

РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ ПО НОРМАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ

Под редакцией С. М. БУДЫЛИНОЙ, В. М. СМИРНОВА

*Рекомендовано
Учебно-методическим объединением
по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России
в качестве учебного пособия для студентов,
обучающихся по медицинским специальностям*

4-е издание, исправленное



Москва
Издательский центр «Академия»
2011

УДК 612(075.8)
ББК 28.073я73
Р85

Рецензенты:

профессор кафедры физиологии Московской медицинской академии
им. И.М.Сеченова, д-р мед. наук *В. И. Бадиков*;
профессор кафедры нормальной физиологии Университета дружбы народов,
д-р мед. наук, профессор *С. А. Чеснокова*

Руководство к практическим занятиям по нормальной физиологии : учеб. пособие для студ. учреждений высш. проф. образования / [Н. Н. Алипов, Д. А. Ахтямова, В. Г. Афанасьев и др.] ; под. ред. С. М. Будылиной, В. М. Смирнова. — 4-е изд., испр. — М. : Издательский центр «Академия», 2011. — 336 с.

ISBN 978-5-7695-8029-1

В пособии приведены практические работы по физиологии возбудимых тканей, внутренних органов и систем организма, интегративной физиологии. Содержится значительное число работ, в которых исследование выполняется на человеке.

Учебное пособие создано в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом по направлению подготовки 060000 «Здравоохранение».

Для студентов учреждений высшего профессионального образования.

УДК 612(075.8)
ББК 28.073я73

*Оригинал-макет данного издания является собственностью
Издательского центра «Академия», и его воспроизведение любым способом
без согласия правообладателя запрещается*

© Коллектив авторов, 2005
© Коллектив авторов, 2011, с изменениями
© Образовательно-издательский центр «Академия», 2011
© Оформление. Издательский центр «Академия», 2011

ISBN 978-5-7695-8029-1

ПРЕДИСЛОВИЕ

Особенностью данного Руководства является то, что в нем содержится значительное число работ, в которых исследования выполняются на человеке. В этом случае сами студенты становятся и исследователями, и испытуемыми. Регистрация показателей, отражающих деятельность различных органов и систем организма, проводится в условиях покоя, эмоционального и физического напряжения.

Авторы считают (это нашло отражение в Руководстве), что классические эксперименты, с помощью которых были изучены различные стороны деятельности органов и систем организма, открыты механизмы регуляции их функций, возбуждения и торможения центральной нервной системы, изучены основы высшей нервной деятельности организма, должны выполняться на подопытных животных.

Авторы предполагают также и то, что значительная часть работы будет проводиться студентами на компьютере, а часть аудиторной работы составляет просмотр фильмов в учебных лабораториях.

В последнее время для выполнения практических работ по физиологии начинают широко использоваться специальные автоматизированные лаборатории на базе персонального компьютера: обучающие лабораторные системы *PowerLab* (фирма *ADInstruments*), *Physiological Research Systems* (компания *Grass Instrument Division of Astro-Med*), комплексная электрофизиологическая лаборатория *Conan-m* (МГУ) и др. Можно применять и самодельные системы, созданные на основе универсальных плат АЦП (плата *L-1230*) и др. В эти установки входят усилитель, специальные датчики, трансформирующие механические, химические, электрические изменения в живых организмах в электрические сигналы; аналого-цифровой преобразователь для поступления информации в ЭВМ, стимулятор, персональный компьютер, программы ввода и анализа информации. Они позволяют вывести изучаемые процессы на монитор и распечатать результаты обработки. На этих установках объектом исследования также может быть человек, что особенно важно.

Следует отметить, что все лабораторные работы описаны по единой схеме, что обеспечило их четкость и краткость. План работы включает следующие элементы:

- 1) название работы;
- 2) краткое теоретическое вступление;
- 3) перечень необходимого оборудования и принадлежностей с указанием объекта исследования;
- 4) ход работы (подготовка к эксперименту животного или человека для наблюдения, проведение исследования);
- 5) рекомендация по оформлению протокола работы.

В написании Руководства приняло участие большое число преподавателей медицинских вузов Российской Федерации и республики Беларусь, являющихся специалистами в соответствующих областях физиологии, поэтому оно отвечает всем современным требованиям.

Авторы надеются получить от читателей полезные критические замечания для улучшения качества учебного пособия в случае его переиздания.

*Заведующий кафедрой физиологии медицинского факультета
Казанского государственного университета, чл.-корр. РАМН,
профессор А. Л. Зефирова*

*Заведующий кафедрой физиологии Российского
медицинского университета (Москва),
профессор В. М. Смирнов*

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ НА ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЯХ СТУДЕНТОВ

Программа обучения студентов по курсу «Нормальная физиология» предусматривает выполнение ими практических работ и овладение определенными практическими навыками работы с колюще-режущими инструментами, электроприборами, компьютерной техникой, исследовательским оборудованием, лабораторной посудой, химическими реактивами, экспериментальными животными и биологическими жидкостями. Проведение практических работ безопасно, если соблюдаются следующие условия:

- выполняются правила техники безопасности;
- соблюдаются дисциплина, тишина, порядок и чистота на рабочих местах;
- все студенты имеют рабочую одежду (халаты и шапочки);
- каждая работа начинается с подробного уяснения методики ее выполнения и получения разрешения преподавателя;
- используются только исправные электрооборудование и приборы и соблюдаются правила их эксплуатации;
- имеется дежурный (из числа студентов группы), который следит за состоянием учебных лабораторий, при необходимости проветривает помещение, выключает воду и электричество.

Более подробную информацию по технике безопасности можно найти в соответствующих инструкциях.

При работе с кровью или другими биологическими жидкостями, а также при использовании для выполнения работ колюще-режущих инструментов всегда следует помнить об угрозе инфицирования ВИЧ, вирусным гепатитом, сифилисом и другими инфекциями, передающимися через кровь. Для профилактики инфицирования студент должен соблюдать следующие правила.

1. Использование защитных средств и методик, осторожное обращение с острыми колюще-режущими инструментами.

1.1. Необходима специальная медицинская одежда (халат и шапочка), которую при загрязнении кровью надо менять незамедлительно.

1.2. Острые инструменты (иглы, скальпели, ножницы и др.) рассматриваются как потенциально инфицированные. Ими надо пользоваться с особой осторожностью во избежание случайных ранений.

1.3. Студенты с травмами (ранами) на руках, экссудативным поражением кожи, мокнущими дерматитами отстраняются на время заболевания от контакта с кровью, а также с колюще-режущими инструментами.

1.4. При манипуляциях, предусматривающих контакт с кровью, тканями и биологическими жидкостями, обязательно использовать перчатки. После завершения работы руки следует вымыть. Не рекомендуется дважды использовать ту же пару перчаток, так как это может привести к их дефекту, что снижает их значение как эффективного барьера.

1.5. При возможном разбрызгивании крови или других биологических жидкостей следует использовать хирургические маски, очки или защитные экраны.

1.6. Весь медицинский инструментарий (а также посуда, белье, аппараты и др.), загрязненный кровью, биологическими жидкостями, а также соприкасавшийся со слизистыми оболочками, сразу после использования подлежит дезинфекции в соответствии с приказами Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации и другими нормативными документами. Применяемые для проведения работ материалы (вата, бинты) обеззараживают согласно этим же приказам с последующей утилизацией.

2. Мероприятия при ранениях, контактах с кровью и другими биологическими материалами.

Любое повреждение кожи, слизистых оболочек, загрязнение их биологическими материалами пациентов при оказании им медицинской помощи (остановка кровотечения) должно квалифицироваться как возможный контакт с материалом, содержащим ВИЧ или другой инфекционный агент.

2.1. Если контакт с кровью или другими жидкостями произошел с нарушением целостности кожных покровов (укол, порез), пострадавший должен сделать следующее:

- снять перчатки рабочей поверхностью внутрь;
- выдавить кровь из раны;
- обработать поврежденное место одним из дезинфектантов (70 % спирт, 5 % настойка йода);
- вымыть руки под проточной водой с мылом, а затем протереть 70 % спиртом;
- наложить на рану пластырь, надеть напальчник;
- при необходимости продолжить работу — надеть новые перчатки.

2.2. В случае загрязнения кожи кровью или другой биологической жидкостью без повреждения необходимо:

- обработать кожу одним из дезинфектантов (70 % спирт, 3 % раствор хлорамина);
- промыть место загрязнения проточной водой с мылом и повторно обработать 70 % спиртом.

2.3. При попадании биологического материала на слизистые оболочки:

- полости рта — прополоскать 70 % спиртом;
- полости носа — закапать 30 % раствор альбумида;
- глаза — промыть водой (чистыми руками), закапать 30 % раствор альбумида. Для обработки носа и глаз можно использовать 0,05 % раствор перманганата калия.

2.4. При попадании биоматериала на халат, одежду:

- продезинфицировать перчатки;
- одежду снять и замочить в дезинфицирующем растворе (кроме 6 % перекиси водорода, нейтрального гипохлорида кальция, которые разрушают ткани) или поместить в пакет для автоклавирования;
- кожу рук и других участков тела под загрязненной одеждой протереть 70 % спиртом, затем промыть водой с мылом и повторно протереть спиртом;
- загрязненную обувь двукратно протереть ветошью, смоченной в растворе одного из дезинфицирующих средств.

2.5. Аптечка для экстренной медицинской помощи:

напальчники (или перчатки) из расчета 1—2 на каждого сотрудника в смену;

- лейкопластырь — 1 катушка, ножницы — 1 шт.;
- перманганат калия в навесках по 0,05 г — 3 навески;
- емкость для разведения перманганата калия с маркировкой 1 л;
- спирт этиловый 70 % — 50 мл;
- тубик-капельница 30 % раствора альбумида — 1—2 шт.;
- 5 % настойка йода и 3 % раствор перекиси водорода;
- перчатки резиновые — 3 пары, очки — 3 шт., фартуки пластиковые — 2 шт., маски 4-слойные — 3 шт.;
- мешок пластиковый большой для сбора загрязненной одежды — 1 шт.;
- навески дезинфицирующих средств: хлорамин по 30 г; 3 навески (каждая хранится отдельно);
- емкость для разведения дезинфицирующих средств — 1 шт.

После ознакомления с правилами и получения инструктажа по технике безопасности распишитесь в тетради протоколов опытов, а также в «Журнале контрольных листов инструктажа студентов (учащихся) по технике безопасности».

ПРОТОКОЛ*

С ПРАВИЛАМИ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ОЗНАКОМЛЕН И ПРОИНСТРУКТИРОВАН

(Дата)

(Подпись)

(Ф. И. О. студента полностью и разборчиво)

* Не забудьте проверить наличие подписи студента в «Журнале контрольных листов инструктажа студентов (учащихся) по технике безопасности».

ЧАСТЬ I

ФИЗИОЛОГИЯ ВОЗБУДИМЫХ ТКАНЕЙ

РАЗДЕЛ 1

ОБЩАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ВОЗБУДИМЫХ ТКАНЕЙ. НЕРВ, СИНАПС, МЫШЦА

Работа 1.1. Приготовление нервно-мышечного препарата и препарата изолированной икроножной мышцы лягушки

Живые организмы находятся в условиях постоянно изменяющейся внешней и внутренней среды. Их нормальное существование возможно при условии приспособления к ее изменениям.

В процессе эволюции происходит дифференцировка тканей и развиваются такие их специфические свойства, как возбудимость, проводимость, сократимость.

Для работы необходимы: набор препаровальных инструментов и материалов, раствор Рингера. Исследование проводят на лягушке.

Ход работы. Обездвижьте лягушку. Существует несколько способов обездвиживания: наркотизация, с помощью газового наркоза, путем введения в подкожный лимфатический мешок миорелаксантов, путем разрушения центральной нервной системы (ЦНС; спинной и головной мозг). Разрушить ЦНС можно путем декапитации и введением препаровальной иглы в спинномозговой канал.

Приготовьте препараты (рис. 1.1). Ножницами перережьте позвоночник примерно посередине туловища (рис. 1.1, *а*) и отделите верхнюю половину тела. Удалите остатки внутренностей пинцетом и ножницами. Захватив одной рукой через салфетку оставшуюся часть позвоночника, а другой — край кожи со спины, снимите кожу с обеих лапок (рис. 1.1, *б*) и получите препарат двух задних лапок лягушки (рис. 1.1, *в*).

Приготовьте препарат одной лапки. Для этого, держа препарат так, чтобы лапки висели под прямым углом к позвоночнику, ножницами осторожно вырежьте копчиковую кость — уростиль, который при таком положении препарата выдается кверху (рис. 1.1, *г*). Затем, стараясь не задеть нервных стволиков крестцового сплетения, продольно разрежьте по средней линии позвоночник и все другие ткани, чтобы отделить лапки друг от друга.

Следующий этап — препарирование икроножной мышцы и седалищного нерва. Подведите под пяточное (ахиллово) сухожилие

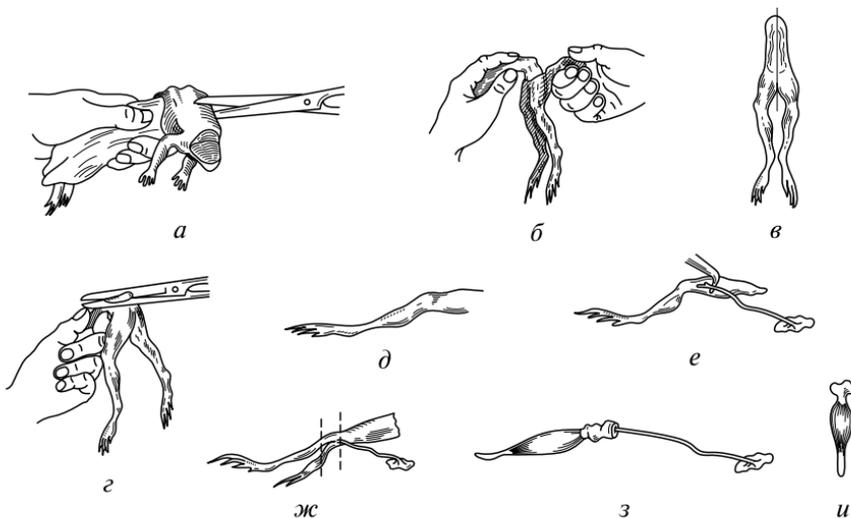


Рис. 1.1. Этапы приготовления нервно-мышечного препарата (икроножная мышца с седалищным нервом) и изолированной мышцы:

а — перерезка позвоночника; *б* — снятие кожи с лапок; *в* — препарат задних лапок; *г* — отрезание уростиля; *д* — расположение бедра; *е* — препарирование седалищного нерва; *ж* — места перерезания лапки (показано пунктиром); *з* — нервно-мышечный препарат икроножной мышцы; *и* — препарат изолированной мышцы

браншу ножниц, отделите сухожилие по всей длине и подрежьте ниже сесамовидной кости. Захватив сухожилие пинцетом, оттяните мышцу в сторону, разрывая фасции, связывающие ее с другими тканями. Для препарирования нерва бедро располагают задней поверхностью вверх. Мышцы разведите и двумя стеклянными крючками отпрепарируйте лежащий в глубине седалищный нерв по всей его длине (рис. 1.1, *д*, *е*). Приподняв нерв, подрежьте ножницами окружающие ткани. Перережьте лапку выше и ниже коленного сустава (рис. 1.1, *ж*, *з*) и получите нервно-мышечный препарат икроножной мышцы и седалищного нерва. До начала работы поместите его в чашку Петри, завернув в вату, смоченную раствором Рингера. На конце нерва рекомендуется сохранять небольшой участок позвоночника, поскольку за него удобно брать пинцетом, помещая нерв на электроды; кроме того, отсечение нерва от позвоночника наносит дополнительную травму животному. Для приготовления препарата изолированной мышцы нерв отрежьте ножницами полностью у самой мышцы (рис. 1.1, *и*).

Рекомендации по оформлению протокола работы. Зарисуйте нервно-мышечный препарат, обозначьте его части и укажите, для каких целей он используется.

Работа 1.2. Первый опыт Гальвани

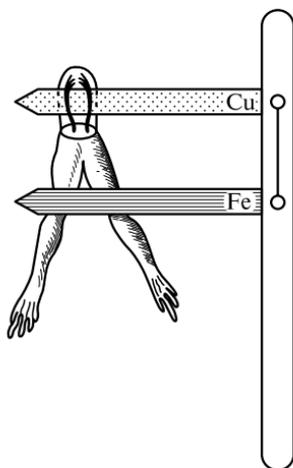


Рис. 1.2. Первый опыт Гальвани

Первый опыт Гальвани состоит в том, что при соприкосновении нервно-мышечного препарата с биметаллическим пинцетом наблюдается сокращение мышцы (рис. 1.2).

Для работы необходимы: биметаллический пинцет, состоящий из медной и железной branшей; препаровальный набор; пипетка; вата; раствор Рингера. Исследование проводят на лягушке.

Ход работы. Приготовьте нервно-мышечный препарат двух задних лапок лягушки, не отделяя их друг от друга. Подведите одну branшу биметаллического пинцета под корешки крестцового отдела спинного мозга, не касаясь препарата другой branшей. В случае соприкосновения

второй branши с мышцами бедра лягушки возникает сокращение мышц всего препарата, частота которого соответствует частоте соприкосновений. При подсыхании препарата сокращения мышцы могут исчезнуть, поэтому препарат необходимо обильно орошать раствором Рингера.

Рекомендации по оформлению протокола работы. Зарисуйте схему опыта. Сделайте вывод, доказал ли первый опыт Гальвани наличие «животного электричества»?

Работа 1.3. Второй опыт Гальвани

Этот опыт Гальвани состоит в том, что сокращение мышц лапки лягушки воспроизводится без раздражителя, путем набрасывания отпрепарированного седалищного нерва одновременно на поврежденный и неповрежденный участки мышцы. Поврежденный участок мышцы заряжен электроотрицательно, неповрежденный — электроположительно. При набрасывании нерва на два разноименно заряженных участка происходит замыкание цепи и мышца сокращается.

Для работы необходимы: препаровальный набор; стеклянный крючок; восковая дощечка; раствор Рингера. Исследование проводят на лягушке.

Ход работы. Часть мышцы нервно-мышечного препарата, прилегающую к коленному суставу, повредите (сделайте надрез ножницами). Затем нерв этого препарата с помощью стеклянного крючка набросьте на мышцу так, чтобы он касался одновременно поврежденного и неповрежденного участков мышцы (рис. 1.3, а). Дру-

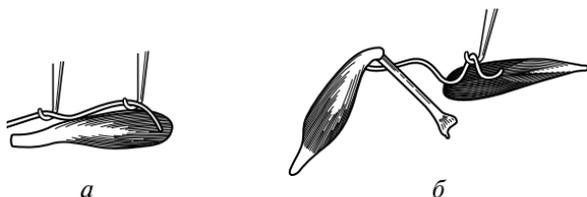


Рис. 1.3. Второй опыт Гальвани:

а — нерв касается поврежденного и неповрежденного участков мышцы; *б* — нерв одного препарата наброшен на разрез другой мышцы

гой способ заключается в том, что необходимо набросить нерв одного нервно-мышечного препарата на разрез другой икроножной мышцы (рис. 1.3, *б*).

Рекомендации по оформлению протокола работы. Зарисуйте схему выполненного опыта, объясните принципиальную разницу между первым и вторым опытами Гальвани.

Работа 1.4. Вторичный тетанус (опыт Маттеучи)

Опыт показывает, что можно вызвать сокращение мышцы нервно-мышечного препарата, прикладывая его нерв к сокращающейся мышце другого нервно-мышечного препарата.

Этот опыт свидетельствует о том, что в сокращающейся мышце возникают токи, причем настолько значительные, что их можно использовать в качестве раздражителя для нерва другого препарата. Эти токи называются токами действия.

Для работы необходимы: стимулятор; универсальный штатив со столиком Энгельманна; электроды; препаровальный набор; раствор Рингера. Исследование проводят на лягушке.

Ход работы. Приготовьте два нервно-мышечных препарата задних лапок лягушки. Мышцы бедра удалите, а обе лапки поместите на столик Энгельманна. Нерв одного препарата расположите на электродах, а нерв другого — вдоль икроножной мышцы первого. Затем ритмическими раздражениями нерва вызовите тетанические сокращения мышц первого препарата. Мышцы второго препарата тоже начинают сокращаться (рис. 1.4).

Рекомендации по оформлению протокола работы. Зарисуйте схему проведения опыта Маттеучи.

Сделайте вывод: наличие каких биоэлектрических потенциалов доказано в опыте?

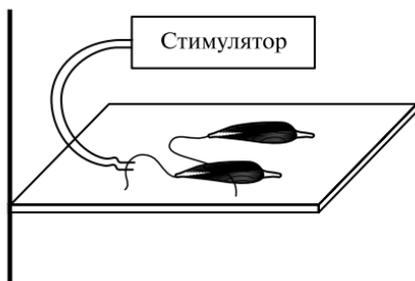


Рис. 1.4. Опыт Маттеучи

Работа 1.5. Иллюстрация роли ионов в формировании потенциала покоя

Потенциал покоя — это разность электрических потенциалов между внутренней и наружной средами клетки в состоянии ее покоя.

Непосредственной причиной формирования потенциала покоя является неодинаковая концентрация анионов и катионов внутри и вне клетки — следствие разной проницаемости клеточной мембраны для различных ионов и работы ионных насосов, главную роль среди которых играет Na^+/K^+ -насос, что осуществляется с непосредственной затратой энергии (АТФ). Одна молекула АТФ обеспечивает один цикл работы Na^+/K^+ -насоса, при этом переносится 3Na^+ из клетки и возвращается 2K^+ в клетку.

Если заблокировать выработку энергии, потенциал покоя клетки постепенно уменьшается, его величина приближается к уровню, наблюдаемому при установлении равновесия Доннана при наличии разной проницаемости мембраны, разделяющей растворы различной концентрации и содержащие разные по величине ионы.

Если бы проницаемость клеточной мембраны для всех ионов была одинаково высокой (все ионы могли бы проходить свободно через клеточную мембрану), то потенциал покоя значительно снизился бы и составлял только $5 \dots 10$ мВ за счет работы Na^+/K^+ -насоса (в норме величина потенциала покоя в нейронах и исчерченных миоцитах составляет $50 \dots 90$ мВ).

Для иллюстрации непосредственной причины существования потенциала покоя (разной концентрации анионов и катионов внутри и вне клетки) разработан модельный опыт с растворами CuSO_4 различной концентрации (В. М. Смирнов).

Для работы необходимы: милливольтметр; раствор CuSO_4 (1 % и 2 %); дистиллированная и водопроводная вода; устройство, обеспечивающее создание в его камерах растворов с разной концентрацией анионов и катионов.

Конструкция устройства весьма проста, его легко изготовить в условиях кафедры. Состоит устройство из корпуса в виде коробки

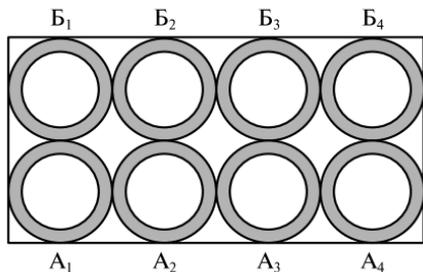


Рис. 1.5. Устройство для иллюстрации роли ионов в формировании потенциала покоя:

$A_1 - A_4$ — банки внутренней среды; $B_1 - B_4$ — банки внешней среды

(дерево, пластмасса) и укрепленных в ней четырех пар стеклянных банок (например, флаконы из-под пенициллина (рис. 1.5)). Каждая пара банок выполняет роль клетки с окружающей средой: банка А — внутренняя среда клетки, банка Б — внешняя среда клетки. Банки каждой пары соединены между собой серебряной (медной) проволокой в виде скрепки. Эти электроды должны быть в изоляторе (свободные только концы — срез) для исключения короткого замыкания клемм батарейки. Первую пару банок ($A_1—B_1$) заполняют дистиллированной водой, вторую ($A_2—B_2$) — водопроводной, третью ($A_3—B_3$) — 1 % раствором $CuSO_4$, четвертую ($A_4—B_4$) — 2 % раствором $CuSO_4$. Для забора противоположных по заряду ионов из растворов используют батарейку от карманного фонарика (в данном случае плоская, 4,5 В) и электроды в виде медных или серебряных пластин размером 1×3 см, к которым припаяны медные гибкие провода. К свободным концам проводов припаивают медную проволоку диаметром 1,0—1,5 мм и длиной 5—7 см, концы которой затачивают в виде иглы. Во время исследования концы вводят под пластины батарейки; этого достаточно для обеспечения хорошего контакта.

Ход работы. Первая серия исследования контрольная. Проверьте наличие или отсутствие разности электрических потенциалов в каждой паре банок (А—Б и А—А) с помощью милливольтметра до забора ионов из банок по двум схемам и полученные показатели запишите в тетрадь.

Схема 1. $A_1—B_1 = \dots$ мВ; $A_2—B_2 = \dots$ мВ; $A_3—B_3 = \dots$ мВ; $A_4—B_4 = \dots$ мВ, т.е. между банками с одинаковыми жидкостями (одинаковая концентрация ионов или их отсутствие — дистиллированная вода).

Схема 2. $A_1—A_2 = \dots$ мВ; $A_1—A_3 = \dots$ мВ; $A_1—A_4 = \dots$ мВ; $A_2—A_3 = \dots$ мВ; $A_2—A_4 = \dots$ мВ; $A_3—A_4 = \dots$ мВ (между банками с жидкостями с разной концентрацией ионов).

При измерении разности электрических потенциалов между парами банок с разными жидкостями (схема 2) используйте дополнительный электрод-скрепку и помещайте его по очереди между банками, в которых измеряете разность электрических потенциалов.

Вторую серию исследований проведите после забора катионов K^+ из банок А и анионов SO_4^{2-} из банок Б, для чего введите катод источника постоянного тока в банку A_1 (внутренняя среда клетки), а анод — в банку B_1 (внешняя среда клетки) первой пары банок на 3 мин. Помните, что растворы в банках должны быть соединены электродом-скрепкой. Через 3 мин выньте оба электрода, проверьте с помощью милливольтметра, имеется ли разность электрических потенциалов между банкой A_1 и банкой B_1 . Проведите подобные исследования и в остальных парах банок: $A_2—B_2$, $A_3—B_3$, $A_4—B_4$. После забора ионов из банок $A_3—B_3$ и $A_4—B_4$

тщательно протирайте электроды-пластины марлевым тампоном, смоченным дистиллированной водой. Для надежности можно их поместить в дистиллированную воду и поменять полюса электродов (как известно, одноименные заряды отталкиваются друг от друга).

Запишите полученные данные на 2—3 секундах, так как вначале разность потенциалов быстро убывает вследствие нейтрализации ионов электролитов разноименными ионами воздуха. Затем разность потенциалов по той же причине убывает, но уже медленно. Вылейте жидкость из всех банок, ополосните их сначала водопроводной водой, затем дистиллированной.

Рекомендации по оформлению протокола работы. Внесите в тетрадь протоколов опытов показатели разности электрических потенциалов между каждой парой банок А и Б после забора из них ионов по схеме 3.

Схема 3. $A_1 - B_1 = \text{мВ}$; $A_2 - B_2 = \text{мВ}$; $A_3 - B_3 = \text{мВ}$; $A_4 - B_4 = \text{мВ}$ (она повторяет схему 1, но после забора ионов из банок).

Сделайте выводы.

1. Обнаружили ли вы разность электрических потенциалов в контрольном исследовании? Почему?

2. Что является непосредственной причиной формирования потенциала покоя?

Работа 1.6. Сравнение возбудимости нерва и скелетной мышцы (прямое и непрямое раздражение мышцы)

В экспериментальных условиях сокращение мышцы может быть достигнуто как раздражением самой мышцы (прямое раздражение), так и раздражением двигательного нерва, иннервирующего данную мышцу (непрямое раздражение).

Известно, что пороговая сила раздражителя является мерой возбудимости тканей. Определив пороговые силы раздражителя при прямом и непрямом раздражении, можно сравнить возбудимость нервной и мышечной тканей.

Для работы необходимы: стимулятор; электроды; универсальный штатив со столиком Энгельманна; препаративный набор; раствор Рингера; лигатура. Исследование проводят на лягушках.

Ход работы. Проверьте исправность и готовность аппаратуры. Приготовьте нервно-мышечный препарат: седалищный нерв — икроножная мышца лягушки. На электроды поместите сначала нерв, предварительно взяв его на лигатуру, и найдите пороговую силу раздражителя (рис. 1.6, а). Затем на электроды поместите мышцу (рис. 1.6, б) и убедитесь, что полученная для непрямого раздражения пороговая сила недостаточна для сокращения мышцы. Увеличивайте силу раздражения до тех пор, пока мышца не ответит сокращением.

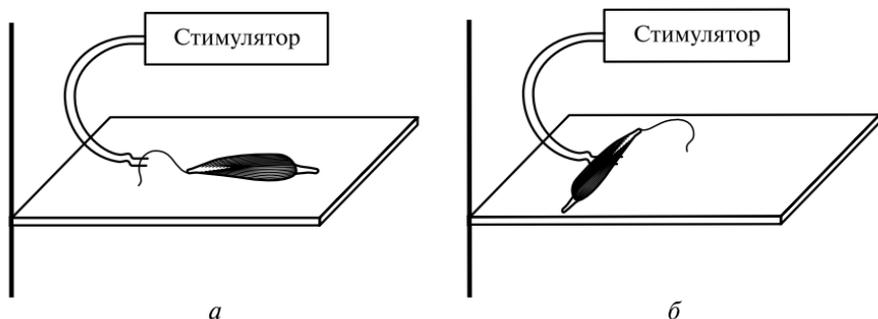


Рис. 1.6. Проведение эксперимента:

a — при непрямом раздражении мышцы; *б* — при прямом раздражении мышцы

Рекомендации по оформлению протокола работы. Запишите в таблицу найденные пороговые значения силы раздражения нерва и скелетной мышцы. На основании полученных значений пороговой силы раздражения сделайте вывод о возбудимости нервной и мышечной тканей и укажите, как величина порога силы характеризует возбудимость ткани.

Работа 1.7. Измерение длительности абсолютного и относительного рефрактерных периодов нерва во время возбуждения

Во время развития потенциала действия в нервных волокнах изменяется возбудимость.

В состоянии *абсолютного рефрактерного периода* их возбудимость оказывается равной нулю, при этом они перестают реагировать на сверхпороговое раздражение.

Причина абсолютной рефрактерности в восходящую фазу потенциала действия заключается в том, что при деполяризации потенциалзависимые Na^+ -каналы мембраны открываются вследствие деполяризации, следовательно, дополнительный сверхпороговый раздражитель усилить трансмембранный ток Na^+ внутрь не может вследствие инактивации Na^+ -каналов. Во время нисходящей фазы потенциала действия происходит усиленный ток K^+ наружу.

В конце фазы реполяризации потенциала действия возбудимость нервных волокон восстанавливается, но она еще снижена. Это *относительный рефрактерный период*. Снижение возбудимости в этот период объясняется сохраняющейся повышенной проницаемостью мембраны для K^+ и тем, что часть Na^+ -каналов все еще оказывается в инактивированном состоянии, а также следовой гиперполяризацией клеточной мембраны.

Совокупную динамику возбудимости нервных волокон при возбуждении можно оценить в опыте, используя в качестве показателя монофазные суммарные потенциалы действия целого нерва.

Для работы необходимы: двухлучевой осциллограф; усилитель биопотенциалов; влажная камера для нерва с двумя отводящими, заземляющим и двумя раздражающими электродами; стимулятор, генерирующий парные импульсы электрического тока; препаративный набор инструментов; раствор Рингера для холоднокровных животных. Исследование проводят на седалищном нерве лягушки.

Ход работы. Приготовьте препарат изолированного седалищного нерва лягушки. Поместите его во влажную камеру на раздражающие, заземляющий и отводящие электроды. Закройте влажную камеру крышкой. Для получения монофазного суммарного потенциала действия повредите нерв под крайним отводящим электродом. Отводящие электроды соедините с усилителем биопотенциалов, раздражающие — со стимулятором. Регистрацию процессов проводите на экране осциллографа. На первый канал выведите суммарный потенциал действия, на второй — отметку времени.

Подберите максимальную силу раздражения для первого (кондиционирующего) и второго (тестирующего) стимулов, вызывающую максимальные суммарные потенциалы действия исследуемого нерва (рис. 1.7).

Установите длительность раздражающих импульсов 0,2 мс, интервал между кондиционирующим и тестирующим импульсами — 1,5–2 мс.

В этом случае тестирующий импульс будет действовать на нерв во время генерации суммарного потенциала действия. Новый суммарный потенциал действия возникать не будет, поскольку нерв находится в состоянии абсолютной рефрактерности.

Определите продолжительность абсолютного рефрактерного периода, увеличивая интервал между кондиционирующим и тестирующим стимулами (рис. 1.7, *a*) до появления ответа минимальной амплитуды на тестирующий стимул.

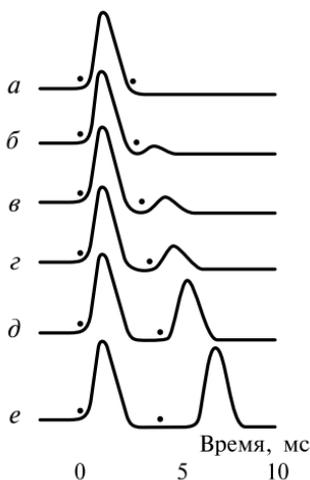


Рис. 1.7. Восстановление амплитуды суммарного потенциала действия нерва при постепенном увеличении интервала между кондиционирующим и тестирующим стимулами (моменты нанесения стимулов отмечены точками):

a — интервал между стимулами 2,5 мс; *b* — 2,8 мс; *в* — 3,0 мс; *г* — 3,3 мс; *д* — 3,8 мс; *e* — 5,2 мс