

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ



Министерство образования Российской Федерации
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова
Кафедра физиологии человека и животных

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Методические указания
для выполнения лабораторных работ*

Ярославль 2002

ББК Е991.11я73
М96

Составитель: д-р биол. наук, профессор И.Ю. Мышкин

Электрофизиологические методы исследования: Метод. указания для выполнения лабораторных работ / Сост. И.Ю. Мышкин; Яросл. гос. ун-т. Ярославль, 2002. 40 с.

Данные методические указания представляют собой переработанное и дополненное методическое руководство по физиологии человека и животных “Физиологические методы исследования. Часть 1. Электрофизиология”, опубликованное в 1988 году. Методические указания представляют собой руководство по проведению экспериментальных исследований для студентов факультета биологии, выполняющих большой практикум по физиологическим методам исследования. В данной части методических указаний представлены работы по электрофизиологическим методам исследования.

Предназначается для студентов биологических факультетов университетов и медицинских вузов, специализирующихся в области физиологии человека и животных.

Ил. 4. Табл. 2.

Рецензент: кафедра физиологии человека и животных Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова.

© Ярославский государственный
университет, 2002
© И.Ю. Мышкин, 2002

Раздел 1. Аппаратура для усиления, наблюдения и регистрации биоэлектрических сигналов

Лабораторная работа № 1. Изучение принципов работы электронного осциллографа

Для работы необходимо: осциллограф С1-81, источник сигналов различной формы (функциональный генератор или генератор частот типа ГЗ - 33).

Теоретические и методические предпосылки

Электронные осциллографы применяют для наблюдения регистрации периодических и однократных процессов. При обычном применении осциллограф позволяет “видеть” напряжение в виде функции времени. Основной элемент электронного осциллографа - электронно-лучевая трубка, которая состоит из системы электродов и люминисцирующего экрана. На сфокусированный электронный луч воздействуют системы пластин вертикального (Y) и горизонтального (X) отклонения. На пластины “Y” подается исследуемый сигнал, который отклоняет электронный луч в вертикальной плоскости. При этом может наблюдаться только амплитуда исследуемого сигнала. Для того чтобы развернуть этот процесс во времени, на горизонтально отклоняющиеся пластины подают импульс пилообразного напряжения. Линейно нарастающая часть импульса обеспечивает перемещение луча в горизонтальном направлении, а практически мгновенный спад этого напряжения возвращает луч в исходное положение. Согласование во времени исследуемого сигнала и временной развертки - процесс синхронизации. Синхронизация будет достигнута, если частота развертки равна или в целое число раз меньше частоты исследуемого сигнала. При этом на экране получается неподвижное изображение n периодов исследуемого сигнала. Ввиду низкой чувствительности электронно-лучевых трубок, для увеличения сигнала, подводимого к пластинам, в схему осциллографа вводят усилители.

Подготовка прибора к работе

Внимание! В приборе имеются опасные для жизни высоковольтные источники напряжения. В связи с этим при эксплуатации и настройке запрещается работа прибора без заземления корпуса.

1. Расположение органов управления и регулировки осциллографа показано в таблице 1.

2. Тумблером “сеть” включить осциллограф. Дать осциллографу прогреться 5 минут.

3. Ручками “ЯРКОСТЬ”, “ФОКУС”, “АСТИГМАТИЗМ” добиться четкого изображения световых лучей на экране.

4. Источник синхронизации выбирается исходя из конкретных условий при помощи переключателя “Выбор синхронизации”: (Внеш.; Внутр.) или от сети (Автом).

5. Переключатель вида и пределов калибрующего напряжения поставить в положение “ВЫКЛ”.

Таблица 1

Органы управления и регулировки осциллографа С1-81

<i>Обозначения на передней панели</i>	<i>Органы управления и регулировки</i>
ОРГАНЫ УПРАВЛЕНИЯ ЛУЧОМ	
*	Выключатель “сеть”, совмещенный с ручкой регулировки яркости
$\leftrightarrow$	Перемещение луча по горизонтали
$\uparrow\downarrow$	Перемещение луча по вертикали
$\circ \diamond$	Регулировка астигматизма и фокуса
УСИЛИТЕЛЬ Y	
Чувствительность V/CM	Большая ручка - уст. чувствительности Малая ручка - плавная регулир. и калибр.
Вход $\approx \cong$	Закрытый или открытый вход осциллографа
РАЗВЕРТКА	
Развертка время ($\mu\text{s}/\text{ms}$) / см	Большая ручка - ступенчатая установка Малая ручка - плавная регулир. и калибр.
Кнопка П x1; x0,2	Множитель длительности развертки
СИНХРОНИЗАЦИЯ	
Внеш. I	Внеш. Синхронизация - Вход I
Внеш. II	Внеш. Синхронизация - Вход II
Ждуш.	Ждущий режим развертки
Автом.	Автоколебательный режим развертки
Уровень	Устан. уровня сигнала синхронизации
Стабильность	Регулировка уровня синхронизации сигнала

Ход работы

Установка состоит из генератора частот ГЗ-33, это источник электрических синусоидальных сигналов или функционального генератора, который является источником электрических сигналов синусоидальной, прямоугольной и треугольной формы и осциллографа.

1. Выход генератора подключить к входу осциллографа. Обратить внимание на полярность: штекер “ЗЕМЛЯ” соединить с клеммой корпуса прибора.

2. Установить переключатели ГЗ-33 в следующее положение (слева направо): “Шкала прибора” - х 1; Внутренняя нагрузка” - ВКЛ.; “Частота” - 40 Гц; “Рег. выхода” - в среднем положении; “Пределы шкал, т.е. ослабление” - 600 (в окошке 100 мV, 300 мV, 1 V, 0 dB); “Множитель частот” - х 10; “Расстройка” - 0.

3. Тумблером “Вкл.” включить генератор. После прогрева прибора в течение 5 минут стрелочный прибор покажет напряжение сигнала на выходе прибора; при заданном положении органов регулировки вся шкала стрелочного индикатора соответствует амплитуде сигнала в 3 вольта.

3а. При наличии функционального генератора установить переключатель режимов в положение “~”, амплитуду сигнала 1 – 2 вольта.

4. На осциллографе ручками “Подстройка синхронизации” произвести синхронизацию сигналов, т.е. добиться неподвижной “картинки” на экране прибора.

Задание 1. Измерение амплитуды источника сигнала методом сравнения с калибрующим напряжением.

Следует учитывать, что наибольшая точность измерения амплитуды достигается при размерах изображения на экране от 2 до 5 см. Ручками входного делителя осциллографа необходимо подобрать требуемый размер сигнала и более точно измерить его амплитуду измерительной сеткой экрана в сантиметрах. Затем на тот же вход осциллографа с помощью переключателя “Калибр” подать калибрующее напряжение в виде прямоугольных импульсов величиной в 1 вольт.

Исходя из размеров калибровочного сигнала на экране, рассчитать амплитуду исследуемого сигнала.

Например: величина изображения калибрующего напряжения равна 4 см; величина изображения сигнала, подаваемого на вход осциллографа, равна 2 см. В этом случае амплитуда сигнала, подаваемого на вход осциллографа, будет равна 0,5 вольта.

Задание 2. Измерение временных интервалов и частоты сигнала.

Точность измерения временных интервалов больше при увеличении длины измеряемого интервала на экране, поэтому длительность развертки подбирают таким образом, чтобы наблюдатель видел 1-2 периода исследуемого сигнала (период - расстояние между одноименными точками изображения).

1. Установить амплитуду исследуемого сигнала с помощью регулятора амплитуды осциллографа на экране в пределах 4 – 5 см.

2. Неподвижное изображение синусоидального сигнала установить ручками управления осциллографа “стабильность и уровень синхронизации” в центр экрана.

3. Определить длительность периода сигнала и рассчитать его частоту.

Например: изображение периода сигнала имеет горизонтальный размер 6,3 см. Переключатель развертки стоит в положении - 0,2 мС/см.

Длительность периода (Т) равна: $6,3 \text{ см} \times 0,2 \text{ мС/см} = 1,26 \text{ мС}$, или 0,00126 сек.

Следует помнить, что частота – величина, обратная периоду, т.е. f (частота в Гц.) = $1/T$ сек., следовательно, частота равна 793,6 Гц.

4. При наличии функционального генератора подать на вход осциллографа сигнал прямоугольной формы и измерить частоту, длительность и амплитуду прямоугольного импульса.

5. Подать на вход осциллографа сигнал треугольной формы и измерить его частоту, длительность, амплитуду.

6. Зарисовать с экрана осциллографа изображения сигналов, указать на рисунке их период, частоту, длительность, амплитуду. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 2. Изучение принципа работы электростимулятора

Для работы необходимо: осциллограф С1-81, электростимулятор ЭС-50-1, соединительные провода.

Теоретические и методические предпосылки

Электростимуляторы предназначены для проведения исследований при стимуляции биологических объектов электрическим током. Такие приборы являются генераторами прямоугольных импульсов с отдельным регулированием частоты, длительности и амплитуды сигнала.

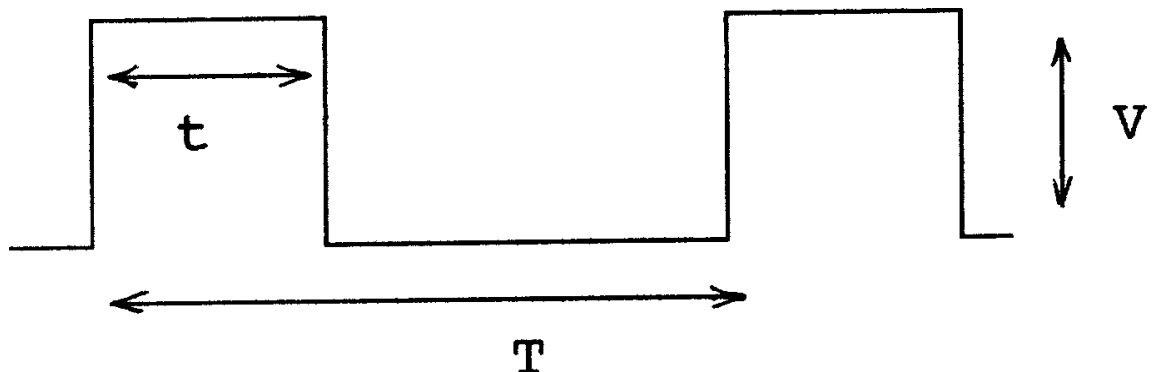


Рис. 1. Схема выходных импульсов электростимулятора

Величина V называется амплитудой импульса или силой раздражения;

T - период следования импульсов, т.е. интервал повторения импульсов;

t - длительность импульса, а если импульсы подаются периодически, говорят о частоте повторения импульсов в секунду $f = 1/T$, называемой также частотой раздражения.

Кроме периодического режима в стимуляторах предусмотрен ждущий режим, т.е. режим запуска прибора внешним сигналом и разовый запуск. Предусмотрена также регулируемая временная задержка выходных импульсов запуска.

Часто стимулятор используют вместе с осциллографом, так что реакция ткани на раздражение выявляется в виде отклонения луча осциллографа по вертикали. В этом случае стимулятор обычно генерирует импульс синхронизации, который запускает временную развертку осциллографа, а затем, после задержки, с выходных клемм стимулятора поступает раздражающий импульс. Таким образом на экране осциллографа можно определить момент раздражения и момент реакции. Особое внимание при работе со стимулятором нужно обратить на соблюдение определенных условий при установке частоты (периода следования) импульсов, длительности импульсов и времени задержки. Необходимо соблюдать условие, при котором:

$$T > \text{тимп.} + \Delta t,$$

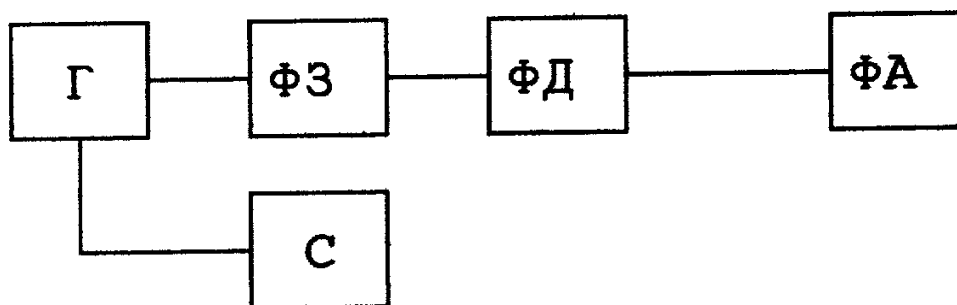
где T - период следования импульсов;

тимп. - длительность импульса;

Δt - длительность задержки.

В некоторых экспериментах, где стимулятор используют вместе с высокочувствительным усилителем, очень важно, чтобы выходное напряжение было приложено между раздражающими электродами, но не воз-

никало разности потенциалов между электродами и землей. У стимулятора с питанием от сети одна выходная клемма заземлена, поэтому требуется развязывающая приставка между выходом и электродами. Принцип действия электростимулятора поясняет следующая схема:



Генератор импульсов (Г) вырабатывает короткие импульсы прямоугольной формы заданной частоты. Эти импульсы поступают на специальные электронные устройства, которые формируют основные параметры: время запаздывания (ФЗ), длительность импульса (ФД), амплитуда выходного импульса (ФА). Работа формирователя определяется положением соответствующих ручек управления на передней панели прибора.

Синхронизатор (С) обеспечивает три режима работы прибора:

- автоматический запуск. В этом случае прибор выдает непрерывную серию импульсов;

- ручной запуск от кнопки. Прибор выдает импульсы при нажатии кнопки на приборе или при нажатии выносной кнопки;

- запуск внешним сигналом (СИНХР.). В этом случае формирование выходных импульсов раздражения происходит при подаче на вход прибора внешнего сигнала амплитудой 2,5 – 5 V.

В двух последних режимах работы возможно установление точного количества импульсов в пачке выдаваемых прибором сигналов. Нужное количество импульсов в пачке (от 1 до 99) устанавливается переключением счетчика, остальные параметры - ручками "длительность", "амплитуда" и др.

Электростимулятор ЭС-50-1 помимо основных функций - выдачи импульсов с заданными параметрами - осуществляет и ряд дополнительных:

- 1) формирует синхроимпульсы для запуска развертки осциллографа или для других целей (все гнезда синхроимпульсов обозначены значком " $\angle$ ");

- основной синхроимпульс (период),

- совпадающий по времени с фронтом импульса (запаздывание),
- совпадающий по времени с фронтом первого импульса в пачке (фронт - 1),
- совпадающий по времени со срезом импульса стимула (длительность),
- совпадающий по времени со срезом последнего импульса в пачке (срез N);

2) позволяет автоматически изменить (смодулировать) частоту импульсов при подаче внешнего модулирующего сигнала (от 0 до 5 В.) на вход "МОДУЛЯЦИЯ";

3) позволяет проводить алгебраическое суммирование амплитуды импульса, формируемого прибором с амплитудой внешнего сигнала, подаваемого на вход "СУММ";

4) электростимулятор обеспечивает визуальную индикацию наличия импульсов на выходе прибора. Максимальное отклонение стрелки наблюдается при длительности стимула 0,5 сек., периоде 1 сек., амплитуде 5 В.

Подготовка приборов к работе

Установка состоит из осциллографа С1-81 и стимулятора ЭС-50-1.

1. Проверить заземление приборов.
2. Включить вилки сетевых шнуров в розетки питания.

Ход работы

Задание 1. Исследование работы стимулятора в периодическом режиме.

1. Установить следующие параметры выходного импульса стимулятора:

Длительность – 10 мсек. Задержка – 1 мсек.

Амплитуда – 1 вольт.

Режим работы – периодический.

2. Установить положение входных делителей на осциллографе - 1:10.

3. Подключить выход стимулятора ко входу "УП" осциллографа. Убедиться, что на экране осциллографа четко просматриваются сигналы от стимулятора.

4. Изменяя частоту следования импульсов на стимуляторе в пределах от 20 до 200 Гц (необходимо пересчитать единицы измерения частоты в значения длительности периода $f = 1/T$) получить на экране осциллографа изображение процесса для указанных частот.

Задание 2. Проверка режимов работы стимулятора.

Работа с разовым запуском:

- 1) соединить выход стимулятора с входом “УП” усилителя осциллографа С1-81. Второй вход усилителя присоединить к гнезду "Синхронизация";
- 2) выбрать нужный режим работы стимулятора, удобный для работы на экране осциллографа;
- 3) переключатель режима установить в положение "РУЧН.";
- 4) присоединить кабель с выносной кнопкой к гнезду на передней панели прибора;
- 5) нажать и отпустить кнопку. На экране при этом должен быть виден стимулирующий импульс и соответствующий ему синхроимпульс;
- 6) установить на счетчике импульсов необходимое количество импульсов в серии (например, 5). Нажать и отпустить кнопку. На экране при этом должна быть видна пачка из 5 импульсов. Определить длительность импульса, длительность периода, частоту по осциллографу;
- 7) зарисовать блок-схемы работы стимулятора с осциллографом в различных режимах.

Лабораторная работа № 3. Изучение принципа работы усилителя биоэлектрических сигналов

Для работы необходимо: осциллограф С1-81, функциональный генератор или генератор ГЗ-33, усилитель биопотенциалов УБП2-03, соединительные провода.

В связи с разнообразием форм изучаемой биоэлектрической активности в задачах практикума применяют различные по своим параметрам электронные усилители. Рассмотрим некоторые характеристики, знание которых поможет в процессе выполнения физиологического эксперимента правильно выбрать, исходя из характера изучаемой активности, нужные параметры усилителя.

Теоретические и методические предпосылки

Один из важных признаков, по которым классифицируют усилители, - диапазон частот синусоидальных напряжений, в пределах которого усилитель **не** вносит искажения. Частотный спектр изучаемых сигналов определяет необходимый рабочий диапазон частот (полосу пропускания) усилительного устройства.

Частотной характеристикой усилителя является зависимость его коэффициента усиления (K) от частоты (f) (рис. 1). Полоса пропускания ограничивается нижней и верхней граничной частотой (f_n и f_v).

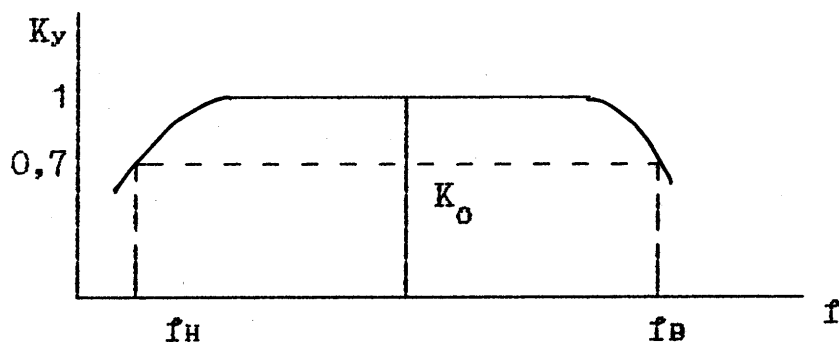


Рис. 1. Частотная характеристика усилителя

Чтобы усилить без искажений любой импульс биоэлектрической активности, нужно, чтобы усилитель был способен усилить все компоненты спектра синусоидальных частот, необходимые для правильного воспроизведения этого сигнала. Обычно полосу частот выбирают таким образом, чтобы в точках граничных частот коэффициент усиления составлял 70% от максимального значения ($0,7 K$).

Амплитудной характеристикой усилителя называется зависимость напряжения выходного сигнала от напряжения на входе $U_{\text{вых}} = f(U_{\text{вх}})$. На рис. 2 идеальная характеристика представлена пунктирной линией, а реальная характеристика - сплошной линией. Нелинейность коэффициента усиления обусловлена наличием в схеме нелинейных элементов.

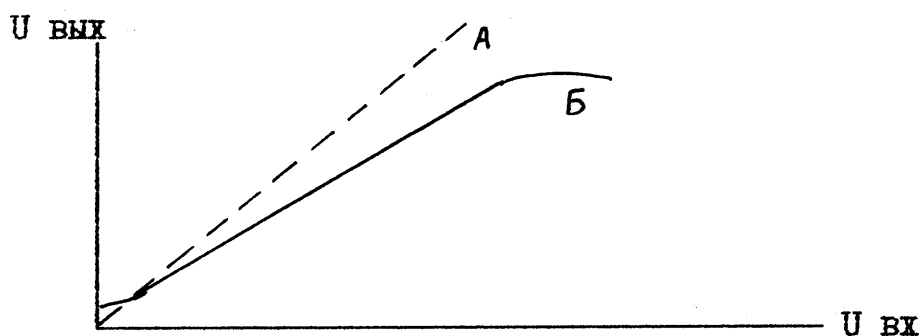


Рис. 2. Идеальная (А) и реальная (Б)
амплитудные характеристики усилителя

Одним из важнейших показателей, характеризующих работу усилителя, является входное и выходное сопротивление. Точность измерения э.д.с. источника сигнала будет тем больше, чем больше отношение входного сопротивления усилителя к внутреннему сопротивлению источника

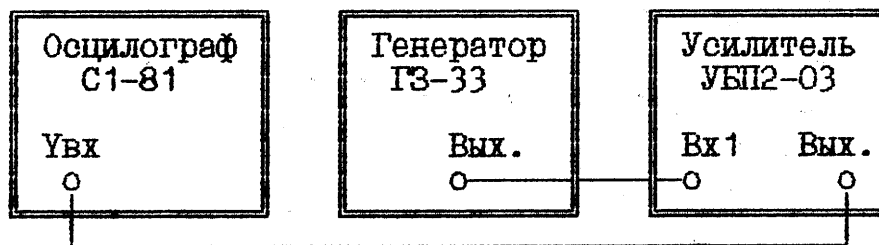
э.д.с. $(R_{\text{внеш.}}) R_{\text{вх.}} / R_{\text{внеш.}}$. Поэтому в усилителях напряжения, в частности в усилителях биопотенциалов, всегда $R_{\text{вх.}} \gg R_{\text{внеш.}}$.

Ход работы

Работа выполняется на приборе УБП2-03, который представляет собой усилитель биопотенциалов для макроэлектронных отведений. Прибор предусматривает два режима работы: усиление по переменному току (Вход I) и усиление по постоянному току (Вход II).

Задание 1. Проверка работы прибора в режиме усиления переменного тока.

1. Собрать установку по приведенной схеме:



(на усилителе клеммы “осциллограф” расположены на задней панели прибора).

2. Проверить заземление приборов.
3. ПЕРЕКЛЮЧИТЬ РУКОЯТКУ “Род работы” на УБП в положение “КАЛИБРОВКА”(!!!).
4. Выключатели сети поставить в положение “сеть”.
5. Дать приборам прогреться в течение 10 минут.

Внимание!!! Все действия, связанные с подключением источников сигнала, включением и выключением усилителя, во избежание повреждения усилителя производить только в положении “КАЛИБРОВКА”.

Расчет коэффициента усиления.

1. Установить на генераторе ГЗ-33 следующие параметры сигнала:
 - уровень сигнала 80 мВ,
 - частота 400 Гц.

Для установки амплитуды сигнала генератора использовать калибратор напряжения осциллографа.

2. Ручку “Усиление грубо” на УБП поставить в положение 1, ручку “Усиление плавно” - в крайнее левое положение.

3. Ручки “Постоянная времени” и “Полоса сверху” установить в положения “0.1 сек” и “40 кГц” соответственно.

4. Подать на “ВХОД 1” усилителя сигнал с генератора амплитудой 80 мВ и частотой 400 Гц и переключить рукоятку “Род работы” на УБП в положение “Работа”.

5. Убедиться, что на экране наблюдается выходной сигнал с УБП (калибрующие импульсы строго прямоугольной формы).

6. Определить коэффициент усиления для различных положений ручки “Усиление грубо” (с 1 по 6). Положение ручки плавной регулировки усиления *не изменять!*

Амплитуду выходного (по отношению к УБП) сигнала определять, используя калибратор осциллографа.

7. Рассчитать коэффициент усиления по формуле:

$$K(\text{усил.}) = U_{\text{вых.}} / U_{\text{вх.}}$$

Построить график зависимости коэффициента усиления (K) от положения переключателя шкалы “УСИЛЕНИЕ”.

Задание 2. Исследование частотной характеристика усилителя.

1. Снять частотную характеристику усилителя $K = v(f)$ при входном сигнале: $U_{\text{вх}} = 80$ мВ, полоса “сверху” $f_{\text{в}} = 2000$ Гц, “постоянная времени” - 0,3 сек. (ручка “УСИЛЕНИЕ” в положении 4 или 5). Полоса исследуемых частот в пределах от 20 до 5000 Гц.

2. Измерения проводить на следующих диапазонах частот: 20, 100, 500, 1 000, 2 000, 3 000, 4 000, 5 000 Гц. Построить график зависимости коэффициента усиления от частоты $K(\text{усил.}) = U_{\text{вых.}} / U_{\text{вх}}(F)$.

Задание 3. Проверка работы прибора в режиме усиления постоянного тока.

1. Установить переключатель “Род работы” в положение “КАЛИБРОВКА”!

2. Заменить источник сигнала, переключив входные кабели усилителя и осциллографа с ГЗ-33 на выход электростимулятора ЭС-50.

3. Установить переключатель “Постоянная времени” в положение “∞”, что соответствует усилению по постоянному току.

4. Переключатель “Полоса сверху” установить в положение 2 кГц.

5. Ручку грубой регулировки усиления поставить в положение 2.

6. Установить на ЭС-50-1 следующие параметры сигнала:

- длительность периода - 100 мсек,
- длительность импульса - 100 мсек,
- задержка – 1 мксек,
- амплитуда 100мВ.

Проверить выполнение условия $T > t_i + t_z$.

7. Используя калибратор осциллографа, определить амплитуду входного сигнала со стимулятора.

8. Подать на “ВХОД II” усилителя сигнал с выхода электростимулятора, установив переключатель “Род работы” в положение “Работа”.

9. Снять амплитудную характеристику усилителя, удваивая значение входного (по отношению к УБП) сигнала, но *не превышая предела 2 вольт*.

$U_{\text{вых}} = f(U_{\text{вх}})$, где $U_{\text{вх}}$ - величина напряжения входного сигнала со стимулятора, $U_{\text{вых}}$ - величина напряжения на выходе усилителя (считать по осциллографу) (см. раб. № 1).

10. Построить график зависимости $U_{\text{вых}}$ от $U_{\text{вх}}$. Оформить протокол.

Раздел 2. Электрофизиология периферической нервной системы

Лабораторная работа № 4. Регистрация потенциала действия нерва

Для работы необходимо: осциллограф СИ-81, усилитель УБП2-3, стимулятор ЭС-50-1 или ЭСЛ-2, соединительные провода, препаровальный набор, раствор Рингера, влажная камера, изолирующая приставка или трансформатор.

В работе используют седалищный нерв крупной лягушки, выделенный от позвоночника до коленного сустава. Оставляют небольшой кусок позвоночника. На нерв около сустава накладывают лигатуру. За лигатуру и часть позвоночника нерв поднимают и помещают во влажную камеру на расположенные там электроды. Для регистрации ПД необходимы усилитель биопотенциалов УБП и осциллограф, на котором регистрируют ПД. Используют ждущий режим работы осциллографа, запуская развертку осциллографа импульсам синхронизации со стимулятора.

Ход работы

Приготовление препарата седалищного нерва (см. рис. 1).

Обездвиживают лягушку. Ножницами перерезают позвоночник примерно посередине туловища и отделяют верхнюю половину тела. Удаляют остатки внутренностей пинцетом и ножницами. Захватив одной рукой через салфетку остаток позвоночника, а другой - край кожи со спины, быстрым движением снимают кожу с обеих лапок - получают препарат задних лапок лягушки.

Далее готовят препарат одной лапки. Для этого, держа препарат так, чтобы лапки висели под прямым углом к позвоночнику, ножницами осторожно вырезают копчиковую кость - уrostиль, который при таком положении препарата выдается кверху. Затем, стараясь не задеть нервных стволиков крестцового сплетения, продольно разрезают по средней линии позвоночник и все другие ткани с тем, чтобы отделить лапки друг от друга.

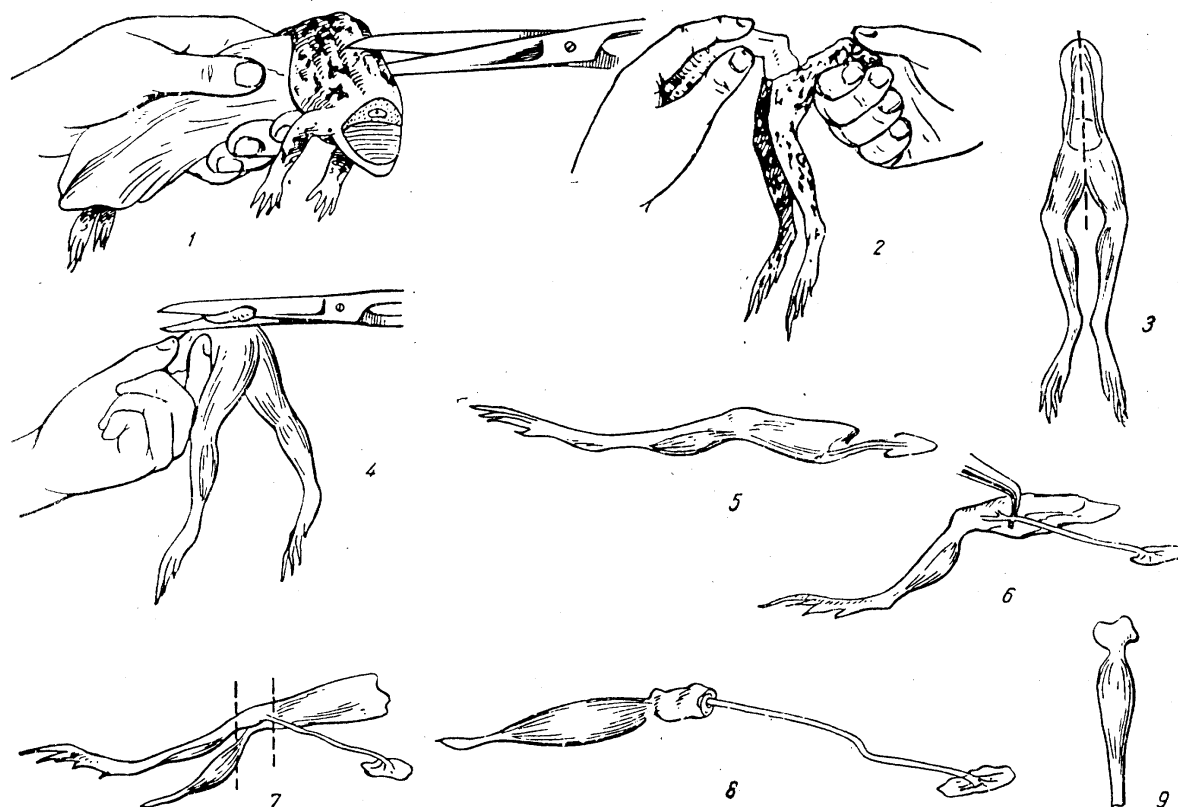


Рис. 1. Приготовление нервно-мышечного препарата икроножной мышцы и седалищного нерва и изолированной икроножной мышцы (пояснения в тексте)

Следующим этапом является препаровка икроножной мышцы и седалищного нерва. Подводят под ахиллово сухожилие браншу ножниц, отделяют сухожилие по всей длине и подрезают ниже сесамовидной косточки. Захватив сухожилие пинцетом, оттягивают мышцу в сторону, разрывая фасции, связывающие ее с другими тканями. Для препаровки нерва бедро располагают задней поверхностью кверху. Мышцы разводят и отпрепаровывают двумя стеклянными крючками лежащий в глубине седалищный нерв по всей его длине. Приподняв нерв, перерезают ножницами окружающие ткани. Перерезают лапку выше и ниже коленного

сустава - получают препарат седалищного нерва. До начала работы помещают его в чашку, завернув в вату, смоченную раствором Рингера. На конце нерва рекомендуется сохранить небольшой участок позвоночника - за него удобно брать пинцетом, помещая нерв на электроды. Кроме того, отсечение позвоночника наносит дополнительную травму.

Задание 1. Регистрация двухфазного потенциала действия.

1. Установить на стимуляторе частоту раздражения 5 – 10 Гц, длительность раздражающего стимула 0,1 - 0,5 мс. Включить приборы. Установить (на осциллографе и УБП) такое усиление, чтобы калибровочный импульс с УБП в 1 мВ давал отклонение луча на экране осциллографа на 10 мм. Проверить наличие раздражающих импульсов на выходе изолирующего трансформатора.

2. Поместить нерв в камеру так, чтобы его часть, содержащая больше волокон (около позвоночника), лежала на раздражающих электродах. На участок нерва, расположенный на заземляющей (центральной) пластинке, поместить очень маленький ватный тампон, смоченный раствором Рингера. Дно камеры смочить раствором Рингера. Нерв не должен касаться стенок камеры. Камеру плотно закрыть смазанной вазелином крышкой.

3. Найти пороговую силу раздражения. Записать в рабочую тетрадь величину порогового раздражения. Проверить, удобно ли работать при установленном усилении.

4. Увеличить силу раздражения в два раза и зарегистрировать ПД. Амплитуда ПД должна занимать больше половины экрана осциллографа.

5. С помощью *калибратора УБП2-03* (но не осциллографа) измерить амплитуду ПД, определить длительность ПД исходя из скорости развертки. Данные занести в протокол.

6. Объяснить наличие двух фаз на графике ПД. Сделать выводы.

Задание 2. Исследование зависимости амплитуды потенциала действия нервного ствола от силы раздражения.

Теоретические и методические предпосылки

При внеклеточном отведении от нервного ствола регистрируют не изменение потенциала на мембране, а падение напряжения на внеклеточном межэлектродном участке, вызванное протеканием локальных токов вдоль наружной поверхности от покоящихся участков к активному. Седалищный нерв лягушки - это смешанный нерв. Он содержит волокна диаметром от 3 до 29 мкм. При регистрации потенциала действия получают плавную кривую, хотя ответ представляет собой сумму потенциалов действия от сотен волокон, обладающих разной возбудимостью. При пороговой стимуляции активируются наиболее возбудимые волокна,

дальнейшее увеличение силы раздражения вовлекает в процесс и другие волокна. При определенной величине силы раздражения все волокна будут вовлечены в процесс возбуждения и дальнейшее увеличение силы раздражения не приведет к усилению амплитуды ответа.

Для выполнения работы используется та же установка, что и в предыдущей работе.

1. Включить приборы, установить необходимые параметры и усиления.
2. Приготовить препарат седалищного нерва и поместить его в камеру.
3. Зарегистрировать ПД при разных силах раздражения - от пороговой до сверхмаксимальной. При каждой силе раздражения измерить амплитуду ПД. По этим данным построить график зависимости амплитуды ПД нерва от силы раздражения. Данные занести в протокол.
4. Изменяя длительность и амплитуду раздражающего импульса, амплитуду и скорость развертки, попытаться пронаблюдать расщепление ПД, связанное с наличием в общем нервном пучке нескольких типов нервных волокон. Первыми из А волокон дают потенциал действия α -волокна. Постепенно включаются β -волокна и, наконец, γ -волокна.
5. Оформить протокол, сделать выводы.

Лабораторная работа № 5.

Определение скорости проведения возбуждения в седалищном нерве лягушки

Для работы необходимо: осциллограф СИ-81, усилитель УБП2-03, стимулятор ЭС-50-1 или ЭСЛ-2, соединительные провода, препаровальный набор, раствор Рингера, влажная камера, изолирующая приставка или трансформатор.

Теоретические и методические предпосылки

Седалищный нерв лягушки - это смешанный нерв. Он содержит волокна диаметром от 3 до 29 мкм. На небольших расстояниях от места раздражения не удастся отчетливо наблюдать соответствующие различия в скоростях проведения. При регистрации потенциала действия получают плавную кривую, хотя ответ представляет собой сумму потенциалов действия от сотен волокон, проводящих импульсы с различной скоростью. Однако при больших расстояниях между отводящими и раздражающими электродами различие в скоростях проведения импульсов проявляется в возникновении небольших подъемов на нисходящем колене

кривой потенциала действия, при очень больших расстояниях можно наблюдать разделение потенциала действия волокон, проводящих импульсы с большой и малой скоростью. Поэтому для дифференцировки различных групп нервных волокон необходимо регистрировать потенциалы действия на значительном расстоянии от раздражающих электродов.

Скорость проведения импульса можно рассчитать двумя методами. Но в обоих случаях необходимо знать путь, который проходит нервный импульс, и время, затраченное на прохождение этого пути.

Первый метод заключается в регистрации потенциала действия на определенном расстоянии от раздражающего электрода. При этом измеряют время от проявления артефакта раздражения до начала восходящей фазы потенциала действия. Такой метод менее точен, так как трудно установить с достаточной точностью точку раздражения.

Второй метод использует регистрацию потенциала действия от двух точек, расположенных друг от друга на известном расстоянии. В этом случае устраняются трудности, связанные с необходимостью точного определения места возникновения потенциала действия. Однако данный метод очень сложен. Необходимо использовать двухлучевой осциллограф с двумя усилителями.

В работе используют седалищный нерв крупной лягушки, выделенный от позвоночника до коленного сустава. Оставляют небольшой кусок позвоночника. На нерв около сустава накладывают лигатуру. За лигатуру и часть позвоночника нерв поднимают и помещают во влажную камеру на расположенные там электроды. Для раздражения нерва используют стимулятор прямоугольных импульсов с изолирующим трансформатором на выходе. Для регистрации ПД необходимы усилитель биопотенциалов УБП и осциллограф. Используют ждущую развертку, запуская ее импульсами стимулятора.

Ход работы

1. Установить на стимуляторе частоту раздражения 5 – 10 Гц, длительность раздражающего стимула 0,1 - 0,5 мс. Включить приборы. Установить (на осциллографе и УБП) такое усиление, чтобы калибровочный импульс с УБП в 1 мВ давал отклонение луча осциллографа на 10 мм. Проверить наличие раздражающих импульсов на выходе изолирующего трансформатора.

2. Приготовить изолированный препарат седалищного нерва лягушки.

3. Поместить нерв в камеру так, чтобы его часть, содержащая больше волокон (около позвоночника), лежала на раздражающих электродах. На дно камеры налить раствора Рингера. Нерв не должен касаться стенок камеры. Камеру плотно закрыть смазанной вазелином крышкой.

4. Найти порог и максимальную силу раздражения. Записать в рабочую тетрадь номер опыта, величину пороговой и максимальной силы раздражения. Проверить, удобно ли работать при установленном усилении. Амплитуда ПД при максимальной силе раздражения должна занимать больше половины экрана осциллографа.

5. Определить скорость проведения возбуждения при величине раздражения, равной удвоенной силе порога и максимальной силе раздражения.

6. Скорость проведения возбуждения рассчитывают по формуле $V = S / t$, где V - средняя скорость проведения, S - расстояние от раздражающего до регистрирующего электрода, t - время между артефактом раздражения (момент предъявления стимула) и появлением восходящей фазы ПД.

7. Сделать выводы, оформить протокол.

Лабораторная работа № 6. **Определение динамики** **возбудимости седалищного нерва**

Для работы необходимо: осциллограф CI-81, усилитель УБП2-03, стимулятор ЭС-50-1 или ЭСЛ-2, соединительные провода, препаровальный набор, раствор Рингера, влажная камера, изолирующая приставка или трансформатор.

Теоретические и методические предпосылки

Нерв раздражают максимальным импульсом. Этот импульс называют кондиционирующим. Через различные интервалы времени нерв возбуждают тестирующим импульсом различной силы. Если интервал времени между двумя раздражающими импульсами достаточно велик, то при одной и той же силе импульсов регистрируются потенциалы действия с одинаковой амплитудой. Если интервал между двумя раздражающими импульсами короче относительного рефрактерного периода, то происходит уменьшение амплитуды потенциала действия, возникающего в ответ на тестирующий импульс. Когда тестирующий импульс попадает в абсолютный рефрактерный период, то потенциал действия вообще не возникает.

Относительный рефрактерный период обусловлен снижением возбудимости нервных волокон. Если желательно получить количественную характеристику изменений возбудимости в различные стадии относительного рефрактерного периода, то нерв необходимо раздражать тестирующим импульсом через различные интервалы после приложения

кондиционирующего импульса. При этом силу тестирующего импульса надо подбирать таким образом, чтобы амплитуда потенциала действия оставалась постоянной. За относительным рефрактерным периодом следуют менее выраженные изменения возбудимости. Сначала возбудимость повышается, так что сила, необходимая для возникновения пикового потенциала той же амплитуды, оказывается меньше силы кондиционирующего импульса. За этим периодом супернормальной возбудимости может следовать период субнормальной возбудимости.

Ход работы

1. В периодическом режиме, при длительности импульса 0.1 мсек и частоте стимуляции 10 гц подбирают силу раздражения, равную двум реобазам.

2. Электростимулятор устанавливают в режим ручного запуска.

Внимание! Импульс синхронизации снимают с выхода “Фронт 1”. На счетчике набирают число импульсов в пачке - 2.

3. Не меняя длительности и амплитуды импульсов, устанавливают интервал (период следования) между стимулами 20 мсек и регистрируют амплитуду ответов на кондиционирующий стимул (первый в пачке) и тестирующий (второй). Можно видеть, что амплитуда обоих потенциалов действия одинакова.

4. Не меняя силы раздражения, постепенно уменьшают интервал времени между стимулами. Амплитуда потенциала действия, возникшего в ответ на тестирующий импульс, начинает уменьшаться. Это начальная граница относительного рефрактерного периода. В конце концов потенциал действия исчезает. Этот момент отражает конец относительного рефрактерного периода и начало абсолютного рефрактерного периода.

Существование периода супернормальной возбудимости можно определить следующим образом. Находят пороговую силу тестирующего раздражения при интервале между двумя импульсами, равном 200 мсек. Затем уменьшают интервал, не меняя силы импульсов. При определенном интервале пороговое тестирующее раздражение становится надпороговым, т.е. амплитуда ответа на второй стимул становится больше, чем на первый.

Существование периода субнормальной возбудимости выявляют таким же путем.

5. Полученные результаты нанести на график и сделать выводы.

Лабораторная работа № 7.

Измерение хронаксии нерва

Для работы необходимо: осциллограф СІ-81, усилитель УБП2-03, стимулятор ЭС-50-1 или ЭСЛ-2, соединительные провода, препаровальный набор, раствор Рингера, влажная камера, изолирующая приставка или трансформатор.

Теоретические и методические предпосылки

Пороговая сила раздражающего тока зависит от длительности его действия. Эта зависимость характерна для различных возбудимых тканей и описывается кривой Гоорвега - Вейса, которая по существу представляет собой гиперболу. Сила тока и длительность его действия обратно пропорциональны:

$I \times t = k$ или $I = R / t + k_1$; где k и k_1 - константы.

Чем короче раздражающий импульс, тем больше сила тока, необходимая для возникновения импульса. Асимптотическое приближение гиперболы к оси времени указывает на существование пороговой силы, ниже которой импульс не может быть вызван, независимо от силы раздражения. Лапик (1926) назвал эту величину реобазой. Наиболее короткий интервал времени, в течении которого должен действовать ток, равный по величине реобазе, чтобы вызвать возбуждение, называют *временем утилизации*. Асимптотическое приближение гиперболы к оси ординат означает, что для возникновения импульса необходимо некоторое минимальное время действия раздражителя.

Кривую “сила - длительность” можно построить путем определения координат по оси времени для различных координат по оси тока или в обратном порядке. Измерения наиболее точны в средней части кривой. Лапик предложил пользоваться так называемой *хронаксией* - минимальным временем, в течение которого должен действовать ток, равный по силе удвоенной реобазе, чтобы вызвать возбуждение. С помощью хронаксии можно сравнить возбудимость различных тканей. Для измерения хронаксии определяют минимальную длительность раздражения, равного по силе удвоенной реобазе. *Реобаза* - это удвоенная сила продолжительно действующего тока пороговой величины.

Ход работы

Для выполнения работы используется та же установка, что и в предыдущей работе. Хронаксию определяют у седалищного нерва.

1. Определяют пороговую силу для раздражающего импульса длительностью 1 мсек. - реобазу. Затем амплитуду импульса удваивают (уд-

военная реобазы). На экране осциллографа при этом регистрируется высокий ПД. Укорачивают постепенно длительность раздражающего импульса и определяют величину, при которой ПД исчезает. Данная продолжительность импульса и есть хронаксия.

2. Повторно определяют пороговую силу для раздражающего импульса длительностью 1 мсек. Затем постепенно укорачивают импульс и для каждого интервала времени определяют его пороговую силу. Находят минимальную длительность импульса, при которой регистрируется ответ в нерве. Полученные парные величины наносят на график и получают кривую сила - длительность.

3. Оформить результаты исследования в виде таблицы и графика, сделать выводы.

Раздел 3. Электрофизиология мышечной системы

Лабораторная работа № 8.

Отработка методов регистрации и анализа электрических потенциалов сердечной мышцы

Для работы необходимо: электрокардиограф, компьютер, регистратор НЗ31, препаратальный набор, раствор Рингера.

Цель работы: освоение методов регистрации и анализа электрокардиограммы.

Теоретические и методические предпосылки

Электрокардиография - метод графической регистрации электрических явлений, возникающих в сердце во время сердечного цикла. Установлено, что возбужденный участок живой ткани становится электроотрицательным по отношению к невозбужденному. Таким образом, сердце в процессе своей деятельности является источником электрических потенциалов, распространяющихся на различные участки тела. Отражением электрических процессов, происходящих в сердце, является характерная кривая - электрокардиограмма (ЭКГ), которая обычно состоит из трех направленных вверх положительных зубцов - Р, R и Т и двух направленных вниз отрицательных зубцов - Q и S. Продолжительность и амплитуда отдельных интервалов и комплексов ЭКГ характеризуют два основных

свойства сердечной мышцы: возбудимость и проводимость. Высота (или глубина) зубцов измеряется от нулевой линии до вершины (либо до самой нижней точки) зубца и выражается в милливольты. Стандартным масштабом при регистрации ЭКГ у человека служит 1 мВ (1 мВ = 10 мм).

Зубец Р отражает возбуждение предсердий, его длительность в норме составляет от 0,08 до 0,1 сек.

Интервал PQ отражает время распространения возбуждения от синусового узла до рабочей мускулатуры желудочков. Длительность интервала, включая длительность зубца Р, составляет 0,12 - 0,2 сек.

После того как возбуждение переходит на желудочки, появляется комплекс QRS. Весь процесс внутрижелудочковой проводимости, от начала до полного охвата возбуждением обоих желудочков, продолжается в среднем 0,06 - 0,09 сек. С окончанием комплекса наступает второй интервал, называемый S-T сегментом и проходящий в норме по нулевой линии, длительность его 0,15 - 0,25 сек.

Методы регистрации электрокардиограммы

При электрокардиографии используются следующие способы отведения биопотенциалов:

1) стандартные; 2) грудные; 3) однополюсные отведения от конечностей.

При стандартных отведениях:

1-е отведение - между правой и левой рукой;

2-е отведение - между правой рукой и левой ногой;

3-е отведение - между левой рукой и левой ногой.

При грудных двухполюсных отведениях один электрод накладывается на определенные (стандартные) точки грудной клетки, а другой помещают на отдаленном от сердца участке тела, обычно на одной из конечностей. Для установки грудного электрода предложено 6 позиций, которые обозначают как C₁, C₂, C₃, и т.д.

При однополюсном отведении от конечностей активный электрод накладывают на конечность, а индифферентным электродом служит общая точка соединения электродов всех конечностей, подключенных через сопротивление 5 000 ом. В случае, когда для образования индифферентного электрода не берется конечность, на которую наложен активный электрод, такие однополюсные отведения называют *усиленными* и перед обозначением отведения ставят букву "а" (от английского слова augmenting). Например, отведение avR - усиленное однополюсное отведение от правой руки.

При регистрации ЭКГ в процессе мышечной деятельности электроды устанавливают в местах наибольшей разности потенциалов, с таким расчетом, чтобы в межэлектродном пространстве было как можно меньше

скелетной мускулатуры. Этим условиям удовлетворяют грудные отведения Н1 и Н2 (по *Бутченко*), при котором один электрод устанавливают в области верхушечного толчка сердца, а другой - у правого (Н1) или левого (Н2) верхнего края грудины.

Подготовка к работе диагностического комплекса КТД-8

1. Установить органы управления в исходное положение:
 - а) тумблер “сеть” - в положение “ВЫКЛ”;
 - б) переключатель отведений - в положение “cal”;
 - в) регулятор “усиление” - в крайнее нижнее положение;
 - г) переключатель “Режимы” - в положение “ЭКГ -ЭЭГ”;
 - д) переключатель “нагрев пера” - в крайнее левое положение.
2. Тумблер “сеть” установить в положение “сеть”. При этом должна загореться сигнальная лампочка.
3. После пятиминутного прогрева проверить работу прибора:
 - а) периодически нажимая кнопку калибровки, установить чувствительность 10 мм / 1 мВ, пользуясь ручкой “усиление”;
 - б) пользуясь регулятором, установить перо на середину ленты;
 - в) установить скорость протягивания ленты 25 мм/сек;
 - г) включить лентопротяжный механизм и, пользуясь регулятором “температура пера”, установить требуемый уровень нагрева пера по минимальной толщине линии записи.
4. При использовании в качестве регистратора прибора НЗЗ1 выполнить следующие пункты:
 - а) пользуясь регулятором на регистраторе, установить перо на середину ленты;
 - б) установить скорость протягивания ленты 25 мм / сек;
 - в) включить лентопротяжный механизм;
 - г) периодически нажимая кнопку калибровки на блоке КТД, установить отклонение пера 10 мм/1 мВ, пользуясь ручкой “усиление” на регистраторе НЗЗ1;
 - д) провести регистрацию ЭКГ.

Работа на электрокардиографах ЭЛКАР

Подготовка прибора к работе:

1. Включить тумблер “сеть” - должна загореться сигнальная лампочка.
2. После 10 мин. прогрева прибора ручкой “смещение пера” установить перо на 5 мм ниже нулевой линии.
3. Установить ручку “накал пера” на деление “5”.
4. Установить скорость 10 мм/сек. и включить лентопротяжный механизм.

5. Откалибровать прибор, установив усиление 10 мм/мВ. Для этого, поворачивая ручку “усиление” по часовой стрелке, периодически нажимать кнопку “1 мВ”, получить отклонение пера на 10 мм.

6. Выключить лентопротяжный механизм.

7. Наложить электроды на испытуемого. Для этого закрепить электроды на конечностях, используя резиновые бинты. Туго затягивать бинты не следует. Присоединить штекеры кабеля отведений к электродам:

красный - к правой руке,

желтый - к левой руке,

зеленый - к левой ноге,

черный - к правой ноге.

8. Установить переключатель отведений в нужное положение.

9. Нажать кнопку успокоителя и проконтролировать отклонение пера. Ручку “смещение пера” установить так, чтобы при отключении перо не выходило за пределы ширины записи. Отпустить кнопку.

10. Установить скорость 25 мм/сек.

11. Поставить рычаг “запись” в положение “вкл” и записать ЭКГ в 1-м отведении.

12. Поставить рычаг “запись” в положение “выкл”. Переключить переключатель отведений на следующее отведение и снова повторить запись ЭКГ во 2-м и 3-м отведениях.

13. После окончания записи тумблер “сеть” поставить в положение “ВЫКЛЮЧЕНО”.

Регистрация ЭКГ

Задание 1. Ознакомиться с принципом работы электрокардиографа. Зарегистрировать ЭКГ у лягушки.

Порядок выполнения работы:

1. Обездвижить и закрепить лягушку на препаровальной доске. Присоединить штекеры кабеля отведений:

красный - к правой передней лапке,

желтый - к левой передней лапке,

зеленый - к левой задней лапке,

черный - к правой задней лапке.

2. Нажать кнопку “Уст.0” и переключить переключатель отведений в положение “1”. Отрегулировать усиление так, чтобы амплитуда максимального зубца была не менее одной клетки шкалы. Отпустить кнопку и произвести запись ЭКГ, пользуясь ручкой включения протяжки бумаги на регистраторе. Аналогично производят запись во 2-м и 3-м отведениях, пользуясь переключателем “отведения”. Установить скорость протягивания ленты на самописце НЗ31 – 10 мм/сек. Записать ЭКГ у спинальной лягушки в 1, 2 и 3-м стандартных отведениях в течение 10 – 15 секунд.

3. Выключение прибора производится в следующем порядке:

- установить переключатель отведений в положение “Cal”;
- переключатель “нагрев пера” в крайнее левое положение;
- регулятор “усиление” поставить в нижнее положение;
- выключить прибор, нажав на кнопку выключения прибора.

Произвести анализ ЭКГ, определить:

1. Частоту сердечных возбуждений.
2. Амплитуду зубцов ЭКГ.

Задание 2. Записать ЭКГ у человека в состоянии покоя в 1, 2 и 3-м стандартных отведениях в течение 10 - 15 секунд:

- а) при обычном дыхании;
- б) на фазе глубокого вдоха;
- в) на фазе глубокого выдоха.

Порядок работы.

1. Для регистрации ЭКГ пациента следует положить на кушетку. Кожу в местах наложения электродов следует протереть спиртом. Рабочие поверхности электродов следует смазать специальной пастой. При отсутствии пасты между кожей и электродами необходимо положить тампон, смоченный физиологическим раствором. Эти мероприятия снижают величину переходного сопротивления между кожей и электродами, что улучшает условия регистрации.

2. Закрепить электроды на конечностях, используя резиновые бинты. Туго затягивать бинты не следует. Присоединить штекеры кабеля отведений к электродам:

- красный - к правой руке,
- желтый - к левой руке,
- зеленый - к левой ноге,
- черный - к правой ноге.

3. Нажать кнопку “Уст.0 “ и переключить переключатель отведений в положение “1”. Отпустить кнопку и произвести запись ЭКГ, пользуясь ручкой включения протяжки бумаги на регистраторе. Аналогично производят запись во 2-м и 3-м отведениях, пользуясь переключателем “отведения”.

4. Выключение прибора производится в следующем порядке:

- установить переключатель отведений в положение “Cal”;
- переключатель “нагрев пера” - в крайнее левое положение;
- регулятор “усиление” поставить в нижнее положение;
- выключить прибор, нажав на кнопку выключения прибора.

Произвести анализ ЭКГ, определить:

1. Частоту сердечных возбуждений.
2. Амплитуду зубцов ЭКГ.
3. Длительность интервалов ЭКГ.
4. Последовательность возбуждений отделов сердца.

Анализ кардиограммы включает подсчет ритма и частоты сердечных сокращений, измерение амплитуды зубцов P, R, T; определение продолжительности фаз предсердно-желудочковой проводимости (P - Q) и систолы желудочков (Q - T). Длительность интервалов предсердно-желудочковой (P - Q) и внутрижелудочковой (QRS) проводимости находится в обратном отношении к частоте пульса. Поэтому в практике анализа ЭКГ пользуются сопоставлением фактической систолы с ее так называемой должной величиной, определяемой по эмпирической формуле *Базета*:

$$(Q - T) = k \sqrt{(R - R)},$$

где (Q - T) - длительность систолы желудочков в сек.,

(R - R) - длительность сердечного цикла в сек.,

k - константа, равная 0,37 для мужчин и 0,4 - для женщин.

5. Продолжительность интервала Q - T в среднем составляет 0,35 сек., при тахикардии - 0,25 сек., при брадикардии - 0,45 сек.

6. Объяснить изменения в ЭКГ в зависимости от фаз дыхания.

7. Определить положение электрической оси сердца на основании анализа амплитуды зубцов ЭКГ в стандартных отведениях.

Лабораторная работа № 9.

Отработка методов регистрации и анализа электромиограммы

Для работы необходимо: усилитель УБП2-03 или электромиограф, осциллограф СИ-81, регистратор НЗ31, раствор Рингера.

Цель работы: отработка методов регистрации и анализа электромиограммы и оценка состояния мышечной системы по показателям электромиографии.

Теоретические и методические предпосылки

Электромиография (ЭМГ) - регистрация биологической активности мышц (БА). В зависимости от характера отведения различают *суммарную* (глобальную) ЭМГ и ЭМГ *отдельных двигательных единиц* (ДЕ). Суммарная ЭМГ представляет собой результат сложения потенциалов действия ряда ДЕ. При нормальном функционировании двигательного аппара-

та у человека частота импульсов в отдельной ДЕ составляет 10 – 30 Гц и лишь при очень сильных напряжениях мышцы может достигать 50 Гц. Электрические потенциалы в отдельных ДЕ появляются не одновременно, а с разной степенью запаздывания одно относительно другого. Коэффициент синхронизации (т.е. отношение числа синхронно работающих ДЕ к общему числу возбужденных единиц) колеблется в пределах 2 - 18, достигая при максимальном сокращении 30. Следовательно, в норме суммарная ЭМГ является результатом как синхронно, так и асинхронно работающих ДЕ, с разной величиной сдвига по фазе.

Таким образом, суммарная ЭМГ, представляя собой результат алгебраического суммирования электрических потенциалов, имеет свои особые параметры. Число биопотенциалов (импульсов, спайков) может изменяться от нескольких до 300 в секунду, амплитуда биопотенциалов - от 150 до 6000 мкВ, длительность отдельных колебаний потенциалов мышцы - от 2 до 36 мс.

Усилительная и регистрирующая аппаратура.

Для регистрации ЭМГ усилитель должен иметь следующие параметры: 1) большой коэффициент усиления в широкой полосе частот, 2) большую величину входного сопротивления, 3) низкий уровень шумов. Величина входного сигнала при регистрации ЭМГ изменяется в больших пределах, от 3 мкВ до нескольких милливольт. В связи с этим максимальный коэффициент усиления миографа по напряжению должен быть порядка 10 000 – 1 000 000. Такой коэффициент позволяет при минимальном входном сигнале получать на выходе усилителя величину в несколько вольт, что дает возможность регистрировать выходной сигнал без дополнительного преобразования с помощью регистраторов общетехнического назначения с соответствующим диапазоном частот. Диапазон частот электромиографического усилителя, необходимый для неискаженной регистрации всех форм ЭМГ, лежит в пределах от десятых долей герца до 10 кГц. В случае применения накожного отведения верхняя граница регистрируемых сигналов составляет величину около 200 Гц. При игольчатом отведении верхний граничный предел частот повышается и весь спектр миограммы смещается в сторону высоких частот до 1 – 2 кГц. Основной помехой при электромиографическом обследовании является сетевая наводка с частотой 50 Гц, избавиться от которой с помощью фильтров невозможно, так как эта частота входит в диапазон частот ЭМГ. Для устранения наводок усилители делаются с дифференциальным входом. Кроме того, следует заземлять испытуемого. Сигнал с выхода усилителя поступает на регистрацию. Индикатором сигнала обычно является электроннолучевая трубка, которую используют как для

визуального наблюдения, так и для регистрации. Для оценки общих характеристик ЭМГ применяют также перьевые регистраторы.

Наиболее распространенный тип поверхностных электродов - это пластинчатые электроды. Два таких электрода укрепляются на коже (на расстоянии около 2 см между центрами) вдоль хода волокон мышцы. Для лучшего крепления электродов на них накладывают эластичную манжету.

Анализ ЭМГ может быть как качественным, так и количественным. Качественный анализ предполагает визуальное изучение ЭМГ, определение характера проявления биологической активности (непрерывная, пачковая, в виде единичных биопотенциалов), характера и формы колебаний биопотенциалов, величины их амплитуды в относительном выражении (большие, средние, малые). При количественной обработке соответствующие параметры ЭМГ выражаются в конкретных количественных единицах (амплитуде биопотенциалов в милли- или микровольтах, частоте колебаний за 1 секунду, длительности отдельных колебаний в миллисекундах).

Задание 1. Зарегистрировать глобальную электромиограмму при выполнении статической и динамической работы.

Удобным объектом для регистрации биопотенциалов мышц человека является сгибатель предплечья (m. biceps). Кожу над мышцей предварительно обрабатывают смесью этилового спирта и эфира. По ходу мышечных волокон накладывают два электрода на расстоянии 2 – 3 см друг от друга.

Порядок выполнения работы.

1. Включить электромиограф, прогреть в течение 5 – 10 минут, произвести проверку работоспособности и калибровку каналов.

2. Измерить межэлектродное сопротивление (сопротивление между электродами не должно превышать 5 – 10 ком).

3. Зарегистрировать суммарную электромиограмму в состоянии покоя, т.е. при расслабленной руке.

4. Затем испытуемому предлагают поднимать груз весом 3 – 5 кг. Производят запись потенциалов в начале работы, спустя 2 - 3 минуты и когда мышцы руки утомятся.

5. Сделать анализ ЭМГ: дать описательную характеристику ЭМГ, отметить амплитуду и частоту колебаний биопотенциалов; провести сравнение биоэлектрической активности мышц при выполнении статической и динамической работы.

Раздел 4. Электрофизиология центральной нервной системы

Лабораторная работа № 10. Биоэлектрическая активность коры мозга

Для работы необходимо: биоусилитель или электроэнцефалограф, осциллограф, персональный компьютер с аналогоцифровым преобразователем, фотостимулятор, хирургический инструмент для препаровки, электроды для ЭЭГ.

Цель работы: освоение методов регистрации и анализа электроэнцефалограммы.

Теоретические и методические предпосылки

Электрокортикографией (ЭКоГ) называют регистрацию потенциалов, возникающих в коре головного мозга, с помощью электродов, которые вводят в глубь коры или располагают на ее поверхности. Регистрацию потенциалов от поверхности головы через кожу и кости черепа или с помощью подкожного введения игл называют *электроэнцефалографией* (ЭЭГ). У людей и высших млекопитающих потенциалы ЭЭГ обусловлены деятельностью коры головного мозга, амплитуда их достаточно мала. Амплитуда потенциала ЭЭГ обычно в 10 раз меньше амплитуды ЭКоГ. Как в острых, так и в хронических опытах на животных предпочтительно использовать электрокортикографию, так как при этом исключаются потенциалы больших подкожных мышц скальпа или смежных височных мышц (кошка, собака). ЭКоГ можно получить либо путем регистрации с обнаженных участков мозга после обширной краниотомии, либо с помощью игольчатых электродов, которые подводятся через кость к поверхности твердой мозговой оболочки (эпидуральная регистрация) или к коре. Можно также пользоваться другими методами, например регистрацией потенциалов от поверхности коры через небольшие отверстия, сделанные трепаном.

Регистрация биотоков мозга осуществляется с помощью многоканального аппарата - *электроэнцефалографа*, который состоит из: входного устройства с коммутатором; предварительных и выходных усилителей; блока контроля и калибровки; блока питания.

Устройство входа представляет собой щиток с клеммами для подключения электродов и заземления пациента. Щиток располагается в непо-

средственной близости от головы испытуемого и связан с коммутатором кабелем. С помощью коммутатора каждый канал электроэнцефалографа может быть соединен с любой парой электродов.

Предварительные усилители представляют собой симметричные дифференциальные усилители переменного тока с высоким коэффициентом дискриминации (до 5 000) и коэффициентом усиления (до 100 тыс.), с входным сопротивлением от 0.5 до 10 мгом и полосой пропускания от 0.1 - 0.5 Гц до 3 – 10 кГц. Наличие многих каналов регистрации (обычно не более 16) позволяет осуществлять одновременную синхронную запись целого ряда показателей жизнедеятельности организма, включая ЭЭГ, ЭКГ, ЭМГ, КГР и др., т.е. получить полиграфическую запись. Связь преусилителей с оконечными каскадами усиления осуществляется через систему фильтров, определяющих полосу пропускания частот. В качестве регистрирующих устройств в электроэнцефалографах используются чернилопишущие магнитоэлектрические вибраторы, струйные гальванометры. Для того чтобы иметь возможность судить о величине и полярности регистрируемых потенциалов, в прибор введен калибратор, который позволяет, подав на входы всех каналов усилителей стандартные сигналы определенной величины, настроить чувствительность каждого из каналов соответственно цели исследования. Процедура калибровки является и способом проверки работоспособности прибора.

Методика отведения потенциалов ЭЭГ

Существуют два основных способа отведения биопотенциалов мозга: униполярный (монополярный) и биполярный.

При *униполярном* отведении один из электродов, являющийся общим для всех каналов регистрации, расположен над “нейтральным” участком ткани (индифферентный электрод). В качестве нейтральной точки может быть использована только та, собственный потенциал которой в минимальной степени подвержен влиянию биотоков мозга. Это обычно мочка уха, переносица, область сосцевидного отростка височной кости, области лобных пазух. Монополярный метод регистрации дает возможность судить об активности в точке отведения ЭЭГ. Отведение называют биполярным, когда на канал регистрации подключают два независимых электрода, каждый из которых расположен над “активными”, в смысле генерирования ЭЭГ, участками мозга. Этот метод дает достаточно точное представление о локализации очага биоэлектрической активности.

Биполярный метод регистрации дает возможность судить об активности в области отведения ЭЭГ.

Основные требования, соблюдение которых обязательно во всех случаях, - это отведение потенциалов от симметричных точек обоих полу-

шарий, стандартизация схемы расстановки электродов и обеспечение равенства межэлектродных расстояний.

Задание 1. Регистрация спонтанной биоэлектрической активности мозга животных.

Объект исследования: наркотизированные кролик, кошка или крыса, лягушка.

Ход работы

1. Животное должно находиться в состоянии поверхностного наркоза. Затем животное фиксируют в станке. Обязательным условием для получения хорошего отведения является жесткое крепление головы с помощью специального держателя. После инъекции новокаина производят разрез мягких тканей головы по средней линии, начиная от точки, расположенной на один сантиметр выше линии, соединяющей верхние края глазниц, до уровня наружного слухового прохода. Кожу оттягивают по возможности дальше в стороны, обнаженную кость очищают от мышц, фасций и вытирают насухо, так чтобы отчетливо видеть черепные швы, которые служат важным ориентиром.

1 а. Трепанация черепа лягушки. Лягушку наркотизируют, помещая в 3%-ный водный раствор эфира. Далее, лягушку, завернутую в кусок марли, так чтобы голова ее оставалась свободной, берут в левую руку, фиксируют указательным пальцем этой руки голову животного, а правой рукой ножницами вскрывают полость черепа. Двумя дуговыми разрезами, начинающимися от затылочного отверстия, вырезают кожный лоскут и откидывают его вперед, между глазами животного. Затем, максимально сгибая голову лягушки, подрезают мышцы и желтую связку и вводят браншу ножниц в обнажившееся затылочное отверстие, направляя острие бранши так, чтобы оно все время касалось внутренней стенки черепа и не поранило бы мозг. При максимальном сгибании головы опасность повреждения мозга минимальна, так как он смещается вентрально. Затем двумя дуговыми разрезами вырезают костный лоскут, который откидывают вперед так же, как и кожный. Открывается передний, средний и задний мозг. Поверхность мозга заливают вазелиновым маслом.

2. Удерживая электроды специальным иглодержателем, их либо вколачивают, либо просто вкалывают в кость. На каждом полушарии располагают по 3 игольчатых электрода в лобной теменной и височной областях. Другой, более тонкий, игольчатый электрод вколачивают на глубину около 3 мм в лобную кость над передним краем глазниц (на 7 – 9 мм роstralнее венечного шва). Электроды соединяют гибкими проводами длиной 20 – 30 см (лучше всего тонким высокочастотным кабелем) с панельной, укрепленной над головой животного. Панельку соединяют с

ЭЭГ-установкой экранированным кабелем. После укрепления электродов наркоз прекращают.

3. Спустя 10 – 20 минут, в течение которых, если это необходимо, выправляют положение головы, начинают регистрацию потенциалов. В зависимости от числа каналов в электроэнцефалографе одновременно регистрируют одно или несколько отведений. Отведения от различных электродов обычно отличаются друг от друга. Однако в нескольких отведениях от одного и того же или даже разных полушарий можно обнаружить одновременно характерные волны (особенно на ЭЭГ во время сна). В общих чертах имеет следующая закономерность: при равных расстояниях между электродами монополярная регистрация дает волны большей амплитуды, чем биполярная. Следует иметь в виду, что полярность записи зависит от того, какой из электродов присоединен к левой или правой половине входа усилителя. При многоканальных отведениях этому обстоятельству необходимо уделять особое внимание.

4. Дать амплитудную и частотную характеристику фоновой ЭЭГ-активности.

Задание 2. Регистрация электрической активности коры головного мозга человека.

Зарегистрировать ЭЭГ человека в состоянии покоя в монополярном отведении в лобной, теменной и затылочной областях.

Общепринятой является система расположения электродов “10 - 20”. По этой системе измеряют расстояние по сагитальной линии между носовой впадиной и затылочным бугром. Во фронтальной плоскости - от одного наружного слухового прохода через вертекс до другого слухового прохода. Каждая из этих величин принимается за 100%. В продольном направлении электроды располагают таким образом, чтобы первый электрод (лобный) и последний (затылочный) устанавливались в точках, отстоящих от конечных пунктов измерений (переносица и затылочный бугор) на 10% общего расстояния. Остальные три электрода ряда располагаются от крайних электродов и один от другого на равных расстояниях, составляющих 20% всего расстояния. Всего устанавливается 5 рядов электродов: один - по сагитальной линии и по два - параллельно справа и слева на равных расстояниях, составляющих по 20% от общего расстояния во фронтальной плоскости. Височные ряды электродов отстоят от наружных слуховых проходов на 10% общего поперечного расстояния.

Порядок выполнения работы

1. Включить электроэнцефалограф, прогреть в течение 15 - 20 минут, произвести проверку работоспособности и калибровку каналов.

2. Наложить электроды испытуемому. Измерить межэлектродное сопротивление (сопротивление между электродами не должно превышать 10 – 20 ком).

3. Зарегистрировать ЭЭГ в состоянии покоя при закрытых и открытых глазах.

4. Произвести компьютерную регистрацию ЭЭГ.

5. Сделать описательный анализ ЭЭГ:

а) дать описательную характеристику ЭЭГ, отметив распределение ритмов по областям и полушариям, выраженность ритмов, общий уровень амплитуды;

б) вычислить альфа-индекс по формуле $I = t/T$, где T - время выборки ЭЭГ (обычно 1м записи при скорости бумаги 3 см/сек; t - время выраженности ритма);

в) на основании анализа дать классификацию типа ЭЭГ, исходя из предложенных 4 типов:

1-й тип. Хорошо выражен альфа-ритм (альфа - индекс больше 60%), амплитуда – 40 – 100 мкв., бета-ритм составляет 20 - 25% записи. Медленная активность в виде тета-ритма присутствует не более чем в 3 - 5% записи.

2-й тип. Амплитуда потенциалов при записи с закрытыми глазами не превышает 25 – 40 мкв. В ЭЭГ альфа- и бета-ритмы присутствуют вместе (альфа - индекс не более 50 - 60%), тета- и дельта-волны составляют не более 5% записи, альфа-ритм лабильный.

3-й тип. ЭЭГ высокой амплитуды, смешанной активности. На фоне альфа-волн амплитудой 60 – 120 мкв присутствуют тета-волны такой же амплитуды.

4-й тип. ЭЭГ низкой амплитуды (до 20 мкв) альфа-ритм практически отсутствует, могут быть альфа-волны;

г) по характеру, выраженности и локализации основных ритмов в ЭЭГ сделать выводы о функциональном состоянии мозга.

6. Провести компьютерный анализ ЭЭГ по прилагаемой программе.

Лабораторная работа № 11.

Вызванные потенциалы мозга

Для работы необходимо: биоусилитель или электроэнцефалограф, осциллограф, персональный компьютер с аналогоцифровым преобразователем, фотостимулятор, хирургический инструмент для препаровки, игольчатые электроды.

Цель работы: освоение методов регистрации и анализа первичных ответов.

Теоретические и методические предпосылки

В путях, соединяющих рецептор с высшими центрами, существует весьма сложная активность, источником которой служит рецептор. При регистрации от поверхности мозга электрические признаки большого числа асинхронных потенциалов действия, поступающих непрерывно к тому или иному участку коры (например, от глаза к зрительной зоне), взаимно уничтожаются и маскируются электрической активностью других нейронов. Воздействие на рецепторы сравнительно сильными и непродолжительными раздражениями, которые вызывают синхронизированные залпы импульсов в большом числе волокон афферентных систем, приводят к другим результатам. Эти импульсы почти одновременно прибывают к различным “станциям переключения” специфических трактов, и последовательность их поступления в ограниченный участок коры вызывает синхронные изменения мембранного потенциала тел и дендритов корковых нейронов. При этом возникают характерные электрические потенциалы, которые могут быть четко выделены и легко выявляются на основном фоне спонтанной ЭЭГ-активности. Их локализация позволяет определить электрофизиологическим методом точные границы проекции изучаемого анализатора в коре. Таким образом, вызванные потенциалы (ВП) - биоэлектрическая реакция мозга, которую рассматривают как алгебраическую сумму потенциалов, генерируемых сложно организованными системами нейронов в результате поступления афферентного залпа при раздражении рецепторов. Вызванный потенциал в целом представляет собой сложный многокомпонентный феномен, фазы которого отличаются друг от друга и по источнику своего происхождения в подкорковых структурах, и по механизму их электрогенеза в корковых элементах. В конфигурации ВП отражается последовательное чередование процессов возбуждения и торможения, как результат взаимодействия активирующих и тормозных ансамблей нейронов на широких территориях мозга.

Задание 1. Получение первичных ответов мозга животных.

Объект исследования: наркотизированные кролик, кошка или крыса.

Ход работы

1. У наркотизированного животного закрепляют голову в головодержателе. Делают разрез кожи головы по средней линии длиной 6 – 9 см. Височную мышцу отсепааровывают от черепа, оттягивают и закрепляют. Кости черепа тщательно очищают. С помощью трепана на расстоянии 1 см от средней линии и на 1 см каудальнее височного шва делают отверстие диаметром 8 – 10 мм. При помощи костных кусачек отверстие расширяют во всех направлениях. При этом вдоль средней линии оставляют полоску кости шириной 2 – 4 мм, чтобы не повредить синус. Твердую мозговую оболочку не вскрывают. Регистрация монополярная. Индифферентный электрод – игла, вколоченная в лобную пазуху. Активные электроды - серебряные шариковые, их располагают в проекционной зоне соответствующего анализатора.

2. Для регистрации ответов используют электронно-лучевой осциллограф. Синхронизируют развертку луча и раздражающий импульс. Необходимо обеспечить небольшое запаздывание раздражения по отношению к началу развертки на 1 – 2 мсек. Для вычисления латентного периода используют артефакт раздражения. Продолжительность развертки выбирают в пределах 100 – 200 мсек.

3. Калибровку амплитуды производят подачей на вход усилителя импульса с заведомо известной величиной напряжения.

4. Пользуясь описанной методикой, зарегистрировать первичные ответы на: 1) световые вспышки, 2) звуковые щелчки, 3) электрическое раздражение седалищного нерва. Сделать описание полученных вызванных потенциалов.

Задание 2. Регистрация и анализ вызванных потенциалов у человека в ответ на световые вспышки.

Одним из распространенных методов стимуляции при исследовании ВП у человека является световое раздражение. В большинстве современных фотостимуляторов в качестве источника света применяют газоразрядные лампы. Длительность вспышки света определяется временем разряда лампы и находится в пределах нескольких микросекунд. Величина светового стимула может быть изменена только по интенсивности, что, естественно, сужает возможности таких фотостимуляторов. Необходимо отметить, что в газоразрядных лампах при каждом световом стимуле возникает небольшой звуковой щелчок, который в данном случае являет-

ся посторонним раздражителем и может мешать правильной оценке исследования ВП на свет. Источник света при световой стимуляции должен находиться вблизи глаз исследуемого, не ближе 50 см. Глаза, в зависимости от целей работы, могут быть закрыты или открыты. Кроме светового раздражения, используется также звуковое раздражение (щелчки, тоны). Звуковые стимулы широко применяются при изучении ВП коры больших полушарий, для оценки функционального состояния и реактивности головного мозга, часто в сочетании со световым раздражением.

Для регистрации ВП используют те же электроды, которые применяются для записи ЭЭГ. При регистрации ВП с поверхности черепа можно использовать стандартное расположение электродов по системе “10 - 20”, однако каждый исследователь вправе разместить электроды так, как он находит нужным, исходя из целей своих исследований. В качестве индифферентной точки у человека чаще всего служит мочка уха, сосцевидный отросток височной кости, реже - переносица.

Поскольку ВП у человека регистрируются на фоне спонтанной биоэлектрической активности, для выделения их, как правило, используются методы, применяемые для обнаружения слабых сигналов, в частности усреднение. Для автоматического усреднения и суммации ВП в настоящее время используют специализированные цифровые усредняющие устройства или универсальные ЦВМ. Операция усреднения, независимо от типа вычислительной машины, состоит в следующем. Первоначально компьютер выполняет аналого-цифровое преобразование через определенные промежутки времени, осуществляя таким образом периодическую выборку ЭЭГ и генерируя ряд численных значений - векторов. Каждый такой вектор есть электрическая активность за определенный период времени после стимула. Этот параметр записывается в память машины и затем складывается с последующими реализациями. В конце суммирования накопленный результат делится на число предъявленных стимулов, преобразуется в аналоговую форму и выводится на регистратор (графопостроитель, монитор, осциллограф). Кроме усреднения современные ЭВМ одновременно проводят и анализ ВП: подсчитывают дисперсию временных и амплитудных характеристик, выполняют кросс и автокорреляционный анализ, измеряют амплитуду сигнала, и т.д.

Ход работы

1. Включить приборы, входящие в установку регистрации ВП.
2. Провести тестирование программы записи и анализа ВП.
3. Испытуемому наложить электроды на область проекции первичных зрительных полей, измерить межэлектродное сопротивление.

4. Согласно программе усреднения ВП, сделать пробную запись из 10 - 15 усреднений и при необходимости выполнить регулировку установки.

5. Зарегистрировать вызванные потенциалы на световые вспышки при следующих условиях:

а) с фиксацией внимания на вспышку;

б) с отвлечением внимания во время устного счета. Количество усреднений – 20 - 30.

6. Произвести анализ усредненных ВП по группе “а” и “б”.

7. Сделать выводы.

Большинство авторов выделяют в зрительном ответе 7-8 волн положительной (Р) и отрицательной (N) полярности.

Примерные латентности основных компонентов ВП в мсек приведены в таблице 1.

Таблица 1

Р	N	Р	N	Р	N	Р	N
30 - 35	50 - 55	80 - 85	120 -125	180 - 185	245 - 255	290 -310	335 - 350
Первичный ответ				Вторичный ответ			

Содержание

Раздел 1. Аппаратура для усиления, наблюдения и регистрации биоэлектрических сигналов	3
Лабораторная работа № 1. Изучение принципов работы электронного осциллографа.....	3
Лабораторная работа № 2. Изучение принципа работы электростимулятора	6
Лабораторная работа № 3. Изучение принципа работы усилителя биоэлектрических сигналов	10
Раздел 2. Электрофизиология периферической нервной системы.....	14
Лабораторная работа № 4. Регистрация потенциала действия нерва.....	14
Лабораторная работа № 5. Определение скорости проведения возбуждения в седалищном нерве лягушки.....	17
Лабораторная работа № 6. Определение динамики возбудимости седалищного нерва.....	19
Лабораторная работа № 7. Измерение хронаксии нерва	21
Раздел 3. Электрофизиология мышечной системы	22
Лабораторная работа № 8. Отработка методов регистрации и анализа электрических потенциалов сердечной мышцы.....	22
Лабораторная работа № 9. Отработка методов регистрации и анализа электромиограммы.....	27
Раздел 4. Электрофизиология центральной нервной системы	30
Лабораторная работа № 10. Биоэлектрическая активность коры мозга	30
Лабораторная работа № 11. Вызванные потенциалы мозга	35

Электрофизиологические методы исследования

Составитель: **Мышкин Иван Юрьевич**

Редактор, корректор А.А. Антонова
Компьютерная верстка С.И. Савинской

Подписано в печать 16.05.2002. Формат 60х84/16.
Бумага тип. Усл. печ. л. 2,32. Уч-изд. л. 2,01.
Тираж 100 экз. Заказ .

Оригинал-макет подготовлен
в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.

Отпечатано на ризографе.

Ярославский государственный университет.
150000 Ярославль, ул. Советская, 14.