

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С. П. КОРОЛЕВА»
(САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

СПЕЦПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ

Рекомендовано редакционно-издательским советом федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева» в качестве практикума для обучающихся по основным образовательным программам высшего образования по направлениям подготовки 06.03.01, 06.04.01 Биология

С А М А Р А
Издательство Самарского университета
2026

УДК 612(075)
ББК Е073я7
С718

Авторы: *И. Д. Романова, С. И. Павленко, Р. А. Зайнулин,
О. А. Ведясова, Е. Н. Глазкова*

Рецензенты: д-р биол. наук, проф. О. Н. Макарина,
канд. биол. наук, доц. О. В. Борисова

С718 **Спецпрактикум по физиологии:** практикум / *И. Д. Романова,
С. И. Павленко, Р. А. Зайнулин* [и др]. – Самара: Издательство
Самарского университета, 2026. – 143 с.

ISBN 978-5-7883-2298-8

Практикум состоит из девяти разделов (физиология возбудимых тканей, физиология дыхания, физиология сердечно-сосудистой системы, физиология пищеварения, физиология всасывания, физиология желез внутренней секреции, физиология поведения) и содержит описание хода 46 лабораторных работ по курсу «Спецпрактикум по физиологии» и методов физиологического исследования. В практикум также включен перечень учебной литературы по изучаемой дисциплине.

Предназначен для обучающихся университетов специальности «Биология» (уровень бакалавриата и магистратуры). Подготовлен на кафедре физиологии человека и животных Самарского университета.

УДК 612(075)
ББК Е073я7

ISBN 978-5-7883-2298-8

© Самарский университет, 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
Раздел 1 ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА	8
ТЕМА 1 Формы исследования в физиологии	9
ТЕМА 2 Основные методики, применяемые в физиологических экспериментах	10
Раздел 2 ОБЩИЕ МЕТОДИКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА	11
Лабораторная работа 2.1. Обездвиживание теплокровных животных в физиологическом эксперименте	11
Лабораторная работа 2.2. Методика проведения трахеостомии	13
Лабораторная работа 2.3. Методика проведения трепанации черепа	15
Раздел 3 ФИЗИОЛОГИЯ ВОЗБУДИМЫХ ТКАНЕЙ	17
Лабораторная работа 3.1. Исследование контрактуры мышцы	17
Лабораторная работа 3.2. Исследование эластических свойств мышцы	21
Лабораторная работа 3.3. Определение порога возбудимости при действии неадекватного раздражителя	24
Лабораторная работа 3.4. Определение реобазы, хронаксии и построение кривой силы-длительности при электрическом раздражении рецепторного звена	27
Лабораторная работа 3.5. Экспериментальная проверка закона Вебера–Фехнера	30
Раздел 4 ФИЗИОЛОГИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ	34
Лабораторная работа 4.1. Локализация дыхательного центра	34
Лабораторная работа 4.2. Исследование роли блуждающего нерва в регуляции дыхания у животных	37

Лабораторная работа 4.3. Роль блуждающих нервов регуляции дыхания. Рефлекс Геринга–Брейера	40
Лабораторная работа 4.4. Доступ к вентральной поверхности ствола мозга	42
Лабораторная работа 4.5. Исследование роли супрабульбарных структур мозга в регуляции дыхания	48
Лабораторная работа 4.6. Роль коры головного мозга в регуляции деятельности дыхательного центра	52
Лабораторная работа 4.7. Методика подготовки изолированного бульбоспинального препарата мозга новорожденных крыс in vitro	55
Лабораторная работа 4.8. Исследование регуляции внешнего дыхания у лабораторной крысы (методом капнографии)	58
Лабораторная работа 4.9. Изучение механики вентиляции легких на модели Дондерса	63
Лабораторная работа 4.10. Исследование процесса диффузии углекислого газа в легких	66
<i>Раздел 5 ФИЗИОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ</i>	70
Лабораторная работа 5.1. Изолированное сердце лягушки по Штраубу	70
Лабораторная работа 5.2. Гуморальная регуляция сердечной деятельности	72
Лабораторная работа 5.3. Изучение внутрисердечной регуляции и влияния биологически-активных веществ на изолированном сердце лягушки	74
Лабораторная работа 5.4. Методика регистрации электрокардиографии у крыс	80
Лабораторная работа 5.5. Влияние раздражения блуждающего нерва на деятельность сердца крысы.....	83

Лабораторная работа 5.6. Влияние химических веществ на показатели сердечно-сосудистой системы крыс	85
Раздел 6 ФИЗИОЛОГИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ	88
Лабораторная работа 6.1. Моторная функция пищеварительного тракта у теплокровных животных.....	88
Лабораторная работа 6.2. Моторика желудочно-кишечного тракта при раздражении блуждающего нерва у теплокровных животных.....	89
Лабораторная работа 6.3. Регистрация сокращений изолированного отрезка кишки теплокровного животного.....	91
Лабораторная работа 6.4. Состав и свойства желудочного сока.....	92
Лабораторная работа 6.5. Желчь и ее роль в процессе пищеварения	95
Лабораторная работа 6.6. Исследование мочеотделения в остром эксперименте.....	96
Раздел 7 ФИЗИОЛОГИЯ ВСАСЫВАНИЯ	99
Лабораторная работа 7.1. Изучение механизмов всасывания различных растворов в остром опыте (опыт Гейденгайна).....	99
Раздел 8 ФИЗИОЛОГИЯ ЖЕЛЕЗ ВНУТРЕННЕЙ СЕКРЕЦИИ	101
Лабораторная работа 8.1. Определение фаз полового цикла у самок крыс по влагалищному мазку	101
Лабораторная работа 8.2. Топография и анатомическая характеристика желез внутренней секреции	104
Лабораторная работа 8.3. Кастрация самки крысы	108
Лабораторная работа 8.4. Кастрация самца крысы	110
Лабораторная работа 8.5. Удаление надпочечников у крыс / адреналэктомия.....	113
Лабораторная работа 8.6. Удаление поджелудочной железы	115

Лабораторная работа 8.7. Удаление щитовидной железы у крыс.....	119
Лабораторная работа 8.8. Влияние гипофизэктомии на окраску лягушки	122
Лабораторная работа 8.9. Действие меланофорного гормона и адреналина на пигментные клетки лягушки.....	125
Раздел 9 ФИЗИОЛОГИЯ ПОВЕДЕНИЯ	129
Лабораторная работа 9.1. Оценка пространственной памяти животных в тесте «8-лучевой лабиринт»	129
Лабораторная работа 9.2. Изучение пищевого поведения крыс с использованием установки «Лабиринт Барнс».....	130
Лабораторная работа 9.3. Влияние психостимуляторов на изменение общего уровня двигательной активности.....	131
Лабораторная работа 9.4. Исследование уровня тревожности у крыс в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт»	136
Лабораторная работа 9.5. Исследование уровня тревожности у животных в тесте «Темно-светлая камера»	138
Лабораторная работа 9.6. Изучение поведения лабораторных крыс в стрессогенных условиях	140
Список использованной литературы	142

ВВЕДЕНИЕ

Физиология человека и животных – экспериментальная наука, изучающая функции организма. Все ее теоретические положения основываются на результатах выполнения опытов и наблюдений.

Перед началом занятий в лабораториях кафедры физиологии человека и животных студенты должны ознакомиться с принципами работы физиологического оборудования и аппаратуры, а также с нормативными документами, определяющими требования биоэтики к постановке экспериментов на животных и исследованиям на человеке. К лабораторному занятию студенты допускаются при обязательном наличии специальной одежды, предназначенной для защиты экспериментатора от различных видов загрязнений, биологических жидкостей и паразитов, имеющихся у животных.

Основными объектами физиологического эксперимента в системе университетского обучения традиционно являются лабораторные животные (лягушки, крысы, мыши, морские свинки и др.). Проведение физиологического эксперимента требует от студентов неукоснительного соблюдения правил гуманного обращения с животными, а также техники безопасности. Главным принципом, которым должны руководствоваться студенты в практике физиологического эксперимента, является непричинение страданий объекту исследования. При постановке опытов на животных все процедуры, которые могут вызвать у них болевые ощущения, необходимо проводить с применением адекватного обезболивания. Кроме того, эксперимент следует планировать и проводить так, чтобы для получения необходимого результата было использовано наименьшее количество животных [5].

На занятиях студентам будет предоставлена возможность освоить классические физиологические методики.

Раздел 1. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

В физиологии выделяют следующие методы исследования:

1. Наблюдение – это систематическое, целенаправленное восприятие объекта. Наблюдение должно удовлетворять следующим требованиям:

- преднамеренность (наблюдение ведется для определенной, четко поставленной задачи);
- планомерность (производится по плану, составленному по задачам наблюдения);
- целенаправленность (наблюдаются только интересующие стороны явления);
- активность (наблюдатель активно ищет нужные объекты, черты явления);
- систематичность (наблюдение ведется непрерывно или по определенной системе).

Наблюдение как метод познания позволяет получать первичную информацию в виде совокупности эмпирических утверждений.

2. Сравнение – это процесс установления сходства или различия у предметов и явлений действительности, а также нахождения общего, что присуще двум или нескольким объектам. Сравнение должно удовлетворять следующим требованиям:

- сравниваются только такие явления, между которыми может существовать определенная объективная общность;
- сравнение должно осуществляться по наиболее важным, существенным признакам.

Различные объекты или явления могут сравниваться непосредственно или опосредованно через их сравнение с каким-либо третьим объектом (эталоном). В первом случае обычно получают

качественные результаты (больше – меньше; выше – ниже). Сравнения же объектов с эталоном дают возможность получить количественные характеристики.

3. Измерение предполагает наличие следующих основных элементов: объекта измерения, эталона, измерительных приборов, метода измерения. Измерение развилось из операции сравнения, оно является более мощным и универсальным познавательным средством.

4. Эксперимент – метод изучения объекта, при котором исследователь активно и целенаправленно воздействует на него путем создания искусственных условий или использования естественных условий, необходимых для выявления соответствующих свойств.

Эксперимент проводят в следующих случаях:

- при попытке обнаружения у объекта ранее неизвестных свойств;
- при проверке правильности теоретических построений;
- при демонстрации явления.

Тема 1. Формы исследования в физиологии

1. Острый эксперимент (вивисекция).

В ходе эксперимента животному причиняются повреждения, несовместимые с его дальнейшим существованием (зависит от вида). После проведения исследования животное подвергается эвтаназии в соответствии с этическими нормами, рекомендованными рекомендациями Федерацией Европейского Сообщества по науке о лабораторных животных (FELASA).

2. Эксперименты на изолированных органах.

Изолированный орган лишается внешних (неконтролируемых) влияний со стороны нервной или гуморальной систем. Это позволяет изучить собственные функции органа (например, авто-

матию, свойства каналов), изолированное влияние на орган внешних воздействий.

3. Хронический эксперимент.

Проводят длительное наблюдение за животными после оперативного вмешательства и выздоровления животного или в результате изменения (коррекции) привычной среды обитания животного [5].

Тема 2. Основные методики, применяемые в физиологических экспериментах

1. Удаление (экстирпация) органа.

Позволяет выяснить ее влияние на различные органы и системы животного. Удаление различных участков коры головного мозга позволило ученым выяснить их влияние на организм. Полное удаление органа – экстирпация. Частичное удаление органа – резекция. Удаление дистального участка органа (организма) – ампутация

2. Пересадка органов и тканей (трансплантация).

Аутотрансплантация – пересадка собственных органов и тканей животного.

Аллотрансплантация – пересаживаются органы и ткани одного животного (донор), другому животному (реципиент).

Ксенотрансплантация – пересадка органов и тканей животного другого вида.

3. Частичная или полная изоляция органа внутри организма.

Позволяет выявить роль различных регуляторных воздействия в деятельности органа.

4. Вживление инородных тел.

Электроды (раздражающие или регистрирующие). Канюли для введения биологически активных веществ или забора жидкостей для анализа. Приспособления для регистрации/регуляции деятельности органов и систем.

Раздел 2. ОБЩИЕ МЕТОДИКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Лабораторная работа 2.1. Обездвиживание теплокровных животных в физиологическом эксперименте

Обездвиживание лабораторных животных проводится с целью облегчения доступа к органам и тканям. Обездвиживание достигается путем снижения общей и местной чувствительности (анестезия), обезболивания (аналгезии) и релаксации. Общая анестезия позволяет достичь должной степени аналгезии и релаксации животного, что обеспечит топографический доступ к органам и тканям, избавит животное от страданий и подавит оборонительные рефлексy. Общая анестезия (наркоз) достигается введением соответствующих препаратов – препаратов для наркоза. Введение препаратов для наркоза может быть ингаляционным, внутримышечным или внутривенным.

В случае применения ингаляционного наркоза используют маску, которая представляет собой обтянутый несколькими слоями марли проволоочный каркас, имеющий форму усеченного конуса. Маска присоединяется к началу дыхательных путей. На дно маски кладется вата, периодически орошаемая каплями наркотического препарата, например хлороформа или эфира.

Наиболее распространенным методом обездвиживания теплокровных животных является внутривенная инъекция препаратов для наркоза. Внутривенно вводят нелетучие наркотические вещества. Внутривенный наркоз действует очень быстро. При помощи подкожной или внутрибрюшинной инъекции вводят такие наркотические вещества как уретан [7].

Цель работы: овладеть различными методами обездвиживания теплокровных животных на примере лабораторной крысы.

Объект исследования: лабораторные крысы.

Оборудование и материалы: препаровальный столик для мелких животных, набор хирургических инструментов, иглы, шприц емкостью 1 мл, физиологический раствор для теплокровных животных, вата, марля, бинт, спирт, раствор уретана.

Ход работы:

Независимо от способа введения уретана, его наркотическая дозировка составляет 1,6 мг/кг массы тела крысы. Лабораторных крыс взвешивают на весах. Затем рассчитывают количество раствора, содержащего необходимую дозу наркотического вещества. Далее раствор для наркотизации готовят разведением вещества в 2 мл физиологического раствора (37° С) [2].

Одной из крыс делают подкожную инъекцию наркотического вещества. Для этого необходимо одной рукой захватить корнцангом кожу затылка, а другой – хвост и слегка растянуть крысу. В таком виде крысу опускают лапками на поверхность стола. При наличии двигательного беспокойства у крысы необходимо немедленно приподнять ее кверху, лишая точек опоры. Второй экспериментатор выстригает небольшой участок шерсти на спине животного. Затем к шприцу присоединяют инъекционную иглу, у которой менее острый угол заточки, чем у обычной, чтобы не поранить органы брюшной полости. Далее канюлю иглы с усилием насаживают на конус шприца, затем, не прекращая усилия, поворачивают ее на четверть оборота. Через иглу набирают с небольшим избытком вычисленное количество раствора и, перевернув шприц вверх иглой, вытесняют из него воздух. Двумя пальцами собирают выстриженный участок кожи в складку, при этом оттягивая ее кверху. Несколько выше основания образовавшегося треугольника резким движением прокалывают кожу, вводят иглу в подкожную клетчатку и вытесняют содержимое шприца. Вынув иглу, на короткое время прижимают к месту укола

марлевый тампон. Затем крысу помещают в отдельный бокс и по секундомеру определяют время от начала инъекции до исчезновения двигательных реакций.

Второй лабораторной крысе наркотическое вещество вводят внутрибрюшинно. Крысу держат за хвост головой вниз. В нижней трети живота оттягивают пинцетом маленькую поперечную складку кожи, вкалывают иглу и вводят такое же количество раствора. Затем крысу также помещают в отдельный бокс и по секундомеру дожидаются наступления должной глубины наркоза, которую оценивают по отсутствию роговичного рефлекса и моторных реакций на болевое механическое раздражение ушной раковины [2].

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Опишите стадии наркоза.
3. Сделайте вывод на основании приобретенных навыков.

Лабораторная работа 2.2. Методика проведения трахеостомии

Трахеостомия – хирургическая операция, направленная на вскрытие просвета трахеи и формирование стойкого трахеостомического отверстия путем введения в трахею трубки. Трахеостомия выполняется с целью обеспечения проходимости дыхательных путей и длительной механической вентиляции. Для восстановления проходимости верхних дыхательных путей трахеостому убирают и края раны ушивают с восстановлением целостности трахеи.

Обычно выполняют открытую трахеостомию, которая предполагает кожный разрез, рассечение мягких тканей шеи, обнажение и вскрытие просвета трахеи, введение в нее трубки. Для обеспечения постоянной трахеостомы применяют или подшивание

специальной канюли или подшивание слизистой оболочки трахеи к коже.

После проведения трахеостомии животные требуют определенного ухода. Трахеостому периодически промывают от слизи, кожу вокруг раны обрабатывают спиртом. Необходимо тщательно следить за состоянием животного, чтобы не допустить развития вторичных осложнений, например кровотечения.

Цель работы: овладеть методикой выполнения трахеостомии.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: препаровальный столик для мелких животных, набор хирургических инструментов, стеклянные крючки, физиологический раствор для теплокровных животных, вата, марля, бинт, спирт, трахеостомическая канюля.

Ход работы:

Наркотизированную крысу фиксируют на препаровальном столике вентральной поверхностью вверх. Тщательно удаляют шерстный покров в области шеи от нижнего края грудины до нижней челюсти. Кожный разрез осуществляют по центральной линии продольно от области подъязычной кости до верхнего края грудины. Подкожно расположена фасция, соединенная с поверхностной шейной частью подкожной мышцы, которая представляет собой тонкий мышечный листок с тесно перекрещенными волокнами. Отделяют кожу от фасции, формируя по обеим сторонам разреза кожные карманы. Осторожно делают разрез подкожной мышцы над трахеей и тупым методом при помощи анатомической лопаточки или тупой стороны скальпеля разъединяют грудино-подъязычные мышцы, обнажая трахею. Под трахеей расположены пищевод и длинные мышцы шеи, а по обеим сторонам – дорсальные прямые мышцы шеи. На уровне верхней трети трахеи находится щитовидная железа. Дольки железы локализованы латераль-

но и соединены между собой поперечным перешейком, идущим перпендикулярно поверхности трахеи. Поскольку щитовидная железа богата кровеносными сосудами, то манипуляции в этой области не рекомендуются [6].

Ниже области расположения щитовидной железы тупым способом при помощи анатомической лопаточки и пинцетов аккуратно отпрепаровывают трахею и подводят под нее две лигатуры. Острым скальпелем между хрящевыми полукольцами делают неглубокий поперечный или Т-образный разрез трахеи и аккуратно вводят трахеостомическую трубку достаточно глубоко (на глубину 5–6 мм), но выше области бифуркации трахеи. Фиксируют трубку при помощи лигатур [6].

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте вывод о плюсах и минусах трахеостомии.

Лабораторная работа 2.3. Методика проведения трепанации черепа

Трепанация черепа – это хирургическое вмешательство, применяемое при тяжелых черепно-мозговых травмах. Трепанация черепа применяется с целью получения доступа к головному мозгу. При помощи стоматологического бора проводят высверливание интересующего участка костей черепа. После этого убирают часть кости и проводят вскрытие твердой мозговой оболочки. После проведения операции фрагмент кости может быть возвращен на место, либо используют стоматологический или костный цемент, затем рана ушивается.

Цель работы: овладеть методикой выполнения трепанации черепа у крысы.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: препаровальный столик для мелких животных, набор хирургических инструментов, стеклянные крючки, физиологический раствор для теплокровных животных, вата, марля, бинт, спирт, трахеостомическая канюля, стереотаксическую установку СЭЖ-3, электрогрелка.

Ход работы:

Наркотизированную крысу фиксируют на препаровальном столике вентральной поверхностью вверх и выполняют ей трахеостомию. Далее тупым способом при помощи анатомической лопаточки и пинцетов, ниже области расположения щитовидной железы, аккуратно отпрепаровывают трахею и подводят под нее две лигатуры. Острым скальпелем между хрящевыми полукольцами делают неглубокий поперечный разрез трахеи и аккуратно вводят трахеостомическую трубку достаточно глубоко (на глубину 5–6 мм), но выше области бифуркации трахеи. Фиксируют трубку при помощи лигатур.

После трахеостомии животное помещают в стереотаксическую установку СЭЖ-3, модифицированную для работы с мелкими животными, и при помощи головодержателя жестко фиксируют голову дорсальной поверхностью вверх. С поверхности черепа удаляют кожу и надкостницу. Надкостницу удаляют тупой стороной скальпеля до «высыхания» поверхности черепа. Для доступа к ядрам головного мозга над исследуемыми структурами при помощи шаровидного бора высверливали трепанационное отверстие. С целью поддержания температуры тела животных $37,0 \pm 0,5$ °C используют электрогрелку в течение всего эксперимента, включая операционный период.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте вывод о значении трепанации черепа.

Раздел 3. ФИЗИОЛОГИЯ ВОЗБУДИМЫХ ТКАНЕЙ

Лабораторная работа 3.1. Исследование контрактуры мышцы

Контрактурой в физиологии называют длительное, слитное, нераспространяющееся сокращение мышечного волокна. Контрактура отличается от обычного сокращения следующими признаками:

- 1) контрактура является местным процессом, сокращается лишь тот участок мышцы, на который действует раздражитель;
- 2) контрактура является градуальным процессом, даже в одиночном волокне величина контрактуры зависит от силы раздражения;
- 3) контрактура развивается медленнее обычного сокращения, особенно продолжительным является расслабление;
- 4) контрактура сопровождается не потенциалом действия, а локальным ответом (локальной электронегативностью).

Контрактуру можно получить при воздействии на мышцу некоторых химических соединений, тепла (тепловое окоченение). Она наступает также при умирании ткани (трупное окоченение). Некоторые мышцы, так называемые тонические, реагируют обратимой контрактурой на ацетилхолин. Контрактуру мышц вызывает также увеличение ионов калия.

Цель работы: в экспериментальных условиях получить и пронаблюдать развитие ацетилхолиновой, калиевой и тепловой контрактуры мышцы.

Объект исследования: препарат изолированной прямой мышцы живота лягушки.

Оборудование и материалы: набор препаровальных инструментов, препаровальная доска, чашки Петри, лабораторный шта-

тив, персональный компьютер с оптической мышью, миографический рычажок с крючком для подвешивания грузиков и светонепроницаемой шторкой, пластилин, гирька массой 1 г, прозрачная цилиндрическая воронка со сливным краном, микрокомпрессор, трубка для подвода воздуха с S-образным изгибом и керамическим пористым аэратором, большая пипетка, термометр, физиологический раствор для холоднокровных, физиологический раствор с 10^{-6} моль/л ацетилхолина, физиологический раствор с 10^{-7} моль/л ацетилхолина, 0,5% раствор хлорида калия, горячая вода.

Ход работы:

1. Приготовление препарата изолированной прямой мышцы живота лягушки.

Лягушку обездвигивают и кладут на препаровальную доску вентральной стороной вверх. Снимают кожу с живота. По обе стороны от средней линии располагаются две прямые мышцы живота, из которых можно приготовить два препарата. С помощью хирургической иглы к обоим концам мышц прикрепляют лигатуру. На лигатуре, привязанной к нижнему концу мышцы, делают короткую петлю. К верхнему концу мышцы привязывают лигатуру длиной 10 см. Мышцы отпрепаровывают и вынимают вместе с лигатурами.

2. Получение ацетилхолиновой контрактуры.

Собирают установку, изображенную на рисунке 1.

Мышечный препарат с помощью нижней петли укрепляют на S-образном изгибе трубки для подвода воздуха, а верхнюю лигатуру прикрепляют к миографическому рычажку. При помощи кусочка пластилина уравнивают рычажок так, чтобы он принял горизонтальное положение. На крючок подвешивают груз массой 1 г чтобы обеспечить небольшое натяжение мышцы.

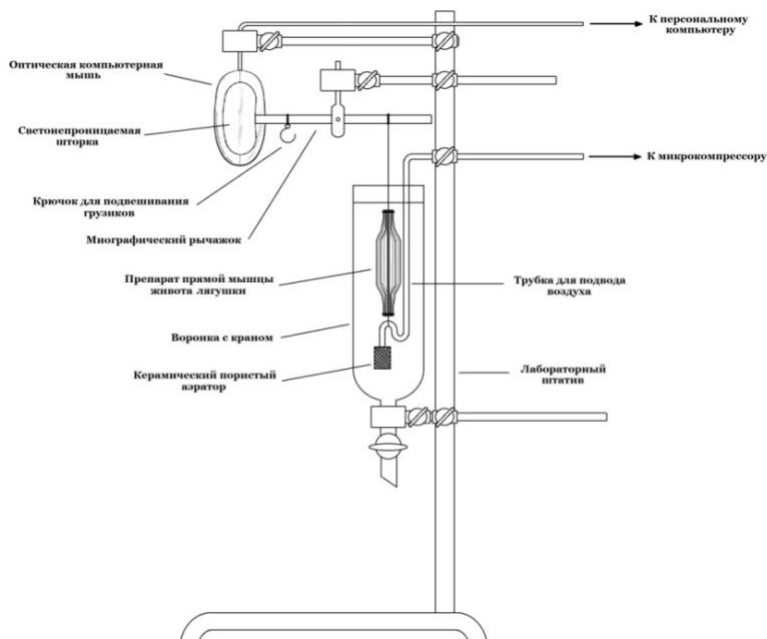


Рис. 1. Установка для изучения контрактуры мышцы

Зазор между оптической компьютерной мышью и светонепроницаемой шторкой должен быть минимальным, чтобы в окошко светодиода-сенсора не попадал внешний свет. В то же время шторка не должна плотно прижиматься к мыши, что увеличит трение между ними и затруднит движение миографического рычажка. Движение рычажка регистрируют при помощи компьютерной программы Power Graph.

Цилиндрическую воронку с краном заполняют физиологическим раствором так, чтобы препарат мышцы был полностью погружен в него. При помощи микрокомпрессора подают слабый ток воздуха, обеспечивающий аэрацию препарата.

Для работы лучше использовать ноутбук. С помощью встроенной мыши запускают программу Power Graph. Во

всплывающем меню активируют опцию Cursor-XY. Выбирают канал Y. Устанавливают необходимую амплитуду и масштаб графика.

Записывают исходную кривую. Затем через кран сливают из воронки физиологический раствор и заполняют ее физиологическим раствором, содержащим 10^{-7} моль/л ацетилхолина. Отмечают развитие контрактуры. Сливают содержимое воронки и заполняют ее физиологическим раствором, содержащим 10^{-6} моль/л ацетилхолина. Отмечают дальнейшее развитие контрактуры. Раствор готовят непосредственно перед использованием, так как ацетилхолин в растворе быстро разлагается.

3. Получение калиевой контрактуры.

Записывают исходную кривую с физиологическим раствором. Затем через кран сливают половину объема физиологического раствора и восполняют прежний объем 0,5% раствором хлорида калия. На кривой отмечают развитие калиевой контрактуры. Несколько раз сменяют содержимое воронки физиологическим раствором для того, чтобы отмыть препарат от ионов калия и снова записывают кривую.

4. Получение тепловой контрактуры.

Записывают исходную кривую с физиологическим раствором комнатной температуры. Затем через кран понемногу сливают содержимое воронки, а сверху при помощи большой пипетки осторожно подливают физиологический раствор, нагретый до 45 °С. Температуру в воронке измеряют при помощи термометра. В процессе опыта находят минимальную температуру, вызывающую контрактуру мышечного препарата.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

Лабораторная работа 3.2. Исследование эластических свойств мышцы

Биомеханические свойства мышцы сложны, поэтому ее нельзя уподобить пружине, имеющей постоянную жесткость. Для описания мышцы и ее функционирования как целостного образования предложена трехкомпонентная механическая модель. Она включает в себя сократительный, параллельный упругий и последовательный упругий компоненты (рис. 2).

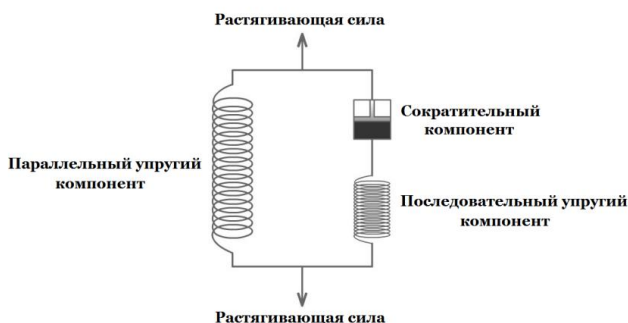


Рис. 2. Трехкомпонентная модель мышцы

Сократительный компонент моделирует мышечные волокна, из которых состоит мышца. При возбуждении мышцы ее волокна являются источником силы. Поскольку, мышечные волокна характеризуются высокой вязкостью, на рисунке сократительный компонент представлен демпфером – устройством, которое применяется в механических системах для гашения колебаний.

Параллельный упругий компонент включает в себя следующие элементы:

1. Фасция, которая окружает мышцу.
2. Соединительнотканнные образования, окружающие мышечные волокна (эндомизий).

3. Пучки мышечных волокон (перимизий).

4. Вся мышца в целом (эпимизий).

5. Промежуточные филаменты, имеющиеся внутри мышечного волокна. Они ориентированы вдоль мышечного волокна, соединяют соседние Z-диски одной миофибриллы и препятствуют растягиванию и разрыву миофибриллы.

Большинство этих элементов расположены параллельно мышечным волокнам, что отразилось в названии данного упругого компонента.

Параллельный упругий компонент в наибольшей степени отражает упругие свойства мышц. На рисунке он представлен длинной пружиной с нелинейной зависимостью между силой и удлинением.

Последовательный упругий компонент моделирует сухожилие мышцы. Он также имеет упругие свойства, но, по сравнению с параллельным упругим компонентом, обладает большей жесткостью, то есть способностью сопротивляться деформации. В свою очередь, чем выше жесткость, тем больше сила упругости, возникающая при растяжении (деформации) тела. Поскольку мышечные волокна переходят в сухожилие, данный упругий компонент называется последовательным. На рисунке он представлен короткой пружиной с нелинейной зависимостью между силой и удлинением.

В эксперименте эластические свойства мышцы можно пронаблюдать, нагружая мышцу различными грузами, а затем устраняя нагрузку. При предварительном или одновременном электрическом раздражении мышцы амплитуда ее растяжения становится больше.

Цель работы: изучить в экспериментальных условиях эластические свойства мышцы.

Объект исследования: нервно-мышечный препарат.

Оборудование и материалы: набор препаровальных инструментов, препаровальная доска, чашки Петри, лабораторный шта-

тив, персональный компьютер с оптической мышью, электростимулятор с электродами, миографический рычажок с крючком для подвешивания грузиков и светонепроницаемой шторкой, грузики-гирьки разной массы, раствор Рингера для холоднокровных.

Ход работы:

Готовят нервно-мышечный препарат. Собирают установку, изображенную на рисунке 3.

Добиваются минимального зазора между оптической компьютерной мышью и светонепроницаемой шторкой.

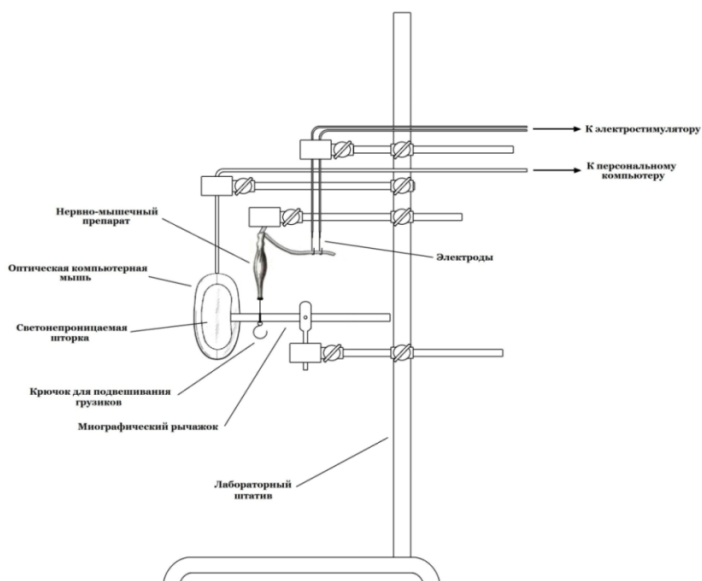


Рис. 3. Установка для изучения сокращения мышцы

1. Исследование эластических свойств покоейшей мышцы.

Запускают и настраивают программу Power Graph как описано в предыдущей работе.

Записывают горизонтальную линию, соответствующую положению ненагруженного рычажка. Подвешивают к рычажку груз в 20 г,

отмечают быстрое начальное растяжение мышцы, которое в дальнейшем нарастает значительно медленнее (последовательное растяжение). Снимают с крючка груз, отмечают быстрое начальное укорочение мышцы, которая продолжает и дальше укорачиваться, но значительно медленнее (последовательное укорочение). Нагружают рычажок грузами, постепенно увеличивая их массу (3 г, 5 г, 10 г, 20 г.). Для каждого груза записывают кривую растяжения мышцы.

2. Исследование эластических свойств мышцы при ее возбуждении.

Записывают горизонтальную линию, соответствующую положению ненагруженного рычажка миографа. Затем подвешивают к рычажку груз в 20 г и записывают кривую растяжения мышцы как в предыдущем случае. После этого удаляют груз и в течение 1–2 секунд раздражают нервно-мышечный препарат непрерывной серией электрических импульсов. Прекратив раздражение, подвешивают к рычажку первоначальный груз и вновь записывают кривую растяжения мышцы. Сравнивают кривые растяжения мышцы до и после раздражения. Отмечают увеличение амплитуды кривой после тетанизирующего раздражения мышцы. Записывают кривые растяжения мышцы для разных грузиков, постепенно увеличивая их массу.

Во избежание подсыхания нервно-мышечный препарат в процессе эксперимента периодически смачивают физиологическим раствором.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

Лабораторная работа 3.3. Определение порога возбудимости при действии неадекватного раздражителя

На живые организмы постоянно воздействуют адекватные и неадекватные раздражители. Адекватные раздражители избирательно

возбуждают те рецепторы, которые приспособились к восприятию специфических раздражений в процессе эволюции. Например, для фоторецепторов сетчатки глаза адекватным раздражителем является свет, для механорецепторов внутреннего уха – звук, для хеморецепторов носа и языка, соответственно, запах и вкус.

Неадекватные раздражители, например механические, электрические или термические, также могут вызвать возбуждение периферического отдела анализатора, только их интенсивность должна быть в сотни-тысячи раз выше, чем интенсивность адекватных. Причем, ощущения, вызванные неадекватными раздражителями, являются несравненно более бедными и однообразными, чем ощущения, вызванные адекватными раздражителями.

В эксперименте при изучении физиологических закономерностей наиболее удобным неадекватным раздражителем является электрический ток. Во-первых, он легко дозируется по силе и длительности. Во-вторых, он не вызывает необратимых изменений в тканях. В-третьих, по своей природе он близок к биоэлектрическим явлениям, протекающим в организме в естественных условиях его существования [2].

Цель работы: в экспериментальных условиях убедиться в возможности получения специфического ощущения при действии неадекватного раздражителя.

Объект исследования: человек.

Оборудование и материалы: электронный стимулятор или лабораторно-клинический хронаксиметр, индифферентный и активный электроды, вата, марля, спирт, 10% раствор хлорида натрия.

Ход работы:

Подготовку к эксперименту проводят, как описано в предыдущей работе. Активный электрод прикладывают к коже кисти руки испытуемого.

Подают на электроды электрический ток и, увеличивая его напряжение, определяют порог раздражения, проявляющийся в ощущении легкого прикосновения. Сначала делают по две-три пробы, и напряжение тока увеличивают с большими интервалами, например 5 В. Получив отчетливое ощущение легкого прикосновения, незначительно уменьшают напряжение тока и снова его увеличивают, но с интервалами 1 В, и с каждым напряжением делают уже по десять проб. Пороговым считается стимул, при котором будет пять положительных ответов из десяти. Например, в нижеприведенной таблице пороговое напряжение тока составило 21 В, подпороговые напряжения составили 10–20 В, надпороговые напряжения – 22–23 В.

Продолжая увеличивать напряжение тока, сравнивают новое ощущение с предыдущим: «Ясный толчок – Легкое прикосновение», «Сильный толчок – Ясный толчок», «Боль – Сильный толчок». Полученные данные заносят в таблицы.

Напряжение тока, В	Ощущение (в 10 пробах)	
	Легкое прикосновение	Отсутствует
10	–	2
15	–	2
20	3	7
18	–	10
19	2	8
20	3	7
21	5	5
22	8	2
23	10	–

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

Лабораторная работа 3.4. Определение реобазы, хронаксии и построение кривой силы-длительности при электрическом раздражении рецепторного звена

Эффективность раздражителя зависит как от силы, так и от длительности его действия. Сила раздражителя, вызывающего процесс распространяющегося возбуждения, находится в обратной зависимости от времени его действия (рис. 4). Данная закономерность была экспериментально установлена в 1892 году голландским физиком Л. Гоорвегом и графически представлена в 1901 году французским физиологом Ж. Вейсом.

Кривая зависимости представляет собой гиперболу, ветви которой асимптотически приближаются к линиям, параллельным осям координат.

Минимальная сила тока (или напряжение тока), способная вызвать возбуждение, называется **реобазой**. Наименьшее время, в течение которого должен действовать ток, равный реобазе, чтобы вызвать возбуждение, называют **полезным временем**.

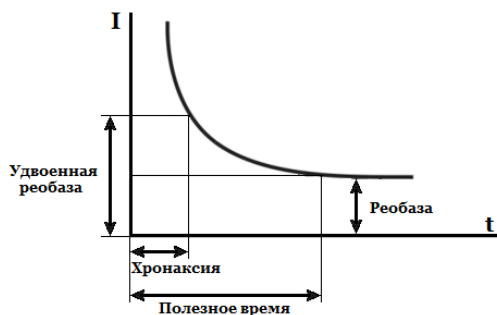


Рис. 4. Кривая Гоорвега–Вейса–Лапика

На практике очень сложно точно определить полезное время, поскольку функциональное состояние возбудимым систем постоянно

янно претерпевает колебания в ту или иную сторону, и реобазы может быть то пороговым, то околопороговым (подпороговым, либо сверхпороговым) раздражителем. Поэтому, в 1909 году французский физиолог Л. Лапик предложил понятие «хронаксия». **Хронаксия** – это наименьшее время, в течение которого электрический ток, равный удвоенной реобазе, способен вызвать возбуждение.

В экспериментальных условиях определение реобазы и хронаксии осуществляется с помощью прибора хронаксиметра.

Цель работы: в экспериментальных условиях измерить реобазу и хронаксию различных анализаторов и построить кривую силы-длительности.

Объект исследования: человек.

Оборудование и материалы: лабораторно-клинический хронаксиметр, индифферентный и активный электроды, вата, марля, спирт, 10% раствор хлорида натрия.

Ход работы:

1. Определение кожной сенсорной реобазы.

Закрепляют на предплечье испытуемого индифферентный электрод как описано в предыдущих работах. Устанавливают переключатель рода работ хронаксиметра на режим «постоянный ток». Ручку плавной регулировки напряжения тока ставят в нулевое положение. Смачивают активный электрод раствором хлорида натрия и прикладывают его к тыльной стороне ладони руки испытуемого. Ручкой плавной регулировки устанавливают напряжение тока 4–5 В и нажимают на кнопку подачи тока. Вращая ручку плавной регулировки по часовой или против часовой стрелки, подбирают минимальное напряжение, при котором испытуемый ощущает прохождение тока. Данное напряжение тока представляет собой кожную сенсорную реобазу.

2. Определение кожной сенсорной хронаксии.

Определяют реобазу как описано выше. Точку раздражения отмечают маркером (электропроводность и плотность расположения рецепторов в разных участках кожи может отличаться). Затем переключатель рода работ ставят на режим «одиночный импульс», что обеспечивает автоматическое удвоение напряжения тока (реобазы). Показания на вольтметре в это время отсутствуют (стрелка вольтметра возвращается к нулевой отметке). Ручку грубой регулировки длительности импульсов ставят в положение I; указатель длительности импульсов – в положение 0,01 мсек. Смоченный раствором хлорида натрия активный электрод прикладывают к отмеченной маркером точке на коже. Увеличивая ручкой плавной регулировки длительность импульса и замыкая кнопкой подачи тока электрическую цепь, добиваются появления ощущения прохождения тока. Минимальная длительность импульса (при удвоенном напряжении тока), при которой возникает ощущение прохождения тока, представляет собой кожную сенсорную хронаксию.

3. Построение кривой силы-длительности.

Определяют реобазу и хронаксию как описано выше. Переключатель рода работ оставляют в положении «одиночный импульс», показания вольтметра при этом отсутствуют. Ручкой плавной регулировки уменьшают длительность импульса по сравнению с найденной хронаксией в 1,5–2 раза. Увеличивая ручкой плавной регулировки напряжение тока и замыкая кнопкой подачи тока электрическую цепь, добиваются появления ощущения прохождения тока. Переключатель рода работ переводят в режим «постоянный ток», появившиеся показания вольтметра умножают на два. Затем, уменьшая на 1–2 деления длительность импульса, аналогичным способом определяют напряжение тока, при котором возникает ощущение раздражения. Длительность импульса посте-

пенно доводят до 0,01 мс. По полученным значениям строят кривую «силы-длительности».

4. Определение оптической реобазы и хронаксии.

Признаком возбуждения зрительного анализатора является ощущение фосфена (светового пятна). Исследование проводится так же, как и при определении кожной сенсорной реобазы и хронаксии. Активный электрод при этом прикладывают к наружной орбите глаза (при открытых глазах) или к верхнему веку (при закрытых глазах) испытуемого. Наименьшее напряжение тока, вызывающее ощущение фосфена, является оптической реобазой. Наименьшая длительность импульса (при удвоенной реобазе), вызывающая ощущение фосфена, является оптической хронаксией.

5. Определение вестибулярной реобазы и хронаксии.

Для определения вестибулярной реобазы и хронаксии испытуемого сажают на стул без спинки. Определение параметров проводится как в вышеописанных случаях. Активный электрод прикладывают к коже перед козелком уха испытуемого. Минимальное напряжение тока, при котором происходит произвольный наклон головы вбок, является вестибулярной реобазой. Минимальная длительность импульса (при удвоенной реобазе), вызывающего наклон головы вбок, является вестибулярной хронаксией.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

Лабораторная работа 3.5. Экспериментальная проверка закона Вебера–Фехнера

При действии на органы чувств внешнего стимула возникает специфическое ощущение этого воздействия.

Зависимость между величиной ощущения и величиной действующего стимула отражает закон Вебера–Фехнера.

Еще в 1760 году Буггер установил, что отношение минимально воспринимаемого изменения освещенности ΔI к величине освещенности I есть величина постоянная в широких пределах изменения освещенности:

$$\frac{\Delta I}{I} = \text{const}$$

Вебер установил такую же закономерность для других сенсорных систем (слуховой, мышечно-суставной и т.д.): отношение минимально воспринимаемого прироста раздражения ΔR к его исходной величине R есть величина постоянная:

$$\frac{\Delta R}{R} = \text{const}$$

Например, чтобы прирост в весе груза стал ощутимым, он должен превышать ранее действовавший вес на 3%.

Фехнер предположил, что минимальный прирост ощущения ΔS относительно исходного уровня ощущения S тоже является константой, то есть

$$\Delta S = k \frac{\Delta R}{R}$$

где k – коэффициент пропорциональности.

Интегрируя данное выражение и производя алгебраические преобразования, Фехнер получил:

$$S = a \cdot \lg R + b$$

где a и b – постоянные величины.

Таким образом, согласно закону Вебера–Фехнера, величина ощущения S возрастает пропорционально логарифму силы раздражения.

Цель работы: при механическом и электрическом раздражении кожи определить отношение минимально воспринимаемого прироста раздражения к его исходной величине.

Объект исследования: человек.

Оборудование и материалы: набор гирь различной массы, пластмассовая пластинка, пинцет, электронный стимулятор или лабораторно-клинический хронаксиметр, индифферентный и активный электроды, вата, марля, спирт, 10% раствор хлорида натрия.

Ход работы:

1. Проверка закона Вебера–Фехнера при механическом раздражении кожи.

На раскрытую ладонь согнутой в локте руки испытуемого помещают небольшую пластмассовую пластинку и просят испытуемого закрыть глаза. При помощи пинцета осторожно кладут на пластинку гирьку массой 1 г. Затем рядом последовательно кладут гирьки массой 0,01 г. до тех пор, когда испытуемый почувствует разницу в массе исходной гирьки и набора гирек, и сообщит об этом экспериментатору.

Проделывают те же манипуляции с гирями большей массы: добавляют к гирьке массой 5 г. гирьки массой 0,05 г, к гирьке массой 10 г. гирьки массой 0,1 г и т.д. Определяют границы приложимости закона Вебера–Фехнера, в которых отношение минимально воспринимаемого прироста раздражения к его исходной величине будет оставаться постоянной величиной.

2. Проверка закона Вебера–Фехнера при электрическом раздражении кожи.

Обезжиривают предплечье испытуемого спиртом, накладывают марлевую салфетку, смоченную 10% раствором хлорида натрия, поверх которой укрепляют пластинчатый индифферентный электрод, подключенный к электронному стимулятору или лабораторно-клиническому хронаксиметру. Смоченный раствором хлорида натрия и подключенный к прибору активный электрод прикладывают к коже ладони или предплечья другой руки испытуемого. Подают на электроды электрический ток и, меняя его

напряжение, определяют абсолютный порог раздражения, проявляющийся в ощущении прикосновения. Ступенчато, примерно на $1/5$ – $1/10$ от исходной величины, увеличивают напряжение тока. По вербальной реакции испытуемого определяют разностный порог раздражения. В качестве едва различимого прироста силы раздражения берут то измерение, в котором разница будет ощущаться в 5 пробах из 10.

Повторяют те же манипуляции, взяв в качестве исходного напряжение тока, превышающее пороговое в 2 раза, в 3 раза и т.д. Опыт прекращают, когда электрическое раздражение начнет вызывать болевые ощущения.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

Раздел 4. ФИЗИОЛОГИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Лабораторная работа 4.1. Локализация дыхательного центра

Цель работы: Экспериментально показать локализацию дыхательного центра. Освоить методику регистрации биоэлектрической активности дыхательных мышц (методику электромиографии) у животных.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), спиртовой раствор йода, электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, стереотаксическая установка СЭЖ-3, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного, электронный миограф и компьютер с программным обеспечением Power Graph, биполярные регистрирующие металлические электроды с межэлектродным расстоянием 3 мм, стереотаксический атлас мозга крысы [8].

Ход работы.

Работа проводится в несколько этапов, включающих в себя наркотизацию животного, операционную подготовку и экспериментальную часть.

Операционная подготовка, включающая ряд хирургических процедур:

1. У наркотизированной крысы проводят трахеостомию.
2. Далее проводят операцию доступа к наружным межреберным мышцам. Животное располагают на спине на операционном столике, фиксируют голову и конечности. Затем приступают к подготовке операционного поля на одной стороне

грудной клетки (выбрасывают шерсть, обрабатывают кожу йодом). Делают разрез кожи на уровне нижних ребер, достаточный для введения регистрирующих электродов в наружные межреберные мышцы в области VII–VIII межреберий. Рану прикрывают марлевой салфеткой, смоченной в теплом физиологическом растворе.

3. Затем проводят операцию трепанации черепа. Для этого переносят животное в стереотаксический прибор СЭЖ-3, фиксируют голову с помощью ушных и резцовых держателей. Готовят операционное поле на голове, делают продольный разрез кожи над крышей черепа. Обнажают всю поверхность головного мозга, стараясь не повредить его. Прикрывают рану марлевой салфеткой, смоченной в теплом физиологическом растворе. После этого приступают к эксперименту.

Температуру тела животного во время операции и последующего экспериментального вмешательства поддерживают на постоянном уровне с помощью грелки.

Экспериментальная часть, которая выполняется в несколько этапов:

1. Через 15 минут после операции записывают исходную электрическую активность дыхательных мышц – электромиограмму (ЭМГ). Вводят в наружные межреберные мышцы (VII–VIII межреберья) регистрирующие металлические электроды, соединенные к электронному миографу. Регистрируют ЭМГ в течение 1 минуты.

2. Далее осуществляют Регистрацию ЭМГ наружных межреберных мышц после перерезки позади бугров четверохолмия (рис. 5, сечение 1). Отмечают изменения дыхания.

3. После стабилизации дыхания опять осуществляют регистрацию ЭМГ, а затем осуществляют перерезку ствола мозга ниже слуховых полос (рис. 5, сечение 2). Вновь отмечают изме-

нения дыхания и регистрируют ЭМГ. Затем проводят перерезку ствола мозга на уровне XIII-й пары черепно-мозговых нервов (рис. 5, сечение 3). Регистрируют изменение ЭМГ. Затем препаровальной иглой разрушают участок продолговатого мозга в области писчего пера. Отмечают и регистрируют изменения дыхания.

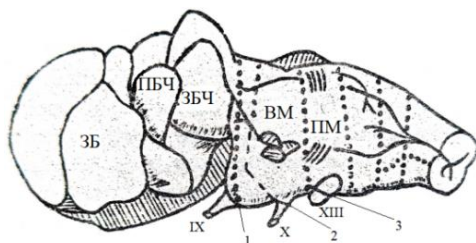


Рис. 5. Схема перерезок ствола мозга по Люмсену.

ЗБ – зрительные бугры; ПБЧ – передние бугры четверохолмия;

ЗБЧ – задние бугры четверохолмия; ВМ – варолиев мост;

ПМ – продолговатый мозг; IX, X, XIII – черепномозговые нервы;

1, 2, 3 – линии сечений мозга

Обработка и анализ изменений ЭМГ наружных межреберных мышц:

На суммарных ЭМГ определяют длительность инспираторного залпа (ДЗ, с), и межзалпового интервала (МЗИ, с), амплитуду осцилляций в залпе (Амп, отн. ед.) в покое и после осуществления перерезок.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Занесите результаты изменений всех параметров ЭМГ инспираторных мышц в покое и после осуществления перерезок в таблицу:

Параметр ЭМГ	Исходное значение	После осуществления перерезок					
		После 1 перерезки	Изменение, % от исх.	После 2 перерезки	Изменение, % от исх.	После 3 перерезки	Изменение, % от исх.
ДЗ, с							
МЗИ, с							
Амп, отн. ед.							

3. Сделайте теоретические заключения о локализации дыхательного центра у крыс.

Лабораторная работа 4.2. Исследование роли блуждающего нерва в регуляции дыхания у животных

Цель работы: изучить характер дыхания при перерезке и раздражении блуждающих нервов.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, трахеостомическая трубка, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), спиртовой раствор йода, электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, стереотаксическая установка СЭЖ-3, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного, электронный миограф и компьютер с программным обеспечением Power Graph, электронный стимулятор, биполярные регистрирующие металлические электроды с межэлектродным расстоянием 3 мм.

Ход работы.

Работа проводится в несколько этапов, включающих в себя наркотизацию животного, операционную подготовку и экспериментальную часть.

Регистрация дыхания при односторонней перерезке блуждающих нервов.

Операционная подготовка, включающая ряд хирургических процедур:

1. У наркотизированной крысы проводят трахеостомию.
2. Если в опыте используется методика электромиографии, то следует провести операцию доступа к наружным межреберным мышцам. Для этого животное располагают на спине на операционном столике, фиксируют голову и конечности. Затем приступают к подготовке операционного поля на одной стороне грудной клетки (выбрасывают шерсть, обрабатывают кожу йодом). Делают разрез кожи на уровне нижних ребер, достаточный для введения регистрирующих электродов в наружные межреберные мышцы в области VII–VIII межреберий. Рану прикрывают марлевой салфеткой, смоченной в теплом физиологическом растворе.

После этого приступают к эксперименту.

Температуру тела животного во время операции и последующего экспериментального вмешательства поддерживают на постоянном уровне с помощью грелки.

Экспериментальная часть, которая выполняется в несколько этапов:

1. Регистрацию фонового дыхания и/или электромиограммы (ЭМГ) наружных межреберных мышц проводят в исходном состоянии. Вводят в наружные межреберные мышцы (VII–VIII межреберья) регистрирующие металлические электроды, подсоединенные к электронному миографу. Регистрируют ЭМГ в течение 1 минуты.
2. Не прекращая запись фонового дыхания, осторожно перевязывают один блуждающий нерв, как можно каудальнее, и перерезают ниже перевязки. Регистрация изменения дыхания и/или ЭМГ. Замечают время, через которое наступают изменения.

Регистрация дыхания при раздражении блуждающих нервов.

Помещают центральный конец перерезанного блуждающего нерва на стимулирующие электроды. Записывают фоновое дыхание и/или электромиограммы (ЭМГ). Затем, не прекращая записи, раздражают блуждающий нерв импульсивным током. Каждое последующее раздражение следует наносить с интервалом 2–3 минуты. Меняя силу раздражения и время его нанесения, можно получить следующие результаты:

А) при слабом токе можно получить как урежение, так и учащение дыхания;

Б) при средней силе раздражения результат реакции будет зависеть от того, на какую фазу дыхательного цикла приходится раздражение. Если раздражение начинается во время вдоха, то вдох обрывается и начинается выдох. Если раздражение наносится во время выдоха, то выдох прекращается, начинается вдох;

В) при сильном раздражении центрального конца блуждающего нерва происходит остановка дыхания на вдохе. Если животное находится в состоянии глубокого наркоза, то вместо остановки на вдохе получается остановка дыхания на выдохе.

Пронаблюдайте за изменениями дыхания при указанных условиях.

Регистрация дыхания при раздражении блуждающих нервов.

Убирают стимулирующие электроды с центрального конца перерезанного нерва. Записывают фон дыхания. Не прерывая записи, оттягивают при помощи лигатуры второй блуждающий нерв и перерезают его. Наблюдают за изменениями дыхания.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

2. Записанные кривые дыхания и/или ЭМГ занесите в протокол опыта и проанализируйте их.
3. Сформулируйте выводы.

Лабораторная работа 4.3. Роль блуждающих нервов регуляции дыхания. Рефлекс Геринга–Брейера

Рефлекс Геринга–Брейера – это дыхательный рефлекс, который возникает во время вдоха и выдоха. Он является существенным звеном саморегуляции дыхания.

Во время вдоха происходит растяжение легких, которое вызывает раздражение механорецепторов, расположенных в альвеолах, а также в межреберных мышцах и диафрагме. От механорецепторов нервные импульсы по блуждающему нерву поступают в дыхательный центр продолговатого мозга и приводят к возбуждению нейронов, вызывающих расслабление мышц и выдох. Чем сильнее растяжение легких, тем больше поступает в дыхательный центр импульсов, ведущих к прекращению вдоха и возникновению выдоха. Прекращение этих импульсов вновь стимулирует вдох.

Цель работы: исследовать роль блуждающего нерва в регуляции дыхания.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: препаровальный столик для мелких животных, набор хирургических инструментов, стеклянные крючки, физиологический раствор для теплокровных животных, вата, марля, бинт, спирт, трахеостомическая канюля, миниатюрный спирометр Крога, электростимулятор, блок электронной кодировки сигнала спирометра «Спиро», компьютер, оснащенный программой Power Graph.

Ход работы:

Наркотизированную крысу фиксируют на препаровальном столике вентральной поверхностью вверх и проводят трахеостомию.

Далее, ниже области расположения щитовидной железы, турым способом при помощи анатомической лопаточки и пинцетов аккуратно отпрепаровывают трахею и подводят под нее две лигатуры. Острым скальпелем между хрящевыми полукольцами делают неглубокий поперечный или Т-образный разрез трахеи и аккуратно вводят трахеостомическую трубку достаточно глубоко (на глубину 5–6 мм), но выше области бифуркации трахеи. Фиксируют трубку при помощи лигатур.

1. Аккуратно при помощи крючков оттягивают от трахеи и фиксируют прямые мышцы шеи. Под ними, ближе к трахее располагается сосудисто-нервный пучок, включающий блуждающий нерв, симпатический ствол и сонную артерию. Аккуратно, при помощи стеклянных крючков отделяют сонную артерию от нервного пучка. Затем, используя стеклянный крючок отделяют латерально идущий симпатический ствол от медиально расположенного парасимпатического блуждающего нерва. Под блуждающий нерв подводят лигатуру. Через трахеостомическую трубку животное соединяют с миниатюрным спирометром Крога, совмещенному с блоком электронной кодировки сигнала «Спиро». «Спиро» подключается к видеокarte компьютера. Спирограммы записывали в программе Power Graph. На полученных спирограммах определяют длительность дыхательного цикла (T_t , с), экспираторной (T_e , с) и инспираторной (T_i , с) фаз, дыхательный объем (V_t , мл). Минутный объем дыхания (МОД V , мл/мин) также определяют методом расчета по формуле $V=f \times V_t$.

2. Проводят двустороннюю перерезку блуждающих нервов каудальнее наложенной лигатуры. Регистрируют изменения паттерна дыхания, наблюдаемые после ваготомии.

3. Под один из блуждающих нервов подводят стимулирующие электроды, экспериментально подбирают параметры стимулирующего тока таким образом, чтобы при стимуляции в момент вдоха наступало прерывание инспирации (50 Гц; 60 – 400 мкА). Определяют пороговую силу тока, а затем увеличивают ее значения в 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 раза вплоть до остановки дыхания более чем на 15 с от начала стимуляции. Для оценки выраженности инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга–Брейера на спирограммах определяют продолжительность экспирации до воздействия на блуждающий нерв (TE init) и интервал времени от момента начала стимуляции до появления первого вдоха (TE infl). На основании полученных данных рассчитывают величину «нормализованной» длительности выдоха $TE\ norm = TE\ infl / TE\ init$

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Оцените паттерн дыхания до и после ваготомии.
3. Оцените изменения паттерна дыхания после ваготомии и при стимуляции блуждающего нерва. Постройте кривую «силы-длительности» для рефлекса Геринга–Брейера.
4. Сделайте вывод о роли блуждающих нервов в регуляции дыхания.

**Лабораторная работа 4.4. Доступ
к вентральной поверхности ствола мозга**

Цель работы: освоить методику доступа к локализации дыхательного центра с вентральной стороны.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл),

спиртовой раствор йода, электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, стереотаксическая установка СЭЖ-3, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного.

Ход работы.

Работа проводится в несколько этапов, включающих в себя наркотизацию животного, операционную подготовку и экспериментальную часть.

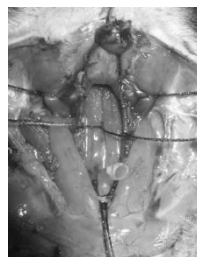
У наркотизированной крысы проводят трахеостомию. Животных помещают в стереотаксическую установку в положении вентральной поверхностью вверх. Подготавливают широкое поле для операции, последовательно удаляя кожу, многокамерную жировую ткань, а также поверхностную шейную часть подкожной мышцы шеи от уровня рукоятки грудины до области нижнечелюстного симфиза. На уровне нижнего края нижней челюсти во избежание сильного кровотечения билатерально перевязываем краниальную лицевую вену, которая проходит в щели между жевательной мышцей и ростральным брюшком двубрюшной мышцы до подъязычной кости (рис. 6 А).



А



Б



В

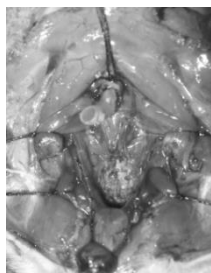
Рис. 6. А – Обнаженная трахея, при этом краниальная лицевая вена перевязана. Б – Каудальные щитовидные артерия и вена, трахея при этом сдвинута влево [1]. В – Перевязка тонких ветвей краниальной щитовидной артерии

Отпрепаровывают трахею от прилежащих тканей (рис. 6 Б) и подводим две лигатуры, одной из которых в области нижней трети трахеи закрепляем трахеостомическую трубку.

Второй лигатурой перевязывают верхнюю треть трахеи, после чего трахею перерезают и заводят вверх и назад, закрепляя с помощью лигатуры в головодержателе стереотаксической установки. При этом необходимо перевязать тонкие ветви краниальной щитовидной артерии, которые отходят от наружной сонной артерии напротив гортани (рис. 6 В).

Для предотвращения повреждения общих сонных артерий, которые идут краниально параллельно трахее в составе нервно-сосудистого пучка, отводят их как можно более латерально с помощью специальных крючков. Кроме того, для отведения сонных артерий можно использовать отпрепарированные с двух сторон грудино-подъязычные мышцы, которые проводят под сосудисто-нервными пучками и с помощью лигатур оттягивают латерально (рис. 7 А).

Отпрепаровывают длинную мышцу головы, которая берет начало от вентральных краев поперечных отростков шейных позвонков, направляется краниально и заканчивается на базилярной части затылочной кости и основании клиновидной кости (рис. 7 Б). Для этой цели можно использовать электротермокоагулятор. При помощи кусачек удаляют конусообразный отросток – зуб – второго шейного позвонка и вентральную дугу атланта – первого шейного позвонка. Как правило, эти манипуляции сопровождаются более или менее выраженным кровотечением, которое останавливается разными способами: кровоточащие участки кости осушают марлевыми тампонами, замазывают сплавом воска с вазелином, прикладывают гемостатическую губку. Кровотечение мышечное останавливают с помощью зажимов, прижигают термокаутером. После этого приступают ко второй части операции – открытию вентральной поверхности ствола мозга.



А



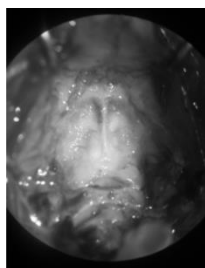
Б

Рис. 7. А – Отпрепарированный с двух сторон грудино-подъязычные мышцы. Б – Длинная мышца головы [1]

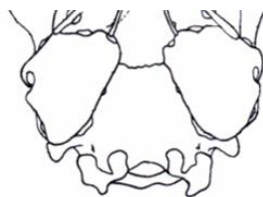
Костное операционное поле, освобожденное от мягких тканей, кровяных сгустков и тщательно высушенное тампонами, готово к тому, чтобы производить на нем разметки и просверливать трепанационные отверстия для открытия доступа к мозгу (рис. 8 А, Б). Для высверливания трепанационных отверстий удобно пользоваться зубоврачебной бормашиной. Кости черепа у крыс достаточно тонкие, что требует большой аккуратности при работе с ними. Кроме того, необходимо соблюдать еще одну предосторожность: трепанационные отверстия делаются не ближе 1,0 мм от черепных швов, во избежание повреждения венозных синусов.



А



Б



В

Рис. 8. А, Б – Кости черепа крысы. В – Отверстие подъязычного канала – место выхода подъязычного нерва

Для открытия вентральной поверхности ствола мозга необходимо удалить базилярную и латеральные части затылочной кости. Базилярная часть составляет основание черепа и вместе с лежащей рострально клиновидной костью образует дно полости черепа, а каудально участвует в формировании большого (затылочного) отверстия. Каждая латеральная часть несет затылочный мыщелок для сочленения с атлантом. Латеральнее каждого из мыщелков лежат парные околомыщелковые отростки. У основания этих отростков на дне вентральной мыщелковой ямки заметно отверстие подъязычного канала – место выхода подъязычного нерва (рис. 8 В).

При помощи шарообразного бора осуществляется истончение костной пластинки: рострально – на границе с клиновидной костью, латерально – на границе с барабанными пузырями, каудально – граница проходит на 1,0–1,5 мм медиальнее места выхода XII пары черепно-мозговых нервов и пересекает затылочные мыщелки. При работе следует обратить внимание на расположение внутренней сонной артерии и внутренней яремной вены (рис. 9). Внутренняя сонная артерия проходит небольшое расстояние вдоль медиальной поверхности барабанного пузырька, затем проникает в сонный канал между пузырьком и основной пластиной затылочной кости и входит в полость черепа, где отдает ветви к структурам мозга. Внутренняя яремная вена покидает полость черепа через каудальное рваное отверстие. Ее повреждение может привести к разрыву вентрального каменистого синуса и сильному кровотечению.

После истончения костную пластинку приподнимают пинцетом со стороны затылочного отверстия и удаляют. Таким образом обнажается вентральная поверхность от уровня первого шейного сегмента спинного мозга до уровня выхода корешков VI–VII пар черепно-мозговых нервов и на 4,0–4,5 мм латеральнее средней линии мозга. Твердую мозговую оболочку вскрывают при помощи остро отточенной иглы (например, инсулиновая игла), делая про-

дольный разрез вдоль средней линии мозга, а также два поперечных разреза: каудально – на уровне первого шейного сегмента, рострально – на границе с клиновидной костью. Лоскуты твердой мозговой оболочки можно закрепить миниатюрными металлическими крючками.

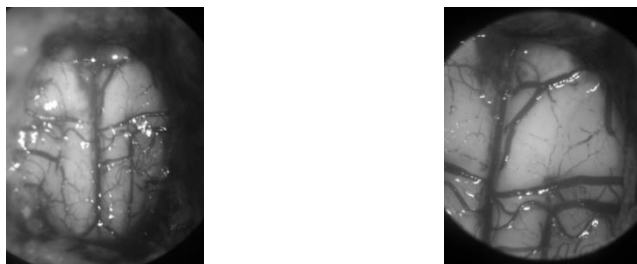


Рис. 9. Расположение внутренней сонной артерии и внутренней яремной вены при разном увеличении микроскопа

При применении металлических микроэлектродов для отведения потенциалов обычно достаточно вскрыть твердую мозговую оболочку, дальше микроэлектрод проходит свободно. Для стеклянных же микроэлектродов мягкая и паутинная мозговые оболочки могут быть непреодолимым препятствием. Поэтому перед погружением необходимо в избранной точке мозговой поверхности под контролем стереоскопического микроскопа сделать незначительный надрез этих оболочек в области между сосудами. Открытая часть мозга должна быть помещена в условия, сохраняющие его нормальную жизнедеятельность. Например, устройство ванночки из парафинового или вазелинового масла, краями которой могут быть кожные лоскуты вокруг операционного отверстия. Под масло может быть налит слой рингеровского раствора или искусственной цереброспинальной жидкости. Масло создает хорошие оптические условия для наблюдения поверхности

и устраняет подсыхание. Температура его может поддерживаться на необходимом уровне с помощью грелки.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте теоретические заключения о локализации дыхательного центра у крыс.

Лабораторная работа 4.5. Исследование роли супрабульбарных структур мозга в регуляции дыхания

Важная роль в обеспечении деятельности дыхательного центра продолговатого мозга принадлежит супрабульбарным отделам головного мозга. Супрабульбарные отделы головного мозга могут напрямую модулировать ритмическую активность трех бульбарных генераторов дыхательного ритма. Благодаря респираторным влияниям супрабульбарных отделов происходят перестройка деятельности дыхательного центра и приспособление дыхания к изменяющимся условиям жизнедеятельности организма. Супрабульбарные отделы головного мозга оказывают только модулирующее влияние на основные респираторные нейроны продолговатого мозга.

Цель работы: Освоить методику регистрации биоэлектрической активности дыхательных мышц (методику электромиографии) у животных. Исследовать роль вентромедиального ядра гипоталамуса (ВМЯ) в регуляции ритмической активности инспираторных мышц у животных.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), спиртовой раствор йода, электроплитка для подогревания раство-

ров, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, стереотаксическая установка СЭЖ-3, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного, электронный миограф и компьютер с программным обеспечением Power Graph, электронный стимулятор, биполярные регистрирующие металлические электроды с межэлектродным расстоянием 3 мм, стимулирующий металлический микроэлектрод с диаметром кончика 80–100 мкм, стереотаксический атлас мозга крысы [8].

Ход работы.

Работа проводится в несколько этапов, включающих в себя наркотизацию животного, операционную подготовку и экспериментальную часть.

Операционная подготовка (включает ряд хирургических процедур):

1. У наркотизированной крысы проводят трахеостомию.
2. Проводят операцию доступа к наружным межреберным мышцам. Животное располагают на спине на операционном столике, фиксируют голову и конечности. Затем приступают к подготовке операционного поля на одной стороне грудной клетки (выбрасывают шерсть, обрабатывают кожу йодом). Делают разрез кожи на уровне нижних ребер, достаточный для введения регистрирующих электродов в наружные межреберные мышцы в области VII–VIII межреберий. Рану прикрывают марлевой салфеткой, смоченной в теплом физиологическом растворе.
3. Затем проводят операцию трепанации черепа. Для этого переносят животное в стереотаксический прибор СЭЖ-3, фиксируют голову с помощью ушных и резцовых держателей. Готовят операционное поле на голове, делают продольный разрез кожи над крышкой черепа. Обнажают поверхность черепа в области bregma (рис. 10) и высверливают трепанационное отверстие для введения стимулирующего микроэлектрода в ВМЯ гипоталамуса. Прикры-

вают рану марлевой салфеткой, смоченной в теплом физиологическом растворе. После этого приступают к эксперименту.

Температуру тела животного во время операции и последующего экспериментального вмешательства поддерживают на постоянном уровне с помощью грелки.

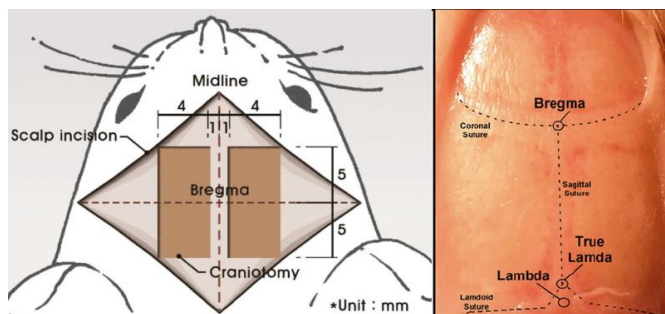


Рис. 10. Поверхность черепа в области bregma

Экспериментальная часть (выполняется в несколько этапов):

1. Регистрация электромиограммы (ЭМГ) наружных межреберных мышц в исходном состоянии. Вводят в наружные межреберные мышцы (VII–VIII межреберья) регистрирующие металлические электроды, подсоединенные к электронному миографу. Регистрируют ЭМГ в течение 1 минуты

2. Регистрация ЭМГ наружных межреберных мышц при раздражении ВМЯГ. После окончания записи исходной ЭМГ открывают область трепанации и вводят в ВМЯ гипоталамуса стимулирующий электрод по координатам, указанным в стереотаксическом атласе мозга крысы (каудальнее bregma на 2,8 мм; латеральнее срединного шва на 0,6 мм; вглубь от дорсальной поверхности мозга на 9,5 мм).

Устанавливают на электростимуляторе необходимые параметры раздражающего тока. Рекомендуется для раздражения использовать импульсный ток разной интенсивности:

- 1) частота 10 Гц, напряжение 1 В;
- 2) частота 10 Гц, напряжение 3 В;
- 3) частота 10 Гц, напряжение 5 В.

Регистрируют ЭМГ дыхательных мышц непосредственно во время электростимуляции гипоталамуса током каждой интенсивности и в течение 30 с после ее окончания. Длительность каждого раздражения должна составлять 3–5 с, интервал между раздражениями 5 мин.

Обработка и анализ изменений ЭМГ наружных межреберных мышц:

На суммарных ЭМГ определяют длительность инспираторного залпа (ДЗ, с), и межзалпового интервала (МЗИ, с), амплитуду осцилляций в залпе (Амп, отн. ед.) в покое и после раздражения ВМЯ гипоталамуса током разной интенсивности.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Занесите результаты изменений всех параметров ЭМГ инспираторных мышц при раздражении гипоталамуса в таблицу:

Параметр ЭМГ	Исходное значение	При электростимуляции вентромедиального ядра гипоталамуса током разной интенсивности					
		10 Гц, 1В	Изменение, % от исх.	10 Гц, 3 В	Изменение, % от исх.	10 Гц, 5В	Изменение, % от исх.
ДЗ, с							
МЗИ, с							
Амп, отн. ед.							

3. Постройте гистограммы, отражающие зависимость реакций дыхания от интенсивности раздражения вентромедиального ядра гипоталамуса.

4. Сделайте теоретические заключения о роли гипоталамуса в центральных механизмах регуляции дыхания, объяснить механизмы реализации влияний гипоталамуса на биоэлектрическую активность.

5. Сформулируйте выводы.

Лабораторная работа 4.6. Роль коры головного мозга в регуляции деятельности дыхательного центра

Дыхательный ритм может быть изменен нервными сигналами из коры больших полушарий головного мозга и других отделов центральной нервной системы, например при пении, речи, смехе, глотании, рвоте, эмоциональных реакциях и т.п.

Цель работы: используя методику электромиографии изучить характер асимметрий, развивающихся в деятельности дыхательного центра при унилатеральном раздражении коры головного мозга.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплостойких, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), спиртовой раствор йода, электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, стереотаксическая установка СЭЖ-3, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного, электронный миограф и компьютер с программным обеспечением PowerGraph, электронный стимулятор, биполярные регистрирующие металлические электроды с межэлектродным расстоянием 3 мм, стимулирующий

металлический микроэлектрод с диаметром кончика 80–100 мкм, стереотаксический атлас мозга крысы [8].

Ход работы.

Работа проводится в несколько этапов, включающих в себя наркотизацию животного, операционную подготовку и экспериментальную часть.

1. У наркотизированной крысы проводят трахеостомию.

2. Проводят операцию доступа к наружным межреберным мышцам. Животное располагают на спине на операционном столе, фиксируют голову и конечности. Затем приступают к подготовке операционного поля на одной стороне грудной клетки (выбрасывают шерсть, обрабатывают кожу йодом). Делают разрез кожи на уровне нижних ребер, достаточный для введения регистрирующих электродов в наружные межреберные мышцы в области VII–VIII межреберий. Рану прикрывают марлевой салфеткой, смоченной в теплом физиологическом растворе.

3. Затем проводят операцию трепанации черепа. Для этого переносят животное в стереотаксический прибор СЭЖ-3, фиксируют голову с помощью ушных и резцовых держателей. Готовят операционное поле на голове, делают продольный разрез кожи над крышей черепа. Обнажают поверхность черепа и высверливают 1–2 трепанационных отверстий, а затем «скусывая» кости при помощи пинцета или зажима, обнажают большие полушария как можно обширнее. Глазными ножницами аккуратно подрезают и снимают твердую мозговую оболочку. Закрывают поверхность мозга салфеткой, смоченной теплым физиологическим раствором (37 °С).

Прооперированное животное подключают к питающей сети регистрирующую аппаратуру и электростимулятор. Вводят в симметричные участки дыхательных мышц на сторонах грудной клетки игольчатые регистрирующие электроды и добиваются появления на экране четких, синхронных электромиограмм.

Регистрация ЭМГ дыхательных мышц при раздражении коры головного мозга до комиссуротомии.

Устанавливают на электростимуляторе необходимые для раздражения коры мозга параметры импульсного тока (примерно: амплитуда 10–15 В, частота 60–100 Гц, длительность импульса 0,5 мс). Подводят раздражающие электроды к поверхности сенсомоторной области коры одного из больших полушарий (например, правого).

Регистрируют исходную (фоновую) активность наружных межреберных мышц правой и левой сторон грудной клетки одновременно. После этого зарегистрируйте ЭМГ при стимуляции коры правого большого полушария и в течение нескольких секунд после стимуляции.

Переставляют раздражающие электроды в симметричную область коры другого (левого) полушария, записывают ЭМГ дыхательных мышц до, во время и после стимуляции.

Регистрация ЭМГ дыхательных мышц при раздражении коры головного мозга после перерезки комиссур переднего мозга.

Отводят от поверхности мозга стимулирующие электроды. Затем, осторожно раздвигают (при помощи гистологических шпателей) большие полушария, вводят в продольную сагиттальную щель остроконечный глазной скальпель и рассекают волокна мозолистого тела.

После остановки кровотечения осуществляют регистрацию ЭМГ дыхательных мышц при последовательном раздражении сенсомоторной коры правого и левого больших полушарий.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента. В протокол внесите первичный экспериментальный материал в виде электромиограмм.
2. Заполните таблицу:

Параметр ЭМГ	Исходное значение		При электростимуляции коры головного мозга до комиссуротомии		При электростимуляции коры головного мозга после перерезки комиссур переднего мозга	
	правая сторона	левая сторона	правая сторона	левая сторона	правая сторона	левая сторона
ДЗ, с						
МЗИ, с						
Амп, отн. ед.						

3. Сделайте выводы о характере и путях взаимодействия коры головного мозга с дыхательным центром у крыс, о роли коры в парной деятельности дыхательного центра.

Лабораторная работа 4.7. Методика подготовки изолированного бульбоспинального препарата мозга новорожденных крыс in vitro

В настоящее время методологический подход in vitro получил широкое распространение в исследовании механизмов взаимодействия в различных нейронных сетях. В частности, модель изолированного бульбоспинального препарата мозга новорожденных животных является методически удобной и информативной для

изучения нейрональных и медиаторных механизмов формирования периодической активности дыхательного центра в различные периоды раннего онтогенеза. В условиях *invitro* бульбоспинальный препарат генерирует спонтанную электрическую активность, которую можно зарегистрировать от вентральных корешков спинного мозга, а также волокон блуждающего, подъязычного или языкоглоточного нервов. Принципиальная схема установки для проведения экспериментов на изолированном бульбоспинальном препарате мозга новорожденных крыс *in vitro* приведена на рис. 11.

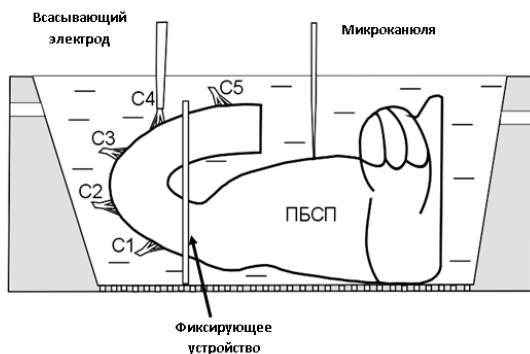


Рис. 11. Экспериментальная модель регистрации биоэлектрической активности в С4 – С5 вентральных корешках спинного мозга при положении ПБСП мозга дорсальной поверхностью вверх

Цель работы: освоить методику подготовки изолированного бульбоспинального препарата мозга новорожденных крыс *in vitro*.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных, искусственная cerebrospinalная жидкость, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), спиртовой рас-

твор йода, электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, термостатированная камера, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного.

Ход работы.

Исследования проводят на изолированных бульбоспинальных препаратах новорожденных крыс (от 0 до 4 суток). Подготовка объекта для экспериментального исследования осуществляется в два этапа. На первом этапе животных наркотизируют эфиром и помещают в специальную установку для проведения подготовительной операции. Путем дорсальной кранио- и ламинэктомии обнажают головной мозг и шейные сегменты спинного мозга. Ствол мозга пересекается на межколликкулярном уровне. Во время препаровки мозг животных непрерывно орошается искусственной цереброспинальной жидкостью, охлажденной до $+10^{\circ}\text{C}$ и насыщаемой смесью кислорода (95%) и углекислого газа (5%). Препарат высвобождают от мозговых оболочек и последовательно пересекают дорсальные и вентральные корешки спинного мозга под контролем бинокулярного микроскопа. Кроме этого препарируют волокна с V по XII пары черепно-мозговых нервов. По окончании препаровки температуру перфузионного раствора постепенно повышают с $+10^{\circ}\text{C}$ до $+25^{\circ}-0,5^{\circ}\text{C}$ и затем пересекают спинной мозг на уровне VI–VII пары вентральных корешков. В среднем вся процедура препаровки занимает 12–15 мин.

На втором этапе изолированный бульбоспинальный препарат переносят в проточную термостатированную камеру. Температура среды, в которой находится препарат ($+25^{\circ}-0,5^{\circ}\text{C}$), является ниже нормальной температуры тела новорожденного животного, поскольку при повышении температуры перфузата до нормальных величин очень быстро исчезает спонтанная активность. Препарат помещают в специальное фиксирующее устройство камеры вен-

тральной или дорсальной поверхностью вверх в зависимости от условий эксперимента. Скорость суперфузии бульбоспинального препарата составляет в среднем 2–3 мл/мин. В экспериментах на изолированном бульбоспинальном препарате мозга новорожденных животных может использоваться раствор искусственной цереброспинальной жидкости следующего состава (моль/л): NaCl – 124,0; KCl – 5,0; CaCl₂ – 2,4; MgSO₄ – 1,3; NaHCO₃ – 26,0; KH₂PO₄ – 1,2; d-глюкоза – 30. При этом pH раствора составляет 7,3 – 7,4 (по Suzue, 1984).

О спонтанной генерации ритма в дыхательном центре мозга новорожденных крыс можно судить по суммарной электрической активности диафрагмальных мотонейронов. С этой целью отводится электрическая активность от C4–C5 вентральных корешков спинного мозга с помощью всасывающего хлорсеребряного электрода. Внутренний диаметр электрода в среднем составляет 100–150 мкм. Отводимые таким образом разряды диафрагмальных мотонейронов усиливаются с помощью усилителя переменного тока с полосой пропускания от 30 Гц до 5 КГц и подаются на входной канал АЦП персонального компьютера.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте теоретические заключения о роли бульбоспинального препарата.

Лабораторная работа 4.8. Исследование регуляции внешнего дыхания у лабораторной крысы (методом капнографии)

Цель работы: освоить методику регистрации паттерна внешнего дыхания у лабораторной крысы методом капнометрии на аппаратном комплексе «МПР6-03-«ТРИТОН».

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: хирургический инструментарий, наркотизирующее средство, вата, спирт, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, препаровальный столик, электрогрелка для поддержания постоянной температуры тела животного, биполярные регистрирующие металлические электроды с межэлектродным расстоянием 3 мм, переносной, прикроватный монитор реаниматолога и анестезиолога – «МПР6-03-«ТРИТОН».

Ход работы.

Работа проводится в несколько этапов, включающих в себя наркотизацию животного, операционную подготовку и экспериментальную часть.

Операционная подготовка (включает ряд хирургических процедур):

1. У наркотизированной крысы проводят трахеостомию и препарируют с обеих сторон сосудисто-нервный пучок. Осторожно при помощи стеклянного крючка выделяют блуждающие нервы, берут их на лигатуру, но не перевязывают.

Регистрация паттерна внешнего дыхания методом капнометрии в состоянии покоя.

С помощью переносного, прикроватного монитора реаниматолога и анестезиолога – «МПР6-03-«ТРИТОН» у лабораторной крысы регистрируют значения CO_2 . Для этого трахеостомическую трубку соединяют с прибором «МПР6-03-«ТРИТОН». Все показатели дыхания определяются в автоматическом режиме и анализируемые значения параметров паттерна внешнего дыхания и капнограмма отображаются на экране монитора (рис. 12).

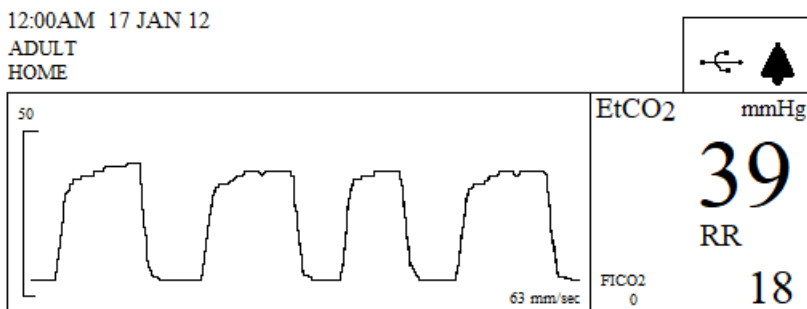


Рис. 12. Отображение параметров паттерна внешнего дыхания на экране монитора во время регистрации капнограммы

Регистрация паттерна внешнего дыхания методом капнометрии при раздражении блуждающих нервов.

Помещают центральный конец перерезанного блуждающего нерва на стимулирующие электроды. Записывают фоновую капнограмму. Затем, не прекращая записи, раздражают блуждающий нерв импульсивным током. Каждое последующее раздражение следует наносить с интервалом 2–3 минуты.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента, включите в него результаты измерений показателей капнограммы в состоянии покоя и после раздражения блуждающих нервов;

2. Произведите расчеты по изменению капнограммы в состоянии покоя и после раздражения блуждающих нервов по кривой зависимости концентрации (парциального давления) CO_2 от времени в абсолютных значениях и % от исходного уровня. Для этого оценивают следующие показатели: PetCO_2 – парциальное давление CO_2 в конце спокойного выдоха, наклон альвеолярной фазы ($\Delta P/\Delta t$), угол между восходящей частью кривой и альвеолярной фазой (угол α), угол между альвеолярной фазой и нисходящей частью кривой (угол β).

Нормальная капнограмма (рис. 13) содержит инспираторный (фаза 0) и экспираторный (фазы I, II, III) сегменты. Угол между фазами II и III называется углом α , между фазой III и нисходящим сегментом капнограммы – углом β .

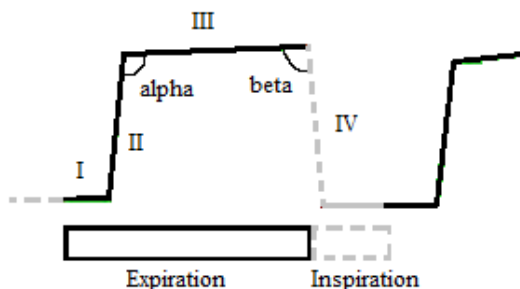


Рис. 13. Нормальная временная капнограмма

Фаза 0 представляет собой часть графика от начала вдоха до начала выдоха. Она включает нисходящий сегмент и начальную часть горизонтальной линии. Горизонтальная линия отражает нулевую концентрацию углекислого газа во вдыхаемом (атмосферном) воздухе.

Следующая часть горизонтальной линии – фаза I экспираторного сегмента. В это время начинается выдох и происходит опорожнение анатомического мертвого пространства.

С продолжением выдоха в анализатор начинает поступать газ, содержащий CO₂ во все возрастающих концентрациях: отмечается крутой подъем кривой. Это фаза II, во время которой датчик капнографа анализирует смесь воздуха из анатомического мертвого пространства и альвеолярного газа.

К концу выдоха, когда скорость воздушной струи снижается, концентрация CO₂ приближается к значению, которое называется концентрацией углекислого газа в конце выдоха (pETCO₂). На этом участке кривой (фаза III) концентрация CO₂ изменяется мало, поэтому он называется альвеолярным плато. В этот период в кап-

нограф поступает газ из альвеол, содержащий наибольшее количество CO_2 . Несмотря на название, график не является горизонтальным, а представляет собой постепенно повышающуюся линию. Подъем обусловлен неравномерным опорожнением альвеол с различными вентиляционно-перфузионными соотношениями, и соответственно, с разным уровнем CO_2 .

На рисунке 14 показаны фазы капнограммы и способ нахождения начала альвеолярной фазы как пересечение биссектрисы угла между касательными, проведенными к восходящей части капнограммы и к альвеолярной фазе капнограммы.

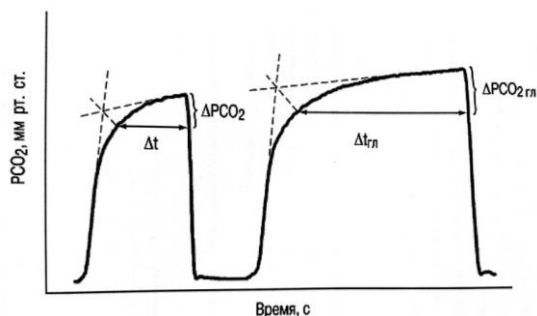


Рис. 14. Фазы капнограммы

Занесите данные в таблицу:

Параметр дыхания	Исходное значение	После раздражения блуждающих нервов	Изменение параметра относительно исходного уровня	
			в абс. ед.	в %
PetCO_2				
$\Delta P/\Delta t$				
угол α				
угол β				

3. Проведите статистическую обработку результатов.
4. Объясните результаты исследования с позиций участия разных уровней центральной нервной системы в регуляции дыхания.
5. Сформулируйте выводы.

Лабораторная работа 4.9. Изучение механики вентиляции легких на модели Дондерса

Для демонстрации механических факторов вентиляции легких и роли внутриплеврального давления в дыхательном акте используют модель Дондерса. Она представляет собой широкогорлую стеклянную банку, у которой срезано дно и заменено резиновой мембраной. Банка герметично закрывается крышкой, в которую вмонтированы две трубки, центральная и боковая. Боковая трубка снабжена краном. К трубке, расположенной в центре, с помощью обрезка резиновой трубки внутри банки присоединяется стеклянная канюля с укрепленным на ней препаратом изолированных легких лягушки. Трубка, снабженная краном, сообщается с полостью банки напрямую. К трубкам снаружи банки присоединяют водяные манометры.

Стеклянная банка имитирует неподвижные части стенок грудной полости, а мембрана – диафрагму. Оттягивание мембраны вниз, либо ее вдавливание внутрь банки моделируют, соответственно, вдох и выдох за счет изменения объема «грудной полости». В свою очередь, пространство между легкими и стенками банками имитирует полость плевры. В отличие от модели, в живом организме в плевральной полости в норме воздух отсутствует. Там эта полость представляет собой узкую щель шириной 10 мкм между висцеральным и париетальным листками плевры, которая заполнена небольшим количеством серозной жидкости.

Цель работы: в модельном эксперименте изучить механику вентиляции легких и роль внутриплеврального давления в дыхательном акте.

Объект исследования: препарат изолированных легких лягушки.

Оборудование и материалы: набор препаровальных инструментов; препаровальная доска; широкогорлая стеклянная банка без дна; резиновая мембрана; крышка банки с двумя вмонтированными в нее трубками, одна из которых снабжена краном; резиновое кольцо, нитки или скотч для крепления резиновой мембраны в нижней части банки; стеклянная канюля; водяные манометры; резиновая груша с резиновой трубкой; вата; спирт; физиологический раствор для холоднокровных.

Ход работы:

1. Приготовление препарата изолированных легких лягушки и изготовление модели Дондерса

Лягушку декапitiруют и с помощью препаровальной иглы разрушают спинной мозг. Затем кладут лягушку на препаровальную доску вентральной стороной вверх, удаляют нижнюю челюсть и находят голосовую щель, расположенную на гортанном возвышении. Вокруг хряща гортани накладывают петлю лигатуры. Вставляют в голосовую щель стеклянную канюлю и, стянув нитку лигатуры, завязывают ее двойным прямым узлом. Вскрывают грудную полость и осторожно раздувают легкие через резиновую трубку, надетую на свободный конец канюли, при помощи резиновой груши. Пережимают резиновую трубку с помощью анатомического зажима и осторожно, стараясь не повредить легкие, отделяют гортань от окружающих тканей. Извлекают легкие вместе с гортанью и канюлей и отсоединяют резиновую трубку с грушей.

При помощи резинового кольца, ниток или скотча укрепляют резиновую мембрану на нижней стороне банки, у которой отсут-

ствует дно. Центральную часть мембраны собирают в пучок и перетягивают его ниткой. С помощью обрезка резиновой трубки укрепляют канюлю с препаратом легких на центральной трубке крышки модели Дондерса. Опускают легкие внутрь банки и закрывают ее крышкой. К трубкам присоединяют водяные манометры (рис. 15).

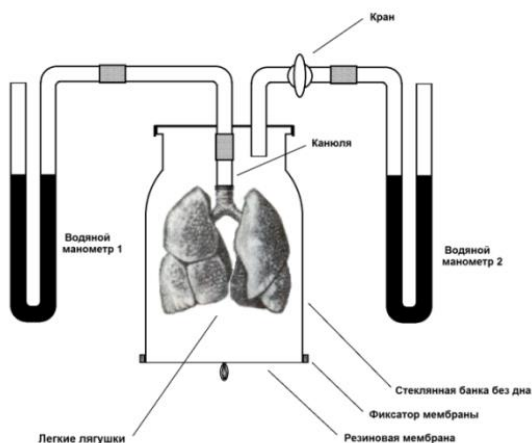


Рис. 15. Модель Дондерса для изучения механики вентиляции легких

2. Моделирование отрицательного давления в плевральной полости.

В начале эксперимента легкие должны быть в спавшемся состоянии. Открывают кран. Затем вдавливают мембрану внутрь сосуда, закрывают кран и отпускают мембрану. В сосуде при этом создается небольшое разрежение, воздух начинает входить внутрь легких, и они расправляются. Открывают кран и регистрируют показания водяного манометра 2. Оттягивая мембрану вниз за перетянутый ниткой пучок мембраны, и вдавливая мембрану внутрь сосуда, имитируют вдох и выдох. Наблюдают изменения объема

легких и отмечают величину отрицательного давления в «плевральной полости» при различных положениях мембраны.

3. Моделирование эластической тяги легких.

Эластическая тяга легких – это сила, с которой растянутые легкие стремятся уменьшить свой объем. Вначале открывают кран. Затем, как и в предыдущем случае, создают в «плевральной полости» отрицательное давление: вдавливают мембрану внутрь сосуда, закрывают кран и отпускают мембрану. Регистрируют показания водяного манометра 1. Открывают кран. При этом давление в «плевральной полости» становится равным атмосферному, что является моделью открытого пневмоторакса. Отмечают уменьшение объема легких и повышения давления в них.

4. Моделирование изменения давления в полости легких при вдохе и выдохе.

Создают в «плевральной полости» небольшое исходное отрицательное давление, как описано выше. Слегка приоткрывают кран, моделируя сопротивление «воздухоносных путей» воздушному потоку. Оттягивая мембрану вниз и отпуская ее, имитируют вдох и выдох. Регистрируют показания водяного манометра 1, показывающего давление в легких.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте вывод на основании приобретенных навыков.

Лабораторная работа 4.10. Исследование процесса диффузии углекислого газа в легких

Газообмен в легких происходит по закону диффузии, согласно которому газ распространяется из среды с большим парциальным давлением в среду с меньшим парциальным давлением.

Парциальным давлением называют часть общего давления, которая приходится на долю данного газа в газовой смеси. Поэтому, чем выше процентное содержание газа в смеси, тем выше его парциальное давление. Кроме того, газообмен зависит от величины поверхности, через которую осуществляется диффузия газов. Суммарная поверхность альвеолярной мембраны легких весьма велика. При глубоком вдохе альвеолы дополнительно растягиваются, и площадь их поверхности увеличивается, способствуя дальнейшему увеличению газообмена. Данные закономерности можно пронаблюдать, меняя состав газовой смеси в среде, окружающей легкие.

Цель работы: пронаблюдать явление диффузии углекислого газа через альвеолярную мембрану легких.

Объект исследования: препарат изолированных легких лягушки.

Оборудование и материалы: набор препаровальных инструментов; препаровальная доска; широкогорлая стеклянная банка; крышка банки с тремя вмонтированными в нее трубками, центральная из которых снабжена краном; стеклянная канюля; прибор для получения или емкость с готовым углекислым газом; промывная склянка с водой; резиновая груша с резиновой трубкой; вата; спирт; физиологический раствор для холодно-кровных.

Ход работы:

Готовят препарат изолированных легких лягушки, как было описано в предыдущей работе. Собирают установку, изображенную на рисунке 16.

С помощью обрезка резиновой трубки укрепляют канюлю с препаратом легких на центральной трубке крышки. Опускают легкие внутрь банки и закрывают ее крышкой. Осторожно разду-

вают легкие через резиновую трубку, надетую на наружный конец центральной трубки крышки, при помощи резиновой груши, и перекрывают кран.

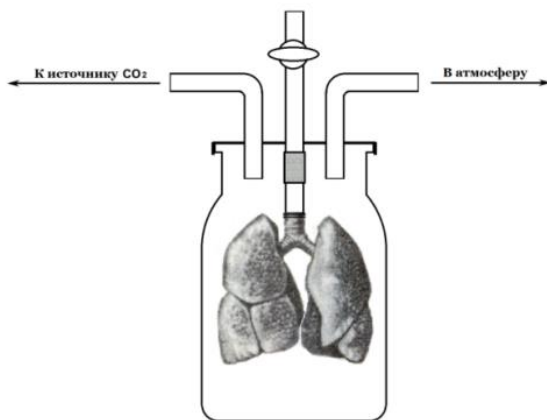


Рис. 16. Модель Дондерса для изучения процесса диффузии углекислого газа в легких

Через одну из боковых трубок банку заполняют углекислым газом из газового баллона или резиновой подушки. Если нет источника готового углекислого газа, то его получают действием раствора лимонной кислоты на бикарбонат натрия. Для этого можно использовать любой типовой прибор для получения газов или простую склянку с крышкой, имеющей газоотводную трубку. Выделяющийся углекислый пропускают через промывную склянку с водой для его очистки от мелких брызг реакционной смеси.

Поскольку, углекислый газ тяжелее воздуха, он заполняет полость банки и свободно выходит в атмосферу через другую боковую трубку. В легких находится воздух близкий по составу к атмосферному, а снаружи находится углекислый газ. Газы

диффундируют сквозь стенку легкого в сторону меньшего парциального давления, поэтому азот и кислород диффундируют из легких в банку, а углекислый газ из банки в легкие. Углекислый газ диффундирует сквозь альвеолярную мембрану легких значительно быстрее других газов, поэтому легкие начинают раздуваться и могут даже лопнуть.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте вывод на основании приобретенных навыков.

Раздел 5. ФИЗИОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Лабораторная работа 5.1. Изолированное сердце лягушки по Штраубу

Цель работы: освоить методику приготовления препарата изолированного сердца лягушки по Штраубу.

Объект исследования: лабораторная лягушка.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, препаровальный столик, наркотизирующее средство, лигатуры, канюля, универсальный штатив, рычажок Энгельмана с серфином, раствор Рингера для холоднокровных, пипетки.

Ход работы:

Лягушку сначала наркотизируют, затем обездвигивают, разрушая головной и спинной мозг, фиксируют брюшком кверху на препаровальном столике. Вскрывают грудобрюшную полость. Для этого приподнимая пинцетом кожу груди, вырезают ножницами кожный лоскут, вершина которого должна находиться на середине брюшка, а основание под нижней челюстью. Вводят браншу ножниц в полость тела лягушки, держа их плашмя, осторожно, чтобы не поранить сердце, отделяют грудину. Захватывают пинцетом перикард на уровне верхушки сердца и разрезают его, обнажив, таким образом, сердце, находят и перерезают уздечку сердца (рис. 17 – 1). Обнаженное сердце периодически орошают раствором Рингера во избежание его высыхания. Приступают к приготовлению препарата изолированного сердца.

Под обе дуги аорты маленьким пинцетом подводят сразу две лигатуры (рис. 17 – 1, 2). Одной лигатурой перевязывают все вены, впадающие в сердце. Для этого сердце откидывают вверх и, оттягивая его пальцем кверху, перевязывают вены как можно дальше

от сердца, чтобы этой лигатурой не отделить от сердца синусный узел. Второй лигатурой перевязывают обе дуги аорты. Лигатуру не обрезают, так как за нее удобно поддерживать сердце при введении не него канюли. Затем под дуги аорты подводят третью лигатуру. Тонкими ножницами делают небольшой косой разрез на луковичке аорты и тотчас вставляют канюлю Штрауба (рис. 17 – 3), заполненную небольшим количеством раствора Рингера. При этом левой рукой подтягивают на себя лигатуру, которой перевязывали дуги аорты, а правой рукой вводят канюлю. Чтобы легче было вставить канюлю, в надрез аорты вводят тупую изогнутую иглу и затем, не вынимая ее, в то же отверстие вводят канюлю. Конец канюли должен быть обязательно введен в желудочек. Это удобнее сделать в момент систолы, когда под воздействием крови, выбрасываемой сердцем, открываются клапаны. Показателем правильного введения канюли в желудочек служит изменение уровня раствора Рингера в канюле во время деятельности сердца. После введения канюли стенку аорты обвязывают заранее подведенной третьей лигатурой вокруг шейки канюли (рис. 17 – 4), приподнимают канюлю вместе с сердцем вверх и вырезают его из грудной клетки ниже первой лигатуры, которой перевязывали вены. Дуги аорты перерезают выше наложенной на них второй лигатуры. Закрепляют канюлю вместе с концами нитки (чтобы сердце не соскользнуло с канюли) в штативе. Предварительно вставляют в пробку, а затем пробку фиксируют в лапке штатива (рис. 17 – 5).

В начале опыта сердце, используя с пипетки с оттянутым концом, промывают раствором Рингера, чтобы удалить кровь и тем самым избежать ее свертывания. При этом жидкость до конца из канюли не удаляют (высота столбика жидкости должна быть около 1 см).

Наполняют канюлю раствором Рингера и отмечают частоту сердечных сокращений за 1 минуту.

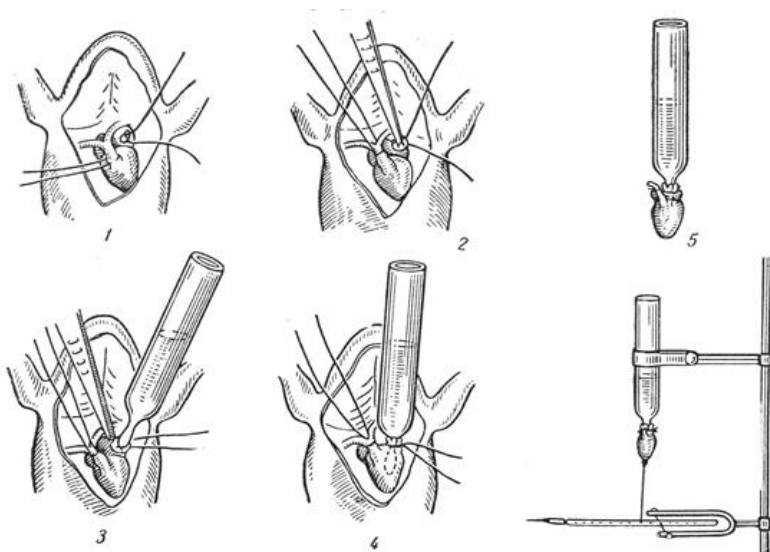


Рис. 17. Приготовление препарата
изолированного сердца по Штраубу

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте вывод на основании приобретенных навыков.

**Лабораторная работа 5.2. Гуморальная регуляция
сердечной деятельности**

Цель работы: исследовать влияние на ритм и силу сердечных сокращений избытка ионов калия и кальция, а также растворов ацетилхолина и адреналина.

Объект исследования: лабораторная лягушка.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, препаровальный столик, наркотизирующее средство, лигатуры, канюля, универсальный штатив, рычажок Энгельмана с сер-

фином, раствор Рингера для холоднокровых, пипетки, 1% раствор KCl, 1% раствор CaCl₂, раствор ацетилхолина 1:10000, раствор адреналина 1:1000.

Ход работы: готовят изолированное сердце лягушки (см. лабораторную работу 19).

Наполняют канюлю раствором Рингера и отмечают исходную частоту сердечных сокращений за 1 минуту. Далее добавляют в канюлю 2–3 капли раствора CaCl₂ – наблюдают за изменением сердечной деятельности. При добавлении большого количества раствора может произойти остановка сердца в стадии систолы. Затем отмывают сердце до восстановления исходного ритма и добавляют 1–2 капли раствора KCl. Избыток ионов калия вызывает быстрое изменение силы и частоты сердечных сокращений вплоть до остановки сердца в фазе диастолы. Вновь отмывают сердце (это нужно делать быстро и тщательно, иначе сердечная деятельность может не восстановиться!).

После восстановления исходного ритма добавляют в раствор Рингера каплю раствора адреналина и убеждаются в изменении деятельности сердечного ритма.

Сердце отмывают от адреналина и испытывают влияние ацетилхолина, добавляя в раствор Рингера каплю раствора ацетилхолина. Наблюдают изменения ритма и силы сокращений. После влияния ацетилхолина сердце быстро отмывают до исходного состояния.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Отметьте изменения ритма и силы сокращений изолированного сердца лягушки при действии различных веществ.
3. Проанализируйте полученные данные. В выводах объясните механизм действия каждого из исследованных веществ.

Лабораторная работа 5.3. Изучение внутрисердечной регуляции и влияния биологически-активных веществ на изолированном сердце лягушки

Удобной моделью для демонстрации основных закономерностей деятельности сердца и первичного тестирования кардиотропных свойств различных биологически-активных веществ и фармакологических препаратов является препарат изолированного по Штраубу сердца лягушки. Препарат прост в приготовлении и позволяет исключить сложные и многообразные регулирующие влияния, имеющие место в целостном организме и могущие повлиять на чистоту эксперимента.

Сердцу холоднокровных и теплокровных животных присуща миогенная саморегуляция. Один из механизмов внутрисердечной регуляции отражает закон Франка–Старлинга: чем больше первоначальная величина растяжения волокон миокарда во время диастолы, тем с большей силой сокращаются волокна миокарда в последующую систолу. Механизм имеет приспособительное значение, позволяющее изолированному сердцу при постоянной частоте сердечных сокращений отвечать увеличенным выбросом на возрастающую нагрузку объемом поступающей к сердцу перфузирующей жидкости. На модели изолированного сердца лягушки закон Франка–Старлинга можно продемонстрировать путем последовательного заполнения физиологическим раствором канюли Штрауба, на которой закреплено сердце.

На сердце способны оказывать влияние различные нервные и гуморальные факторы. В целостном организме в регуляции деятельности сердца участвует вегетативная нервная система. В передаче нервных воздействий со стороны парасимпатической системы медиатором является ацетилхолин, со стороны симпатической нервной системы – норадреналин. Сходное с но-

радреналином действие оказывает адреналин – гормон мозгового слоя надпочечников. Холинергические влияния выражаются в снижении амплитуды и частоты сердечных сокращений, адренергические влияния вызывают противоположный эффект: увеличение силы и учащение ритма сердечных сокращений. Данные закономерности можно смоделировать на изолированном сердце лягушки, добавляя в перфузирующую жидкость ацетилхолин и адреналин.

Помимо гормонов и медиаторов большую роль в регуляции деятельности сердца играют ионы, в частности катионы калия и кальция. Увеличение концентрации катионов калия в крови угнетает сердечную деятельность, увеличение концентрации катионов кальция вызывает противоположный эффект. При избытке катионов калия сердце может остановиться в фазе диастолы, при избытке катионов кальция – в фазе систолы. Данные явления также можно продемонстрировать на изолированном сердце лягушки, увеличив в физиологическом растворе содержание катионов калия или кальция.

Цель работы: научиться приготавливать препарат изолированного по Штраубу сердца лягушки, изучить на нем закон Франка–Старлинга и влияние биологически-активных веществ.

Объект исследования: изолированное сердце лягушки.

Оборудование и материалы: набор препаровальных инструментов; препаровальная доска; градуированная канюля Штрауба; шприц с тонким гибким катетером; стеклянные стаканчики для исследуемых растворов; физиологический раствор для холоднокровных; гепарин; модифицированный физиологический раствор для холоднокровных, содержащий 0,1% хлорида калия; модифицированный физиологический раствор для холоднокровных, содержащий 0,1% хлорида кальция; физиологический раствор

с 10^{-6} моль/л ацетилхолина, физиологический раствор с 10^{-6} моль/л адреналина.

Ход работы:

1. Приготовление препарата изолированного сердца лягушки.

Перед проведением эксперимента готовят препарат изолированного по Штраубу сердца лягушки. Лягушку вначале обездвигивают. Для этого ее либо декапитируют и разрушают спинной мозг при помощи зонда, либо, нащупав на уровне плечевого пояса небольшое углубление в позвоночном столбе, вводят в спинномозговой канал зонд сначала в каудальном, а затем ростральном направлениях.

Лягушку кладут на препаровальный столик вентральной стороной вверх и фиксируют ее при помощи булавок, воткнутых в концы лапок. Маленькими ножницами делают продольный надрез кожи по средней линии в каудо-ростральном направлении и удаляют лоскуты кожи с груди и брюшка. Вскрывают брюшную полость, перерезав мышцы брюшной стенки. Затем, чтобы не повредить сердце, делают косые надрезы, расходящиеся в ростролатеральных направлениях. Дойдя до пояса передних конечностей, перекусывают кости ножницами. Захватив большим пинцетом грудную кость и приподнимая ее вверх, осторожно подрезают маленькими ножницами подлежащие ткани, стараясь не повредить сердце. Грудную кость вместе с поясом передних конечностей удаляют. Захватив глазным пинцетом перикард, вырезают его глазными ножницами. Приподняв верхушку сердца, перерезают уздечку.

При помощи глазного пинцета под дуги аорты подводят обрезки ниток и накладывают лигатуры. Концы ниток обрезают. Затем подводят еще одну нитку длиной 10–15 см и оставляют ее в расправленном состоянии.

Заполняют при помощи шприца градуированную канюлю Штрауба физиологическим раствором, в который добавлено несколько капель гепарина. Канюлю при этом держат в горизонтальном положении, чтобы физиологический раствор из нее не выливался. После этого заполненную канюлю кладут на стол.

Глазным пинцетом осторожно захватывают стенку луковицы аорты и тонкими ножницами делают небольшой надрез, пока через него не начнет изливаться кровь. В образовавшееся отверстие вводят кончик канюли, держа ее вдоль продольной оси сердца. В момент систолы, когда откроется спиральный клапан, слегка подкручивая, осторожно проталкивают кончик канюли в желудочек. Появление в канюле струйки крови указывает на то, что канюля введена успешно.

Слегка надавливая пальцем на противоположный конец канюли, так чтобы она не выскочила из сердца, с помощью предварительно продетой под дуги аорты нитки накладывают лигатуру на мышечный валик, образованный стенкой луковицы аорты. В момент затягивания узла концы ниток слегка подтягивают вдоль канюли в направлении от сердца, так чтобы узел был затянут в самой узкой части шейки кончика канюли. Затем накладывают второй узел. Концы ниток не обрезают. После этого под среднюю часть канюли подводят какую-либо опору, например, стенку чашки Петри, а на открытый конец кладут груз, например, большой пинцет. Канюля при этом, подобно рычагу, приподнимает сердце. При этом образуется некое подобие арки, одной дугой которой являются обе дуги аорты, другой дугой – отходящие от сердца вены.

Пропустив маленьким пинцетом сквозь эту арку нитку длиной 10–15 см, накладывают на вены лигатуру как можно дистальнее от сердца, чтобы не пережать синусный узел. Концы лигатуры не обрезают. После всех вышеуказанных манипуля-

ций, перерезают дуги аорты и отходящие от сердца вены дистальнее лигатур, и извлекают сердце, укрепленное на канюле. Нитки, отходящие от шейки канюли, закрепляют на канюле при помощи резинового колечка (обрезка резиновой трубки) и осторожно зажимают канюлю в лапке лабораторного штатива. Концы ниток, завязанных вокруг вен, слегка подтянув вверх, заталкивают кончиками глазного пинцета в зазор между резиновым колечком и лапкой штатива. Это необходимо для того, чтобы во время сокращений желудочка сердца не раздувались его предсердие и венозный синус.

Сердце промывают физиологический раствором с добавлением гепарина до полного удаления сгустков крови, а затем заполняют свежим физиологическим раствором. Если сердце не сокращается, слегка ослабляют натяжение ниток венозной лигатуры, закрепленных в зазоре между резиновым колечком и лапкой штатива, и чуть-чуть осаживают сердце вниз, следя за тем, чтобы оно полностью не соскочило с кончика канюли. Энергичные, ритмичные сокращения, проталкивающие жидкость в канюлю, указывают на то, что препарат готов для выполнения эксперимента.

2. Изучение на изолированном сердце лягушки закона Франка–Старлинга.

При помощи шприца с гибким катетером последовательно заполняют канюлю с укрепленным на ней сердцем физиологическим раствором для холоднокровных: на 5 делений шкалы, на 10, 15 делений и т.д. Отмечают, что с увеличением преднагрузки увеличивается сердечный выброс. Определяют границы, в пределах которых проявляется зависимость Франка–Старлинга.

3. Изучение влияния на изолированное сердце лягушки ацетилхолина и адреналина.

Определяют величину преднагрузки, при которой проявляется закон Франка–Старлинга. Затем шприцом с гибким катетером отсасывают из канюли Штрауба четвертую часть физиологического раствора и восполняют прежний объем физиологическим раствором, содержащим 10^{-6} моль/л ацетилхолина. Отмечают уменьшение частоты и амплитуды сердечных сокращений. Отсасывают из канюли четвертую часть содержащегося в ней раствора и снова добавляют до прежнего объема физиологический раствор, содержащий ацетилхолин. Отмечают дальнейшее снижение активности сердца. Раствор ацетилхолина готовят непосредственно перед использованием, так как в растворе он химически нестойкий и быстро разлагается.

Несколько раз промывают сердце свежим физиологическим раствором до восстановления исходной активности сердца. Повторяют вышеописанные манипуляции, но с физиологическим раствором, содержащим 10^{-6} моль/л адреналина. Отмечают увеличение частоты и амплитуды сердечных сокращений. Промывают сердце свежим физиологическим раствором до восстановления исходной активности сердца.

4. Изучение влияния на изолированное сердце лягушки катионов калия и кальция.

Заполняя канюлю Штрауба физиологическим раствором, определяют величину преднагрузки, при которой проявляется закон Франка–Старлинга. Удалив из канюли четверть жидкости, восполняют прежний объем модифицированным физиологическим раствором для холоднокровных, содержащим 0,1% хлорида калия. Отмечают урежение частоты и уменьшение амплитуды сокращений сердца. Повторяют процедуру до тех пор, пока не произойдет остановка сердца в фазе диастолы.

Тщательно отмывают сердце от избытка катионов калия путем многократной смены содержимого канюли свежим физиоло-

гическим раствором. Добиваются возобновления работы сердца. Хорошо приготовленный препарат сердца допускает неоднократную смену исследуемых растворов. Повторяют вышеописанные манипуляции, используя модифицированный физиологический раствор для холоднокровных, содержащий 0,1% хлорида кальция. Отмечают увеличение амплитуды и частоты сокращений изолированного сердца лягушки. Повторяют процедуру повышения концентрации катионов кальция до тех пор, пока не произойдет остановка сердца в фазе систолы. Отмывают сердце от избытка катионов кальция, добиваются возобновления работы сердца.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте вывод на основании приобретенных навыков.

**Лабораторная работа 5.4. Методика регистрации
электрокардиографии у крыс в покое и в условиях
воздействия химических веществ**

Электрокардиография – методика регистрации и исследования электрических полей, образующихся при работе сердца. Прямым результатом электрокардиографии является получение электрокардиограммы (ЭКГ) – графического представления разности потенциалов возникающих в результате работы сердца и проводящихся на поверхность тела. На ЭКГ отражается усреднение всех векторов потенциалов действия, возникающих в определенный момент работы сердца.

Цель работы: овладеть методикой графической регистрации сокращений сердца крысы. Проанализировать происхождение

зубцов и интервалов ЭКГ у крысы. Исследовать влияние новокаина, норадреналина и мелатонина на ЭКГ у крысы.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: электрокардиограф, отводящие фетильковые электроды для регистрации ЭКГ сердца, раствор Рингера для теплокровных, вата, эфир, спирт этиловый технический, растворы: новокаина, норадреналина и мелатонина.

Ход работы:

На первом этапе необходимо занаркотизировать крыс при помощи эфира. Закрепить животное на препаровальном столике брюшком вверх.

Регистрация ЭКГ проводится с помощью накожных электродов. Электроды накладываются методом стандартного отведения по Эйтховену. На конечностях крысы необходимо сбрить шерсть, кожу обезжирить спиртом и вести иглы ЭКГ-электродов таким образом, чтобы они соприкасались с мышцами (рис. 18).

Стандартные отведения предложены в 1908 году Эйтховеном. Эйтховен регистрировал электрическую активность сердца, накладывая электроды на конечности таким образом, чтобы получаемые при этом три отведения (они обозначаются римскими цифрами I, II и III) образуют стороны примерно равностороннего треугольника, в центре которого расположено сердце. При этом красный электрод накладывается на правую верхнюю конечность, желтый – на левую верхнюю конечность, зеленый – на правую нижнюю конечность, черный – электрод заземления – на левую нижнюю конечность. Красный и желтый электроды образуют I отведение, красный и зеленый – II, желтый и зеленый – III отведение. Зарегистрировать нормальную работу сердца в трех отведениях.

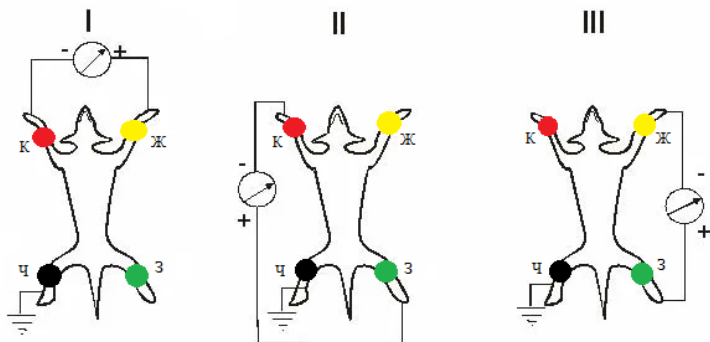


Рис. 18. Формирование трех стандартных электрокардиографических отведений от конечностей крысы

Исследование состоит из 4 экспериментальных серий.

– Первая экспериментальная серия (для 1 группы животных) является контрольной. Регистрируют нормальную работу сердца в трех отведениях, т.е. в состоянии покоя.

– Вторая экспериментальная серия (для 2 группы животных) является опытной. Животным внутрибрюшинно вводят раствор новокаина в количестве 0,1 мг/кг веса, после чего регистрируют работу сердца в трех отведениях через каждые 10–15 минут (3 раза). Инъекция делается за 10–15 минут до тестирования.

– Третья экспериментальная серия (для 2 группы животных) является опытной. Животным внутрибрюшинно вводят раствор адреналина в количестве 0,1 мг/кг веса, после чего регистрируют работу сердца в трех отведениях через каждые 10–15 минут (3 раза). Инъекция делается за 10–15 минут до тестирования.

– Четвертая экспериментальная серия (для 2 группы животных) является опытной. Животным внутрибрюшинно вводят раствор мелатонина в количестве 0,1 мг/кг веса, после чего регистрируют работу сердца в трех отведениях через каждые 10–15 минут (3 раза). Инъекция делается за 10–15 минут до тестирования.

Критерии оценки показателя ЧСС: пределы физиологической нормы для крыс: 350–420 уд/мин.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. На всех записанных ЭКГ необходимо идентифицировать QRS-комплексы, соответствующие индивидуальным сердечным циклам, обозначьте их.
3. Проведите сравнительный анализ всех полученных данных (комплексов QRS).
3. В выводах объясните механизм действия каждого из исследованных веществ на деятельность сердца.

Лабораторная работа 5.5. Влияние раздражения блуждающего нерва на деятельность сердца крысы

Цель работы: изучить влияние нервных факторов на деятельность сердца крысы

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, препаровальный столик, лигатуры, наркотизирующее средство, шприц с иглой, марлевые завязки, лигатуры, спирт, вата, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), электроплитка для подогревания растворов, электронный стимулятор, электрокардиограф, отводящие фетильковые электроды для регистрации ЭКГ сердца.

Ход работы:

Производят взвешивание крысы на безгиревых весах и наркотизируют ее уретаном из расчета 1,6 мг/г массы тела. Раствор для наркотизации готовят разведением вещества в 2 мл физиологического раствора (37 °С) и вводят внутрибрюшинно. Помещают животное в бокс и ожидают наступления должной глубины нарко-

за, которую оценивают по отсутствию роговичного рефлекса и моторных реакций на болевое механическое раздражение ушной раковины.

Закрепляют животное на препаровальном столике брюшком вверх.

По средней линии шеи делают кожный разрез. Обнажившиеся мышцы шеи разъединяют тупым путем. Отпрепаровывают слева и справа от трахеи сосудисто-нервный пучок. В этом пучке обычно имеется два нерва: толстый белый – блуждающий нерв и более тонкий – сероватый ствол симпатического нерва. Осторожно тупым путем отпрепаровывают блуждающие нервы и подводят под них лигатуру. Один из нервов перевязывают и перерезают. Периферический конец нерва помещают на электроды.

Далее регистрируют ЭКГ с помощью накожных электродов. Электроды накладываются методом стандартного отведения по Эйтховену. На конечностях крысы необходимо сбрить шерсть, кожу обезжирить спиртом и вести иглы ЭКГ-электродов таким образом, чтобы они соприкасались с мышцами. Красный электрод накладывается на правую верхнюю конечность, желтый – на левую верхнюю конечность, зеленый – на правую нижнюю конечность, черный – электрод заземления – на левую нижнюю конечность. Красный и желтый электроды образуют I отведение, красный и зеленый – II, желтый и зеленый – III отведение. Зарегистрировать нормальную работу сердца в трех отведениях.

В процессе записи ЭКГ раздражают периферический конец блуждающего нерва в течение 3–10 с (амплитуду стимулов, длительность и частоту подбирают опытным путем) и снова записывают электрокардиограмму. Далее перерезают второй блуждающий нерв на шее, повторяют раздражение с одновременной кардиографией.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Вклейте полученные кривые в протокол. Дайте характеристику изменениям, наступившим в ЭКГ при раздражении блуждающего нерва.
3. Объясните механизм изменений деятельности сердца после перерезки блуждающих нервов.

Лабораторная работа 5.6. Влияние химических веществ на показатели сердечно-сосудистой системы крыс

Цель работы: изучить особенности влияния разных химических веществ на показатели системной гемодинамики крыс.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: прибор для неинвазивной регистрации артериального давления у грызунов Coda Monitor (Kent Scientific), пластиковые боксы для животных цилиндрической формы с небольшим отверстием, предназначенным для носа крысы, на одной стороне и дверцей, с отверстием для хвоста – на другой, термоковрик, шприц 2 мл, растворы новокаина и норадреналина.

Ход работы.

Система неинвазивного измерения кровяного давления грызунов Kent Scientific предназначена для неинвазивного измерения систолического и диастолического давления с хвоста крыс.

Перед началом регистрации параметров при помощи хвостового метода в целях минимизации стресса животных необходимо проводить приучение крыс к условиям эксперимента. Бодрствующее животное помещают в специальную камеру, на хвосте фиксируют манжетку, и в таком состоянии крыса проводит приблизительно 7 минут в течение 35 минут. Для измерения артериального

давления на хвост крысы надевают окклюзионную и измерительную манжеты. Встроенная помпа автоматически нагнетает давление в хвостовой манжете до прекращения пульсаций кровотока. Затем, медленно снижая давление, измеряет систолическое и диастолическое давление на основе показаний инфракрасного датчика пульса, надеваемого на хвост животного после манжеты. Для неинвазивного измерения кровяного давления у крыс обязателен прогрев животного. Это позволяет обеспечить циркуляцию крови в хвосте в нужном объеме и стабилизировать кровоток. Необходимо предварительно подогреть животное до температуры 28–32 °С в течение 10–15 минут. Такой режим подогрева должен поддерживаться в течение всей процедуры измерения давления. Для подогрева предлагается использовать нагревательную платформу для подогрева мелких животных. Для этого бокс с животным помещают на термоковрик.

С помощью прибора Coda Monitor у животных проводят регистрацию показателей системной гемодинамики: систолического и диастолического давления, частоты сердечных сокращений и минутного объема кровообращения, на основе полученных данных рассчитывают по формуле значения пульсового давления ($ПД = СД - ДД$) и ударного объема ($УД = МОК/ЧСС$). Регистрируют параметры системной гемодинамики у животных до введения растворов норадреналина и новокаина. Затем через 5, 15, 30 60 минут после введения малых концентраций веществ (25 мкг/кг массы животного).

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Проведите анализ полученных результатов.
2. Сравните параметры системной гемодинамики в покое и при введении растворов норадреналина и новокаина.

Заполните таблицу:

Время (минут)	Параметры	Исходное значение	После введения раствора норадrenalина
5	ПД СД ДД ЧСС МОК УД		
15			
30			
60			
			После введения раствора новокаина
5	ПД СД ДД ЧСС МОК УД		
15			
30			
60			

3. На основании полученных результатов сделайте выводы.

Раздел 6. ФИЗИОЛОГИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ

Лабораторная работа 6.1. Моторная функция пищеварительного тракта у теплокровных животных

Цель работы: изучить особенности моторной функции различных отделов желудочно-кишечного тракта.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, препаровальный столик, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных (3–4 л), стеклянный термостойкий стакан (50 мл), электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, термометр, аквариумная банка.

Ход работы:

За 1–1,5 часа до опыта животному обязательно дают умеренное количество пищи, т.к. у голодного животного моторика желудочно-кишечного тракта может отсутствовать или быть слабо выраженной. Затем животное наркотизируют, фиксируют на узком препаровальном столике вентральной поверхностью кверху. Вскрывают брюшную полость по белой линии живота, начиная разрез от мечевидного отростка и кончая его у симфиза.

Заранее готовят ванну с теплым физиологическим раствором при температуре 38 °С, в которую под углом 45° опускают столик с зафиксированным на ней животным. Животное следует погружать в раствор до плечевого пояса. За постоянством температуры раствора в ванне следует внимательно следить. Кишечник и желудок, свободно плавал в физиологическом растворе, совершают все виды свойственной им моторной деятельности.

При визуальном наблюдении тщательно изучите различные формы моторики желудка и кишечника. Рекомендуется выбрать и сосредоточить внимание на одной-двух петлях кишечника.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе опыта запишите отмеченные разновидности движений: маятникообразные (качание целых отдельных петель), сегментирующие (длительное кольцевое сокращение на отдаленном друг от друга расстоянии), перистальтические (быстрое прохождение кольцевого сокращения вдоль кишки), пропульсивные (медленно продвигающиеся сильные кольцевые сокращения) и т.д.

Лабораторная работа 6.2. Моторика желудочно-кишечного тракта при раздражении блуждающего нерва у теплокровных животных

Цель работы: исследовать роль блуждающего нерва в регуляции моторной деятельности желудка и кишечника у теплокровных животных.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, лигатуры, препаровальный столик, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных (3–4 л), стеклянный термостойкий стакан (50 мл), электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, термометр, аквариумная банка, электростимулятор с биполярными регистрирующими металлическими электродами с межэлектродным расстоянием 3 мм.

Ход работы:

За 1–1,5 часа до опыта животному обязательно дают умеренное количество пищи, т.к. у голодного животного моторика желудочно-кишечного тракта может отсутствовать или быть слабо выраженной. Затем животное наркотизируют, фиксируют на узком препаровальном столике вентральной поверхностью кверху. Делают разрез кожи в области шеи, отпрепаровывают правый блуждающий нерв, подводят под него лигатуру, перевязывают как можно роstralнее и перерезают выше перевязки. После этого вскрывают брюшную полость по белой линии живота, начиная разрез от мечевидного отростка и кончая его у симфиза.

Заранее готовят ванну с теплым физиологическим раствором при температуре 38 °С, в которую под углом 45° опускают столик с зафиксированным на ней животным. Животное следует погружать в раствор до плечевого пояса. За постоянством температуры раствора в ванне следует внимательно следить. Кишечник и желудок, свободно плавал в физиологическом растворе, совершают все виды свойственной им моторной деятельности. Через 15–20 минут начинают наблюдения за моторикой пищеварительного тракта.

Описывают установившийся фон моторной активности отдельных частей пищеварительного канала (желудка, кишечника). Затем подводят под периферический конец блуждающего нерва стимулирующие биполярные электроды и раздражают его. При этом подбирают такую силу импульсного тока, про которой наблюдается отчетливое изменение моторной активности петель кишечника. При этом необходимо указать какая наблюдается моторная активность петель кишечника.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Опишите характер изменений моторики пищеварительного тракта при раздражении блуждающего нерва. Сделайте выводы.

Лабораторная работа 6.3. Регистрация сокращений изолированного отрезка кишки теплокровного животного

Цель работы: записать периодику сокращений изолированного отрезка кишки и характер изменений этих движений под влиянием некоторых веществ.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, препаровальный столик, наркотизирующее средство, шприц с иглой, физиологический раствор для теплокровных (1 л, 37–38 °С), стеклянный термостойкий стакан (50 мл), электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, марлевые завязки, отводная трубка, термометр, аквариумная банка, растворы ацетилхолина (10^{-6} , 10^{-9}), адреналина (10^{-6} , 10^{-9}), чашка Петри.

Ход работы:

Животное наркотизируют. Быстро вскрывают у животного брюшную полость по белой линии живота и вырезают несколько отрезков тонкого кишечника длиной 3–5 см каждый. Отрезки кишки сразу же помещают в чашку Петри с теплым раствором Рингера, тщательно, но очень осторожно промывают для полного удаления содержимого их полости. Далее препарат погружают в аквариумную банку, содержащую раствор Рингера, при этом температура раствора должна быть постоянной (38 °С). Для этого необходимо периодически сливать часть остывшего раствора через отводную трубку и доливать подогретый раствор.

Моторная активность изолированного отрезка кишки может начаться не сразу, а через 10–30 минут после помещения его в установку. Как только сокращения восстановятся, следует начать регистрацию фоновой активности изолированного отрезка кишки. Через 30 минут после начала наблюдения в банку, где находится препарат, сменяют раствор Рингера на такой же, но содержащий

ацетилхолин в концентрации 10^{-6} и 10^{-9} . Отмечают изменения сокращения в течение некоторого времени.

Затем, тщательно промыв препарат свежим теплым физиологическим раствором, устанавливают постоянный фон его деятельности и испытывают действие адреналина в концентрации 10^{-6} и 10^{-9} .

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Отметьте изменения моторики отрезка кишки при разных условиях.
3. Сделайте выводы о влиянии исследуемых веществ на моторную функцию пищеварительного тракта.

Лабораторная работа 6.4. Состав и свойства желудочного сока

Цель работы: экспериментально изучить состав и свойства желудочного сока.

Объект исследования: раствор желудочного сока теплостойких.

Оборудование и материалы: штатив с набором пробирок, водяная баня, термометр, чашка с мелко потолченным льдом или снегом, лакмусовая бумага (синяя или красная), электрическая плитка, колба для нагревания, ножницы, пинцет, раствор пепсина в соляной кислоте, соде, воде, натуральный желудочный сок, фибрин, вареный белок, куриное яйцо, кусочки сырого мяса, кусочки вареного мяса, раствор NaOH – 10%, CuSO_4 – 2% (или 1% раствор).

Ход работы:

В работе исследуют натуральный желудочный сок, а также раствор пепсина в соляной кислоте.

Пронумеровать 13 пробирок:

- в первые 10 положить одинаковые порции мелко нарезанного фибрина

- в пробирку 11 – кусочек мелко нарезанного куриного белка
- в пробирку 12 – кусочек сырого мяса
- в пробирку 13 – кусочек вареного мяса.

Затем последовательно налить по 2 см³ следующих растворов:

- В пробирки 1 и 2 – раствор пепсина в 0,5% раствора HCl (искусственный желудочный сок)

- В пробирку 3 – искусственный желудочный сок, предварительно хорошо прокипяченный

- В пробирку 4 – раствор пепсина в воде
- В пробирку 5 – раствор пепсина в соде
- В пробирку 6 – слабую соляную кислоту (5% раствор)
- В пробирки 7,8,11,12,13 – натуральный желудочный сок
- В пробирку 9 – натуральный желудочный сок, предварительно хорошо прокипяченный

- В пробирку 10 – натуральный желудочный сок, нейтрализованный щелочью.

Пробирки 1 и 7 являются в этом опыте основными, все остальные – контрольными.

Пробирки 2 и 8 поставить на лед, а все другие – в водяную баню с температурой 37–40 °С на 30–40 минут. По истечении этого времени все пробирки одновременно вынуть и охладить водопроводной водой. Рассмотреть содержимое пробирок и отметить наличие или отсутствие кусочков белка. После этого с жидкой частью каждой пробирки проделать биуретовую реакцию. Для этого к исследуемому раствору прибавить 10 капель 10% раствора NaOH и 5 капель 2% раствора CuSO₄. При наличии в растворе белка появляется сине-фиолетовое окрашивание. Цветная реакция обусловлена группой биурета, которая имеется в любом белке. Эта же группа содержится и в продуктах рас-

щепления белка – альбумозах и пептонах. Однако, чем крупнее молекула белка, тем более синий оттенок получается при реакции: продукты переваривания белка – альбумозы и пептоны – вызывают красное окрашивание. Следует учесть, что прибавление излишка CuSO_4 дает осадок цвета гидрата окиси меди, маскирующий основную сине-фиолетовую окраску (или красно-фиолетовую).

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. На основании результатов опыта сделайте заключение о причинах переваривания белка в одних пробирках и отсутствия переваривания в других.
3. Отметьте роль кислоты и пепсина, влияние температуры на скорость переваривания белка, а также значение качества пищевого белка.
4. Все данные опыта занесите в таблицу:

№ пробирки	Характеристика переваривающего сока (наличие ферментов)	pH среды	Температура	Характеристика пищевого белка	Результаты переваривания	
					Наличие или отсутствие нерастворимого белка	Биуретовая реакция
1						
2						

Лабораторная работа 6.5. Желчь и ее роль в процессе пищеварения

Цель работы: экспериментально изучить состав желчи и ее роль в процессе пищеварения.

Оборудование и материалы: штатив с пробирками, фарфоровая тарелка, 2 маленькие воронки, желчь, жидкий растительный жир, 30% раствор тростникового сахара, серная кислота крепкая, смесь азотной и азотистой кислот, фильтровальная бумага.

Ход работы:

Качественные реакции на основные составные части желчи.

Реакция Питтенкоффера на желчные кислоты.

В пробирку налить 3–4 мл желчи и равный объем 30% раствора сахара, смешать жидкости охладить под струей воды или во льду. Затем осторожно по капле по стенкам пробирки прибавить крепкую серную кислоту и охладить пробирку после прибавления каждой капли во избежание обугливания сахара.

При добавлении H_2SO_4 первоначально выпадает буро-желтый осадок желчных кислот (вытесненных серной кислотой из их солей), а затем в избытке кислоты осадок растворяется, и прозрачная жидкость принимает вишневый, а при взбалтывании – пурпурный цвет.

Реакция Гмелина на желчные пигменты.

Налить в пробирку немного смеси концентрированной азотной и азотистой кислот и осторожно по стенке из другой пробирки или пипетки добавлять к ней желчь так, чтобы не происходило смешивания, а жидкости наслаивались бы одна на другую. При этом в результате окисления желчных пигментов на границе между двумя слоями жидкостей появляются кольца различного цвета – желтого, красного, фиолетового, синего, зеленого. Последовательный ряд окраски будет соответствовать степени окисления билирубина. Эту же реакцию можно проделать на белой фарфоровой

тарелке или на фильтровальной бумаге. Для этого нужно вылить немного желчи и в середину нанести несколько капель смеси азотной кислоты с азотистой. Вокруг кислоты начнут появляться концентрические круги (кольца) различной окраски, в соответствии с глубиной окисления билирубина. Чем осторожнее проделана реакция, тем тоньше кольца и больше различных цветов.

Действие желчи на жиры.

Эмульгирование жиров желчью.

Налить в пробирку немного растительного масла, добавить равный объем желчи, закрыть пробирку пальцем и взболтать. В результате взбалтывания образуется белое «молоко» – жировая эмульсия. Прodelать то же самое с растительным маслом при добавлении к нему воды. Поставить пробирки в штатив на 10–15 минут. Отметьте, где эмульсия является стойкой (где границы между слоями не наблюдаются).

Влияние желчи на фильтрацию жира.

В небольшие воронки вложить бумажные фильтры. Один фильтр смочить желчью, другой водой. Поставить воронки в пробирки, находящиеся в штативе, и налить в каждую немного растительного масла. Отметьте, в каком фильтре быстрее произойдет фильтрация масла.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Сделайте выводы о составе желчи и ее роли в пищеварении.

Лабораторная работа 6.6. Исследование мочеотделения в остром эксперименте

Мочевыделительная система является одной из важнейших систем жизнеобеспечения организма животных и человека. Главной ее функцией является сохранение баланса внутренней среды

организма за счет фильтрации крови в почках и образования мочи, с которой из организма удаляются продукты обмена веществ. Отфильтрованная почками моча у млекопитающих по мочеточникам попадает в мочевой пузырь, который выполняет функцию резервуара мочи, то есть служит для накопления оттекающей из почек мочи и периодического ее выведения через мочеиспускательный канал. Периодичность выделения мочи обеспечивается за счет способности мышечной стенки мочевого пузыря сокращаться, а сфинктера мочеиспускательного канала расслабляться, открывая просвет уретры. В остром эксперименте можно исследовать динамику мочеотделения, введя канюлю непосредственно в мочеточники или мочевой пузырь. Скорость диуреза можно увеличить, стимулируя процесс всасывания воды в кишечнике или введя в кровь осмотический диуретик, например мочевины.

Поскольку через почки из организма выводятся не только конечные продукты азотистого обмена, токсины, избыток органических и неорганических веществ, но и другие чужеродные соединения, данное явление можно пронаблюдать, введя в кровь физиологически нейтральный краситель и отметив его появление в моче.

Цель работы: на наркотизированном животном пронаблюдать процесс мочеотделения и изучить влияние различных факторов на мочеобразование.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: наркотическое вещество, набор хирургических инструментов, операционный столик, гибкая пластиковая канюля со скошенным концом, одноразовые шприцы различных объемов, вата, бинт, термометр, теплая вода, физиологический раствор для теплокровных, 20% раствор мочевины, 1% раствор метиленовой сини (готовят на физиологическом растворе).

Ход работы:

Для эксперимента лучше использовать крупную крысу массой не менее 250 г. Животное наркотизируют и фиксируют на операционном столике вентральной стороной вверх. Вскрывают брюшную полость по белой линии живота и находят мочевой пузырь. В стенке мочевого пузыря делают небольшой разрез или прокол, и в образовавшееся отверстие вводят гибкую пластиковую канюлю со скошенным концом. Вокруг канюли из стенки мочевого пузыря формируют небольшой валик и накладывают на него лигатуру. Вторую канюлю накладывают на уретру. Мочевой пузырь накрывают марлевой салфеткой, смоченной теплым физиологическим раствором, а свободный конец канюли отводят в сторону. Определяют объем мочи, выделяющейся каждые 5 минут. В качестве мерных емкостей для этого удобно использовать одноразовые шприцы с разной ценой деления. Например, для измерения малых объемов жидкости можно взять инсулиновый шприц.

Установив среднюю скорость мочеотделения, при помощи шприца вводят в полость кишки 2,5–5 мл теплой воды ($\sim 37^{\circ}\text{C}$) и определяют объем выделяющейся мочи, как описано выше. Отмечают усиление мочеотделения, а затем его возвращение к норме. В бедренную вену вводят 0,5 мл 20% раствора мочевины и наблюдают усиление диуреза. Затем в ту же вену вводят 0,3 мл 1% раствора метиленовой сини и через некоторое время отмечают появление красителя в моче.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Полученные данные занесите в таблицу.
3. Постройте на графике кривые, отражающие динамику мочеотделения в вышеописанных случаях.

Раздел 7. ФИЗИОЛОГИЯ ВСАСЫВАНИЯ

Лабораторная работа 7.1. Изучение механизмов всасывания различных растворов в остром опыте (опыт Гейденгайна)

Цель работы: убедиться в зависимости концентрации скорости всасывания различных растворов от их концентрации, а также в том, что всасывание является активным процессом.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: набор хирургических инструментов, препаровальный столик, лигатуры, наркотизирующее средство, шприц с иглой, марлевые завязки, часы, штатив, 2 канюли, 2 градуированные стеклянные трубки (или пипетки), резиновые трубки, зажимы, тройники, физиологический раствор для теплокровных, стеклянный термостойкий стакан (50 мл), электроплитка для подогревания растворов, спирт, вата, термометр, растворы: хлорида натрия (5%, 1,5%, 0,9%).

Ход работы:

У наркотизированной крысы изолируют участок тонкой кишки длиной 10–15 см и в оба конца вводят и закрепляют канюли. На канюлю с одного конца кишки надевают резиновую трубку, соединенную с градуированной пипеткой. Пипетку укрепляют в штативе вертикально. На канюлю второго конца кишки надевают резиновую трубку с зажимом. Промывают кишку физиологическим раствором. После этого свободный конец резиновой трубки, сняв зажим соединяют с другой градуированной пипеткой, которую так же укрепляют в штативе в вертикальном положении (рис. 19).

Заполняют систему изотоническим раствором NaCl и измеряют количество вещества, всосавшегося за 5 минут. То же самое проделывают с гипо- и гипертоническим растворами NaCl.

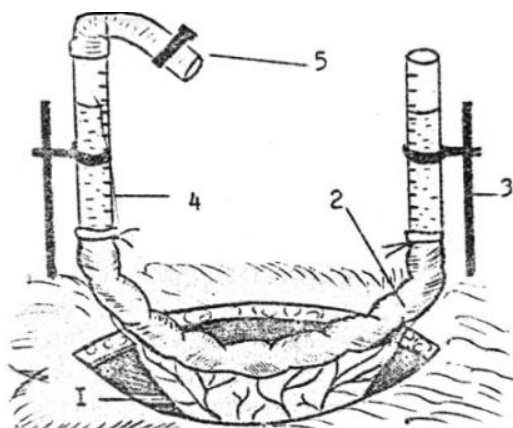


Рис. 19. Опыт Р.Г. Гейденгайна:

- 1 – брыжейка, 2 – изолированный участок кишечника,
 3 – штатив, 4 – градуированная стеклянная трубка,
 5 – резиновая трубка с зажимом

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Внесите результаты, полученные в опыте в протокол в виде таблицы, отражающей время всасывания различных веществ в кишечнике.
3. Проанализируйте результаты исследования и сделайте выводы.

Раздел 8. ФИЗИОЛОГИЯ ЖЕЛЕЗ ВНУТРЕННЕЙ СЕКРЕЦИИ

Лабораторная работа 8.1. Определение фаз полового цикла у самок крыс по влагалищному мазку

Цель работы: ознакомиться с картиной влагалищных мазков в разные фазы полового цикла самок крыс на готовых гистологических препаратах, а затем определить фазы полового цикла по влагалищным мазкам у половозрелых и инфантильных крыс.

Объект исследования: половозрелые и инфантильные самки крыс.

Оборудование и материалы: микроскоп, предметные стекла, глазные пипетки, заостренные палочки, фильтровальная бумага, дистиллированная вода, вата.

Ход работы:

Мазки из влагалища крысы можно брать деревянной палочкой с тонко обструганным концом, на который наматывают небольшое количество ваты. Вату увлажняют водой, вводят палочку во влагалище и затем наносят мазок на предметное стекло. Смотрят мазок под микроскопом при малом увеличении.

При систематическом взятии мазков у одних и тех же самок лучше всего брать мазки глазной пипеткой во избежание излишнего механического раздражения влагалища. В пипетку набирают небольшое количество воды, осторожно вводят конец пипетки в отверстие влагалища и 1–2 раза выжимают воду из него, а затем насасывают обратно в пипетку. Выдавливают каплю содержимого пипетки на предметное стекло и сразу же рассматривают под микроскопом при малом увеличении. Для каждой фазы эстрального цикла крыс характерны следующие особенности влагалищного мазка (рис. 20).

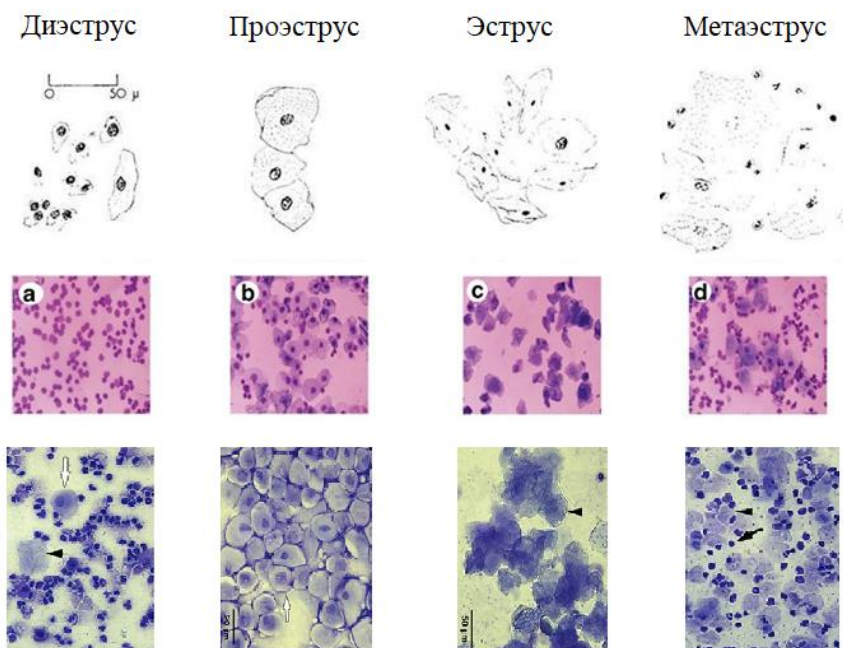


Рис. 20. Влагалищные мазки у самок крыс, отражающие различные эстральные циклы

1. Фаза предтечки /проэструс/. Влагалищный мазок состоит почти исключительно из округлых многоугольных эпителиальных клеток с зернистой цитоплазмой и довольно крупным ядром. Эти клетки расположены поодиночке или небольшими группами.

2. Фаза течки /эструс/. Влагалищный мазок состоит только из круглых ороговевших безъядерных клеток, имеющих вид чешуек неправильной формы. Лейкоциты и эпителиальные клетки с ядром в мазке совершенно отсутствуют. В конце фазы течки ороговевшие чешуйки образуют скопления.

3. Фаза послетечки /метаэструс/. Влагалищный мазок содержит немного ороговевших чешуек и много лейкоцитов. На корот-

кое время в нем могут появляться также эпителиальные клетки с ядрами.

4. Фаза межтечки /диэструс/. Влагалищный мазок содержит значительное количество слизи, много лейкоцитов и небольшое число эпителиальных клеток с ядрами.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Изучите влагалищные мазки в разные фазы полового цикла у половозрелых и инфантильных самок крыс.
3. Зарисуйте картины влагалищных мазков крысы в разные фазы полового цикла.
4. Заполните таблицу и сделайте выводы о характере и значимости влагалищного мазка крыс.

Наименование эстрального цикла	Характеристика цикла	Длительность цикла	Состав влагалищного мазка
1. Фаза предтечки /проэструс			
2. Фаза течки /эструс			
3. Фаза послетечки /метаэструс			
4. Фаза межтечки /диэструс			

Лабораторная работа 8.2. Топография и анатомическая характеристика желез внутренней секреции

Цель работы: изучить топографию и анатомию желез внутренней секреции при вскрытии самца и самки белой лабораторной крысы.

Объект исследования: самец и самка белой лабораторных крысы.

Оборудование и материалы: набор препаровальных инструментов, стеклянный колпак, марлевые салфетки, вата, эфир, крысы – самец и самка.

Ход работы:

Разрезав кожу на шее, обнаруживают крупные слюнные железы и расположенные ближе к голове лимфатические узлы. Раздвинув их, находят вентральные мышцы шеи. Осторожно разделяют по срединной линии груди грудино-подъязычные мышцы и обнаруживают под ними трахею.

Щитовидная железа крысы состоит из двух долей, расположенных по обеим сторонам трахеи под щитовидным хрящем на уровне 4–5-го кольца трахеи. Доли соединенные между собой тонким перешейком. Средняя масса щитовидной железы крысы 15–20 мг.

Околощитовидные /паратиреоидные/ железы. Число и расположение околощитовидных желез неодинаково у разных позвоночных. Крысы, как правило, имеют только одну пару желез, которые расположены под капсулой щитовидной железы в толще последней. Околощитовидные железы имеют вид светлых округлых пятнышек на фоне красноватой ткани щитовидной железы.

Тимус. От шейного разреза кожи вскрывают грудную полость. Делают это очень осторожно, чтобы не задеть крупные кровеносные сосуды. На уровне перехода трахеи в бронхи находят образованные либо неопределенной, либо бабочкообразной формы

розовато-кремоватого цвета. Это и есть тимус. Причем, чем моложе животное, тем тимус массивнее, и наоборот.

Поджелудочная железа. Вскрывают брюшную полость. Поджелудочная железа лежит позади желудка, под двенадцатиперстной кишкой. Представляет собой сложно-трубчатое образование плоской формы, красноватого-серого цвета. Поджелудочная железа очень рыхлая и состоит из множества отдельных долек. Выводные протоки экзокринной части железы впадают в общий желчный проток и уже вместе с ним в двенадцатиперстную кишку. Все элементы железы – эндокринная и экзокринная части, сосуды и протоки – густо оплетены нервами. В самой ткани железы имеются скопления нервных ганглиев. В поджелудочной железе различают головку, тело и хвост /селезеночный/.

Надпочечники. Парный орган. Располагаются близ верхнего /у крысы – переднего/ полюса почек в жировой капсуле и представляют собой плотные образования округлой формы. Надпочечники состоят из двух эндокринных желез: коры надпочечника, которая представлена так называемой интерренальной тканью, образующейся из мезодермы и вырабатывающей стероидные гормоны, и мозгового слоя, который представлен хромаффинной тканью, образующейся из общего эктодермального зачатка с пограничными симпатическими стволами и вырабатывающей катехоламины. Кортикальный и мозговой слои хорошо различимы визуально на разрезе надпочечника. Средняя масса надпочечника крысы 40–50 мг.

Половой аппарат самца крысы. Состоит из двух семенников, расположенных у взрослого самца в мошонке, и добавочных /аксессуарных/ половых желез, основными из которых являются простата и семенные пузырьки. Опылительным местом при вскрытии может служить мочевого пузырь: выше него расположены семенные пузырьки, которые имеют вид двух крупных вытянутых образований, заполненных густым секретом. Под мочевым

пузырем и несколько ниже расположена предстательная железа /простата/, состоящая из вентральных и дорзальных долей. Следует отметить, что к добавочным половым железам относятся и бульбоуретральные /куперовы/ железы, расположенные у основания полового члена, и препуциальные железы – маленькие образования, прилегающие к головке полового члена. Чтобы одновременно видеть все части половой системы самца, можно, нажимая на мошонку, переместить в брюшную полость семенники с их придатками. От семенников к месту соединения семенных пузырьков и простаты подходят семяпроводы. Средняя масса семенников крысы 2,5–3,0 г.

Половой аппарат самки крысы. Состоит из двух яичников и матки. Яичники представляют собой большие округлые образования с бугристой поверхностью из-за выпячивания круглых желтых тел. Опознавательным местом при вскрытии может служить нижний /у крысы – задний/ полюс почки. Матка у крысы двурогая. Каждый рог заканчивается яйцеводом с воронкой, расположенной у яичника. Нижняя часть матки переходит во влагалище. Средняя масса яичников крысы 50–70 мг.

Гипофиз. Небольшое уплощенно-овальное образование розоватого цвета, расположенное в турецком седле у основания черепа. Гипофиз состоит из передней /железистой или аденогипофиза/, промежуточной доли и задней /нейрогипофиза/. Данная железа соединяется с гипоталамусом так называемой ножкой, или стеблем. Гипофиз обильно снабжается кровью. Особенностью кровоснабжения передней доли гипофиза является наличие портальной /воротной/ системы сосудов.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе опыта зарисуйте схему расположения внутренней секреции крысы (рис. 21).

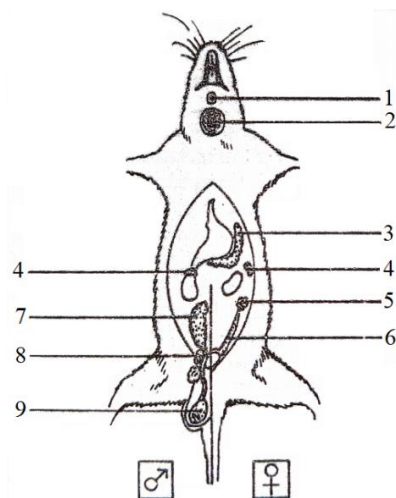


Рис. 21. Схема расположения эндокринных желез у крысы:

- 1 – гипофиз; 2 – щитовидная железа; 3 – поджелудочная железа; 4 – надпочечники; 5 – яичник; 6 – рог матки; 7 – семенной пузырек; 8 – предстательная железа; 9 – семенник

3. Заполните таблицу:

№	Наименование железы внутренней секреции	Значение железы внутренней секреции для организма
1.	Щитовидная железа	
2.	Околощитовидные /паратиреоидные/ железы	
3.	Тимус	
4.	Поджелудочная железа	
5.	Надпочечники	
6.	Половой аппарат самца крысы	
7.	Половой аппарат самки крысы	
8.	Гипофиз	

Лабораторная работа 8.3. Кастрация самки крысы

Кастрация половозрелых самок приводит к инволюции матки и прекращению полового цикла. Кастрация также влияет на обмен вещества и различные функции организма.

Цель работы: научиться проводить операцию кастрации самки крысы.

Объект исследования: самка белой лабораторной крысы.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, операционный столик для мелких животных, резинки для фиксации конечностей, стеклянный колпак, набор препаровальных инструментов (скальпель, ножницы, глазные ножницы, глазные пинцеты, иглодержатель), хирургические иглы, шовный материал (кетгут, шелк), марлевые салфетки, вата, эфир для наркоза, йодная настойка, спирт, самка крысы.

Ход работы:

Кастрацию самки крысы (овариэктомию) проводят под легким эфирным наркозом. Необходимо протереть инструменты и операционный столик ватой, смоченной в спирте, а также вымыть с мылом руки и надеть перчатки. Крысу фиксируют за лапки к операционному столику спинкой вверх. В поясничной области выстригают шерсть на участке 4–5 см² и смазывают кожу 50% спиртом. По средней линии спины делают продольный разрез длиной 4 см кзади от уровня последней пары ребер (рис. 22 А). Оттянув пинцетом край разреза кожи вправо, находят приблизительно на 1 см латеральнее длинной мышцы спины место, где через тонкий слой поясничной мускулатуры просвечивает яичник или окружающая его жировая ткань. В этом месте острыми глазными ножницами делают небольшой разрез мышцы и попадают в брюшную полость. Яичник расположен у нижнего полюса почки

и окружен жировой тканью. Захватывают пинцетом и вытаскивают через разрез наружу жировую ткань вместе с яичником, яйцеводом и верхней частью рога матки (рис. 22 Б). Между яичником и рогом матки накладывают шелковую лигатуру. Затем отсекают яичник с яйцеводом (рис. 22 В) и удаляют его, а рог матки погружают в брюшную полость.

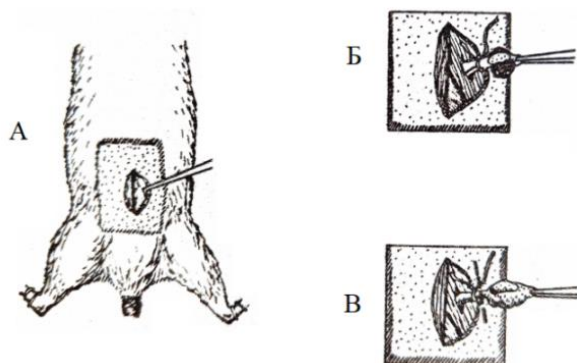


Рис. 22. Кастрация самки крысы:

А – разрез кожи сдвигается вправо; Б – яичник с яйцеводом и окружающей тканью извлекается наружу через мышечный разрез, на рог матки накладывается лигатура; В – пунктиром показано место перерезки рога матки над лигатурой

Разрез мышцы стягивают одним швом из кетгута. Затем оттягивают пинцетом левый край разреза кожи и таким же способом удаляют левый яичник. После удаления второго яичника и наложения шва на мышцы накладывают шелковые швы на кожу и смазывают ее спиртом или йодной настойкой, которая должна быть разведена вдвое.

После операции животных помещают в чистую клетку и содержат в обычных условиях вивария.

Примечание!

После удаления обоих яичников циклические изменения в матке и влагалище прекращаются: только у немногих крыс они через некоторое время могут возобновиться вследствие регенерации фолликулярного аппарата из сохранившихся участков ткани яичника или дифференцированных участков перитонеального эпителия. Поэтому рекомендуется после кастрации исследовать влагалищные мазки ежедневно в течение трех недель и брать в опыт только тех крыс, у которых за это время не обнаружено никаких циклических изменений.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе зарисуйте основные этапы операции овариэктомии.
3. Сделайте вывод о значении яичников у крыс.

Лабораторная работа 8.4. Кастрация самца крысы

Кастрация половозрелых самцов приводит к атрофии добавочных половых желез – простаты и семенных пузырьков. Исчезают вторичные половые признаки, изменяются половые рефлексy.

Цель работы: научиться проводить операцию кастрации самца крысы.

Объект исследования: самец белой лабораторной крысы.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, операционный столик для мелких животных, резинки для фиксации конечностей, стеклянный колпак, набор препаровальных инструментов (скальпель, ножницы, глазные ножницы, глазные пинцеты, иглодержатель), хирургические иглы, шовный материал (кетгут,

шелк), марлевые салфетки, вата, эфир для наркоза, йодная настойка, спирт, самец крысы.

Ход работы:

Кастрацию самца крысы проводят под легким эфирным наркозом и фиксируют к операционному столу брюшной стороной кверху. Необходимо протереть инструменты и операционный столик ватой, смоченной в спирте, а также вымыть с мылом руки и надеть перчатки. Сбривают шерсть на мошонке, в области лобка и на внутренней поверхности бедер. Вентральную поверхность мошонки смазывают спиртом. Если семенники втянуты в брюшную полость, то легким массажем брюшной стенки от грудной клетки к лонному сращению их легко можно переместить в мошонку. Чтобы во время операции семенники не переместились снова в брюшную полость, их надо через кожу удерживать в мошонке пальцами левой руки.

Кожу мошонки растягивают и в каудальной ее части делают по средней линии разрез длиной около 1 см (рис. 23 А). Разрезав кожу, сдвигают разрез в сторону и захватывают пинцетом один из семенников. Тупой стороной скальпеля отпрепаровывают кожу от его влагалищной оболочки. Если надавить пальцем на верхнюю часть мошонки, то семенник, окруженный оболочками, выступает из разреза кожи (рис. 23 Б). Острыми ножницами делают небольшой разрез влагалищной оболочки. Надавливание на кожу мошонки, выдавливают наружу через этот разрез семенник вместе с его придатком и частью семенного канатика, окруженного жировой тканью (рис. 23 В). Под проксимальную часть семенного канатика и влагалищную оболочку, окружающую его в виде трубочки, подводят шелковую нить и, осторожно затягивают петлю, два раза перевязывают их одной и той же лигатурой (рис. 23 Г).

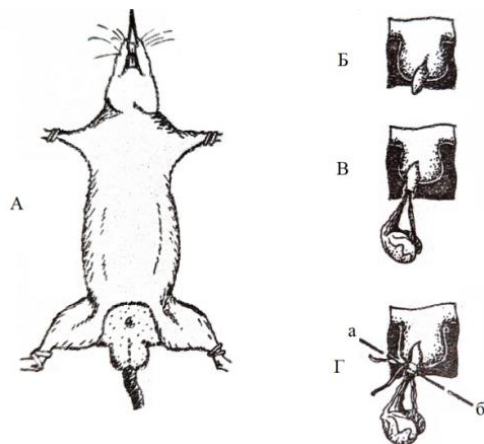


Рис. 23. Кастрация самца крысы:

А – общий вид животного, подготовленного к операции / пунктирная линия посредине мошонки показывает место разреза кожи /; Б, В, Г – основные этапы операции; а–б – перевязка семенного канатика вместе с оболочками

Затем перерезают семенной канатик дистальнее лигатуры и удаляют семенник вместе с придатком и дистальной частью семенного канатика. Перевязанный проксимальный конец семенного канатика погружают в мошонку. Если разрез влагалищной оболочки оказался чересчур большим, на него накладывают шов. Потом сдвигают разрез кожи мошонки в противоположную сторону и через него удаляют таким же способом второй семенник. После удаления второго семенника на разрез кожи накладывают 2–3 шелковых шва и смазывают кожу мошонки спиртом или йодной настойкой, которая должна быть разведена вдвое.

После операции животных помещают в чистую клетку и содержат в обычных условиях вивария.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

2. В протоколе зарисуйте основные этапы операции кастрации самца крысы.

3. Сделайте выводы о значении семенного канатка у крыс.

Лабораторная работа 8.5. Удаление надпочечников у крыс (адреналэктомия)

Надпочечники являются жизненно необходимыми органами. Продолжительность жизни адреналэктомированных животных варьирует от нескольких дней до трех недель. При двусторонней адреналэктомии наблюдаются следующие отклонения, свидетельствующие о недостаточности функции коры надпочечников: падение веса и температуры тела, мышечная слабость и адинамия, быстрая утомляемость, урежение дыхания, повышение чувствительности к неблагоприятным внешним воздействиям.

Цель работы: научиться проводить операцию адреналэктомии у крыс.

Объект исследования: самец (самка) белой лабораторной крысы.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, операционный столик для мелких животных, резинки для фиксации конечностей, стеклянный колпак, набор препаровальных инструментов (скальпель, ножницы, глазные ножницы, глазные пинцеты, иглодержатель), хирургические иглы, шовный материал (кетгут, шелк), марлевые салфетки, вата, эфир для наркоза, йодная настойка, спирт, крысы.

Ход работы:

Операцию проводят под эфирным наркозом. Крыс фиксируют на операционном столике спинкой сверху. Тщательно состригают шерсть на участке спины между последними ребрами и тазовым

суставом. Кожу смазывают спиртом. По средней линии спины делают продольный разрез кожи длиной 8–10 мм кзади от уровня последней пары ребер (рис. 24 А). Тупым крючком или пинцетом отодвигают разрез кожи влево и глазными ножницами делают небольшой косой разрез мышц (длиною 5–10 мм) в углу, образованном последним ребром и длинной мышцей спины. Разрез мышцы немного расширяют (рис. 24 Б). В глубине раны видна часть почки. Ориентируясь на ее верхний полюс, находят левый надпочечник, легко различимый благодаря его характерной коричневатой окраске. Анатомический пинцет вводят между верхним полюсом почки и основанием надпочечника и захватывают надпочечник вместе с окружающей его жировой тканью. Делают это таким образом, чтобы надпочечник и окружающие его ткани находились бы сверху пинцета и могли быть выведены наружу через мышечный разрез (рис. 24 В).

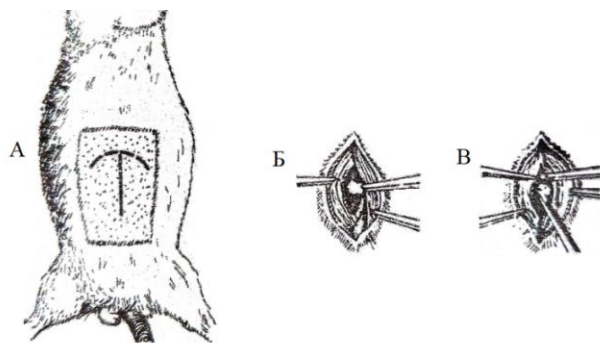


Рис. 24. Удаление надпочечников у крысы:

А – участок спины, подготовленный к операции / сплошной линией показано место разреза кожи, пунктиром – расположение последней пары ребер /; Б – через разрез мышц виден левый надпочечник; В – выведение левого надпочечника через мышечный разрез

Вторым пинцетом разделяют жир между надпочечником и почкой, после чего легко отделяют надпочечник и отрывают его вместе с окружающей жировой тканью. При этом кровотечения обычно не наблюдается. Поэтому кровеносные сосуды можно не перевязывать. На разрез мышц накладывают один шов. Затем кожный разрез сдвигают крючком или пинцетом вправо и аналогичным образом делают косой разрез мышц и удаляют правый надпочечник. Удаление правого надпочечника значительно легче, чем левого, который расположен глубже. Удалив второй надпочечник и наложив шов на мышечный разрез, накладывают шов на разрез кожи и смазывают ее йодной настойкой.

После двусторонней адреналэктомии животные должны получать пищу, бедную солями калия (белый хлеб, рис, творог, небольшое количество фруктов), а для питья вместо воды – 1% раствор NaCl. Поскольку такие животные чувствительны к охлаждению, их необходимо содержать при температуре +25 °С.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе опыта зарисуйте основные этапы операции удаления надпочечников у крысы.
3. Сделайте вывод о значении надпочечников у крыс.

**Лабораторная работа 8.6. Удаление
поджелудочной железы у крыс**

Поджелудочная железа у крысы расположена в желудочно-селезеночной связке, в брыжейке двенадцатиперстной кишки и вдоль всего общего желчного протока. Она очень рыхлая и состоит из множества отдельных долек. Ни один из протоков поджелудочной железы не впадает непосредственно в двенадцатиперстную

кишку, 2 крупных и 10–17 мелких панкреатических протоков впадают в общий желчный проток.

Поджелудочную железу крысы подразделяют на три части. Первая из них расположена в желудочно-селезеночной связке и вдоль кровеносных сосудов селезенки, желудка и сальника: ее крупный выводной проток впадает в общий желчный проток на расстоянии около 10 мм от двенадцатиперстной кишки. Вторая часть железы находится в брыжейке двенадцатиперстной кишки; ее крупный выводной проток впадает в общий желчный проток на расстоянии 2–3 мм от впадения последнего в кишку. Третья часть – идет вдоль общего желчного протока и состоит из отдельных небольших долек, каждая из которых имеет свой маленький выводной проток, независимо впадающий в общий желчный.

Цель работы: научиться проводить удаление поджелудочной железы у крысы.

Объект исследования: белая лабораторная крыса, массой 200–300 гр.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, операционный столик для животных, резинки для фиксации конечностей, стеклянный колпак, шприц на 1 мл, набор препаровальных инструментов (скальпель, ножницы, глазные ножницы, глазные пинцеты, иглодержатель), хирургические иглы, шовный материал (кетгут, шелк), марлевые салфетки, вата, эфир для наркоза, йодная настойка, спирт, 0,95%-й раствор хлористого натрия, крупные крысы, голодавшие 24 ч.

Ход работы:

На морду крысы накладывают колпачок с ватой смоченной эфиром. Под эфирным наркозом крысу фиксируют за лапки к операционному столику брюшной стороной вверх. На передней стенке живота выстригают шерсть, кожу обрабатывают спиртом.

По средней линии живота кзади от мечевидного отростка делают продольный разрез длиной 3–3,5 см. Вскрыв брюшную полость, зажимами фиксируют края раны со стерильными марлевыми салфетками. Извлекают желудок, поворачивают его кверху и укладывают переднюю поверхность на грудную стенку на стерильную марлевую салфетку, смоченную теплым физиологическим раствором. Если селезенка не была извлечена вместе с желудком, то ее тоже вытаскивают наверх (рис. 25). Поперечную ободочную кишку отодвигают несколько кзади, чтобы получить доступ к началу кровеносных сосудов селезенки и поджелудочной железы к брыжейке на дорзальной стенке брюшной полости.

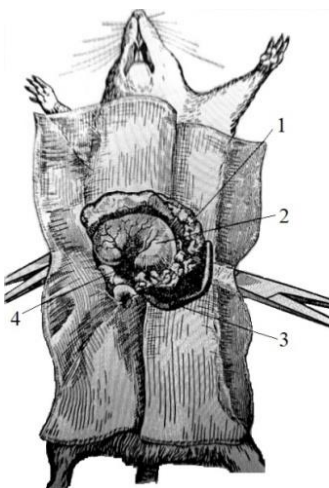


Рис. 25. Операция удаления поджелудочной железы у крысы:
1 – поджелудочная железа, 2 – желудок, 3 – селезенка, 4 – печень

Операционный столик поворачивают так, чтобы голова крысы находилась слева. Захватывают большим и указательным пальцами левой руки селезенку, подведя вершину указательного пальца под ее сосуды. Начиная с глубины брюшной полости, маленькими тампона-

ми осторожно отесняют по направлению к селезенке ткань поджелудочной железы и постепенно удаляют ее. Потом подводят указательный палец левой руки под первую часть поджелудочной железы и в области пилоруса и продолжают постепенно отеснять ткань поджелудочной железы тампонами и удалять ее, стараясь при этом не повредить желудочно-двенадцатиперстную артерию.

После этого поворачивают операционный столик так, чтобы голова крысы находилась справа. Извлекают из брюшной полости поперечную ободочную кишку и укладывают ее на марлевую салфетку, смоченную теплым физиологическим раствором. Подводят указательный палец левой руки под брыжейку двенадцатиперстной кишки, осторожно отесняют тампонами и удаляют ткань поджелудочной железы от того места, где петля двенадцатиперстной кишки прикрепляется к поперечной ободочной кишке, причем стараются не повредить проходящую здесь воротную вену.

Затем осматривают область общего желчного протока и удаляют ткань поджелудочной железы, расположенную между этим протоком и двенадцатиперстной кишкой. Удаляют также всю остальную ткань железы, находящуюся с обеих сторон брыжейки двенадцатиперстной кишки и вдоль задней поверхности воротной вены.

Окончив удаление поджелудочной железы, укладывают все остальные органы на прежнее место и зашивают наглухо стенку брюшной полости непрерывным капроновым швом. На разрез кожи накладывают шелковые узловые швы и смазывают кожу спиртом.

Сразу же после окончания операции крысе вводят под кожу спины 8 мл изотонического раствора хлористого натрия, а в другое место – 1000 ед пенициллина в 0,1 мл раствора. Каждую крысу помещают на 3 суток в индивидуальную клетку и содержат при температуре 35 °С. В первые сутки ей не дают пищи и воды. На 2-е и 3-и сутки вместо воды дают для питья физиологический раствор. Пища, даваемая крысам начиная со 2-го дня после операции,

должна быть богата белками и жирами, так как панкреатэктомизированные животные плохо усваивают углеводы. Ежедневно в течение 7 дней после операции крысе 2 раза в сутки вводят инсулин (по 4–5 единиц на 1 кг веса тела).

После прекращения введения инсулина содержание сахара в крови сильно повышается.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе зарисуйте основные этапы операции удаления поджелудочной железы.
3. Сделайте вывод о значении поджелудочной железы у крыс.

Лабораторная работа 8.7. Удаление щитовидной железы

У крыс щитовидная железа состоит из двух долей, расположенных по бокам трахеи на протяжении 4 и 5 колец и соединенных на уровне 2-го и 3-го трахеальных колец тонким перешейком. Железа буровато-красная. В каждой доле при хорошем освещении заметно округлое пятнышко – это околожитовидные железы, которых у крыс обычно бывает только две. Их удаляют вместе с щитовидной железой.

Цель работы: научиться проводить удаление щитовидной железы у крысы.

Объект исследования: белая лабораторная крыса, массой 60–100 г.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, операционный столик для мелких животных, резинки для фиксации конечностей, стеклянный колпак, набор препаровальных инструментов (скальпель, ножницы, глазные ножницы, глазные пинцеты, иглодержатель), хирургические иглы, шовный материал (кетгут,

шелк), марлевые салфетки, вата, эфир для наркоза, йодная настойка, спирт, самка крысы.

Ход работы:

Под эфирным наркозом крысу фиксируют за лапки к операционному столу брюшной стороной вверх. На ее морду накладывают колпачок с ватой смоченной эфиром. На шее состригают или сбывают шерсть и область операционного поля смазывают спиртом.

По средней линии шеи скальпелем делают продольный разрез длиной 2,5–3 см через кожу, подкожную клетчатку и фасцию. Раздвинув тупыми крючками края разреза, открывают грудинно-подъязычные мышцы и частично прикрывающие их с боков подчелюстные слюнные железы (рис. 26 А). Отодвигают подчелюстные железы в стороны, двумя острыми пинцетами осторожно разделяют по срединной линии грудинно-подъязычные мышцы, крючками отодвигают их друг от друга и таким образом открывают трахею, на поверхности которой расположена щитовидная железа (рис. 26 Б).

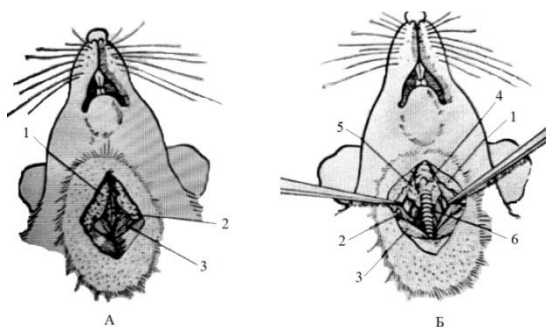


Рис. 26. Операция удаления щитовидной железы у крысы.

А – сделан разрез кожи, подкожной клетчатки и фасции;

Б – разделены и отодвинуты друг от друга грудинно-подъязычные мышцы: 1 – подчелюстная железа, 2 – грудинно-подъязычная мышца, 3 – грудинно-сосцевидная мышца, 4 – щитовидный хрящ, 5 – щитовидная железа, 6 – трахея

Удобнее всего удалить сначала одну долю щитовидной железы, а затем перешеек вместе со второй долей. Для этого глазным пинцетом осторожно отделяют тонкую грудино-щитовидную мышцу, на всем ее протяжении тесно соединенную с долей щитовидной железы. Затем одним пинцетом захватывают долю за задний конец, а вторым пинцетом постепенно, начиная с заднего конца, отделяют ее от трахеи и отрывают от перешейка. Когда эта доля остается связанной с окружающей тканью только «сосудистой ножкой», в которой проходят кровеносные сосуды, на эту «ножку» как можно дальше от железы накладывают шелковую лигатуру, а затем «ножку» перерезают.

После этого отделяют от трахеи перешеек железы, остающийся связанным со второй долей. Начиная с заднего конца второй доли, описанным выше способом отделяют эту долю сначала от грудино-щитовидной мышцы, а затем от трахеи. Если во время отделения щитовидной железы от трахеи начинается кровотечение, то его останавливают ватными шариками. Во время удаления щитовидной железы стараются не повредить сонную артерию и гортанный нерв, расположенные по бокам трахеи.

После окончания удаления щитовидной железы сдвигают на прежнее место грудино-подъязычные мышцы и подчелюстные железы, на кожу накладывают швы и смазывают ее спиртом.

Удаление щитовидной железы быстро сказывается на состоянии организма животных. У них резко понижается основной обмен и замедляется рост тела. Крысы переносят сравнительно хорошо удаление околощитовидных желез. Судорожных припадков после операции у них не бывает, но через 1–1,5 месяца появляются признаки нарушения обмена кальция. На резцах образуются темные поперечные полосы. Резцы становятся очень хрупкими – легко ломаются. Чтобы предотвратить появление этих нарушений кальциевого обмена, крысам дают для питья вместо чистой воды 1%-й раствор молочнокислого кальция.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе зарисуйте основные этапы операции удаления щитовидной железы.
3. Сделайте вывод о значении щитовидной железы у крыс.

**Лабораторная работа 8.8. Влияние гипофизэктомии
на окраску лягушки**

В промежуточной доле гипофиза образуется меланостимулирующий гормон (интермедин), который влияет на пигментные клетки низших позвоночных (рыбы, амфибии). Данный гормон способствует равномерному распределению пигмента по цитоплазме меланофорных (пигментных) клеток, что приводит к потемнению кожи животных.

Цель работы: убедиться в изменении окраски кожи лягушки, а именно в ее посветлении, при отсутствии меланостимулирующего гормона в крови лягушки, что создается удалением гипофиза у нее.

Объект исследования: лягушка.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, пробковый столик для мелких животных, набор препаровальных инструментов (скальпель, ножницы, глазные ножницы, глазные пинцеты, иглодержатель, хирургические иглы), шовный материал, стеклянный колпак, эфир для наркоза, широкий бинт, марлевые салфетки, вата, раствор Рингера для холоднокровных.

Ход работы:

Следует учесть, что самцы переносят гипofизэктомию лучше самок и что лягушки, зимующие в лабораторных условиях, в зимние месяцы более выносливы, чем в весенние.

Не подвергая сильному наркозу (лягушки плохо его переносят), туго пеленают животное бинтом или салфеткой, чтобы свободна была только голова и, прокалывая через материю препаровальными иглами, прикрепляют лягушку брюшком кверху ко дну пробкового столика. При помощи пинцета раскрывают рот лягушки. Иглой прошивают язык вместе с мышцами дна ротовой полости и, оттягивая нить назад, прикрепляют иглу к пробковой пластинке, оставляя рот широко открытым. Для того, чтобы лягушка во время операции не двигала головой, необходимо на передний конец головы, по линии сошниковых зубов, наложить узкую полоску материи, также укрепив ее булавками. После этого лягушка лежит неподвижно с широко раскрытым ртом.

Глазным пинцетом захватывают посередине слизистую оболочку, выстилающую крышу ротовой полости, и делают продольный разрез длиной 1–1,5 см. Разрез необходимо делать строго по средней линии, не отклоняясь ни вправо, ни влево, во избежание поражения крупных небных артерий. Обычно при разрезе слизистой оболочки кровотечения не бывает, все же операционное поле лучше обсушить маленькими ватными шариками. Шарик удобно держать при помощи остроконечного пинцета.

После отведения в стороны слизистой оболочки отчетливо видна покровно-клиновидная кость (парасфеноид). Эта кость имеет форму креста и несет четыре отростка. Передний отросток кости самый длинный и тянется почти вдоль всего основания черепной коробки. Из-под центральной части парасфеноида просвечивает округлое, несколько овальной формы бледно-красное образование – гипофиз, величиной около 1,5 мм (рис. 27 А и Б).

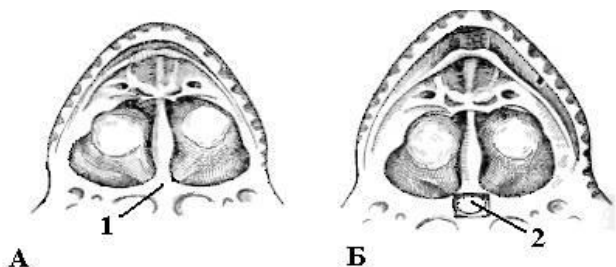


Рис. 27. Удаление гипофиза у лягушки:

А – часть нижней поверхности черепа после удаления слизистой оболочки ротовой полости; Б – в центральной части парасфеноидной кости вырезано четырехугольное отверстие; 1 – парасфеноидная кость; 2 – дистальная (передняя) доля гипофиза

При помощи глазных ножниц вдоль основания покровно-клиновидной кости делают поперечный надрез длиной не более 3–4 мм (осторожно! Здесь проходит внутренняя сонная артерия). Затем ножницы вводят в образовавшийся разрез и делают два продольных параллельных разреза длиной около 6–7 мм по направлению к передней части головы. Раневую поверхность очищают ватными шариками.

При помощи скальпеля осторожно приподнимают и отворачивают кверху костный лоскут. После снятия костного лоскута и хрящевых образований обнажают гипофиз, серый бугор и перекрест зрительных нервов. Глазным пинцетом захватывают гипофиз, приподнимают и обрезают его у самого основания. Затем костную пластинку опускают на свое место и на слизистую оболочку неба накладывают несколько швов. Уже через несколько часов после операции, если гипофиз удален полностью, меланофобры сжимаются и окраска кожи резко светлеет. Оперированные лягушки живут 2–3 дня.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В протоколе зарисуйте основные этапы операции гипofизэктомии.
3. Сделайте вывод о значении гипofиза у лягушек.

Лабораторная работа 8.9. Действие меланофорного гормона и адреналина на пигментные клетки лягушки

Введение экстрактов, содержащих меланофорный гормон (питуитрин), вызывает у гипofизэктомированных лягушек перемещение зерен пигмента из центральной части в отростки пигментных клеток, что ведет к значительному потемнению кожи. Степень распределения зерен пигмента в хроматофорах оценивается по 5-балльной системе, предложенной Хогбенom (рис. 28).



Рис. 28. Степень распределения зерен пигмента в хроматофорах

Быструю концентрацию зерен пигмента в центральной части клетки, ведущую к посветлению окраски тела, вызывают адреналин и антагонист меланофорного гормона – мелатонин. Действие адреналина на пигментные клетки в организме лягуш-

ки наступает быстро, но оно кратковременно, так как адреналин вскоре разрушается аминooksидазой. Действие меланофорного гормона проявляется гораздо медленнее, но значительно более длительно.

Цель работы: убедиться в изменении окраски кожи лягушки, а именно в ее потемнении при действии адреналина и мелатонина.

Объект исследования: лягушка.

Оборудование и материалы: стерильные перчатки, микроскоп, пробковый столик для мелких животных, набор препаровальных инструментов (ножницы, пинцеты, иглы), стеклянный колпак, эфир для наркоза, шприцы на 1–2 мл, широкий бинт, марлевые салфетки, вата, стеклянные чашечки, часы, питуитрин, адреналин (1:1000), раствор Рингера для холоднокровных.

Ход работы:

Действие меланофорного гормона хорошо наблюдать на лягушках, кожа которых посветлела в результате содержания их в течение 3–4 часов на белом фоне при ярком освещении. Еще лучше изучать его на гипофизэктомированных лягушках. В спинной лимфатический мешок вводят 0,2 мл питуитрина (экстракта задней доли гипофиза, содержащего меланофорный гормон) в 0,5 мл водного раствора. Приблизительно через 20 мин лягушка начинает темнеть. Под микроскопом хорошо видно, как в прозрачной плавательной перепонке, наряду с кровеносными сосудами разного калибра, в которых можно наблюдать движение крови, хорошо видны пигментные клетки с черным пигментом – меланофоры.

В пигментных клетках происходит перемещение темного пигмента в отростки меланофоров; создается ошибочное впечатление, что эти отростки удлиняются и начинают ветвиться. Зерна пигмента находятся в отростках пигментных клеток, благодаря

чему видно, что меланофоры имеют звездчатую форму (рис. 29). Так как разветвления соседних меланофоров переплетаются между собой, то после перемещения в них зерен пигмента они как бы образуют густую темную сеть. Вызванное меланофорным гормоном потемнение окраски лягушки сохраняется в течение 1–2 суток.



Рис. 29. Шкала для оценки распространения зерен пигмента в хроматофорах по 5-балльной системе

Действие адреналина можно наблюдать и на темных лягушках. В спинной лимфатический мешок вводят 0,5 мл раствора адреналина (1:1000). Уже через 1–2 мин в плавательной перепонке можно наблюдать сильное сужение кровеносных сосудов, а через 3–5 мин начинается перемещение зерен пигмента из отростков в центральную часть меланофоров. Через 10–20 мин весь пигмент концентрируется около ядра и меланофоры под микроскопом производят впечатление черных комочков неправильной формы, без каких-либо выступов или отростков. Действие адреналина непродолжительно, и вскоре зерна пигмента вновь начинают перемещаться в отростки. Под микроскопом хорошо видно, как на поверхности черных комочков появляются небольшие выступы, которые затем приобретают вид коротких отростков. Постепенно такие темные отростки становятся длиннее и начинают ветвиться.

На самом деле форма отростков не изменяется при изменениях окраски, но они ясно видны только тогда, когда заполнены зернами пигмента.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Зарисуйте изменения меланофоров при действии питуитрина и адреналина.
3. Запишите время изменения окраски кожи лягушки под действием питуитрина и адреналина.

Раздел 9. ФИЗИОЛОГИЯ ПОВЕДЕНИЯ

Лабораторная работа 9.1. Оценка пространственной памяти животных в тесте «8-лучевой лабиринт»

8-лучевой лабиринт позволяет исследовать рабочую, пространственную память грызунов, лежащую в основе поведения при «смене» рукавов.

Цель работы: оценить пространственную память животных в тесте «8-лучевой лабиринт».

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: 8-лучевой лабиринт, спирт, тряпка, секундомер, пищевая приманка (сыр, сало).

Ход работы:

Животное поместить в центр лабиринта и, после некоторого времени, необходимого на адаптацию, открыть заслонку, позволяя выбрать один из 8 рукавов, в котором находится пищевая приманка. По истечении 30 с (необходимых животному для исследования рукава) животное следует пересадить в стартовый рукав, и повторно ожидать перехода в один из 8 рукавов. Когда два исследования выполняются в быстрой последовательности, то при втором подходе животное стремится найти приманку быстрее, что говорит о хорошей пространственной памяти. Регистрируют время, за которое крыса достигнет приманки, а также количество ошибок. Если животное не обнаруживает нужный рукав за 3 минуты, экспериментатор перемещает его к нему на 1 минуту, после чего возвращает в клетку. Проведите три таких попытки, интервал между попытками 10 мин. После предъявления лабиринта тщательно моют для удаления запахов.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В таблице зарегистрируйте и отметьте процент попыток, в которых вовремя были найдены приманки.

№ животного	№ попытки	Время
1	1	
	2	
	3	
2	1	
	2	
	3	

3. Сделайте вывод о пространственной памяти животных.

100–70% – хорошая

30–60% – удовлетворительная

0–30% – плохая

Лабораторная работа 9.2. Изучение пищевого поведения крыс с использованием установки «Лабиринт Барнс»

Цель работы: исследовать пищевое поведение животных с использованием установки «Лабиринт Барнс».

Объект исследования: лабораторная крысы.

Оборудование и материалы: установка «Лабиринт Барнс», спирт, вата, бумажные полотенца, 3 группы крыс, секундомер, пищевая приманка (сыр, сало).

Ход работы:

За сутки (лучше двое) до исследования экспериментальные животные подвергаются пищевой депривации.

Лабиринт Барнс позволяет оценить обучение, рабочую и долговременную память и представляет собой круглую арену, диаметром 122 см. По периметру арены на одинаковом расстоянии расположено 18 отверстий, 17 из которых являются ложными и только одно – истинное, т.е. самое глубокое и темное. В одном из ложных убежищ размещают пищевую приманку. При первом предъявлении платформы животному демонстрируют туннель с коробкой. Насильно запихивать животное в туннель нельзя, т.к. это приводит в стресс его. Если животное оказывается в ней, действие раздражающего стимула прекращается. Животное остается в коробке 1–2 минуты. После предъявления платформу тщательно моют для удаления запахов. При тестировании животное помещают в центр платформы, регистрируют время, за которое крыса достигнет приманки или убежища, а также количество ошибок. Если животное не обнаруживает нужное отверстие за 3 минуты, экспериментатор перемещает его к нему на 1 минуту, после чего возвращает в клетку.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В ходе работы зафиксируйте выбор животного: приманка или убежище, а также латентное время реакции.
3. На основании полученных результатов сделайте выводы об уровне сформированности пищевой мотивации.

Лабораторная работа 9.3. Влияние психостимуляторов на изменение общего уровня двигательной активности

Химические вещества, воздействуя на медиаторные системы различных отделов мозга, могут вызывать усиление или угнетение возбуждательных или тормозных процессов протекающих в ЦНС. Некоторые из них могут активно влиять на изменение психики,

умственной работоспособности, эмоционального поведения, памяти, внимания и т.д.

Все фармакологические препараты способные оказывать влияние на ВНД принято делить на 3 группы: 1) психотропные вещества; 2) психостимуляторы; 3) наркотические и снотворные вещества. Психостимуляторы это группа препаратов, повышающая умственную и физическую работоспособность, улучшающая восприятие (обостряющие слух, зрение и т.д.), повышающие настроение, снимающие усталость, снижающие потребность во сне. Механизм действия данных препаратов связывают с их способностью стимулировать синтез циклического АМФ, который участвует во всех метаболических процессах клетки. Наиболее известным и доступным психостимулятором является кофеин. Он стимулирует внутриклеточные обменные процессы в нервных клетках, стабилизирует процессы передачи нервных импульсов в синапсах коры, гипоталамуса, продолговатого мозга.

Помещенные на незнакомую открытую площадку животные демонстрируют ориентировочно-исследовательские реакции, в том числе – характерное замирание, необходимое для оценки степени риска. Об этом можно судить по изменению двигательной/исследовательской активности, оцениваемой по количеству пересеченных квадратов, начерченных на полу (горизонтальная активность). Также регистрируют стойки (вертикальная активность), которые следует рассматривать как показатель исследовательского поведения. Также показателем исследовательского поведения считается изучение «норок» в платформе установки «Открытое поле». Наконец, весьма ценную информацию может также принести регистрация других форм поведения – груминга (умывание), дефекации, урикации. По этим показателям оценивается степень эмоциональности и тревожности животных [4].

Цель работы: изучить влияние кофеина на уровень общей (неспецифической) моторной и исследовательской активности в тесте «Открытое поле».

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: лабиринт «открытое поле», спирт, вата, бумажные полотенца, секундомер, 2 шприца, раствор кофеина, физиологический раствор.

Ход работы:

Исследование состоит из 2 экспериментальных серий. Поскольку введение фармакологических препаратов связано с произведением болезненных процедур, являющихся для животных значительным стрессом, первая экспериментальная серия (для 1 группы животных) является контрольной. В лабиринте «открытое поле» исследуется уровень двигательной и исследовательской активности животных после инъекции физиологического раствора. Инъекция производится внутривентрально, в объеме 0,1 мл. Вторая экспериментальная серия (для 2 группы животных) является опытной. Животным внутривентрально вводят раствор кофеина в количестве 10 мг/кг веса, после чего так же исследуют двигательную активность. Инъекция делается за 10–15 минут до тестирования.

Животное помещают в центр арены. Длительность эксперимента: 10 минут. Проводят регистрацию следующих параметров (форм поведения): горизонтальную и вертикальную двигательную активность, груминг, обнюхивание отверстий, дефекацию (таблица). Кроме того, в тесте «Открытое поле» удобно наблюдать за отклонениями в моторной сфере, такими как шаткость походки, тремор и т.п.

- Замирание животного при посадке в центре поля свидетельствует об уровне тревожности и используется для оценки сте-

пени риска. Чем длительней время пребывания в центре ОП, тем ниже тревожность и выше степень риска животного.

- Горизонтальная двигательная активность (ГДА) животных в тесте «Открытое поле» включает побежки по разным траекториям, вплоть до кружения вокруг одного места. Основным критерием для идентификации данной формы поведения является участие в перемещении животного всех четырех лап. Пол арены расчерчен на три ряда секторов одинаковой площади, поэтому за единицу перемещения при визуальной регистрации поведения удобно принять один пересеченный сектор. Так как животное имеет длину, иногда даже равную длине основания сектора, то проблема регистрации перемещения решается следующим образом. Если животное находилось в пределах одного сектора (всеми четырьмя лапами), а затем перешло в смежный с ним (задние лапы пересекли разделяющую их линию), то считается, что пересечен один сектор. Регистрируют общую ГДА.

- Вертикальная двигательная активность (ВДА) животных в тесте «Открытое поле» представлена двумя видами стоек: задние лапы животного остаются на полу арены, а передние упираются в стенку поля или остаются на весу. Обсчет результатов в данном эксперименте стоит вести как по общей ВДА.

- Груминг животных в тесте «Открытое поле» можно разделить на две категории: короткий и длительный. Короткий груминг характеризуется 1–2 быстрыми круговыми движениями лап вокруг носа и небольшой области около него, а длительный – умыванием области глаз, заведением лап за уши и переходом на умывание всей головы, лап, боков, туловища, аногенитальной области, хвоста. Целесообразно раздельно обсчитывать число актов короткого и длительного груминга за тестовый период.

- Обследование отверстий (находящихся в полу арены) представляет собой засовывание головы внутрь отверстий «по глаза».

- Уровень дефекации считается индексом «эмоциональности» животного. Для определения уровня дефекации подсчитывают число актов дефекации.

- ! Арену протирают влажной губкой после тестирования каждого животного [3, 4]

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.

2. Полученные данные занесите в таблицу, а также вычислите среднее арифметическое значение и ошибку средней ($M \pm m$).

№ группы	Животные	Замирание в центре (время)	ГДА (кол. пересеченных секторов)	ВДА (количество стоек)	Обследование отверстий (количество)	Груминг (количество умываний)	Дефекация (количество актов)
До инъекций кофеина							
1	1						
	...						
$M \pm m$							
После инъекций кофеина							
2	1						
	...						
$M \pm m$							

3. На основе полученных результатов сделайте заключение об изменении двигательной активности.

Лабораторная работа 9.4. Исследование уровня тревожности у крыс в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт»

Одной из наиболее распространенных причин тревожности является новизна и неопределенность окружающей среды. Тест «крестообразный приподнятый лабиринт» основан на тех же природных стимулах, которые способны вызывать тревожность у людей. Предполагается, что в методике «крестообразный приподнятый лабиринт» удачно используется баланс 2 мотиваций естественного страха животных перед новизной пространства и его открытостью и стремлением исследовать это новое пространство.

Цель работы: определить уровень тревожности и временную динамику тревожности у экспериментальных животных. На основе полученных результатов проведите деление животных на 2 группы.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: крестообразный приподнятый лабиринт, спирт, вата, бумажные полотенца, секундомер.

Ход работы:

Перед началом тестирования лабиринт тщательно протирают спиртом и высушивают бумажным полотенцем. Крысу помещают в центр «лабиринта», располагая мордой в центр открытого рукава лабиринта, и запускают отсчет времени. Наблюдение за поведением животного длится в течение 5 мин.

В ходе эксперимента регистрируются следующие поведенческие показатели: исследовательская активность (число выходов в открытые рукава лабиринта, число вертикальных стоек); оценка риска (заглядывания вниз из открытых рукавов лабиринта, возврат в открытые рукава лабиринта, вытягивание на задних лапах без

опоры); показатели тревожности (число выходов в открытые рукава лабиринта, длительность пребывания в открытых рукавах лабиринта, соотношение времени пребывания в открытых и закрытых рукавах, число пересечений центральной платформы, уринация, дефекация, груминг); двигательная активность (общее количество выходов в рукава лабиринта). Под выходом в открытый рукав лабиринта подразумевается любое передвижение по рукаву лабиринта, если при этом морда и 2 передние лапы животного пересекали условную линию между центральной платформой и рукавом. Стойкой считается приподнимание животного на задних лапах над уровнем пола с опорой о стенку закрытого рукава лабиринта. Заглядывания вниз регистрируются, если наблюдается пересечение всей мордой животного или какой-либо ее частью горизонтальной границы между краем рукава и его условным продолжением [3].

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Определите и занесите полученные данные уровня тревожности, уровня риска, исследовательской и двигательной активности экспериментальных животных в таблицу:

№	Показатели тревожности					
	Число выходов в открытые рукава	Длительность пребывания в открытых рукавах	Соотношение времени пребывания в открытых и закрытых рукавах	Число пересеченных центров	Уринация / дефекация	Груминг
1						
2						

4. Занесите полученные данные других форм поведения в таблицу:

Показатели оценки риска			Показатели исследовательского поведения		Показатели двигательной активности
Возврат в открытые лабиринта	Заглядывание вниз открытых лабиринта	Вытягивание на задних лапах без опоры на передние	Число выходов в открытые лапка	Число вертикальных стоек	Общее количество выходов в лапка

5. На основе полученных результатов (уровня тревожности, склонности к риску, исследовательскому поведению и двигательной активности) проведите деление животных на 2–3 группы.

Лабораторная работа 9.5. Исследование уровня тревожности у животных в тесте «Темно-светлая камера»

Под тревожностью этологи понимают защитный ответ организма на потенциальное присутствие угрозы (в отличие от страха, вызванного реальным угрожающим стимулом). Нейрональные субстраты страха и тревожности во многом разные. Страх является адаптивной реакцией, в то время как повышенная тревожность дезадаптирует организм. Тревожность традиционно разделяют на

конститутивную, во многом генетически закрепленную, и ситуативную, спровоцированную условиями теста.

Тест «темно-светлая камера» применяется в настоящее время как основная модель оценки тревожного поведения грызунов. Камера состоит из темного и «безопасного» отсека и ярко освещенного открытого отсека, образующего, таким образом, зону «отвращения». Модель создает конфликтную ситуацию для мыши, которая склонна исследовать незнакомую область, однако, первоначально хочет избежать неизвестного (неофобия). Интервал времени, проведенного в темном отсеке, коррелирует с уровнем тревожности, тогда как число выходов и время обследования освещенного отсека – показатели склонности к риску и исследовательской активности. При низком уровне тревоги увеличивается число переходов между темным и светлым отсеками камеры.

Цель работы: сравнить тревожность у двух групп животных.

Объект исследования: лабораторная крыса.

Оборудование и материалы: прямоугольная камера с темным и светлым отсеками, спирт, вата, бумажные полотенца.

Ход работы:

Крыса помещается в темный отсек. В течение 5 мин регистрируются следующие параметры: латентное время выхода всеми лапами в светлый отсек; количество выходов из темной камеры (число переходов); общее время, проведенное животным в светлом и темном отсеках.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. Занесите полученные результаты тревожности в таблицу:

№ группы	Животные	Время в светлом отсеке, с	Время в темном отсеке, с	Количество переходов
1	1			
	2 и т.д.			
$M \pm m$				
2	1			
	2 и т.д.			
$M \pm m$				

3. Вычислите полученные данные в каждой группе животных необходимо просуммировать и вычислить среднее арифметическое значение и ошибку средней ($M \pm m$).

4. Сравните и сделайте вывод об уровне тревожности одной группы по отношению ко второй (определить более тревожную группу животных).

Лабораторная работа 9.6. Изучение поведения лабораторных крыс в стрессогенных условиях

Цель работы: исследовать поведение животных в стрессогенных условиях с использованием установки «Лабиринт Барнс».

Объект исследования: лабораторные крысы.

Оборудование и материалы: установка «Лабиринт Барнс», спирт, вата, бумажные полотенца, 3 группы крыс, секундомер, лампа накаливания 75 В.

Ход работы:

Лабиринт Барнс позволяет оценить обучение, рабочую и долговременную память и представляет собой круглую арену, диаметром 122 см. По периметру арены на одинаковом расстоянии расположено 18 отверстий, 17 из которых являются ложными и

только одно – истинное, т.е. самое глубокое и темное. В качестве раздражающего, стрессирующего фактора используют свет. Источник света (лампа накаливания 75 В) фиксируют над ареной на высоте 60 см. При первом предъявлении платформы животному демонстрируют туннель с коробкой. Насильно запихивать животное в туннель нельзя, т.к. это приводит в стресс его. Если животное оказывается в ней, действие раздражающего стимула прекращается. Животное остается в коробке 1–2 минуты. После предъявления платформу тщательно моют для удаления запахов. При тестировании животное помещают в центр платформы, регистрируют время, за которое крыса достигнет убежища, а также количество ошибок. Если животное не обнаруживает нужное отверстие за 3 минуты, экспериментатор перемещает его к нему на 1 минуту, после чего возвращает в клетку.

Рекомендации к оформлению работы:

1. Оформите протокол эксперимента.
2. В ходе работы зафиксируйте выбор животного убежище реальное или мнимое, а также латентное время реакции.
3. На основании полученных результатов сделайте выводы об уровне оборонительной мотивации.

Список использованной литературы

1. Ноздрачев, А. Д. Анатомия крысы: рук. для студентов вузов, обучающихся по биол. и мед. специальностям / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков. – Санкт-Петербург: Лань, 2001. – 463 с.
2. Большой практикум по физиологии учебное пособие для студентов медицинских вузов / А. Г. Камкин, И. С. Киселева, Г. С. Сухова [и др.]; под ред. А. Г. Камкина. – Москва: Академия, 2007. – 441 с.
3. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш; пер. с англ. – Москва: Высшая школа, 1991. – 399 с.
4. Ведясова, О. А. Физиология центральной нервной системы и высшей нервной деятельности [Электронный ресурс]: [учебное пособие] / О. А. Ведясова. – Самара: Издательство Самарского университета, 2017.
5. Лабораторные крысы: содержание, разведение и биоэтические аспекты использования в экспериментах по физиологии поведения: учебное пособие / В. И. Беляков, Е. М. Инюшкина, Д. С. Громова [и др.]. – Самара: Издательство Самарского университета, 2021. – 96 с.
6. Малый практикум по физиологии человека и животных: учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по направлению и специальности «Биология» / А. С. Батуев, И. П. Никитина, В. Л. Журавлев, Н. Н. Соколова; под ред. А. С. Батуева: Издательство Санкт-Петербургского государственного университета, 2001. – 345 с.
7. Романова, И. Д. Техника физиологического эксперимента / И. Д. Романова, Р. А. Зайнулин, Д. Н. Толкушкина. – 2008. – Ч. 1. – 40 с.
8. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition / G. Paxinos, C. Watson. – 6th ed. – New York: Elsevier/Academic Press, 2007.

Учебное издание

*Романова Ирина Дмитриевна,
Павленко Снежанна Ивановна,
Зайнулин Руслан Анасович,
Ведясова Ольга Александровна,
Глазкова Елена Николаевна*

СПЕЦПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ

Практикум

Редакционно-издательская обработка
издательства Самарского университета

Подписано в печать 21.05.2026. Формат 60х84 1/16.

Бумага офсетная. Печ. л. 9,0.

Тираж 27 экз. Заказ . Арт. –4(ПР)/2026.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.П. КОРОЛЕВА»
(САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)
443086, САМАРА, МОСКОВСКОЕ ШОССЕ, 34.

Издательство Самарского университета.
443086, Самара, Московское шоссе, 34.

