

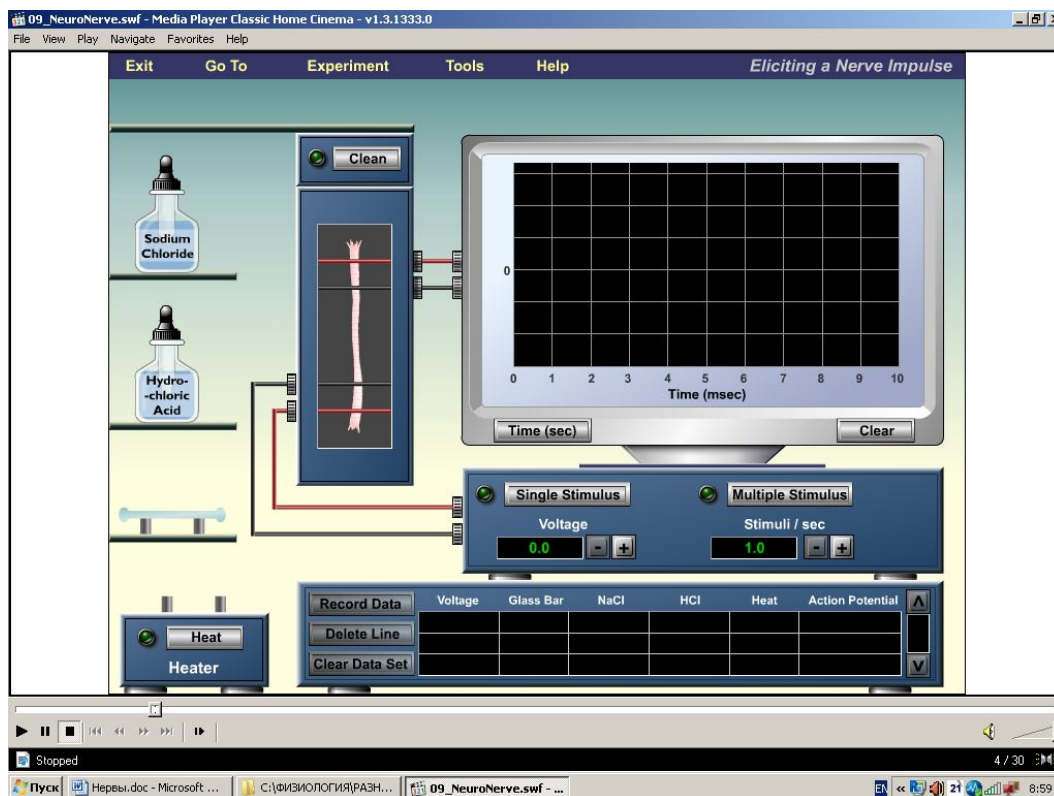
ФИЗИОЛОГИЯ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

Цели:

1. Усвоить следующие понятия: *возбудимость, проводимость, мембранный потенциал покоя, натрий-калиевый насос, пороговый стимул, деполяризация, потенциал действия, реполяризация, гиперполяризация, потенциал действия, абсолютный и относительный рефрактерный период, нервный импульс, синаптическая щель, скорость проведения.*
2. Определить, по крайней мере, два агента, способных ингибировать потенциал действия.
3. Определить четыре разных стимула, способных вызвать генерацию потенциал действия.
4. Описать взаимоотношение между диаметром нерва и скоростью проведения возбуждения.
5. Описать взаимоотношение между миелинизацией нерва и скоростью проведения.

В основном меню выбрать раздел «Нейрофизиология нервных импульсов» (Рис. 1). Обратите внимание что, седалищный нерв лягушки помещен в специальную камеру. Раздражающие электроды идут к камере, где находится нерв, а от неё к осциллографу.

Рисунок 1. Модель экспериментальной установки для изучения физиологии нерва. Роль разной стимуляции.



Работа № 1.

ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ СТИМУЛЯЦИЯ

1. Установить потенциал на 1,0 V нажатием кнопки (+), рядом с «**Voltage**» дисплея.
2. Нажать «Одиночный стимул» (**Single Stimulus**).

Наблюдаете ли вы какой-либо ответ на экране осциллографа?

Если нет никакого ответа или наблюдается ровная линия, не показывая никакого потенциала действия, нажмите кнопку «Устранить препятствие» (**Clear**) на осциллографе, попробуйте повысить потенциал и снова нажать кнопку «Одиночный стимул» (**Single Stimulus**), пока не увидите метку на экране (преломление линии), которая показывает потенциал действия.

Какова величина порогового потенциала (потенциала, при котором вы впервые увидели потенциал действия)?

Нажмите кнопку «Зарегистрировать результат» (**Record Date**) на табло сбора результатов, чтобы зафиксировать их.

3. Если вы желаете распечатать график, нажмите «Инструменты» (**Tools**), а затем «Распечатать график» (**Print Date**). Вы можете делать это каждый раз после получения графика на экране осциллографа.
4. Увеличивайте потенциал на 0,5V и нажимайте кнопку «Одиночный стимул» (**Single Stimulus**). Нажмите кнопку **Record Date** на табло сбора результатов, чтобы записать показания.

Чем отличается эта запись при сравнении с записью, полученной при пороговом потенциале?

Что является причиной этого?

5. Продолжайте повышать потенциал на 0,5 V и нажимайте кнопку «Одиночный стимул» (**Single Stimulus**), пока не обнаружите точку, когда не возникает дальнейшего увеличения пика потенциала действия.

Какова величина максимального раздражающего потенциала?

Теперь, когда вы пронаблюдали, что электрический импульс может вызывать потенциал действия, проверьте другие методы стимуляции нерва.

Работа № 2.

МЕХАНИЧЕСКАЯ СТИМУЛЯЦИЯ

1. Нажмите кнопку «Очистить» (**Clear**) на осциллографе.

2. Используя мышку, произвести «щелчок» и переместить стеклянный стержень к нерву и поместить его над нервом. Когда стеклянный стержень прикоснется к нерву, освободите кнопку мышки.

Что вы наблюдаете на экране осциллографа?

Что происходит с этой записью по сравнению с другими записями, которые вы регистрировали?

Нажмите «Зарегистрировать результат» (**Record Date**). Оставьте график на экране, чтобы можно было сравнить его с графиком, который будет получен в следующей работе.

Работа № 3.

ТЕМПЕРАТУРНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ

С помощью мышки выбрать стеклянный стержень и переместить его к нагревателю (он расположен ниже держателя стержня), после чего освободить кнопку мышки. Нажать кнопку «Нагрев» (**Heat**). Когда стержень станет красным, нажать кнопку мышки и установите стержень над нервом, освобождая кнопку мышки.

Что происходит?

Чем отличается эта запись от той, что была получена при использовании нагрева?

Какое объяснение можно дать этому?

Нажмите кнопку **Record Date**, а затем «Очистить» (**Clear**) экран осциллографа для следующей работы.

Работа № 4.

ХИМИЧЕСКАЯ СТИМУЛЯЦИЯ

1. С помощью мышки переместите капельницу от сосуда с солевым раствором хлорида натрия (**Sodium Chloride**) над нервом в камере и затем освободить кнопку мышки для нанесения капель.

Вызывает ли это воздействие генерацию потенциал действие?

2. Используя пороговый потенциал, стимулируйте нерв. Нажмите кнопку «Зарегистрировать результат» (**Record Date**) .

Отличается ли эта запись от оригинальной записи порогового стимула? Если да, то, как это выражается?

3. Нажмите кнопку «Очистить» (**Clean**) на верхней панели камеры с нервом. Это возвращает нерв к его исходному (не солевому) состоянию. Нажмите кнопку «Очистить» (**Clear**) для очистки экрана осциллографа от следовых записей.

4. С помощью мышки переместить капельницу от сосуда с соляной кислотой (**Hydrochloric acid**), помещая ее над нервом. Освободить кнопку мышки, распределяя капли.

Вызывает ли это воздействие генерацию потенциал действие?

Отличается ли эта запись от записи, генерируемой оригинальным пороговым стимулом?

5. Нажмите кнопку «Зарегистрировать результат» (**Record Date**).
6. Нажмите кнопку **Clean** над камерой с нервом, чтобы вернуть нерв к исходному состоянию.
7. Зарегистрируйте результат в вашем отчете, переписав в протокольную тетрадь записи из таблицы результатов.

Таблица 1. Эффект стимуляции нерва разными видами раздражителя

<i>Вольтаж</i>	<i>Стекл. палочка</i>	<i>NaCl</i>	<i>HCl</i>	<i>Тепло</i>	<i>Наличие ПД</i>

Суммируйте результаты эксперимента. Какой вид стимуляции может вызывать потенциал действия?

Переходите к следующей работе. Нажав кнопку «Эксперимент», зайдите в меню и выберите работу «Ингибирование нервного импульса» (**Inhibiting a nerve impulse**). Экран для этой работы сходен с первой работой (рис. 2). Слева находятся кнопки трех агентов, на применение которых тестируется нерв. Сохраните записи, которые вы зарегистрировали для первой работы, для сравнения.

Работа № 5.

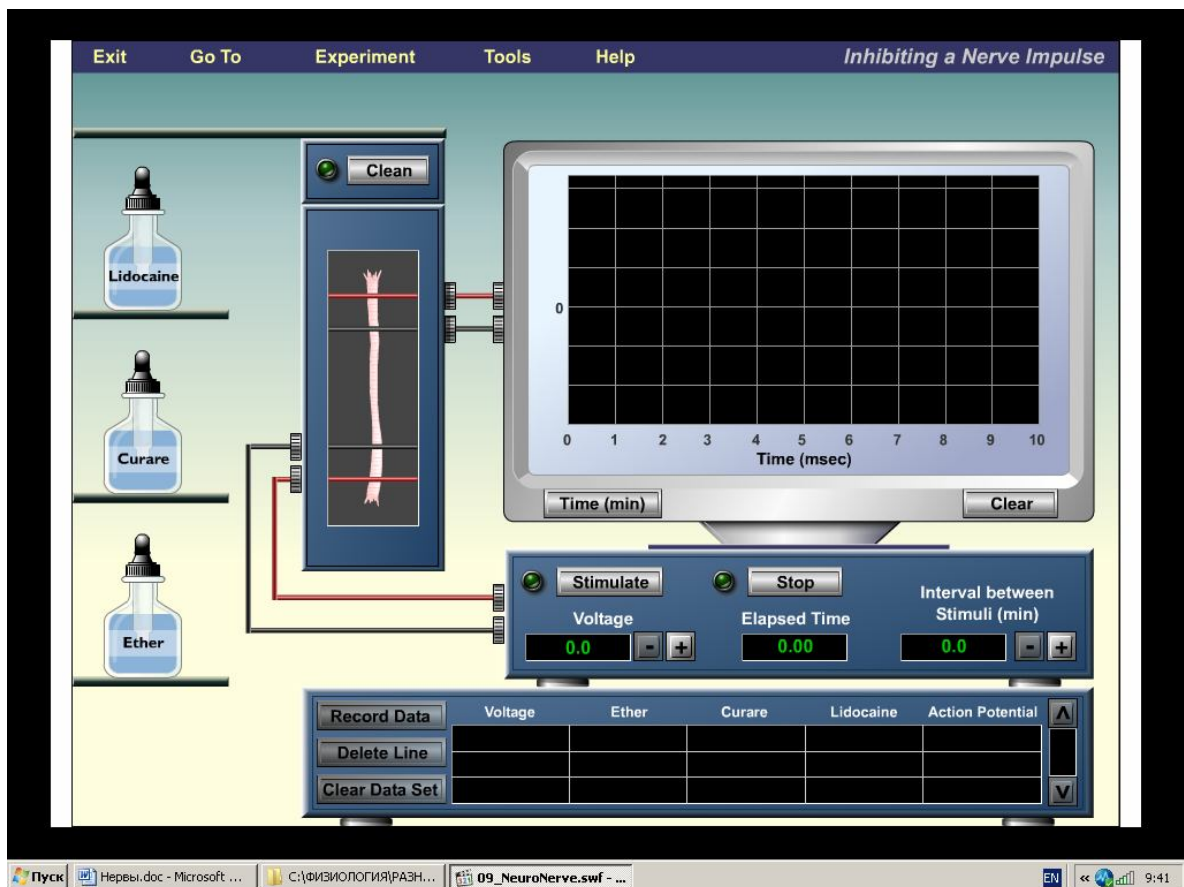
ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ ЭФИРА

1. Используя мышцу, переместить капельницу от сосуда, обозначенного как эфир (**Ether**), к нерву. Установите ее над нервом между стимулирующими и регистрирующими электродами. Освободите кнопку мышки для нанесения капель.
2. Установите величину раздражающего тока, используя пороговый стимула, установленный в предыдущей работе. Нажмите кнопку «Стимулировать» (**Stimulate**). Нажмите кнопку «Зарегистрировать результат» (**Record Date**) .

Чем отличается запись, которую вы наблюдаете, от контрольной?

Что происходит с нервом?

Рисунок 2. Модель экспериментальной установки для изучения физиологии нерва. Роль разной стимуляции.



3. Нажмите кнопку «Таймер» (**Time**) на осциллографе. Теперь на экране будет отображаться работа в течение 10 минут (пространство между каждой вертикальной линией представляет собой 1 минуту). Из-за изменения во временной шкале потенциалы действия будут выглядеть подобно острому вертикальному спайку на экране.
4. Нажимая кнопку (+) с надписью на стимуляторе «Интервал между стимулами» (**Interval between Stimuli**), установите 2.0 минуты. Такой стимул будет раздражать нерв каждые две минуты. Нажмите кнопку **Stimulate**, чтобы запустить стимуляцию. Наблюдайте за дисплеем.

Как долго надо воздействовать на нерв, чтобы вернуть его к норме?

5. Нажмите кнопку «**Stop**», останавливая это воздействие и возвращая прошедшее время к 0,00.
6. Нажмите кнопку «Таймер» (**Elapsed Time**) на осциллографе и вернитесь к нормальному миллисекундному дисплею.
7. Нажмите кнопку «Очистить» (**Clear**) на осциллографе для выполнения новой работы.
8. Нажмите кнопку (-) под обозначением «Интервал между стимулами» (**Interval between Stimuli**), пока он не вернется к 0,0.
9. Нажмите кнопку «Очистить» (**Clean**) на камере с нервом, чтобы очистить и вернуть нерв к исходному состоянию.

Работа № 6.

ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ КУРАРЕ

Кураре является хорошо известным растительным экстрактом, который используется южноафриканскими индейцами для парализации животного, на которого они охотятся. Это альфа-токсин, который связывается с холино-рецепторами на постсинаптической мембране, что предотвращает действие ацетилхолина. Кураре блокирует синаптическую передачу, препятствуя переходу нервных импульсов от нейрона к нейрону.

1. С помощью мышки переместите капельницу от сосуда, обозначенного «Кураре» (**Curare**), помещая её над нервом, между стимулирующим и регистрирующим электродами. Освободите кнопку мышки, распределяя капли. Нажмите кнопку **Record Date**.
2. Установите стимулятор на пороговом потенциале и стимулируйте нерв.
Какой эффект на потенциал действия вы отмечаете?
Как объяснить этот эффект?
Как вы думаете, каким должен быть общий эффект кураре на организм?
3. Нажмите кнопку **Clean** на камере с нервом, возвращая кураре в сосуд, а нерв к его исходному состоянию.
4. Нажмите кнопку **Clear**, чтобы очистить экран осциллографа для следующей работы.

Работа № 7.

ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ ЛИДОКАНА

Лидокаин является антагонистом натриевых каналов.

1. С помощью мышки переместите капельницу от сосуда, обозначенного «Лидокаин» (**Lidocaine**), и поместите её над нервом, между стимулирующим и регистрирующим электродами. Освободите кнопку мышки, чтобы распределить капли.
Генерируется ли запись?
2. Стимулируйте нерв пороговым потенциалом. Нажмите кнопку **Record Date**.
Какой вид записи вы наблюдаете?
Почему лидокаин оказывает эффект на проведение в нервных волокнах?
3. Нажмите кнопку **Clean** над камерой с нервом, чтобы удалить лидокаин и вернуть нерв к исходному состоянию.

4. Зарегистрируйте результат в вашем отчете, переписав в протокольную тетрадь записи из таблицы результатов.

Таблица 2. Эффект стимуляции нерва, обработанного эфиром, кураре или лидокаином

<i>Вольтаж</i>	<i>Эфир</i>	<i>Кураре</i>	<i>Лидокаин</i>	<i>Наличие ПД</i>

Вы подошли к концу этой работы, чтобы продолжить следующую работу, нажмите кнопку «Эксперимент», войдя в меню, и выберите работу «Скорость нервного проведения».

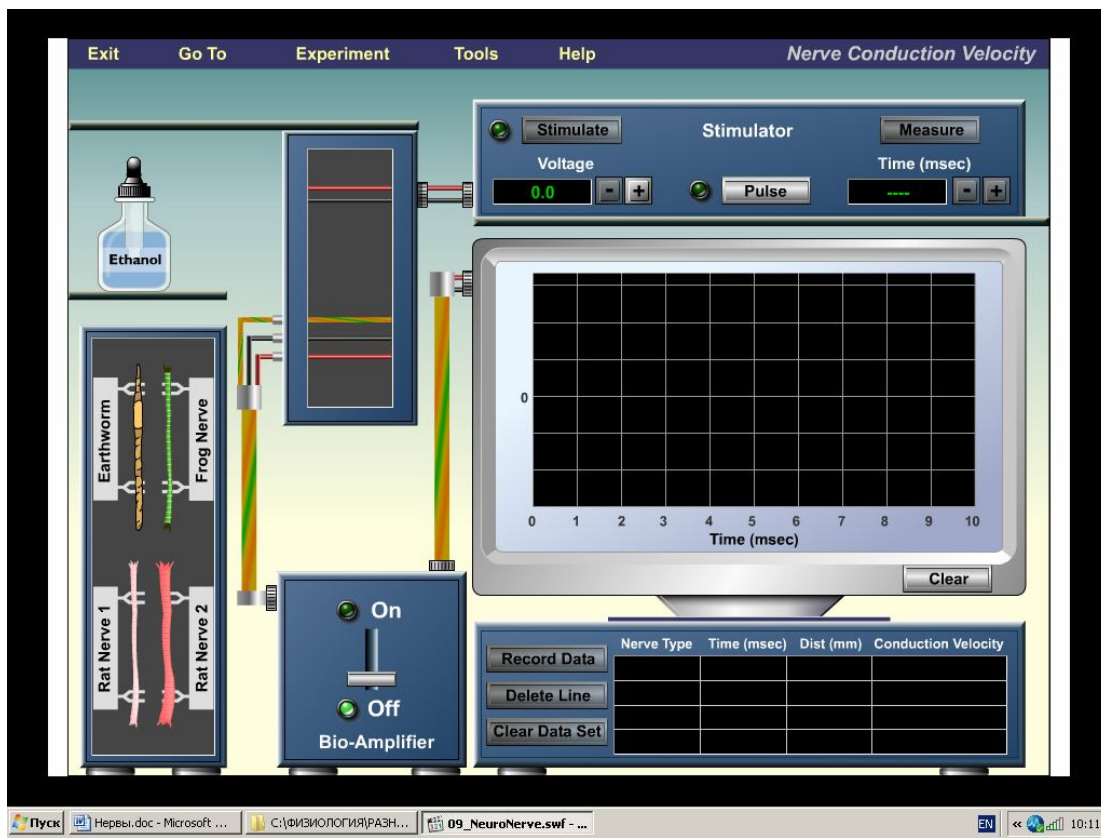
Работа № 8.

ИЗМЕРЕНИЕ СКОРОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ВОЗБУЖДЕНИЯ ПО НЕРВУ

1. На стимуляторе нажмите кнопку «Пульс» (**Pulse**) (рис. 3).
2. Переключите биоусилитель, поворачивая (щелчок) горизонтальную планку на биоусилителе в положение «Включение» (**On**).

На левой стороне экрана находятся четыре нерва, которые будут изучаться. Целый земляной червь используется потому, что он проводит возбуждение от головного (верхнего) конца к хвостовому (нижнему). Нерв лягушки чаще всего является моделью в нейрофизиологических исследованиях. Нерв крысы используется для сравнения: 1) скорости проведения разных по диаметру нервов, 2) скорости проведения миелинизированных и немиелинизированных нервов. Помните, что нерв лягушки является миелинизированным и что нерв крысы № 1 имеет тот же размер, что и нерв лягушки, но является немиелинизированным. Нерв крысы № 2 является наиболее толстым и он миелинизирован.

Рисунок № 3. Установка для измерения скорости проведения возбуждения по нерву



3. Используя мышку, переместите капельницу от сосуда, обозначенного «Этанол» (**Ethanol**) над нервом земляного червя и освободите кнопку мышки, распределяя капли этанола. Это будет вызывать наркотизацию червя и он перестает двигаться во время эксперимента, но это не влияет на скорость проведения по нерву. Алкоголь используется при достаточно низкой концентрации, чтобы червь оставался в хорошем состоянии и мог вернуться к нормальному состоянию в течение 15 минут.
4. Используя мышку, поместите земляного червя в камеру с нервом. Червь будет находиться над стимулирующими электродами и всеми тремя регистрирующими электродами.
5. С помощью кнопки (+), рядом с дисплеем **Voltage** установите потенциал 1,0 В. Затем нажмите «Стимулировать» (**Stimulate**) для стимуляции нерва.

Видите ли вы потенциал действия

Если нет, то увеличивайте потенциал с помощью прироста его на 1,0 В пока не появится запись.

При каком пороговом потенциале вы впервые увидели генерацию потенциала действия?

6. Нажмите кнопку «Измерить» (**Measure**) на стимуляторе. Вы видите вертикальную желтую линию, которая появляется с левого края экрана осциллографа. Теперь нажмите кнопку (+) под кнопкой «Измерить»

(Measure). Это позволяет желтой линии передвигаться на правый край. По этой линии можно измерить, сколько времени прошло на графике до точки, где линия пересекла график. Наблюдайте прошедшее время, которое фиксируется на дисплее таймера в мсек. Сохраняйте нажим на кнопку (+), пока желтая линия не достигнет правого края в точке графика, где график прекращает быть плоским (ровным) и впервые начинает возрастать.

7. Когда желтая линия позиционируется на старте подъема, отметьте прошедшее время в этой точке. Нажмите кнопку «Зарегистрировать результат» (**Record Date**), чтобы зарегистрировать это время на графике результатов. Программа будет автоматически выводить на компьютер скорость проведения на основе этих результатов. Заметим, что табло результатов включает в себя позицию «Дистанция» (**Dist**) в мм, причем это расстояние всегда составляет 43 мм. Эта дистанция включает в себя расстояние между красным стимулирующим проводом и красным регистрирующим проводом.

Важно, чтобы желтая вертикальная линия находилась в положении измеряющей линии, расположенной на старте графического подъема, до того, как вы нажмете кнопку **Record Date** - в ином случае скорость проведения будет рассчитываться для нерва неточно.

8. Заполните данными колонку в таблице протоколов под обозначением «Земляной червь».
9. С помощью мышки переместите земляного червя на исходное место. Нажмите кнопку **Clear**, чтобы освободить экран осциллографа.
10. Повторить этапы 4-9 для оставшихся нервов. Не забывайте нажимать кнопку **Record Date** для каждой экспериментальной серии, внося результаты в соответствующую колонку таблицы.

Какой нерв в группе обладает самой низкой скоростью проведения?

Какова эта скорость?

Какой нерв из четырех имеет самую высокую скорость проведения?

Какова эта скорость?

Каковы взаимоотношения между диаметром нерва и скоростью проведения?

В чем заключаются физиологические причины этих взаимоотношений?

На основании результатов, какое можно сделать заключение относительно эффектов миелинизации на скорость проведения?

Что является физиологической причиной вашего заключения?

Что является эволюционным достижением при миелинизации нервных ветвей?

Таблица 3. Измерение скорости проведения различных нервов

Животное	Вид нерва	Порог, V	Время от стимуляции до ПД, мсек	Скорость проведения м/сек
Земляной червь	малый нерв			
Лягушка	средний миелинизированный			
Нерв крысы №1	средний немиелинизированный			
Нерв крысы №2	большой миелинизированный			