФЛЕКТОРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДЫХАНИЯ У АМФИБИЙ

Отличительной особенностью аппарата внешнего дыхания амфибий является отсутствие герметически замкнутой грудной полости, что определяет своеобразие их респираторного акта. Дыхательными мышцами у лягушки являются мышцы нижней челюсти (дна ротовой полости), которые выполняют роль диафрагмы и участвуют в осуществлении двух из трех форм дыхания, характерных для этих животных - легочного и ротоглоточного (третья форма - кожное).

В состоянии покоя при условии оптимальной влажности кожи доминирует ротоглоточное (осцилляторное) дыхание, представленное низко-

амплитудными ритмическими колебаниями дна ротовой полости, обеспечивающими обмен газов через слизистую оболочку рта, в сочетании с редкими легочными дыхательными движениями. При повышенной активности животных у них начинает преобладать легочное дыхание. Оно осуществляется за счет высокоамплитудных сокращений ротовой диафрагмы, приводящих к изменению объема легких. Легочное дыхание включает несколько фаз. Дыхательный цикл начинается серией насаживающих (вдоховых) движений, в результате которых легкие наполняются воздухом. Затем наступает короткая пауза, после которой следуют несколько отсасывающих (выдыхательных) движений, уменьшающих объем легких. Им на смену приходят вентилирующие движения, в ходе которых объем легких остается постоянным, но воздух в них частично обновляется. Через определенное время вентилирующее дыхание переходит в насаживающее и начинается очередной цикл.

Переключение вдоха на выдох у лягушки осуществляется рефлекторно по механорецепторному контуру при непосредственном участии афферентации от рецепторов растяжения легких, поступающей в дыхательный центр по волокнам блуждающего нерва. На вдохе легочные механорецепторы возбуждаются, сигналы от них, приходя в дыхательный центр, обрывают вдох: инспираторные движения сменяются экспираторными. Ваготомия, нарушая обратную афферентную связь между легочными рецепторами и респираторным центром, способствует перевозбуждению инспираторных нейронов и установлению чисто вдоховой формы дыхания. Выдох при этом наступает только при чрезмерном переполнении легких воздухом и осуществляется за счет общей двигательной активности животного и механического открывания гортани под влиянием высокого давления воздуха в легких.

Цель работы. Изучить характер внешнего дыхания у лягушки. Выявить роль блуждающих нервов в передаче обратных афферентных влияний от механорецепторов легких в дыхательный центр и смене фаз дыхания.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная дощечка, набор препаровальных инструментов, нитки, вата, бинты, булавки для фиксации животного, раствор Рингера для холоднокровных, эфир, ванночка-почка; миографическая установка с двумя рычажками, один из которых укреплен на капсуле Маррея; тонкая и легкая резиновая трубочка, стеклянная канюля диаметром 3 мм с оттянутым, слегка скошенным концом и хорошо выраженной шейкой (расстояние от шейки до конца 1,5 см).

Задача 1.

Регистрация дыхательных движений у лягушки

Ход работы. Опыт проводят на необездвиженной лягушке, которую с помощью бинтов и булавок укрепляют на препаровальной доске брюшком вверх. На нижней челюсти делают разрез кожи по средней линии. Кожные лоскуты отводят в стороны и фиксируют булавками к доске, обнажая мышцы дна ротовой полости, в том числе поверхностно расположенную широкую подчелюстную мышцу. В центральной части мышцы прошивают ее с помощью тонкой иглы с нитью. Нить завязывают, оставляя один длинный конец для последующего соединения с миографическим рычажком. Обнаженные мышцы периодически смачивают раствором Рингера или прикрывают влажной ватной полоской. Кроме того, необходимо регулярно смачивать водой кожу лягушки.

Затем вскрывают полость тела, находят одно легкое и аккуратно надрезают его верхушку. В отверстие вставляют канюлю и надежно укрепляют ее с помощью лигатуры. После этого животное помещают в экспериментальную установку, которая изображена на рис. 3.3.

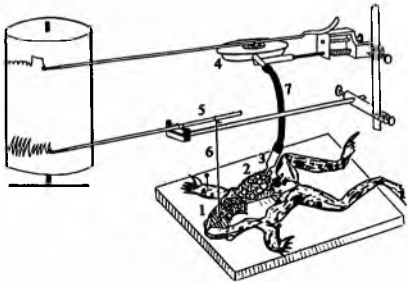


Рис. 3.3. Схема установки для регистрации дыхательных движений у лягушки (по С.В.Сербенюк с соавт., 1975):

1 - мышцы диафрагмы рта, 2 - легкое, 3 - стеклянная канюля, 4 - капсула Маррея, 5 - миографический рычажок, 6 - нить, 7 - резиновая трубка

Дощечку с животным укрепляют в штативе горизонтально. Нить, протянутую через мышцы диафрагмы рта, соединяют с одним из рычажков. Канюлю с помощью резиновой трубочки подсоединяют к капсуле Маррея. Располагают оба рычажка параллельно друг другу (один над другим) и подводят писчики к барабану кимографа. Устанавливают среднюю скорость движения барабана и приступают к регистрации фоновых дыхательных движений и объема легких.

Кривая, отражающая дыхательные движения, состоит из двух типов зубцов, имеющих разную высоту: низкоамплитудные ротоглоточные (осцилляторные) и высокоамплитудные легочные движения (рис. 3.4,а). Причем при насыщающем типе дыхания амплитуда дыхательных движений постепенно повышается, при отсасывающем - понижается, а при вентилирующем - остается на постоянном уровне.

На одновременно записываемой спирограмме видны колебания объема легких, совпадающие по направлению и времени с насыщающими и отсасывающими дыхательными движениями и прекращающиеся при вентилирующем дыхании.

Следует помнить, что при хорошем функциональном состоянии подопытного животного (своевременное увлажнение) преобладают ротоглоточные движения. Чтобы усилить легочное дыхание, следует использовать дополнительное искусственное раздражение, например, ушить кожу животного пинцетом.

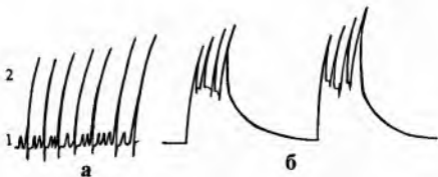


Рис. 3.4. Дыхание у лягушки в исходном состоянии (а) и после двусторонней ваготомии (б):

1 - осцилляторное дыхание, 2 - легочное дыхание

Задача 2.

Рефлекторная регуляция дыхания

Ход работы. Опыт проводят на той же лягушке. Дощечку с животным вынимают из штатива. Лягушке широко раздвигают передние лапки, фиксируют их булавками и с обеих сторон отпрепаровывают сосудисто-нервные пучки, в состав которых входят вагосимпатические стволы (рис. 3.5).

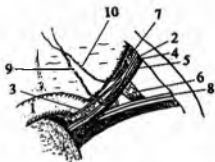


Рис. 3.5. Расположение левого вагосимпатического ствола у лягушки:

1 - дуга аорты; 2 - вагосимпатический ствол; 3 - гортанный нерв; 4 - наружная сонная артерия; 5 - яремная вена; 6 - мышца, поднимающая лопатку; 7 - глотательная мышца; 8 - плечевой нерв; 9 - подъязычный нерв; 10 - языкоглоточный нерв

Сосудисто-нервный пучок у лягушки расположен в углублении между углом нижней челюсти, плечевым суставом и сердцем (в подключичной ямке). Ямка может быть прикрыта сверху соединительнотканными пленками и пучками мышц, которые следует раздвинуть стеклянными крючками или даже слегка подрезать, стараясь не повредить кровеносные сосуды. После открытия ямки становится хорошо видна веерообразная мышца-подниматель лопатки, широким концом направленная к голове животного, а узким - к плечевому нерву. Вверху эту мышцу пересекает узкий глотательный мускул, над которым и лежит сосудисто-нервный пучок. Его определяют по темной окраске вены, идущей в виде тонкой нити вдоль всего пучка.

Пучок проходит по краю дна рта от угла нижней челюсти к сердцу. Несколько ниже пучка под острым, а иногда прямым углом к нему подходит толстый белого цвета плечевой нерв. Удобным ориентиром для нахождения пучка служат языкоглоточный и подъязычный нервы, проходящие поверхностно вдоль диафрагмы рта. На некотором расстоянии выше пучка эти нервы сходятся под острым углом, образуя вершину треугольника, боковыми сторонами которого служат они сами, а основанием - сосудисто-нервный пучок.

Языкоглоточный нерв заходит в сосудисто-нервный пучок и лежит в нем сверху, являясь наиболее толстым нервным стволом. Подъязычный нерв пересекает пучок вблизи сердца.

В дистальном участке сосудисто-нервного пучка от блуждающего нерва отделяется тонкая ветвь - гортанный нерв, иннервирующий мускулатуру гортани. При его повреждении происходит паралич гортанных мышц и легочные дыхательные движения становятся невозможными.

Стараясь не повредить гортанные нервы и не захватить кровеносные сосуды, под каждый вагосимпатический ствол ниже отхождения гортанной ветви подводят тонкую лигатуру, но не завязывают ее.

Затем вновь укрепляют дощечку с оперированным животным в штатив и налаживают запись дыхания. Регистрируют дыхательные движения у лягушки в течение времени, достаточного для записи всех типов легочного дыхания. После этого проводят двустороннюю ваготомию. Приподняв вагосимпатические стволы с помощью лигатур, аккуратно перерезают их, стараясь не повредить проходящие рядом кровеносные сосуды и гортанные нервы.

После двусторонней ваготомии дыхание у лягушки приобретает чисто инспираторный характер, при котором группы насасывающих движений чередуются с паузами (рис. 3.4,б). Причем в группу входят несколько вдохов, каждый последующий интенсивнее предыдущего. Легкие при этом сильно раздуваются, что соответствует резкому повышению амплитуды волн на спирограмме.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте в тетрадь кривые с записью дыхательных движений у лягушки до и после ваготомии. Проанализируйте кривые дыхания в норме, отметьте разные типы дыхания и опишите их. Укажите изменения, наступающие в характере дыхания после перерезки блуждающих нервов, объясните механизм наблюдаемых реакций. Сделайте выводы.

Работа 3.4.

РЕФЛЕКТОРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ЖЕЛУДКА

Моторная активность желудка обеспечивается его гладкомышечными волокнами, для которых характерны два типа сократительных процессов - медленные затяжные (тонические) и периодически возникающие ритмические (фазные) сокращения. Тонические сокращения обусловлены асинхронной сократительной активностью отдельных миоци-

тов. Известную роль в создании их тонуса играют редкие импульсы, поступающие по вегетативным нервным волокнам, а также растяжение желудочной стенки пищевыми массами.

В основе фазных сокращений желудка лежит автоматия его гладкомышечных клеток. Автоматия проявляется медленными ритмическими колебаниями мембранного потенциала, на фоне которых при достижении критического уровня деполяризации возникают спайковые потенциалы действия, вызывающие сокращение клетки (рис. 3.6). Сила фазных сокращений зависит от амплитуды и частоты потенциалов действия. Частота фазных сокращений совпадает с ритмом медленной автоматической активности клеток. Увеличение частоты медленных волн при наличии на них многочисленных потенциалов действия способствует развитию длительных сокращений типа зубчатого или гладкого тетануса.

Ритмические сокращения гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта подразделяются на перистальтические, сегментирующие и маятникообразные. Для желудка наиболее типичны перистальтические движения.

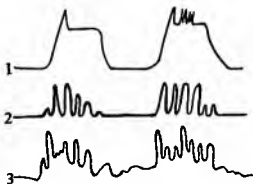


Рис. 3.6. Электрическая и сократительная активность гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта :

- 1 - медленные волны деполяризации миоцита и накладывающаяся на плато спайковая активность (внутриклеточная регистрация);
- 2 - фазные сокращения гладкомышечных клеток циркулярного слоя, не сопровождающиеся изменением базального тонуса;
- 3 - сокращения, включающие фазные и тонические компоненты

Моторика желудка регулируется центральными нервными и местными гуморальными механизмами. Центральные нервные влияния реализуются посредством вегетативных нервов. Слои гладкомышечной стенки желудка имеют двойную вегетативную иннервацию - парасимпатическую (блуждающий нерв) и симпатическую (чревный нерв). Ацетилхолин, выделяемый окончаниями парасимпатических волокон, оказывает возбуждающее действие на мускулатуру желудка. Взаимодейст-

вля с мембраной мышечной клетки, ацетилхолин деполяризует ее и увеличивает частоту и амплитуду спайковых потенциалов и, соответственно, интенсивность ритмических сокращений. При возбуждении симпатических нервов из их окончаний секретируются норадреналин и адреналин, которые вступают в контакт с тормозными α - и β -адренорецепторами на мембране гладкомышечной клетки и гиперполяризуют ее. В результате снижаются тонус и двигательная активность желудка. Но в то же время возбуждение адренергических волокон стимулирует сокращение желудочных сфинктеров, что, возможно, связано с активацией возбуждающих α -адренорецепторов клеточной мембраны.

Наряду с торможением адренергической природы в желудочно-кишечном тракте признается наличие неадренергического торможения, возможным медиатором которого является вазоактивный интестинальный пептид (ВИП). Тормозные нейроны, опосредующие этот вид торможения возбуждаются, по-видимому, окончаниями преганглионарных парасимпатических волокон, которые одновременно активируют интрамуральные холинергические нейроны. Именно этим можно объяснить тот факт, что электрическое раздражение волокон блуждающего нерва может оказывать на моторику желудочно-кишечного тракта как стимулирующее, так и ингибирующее влияния.

Кроме того, в регуляции двигательной активности гладкой мускулатуры желудка участвуют рефлексy, реализующиеся через интрамуральную иннервацию, а также многие биологически активные вещества, в том числе тканевые гормоны. В частности, возбуждающе на моторику желудка действует мотилин. Гастрин и холецистокинин в физиологических концентрациях усиливают двигательную активность антрального и тормозят сокращения фундального отделов желудка. Тормозящим эффектом обладают энкефалины, соматостатин, ВИП, гастроингибирующий пептид.

Цель работы. Изучить характер и нейромедиаторные механизмы влияний нервной системы на моторную функцию желудка.

Объект исследования - лягушка.

Материалы и оборудование: препаровальная досочка, набор препаровальных инструментов, кимограф, миограф (рычажок Энгельмана с вертикальным отростком), универсальный штатив, раздражающие биполярные погружные электроды, электростимулятор, нитки, бинты, булавки, вата, раствор Рингера для холоднокровных, растворы ацетилхолина ($1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл), адреналина ($1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ мг/мл) и атропина ($1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл), ванночка-почка, стеклянные стаканчики (3 шт.), мерная пипетка с резиновой грушей.

Задача 1.

Подготовка лягушки к опыту и регистрация спонтанных сокращений желудка

Ход работы. Опыт выполняют на лягушке, обездвиженной обычным бескровным способом. Обездвиженное животное прикрепляют булавками к препаровальной пластинке брюшком кверху и отпрепаровывают с одной стороны вагосимпатический ствол. С этой целью разрезают кожу и раздвигают мышцы в области подпочечной ямки и, руководствуясь указаниями, содержащимися в работе 3.3, находят сосудисто-нервный пучок, в составе которого проходит вагосимпатический ствол. Осторожно освобождают весь пучок от окружающих тканей и берут его на лигатуру целиком, не отделяя вагосимпатического ствола.

Затем примерно в середине левой стороны брюшка делают продольный разрез длиной 1,0-1,5 см и осторожно обнажают желудок, стараясь не повредить брыжейку и проходящие в ней кровеносные сосуды. При нарушении целостности этих сосудов и, следовательно кровоснабжения желудка, его двигательная активность заметно ослабевает. Вынимают желудок из полости живота. Находят границы желудка с пищеводом и кишечником и прокалывают желудок в указанных местах двумя энтомологическими булавками. Фиксируют желудок с помощью этих булавок на препаровальной доске рядом с брюшком животного. При этом желудок должен быть свободно подвешенным на булавках в виде полукруга и не касаться поверхности доски. В центре этого полукруга с наружной стороны большой кривизны прошивают стенку желудка тонкой кишечной иглой, лигатуру завязывают, оставляя свободным один длинный конец нити.

Закрепляют дощечку с животным в универсальном штативе горизонтально (можно расположить ее на препаровальном столике с регулируемой высотой) примерно на одном уровне с регистрирующим миографическим рычажком. Соединяют нить, идущую от желудка, с вертикальным отростком рычажка Энгельмана. При этом нить должна идти параллельно писчику, но не касаться ни его, ни препаровальной дощечки (рис.3.7).

Точки фиксации желудка булавками и точка прикрепления нити к желудку при натяжении ее писчиком должны составлять угол с вершиной в середине желудка. Только при таком способе фиксации будут регистрироваться сокращения кольцевых и продольных мышц желудка. Во время опыта необходимо регулярно увлажнять раствором Рингера желудок, брыжейку и нервный ствол.

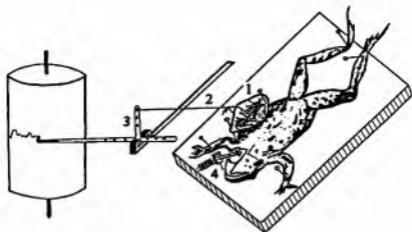


Рис. 3.7. Схема регистрации движений желудка у лягушки (по С.В.Сербенюк с соавт., 1975):

1 - желудок, 2 - нить, соединяющая желудок с миографом; 3 - вертикальный отросток миографического рычажка; 4 - стимулирующие электроды в области вагосимпатического ствола

Устанавливают самую малую скорость вращения барабана кимографа (1-2 мм/с) и в течение нескольких минут записывают спонтанную двигательную активность желудка, которая имеет вид медленных волн сокращений различной конфигурации и амплитуды. Если у экспериментального животного желудок пуст, то его периодическая двигательная активность выражена слабо. Ее можно усилить, введя в желудок небольшое количество воды или физиологического раствора (около 1,0 мл). Это делают с помощью пипетки, которую вводят через рот в пищевод по направлению к желудку. Такая процедура способствует растяжению гладкомышечной стенки желудка, что вызывает усиление его сокращений. На кимограмме делают отметку, соответствующую моменту наполнения желудка водой.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте полученные кимограммы в протокол опыта. Проанализируйте спонтанные движения желудка (ритм, амплитуду, конфигурацию и вариабельность сократительных волн).

Задача 2.

Изучение влияния блуждающего нерва на моторную функцию желудка

Ход работы. Укрепляют на препаровальной дощечке рядом с лягушкой раздражающие электроды, соединенные с выходом электростимулятора, и подводят их под вагосимпатический ствол. Записывают кривую сокращений желудка до, во время и после раздражения вагуса. Блуждающий нерв раздражают короткими сериями импульсов, включая стимулятор только в период спада спонтанной активности мышц желудка. Раздражение прекращают в тот момент, когда на записи начинается крутой подъем кривой сокращения. Как правило, после раздражения в течение некоторого времени вся линия записи оказывается выше исходного уровня и снижается очень медленно. Этот эффект обусловлен повышением тонуса желудочных мышц. На фоне тонической активности хорошо выделяются ритмические сокращения желудка. Обращают внимание, что после стимуляции блуждающего нерва ритм сокращений становится более стабильным и частым (рис. 3.8).

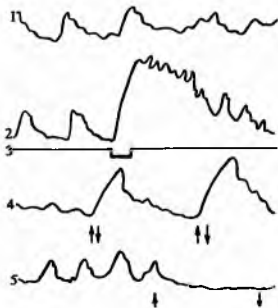


Рис. 3.8. Запись двигательной активности желудка лягушки (по С.В.Сербенюк с соавт., 1975):

1 - спонтанные сокращения желудка в исходном состоянии; 2 - сократительная активность желудка при раздражении блуждающего нерва; 3 - отметка раздражения блуждающего нерва; 4 - сокращения желудка при аппликации раствора ацетилхолина; 5 - сокращения желудка при аппликации раствора адреналина (время действия экзогенных медиаторных веществ отмечено стрелками)

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте кимограммы в тетрадь. Проанализируйте характер изменений двигательной активности желудка при раздражении блуждающего нерва. Рассчитайте длительность латентного периода реакции и последствия. Сделайте выводы о механизме влияния парасимпатической нервной системы на сократительную функцию гладких мышц желудка.

Задача 3.

Изучение действия ацетилхолина, адреналина и атропина на моторную функцию желудка

Эти дополнительные наблюдения с воздействием фармакологических веществ рекомендуется провести с целью понимания нейромедиаторных механизмов, опосредующих влияние вегетативных нервов на моторику желудка.

Ход работы. Опыт проводится на той же лягушке. После прекращения перистальтических движений, вызванных электростимуляцией вагосимпатического ствола, на желудок апплицируют 2-3 капли раствора ацетилхолина в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл. Регистрируют усиление сократительной функции желудка на кимографе в течение некоторого времени.

Тщательно отмывают желудок физиологическим раствором от ацетилхолина. Затем на фоне отчетливых сокращений желудка апплицируют на его поверхность 2-3 капли раствора адреналина в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ мг/мл. При этом следует избегать попадания адреналина на брюжейку, чтобы не вызвать сужения кровеносных сосудов. Регистрируют на кимографе изменения моторики желудка в виде угнетения спонтанных ритмических сокращений и падения тонуса его гладкой мускулатуры. После этого отмывают желудок и в течение необходимого времени регистрируют восстановление его моторики.

После отмывания от адреналина и восстановления фоновой активности желудка наносят на его поверхность 2-3 капли раствора атропина в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл. При этом ведут запись моторики желудка на самой медленной скорости. Через 5 мин, не отмывая желудка, раздражают блуждающий нерв электрическим током. Обращают внимание, что парасимпатический эффект не проявляется, но зато происходит некоторое падение тонуса гладкой мускулатуры желудка и торможение его двигательной функции.

Рекомендации к оформлению работы. Вклейте полученные кимограммы в тетрадь и проведите их анализ. Отметьте характер реакций

гладких мышц на воздействие экзогенного ацетилхолина. Обратите внимание на сходства и различия в эффектах электростимуляции блуждающего нерва и непосредственного воздействия ацетилхолина на желудок.

Проанализируйте характер и механизмы тормозного влияния адреналина на желудок. Рассчитайте латентное время и продолжительность тормозного эффекта адреналина. Объясните механизм действия атропина на моторику желудка. Сделайте выводы о нейромедиаторном обеспечении и характере влияния симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы на моторную функцию желудка.

ТЕСТИРОВАНИЕ РЕФЛЕКТОРНЫХ РЕАКЦИЙ У ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Работа 4.1.

НЕВРОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ РЕФЛЕКСОВ У ЧЕЛОВЕКА

Изучение рефлекторной деятельности ЦНС у человека проводят, наблюдая характер и воспроизводимость некоторых врожденных рефлексов, отличающихся значительным постоянством. В отдельных случаях рефлексы бывают усилены, ослаблены или извращены. Изменения в характере рефлекторных реакций могут быть обусловлены нарушениями, локализованными как в периферических звеньях рефлекторной дуги, так и в структурах спинального и супраспинального уровней ЦНС. Как правило, анализируют рефлексы, имеющие важное значение для сохранения, поддержания позы и равновесия, которые осуществляются на основе нервных механизмов срочного действия, т.е. с участием минимального числа нейронных цепей.

Особенно часто в диагностических целях используют рефлексы, реализующиеся посредством дву- и трехнейронных рефлекторных дуг. К этой категории относятся моносинаптические мышечные рефлексы растяжения, иначе называемые *миотатическими*. Моносинаптические рефлексы растяжения, вызываемые постукиванием по сухожилию, получили название Т-рефлексов. Наиболее известными примерами таких рефлексов являются пателлярный, ахиллов и др. В лабораторной и клинической практике моносинаптический рефлекс растяжения можно вызвать электрической стимуляцией мышечных афферентных нервов. Такая форма миотатического рефлекса называется Н-рефлексом (P.Hoffmann).

Регистрация Т- и Н-рефлексов является тестом на интактность двигательных рефлекторных дуг и в случае необходимости может допол-

няться другими диагностическими методиками. На практике проводят последовательное тестирование мнотатических рефлексов, замыкающихся через разные сегменты спинного мозга, что позволяет наиболее точно определить локализацию патологического процесса в ЦНС. При этом важными показателями являются сила рефлекса, наличие разницы между рефлексами с правой и левой сторон, а также аномалии некоторых рефлексов при сравнении их с общим поведением.

Важное клиническое значение имеют реакции глаз. Так, *зрачковые рефлексы* используют в качестве диагностического признака, по которому можно выявить поражения, локализованные не только в сетчатке или зрительном нерве, но и в глазодвигательной зоне мозгового ствола или шейном отделе спинного мозга. Кроме того, по реакциям зрачка можно определить поражения областей, через которые проходят и переключаются вегетативные пре- и постганглионарные двигательные волокна мышц радужной оболочки (глубокие области шеи, клиновидная кость, глазница). Изменением характера вегетативной иннервации мышц радужной оболочки объясняется также зависимость диаметра зрачка от возраста, эмоционального состояния, наркоза, напряжения внимания и степени утомления. По двигательным реакциям глаз (содружественные, вергентные, вращательные движения) можно выявить параличи глазных мышц, обусловленные поражением иннервирующих их нервов или соответствующих структур ЦНС. Мышцы глаза человека иннервируются глазодвигательным, блоковым и отводящим нервами, мотонейроны которых сгруппированы в ядра, локализованные в стволе мозга. Деятельность этих мотонейронов контролируется, главным образом, нервными клетками, связанными с ретикулярной формацией варолиева моста и среднего мозга.

Функциональное состояние центральных механизмов регуляции вегетативных функций можно тестировать, наблюдая собственные и сопряженные рефлекторные реакции внутренних органов. К примеру, в плане анализа сердечно-сосудистой регуляции используют баро- и хеморецепторные рефлексы, рефлексы на ишемию и другие, характерной чертой которых является быстрое развитие (время рефлекса составляет всего несколько секунд).

Наибольшее диагностическое значение и клиническое применение имеет *синокаротидный барорефлекс*. Рефлекс заключается в том, что при ударе или надавливании на область каротидного синуса происходит быстрое возбуждение барорецепторов сосудистой стенки, афферентные импульсы от которых, поступая в продолговатый мозг и другие отделы ЦНС, тормозят симпатические сосудодвигательные центры и одновременно повышают тонус парасимпатического сосудистого и кардиоингибирующего центров. В результате наблюдается снижение

артериального давления и частоты сердечных сокращений. В случаях с выраженным атеросклерозом, в частности у пожилых людей, при подобном раздражении каротидной зоны возможны резкое падение давления крови и временная остановка сердца с потерей сознания (синдром каротидного синуса). Обычно через 4-6 с сердечная деятельность восстанавливается, причем сначала сердце работает в ритме атриовентрикулярного узла, а лишь затем устанавливается обычный синусовый ритм. Синокаротидный рефлекс можно использовать для нормализации ритма сердечных сокращений при приступах пароксизмальной тахикардии (резко усиленного пульса), а также для лечения больных с гипертонией, не поддающейся медикаментозной терапии.

При исследовании рефлекторных реакций человека следует учитывать ряд существенных моментов. Так, многие рефлексы, осуществляемые нижележащими отделами ЦНС, модифицируются влияниями высших центров. В этой связи при наблюдении сегментарных рефлексов экспериментатор должен отвлечь внимание испытуемого от процедуры, попросить его полностью расслабиться как физически, так и психически. Кроме того, следует подбирать такие тесты и проводить их таким образом, чтобы максимально ограничить доступ информации к испытуемому через те органы чувств, которые не имеют биологического значения для осуществления изучаемого рефлекса.

Цель работы. Ознакомиться с характером и механизмами реализации клинически важных рефлексов у человека.

Материалы и оборудование: неврологический молоточек, спирт, вата, стерильные марлевые или полотняные салфеточки, 1-процентный раствор хлорида натрия, спирт, термометр лабораторный, ледяная вода (0°C), секундомер, большой лабораторный тазик, тонометр, фонендоскоп, электрокардиограф, линейка, кушетка.

Задача 1.

Наблюдение миотатических рефлексов

Ход работы. При выполнении работы студенты поочередно друг на друге отрабатывают методику воспроизведения рефлексов растяжения, наблюдают за характером рефлекторных реакций справа и слева

Коленный (пателлярный) рефлекс. Испытуемого сажают на высокий стул так, чтобы его ноги свободно свешивались или были положены одна на другую (при этом испытуемый не должен напрягаться) и ударяют неврологическим молоточком по сухожилию ниже коленной чашечки (рис. 4.1,а), вызывая кратковременное растяжение четырехглавой мышцы бедра. Удар приводит к сокращению данной мышцы-

разгибателя, в результате чего нога подбрасывается кверху. Если коленный рефлекс (или другие рефлексы нижних конечностей) ослаблены, то его можно усилить, попросив испытуемого сцепить перед грудью пальцы рук и пытаться тянуть их в разные стороны или нажимать на руку другого человека (прием Ендрассика). Развиваемое при этом усилие вызывает облегчающую активацию мотонейронов спинного мозга и должно стимулировать рефлекторную реакцию растягиваемой мышцы. После этого приема исследование повторяют.

Ахиллов рефлекс. Испытуемого просят встать на колени на стуле так, чтобы его ступни не имели опоры (свешивались). Резко ударяют молоточком по ахиллову сухожилию (рис. 4.1,б) и наблюдают движение (разгибание) ступни, вызываемое сокращением икроножной мышцы.

Рефлекторная реакция двуглавой мышцы плеча. Просят испытуемого сесть перед экспериментатором и положить руку на стол, расслабив ее. Экспериментатор подставляет ладонь своей левой руки под локоть испытуемого и придерживает его предплечье, положив большой палец на сухожилие бицепса (рис. 4.2,а). Затем экспериментатор ударяет молоточком по своему пальцу и отмечает напряжение сухожилия и сгибание предплечья в локтевом суставе в результате сокращения двуглавой мышцы.

Рефлекторная реакция трехглавой мышцы плеча. Экспериментатор левой рукой располагает и поддерживает верхнюю часть руки (плечо) испытуемого в горизонтальном положении так, чтобы его предплечье было свободно опущено вниз (рис.4.2, б). Слегка ударяют молоточком по сухожилию трехглавой мышцы над локтевым сгибом чуть выше локтевого отростка и обращают внимание на движение руки (разгибание в локтевом суставе).

Надбровный рефлекс. Просят испытуемого сесть на стул и расслабиться. Легко ударяют неврологическим молоточком по краю надбровной дуги. В ответ происходит смыкание век. В осуществлении рефлекса участвуют афферентные волокна глазничного нерва (1-я ветвь п. trigeminus), чувствительное ядро тройничного нерва, двигательное ядро лицевого нерва, лицевой нерв (п. facialis). Эффектор - вековая часть круговой мышцы глаза.

Рефлекс закрывания рта (ментальный, нижнечелюстной). Сажает испытуемого на стул, просят расслабиться и слегка приоткрыть рот. Затем начинают легко постукивать по подбородку. В ответ происходит реакция закрывания рта. В рефлексе участвуют чувствительные волокна нижнечелюстного нерва (3-я ветвь п. trigeminus), чувствительное ядро тройничного нерва и его двигательное ядро в варолиевом мосту, двигательные волокна нижнечелюстного нерва. Эффектор - жевательные мышцы.

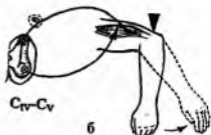
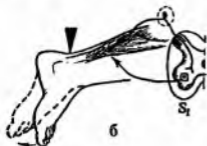


Рис. 4.1. Схемы рефлекторных дуг миотатических рефлексов:
а- коленный, б- ахиллов

Рис. 4.2. Методики воспроизведения рефлексов двуглавой (а) и трехглавой (б) мышц плеча

Рекомендации к оформлению. Проведите анализ наблюдаемых рефлексов. Отметьте их характер и воспроизводимость. Зарисуйте схемы рефлекторных дуг. Укажите клиническое значение изучаемых рефлексов. Сделайте выводы.

Задача 2.

Изучение рефлекторных реакций на раздражение кожи

Подожвенный рефлекс. Просят испытуемого лечь на кушетку на спину и обнажить ступни. Наносят на кожу ступни ближе к внутренней стороне штриховые раздражения специальной палочкой или тупым карандашом. В ответ происходит сгибание пальцев к ступне. Это флексорный тип подошвенного рефлекса (рис. 4.3,а). Если же большой палец поднимается вверх, а остальные пальцы раздвигаются, то такая реак-

ция называется экстензорным типом подошвенного рефлекса или рефлексом Бабинского.

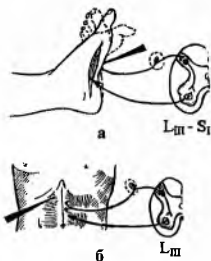


Рис. 4.3. Методика воспроизведения и схемы рефлекторных дуг кожных рефлексов, имеющих диагностическое значение:

а - подошвенный, б - брюшной

наносит штриховое раздражение на кожу внутренней поверхности бедра. В ответ происходит рефлекторное сокращение мышцы-кремастера.

Рекомендации к оформлению. Зарисуйте в тетради схемы рефлекторных дуг наблюдаемых рефлексов. Проанализируйте характер рефлексов, укажите их диагностическое значение. Сделайте выводы.

Наличие рефлекса Бабинского у бодрствующего человека указывает на нарушение кортико-спинальных волокон. Однако этот рефлекс является нормой для детей в течение первого года жизни, когда волокна пирамидных путей еще не сформировались окончательно и находятся на стадии миелинизации. У здорового взрослого человека рефлекс Бабинского можно наблюдать во время глубокого сна.

Брюшной рефлекс. Просят испытуемого встать и наносят ему достаточно сильное штриховое раздражение на кожу правой или левой стороны живота (рис. 4.3,б). Наблюдается рефлекторное сокращение брюшных мышц, в результате чего происходит смещение пупка в ту сторону, на которую нанесено раздражение.

Кремастерный рефлекс. Пациента укладывают на спину на кушетку и

Задача 3.

Наблюдение рефлекторных реакций глаз

Прямой зрачковый рефлекс. Сажают испытуемого лицом к свету (окну). Через 2-3 мин отмечают, измеряя с помощью линейки, ширину окрашенной части радужной оболочки и зрачка. Обращают внимание на размеры зрачков обоих глаз, которые в норме должны быть одинаковыми. В некоторых случаях размеры зрачков правого и левого глаз бывают различны (анизокория), что может быть обусловлено односто-

ронним поражением симпатических или парасимпатических нервных волокон, иннервирующих гладкую мускулатуру глаза (рис. 4.4). Нарушение симпатической иннервации вызывает сужение зрачка (миоз) и одновременное сужение глазной щели (симптом Горнера). Расширение зрачка (мидриаз) связано с параличом парасимпатических волокон глазодвигательного нерва.

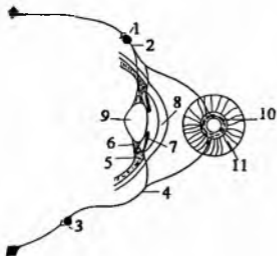


Рис. 4.4. Схема иннервации радужной оболочки и цилиарной мышцы:

- 1 - цилиарный ганглий;
- 2 - цилиарные (парасимпатические) нервы; 3 - верхний шейный симпатический узел;
- 4 - симпатические нервы;
- 5 - цилиарная мышца;
- 6 - волокна капсулы хрусталика; 7 - радужная оболочка;
- 8 - роговица; 9 - хрусталик;
- 10 - кольцевая мышца радужной оболочки; 11 - радиальная мышца радужной оболочки

Прикрывают обеими руками глаза испытуемого на 20 с и просят в это время представить, что он смотрит на удаленный предмет. Затем убирают руку от одного глаза и отмечают, как при этом изменяется размер его зрачка, а потом проделывают то же самое с другим глазом. Наблюдаемая при этом реакция представляет собой прямой рефлекс зрачка на свет.

Содружественный зрачковый рефлекс. Испытуемому, сидящему перед окном, закрывают оба глаза руками. Затем, встав сбоку, чуть-чуть приоткрывают один его глаз так, чтобы экспериментатор мог видеть зрачок, но не настолько, чтобы в глаз попадал свет из окна. После этого снимают руку со второго глаза и наблюдают, как в результате содружественной реакции на свет, предъявляемый этому глазу, изменится размер зрачка первого глаза, все еще прикрытого рукой.

Содружественные движения глаз. Содружественными движениями глаз называются такие изменения направления взора, когда глаза двигаются вверх, вниз, вправо или влево так, что их зрительные оси оста-

ются параллельными. Движения глаз по вертикали обеспечиваются одновременными сокращениями двух глазодвигательных мышц обеих сторон - нижней косой и верхней прямой (иннервируются III парой черепных нервов); горизонтальное перемещение глаз - функция наружной прямой (иннервируется IV парой черепных нервов) и внутренней прямой (иннервируется III парой черепных нервов) мышц.

Для проверки содружественных движений глаз испытуемого ставят лицом к экспериментатору и предлагают следить обоими глазами за кончиком карандаша, изначально помещаемого на уровне глаз на расстоянии примерно 50 см от лица пациента. Сначала просят зафиксировать взор на карандаше, находящемся в исходной (центральной) позиции, а затем начинают быстрыми движениями перемещать карандаш вверх, вниз, вправо, влево. Наблюдают за двигательными реакциями глазных яблок (рис. 4.5, б и в).

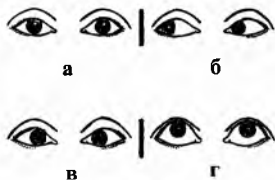


Рис. 4.5. Содружественные и вергентные движения глаз:

а - исходное положение глаз в норме, б - содружественные движения по горизонтали вправо; в - конвергентные движения (при рассматривании близко расположенного предмета); г - содружественные движения по вертикали вверх

Реакция конвергенции (аккомодации). Конвергенцией называется сведение зрительных осей обоих глаз при рассматривании близких предметов, что достигается сокращениями обеих внутренних прямых мышц глаза. Конвергенция всегда сопровождается реакцией аккомодации хрусталика, адекватным стимулом для которой является нечеткость изображения на сетчатке, фиксируемая нейронами фовеальной проекционной зоны в зрительной коре мозга. Другой сопутствующей реакцией при конвергенции является сужение зрачка, что также способствует максимальной четкости изображения на сетчатке.

Для наблюдения реакции конвергенции испытуемого поворачивают лицом к удаленной слабо освещенной стене и просят его сначала смотреть на стену (или фиксировать взглядом какой-либо удаленный предмет), а затем перевести взгляд на предмет (карандаш или палец экспериментатора), помещаемый на расстоянии 15-30 см от глаз пациента и

чуть выше их уровня (чтобы верхние веки были приподняты). Наблюдают за изменениями зрачков и смещением глазных яблок к назальным краям глазниц (рис. 4.5,г).

Реакция дивергенции. При смене ближней точки фиксации взгляда на более удаленную происходит расхождение зрительных осей, осуществляемое посредством сокращения наружных прямых мышц глаза (иннервируются IV парой черепных нервов) и называемое дивергенцией, а также расширение зрачков.

Как и в предыдущем опыте, ставят испытуемого так, чтобы лицо его было обращено в сторону отдаленной неосвещенной стены комнаты. Экспериментатор помещает на расстоянии 15-30 см перед глазами пациента карандаш (или свой палец) и просит сфокусировать взгляд на кончике карандаша, а затем перевести его на стену. Наблюдают за дивергенцией глаз (глазные яблоки смещаются к темпоральным углам глазниц) и изменением диаметра зрачков.

Дополнительное задание. Просят испытуемого перевести взор с удаленного объекта в правой части поля зрения на расположенный близко предмет в левой части поля зрения (или наоборот). В этом случае вергентные и содружественные двигательные реакции глаз выполняются одновременно.

Вращательные движения глаз во фронтальной плоскости. Вращательные движения глаз во фронтальной плоскости в норме сопровождаются наклоном головы в ту или другую сторону и осуществляются за счет прямых связей между нейронами вестибулярных ядер, мотонейронами глазных мышц и нейронами ретикулярной формации среднего мозга и моста, регулирующими направление взгляда (вестибуло-окулярные рефлексы). При патологическом возбуждении нейронов вестибулярных ядер у бодрствующего человека могут возникать спонтанные вестибулярные нистагмы.

Просят испытуемого совершать попеременно наклоны головы вправо и влево сначала медленно, а затем в более быстром темпе и наблюдают за характером движения глаз. Обращают внимание, что даже в тех случаях, когда наклоны головы выполняются быстро и на значительный угол, угол поворота глазных яблок не намного превышает 10° .

Роговичный рефлекс. Рефлекторная реакция с роговой оболочки (и конъюнктивы) относится к экстероцептивным рефлексам. Ее рефлекторная дуга, за исключением рецепторного звена, та же, что у надбровного рефлекса.

Сажают испытуемого на стул и осторожно прикасаются уголком чистой марлевой салфетки (мягкой фильтровальной бумаги или носового платка) к периферической части роговицы над радужной оболоч-

кой. Веки сразу закрываются, а при более сильном раздражении выступают слезы.

Рекомендации к оформлению. Опишите характер наблюдаемых рефлексов глаз, укажите, какие отделы ЦНС отвечают за их осуществление. Объясните нервные механизмы содружественных и вергентных движений, реакции аккомодации при рассматривании близких предметов и изменения диаметра зрачка при воздействии света. Постройте схемы рефлекторных дуг. Сделайте выводы.

Задача 4.

Наблюдение рефлекторных реакций сердечно-сосудистой системы

Рефлекс, вызываемый раздражением каротидного синуса. Для проведения опыта необходимо участие трех человек - испытуемого и двух наблюдателей. Испытуемого кладут на спину на кушетку, просят полностью расслабиться. Нашупывают пульсирующую сонную артерию, проходящую в глубине шеи у переднего края грудинно-ключично-сосцевидной мышцы, и каротидный синус (область бифуркации общей сонной артерии), расположенный на уровне верхнего края щитовидного хряща. Пальпаторно подсчитывают пульс в сонной артерии, а также в обеих лучевых артериях, и методом Короткова измеряют артериальное давление крови. Затем с одной стороны шеи плотно прижимают сонную артерию в области бифуркации к позвоночнику всего лишь на 2 с. Отмечают изменения (замедление) частоты пульса в самой сонной артерии и одновременно в лучевых артериях, а также снижение артериального давления.

Повторяют эксперимент, регистрируя электрокардиограмму. По электрокардиограмме определяют изменения частоты сердечных сокращений (с учетом длительности интервалов R-R), а также латентный период и продолжительность рефлекторной реакции с барорецепторов каротидного синуса.

Изменение артериального давления крови под действием холода. Этот тест используют для оценки реакции вегетативной нервной системы на интенсивное холодовое раздражение одной руки.

Сажают испытуемого на стул и в течение нескольких минут измеряют у него на одной руке через каждую минуту артериальное (систолическое и диастолическое) давление крови методом Короткова и пульс пальпаторно до тех пор, пока их показатели не стабилизируются.

Затем предплечье другой руки испытуемого погружают до кисти в тазик с холодной водой (0°C) на одну минуту. Через 30 и 60 с после по-

гружения измеряют пульс и артериальное давление. Вынимают руку из воды и проводят измерения через каждую минуту до тех пор, пока все показатели не вернуться к исходному уровню. В ходе измерения обязательно фиксируют в протоколе со слов испытуемого его ощущения, в том числе и степень боли. Следует помнить, что у молодых людей систолическое давление в условиях холодной пробы может увеличиваться на 20-30 мм рт. ст. У людей, акклиматизированных к холоду, эта реакция выражена слабее и чувство боли также ослаблено. По всем полученным результатам строят графики.

Дополнительное задание. Проверяют, произойдет ли изменение артериального давления крови после того, как испытуемый выпьет воды со льдом. Объясняют наблюдаемый эффект.

Рекомендации к оформлению. В протоколе укажите характер, продолжительность и латентный период рефлекса с синокаротидной зоны. Приложите электрокардиограммы, зарегистрированные в опыте, проанализируйте их. Зарисуйте схему рефлекторной дуги рефлекса с каротидных барорецепторов. По результатам холодной пробы постройте графики, отражающие колебание пульса и артериального давления крови до, во время и после холодного воздействия. Сделайте выводы.

Работа 4.2.

НЕВРОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ РЕФЛЕКСОВ У ЖИВОТНЫХ

Для изучения функций ЦНС у животных так же, как в неврологических исследованиях на человеке, используют тесты на наличие, воспроизводимость и регулярность ряда врожденных рефлексов. Такие исследования на животных весьма просты, однако они дают достоверную информацию о функциональном состоянии всех уровней спинного и головного мозга в норме, а также могут использоваться для выявления очагов патологии при травмах, заболеваниях или применении фармакологических препаратов, способных повлиять на определенный отдел мозга или ЦНС в целом. В большинстве подобных исследований используют разные рефлексы, вызываемые адекватными раздражителями, воздействующими через соответствующие рецепторы на сегментарные центры, находящиеся под контролем головного мозга.

Иерархия тестируемых уровней ЦНС включает спинной мозг (рефлекс сгибания), продолговатый мозг (рефлексы вздрагивания, роговичный, качания головой), варолиев мост и средний мозг (рефлексы

переворачивания, равновесия, зрачка) и кору больших полушарий (рефлексы постановки лап на опору, хватания, некоторые реакции равновесия).

Тестирование врожденных рефлексов имеет то преимущество, что оно не требует сложного оборудования и может проводиться на необученных животных. Однако все же лучше использовать животных, которые приучались к рукам на протяжении нескольких дней перед опытом. В ходе приручения животное ежедневно (или чаще) должно находиться в контакте с человеком в течение нескольких минут. Для этого животных достают из клетки, помещают на стол, прикасаются к ним, гладят, приподнимают, перемещают с одного места на другое, выпускают из рук и снова берут в руки. После нескольких минут контакта с рукой человека животных обратно помещают в клетку. Важно, чтобы контакт с человеком не вызывал у животных болевых или прочих негативных реакций. Поэтому не следует держать животное за хвост, сдавливать или ущемлять кожу.

Цель работы. Пронаблюдать характер и воспроизводимость произвольных рефлекторных реакций, осуществляемых различными уровнями спинного и головного мозга.

Объект исследования: крыса, морская свинка или кролик.

Материалы и оборудование: демонстрационный столик или доска, пинцет, препаровальная булавка, жесткий металлический прут (1 мм в диаметре, 10-15 см длиной); горячая вода (60-70°C); термометр лабораторный; цилиндр из металлической сетки или плексигласа, соответствующий размерам тела крысы, с отверстием для хвоста; электрическая лампа, обеспечивающая направленный пучок света (например, осветитель микроскопа); источник красного света; мягкий коврик из ваты или полиуретана; платформа из металлической ячеистой сетки; деревянный брусок (2 см в поперечнике и 30 см длиной), укрепленный в штативе; волоски для раздражения роговицы; ручная лупа; прозрачная платформа (стекло, плексиглас) размером 30 на 20 см; зеркало такого же размера; резиновая трубка (внутренний диаметр 1 мм) с грушей; секундомер.

Ход работы. На лабораторных животных наблюдают проявление нижеперечисленных реакций.

Рефлекс сгибания. Бережно поднимите животное за кожу спины и ущемите пальцы задних конечностей пинцетом, уколите иглой или прикоснитесь к подушечкам пальцев горячим металлическим прут (проволочкой, препаровальной булавкой), нагретым в стакане с горячей водой до 60°C.

Ступня немедленно отдергивается и рефлекс сгибания ненадолго сохраняется. Обратите внимание на пропорциональную зависимость выраженности реакции от интенсивности раздражения.

Рефлекс отдергивания хвоста. Рефлекс отдергивания хвоста, осуществляемый на уровне спинного мозга, широко используется в физиологических исследованиях для оценки болевой чувствительности у крыс и мышей.

Животное помещают в горизонтально расположенный цилиндр соответствующих размеров, изготовленный из металлической сетки. Световой пучок большой интенсивности, генерируемый электролампой, фокусируется на хвосте до тех пор, пока не произойдет отдергивание хвоста (т.е., когда температура кожи достигнет критического уровня). Измеряют латентный период реакции отдергивания, который служит показателем болевой чувствительности (болевого порога).

Рефлекс хватания. Держа крысу за переднюю часть туловища на весу, дают ей слегка прикоснуться к жесткой проволоке (прутку). В ответ осуществляется хватание путем сгибания пальцев животного вокруг проволоки (рис. 4.6). При попытке убрать проволоку реакция усиливается.



Рис. 4.6. Рефлекс хватания у крысы (по Я.Бурену и соавт., 1991)

Рефлекс позы. Сажат животное, например морскую свинку, на стол и изучают его естественную позу: передние и задние лапки согнуты и приведены к туловищу, голова ориентирована теменем кверху; голова, шея и туловище располагаются по продольной оси тела.

Взяв животное за мордочку, поднимают его голову вверх. Отмечают, что в этом случае передние лапки животного разгибаются, задние же остаются согнутыми, что обусловлено особенностями позы, типичной для данного вида животных (рис. 4.7). Наблюдаемый рефлекс относится к группе статических.



Рис. 4.7. Разгибание передних лапок морской свинки после подъема головы:
а - исходная поза; б - поза после подъема головы

Выпрямительные рефлексы (рефлексы переворачивания):

1 - берут крысу за пояснично-крестцовую область и держат навесу. Затем наклоняют тело животного вправо и влево. Голова животного поворачивается в противоположную сторону для поддержания первоначального положения;

2 - берут животное за таз, приподнимают и переводят туловище в вертикальное положение головой вниз. Голова сразу устанавливается теменем кверху;

3 - приподнимают животное, держа за плечевой пояс, и поворачивают туловище на 180° так, чтобы спина оказалась снизу и голова расположилась теменем вниз. Придерживают голову в этом положении несколько секунд, а затем освобождают. Животное, стремясь принять первоначальное положение, устанавливает голову теменем вверх (рис. 4.8);

4 - крысу бросают из положения ногами вверх с высоты 40 см на мягкий коврик. Голова животного сразу же располагается теменем кверху, затем последовательно восстанавливается исходное положение передней части туловища, передних лапок, таза, задних лапок. В итоге крыса во время свободного падения переворачивается на 180° и приземляется на четыре лапы;

5 - кладут животное спинкой на плоскую поверхность - оно сразу переворачивается и становится на четыре лапы;

6 - крысу кладут на спину и фиксируют голову рукой. Реакция переворачивания начинается сначала с задних, а затем передних конечностей;



Рис. 4.8. Восстановление естественного положения головы морской свинки после поворота туловища по продольной оси тела на 180° :

a - поворот туловища на 180° , голова зафиксирована; *б* - голова освобождена

7 - осторожно укладывают животное на один бок на стол, прижимая голову и туловище ладонью, затем освобождают голову и плечевой пояс. Голова немедленно устанавливается теменем кверху, а затем выпрямляется передняя часть туловища (рис. 4.9). После этого освобождают заднюю часть туловища. Животное сразу принимает естественную позу, приподнимаясь на лапках и поворачивая туловище на 90° спинкой кверху.

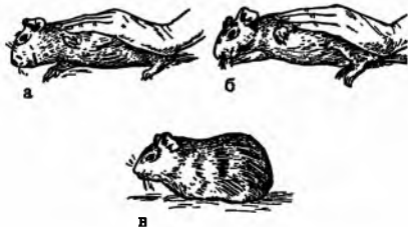


Рис. 4.9. Восстановление естественного положения головы морской свинки после поворота туловища на 90° :

a - туловище повернуто на 90° , голова и туловище прижаты к поверхности стола; *б* - освобождена голова; *в* - освобождена задняя часть туловища

Данная группа врожденных реакций относится к категории статических выпрямительных рефлексов с рецепторов отолитового аппарата, экстерорецепторов кожи, проприорецепторов мышц на мускулатуру шеи, туловища и конечностей и реализуется с участием бульбарного отдела ствола и спинного мозга.

Рефлекс растопыривания пальцев лап:

1 - помещают животное на прозрачную платформу, закрепленную над зеркалом, что позволяет наблюдать за положением пальцев передних и задних лап. Внезапно наклоняют платформу или начинают перемещать ее вверх и вниз. При этом в начале быстрого спуска передние и задние конечности выпрямляются, пальцы лап животного разгибаются и растопыриваются. При внезапной остановке во время спуска конечности сгибаются, голова и туловище прижимаются к платформе (рис. 4.10). Это рефлекс спуска и подъема.

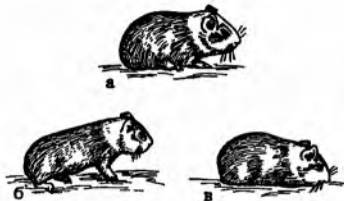


Рис. 4.10. Изменение позы морской свинки во время быстрого спуска: а - исходная, б - в начале быстрого спуска, в - в момент внезапной остановки

2 - приподнимают крысу и удерживают ее в воздухе несколько секунд: лапки у животного полусогнуты и свисают. Затем быстро передвигают крысу по направлению к полу. Отмечают, что во время ее движения передние и задние лапы разгибаются и вытягиваются вперед, а пальцы расходятся веером. Это рефлекс приземления;

3 - помещают крысу на столе и быстро продвигают ее вперед. Конечности вытягиваются, пальцы растопыриваются.

Наблюдаемая группа рефлексов относится к группе статокINETических, возникающих под влиянием линейного ускорения («лифтные реф-

лексы»). Они обусловлены раздражением рецепторов отолитового аппарата и частично рецепторов полукружных каналов.

Рефлексы постановки лап на опору:

1 - крысу приподнимают за туловище и перемещают горизонтально вдоль стола так, чтобы тыльная сторона передних конечностей касалась его края. Передние лапы сразу же становятся на поверхность стола;

2 - поднятую крысу опускают так, чтобы ее подбородок касался края стола. Животное кладет обе передние лапы на стол рядом с подбородком;

3 - крысу держат на краю стола и сдвигают одну переднюю или одну заднюю конечность так, чтобы она свешивалась с края стола (рис. 4.11,а). Лапа немедленно подтягивается на поверхность стола (рис. 4.11,б);

4 - держат крысу за хвост навесу и начинают медленно опускать вниз, пока вибриссы не прикоснутся к краю стола. Животное поджимает голову и протягивает лапы к столу;

5 - животное держат так же, как в предыдущем опыте, но только дальше от края стола, чтобы не было раздражения вибрисс и могли использоваться лишь зрительные сигналы. Животное пытается схватить край стола и делает это, как только он оказывается в пределах досягаемости.

Тестирование равновесия:

1 - устанавливают на столе платформу, изготовленную из металлической сетки и наклоненную под

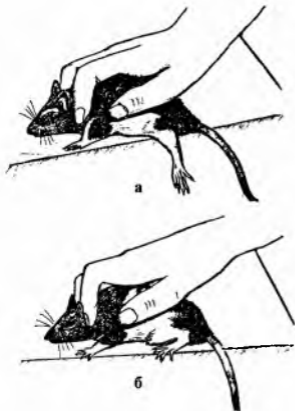


Рис. 4.11. Рефлекс постановки задней конечности на опору у крысы (объяснение дано в тексте)

углом 30° . Помещают на платформу крысу так, чтобы ее голова была обращена вниз. Животное быстро поворачивается головой к верхней части платформы;

2 - крысу помещают на деревянный брусок диаметром 2 см и длиной 30 см, горизонтально закрепленный в штативе на высоте 50 см над поверхностью стола. Животное может просидеть на бруске более 3 мин (рис. 4.12);

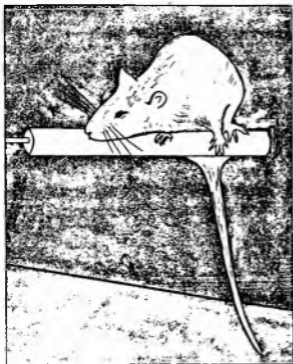


Рис. 4.12. Тест с горизонтальной перекладиной

3 - сажают крысу на брусок так же, как в предыдущем опыте. Затем брусок начинают медленно вращать вокруг собственной оси со скоростью 1 оборот в 10 с. Наблюдают за двигательной реакцией животного.

Роговичный рефлекс. Крысу фиксируют одной рукой и осторожно прикасаются к роговице глаза волоском. Животное тотчас смыкает веки и они остаются закрытыми в течение некоторого времени.

Зрачковый рефлекс. Белую крысу фиксируют в специальном станке и помещают ее голову под увеличительное стекло или операционный микроскоп. Включают красный свет небольшой яркости, позволяющий ясно рассмотреть зрачок.

Затем резко увеличивают интенсивность окружающего света и наблюдают за миотатической реакцией.

Реакция вздрагивания. Помещают крысу на демонстрационную площадку. Дожидаются, пока животное успокоится и перестанет двигаться. Затем подают сильный звуковой раздражитель (громкий хлопок руками, звонок, свисток и т.п.). Крыса реагирует мгновенным вытягиванием задних конечностей, сгибанием передних конечностей и выгиба-

нием спины. При этом глаза животного закрываются, а уши прижимаются.

Реакция потряхивания головой. Крысу помещают на платформу, приподнятую на 50 см над полом или столом. Через узкую резиновую трубку подают слабую струю воздуха на внутреннюю поверхность ушной раковины. Животное реагирует быстрым вращением головы вдоль передне-задней оси тела.

Рекомендации к оформлению работы. В протоколе опыта отметьте наличие или отсутствие тестируемых рефлексов, их воспроизводимость, характер и биологическое значение. Укажите рецептивные поля наблюдаемых рефлекторных реакций и уровни их замыкания в ЦНС. Сделайте выводы.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ С ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ ПРИ ПОСТАНОВКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Физиология, являясь экспериментальной дисциплиной, в качестве объектов научного исследования, биологического тестирования, а также для обеспечения учебного процесса предполагает обязательное использование различных лабораторных животных. В этой связи от лиц, использующих в своей работе экспериментальных животных, требуется неукоснительное выполнение правил гуманного обращения с ними и соблюдение соответствующих этических норм. Это послужило основанием для выработки ряда нормативных документов, определяющих требования к проведению работ на экспериментальных животных, в частности:

- Приказ Минздрава СССР «О мерах по дальнейшему усовершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» № 755 от 12.08.77;

- Правила проведения научных исследований с использованием экспериментальных животных: Приложение к распоряжению президиума АН СССР от 2 апреля 1980 г. № 12000-196;

- Приказ Минвуза СССР «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» № 742 от 13.11.84.

Основные положения перечисленных выше, а также других документов, определяющих правила работы с животными в эксперименте, отражены в Практическом руководстве для студентов университетов и высших учебных заведений по специальности «Физиология человека и животных»^{*}.

В соответствии с имеющимися указаниями при проведении процедур на животных в ходе лабораторных работ следует руководствоваться следующими правилами.

^{*} Болдырев А.А., Курелла Е.Г., Павлова Т.Н. и др. Биологические мембраны. М., 1992.

Подготовка животных к эксперименту

1. В период подготовки к опыту животное должно адаптироваться к обстановке лаборатории и привыкнуть к экспериментатору.

2. При доставке животных в лабораторию запрещается применение силовых и болевых приемов. Агрессивным животным рекомендуется проводить премедикацию с помощью безыгольных инъекторов с удлиненной насадкой.

3. Мелких животных (грызунов и пр.) следует брать осторожно руками в перчатках (при необходимости допускается применять корнцанги только с резиновыми насадками), стараться не причинять им травмы и боль.

4. Запрещается переносить мелких животных по холоду в неутепленных клетках.

Обезболивание и обездвиживание. Фиксация животного

1. Все процедуры на животном, которые могут вызвать у него боль или другие мучительные состояния, проводятся при достаточном обезболивании (местная анестезия или наркоз). В опытах с применением миорелаксантов, которые не дают обезбоживания, дополнительно используют анальгезирующие средства.

2. Наркотизация осуществляется ответственным за работу лицом (преподавателем) или под его наблюдением. После дачи животному наркоза необходим постоянный контроль за его уровнем со стороны экспериментатора или анестезиолога. При признаках ослабления наркоза он должен быть углублен.

3. Животное можно фиксировать только после того, как подействует наркоз. Повязки на конечностях должны быть мягкими, не препятствовать кровообращению, при этом не допускается неудобная поза животного с вывернутыми конечностями.

4. При проведении процедур, предполагающих иммобилизацию бодрствующего животного, разрешается фиксировать его на лабораторном столе только на непродолжительное время. Для длительной иммобилизации животных следует применять ящики-домики, щитки-ошейники.

5. Болезненные процедуры при маркировке животных, взятии крови, воздействии на слизистую оболочку глаза и пр. должны проводиться под местной анестезией или другого рода обезболиванием.

Уход за животными в послеоперационный период

1. В послеоперационном периоде животное должно получать адекватное обезболивание и квалифицированный уход под контролем экспериментатора.

2. Животное в хроническом опыте должно быть помещено в удобную клетку. После особо сложных и ответственных операций рекомендуется первые дни устанавливать около него круглосуточное дежурство.

3. После травмирующих процедур, например при взятии крови из хвоста, животное во избежание покусываний отсаживают в отдельную клетку.

Эвтаназия (умерщвление животных)

1. После завершения острого эксперимента животное должно быть своевременно умерщвлено с соблюдением всех правил гуманности (эвтаназия).

2. Эвтаназия производится ответственным лицом или под его непосредственным наблюдением и предполагает быстрое безболезненное умерщвление животного, не сопровождающееся у него чувством тревоги или страха.

3. Умерщвление животного не должно проводиться в помещении, где содержатся другие животные.

4. Оптимальным и универсальным способом эвтаназии является введение наркотического вещества в летальной дозе. Допустимо умерщвление животных и другими методами (лягушек, мышей, крыс, птиц и других мелких животных - путем декапитации; крыс, кроликов, кошек, собак и пр. - путем воздушной эмболии, двустороннего пневмоторакса, пропускания электрического тока, отключения искусственного дыхания и т.п.)

РЕКОМЕНДУЕМЫЙ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Большой практикум по физиологии человека и животных / Под ред. Л.Л.Васильева и И.А.Ветюкова. 2-е изд. М.: Высшая школа, 1961. 675 с.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. 398 с.
3. Буреш Я., Петрань М., Захар И. Электрофизиологические методы исследования. М.: Иностранная литература, 1962. 455 с.
4. Гамбарян П.П., Дукельская Н.М. Крыса: Учебное пособие для студентов. М.: Советская наука, 1955. 255 с.
5. Гуминский А.А., Леонтьева Н.Н., Маринова К.В. Руководство к лабораторным занятиям по общей и возрастной физиологии. М.: Просвещение, 1990. 239 с.
6. Костюк П.Г. Физиология центральной нервной системы. Киев: Вища школа, 1977. 320 с.
7. Курепина М.М. Мозг животных. М.: Наука, 1981. 148 с.
8. Ноздрачев А.Д. Анатомия кошки. Л.: Наука, 1973. 246 с.
9. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Лабораторные животные. Анатомия лягушки. М.: Высшая школа, 1994. 320 с.
10. Общая физиология нервной системы: Руководство по физиологии / Отв. ред. П.Г.Костюк. Л.: Наука, 1979. 320 с.
11. Общий курс физиологии человека и животных: В 2 кн. / Под ред. А.Д.Ноздрачева. М.: Высшая школа, 1991. Кн. 1. 511 с; кн. 2. 527 с.
12. Практикум по физиологии / Под ред. К.М.Кулланды. М.: Медицина, 1975. 365 с.
13. Руководство к практическим занятиям по физиологии / Под ред. Г.И.Косицкого и В.А.Полянцева. М.: Медицина, 1988. 288 с.
14. Руководство к практическим занятиям по физиологии человека и животных / Сост. С.В.Сербенюк, Г.П.Юрьева, И.Ф.Прудникова и др. М.: Изд-во МГУ, 1975. 365 с.

15. Румянцева М.Ф., Лосева Т.Н., Бунина Т.П. Руководство к практическим занятиям по физиологии с основами анатомии человека. М.: Медицина, 1986. 272 с.
16. Физиология вегетативной нервной системы: Руководство по физиологии / Отв. ред. О.Г.Баклаваджян. Л.: Наука, 1981. 752 с.
17. Физиология человека / Под ред. Г.И.Косицкого. М.: Медицина, 1985. 559 с.
18. Физиология человека: В 3 т. / Под ред. Р.Шмидта и Г.Тевса. М.: Мир, 1996. Т. 1. 323 с.
19. Частная физиология нервной системы: Руководство по физиологии / Отв. ред. П.Г.Костюк. Л.: Наука, 1983. 732 с.
20. Чепурнов С.А., Баскакова Г.М., Чепурнова Н.Е. Экспериментальные задачи по физиологии центральной нервной системы. М.: Изд-во МГУ, 1978. 152 с.
21. Шульговский В.В. Физиология центральной нервной системы. М.: Изд-во МГУ, 1997. 398 с.
22. Экспериментальная физиология / Под ред. Б.Л.Эндрю. М.: Мир, 1974. 350 с.

СОДЕРЖАНИЕ

Раздел 1. Физиология спинного мозга	3
Работа 1.1. Изучение функций спинного мозга и спинномозговых корешков у лягушки	4
Работа 1.2. Изучение анатомии спинного мозга и функций спинномозговых корешков у теплокровных животных	13
Работа 1.3. Техника препаровки антагонистических мышц и нервов задней конечности у лягушки при изучении рефлекторной деятельности спинного мозга	20
Работа 1.4. Свойства нервных центров	25
Работа 1.5. Координация рефлекторной деятельности спинного мозга	32
Работа 1.6. «Сеченовское» торможение двигательных рефлексов спинного мозга	39
Работа 1.7. Изменение возбудимости нервных центров под влиянием стрихнина и фенола	42
Раздел 2. Физиология головного мозга	
Работа 2.1. Роль различных отделов головного мозга в осуществлении сложных локомоторных актов у лягушки	46
Работа 2.2. Определение локализации функций в продолговатом мозге лягушки	50
Работа 2.3. Оценка субординационных изменений в скелетных мышцах при изменении функционального состояния нервной системы	51
Работа 2.4. Таламическое животное. Раздражение мозжечка	52
Работа 2.5. Удаление участков мозга методом отсоса (аспирации). Хроническое таламическое животное	54
Работа 2.6. Изучение топической организации двигательной области коры больших полушарий	57
Работа 2.7. Регистрация биоэлектрической активности коры больших полушарий в остром эксперименте	60
Работа 2.8. Регистрация вызванных потенциалов коры головного мозга	63
Работа 2.9. Ответы коры больших полушарий головного мозга на прямое электрическое раздражение	67
Работа 2.10. Явление децеребрационной ригидности. Шейные и лабиринтные рефлексы	70

Работа 2.11. Регистрация вызванных потенциалов коры мозжечка	73	
Работа 2.12. Стереотаксическая методика вживления электродов в подкорковые структуры мозга крысы	76	
Работа 2.13. Реакция самораздражения у крысы	79	
Работа 2.14. Электролитическое разрушение гипоталамуса.	83	
Работа 2.15. Распространяющаяся депрессия в коре головного мозга крысы	86	
Раздел 3. Физиология вегетативной нервной системы		
Работа 3.1. Адаптационно-трофическое влияние симпатических нервных волокон на скелетные мышцы	89	
Работа 3.2. «Сеченовское» торможение сердечной деятельности . . .	94	
Работа 3.3. Рефлекторная регуляция дыхания у амфибий	97	
Работа 3.4. Рефлекторная регуляция моторной функции желудка . .	102	
Раздел 4. Тестирование рефлекторных реакций у человека и животных		
Работа 4.1. Неврологическое тестирование рефлексов у человека . .	110	
Работа 4.2. Неврологическое тестирование рефлексов у животных	120	
Раздел 5. Рекомендации по обращению с лабораторными животными при постановке физиологического эксперимента		129
Рекомендуемый библиографический список	132	