

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

И. Ю. Мышкин

О. А. Ботязова

Н. Н. Тятенкова

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ
БИОЛОГИЯ
И БИОТЕХНОЛОГИИ:
экспериментальная физиология**

Учебное пособие

Ярославль
ЯрГУ
2018

УДК 573(075)
ББК Е0я73
М96

*Рекомендовано
Редакционно-издательским советом университета
в качестве учебного издания. План 2018 года*

Рецензенты:

П. М. Маслюков, профессор, доктор медицинских наук;
кафедра медицинской физики ЯГМУ

Мышкин, Иван Юрьевич.

М96 Экспериментальная биология и биотехнологии :
экспериментальная физиология : учебное пособие
/ И. Ю. Мышкин, О. А. Ботязова, Н. Н. Тятенкова ;
Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова. — Яро-
славль : ЯрГУ, 2018. — 140 с.

ISBN 978-5-8397-1152-5

В учебном пособии представлено краткое изложение современных концепций и представлений методического обеспечения экспериментальных исследований физиологических процессов жизнедеятельности.

Предназначено для студентов, изучающих дисциплину «Экспериментальная биология и биотехнологии».

УДК 573(075)
ББК Е0я73

ISBN 978-5-8397-1152-5

© ЯрГУ, 2018

Введение

Биология — *наука о жизни*. Она изучает жизнь как особую форму движения материи, законы её существования и развития. Предметом изучения биологии являются живые организмы, их строение, функции, их природные сообщества. Термин «биология», предложенный в 1802 г. Ж. Б. Ламарком, происходит от двух греческих слов: *bios* — жизнь и *logos* — наука. Что отличает науку от других сфер человеческой деятельности? Подход к изучению явлений. Этот подход — научный метод.

Научный метод — это совокупность приёмов и операций, используемых при построении системы научных знаний. Научный метод — совокупность основных способов получения новых знаний и методов решения задач в рамках любой науки.

Научный метод предполагает системный подход:

1. Наблюдение фактов и их измерение, т. е. описание наблюдения — количественное и/или качественное.

2. Анализ полученных результатов — систематизацию, выявление главного и второстепенного.

3. Обобщение — формулирование гипотез и потом уже — теорий.

4. Прогноз: формулирование следствий *из предложенной гипотезы или принятой теории* с помощью дедукции или других логических методов.

5. Проверку прогнозируемых следствий с помощью эксперимента. Без этого нельзя считать подход научным!

Важно понимать отличие между понятиями «гипотеза» и «теория».

Гипотеза — это утверждение, предположение, истинность которого еще **не доказана**.

Когда гипотезу доказывают, она становится **теорией**, теоремой или фактом. Опровергнутая гипотеза переходит в разряд *ложных утверждений*. Гипотеза, которая еще не доказана, но и не опровергнута, называется *открытой проблемой*.

Теория — система знаний, выстроенная на доказанной научным методом гипотезе.

Мы, например, говорим о **цитологии** как о **клеточной теории**, потому что этому предшествовал огромный научный про-

цесс наблюдения, сбор статистики — качественных и количественных данных; систематизация полученных результатов, были сформулированы гипотезы и прогнозы, которые затем были *экспериментально проверены и подтверждены*. Более того, на основе этой теории были сделаны предположения, и они тоже были экспериментально подтверждены.

Методы изучения живых объектов

Методы и приемы, используемые в биологии для получения сведений о живых объектах, разнообразны. Основными *методами* в биологии являются:

- описательный,
- исторический,
- сравнительный,
- экспериментальный.

Самыми простыми методами являются **метод наблюдения** и **метод описания**. Они связаны друг с другом, т. к. метод описания основывается на методе наблюдения, следует за ним. Эти методы использовались еще в древности, когда описание наблюдаемого было почти единственным методом исследования. Однако и в настоящее время эти методы широко используются во многих разделах биологии: в ботанике, зоологии, экологии.

Сравнительный метод в биологии основывается на сравнении живых объектов с целью нахождения их сходств и различий. Данный метод сыграл огромную роль в становлении систематики живых организмов, способствовал разработке эволюционной теории. Благодаря обнаружению клеточного строения всех живых организмов была сформулирована клеточная теория.

Исторический метод направлен на исследование развития живого мира во времени. Выявляет закономерности развития организмов, того, как менялось их строение и жизнедеятельность в процессе эволюции.

Экспериментальный метод в биологии, как естественной науке, является одним из наиболее важных. Эксперименты позволяют изучить жизненные функции в действии, выявить закономерности. Примером использования экспериментального метода являются работы Г. Менделя, который на горохе изучал наследование признаков, исследование И. П. Павловым процессов пищеварения и высшей нервной деятельности.

Глава 1. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ

1.1. Классификация экспериментальных исследований

Описательный метод

Описательный метод — это фиксирование наблюдаемых внешних признаков объектов исследования с выделением существенного и отбрасыванием несущественного. Это позволяет анализировать явления, происходящие в живой природе, сравнивать их, находя определённые закономерности, а также обобщать, открывать новые виды, классы и прочее. Описательные методы начали использоваться ещё в древности, но и сегодня они не утратили своей актуальности и широко применяются в ботанике, этологии, зоологии и т. д.

Наблюдение

Наблюдение — это исследование внешних признаков и видимых изменений объекта на протяжении определённого промежутка времени. Например, наблюдение за ростом и развитием проростка. Наблюдение — отправной пункт всякого естественно-научного исследования. Наблюдение как метод собирания информации — хронологически самый первый приём исследования, появившийся в арсенале биологии, а точнее, ещё её предшественницы — естественной истории. И это неудивительно, т. к. наблюдение опирается на чувственные способности человека (ощущение, восприятие, представление). **Классическая биология — это биология по преимуществу наблюдательная.** Но этот метод не утратил своего значения и по сей день.

Наблюдения могут быть прямыми или косвенными, они могут вестись с помощью технических приспособлений или без таковых. Так, орнитолог видит птицу в бинокль и может слышать её, а может фиксировать прибором звуки вне слышимого человеческим ухом диапазона. Гистолог наблюдает с помощью микроскопа зафиксированный и окрашенный срез ткани. А для молекулярного биолога наблюдением может быть фиксация изменения концентрации фермента в пробирке.

Важно понимать, что научное наблюдение, в отличие от обычного, есть не простое, а **целенаправленное** изучение объектов или явлений: оно ведётся для решения поставленной задачи, и внимание наблюдателя не должно рассеиваться. Например, если стоит задача изучить сезонные миграции птиц, то мы будем замечать сроки их появления в местах гнездования, а не что-либо иное. Таким образом, наблюдение — это **избирательное выделение** из действительности **определенной части**, иначе говоря аспекта, и включение этой части в изучаемую систему. В наблюдении важна не только точность, аккуратность и активность наблюдателя, но и его непредвзятость, его знания и опыт, правильный выбор технических средств.

Сравнительный метод

Сравнительный метод — это исследование сходства и различия в строении, протекании жизненных процессов и поведении различных объектов. Позволяет изучать объекты исследования путём их сравнения между собой или с другим объектом, выявлять сходства и различия живых организмов, а также их частей. Полученные данные дают возможность объединять исследованные объекты в группы по признакам сходства в строении и происхождении. Этот метод утвердился в биологии в XVIII в. и оказался очень плодотворным в решении многих крупнейших проблем. С помощью этого метода и в сочетании с описательным методом были получены сведения, позволившие в XVIII в. заложить основы систематики растений и животных (К. Линней), а в XIX в. сформулировать клеточную теорию (М. Шлейден и Т. Шванн) и учение об основных типах развития (К. Бэр). Метод широко применялся в XIX в. в обосновании теории эволюции.

Сравнительный метод широко применяется в разных биологических науках и в наше время. Сравнение приобретает особую ценность тогда, когда невозможно дать определение понятия. Например, с помощью электронного микроскопа часто получают изображения, истинное содержание которых заранее неизвестно. Только сравнение их со светомикроскопическими изображениями позволяет получить желаемые данные.

Исторический метод

Исторический метод позволяет выявить закономерности образования и развития живых систем, их структур и функций, сопоставлять их с ранее известными фактами.

Во второй половине XIX в. благодаря работам Ч. Дарвина исторический метод поставил на научные основы исследование закономерностей появления и развития организмов, становления структуры и функций организмов во времени и пространстве. С введением этого метода в биологии произошли значительные качественные изменения. Исторический метод превратил биологию из науки чисто описательной в науку объясняющую, как произошли и как функционируют многообразные живые системы. В настоящее время исторический метод, или «исторический подход», стал всеобщим подходом к изучению явлений жизни во всех биологических науках.

Экспериментальный метод

Эксперимент — это проверка верности выдвинутой гипотезы с помощью целенаправленного воздействия на объект. Эксперимент (опыт) — искусственное создание в контролируемых условиях ситуации, которая помогает выявить глубоко скрытые свойства живых объектов.

Эксперимент (от лат. *experimentum* — «проба, опыт») — метод познания, при помощи которого в контролируемых и управляемых условиях исследуются явления действительности. Отличаясь от наблюдения активным оперированием изучаемым объектом, эксперимент осуществляется на основе теории, определяющей постановку задач и интерпретацию его результатов. Нередко главной задачей эксперимента служит проверка гипотез и предсказаний теории, имеющих принципиальное значение (так называемый решающий эксперимент). В связи с этим эксперимент, как одна из форм практики, выполняет функцию критерия истинности научного познания в целом.

Этот метод позволяет изучать явления изолированно и достигать повторяемости результатов при воспроизведении в тех же условиях. Эксперимент обеспечивает более глубокое, чем другие методы исследования, раскрытие сущности биологиче-

ских явлений. Именно благодаря экспериментам естествознание в целом и биология в частности дошли до открытия основных законов природы.

Экспериментальные методы в биологии служат не только для проведения опытов и получения ответов на интересующие вопросы, но и для определения правильности сформулированной в начале изучения материала гипотезы, а также для её корректировки в процессе работы. В двадцатом столетии данные способы исследования становятся ведущими в этой науке благодаря появлению современного оборудования для проведения опытов, такого как, например, томограф, электронный микроскоп и пр. В настоящее время в экспериментальной биологии широко используются биохимические приёмы, рентгеноструктурный анализ, хроматография, а также техника ультратонких срезов, различные способы культивирования и многие другие. Экспериментальные методы в сочетании с системным подходом расширили познавательные возможности биологической науки и открыли новые дороги для применения знаний практически во всех сферах деятельности человека.

Вопрос об эксперименте как одной из основ в познании природы, был поставлен ещё в XVII в. английским философом Ф. Бэконом (1561–1626). Его введение в биологию связано с работами В. Гарвея в XVII в. по изучению кровообращения. Однако экспериментальный метод широко вошел в биологию лишь в начале XIX в., причем через физиологию, в которой стали использовать большое количество инструментальных методик, позволявших регистрировать и количественно характеризовать приуроченность функций к структуре. Благодаря трудам Ф. Мажанди (1783–1855), Г. Гельмгольца (1821–1894), И. М. Сеченова (1829–1905), а также классиков эксперимента К. Бернара (1813–1878) и И. П. Павлова (1849–1936) физиология, вероятно первой из биологических наук, стала экспериментальной наукой.

Другим направлением, по которому в биологию вошел экспериментальный метод, оказалось изучение наследственности и изменчивости организмов. Здесь главнейшая заслуга принадлежит Г. Менделю, который, в отличие от своих предшественников, использовал эксперимент не только для получения данных об изучаемых явлениях, но и для проверки гипотезы, формулиру-

емой на основе получаемых данных. Работа Г. Менделя явилась классическим образцом методологии экспериментальной науки.

В обосновании экспериментального метода важное значение имели работы, выполненные в микробиологии Л. Пастером (1822–1895), который впервые ввёл эксперимент для изучения брожения и опровержения теории самопроизвольного зарождения микроорганизмов, а затем для разработки вакцинации против инфекционных болезней. Во второй половине XIX в. вслед за Л. Пастером значительный вклад в разработку и обоснование экспериментального метода в микробиологии внесли Р. Кох (1843–1910), Д. Листер (1827–1912), И. И. Мечников (1845–1916), Д. И. Ивановский (1864–1920), С. Н. Виноградский (1856–1890).

В XIX в. биология обогатилась созданием методических основ моделирования, которое является высшей формой эксперимента. Изобретение Л. Пастером, Р. Кохом и другими микробиологами способов заражения лабораторных животных патогенными микроорганизмами и изучение на них патогенеза инфекционных болезней — это классический пример моделирования, дополненного в наше время моделированием не только разных болезней, но и различных жизненных процессов, включая происхождение жизни.

Начиная с 40-х гг. XX в. экспериментальный метод в биологии подвергся значительному усовершенствованию за счет повышения разрешающей способности многих биологических методик и разработки новых экспериментальных приемов. Так, была повышена разрешающая способность генетического анализа, ряда иммунологических методик. В практику исследований были введены культивирование соматических клеток, выделение биохимических мутантов микроорганизмов и соматических клеток и т. д. Экспериментальный метод стал обогащаться методами физики и химии, которые оказались исключительно ценными не только в качестве самостоятельных методов, но и в сочетании с биологическими методами. Например, структура и генетическая роль ДНК были выяснены в результате сочетанного использования химических методов выделения ДНК, химических и физических методов определения её первичной и вторичной структуры и биологических методов (трансформации и генетического анализа бактерий), доказательства её роли как генетического материала.

В настоящее время экспериментальный метод характеризуется исключительными возможностями в изучении явлений жизни. Эти возможности определяются использованием микроскопии разных видов, включая электронную с техникой ультратонких срезов, биохимических методов, высокоразрешающего генетического анализа, иммунологических методов, разнообразных методов культивирования и прижизненного наблюдения в культурах клеток, тканей и органов, маркировки эмбрионов, оплодотворения в пробирке, метода меченых атомов, рентгеноструктурного анализа, ультрацентрифугирования, спектрофотометрии, хроматографии, электрофореза, секвенирования, конструкции биологически активных рекомбинантных молекул ДНК и т. д. Новое качество, заложенное в экспериментальном методе, вызвало качественные изменения и в моделировании. Наряду с моделированием на уровне органов в настоящее время развивается моделирование на молекулярном и клеточном уровнях.

Метод моделирования

Метод моделирования — это исследование свойств определенного объекта посредством изучения свойств другого объекта (модели), более удобного для решения задач исследования и находящегося в определенном соответствии с первым объектом.

Моделирование основывается на таком приёме, как *аналогия* — это умозаключение о сходстве объектов в определенном отношении на основе их сходства в ряде иных отношений. Модель — это упрощённая копия объекта, явления, процесса, заменяющая их в определённых аспектах. Моделирование — это создание упрощённой копии объекта, явления или процесса.

Моделирование позволяет изучать какой-либо процесс или явление путём воссоздания их в виде более простого объекта при помощи современных технологий и оборудования.

Виды моделирования

1. Натурное моделирование — эксперимент на самом исследуемом объекте, который при специально подобранных условиях опыта служит моделью самого себя.

2. Физическое моделирование — эксперимент на специальных установках, сохраняющих природу явлений, но воспроизводящих их в количественно измененном, масштабированном виде.

3. Математическое моделирование — использование моделей, по физической природе отличающихся от моделируемых объектов, но имеющих сходное математическое описание. **Математическая модель** — это искусственно созданный объект в виде математических, знаковых формул, который отображает и воспроизводит структуру, свойства, взаимосвязи и отношения между элементами исследуемого объекта.

Метод эксперимента

Эксперимент является наиболее важной частью научных исследований.

Основной целью эксперимента является выявление свойств исследуемых объектов, проверка справедливости гипотез и на этой основе широкое и глубокое изучение темы научного исследования. Постановка и организация эксперимента определяется его значением.

Типы экспериментов (виды)

Обычный (или классический) эксперимент включает экспериментатора как познающего субъекта и объект или предмет экспериментального исследования, а также средства (инструменты, приборы, экспериментальные установки), при помощи которых осуществляется эксперимент. Эксперименты различаются:

1. По способу формирования условий

Естественный (натуральный) эксперимент предполагает проведение опытов в естественных условиях существования объекта исследования (чаще всего используется в биологических, социальных, педагогических и психологических науках).

Искусственный эксперимент предполагает формирование искусственных условий (широко применяется в естественных и технических науках).

2. По целям исследования

Решающий эксперимент ставится для проверки справедливости основных положений фундаментальных теорий в том случае, когда две или несколько гипотез одинаково согласуются со многими явлениями. Это согласие приводит к затруднению, какую именно из гипотез считать правильной. Решающий эксперимент дает такие факты, которые согласуются с одной из гипотез и противоречат другой. Примером решающего эксперимента служит спор между К. Птолемеем и Н. Коперником о движении Земли. Решающий опыт Ж. Фуко с маятником окончательно решил спор в пользу теории Коперника.

Контролирующий эксперимент сводится к контролю за результатами внешних воздействий на объект исследований с учетом его состояния, характера воздействия и ожидаемого эффекта.

Поисковый эксперимент проводится в том случае, если затруднена классификация факторов, влияющих на изучаемое явление вследствие отсутствия достаточных предварительных (априорных) данных. По результатам поискового эксперимента устанавливается значимость факторов, осуществляется отсеивание не значимых.

Преобразующий (созидательный) эксперимент включает активное изменение структуры и функции объекта исследования в соответствии с выдвинутой гипотезой, формирование новых связей и отношений между компонентами объекта или между исследуемым объектом и другими объектами.

Констатирующий эксперимент используется для проверки определенных предположений. В процессе этого эксперимента констатируется наличие определенной связи между воздействием на объект исследования и результатом, выявляется наличие определенных факторов.

3. По организации проведения

Натурный эксперимент проводится в естественных условиях и на реальных объектах. Этот вид эксперимента часто используется в процессе натуральных испытаний изготовленных систем. В зависимости от места проведения испытаний натурные эксперименты подразделяются на производственные, полевые, полигонные, полунатурные и т. п.

Лабораторный эксперимент проводят в лабораторных условиях с применением типовых приборов, специальных моделирующих установок, стендов, оборудования и т. д. Чаще всего в лабораторном эксперименте изучается не сам объект, а его образец. Этот эксперимент позволяет доброкачественно, с требуемой повторяемостью изучить влияние одних характеристик при варьировании других, получить хорошую научную информацию с минимальными затратами времени и ресурсов. Однако такой эксперимент не всегда полностью моделирует реальный ход изучаемого процесса, поэтому возникает потребность в проведении натурного эксперимента.

4. По структуре изучаемых объектов

Простой эксперимент используется для изучения объектов, не имеющих разветвленной структуры, с небольшим количеством взаимосвязанных и взаимодействующих элементов, выполняющих простейшие функции.

В **сложном эксперименте** изучаются явления или объекты с разветвленной структурой (можно выделить иерархический уровни) и большим количеством взаимосвязанных и взаимодействующих элементов, выполняющих сложные функции.

5. По характеру внешнего воздействия

Информационный эксперимент используют для изучения воздействия определенной (различной по форме и содержанию) информации на объект исследования (чаще всего информационный эксперимент используется в биологии, психологии, социологии, кибернетике и т. п.). С помощью этого эксперимента изучается изменение состояния объекта исследования под влиянием сообщаемой ему информации.

Вещественный эксперимент предполагает изучение влияния различных вещественных факторов на состояние объекта исследования. Например, влияние различных добавок на качество стали и т. п.

Энергетический эксперимент используется для изучения воздействия различных видов энергии (электромагнитной, механической, тепловой и т. д.) на объект исследования. Этот тип эксперимента широко распространен в естественных науках.

Методология экспериментального исследования

Методология эксперимента — это общая структура эксперимента, т. е. постановка и последовательность выполнения эксперимента.

Она включает в себя следующие этапы:

- разработка плана программы эксперимента,
- оценка измерений и выбор средств для проведения эксперимента,
- проведение эксперимента,
- обработка и анализ экспериментальных данных.

Проведение эксперимента

Эксперимент — это метод, при котором исследователь сам вызывает интересующие его явления и изменяет условия их протекания с целью установления причин возникновения этих явлений и закономерностей их развития. Кроме того, получаемые научные факты могут неоднократно воспроизводиться благодаря управляемости и строгому контролю условий, что дает возможность их проверки, а также накопления количественных данных, на основе которых можно судить о типичности или случайности изучаемых явлений.

Преимущество лабораторного изучения перед натуралистическим наблюдением заключается в том, что исследователь может контролировать условия опыта, т. е. устанавливать точный контроль за так называемыми **независимыми переменными**, чтобы выявить их влияние на **зависимые переменные**.

Выделяют три вида переменных: **независимые, зависимые и дополнительные**.

Фактор, изменяемый самим экспериментатором — то или иное воздействие (физическое, химическое), т. е. стимул, называется **независимой переменной (НП)**.

Фактор, изменение которого является следствием воздействия **НП**, называется **зависимой переменной (ЗП)**. По сути, **ЗП** — это компонент в составе ответа, который непосредственно интересует исследователя.

Дополнительные переменные (ДП) — это соответствующие стимуляции **независимой переменной** — воздействия на объект,

оказывающие влияние на его ответ, и соответствующие составляющие его ответа, дополняющие ЗП. ***Все дополнительные воздействия исследователь в идеале стремится свести на нет или хотя бы к минимуму, чтобы выделить в чистом виде связь между независимой и зависимой переменными.***

Зависимыми переменными могут быть любые поведенческие или физиологические характеристики, тогда как независимые переменные — это условия, которые контролируются экспериментатором. Под условиями подразумевают *прямое вмешательство* (стимуляция или применение различных препаратов), *изменение окружающей среды* (температуры и освещенности).

Планирование эксперимента — один из важнейших этапов организации исследования, на котором исследователь пытается сконструировать оптимальную для воплощения на практике модель (план) эксперимента.

Грамотно составленная схема исследования, план, позволяет добиться оптимальных значений валидности, надёжности и точности в исследовании.

Валидность (от лат. *validus* — «сильный, здоровый, достойный») — мера соответствия *методик* и *результатов* исследования поставленным *задачам*. Валидное измерение — такое измерение, которое измеряет то, что оно должно измерять.

Иногда, чтобы скорректировать план, проводят так называемое пилотажное, или пробное, исследование, которое можно рассматривать как «черновик» будущего научного эксперимента.

Планирование включает в себя два этапа:

1. Содержательное планирование эксперимента.

Определение ряда теоретических и экспериментальных положений, образующих теоретическую основу исследования.

Формулировка теоретических и экспериментальных гипотез исследования.

Выбор необходимого метода эксперимента.

Решение вопроса выборки объектов: определение состава выборки, определение объёма выборки, определение способа формирования выборки.

2. Формальное планирование эксперимента.

Достижение возможности сравнения результатов.

Достижение возможности обсуждения полученных данных.
Обеспечение экономичного проведения исследования.

Целью формального планирования считается исключение максимально возможного числа причин искажения результатов.

Виды планов

Простые планы, или однофакторные, предусматривают изучение влияния на зависимую переменную только одной независимой переменной. Преимущество таких планов состоит в их эффективности при установлении влияния независимой переменной, а также в лёгкости анализа и интерпретации результатов. Недостаток заключается в невозможности сделать вывод о функциональной зависимости между независимой и зависимой переменными.

Комплексные планы составляются для экспериментов, в которых изучается либо воздействие нескольких независимых переменных (факторные планы), либо последовательное воздействие различных градаций одной независимой переменной (многоступенчатые планы).

Главными компонентами любого эксперимента являются:

- 1) исследуемый объект;
- 2) экспериментатор (исследователь);
- 3) стимуляция (выбранный экспериментатором раздражитель, направленный на объект);
- 4) ответ объекта на стимуляцию (его реакция);
- 5) условия опыта (дополнительные к стимуляции воздействия на объект, которые могут влиять на результаты эксперимента).

Чтобы свести до минимума неправильное толкование опытов, связанное со сложностью отличить эффекты экспериментальных вмешательств от воздействий других переменных, необходимо ввести *контрольные процедуры*.

Контрольный эксперимент — это опыт, итоги которого сравниваются с результатами основного эксперимента. Необходимость в контроле может возникнуть по разным причинам. Например: 1) обнаружены ошибки в проведении основных опытов; 2) сомнения в точности выполнения процедуры; 3) сомнения в адекватности процедуры гипотезе; 4) появление новых научных данных, противоречащих полученным ранее; 5) стремление к дополнительным доказательствам справедливости принятой в ос-

новном эксперименте гипотезы и преобразованию ее в теорию; б) стремление опровергнуть имеющиеся гипотезы или теории. По степени точности и надежности контрольные эксперименты не должны уступать основным.

Из-за возможных ошибок или вариабельности получаемых результатов, вызванных неконтролируемыми переменными, измерения обычно повторяют и выявляют *среднюю*, или медианную, *величину*.

Статистический анализ обычно используется для оценки степени достоверности наблюдаемых различий между экспериментальными и контрольными группами или условиями опыта. Например, различие между двумя средними традиционно считается значимым (т. е. не случайным), когда вероятность того, что различие на самом деле является истинным, достигается не менее чем в 95 случаях из 100.

Заключительным этапом экспериментальной процедуры является фиксация результатов эксперимента. Уместно привести слова специалиста по психологическому эксперименту Р. Готтсданкера: «Эксперимент не может существовать в уме, факт его проведения оформляется в документах. После эксперимента у исследователя остается одна или несколько тетрадей, в которых содержится буквально все, что об этом эксперименте можно сказать».

Документальной регистрации подлежат все компоненты эксперимента: объект, экспериментатор, стимуляция, результаты и условия опыта. Стимуляция в виде независимых переменных описывается в целом и конкретизируется в качественных и количественных характеристиках, приводимых в протоколе эксперимента.

Условия опыта фиксируются предельно широко и точно. Экспериментатор заранее определяет, что необходимо отнести к важным и строго контролируемым условиям, а чем можно пренебречь, т. е. определяется область дополнительных внешних переменных, требующих строгого контроля. Обязательной фиксации обычно подлежат время (года, суток) проведения опыта, место (географическое и ситуационное), обстановка, акустическая среда, освещенность, используемая аппаратура и специальные устройства и оборудование.

Фиксация результатов эксперимента оформляется протоколом исследования, составляемым экспериментатором. В нем

должны быть отражены все перечисленные сведения о всех основных компонентах исследования. Протокол включает следующие крупные разделы:

- 1) вводную часть, где приводятся основные «паспортные» сведения об эксперименте (тема, цели, задачи, внешние условия);
- 2) основную часть — описание процедуры исследования с исчерпывающей информацией о системе стимулов и ответных реакций, результаты обработки данных;
- 3) обсуждение результатов (интерпретация) и выводы;
- 4) дополнительные сведения, полученные в ходе эксперимента.

1.2. Понятие о биотехнологии

Что такое технология?

Технология — это комплекс практических и научных знаний, что были воплощены в средствах и способах труда, наборах материальных компонентов производства, а также виды их сочетаний, которые создаются, чтобы получить определённый продукт или услугу. Итак, определение технологии, может быть сформулировано следующим образом: *под технологией надо понимать совокупность и последовательность методов и процессов преобразования исходных материалов* — будь то биологические объекты, информация или физические материалы, *позволяющих получить продукцию или услуги с заданными параметрами*. Процесс (от лат. *processus* — «продвижение») — совокупность последовательных действий для достижения какой-либо цели, результата.

Что такое биотехнология?

В традиционном, классическом понимании биотехнология — это наука о методах и технологиях производства различных веществ и продуктов с использованием природных биологических объектов (микроорганизмов, растительных и животных клеток), частей клеток (клеточных мембран, рибосом, митохондрий, хлоропластов) и процессов.

Биотехнология — производство необходимых человеку продуктов и материалов с помощью живых организмов, культивируемых клеток и биологических процессов.

Это важный раздел современной биологии. Она стала, как и физика, одним из основных приоритетов в мировой экономике

и науке в конце XX в. Еще полвека назад никто не знал, что такое биотехнология. В XX в. бурно развивалась генетика и молекулярная биология с использованием достижений физики и химии. В это время важнейшим направлением была разработка методов, с помощью которых можно было бы культивировать клетки животных и растений. В 1980-х гг. произошел всплеск исследований в области биотехнологии. К этому времени были созданы новые методические и методологические подходы, которые обеспечили переход к применению биотехнологий в науке и практике. Появилась возможность извлечь из этого большой экономический эффект. В нашей стране в этот период была разработана и осуществлялась первая программа по биотехнологии общенационального масштаба.

Немного истории

Корни биотехнологии уходят в далёкое прошлое и связаны с хлебопечением, виноделием и другими способами приготовления пищи, известными человеку еще в древности. Например, такой биотехнологический процесс, как брожение с участием микроорганизмов, был известен и широко применялся еще в древнем Вавилоне, о чем свидетельствует описание приготовления пива, дошедшее до нас в виде записи на дощечке, обнаруженной в 1981 г. при раскопках Вавилона.

Наукой биотехнология стала благодаря исследованиям французского ученого, основоположника современной микробиологии и иммунологии Луи Пастера (1822–1895).

В XX в. происходило бурное развитие молекулярной биологии и генетики с применением достижений химии и физики. Важнейшим направлением исследований была разработка методов культивирования клеток растений и животных. И если еще совсем недавно для промышленных целей выращивали только бактерии и грибы, то сейчас появилась возможность не только выращивать любые клетки для производства биомассы, но и управлять их развитием, особенно у растений. Таким образом, новые научно-технологические подходы воплотились в разработку биотехнологических методов, позволяющих манипулировать непосредственно генами, создавать новые продукты, организмы и изменять свойства уже существующих. Главная цель применения этих методов — более

полное использование потенциала живых организмов в интересах хозяйственной деятельности человека.

В 1970-е гг. появились и активно развивались такие важнейшие области биотехнологии, как генетическая (или генная) и клеточная инженерия, положившие начало «новой» биотехнологии, в отличие от «старой» биотехнологии, основанной на традиционных микробиологических процессах. Так, обычное производство спирта в процессе брожения — это «старая» биотехнология, но использование в этом процессе дрожжей, улучшенных методами генной инженерии с целью увеличения выхода спирта, — «новая» биотехнология.

Биотехнология сегодня

Современные процессы в этой области основаны на методах использования рекомбинантных ДНК и иммобилизованных ферментов, клеточных органелл или клеток. Современная биотехнология является наукой о клеточных и генноинженерных технологиях и методах создания и применения трансформированных генетически биологических объектов с целью интенсификации производства либо создания новых видов продуктов.

Выделяются три основных направления.

I. Промышленная биотехнология.

В этом направлении можно выделить как разновидность **красную биотехнологию** (медицину). Она считается самой важной сферой применения биотехнологий. Все большую роль они играют при разработке медикаментов (в частности, для лечения рака). Большое значение биотехнологии имеют также в диагностике. Они применяются, например, при создании биосенсоров, чипов ДНК.

Следующая разновидность промышленной биотехнологии — **биотехнология зеленая**. Она используется, когда осуществляется селекция. Эта биотехнология предоставляет сегодня особые методы, с помощью которых разрабатываются средства против гербицидов, вирусов, грибов, насекомых. Для области зеленой биотехнологии особое значение имеет генная инженерия. С её помощью создаются предпосылки для переноса генов одного вида растений на другие, и таким образом ученые могут влиять на развитие устойчивых характеристик и свойств.

Серая биотехнология используется для охраны окружающей среды. Её методы применяются для очистки канализационных стоков, санации почв, очистки газов и отработанного воздуха, для переработки отходов. Уже многие годы для решения проблемы загрязнения окружающей среды используются биологические методы, разработанные биотехнологами. Так, бактерии родов *Rhodococcus* и *Nocardia* с успехом применяют для эмульгирования и сорбции углеводородов нефти из водной среды. Они способны разделять водную и нефтяную фазы, концентрировать нефть, очищать сточные воды от примесей нефти. Ассимилируя углеводороды нефти, такие микроорганизмы преобразуют их в белки, витамины группы В и каротины.

Некоторые из штаммов галобактерий с успехом применяют для удаления мазута с песчаных пляжей. Получены также генно-инженерные штаммы, способные расщеплять октан, камфору, нафталин, ксилол, эффективно утилизировать сырую нефть. Для извлечения металлов из сточных вод могут широко использоваться штаммы *Citrobacter*, *Zoogloea*, способные накапливать уран, медь, кобальт.

Получены высокоэффективные штаммы *Pseudomonas* и термофильной бактерии *Sulfolobus* для удаления серы из угля; это одна из сложнейших экологических проблем, т. к. при сжигании угля происходит сильное загрязнение окружающей среды серой.

Биотехнология проникает в тяжелую промышленность, где микроорганизмы используются для добычи, превращения и переработки природных ископаемых. В древности первые металлурги получали железо из болотных руд, производимых железобактериями, которые способны концентрировать железо. Эти методы используются для разработки отвалов старых рудников и бедных месторождений, где традиционные методы добычи экономически невыгодны.

Существует и **белая биотехнология** в химической промышленности. Биотехнологические методы в данном случае применяются для безопасного с экологической точки зрения и эффективного производства ферментов, антибиотиков, аминокислот, витаминов, а также алкоголя.

И наконец, последняя разновидность — **синяя биотехнология** — основана на техническом применении различных организмов

и процессов морской биологии. В этом случае в центре исследований биологические организмы, населяющие Мировой океан.

Следующее направление биотехнологии — клеточная инженерия.

Клеточная инженерия

В основе *клеточной инженерии* лежит использование методов культивирования изолированных клеток и тканей на искусственной питательной среде в регулируемых условиях. Она занимается получением гибридов, клонированием, изучением клеточных механизмов, «гибридными» клетками, составлением генетических карт. Начало ее относят к 1960-м гг., когда появился метод гибридизации соматических клеток.

Соматическая гибридизация — это слияние двух различных клеток в культуре тканей. Сливаться могут разные виды клеток одного организма и клетки разных, иногда очень далеких видов, например мыши и крысы, кошки и собаки, человека и мыши,

Культивирование клеток растений стало возможным, когда научились с помощью ферментов избавляться от толстой клеточной стенки и получать изолированный протопласт, который можно культивировать так же, как и клетки животных. Кроме того, можно заставить слиться с протопластом других видов растений и получить в соответствующих условиях новые гибриды. Протопласт является также идеальным реципиентом для чужеродной ДНК, что дает возможность образования генетически модифицированных растений.

Соматическую гибридизацию, при которой гибриды создаются без участия полового процесса, сегодня проводят, культивируя различные клетки линий одного вида или используя клетки разных видов. Гибридомы, т. е. гибриды между лимфоцитами (обычными клетками иммунной системы) и опухолевыми, обладают свойствами клеточных линий родителей. Они способны, подобно раковым, делиться неограниченно долго на питательных искусственных средах (т. е. являются «бессмертными»), а также могут, подобно лимфоцитам, вырабатывать однородные (моноклональные) антитела, обладающие определенной специфичностью. Эти антитела используются в диагностических и лечебных целях, как чувствительные реагенты на органические вещества и др.

Еще одним направлением клеточной инженерии являются манипуляции с клетками, не имеющими ядер, со свободными ядрами, а также с иными фрагментами. Эти манипуляции сводятся к комбинированию частей клетки. Подобные эксперименты вместе с микроинъекциями красителей или хромосом в клетку проводят, чтобы выяснить, как цитоплазма и ядро влияют друг на друга, какие факторы регулируют активность тех или иных генов и проч. С помощью соединения на ранних стадиях развития клеток различных зародышей выращивают так называемых мозаичных животных. Иначе их именуют химерами. Они состоят из 2 видов клеток, различающихся генотипами. Путем данных экспериментов выясняют, как в ходе развития организма происходит дифференцировка тканей и клеток.

Клонирование. Современные биотехнологии немыслимы без клонирования. Термин «клонирование» происходит от английского слова *clone, cloning* (веточка, побег, отпрыск), которое обозначает группу растений (например, фруктовых деревьев), полученных от одного растения-производителя вегетативным (не семенным) способом. Позже название «клонирование» было перенесено на разработанную технологию получения идентичных организмов, именуемую также «замещение клеточного ядра». Организмы, полученные по такой технологии, стали называться клонами.

Опыты, связанные с пересадкой ядер различных соматических клеток в энуклеированные (т. е. лишенные ядра) яйцеклетки животных с дальнейшим выращиванием во взрослый организм получившегося зародыша ведутся уже не одно десятилетие. Однако они получили очень широкую известность с конца XX в., мы называем такие опыты клонированием животных. Мало кому не знакома сегодня овечка Долли. В 1996 г. около Эдинбурга (Шотландия) в Рослинском институте было осуществлено первое клонирование млекопитающего из клетки взрослого организма. Именно овечка Долли стала этим клоном. В конце 1990-х гг. XX в. стала очевидной возможность применения данной технологии для получения генетически идентичных человеческих индивидов, т. е. стало реальным клонирование человека.

Очень важное направление клеточной инженерии связано с ранними стадиями эмбриогенеза. Например, оплодотворение яйцеклеток в пробирке позволяет преодолевать некоторые рас-

пространенные формы бесплодия у человека. У сельскохозяйственных животных с помощью инъекции гормонов удается получить от одной коровы-рекордистки десятки яйцеклеток, оплодотворить их в пробирке спермой породистого быка, а затем имплантировать в матку других коров; в результате один ценный экземпляр дает в 10 раз больше потомства, чем это было возможно обычным путем.

Культуру растительных клеток выгодно использовать для быстрого размножения медленно растущих растений — женьшеня, маслиной пальмы, малины, персиков и др. Так, при обычном разведении куст малины дает не более 50 отростков в год, а с помощью культуры клеток можно получить более 50 тыс. растений. При таком разведении иногда вырастают растения более продуктивные, чем исходный сорт. Так были выведены новые ценные сорта картофеля, грейпфрута и т. д.

Генная инженерия

Генная (генетическая) инженерия — раздел молекулярной генетики, связанный с целенаправленным созданием новых молекул ДНК, способных размножаться в клетке-хозяине и осуществлять контроль за синтезом необходимых метаболитов клетки. Появившись в начале 1970-х гг., генная инженерия сегодня добилась значительных успехов. Её методы преобразуют клетки млекопитающих, дрожжей, бактерий в настоящие «фабрики» для производства любого белка. Такое достижение науки предоставляет возможность детально изучить функции и структуру белков для того, чтобы использовать их как лекарственные средства. Кишечная палочка, например, стала в наше время поставщиком таких важных гормонов, как соматотропин и инсулин.

Прикладная генная инженерия ставит перед собой цель конструирования рекомбинантных молекул ДНК. При внедрении в определенный генетический аппарат они могут придавать организму полезные для человека свойства. К примеру, можно получать «биологические реакторы», т. е. животных, растения и микроорганизмы, которые продуцировали бы вещества, фармакологически важные для человека.

Достижения биотехнологии обеспечили возможность выведения пород животных и сортов растений с признаками, ценными для людей.

Растения и животные, геном которых изменен путем генно-инженерных операций, получили название *трансгенных растений* или *трансгенных животных*.

Уже получены трансгенные мыши, кролики, свиньи, овцы, в геноме которых работают чужеродные гены различного происхождения, в том числе гены бактерий, дрожжей, млекопитающих, человека, а также трансгенные растения с генами других, неродственных видов. Трансгенные организмы свидетельствуют о больших возможностях генной инженерии как прикладной ветви молекулярной генетики. Например, в последние годы получено новое поколение трансгенных растений, для которых характерны такие ценные признаки, как устойчивость к гербицидам, к насекомым и др.

Сегодня методы генной инженерии позволили осуществить синтез в промышленных количествах таких гормонов, как инсулин, интерферон и соматотропин (гормон роста), которые необходимы для лечения ряда генетических болезней человека — сахарного диабета, некоторых видов злокачественных образований, карликовости.

Биотехнология решает не только конкретные задачи науки и производства. У нее есть глобальная методологическая задача — она расширяет и ускоряет масштабы воздействий человека на живую природу и способствует адаптации живых систем к условиям существования человека, т. е. к ноосфере. Биотехнология, таким образом, выступает в роли мощного фактора антропогенной адаптивной эволюции.

Некоторые этические и правовые аспекты применения биотехнологических методов

Современные биотехнологические методы обладают настолько мощным и не до конца изученным потенциалом, что их широкое применение возможно только при строгом соблюдении этических норм.

Новейшие биотехнологии создают огромные возможности вмешательства в жизнедеятельность живых организмов и неиз-

бежно ставят человека перед нравственным вопросом: до какого предела допустимо вторжение в природные процессы? Любая дискуссия по биотехнологической проблематике не ограничивается научной стороной дела. Практика показывает, что эти дискуссии абсолютно необходимы не только для более полного понимания всех «плюсов» и «минусов» применения методов, вторгающихся в личную жизнь человека уже на уровне генетики. Они позволяют также обсудить морально-этические аспекты и определить отдаленные последствия применения биотехнологий, что, в свою очередь, помогает законодателям создавать адекватную правовую базу, регулирующую данную сферу деятельности в интересах защиты прав личности.

Глава 2. БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОЭТИКА

2.1. Основные этапы, состояние и перспективы развития биотехнологий в современном мире

История развития биотехнологии условно делится на три последовательных этапа.

Первый этап включает развитие биотехнологии в историческом аспекте. При раскопках древних поселений в Месопотамии, Египте и Греции были обнаружены остатки больших и малых пекарен и пивоварен. Известно, что уже шумеры умели делать пиво, причем ассортимент его был довольно широк (около двадцати различных сортов). На территории Древней Греции и Римской империи было развито виноделие, производство сыра, изготовление льняного волокна, которое происходило с участием микроскопических грибов и бактерий.

В конце XIX в. развитие биотехнологии вступило во второй этап, она начала развиваться, как наука. Появились первые ученые — генетики, микробиологи и вирусологи. Это было время великих научных свершений: открытие структуры белков, применение вирусов при изучении генетики клеточных организмов и др. В начале XX в. биотехнология стала формироваться как научно-техническая отрасль, уже производящая препараты. Были созданы установки по производству метана, отходы сельскохозяйственного производства превращались в биологический газ и органическое удобрение. В середине XX в. появились предприятия, которые с помощью микроорганизмов начали производить аминокислоты, витамины, органические кислоты, ферменты, антибиотики. Конец XX в. ознаменовался развитием генной и клеточной инженерии, что называют началом третьего этапа развития биотехнологии.

Биотехнология — это постоянно и динамично развивающаяся наука. Фактическим датой рождения современной биотехнологии как науки считают 1972 г., время создания первой гибридной ДНК, в которую встроили чужеродные гены.

Основа биотехнологии — это генетическая (клеточная) инженерия и биохимия. Развитие клеточной инженерии считается одним из самых перспективных направлений. Ученые проводят

культивирование клеток микроорганизмов, растений и животных, осуществляют такие манипуляции, как слияние клеток, пересадку органоидов. К основным направлениями развития биотехнологии также относят:

- создание новых видов продуктов питания и животных кормов, их производство;
- выведение новых штаммов полезных микроорганизмов;
- создание новых пород животных и выведение новых сортов растений;
- создание и применение препаратов по защите растений от болезней и вредителей;
- применение новых биотехнологических методов защиты окружающей среды. Например, создание новых биodeградируемых полимеров, имеющих большое преимущество в сравнении с популярными ныне пластмассам. Биополимеры нетоксичны, могут разлагаться после применения, не загрязняя при этом окружающее пространство;
- развитие природоохранных биотехнологий, в частности биоэнергетики;
- производство биологически активных соединений: ферментов, витаминов гормонов и антибиотиков.

Развитие биотехнологий в России. Говоря о развитии биотехнологий в России, приходится учитывать длительный период упадка и деградации научных учреждений. Сейчас, после нескольких лет интенсивного роста, российские биотехнологии представлены на мировом рынке в количестве 0,1 %, тогда как в 1985 г. СССР имел долю 5 % на рынке продукции, относимой к биотехнологиям. Это медицинские препараты, ферменты, гормональные препараты, чистые линии микроорганизмов, используемых в научных исследованиях, сельскохозяйственном производстве и очистке окружающей среды от вредных отходов.

Интересна судьба самого громкого и скандального проекта, ставшего достоянием гласности в конце 1980-х гг. Это белково-витаминные концентраты (БВК), получаемые из парафинов нефти при использовании специально выведенных бактериальных культур. В прессе был поднят шум, тему обсуждали эмоционально, общественность требовала закрытия «вредного про-

екта». Однако работа была уже сделана — бактерии, питающиеся нефтепродуктами, существовали. Для них нашлась полезная функция: очистка воды и земли от разлившейся нефти. Сейчас вода в морских и речных портах содержит значительно меньше нефтепродуктов, чем в 1970–1980-е гг., благодаря их биологическому разложению. При помощи прожорливых бактерий на предприятиях очищают территорию от мазута и других нефтепродуктов. Трудно переоценить пользу от этих микроорганизмов, ведь нефтяная пленка в XX в. грозила погубить моря и океаны! Производство белковой продукции из нефти не было поставлено на поток, но польза от данной биотехнологии несомненна. В 2012 г. российское правительство значительно увеличило государственное финансирование научных исследований в этой отрасли. Интересно, что ряд проектов осуществляется на общественные пожертвования. К таким проектам относится исследование микрофлоры кишечника и на основе результатов — научно разработанные рекомендации по питанию, физическим нагрузкам, образу жизни. Эта тема популярна как в России, так и во всём мире.

Развитие биотехнологии до 2020 года. Перспективы биотехнологии на ближайшее будущее можно разделить на рекламные и научно обоснованные. К широко разрекламированным проектам относятся, например, «таблетки молодости» — их обещают выпустить на рынок как раз к 2020 году. Однако скептики говорят, что таких сенсаций было много, начиная со времен алхимии.

Более реалистично выглядит 3D-принтер («биопринтер»), наносящий клеточные культуры на матрицу с питательным раствором и формирующий искусственные органы для трансплантации. Еще один медицинский проект — лечение тяжелых ожогов путем нанесения на пораженный участок стволовых клеток, которые в считанные дни образуют новую кожу. Генетический «ремонт» — направление, которое развивается и будет развиваться, и в него вкладываются большие деньги. На исследования в этих направлениях направляются огромные средства, прежде всего в США.

Компании, занимающиеся биотехнологиями. Лидерами в области биотехнологий являются фармацевтические фирмы США, Китая, Индии, Европы.

Биотехнологии условно подразделяют на группы:

- красная биотехнология, связанная с медициной и «лечением» генетического кода, на рынке биотехнологий ей принадлежит доля более 70 %;

- зеленая биотехнология: генная инженерия, работающая для сельского хозяйства;

- белая биотехнология: производство биотоплива;

- серая биотехнология: защита экологии, борьба с отходами;

- синяя биотехнология: использование биологических ресурсов океана.

Лидеры красной биотехнологии — американские фирмы Genentech, Novartis, Merck&Co, Pfizer, Johnson & Johnson, Sanofi. В области разработки и производства ГМО лидирует транснациональная компания Monsanto Company. Белая, серая, синяя биотехнологии существенно отстают от лидеров. Их полезная деятельность дает не слишком быстрый экономический эффект, поэтому в списках лидеров они не значатся.

Чем объясняется бурное развитие биотехнологии? Современные биотехнологии сыграют большую роль в экономическом росте стран и качественном улучшении жизни человека. Посредством биотехнологий получают новые средства для диагностики, вакцины, продукты питания, лекарства. Биотехнология помогает в увеличении урожайности всех злаковых культур, что более чем актуально, принимая во внимание рост численности населения нашей планеты. В некоторых странах, где значительные объемы биомассы не используются полностью, биотехнология в обозримом будущем превратит их в ценные продукты или в биологические виды топлива. Биотехнология все больше перестает быть прикладной наукой, она активно входит в обычную жизнь людей, помогая решать насущные проблемы современного человечества.

Современные биотехнологии привлекают внимание инвесторов во всем мире и в нашей стране. Эксперты и аналитики прогнозируют, что биотехнологии станут самым динамично развивающимся и самым прибыльным бизнесом XXI в.

2.2. Этические аспекты развития биотехнологических методов

В связи с бурным развитием биотехнологий сейчас возникают серьёзные этические споры о генной медицине, о клонировании организмов, об исследовании стволовых клеток, о «биопринтере» и др. Высказываются опасения: вдруг возникнет тенденция выращивания клонов в качестве «идеальных доноров»?

Впрочем, на пути многих амбициозных и не слишком щепетильных в нравственном отношении проектов возникают препятствия, создаваемые самой природой. Фантастические успехи от применения стволовых клеток для лечения и омоложения — и их перерождение в злокачественные опухоли; рождение клонированных животных — и их ранняя смерть, слабое здоровье. Живая материя по-прежнему непостижима, несмотря на успехи в её познании, и пределы человеческого вмешательства в её основы ограничены.

Активное внедрение биотехнологий в медицину и генетику человека привело к появлению специальной науки — биоэтики. *Биоэтика* — наука об этическом отношении ко всему живому, в том числе и к человеку.

Использование современных биотехнологий ставит перед человечеством много серьёзных вопросов. Не может ли ген, встроенный в трансгенные растения томата, при съедании плодов мигрировать и встраиваться в геном, например, бактерий, живущих в кишечнике человека? Не может ли трансгенное культурное растение, устойчивое к гербицидам, болезням, засухе и другим стрессовым факторам, при перекрестном опылении с родственными дикими растениями передать эти же свойства сорнякам? Не получатся ли при этом «суперсорняки», которые очень быстро заселят сельскохозяйственные земли? Не попадут ли случайно мальки гигантского лосося в открытое море, и не нарушит ли это баланс в природной популяции? Способен ли организм трансгенных животных выдержать ту нагрузку, которая возникает в связи с функционированием чужеродных генов? И имеет ли право человек переделывать живые организмы ради собственного блага?

Эти и многие другие вопросы, связанные с созданием генетически модифицированных организмов (ГМО), широко обсуж-

даются специалистами и общественностью всего мира. Созданные во всех странах специальные контролирующие органы и комиссии утверждают, что, несмотря на существующие опасения, вредного воздействия ГМО на природу зафиксировано не было.

В 1996 г. Совет Европы принял Конвенцию о правах человека при использовании геномных технологий в медицине. Центральное внимание в документе уделено этике применения таких технологий. Утверждается, что ни одна личность не может быть подвергнута дискриминации на основе информации об особенностях её генома.

Введение в клетки человека чужеродного генетического материала может иметь отрицательные последствия. Неконтролируемое встраивание чужой ДНК в те или иные участки генома может привести к нарушению работы генов. Риск использования генотерапии при работе с половыми клетками гораздо выше, чем при использовании соматических клеток. При внесении генетических конструкций в половые клетки может возникнуть нежелательное изменение генома будущих поколений. В связи с этим в международных документах ЮНЕСКО, Совета Европы, Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) подчеркивается, что всякое изменение генома человека может производиться лишь на соматических клетках.

Пожалуй, наиболее серьезные вопросы возникают в связи с теоретически возможным клонированием человека. Исследования в области человеческого клонирования сегодня запрещены во всех странах в первую очередь по этическим соображениям. Становление человека как личности базируется не только на наследственности. Оно определяется семейной, социальной и культурной средой, поэтому при любом клонировании воссоздать личность невозможно, как невозможно воспроизвести все те условия воспитания и обучения, которые сформировали личность его прототипа (донора ядра). Все крупные религиозные конфессии мира осуждают любое вмешательство в процесс воспроизводства человека, настаивая на том, что зачатие и рождение должно происходить естественным путем.

Эксперименты по клонированию животных поставили перед научной общественностью ряд серьезных вопросов, от решения которых зависит дальнейшее развитие этой области науки. Овеч-

ка Долли не была единственным клоном, полученным шотландскими учеными. Клонов было несколько десятков, а в живых осталась только Долли. В последние годы совершенствование техники клонирования позволило увеличить процент выживших клонов, но их смертность все еще очень высока. Однако существует проблема еще более серьезная с научной точки зрения. Несмотря на победное рождение Долли, остался неясным её реальный биологический возраст, связанные с ним проблемы со здоровьем и относительно ранняя смерть. По мнению ученых, использование ядра клетки немолодой шестилетней овцы-донора сказалось на судьбе и здоровье Долли.

Необходимо существенно повысить жизнеспособность клонированных организмов, выяснить, влияет ли использование конкретных методик на продолжительность жизни, здоровье и плодовитость животных. Очень важно свести к минимуму риск дефектного развития реконструированной яйцеклетки.

Нормы этики выдвигаются сейчас на первый план. Те нравственные заповеди, которыми человечество пользуется века, к сожалению, не предусматривают новых возможностей, приносимых в жизнь современной наукой. В связи с этим людям необходимо обсуждать и принимать новые законы, учитывающие новые реальности жизни.

Человек, решая проблемы своего существования, не может обходиться без экспериментирования на живых организмах. Однако этический принцип почтительного отношения к жизни возлагает на него долг защиты подопытных животных.

Этические проблемы экспериментирования на животных являются результатом конфликта между правом, предъявляемым человеком на использование животных, и долгом не злоупотреблять этим правом, этическими принципами уважения жизни и воздержания от действий, причиняющих боль и страдания.

Вопрос о допустимости экспериментов на животных является очень сложной нравственной проблемой в области взаимоотношения человека и животных. Этот вопрос не решен окончательно, он широко дискутируется.

В настоящее время существуют две противоположные точки зрения. Согласно первой, «антропоцентрической», человек, являясь венцом мироздания, имеет неограниченное право использо-

вать животных в своих интересах, в том числе и при проведении биологических и медицинских исследований. Согласно второй точке зрения, «биоцентрической», окружающий нас животный мир имеет равные с человеком права и не может быть объектом эксплуатации. В ряде стран сформированы общественные структуры, активно выступающие за строгое ограничение экспериментов на животных вплоть до полного их прекращения.

Ежегодно в мире в процессе биомедицинских исследований погибает около 200 млн лабораторных животных.

Количественные соотношения использования экспериментальных животных для различных областей примерно таковы: медицина — 60–70 % (в основном тестирование на безопасность лекарственных средств), фундаментальные научные исследования — 20–30 %, тестирование токсичности в других областях, помимо медицины, — 5–10 %, сфера образования — 0,5–1 % (рис. 1). Практически все лауреаты Нобелевской премии по физиологии и медицине с 1901 г. полагались на данные, полученные в ходе исследований на животных.

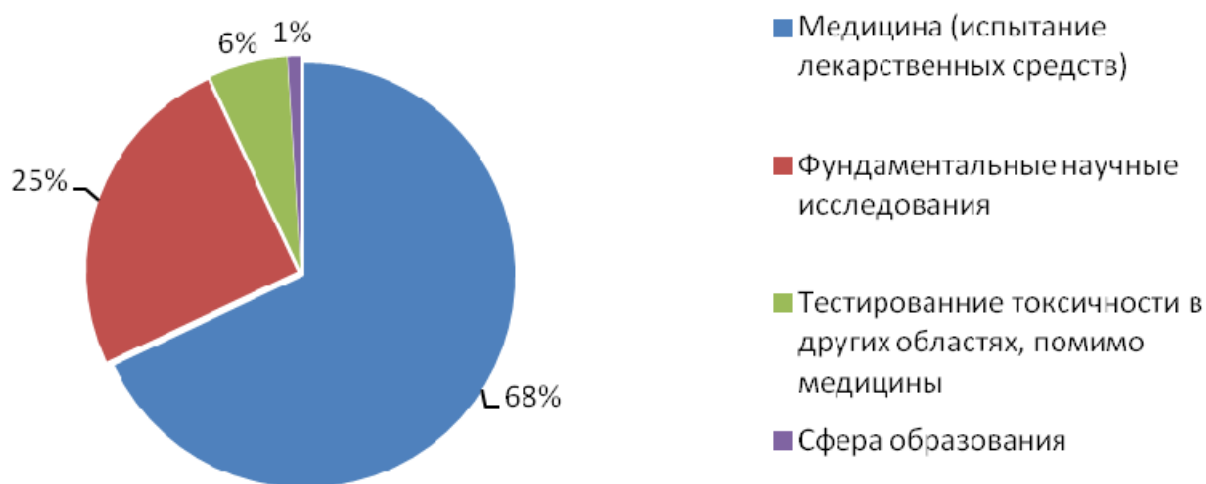


Рис. 1. Количественные соотношения использования животных в экспериментах в различных областях, %

Эксперимент на животных необходим в ряде случаев:

- когда изучаются популяции животных;
- когда по условиям опыта необходимо изучить реакцию целостного организма, взаимовлияние органов и систем, последовательность выхода из строя (или излечения) различных органов и систем;

- при проведении заключительных опытов по отработке новых методик хирургических вмешательств;
- при необходимости изучить отдельные результаты воздействия;
- когда органы и системы животного не могут быть изолированы;
- для исследований на изолированных органах;
- когда животных используют для получения биологических препаратов (вакцины, сыворотки и т. п.).

Сегодня в научном сообществе практикуется частичная замена экспериментов на животных опытами на клеточных структурах или виртуальных моделях, но полностью отказаться от них пока невозможно.

2.3. Формирование этических взглядов в экспериментальной физиологии

Проблема регламентации экспериментов на животных привлекает все большее внимание и объединяет не только биологов и медицинских работников, но и специалистов из других сфер — философов, социологов, педагогов, психологов, юристов, а также представителей широкой общественности. Эта достаточно серьезная проблема имеет свою историю.

Биомедицинские эксперименты с использованием животных известны со времен Древней Греции, Римской империи, а также ранней арабской медицины. В античном периоде различают два этапа в развитии биомедицинских знаний: доалександрийский и александрийский. Наиболее ярким представителем доалександрийского периода является философ и врач Алкмеон из Кротонны (500–450 гг. до н. э.). Он широко использовал вскрытия животных, т. к. вскрытие человеческих трупов не допускалось, исключения составляли трупы преступников или исследования органов, извлеченных у раненых бойцов, гладиаторов, смертельно больных людей и рабов. Будучи врачом, Алкмеон изучал сравнительную анатомию животных и человека, используя бодрствующих животных в качестве моделей. Как и многие медики того времени, Алкмеон был философом. Последователь пифагорейской школы, он признавал бессмертие души. Работы Алкмеона

оказали большое влияние на развитие греческой медицины. Позднее Гиппократ (460–377 гг. до н. э.) первым отделил медицину от философии. Гиппократ и его современники, широко используя вскрытия животных, описали кости черепа, сосуды, нервы, открыли воротную вену (Эмпедокл), оболочки мозга (Аристофан), аорту и желудочки сердца (Диоген). Врачебные наблюдения позволили Гиппократу выделить четыре типа характера — холерики, флегматики, сангвиники, меланхолики, и это деление использовалось на протяжении последующих веков. И. П. Павлов применил этот принцип для выявления и систематизации общих типов высшей нервной деятельности животных и человека. Следуя идущей от Алкмеона пифагорийской традиции, Платон (428–347 гг. до н. э.) разрабатывал теорию зрения и чувств. Душа, по Платону, является связующим звеном между божественным миром идей и чувственным миром. Особое значение Платон придавал мозгу, который является местом пребывания бессмертной души, а две другие части души расположены в сердце и в области живота и имеют смертную природу. Аристотель (384–322 гг. до н. э.) — основоположник ряда наук, в том числе и биологии, — признавал прогрессивное усложнение жизни от растений к человеку и развивал антропоцентрическую направленность в этике.

В Александрийскую эпоху (300–200 гг. до н. э.) в медицине экспериментировали на козах, свиньях, а также преступниках, приговорённых к смерти. Вивисекцию на людях оправдывали следующей логикой: «возможно подвергать мучениям нескольких виновных — мучениям, которые должны послужить пользе для массы невинных на протяжении всех веков». При хирургических операциях и глубоких ранениях врач того времени, по словам К. Бернара, продлевал страдания пациента ради того, чтобы продемонстрировать своим ученикам какие-либо частности человеческой анатомии. «Однако в наше время этика справедливо осудила бы самым решительным образом, — пишет К. Бернар — всякий опыт на человеке, который мог бы повредить пациенту или не имел бы целью явной и непосредственной пользы».

Большие успехи в развитии анатомии и физиологии были достигнуты во II веке н. э. в связи с деятельностью Клавдия Галена (130–200 гг. н. э.) — знаменитого римского врача и ученого, который собрал и обобщил всю анатомическую литературу Древ-

ней Греции и Древнего Рима. Теоретические обоснования медико-биологических взглядов Галена во многом покоились на учении Алкмеона, Гиппократов, Аристотеля, а также ученых Александрийской школы. Исследования Галена в области изучения организма животных и человека являлись огромным сдвигом в развитии биомедицинской науки. Гален изучал анатомию овец, быков, свиней, собак, медведей и многих других позвоночных. Однако Гален проводил эксперименты и на бодрствующих животных. Он чаще всего оперировал на свиньях и обезьянах, в частности мартышках (*Macacus ecaudatus*), и объяснял это тем, что эти животные по анатомическому строению органов наиболее приближаются к человеку.

Культовые законы римлян запрещали вскрытие умерших, тем не менее есть сведения о том, что Гален изучал анатомию человека на раненых гладиаторах, на мертвых младенцах, на трупах погибших во время войны. Эти исследования привели к некоторым правильным заключениям. Но этот способ исследования скоро должен был оказаться недостаточным. Естественно, что даже некоторые древние исследователи нашли необходимым рассекать и живых животных, т. е. «рассматривать машину на ходу». Таким образом, рядом с рассечением трупов возникло и живосечение.

В античный период, когда жестокие эксперименты иногда проводились даже на людях, не могло быть и речи о защите экспериментальных животных. Все же элементы социокультурного влияния на использование животных в эксперименте имели место. Так, публично Гален не производил операций на обезьянах, мотивируя это тем, что вид этих животных, их гримасы во время операций и то, как они выражают свои страдания, производят тягостное впечатление на присутствующих. Демонстративные операции Гален проводил на маленьких свиньях, которые послужили Галену основным объектом изучения мышечной системы, костей и суставов, пищеварения, физиологии мочеточников, движения, зрения, дыхания, кровеносной системы и др.

С крушением античного мира и установлением феодализма в Средние века (V–XV) в Западной Европе стали господствовать религиозные догмы. Главной чертой средневекового теологического мышления являлось представление о центральном положении Земли в солнечной системе, а человеку приписывалось цен-

тральное положение во Вселенной. Отсюда и усиление антропоцентрической направленности в этике. Христианский взгляд основан на постулате, что человек, и только человек, существует, а животное — это только теологический символ. Если в Античности превалировало стремление к знанию, то в Средние века проявляется ярко выраженная тенденция перехода от знания к вере, от разума к воле. Религия средневековой Европы сдерживала развитие науки и всякое стремление к экспериментальному изучению живой природы. Рассечение трупов животных и живосечение были запрещены. Однако на южном побережье Средиземного моря, в Северной и Малой Азии в то время процветали арабские научные школы, продолжалось освоение достижений античных врачей, уделялось большое внимание фармакологии. Постулаты Корана запрещали изучение трупов, поэтому арабские медики использовали животных, в том числе и бодрствующих животных, для оценки действия лекарств. В странах Европы на пороге XII и XIII вв. активизируется философское мышление. Значительную поддержку антропоцентризм Аристотеля получил в лице католического религиозного философа XIII в. Фомы Аквинского (1125–1274 гг.). В книге «Сумма теологии» Фома Аквинский утверждает, что растения и животные неразумны и существуют ради пользы человека. Аквинский считал, что так как животные неразумны, то распространять сострадание на них неправильно. Лишь с изменением социально-экономических отношений в Западной Европе, в период становления и развития капитализма началось быстрое развитие естественных наук.

В эпоху Возрождения вызревают капиталистические общественные отношения, начинается новый этап эволюции научного знания. Анатомические исследования в XVI в. приобрели широкий практический интерес. Сохранение здоровья и жизни моряков, солдат, рабочих становилось важнейшим условием победы в экономическом соперничестве. Для этого требовались знающие и умелые врачи, обладающие необходимой анатомической подготовкой. Нужен был сильный и одухотворенный лидер. Им стал молодой профессор анатомии Падуанского университета А. Везалий. Многочисленные работы на трупах позволили Везалию написать 7 книг о строении человеческого тела. Будучи гениальным анатомом и теоретиком, Везалий понимал значение метода сравнения

для расшифровки структуры и функций органов, поэтому очень часто обращался к экспериментальным животным. Началось развитие непосредственно экспериментальной биологии и медицины. В 7-й книге анатомического труда Везалия глава 19 посвящена вивисекции на животных. У Везалия в анатомическом зале всегда рядом с вивисекционным столом, на котором он проводил рассечение трупа, стоял стол для опытов на животных. Он проводил опыты на собаках, свиньях, овцах, коровах, козах, обезьянах. Везалий убедительно доказал, что каждый, кто хочет учиться, должен наблюдать, экспериментировать, проверять.

В 1628 г. У. Гарвей опубликовал на латинском языке результаты своих экспериментальных исследований на животных в фундаментальном труде «Анатомическое исследование о движении сердца и крови у животных». И. П. Павлов во вступительном слове к книге Гарвея, изданной на русском языке в 1927 г., писал: «Эта книжка есть одно из великих творений английского ума, врач Гарвей подметил одну из важнейших функций организма — кровообращение — и тем заложил фундамент новому отделу точного человеческого знания — физиологии животных. При физиологических исследованиях неизбежна вивисекция, т. е. наблюдение и опыт на живом животном, подвергнутом в большей или меньшей степени рассечению. При чтении книжки становится несомненным, что Гарвей выдвинулся своей мыслью над сотнею других, и часто малых, голов в значительной степени благодаря тому, что главным образом имел дело не с трупами — машинами, прекратившими свою работу и разрушившимися, а с живыми организмами — машинами на ходу, в работе». Гарвей изучал анатомию 60-ти различных видов беспозвоночных и позвоночных (млекопитающих, птиц, рыб, ящериц, лягушек) животных.

Важнейшим событием эпохи Возрождения было формирование Р. Декартом (1596–1650 гг.) теории рефлекса (1644 г.). Декарт считал животных самодвижущимися машинами, а реакцию животного на боль простым ответным рефлексом, напоминающим действия автомата. Ибо у животных, по Декарту, нет души, они не способны рационально мыслить, и только человек может сказать «я мыслю, значит, я существую». Однако философы Дж. Локк (1632–1704 гг.) и Д. Юм (1711–1776 гг.) на основании эмпирических наблюдений не находили, что животные подобны машинам.

Вольтер (1694–1778 гг.) также не разделял механистические взгляды Декарта на животных. Декарт допускал использование животных в экспериментальных исследованиях, Локк считал причинение животным боли и смерти морально ошибочным.

Идея о рефлексе как основном принципе деятельности живого организма, высказанная Декартом, явилась основой творчества многих последующих поколений физиологов, занимающихся изучением нервной системы. Она не только стимулировала развитие экспериментальной нейрофизиологии, но и возбудила философскую мысль и общественное сознание, способствовала развертыванию дискуссии относительно понимания чувств, сознания и прав животных.

С открытием Гарвеем замкнутой системы кровообращения начинается научная физиология, а после описания Декартом рефлекторного принципа работы нервной системы активизировались исследования в области физиологии нервной системы.

В России анатомо-физиологические исследования начались в XVIII в. В 1725 г. в Петербургской Академии наук была организована кафедра анатомии и физиологии. На медицинском факультете Московского университета физиологию начали преподавать в 1765/1766 учебном году. Первая независимая физиологическая лаборатория была организована Ф. В. Овсянниковым в Петербургской Академии наук в 1862 г. В конце XIX — начале XX в. формируются физиологические школы в Москве, Петербурге, Харькове, Казани. В 1890 г. в России был основан первый НИИ медико-биологического профиля — знаменитый Институт экспериментальной медицины (Санкт-Петербург), в физиологическом отделе которого были выполнены классические исследования И. П. Павлова по физиологии и патологии пищеварения, удостоенные в 1904 г. Нобелевской премии.

Значительный интерес для анализа развития этических представлений в экспериментальной физиологии животных представляет позиция Иммануила Канта (1724–1804 гг.). Кант прослеживает мысль, что животные есть часть неразумной природы. Он пишет: «В отношении прекрасного, хотя и неживого в природе, склонность к разрушению (*spiritus destructionis*) противна долгу человека перед самим собой». Однако, по мнению философа, что касается живого, то жестокое отношение к животным «еще более

противно долгу человека перед самим собой». Согласно Канту, если судить исходя из одного лишь разума, то у человека нет иного долга, как долг перед человеком (перед самим собой или другим). Отрицая обязанности перед животным, вместе с тем Кант отстаивал культуру сочувствия к животным как обязанность человека перед самим собой, как необходимое условие нравственного достоинства человеческой личности. «Мучительные же физические опыты, в интересах лишь одной спекуляции, если цель могла бы быть достигнута и без них, отвратительны».

Гуманное отношение к животным, по Канту, необходимо самому человеку и обществу, т. к. жестокое обращение с животными притупляет сочувствие человека к их страданиям и ослабляет и постепенно уничтожает естественные задатки, очень полезные для моральности в отношениях с другими людьми, хотя человек имеет право на быстрое и (совершаемое без мучений) умерщвление животных или на то, чтобы заставлять их работать напряженно, но не сверх сил (с такого рода работой и людям приходится мириться). Человек, лишенный чувства сострадания, «нравственно мертв». Отношение к животным у И. Канта сочетается с эстетикой и долгом человека перед самим собой. По Канту, животные не осознают себя и поэтому являются только средствами. Этика Канта есть этика долга, а долг свойствен только человеку. Исторически деонтология (*deon* — долг, обязанность) ассоциируется с работами Канта.

Этические и эстетические взгляды И. П. Павлова в отношении к живой природе имеют много общего со взглядами Канта. Павлов призывал экспериментаторов гуманно относиться к животным, указывал на то, что, помимо этического мотива («натуральное чувство жалости»), есть еще эстетический мотив для бережливого отношения к живым организмам. Павлов писал: «Но у вивисекторов есть еще мотив с бережливостью относиться к живым организмам. Нельзя равнодушно и грубо ломать тот механизм, глубокие тайны которого держат в плену вашу мысль долгие годы, а то и всю жизнь. Если развитой механик часто отказывается от прибавления или видоизменения какого-нибудь тонкого механизма, мотивируя это тем, что такую вещь жалко портить, если художник благоговейно боится прикоснуться кистью к художественному произведению великого мастера, то как

того не чувствовать физиологу, стоящему перед неизмеримо лучшим механизмом и недостижимо высшим искусством живой природы». В отличие от Канта, Павлов оправдывал вивисекцию не только для решения практических задач, но и для развития теории. Взгляды И. Канта и И. П. Павлова ценны тем, что они акцентируют внимание на долге человека перед самим собой, что может служить мощным этическим регулятором при регламентации научных экспериментов на животных.

Таким образом, историю экспериментальной биологии и медицины можно разбить на три этапа. Первый этап начинается со времени деятельности анатома Андреаса Везалия в XVII в. и занимает два столетия. Это период экспериментирования на животном без обезболивания, обезболивающие препараты были открыты только в начале XIX в. Такие эксперименты отличались чрезвычайной жестокостью. В эту эпоху общественное мнение практически не высказывалось по поводу жестокостей вивисекции, хотя отдельные писатели и ученые выражали свое негодование в адрес вивисекторов. Вторым этапом развития экспериментальной биологии и медицины следует считать XIX в., когда начались выступления общественности, с позиций этики осуждавшей проведение экспериментов. В XIX в. началось движение в защиту животных. Были созданы первые организации, направленные против жестоких экспериментов и требовавшие их прекращения. В 1876 г. в Великобритании был принят первый в мире закон в защиту экспериментальных животных, регламентирующий работу с ними, предписывающий использование обезболивающих препаратов. Однако болезненные эксперименты продолжались. Третьим этапом развития медико-биологического эксперимента является XX в. Для современной эпохи характерно, что критика эксперимента на животных стала более жесткой и ведется не только в нравственном плане, но и с позиций науки. Все исследования с использованием экспериментальных животных должны проводиться с соблюдением определённых нравственных норм. Это показатель цивилизованности страны.

2.4. Этические и законодательные требования к экспериментам на животных

Первые законодательные акты, защищающие животных от жестокости, появились в Европе в начале XIX в. Первый закон был принят в Великобритании в 1822 г., затем во Франции и в Германии. Во второй половине XIX и в начале XX в. такие законы приняли почти во всех европейских странах и США.

Самые элементарные представления о физиологических функциях человека, которые ныне воспринимаются как нечто само собой разумеющееся, возникли на основе данных, которые были получены в экспериментах на животных. Многие из них, особенно те, которые были проведены в эпоху до появления наркоза, сегодня были бы расценены как негуманные, неоправданно жестокие. Именно такого рода исследования и дали толчок к возникновению движения против vivisection и созданию обществ по защите животных. Законы о защите животных от жестокости легли в основу сложной системы нормативных и законодательных актов, регламентирующих использование животных в биомедицинских экспериментах во многих странах мира.

Во всех развитых странах мира общественность с давних пор активно борется за гуманное отношение к экспериментальным животным. Многие выдающиеся ученые, писатели и общественные деятели активно поддерживали эту борьбу. Среди них Ч. Дарвин, Б. Шоу, В. Гюго, Э. Сетон-Томпсон, И. Бентам, Р. Бернс, Д. Меридит, Д. Голсуорси, Л. Толстой и многие другие. Великобритания и здесь стала первой страной в мире, которая под воздействием английского общества по борьбе с vivisection приняла в 1876 г. закон о защите экспериментальных животных. Закон требовал обязательного использования анестезии при болезненных экспериментах на животных.

Более ста лет назад Московское отделение Российского общества покровительства животным подготовило свои предложения для административного регулирования экспериментов на животных. Эти предложения приведены в книге П. В. Безобразова «Права животных» (1903 г.). Они до сих пор не потеряли своей значимости, поскольку поражают проработанностью и пригодностью для нашего времени.

«1. Желательно, чтобы помещения, в которых содержатся собаки и другие животные, употребляемые или предназначенные для опытов, не были окружены той таинственностью, в которой они находятся теперь; чтобы они были известны и доступны осмотру городских санитарных попечителей и участковых попечителей Общества Покровительства Животным; чтобы они, как и вообще помещения для животных, употребляемых для других целей, были обязательно светлые, чистые, достаточно просторные, и чтобы корм для опытных животных был свежий и в достаточном количестве; чтобы при несоблюдении этих условий виновных можно было бы привлекать к ответственности совершенно так же, как и виновных в дурном содержании животных, предназначенных для другого употребления.

2. Желательно, чтобы врачи, состоящие членами Общества Покровительства Животным, всегда имели бы право присутствовать при производстве вивисекции в любом учреждении.

3. Желательно обратить внимание на ужасы, творимые в ветеринарных институтах, где для сокращения расходов на "опытный материал" постепенно производят десятки операций на одном и том же животном.

4. Желательно воспрещение опытов над животными на лекциях с целью демонстрации, так как факты, сообщаемые студентам, вполне известны, достоверны и не требуют новых опытных доказательств.

5. Желательно, чтобы всякий профессор и вообще лица, заведующие теми или иными медицинскими учреждениями, являлись бы ответственными за те темы, которые разрабатываются врачами в подведомственном им учреждении, и если будет так или иначе установлено, что данная работа не имела никакого научного значения и явилась лишь извращенным любопытством, то ответственность в допущении жестокости падала бы и на автора работы, и на директора заведения, в котором работа выполнена, и виновные привлекались бы к ответственности как вообще за причинение животным напрасных мучений.

6. Желательно, чтобы при всех опытах и операциях употребление соответствующего местного или общего наркоза было обязательным и чтобы опытные операции производились над животными в возможно лучшей обстановке, в операционной камере,

с соблюдением асептики и антисептики и вообще со всеми усовершенствованиями для уменьшения боли и страданий, которые употребляются при операциях над людьми.

7. Желательно воспрепятствование производству ради экономии нескольких и даже двух опытов на одном и том же животном, ибо здесь, кроме физического страдания, животное испытывает еще ужас, зная, что его ожидают мучения.

8. Желательно, чтобы сторожа и вообще лица, заведующие доставкой животных для опытов, подвергались бы ответственности за доставку животных заведомо краденых или вообще имеющих владельца.

9. Желательно, чтобы животное, более или менее изуродованное произведенным над ним опытом, убивалось немедленно после совершения опыта».

В 1959 г. У. Рассел и Р. Берч (W. Russel, R. Birch) в трактате под названием «Принципы гуманной экспериментальной техники» предложили Концепцию 3R (Правило 3R, Принцип 3R). Концепция 3R [*reduction, refinement and replacement*] — сокращение, усовершенствование и замена по отношению к лабораторным животным.

Концепция получила полную поддержку как у сторонников проведения экспериментов на животных, так и у многих её противников, поскольку по сути является компромиссом между исследователями и защитниками благополучия животных.

Концепция включает три составляющие:

- *reduction* — сокращение, уменьшение;
- *refinement* — усовершенствование, повышение качества;
- *replacement* — замена,

которые трактуются следующим образом.

Reduction — сокращение количества используемых животных без компромисса с научным результатом и качеством биомедицинского исследования и тестирования, а также без компромисса с благополучием животных. Рассел и Берч предложили три основных пути уменьшения использования животных:

- усовершенствование исследовательской стратегии;
- усовершенствование контроля вариации;
- усовершенствование статистического анализа.

Если нет возможности заменить животных в болезненных экспериментах иными моделями, то необходимо попытаться так построить эксперимент, чтобы использовать минимальное число животных. Этого можно достигнуть путем правильного планирования эксперимента, использования здоровых животных нужного стандарта по экологическому и генетическому статусам. Требования высокой степени повторяемости результатов биомедицинских исследований привели к развитию специальной области животноводства — выращиванию лабораторных животных по специальной стандартной технологии. Эта область интенсивно развивается, что способствует снижению числа животных в экспериментах.

Refinement — усовершенствование, т. е. гуманизация подготовки и проведения эксперимента (в широком смысле — с момента рождения и до момента смерти животного) за счет использования обезболивающих и нетравматических методов. Хорошим примером важности использования нетравматических методов могут послужить исследования, проведенные Деймоном и др. в 1998 г. Они установили, что у крыс, изъятых из своей обыденной клетки и подвергнутых эксперименту в незнакомой для них метаболической клетке, токсическая доза урановой руды составляла не более 3–8 мг/кг, в то время как у животных, привыкших к проживанию в метаболической клетке, либо в качестве альтернативы протестированных в их обыденных жилых клетках, токсическая доза колебалась в пределах 220–650 мг/кг.

Страданий животных будет меньше, если в работе применяется высококачественная хирургическая техника, операции выполняются опытными специалистами с использованием анестезии и обеспечивается хороший уход за животными в период до и после хирургических вмешательств. Усыплять животных после экспериментов следует специальными безболезненными методами, чтобы минимизировать страдания. В опытах по изучению поведения необходимо использовать прирученных и обученных животных.

Replacement — замена высокоорганизованных животных низкоорганизованными, млекопитающих — животными с менее развитой нервной системой или использование альтернативных методов. Наибольшее распространение сегодня получили культуральные методы — использование культур клеток в качестве альтернативы организму животного. Их преимущество заключается

в том, что они выявляют токсичность испытываемых препаратов на более глубоком — клеточном уровне. Считается, что методы культур клеток или тканей органов «*in vitro*» — под стеклом, по сравнению с методами «*in vivo*» — на живом объекте, более дешевы и демонстративны.

Среди методов замены принято различать относительные или абсолютные, прямые или косвенные, полные или частичные. Когда это возможно, то надо заменять животных компьютерными и биохимическими моделями, а вместо живых животных использовать изолированные органы.

Альтернативные методы нашли применение в различных областях: при производстве вакцин в вирусологии, в токсикологических исследованиях при тестировании безопасности различных продуктов и лекарственных средств, в физиологических исследованиях, в санитарно-гигиенических работах. Снижение числа животных, используемых в биомедицинских экспериментах в мире, во многом определяется замещением. По инициативе фонда FRAME созданы Европейский исследовательский центр (ECVAM) для утверждения (валидации) альтернативных методов и Европейская исследовательская группа по альтернативам в токсикологическом тестировании (ERGATT, Италия). Специальные центры созданы и в других странах, например Центр альтернатив к тестированию на животных (СААТ, США), Нидерландский центр альтернатив к использованию животных (НСА, Нидерланды).

Информация, имеющая отношение к разработке альтернатив, собирается и анализируется в специальных информационных центрах: в США — информационный центр защиты животных при национальной сельскохозяйственной библиотеке, в Италии — INVITTOX — банк данных по технике *in vitro*, GDB — банк данных Галилея — информация по итогам тестирования токсических веществ с помощью альтернативных методов *in vitro*, а также в Германии банк данных ZEBET — информация по вопросам защиты животных. Исследования по созданию альтернативных методов активно поддерживаются университетской федерацией по защите животных Великобритании — UFAW.

Сегодня Принцип 3R является общепринятым мировым стандартом, позволившим получить новый научный опыт в обла-

сти создания альтернатив и в значительной степени сократить количество используемых лабораторных животных.

Эти биоэтические правила стали методологической основой усовершенствования старых и принятия новых законов о защите лабораторных животных. Претворение в жизнь Концепции трёх R осуществляется биоэтическими комитетами, которые работают в настоящее время во всех учреждениях биомедицинского профиля в развитых странах. Научные проекты с использованием лабораторных животных осуществляются только с разрешения биоэтических комиссий. Экспериментаторы, работающие с животными, должны пройти специальное обучение и иметь сертификат на свою деятельность. Ни один серьёзный научный журнал не принимает к опубликованию статью, в которой эксперименты на животных не описаны в соответствии с требованиями биоэтики и не одобрены биоэтическим комитетом.

В России в 1991 г. был создан Российский национальный комитет по биоэтике РАН. В 1993 г. по инициативе академика РАН О. Г. Газенко и профессора А. М. Генина биоэтическая комиссия была создана в Институте медико-биологических проблем РАН, а в 1995 г. был создан Комитет по биомедицинской этике РАМН. В 2000 г. Президиум РАМН рекомендовал директорам институтов РАМН создать институтские этические комитеты.

Законы о защите экспериментальных животных исходят из того, что животные, так же как и человек, чувствуют боль. С признанием этого положения с особой остротой встают вопросы: можно ли оправдать с этической, эстетической и юридической позиций эксперименты на животных; можно ли обосновать границы прав человека на проведение болезненных экспериментов; могут ли животные быть субъектами права; могут ли высшие животные иметь больше прав на благополучие и жизнь по сравнению с низшими; можно ли говорить об этике отношения к животным. И, наконец, важнейший вопрос, от которого, собственно, и зависит рассмотрение всех других, — свойственна ли животным свобода выбора, имеется ли у высших животных сознание, могут ли субъективные переживания (боль) существовать вне сознания или же сознание является необходимым условием для наличия субъективных переживаний у живого существа.

Над подобными вопросам в соответствующей своему времени форме задумывались лучшие умы медиков, учёных, теологов, философов. Обоснование и систематизация этических норм на протяжении веков были традиционными задачами теологов и философов. По мере развития науки и техники этика отношения к животным все больше строится на рациональном научном подходе, и это выражено тем больше, чем интенсивнее становятся научные исследования. При этической экспертизе научных проектов остро встает вопрос, как соблюсти баланс «цена/польза» (*cost/benefit*), где цена — это ущерб животному, а польза — это польза для человечества (медицина, наука, экономика), полученная в результате экспериментов.

В настоящее время стало очевидным, что применение Концепции ЗР и утилитарного подхода «цена/польза» не только защищает животных от излишнего вреда, но и способствует повышению эффективности науки. В истории биомедицинского эксперимента подобные примеры есть. Так, разработанный И. П. Павловым метод физиологического синтеза взамен острого эксперимента привел к освобождению животных от «излишнего вреда» и в то же время способствовал повышению эффективности научных результатов.

В этой связи следует признать, что систематическое историко-аналитическое исследование методологии экспериментирования на животных и осмысление этого процесса в культурно-историческом контексте является одним из важных научных направлений истории биологии и медицины. Такие работы актуальны, ибо они способствуют гуманизации естественно-научного мышления, повышению уровня теоретического знания, культуры и эффективности научных исследований.

Общепризнанно, что исследования с использованием экспериментальных животных должны проводиться с соблюдением определенных нравственных норм. Это показатель цивилизованности страны.

В 1985 г. Совет международных медицинских научных организаций (СММНО) опубликовал Этический кодекс, который содержит Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. В нем сформулированы теоретические принципы и этические

правила для научных работников и общественных групп защитников животных. В разных странах мира они приняты за основу при разработке регламентирующих мер и нормативных документов в отношении использования животных для биомедицинских исследований. Эти рекомендации содержат следующие правила обращения с экспериментальными животными.

I. Необходимым условием развития биологических знаний и разработки более совершенных средств охраны здоровья и обеспечения благополучия как людей, так и животных является проведение экспериментов на интактных живых животных самых разнообразных видов.

II. Там, где необходимо, в этих целях следует применять математические модели, машинное моделирование и биологические системы *in vitro*.

III. Эксперименты на животных следует проводить только после тщательного рассмотрения их значения для здоровья человека или самих животных и для прогресса биологических знаний.

IV. Для экспериментов следует отбирать здоровых животных надлежащего вида, ограничиваясь тем минимальным их количеством, которое требуется для получения научно достоверных результатов.

V. Исследователям и другому персоналу всегда надлежит относиться к животным как к чувствительным к различного рода воздействиям существам и считать своим этическим долгом обращаться с животными и использовать их таким образом, чтобы свести к минимуму причиняемые им неудобства, страдания и боль.

VI. Исследователям надлежит исходить из того, что вмешательства, причиняющие боль людям, вызывают болевые ощущения и у животных, хотя сведения о восприятии боли животными пока еще далеко недостаточны.

VII. Вмешательства, которые не относятся к кратковременным или минимальным, следует выполнять с применением надлежащих седативных, анальгетических или наркотических средств в соответствии с нормами, принятыми в ветеринарной практике. Хирургические и другие болезненные вмешательства не следует проводить на животных, только обездвиженных с помощью релаксантов и не получивших полноценного наркоза.

VIII. При необходимости отступления от положений статьи VII решения по этому вопросу должны приниматься не только исследователями, непосредственно проводящими эксперименты, а соответствующим компетентным комитетом с учетом статей IV, V и VI. Такие отступления не должны быть мотивированы исключительно учебно-демонстрационными целями.

IX. К концу или в процессе эксперимента животных, которые по его завершении будут испытывать сильные или постоянные боли, физические страдания, неудобства или постоянную функциональную недостаточность, не поддающиеся устранению, следует умерщвлять безболезненным способом.

X. Животным, предназначенным для медико-биологических исследований, следует обеспечить наилучшие возможные условия жизни. Как общее правило, уход за животными должен контролировать ветеринар, имеющий опыт работы с лабораторными животными. В любом случае животным при необходимости следует предоставлять ветеринарную помощь.

XI. Руководителям институтов или отделов, в которых в научных целях используются животные, следует позаботиться о том, чтобы проводящие эксперименты исследователи и вспомогательный персонал имели достаточную подготовку или опыт проведения таких экспериментов. Необходимо создать возможности для полноценной их подготовки в этой области без отрыва от работы, включая обучение способам правильного и гуманного ухода за животными, находящимися на их попечении.

В Этическом кодексе СММНО указано, что рекомендации составлены, исходя из следующих положений:

- в принципе использование животных для научных целей нежелательно;

- по возможности следует применять методы, не требующие использования животных;

- при существующем уровне знаний использование животных является неизбежным;

- моральный долг ученых — гуманно относиться к подопытным животным, по возможности не причинять им боли и неудобства и постоянно стремиться изыскивать способы получения того же результата без привлечения живых животных.

В мае 1986 г. парламент Великобритании принял новый закон о защите экспериментальных животных. Закон вводит стандартизацию содержания лабораторных животных в научных учреждениях и питомниках; накладывает определенные требования на разведение животных и перевозку их специальным транспортом. В законе определяются условия применения наркоза и анестезии в процессе проведения экспериментов и устанавливаются допустимые методы эвтаназии животных. Закон очерчивает круг исследований и научных направлений, в которых можно использовать экспериментальных животных; требует от исследователей обоснования необходимости проведения экспериментов с точки зрения затрат и вреда для животных и выгоды для человечества, а также здоровья животных. Важнейшим новшеством в законе является введение лицензионной системы. Предусмотрена выдача трех разных лицензий.

1. Лицензия на вид деятельности и помещения.

Выдается в виде сертификата на намерение (сертификат владельца на вид деятельности). Выделяются три типа учреждений: для научной работы, для разведения животных и учреждения, снабжающие животными. Возможно получение смешанной лицензии. Для получения лицензии необходимо представить подробный план и характеристику строения и комнат; перечень животных и длительность их содержания; типы процедур; кто лично будет отвечать за заботу о животных с указанием квалификации ответственных; название ветеринарной службы и перечень сотрудников, которые будут вести постоянные ветеринарные наблюдения; каким образом планируется осуществление охраны животных; обеспеченность персоналом; как будут соблюдаться правила содержания животных.

2. Лицензия на проект работ.

Цель выдачи этой лицензии — ограничить страдания животных. Для получения лицензии необходимо представить анализ «польза/цена» и описание действий для выполнения правила 3R. Требуется доказать, что будет использовано минимальное количество животных и нет альтернативных методов, которые бы могли заменить предполагаемые эксперименты. Должен быть приведен перечень техники и приемов, которые планируется применять, чтобы минимизировать повреждения животных. Та-

ким образом, эта лицензия устанавливает баланс между интересами науки и требованиями защиты животных.

3. Персональная лицензия (сертификат на компетентность).

Цель выдачи этой лицензии — оценка квалификации экспериментаторов и их компетентности. Подробно описываются методика экспериментов, какие анестетики и когда будут использоваться, метод эвтаназии. Дается обоснование повторного использования животных и способов их обездвиживания. Если в работе должны участвовать иностранные ученые, то могут быть выданы «лицензии для иностранных гостей» под поручительство старшего, который получает персональную лицензию. Описывается, как будут выполняться все требования к проведению работ во время отсутствия старшего лица — держателя персональной лицензии. Эта лицензия выдается на ограниченный срок продолжительностью 6–12 месяцев и может быть продлена, если нет претензий к работе.

Борьба против жестокого обращения с экспериментальными и лабораторными животными зачастую принимает и экстремистские формы. Учитывая накал страстей, Всемирная медицинская ассоциация (ВМА) в 1989 г. приняла «Положение об использовании животных в биомедицинских исследованиях». В нем говорится, что возможности научного сообщества продолжать работу по улучшению личного и общественного здоровья находятся под угрозой из-за крайностей движения за запрещение использования животных в биомедицинских исследованиях.

«Результаты насильственных действий защитников животных, — отмечается в "Положении", — ошеломительные. Только в США с 1980 г. группы защиты животных осуществили 29 налетов на исследовательские учреждения, выкрали более 2 тыс. животных, причинив материальный ущерб на сумму 7 млн долларов и сведя на нет годы научных исследований. Подобную деятельность осуществляли группы защиты животных в Великобритании, Западной Европе, Канаде и Австралии. Различные группы в этих странах взяли на себя ответственность за взрывы машин, учреждений, магазинов и частных домов исследователей».

В 1997 г. имела место серьёзная вспышка негативизма в отношении экспериментов на животных в связи с российско-американским экспериментом, в ходе которого осуществлялся запуск искусственного спутника Земли с обезьянами на борту. Несмотря

на то, что решение об эксперименте принималось после тщательного обсуждения проекта на заседании этических комитетов отечественных Институтов медико-биологических проблем и в США, и в России, имели место акции протеста. Они, к счастью, не сопровождались актами вандализма.

Подобный экстремизм едва ли можно оправдать, особенно в свете того, что, как уже отмечалось, сегодня практически ни у кого не вызывает сомнения необходимость проведения биомедицинских исследований на животных и людях. Представляется, что и в том и в другом случае разумнее выступать не столько с позиции запрета, сколько с позиции этико-правовой регламентации подобных исследований, исключая жестокость.

2.5. Этические и правовые аспекты исследований на человеке

Альберт Молль, автор фундаментальной работы «Врачебная этика» (1902 г.), выделяет следующие аспекты интересующей нас проблемы:

1. В медицинских исследованиях немало таких, которые не вызывают трудных этических вопросов (взятие волос, крови для микроскопического исследования и т. д.).

2. Рано или поздно клинические нововведения надо применять на первом (первых) больном (больных). Врач в данной ситуации должен иметь в виду вопрос о согласии больных на такие исследования.

3. Так как само это согласие предполагает определенный уровень знаний, предпочтительнее проводить опыты на людях интеллигентных, а лучше всего — на медиках.

Первым специальным этико-юридическим вердиктом, регулирующим проведение экспериментов на людях, был указ (содержащий инструкции для директоров больниц), изданный в Пруссии в 1900 г.

Современная история обсуждения этих проблем начинается с окончания Второй мировой войны. Именно в это время, а точнее — в ходе Нюрнбергского процесса над нацистскими учеными и врачами — преступниками, были оглашены свидетельства об экспериментах, проводившихся над заключенными

концлагерей. Особо жестокий, бесчеловечный характер экспериментов заключался в том, что в них фактически планировалась смерть испытуемых.

Данные документов и свидетельские показания не только потрясли мировую общественность, но и заставили задуматься о проблеме защиты прав, достоинства и здоровья испытуемых, необходимости ограничить проведение исследований на человеке определенными рамками. В ходе Нюрнбергского процесса был разработан документ, получивший название «Нюрнбергский кодекс» (1947 г.) и явившийся, по существу, первым международным документом, содержащим перечень этико-правовых принципов проведения исследований на людях. Он был подготовлен двумя участвовавшими в процессе американскими экспертами-медиками — Лео Александером и Эндрю Иви.

«Нюрнбергский кодекс» включает десять положений. Первое положение утверждает «необходимость добровольного согласия объекта эксперимента» на участие в исследовании. Далее раскрывается содержание этого понятия и утверждается:

- «лицо, вовлеченное в эксперимент», должно иметь «законное право дать такое согласие» (т. е. должно быть дееспособным);

- такое согласие должно даваться свободно, «без какого-либо элемента насилия, обмана, мошенничества, хитрости или других скрытых форм принуждения»;

- лицо, дающее такое согласие, должно обладать «достаточными знаниями, чтобы понять сущность предмета эксперимента и принять осознанное решение». Для этого лицо должно быть проинформировано «о характере, продолжительности и цели эксперимента; методе и способах, с помощью которых он будет проводиться; о всех возможных неудобствах и рисках; о последствиях для его здоровья или личности, которые могут возникнуть в результате участия в эксперименте». Суть остальных требований заключается в сведении до минимума возможного риска, «всех физических и психических страданий и повреждений»; гарантии того, что исследование будет проводиться квалифицированными специалистами, а также при соблюдении права испытуемого на отказ от участия в исследовании на любом его этапе. «Нюрнбергский кодекс» послужил основой для многих последующих международных документов.

Женевская декларация (1948 г.) принята Генеральной Ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации. В основу Женевской декларации положена клятва Гиппократова, но в ней нашли отражение и наиболее острые социальные проблемы XX в. Так, в декларацию внесены фразы: «Я не позволю, чтобы религия, национализм, расизм, политика или социальное положение оказывали влияние на выполнение моего долга... Даже под угрозой я не использую мои знания в области медицины в противовес законам человечности». Последняя фраза, отражая опыт Второй мировой войны, закрепляет положения десяти Нюрнбергских правил, в которых подчеркивается недопустимость преступных опытов на людях.

В 1949 г. Женевская декларация вошла в Международный кодекс медицинской этики, выработанный Всемирной медицинской ассоциацией. Мудрые слова клятвы Гиппократова были дополнены: «Ни при каких обстоятельствах врачу не разрешается делать ничего того, что могло бы ослабить физическую или умственную стойкость человеческого организма, за исключением строго терапевтических или профилактических показаний, предписываемых в интересах пациентов».

Довольно долгое время «Нюрнбергский кодекс» и следовавшие за ним международные документы не привлекали сколько-нибудь серьезного внимания ни ученых-медиков, ни общественности. Бытовало мнение, что, поскольку зверства нацистских врачей выходят далеко за рамки допустимого, сами эти эксперименты — не более чем единичный исторический эпизод. Важную роль в коренном изменении отношения к этой теме сыграла сенсационная по своему содержанию статья профессора анестезиологии из Гарвардской медицинской школы Генри Бичера «Этика и клинические исследования» (1966 г.). В ней было описано 22 имевших место в США случая проведения исследований «с риском для жизни и здоровья испытуемых» без информированного согласия.

Особую известность получили два из приведенных Г. Бичером примеров. В одном случае врачи вводили живые раковые клетки пожилым и одряхлевшим пациентам одной из больниц (Бруклин, 1963 г.). В другом случае речь шла об исследовании, проводившемся в интернате для отстающих в развитии детей в Уиллоубруке (штат Нью-Йорк, в период с 1965 по 1971 г.). Для изучения этиологии болезни и разработки защитной вакцины

детей заражали гепатитом. Статья Г. Бичера и другие аналогичные публикации привлекли наконец внимание самых широких слоев общества к проблеме этического и правового регулирования экспериментов на человеке.

В связи с этим особую значимость приобрела Хельсинская декларация, принятая в 1964 г. Всемирной медицинской ассоциации (ВМА). Хельсинская декларация имеет подзаголовок «Руководящие рекомендации для врачей, проводящих медико-биологические исследования на людях». Несмотря на рекомендательный характер документа, его положения нашли отражение и развитие в целом ряде других международных нормативных документов, а также в национальном законодательстве многих стран, в том числе и России. Прежде всего следует отметить, что текст декларации содержит утверждение о необходимости различать медико-биологические исследования двух типов. Это исследования, преследующие диагностические и лечебные цели и проводимые в интересах пациента («клинические исследования» или «терапевтические исследования»), и исследования, преследующие, главным образом, чисто научные цели и не имеющие прямого диагностического или лечебного значения для испытуемого («неклинические исследования» или «нетерапевтические исследования»). Соответственно текст декларации разбит на три части. Первая часть содержит перечень наиболее общих положений, которыми следует руководствоваться при проведении исследований на людях, две другие части включают конкретные рекомендации для проведения клинических и неклинических исследований. Декларация была неоднократно пересмотрена и сегодня действует в редакции 2000 г. с разъяснением, принятым в 2002 г. Принципиальным положением Хельсинской декларации остаётся тезис о том, что «интересы испытуемых должны всегда превалировать над интересами науки и общества».

Со времени основания Всемирной организации здравоохранения Организации Объединённых Наций (ВОЗ ООН, 1948 г.) этика является стержнем её миссии по защите и укреплению здоровья глобального сообщества. Деятельность в сфере этики осуществляется многими программами и департаментами, а также региональными бюро ВОЗ. В 1994 г. Региональное бюро для стран Америки учредило региональную программу по биоэтике.

В настоящее время в мире широко признаны два кодекса GCP (качественной клинической практики), устанавливающие организационно-методические требования к исследованиям: первый был разработан ВОЗ в 1995 г., второй (гармонизированный) явился результатом договоренности наиболее развитых государств мира и вступил в силу в 1997 г. В 2002 г. Генеральный директор ВОЗ доктор Гро Харлем Брундтланд учредила Инициативу в области этики и здоровья, которая является с тех пор координатором деятельности в области этики в масштабах всей организации. Примеры этической деятельности ВОЗ включают издание «Руководства по этике и справедливому доступу к лечению и оказанию помощи в связи с ВИЧ» и «Этических соображений при разработке ответных мер общественного здравоохранения при пандемическом гриппе». ВОЗ также вносит вклад в укрепление потенциала в области этики в тесном сотрудничестве с государствами-членами. Например, проект создания Сети в области этики биомедицинских исследований в Африке (NEBRA) был нацелен на укрепление потенциала африканских стран в проведении эффективных этических обзоров.

В 1996 г. Парламентской Ассамблеей Совета Европы была принята конвенция «О правах человека и биомедицине». Если положения перечисленных документов ограничены сферой медико-биологических исследований на людях и носят характер моральных требований, то положения конвенции распространяются и на сферу использования результатов этих исследований в медицинской практике. Цель принятия конвенции — предотвращение возможности негативных последствий использования новых медицинских технологий, защита прав и достоинства человека, оказывающегося в роли пациента или испытуемого. Конвенция содержит обязательство подписавших её сторон «предпринять все необходимые шаги по совершенствованию своего национального законодательства с тем, чтобы оно отражало положения данной Конвенции». Содержание конвенции кратко можно передать в виде следующих тезисов.

1. Главный принцип разрешения проблем, связанных с проведением биомедицинских исследований на людях, заключается в том, что «интересы и благо отдельного человека должны превалировать над интересами общества и науки» (статья 2).

2. Медицинские исследования должны проводиться только с согласия лиц, по отношению к которым они проводятся, такое согласие должно быть добровольным и информированным (статья 5). При этом должны быть защищены права и интересы лиц, не способных или не могущих дать согласие самостоятельно (статьи 6–9).

3. Необходимо соблюдать принцип неприкосновенности частной жизни (статья 10).

4. Запрещается любая форма дискриминации на основании информации о генетических характеристиках человека (статья 11). Запрещается вмешательство в геном человека с целью изменения генома его потомков (статья 13). Запрещается выбор пола будущего ребенка, за исключением случаев, когда речь идет об избегании заболеваний (серьезной болезни), сцепленных с полом (статья 14).

5. Запрещается создание эмбрионов человека в исследовательских целях (статья 18).

6. Забор органов и тканей у живого донора возможен только после получения добровольного информированного согласия (статья 19). Само по себе тело человека и его части не могут рассматриваться и служить источником финансовой выгоды (статья 21).

В 1997 г. в связи с появившимися сообщениями об успешных экспериментах по клонированию млекопитающих Совет Европы принял «Дополнительный протокол» в котором содержится запрет на проведение «любых вмешательств, имеющих целью создание человеческого существа, генетически идентичного другому человеческому существу, живому или мертвому», т. е. запрет на клонирование человека.

В 2005 г. была принята Всеобщая декларация ЮНЕСКО о биоэтике и правах человека, во многих статьях которой затрагиваются проблемы медико-биологических исследований.

Одним из последних международных документов, регламентирующих исследования и эксперименты на людях стали Рекомендации Совета Европы относительно исследований, проводимых на биологических материалах человеческого происхождения, принятые в 2006 г.

Систему правового регулирования биомедицинских исследований на человеке в Российской Федерации составляют следующие документы.

1. Конституция РФ. Часть 2 статья 21 Конституции гласит: «Никто не должен подвергаться пыткам, насилию, другому жестокому или унижающему человеческое достоинство обращению или наказанию. Никто не может быть без добровольного согласия подвергнут медицинским, научным или иным опытам».

2. «Основы законодательства РФ об охране здоровья граждан» (1993 г.). Статья 43 «Основ» устанавливает, что биомедицинские исследования проводятся только в учреждениях государственной или муниципальной системы здравоохранения и должны основываться на предварительно проведенном лабораторном эксперименте на животных. Данная статья устанавливает правило, по которому любое биомедицинское исследование с привлечением человека в качестве объекта может проводиться только после получения добровольного письменного согласия человека. Статьи 31 и 61 «Основ» регулируют право пациента на информацию о своем здоровье, а также обязанность сохранения врачебной тайны. «Основы законодательства РФ» закрепляют право гражданина отказаться от участия в начавшихся исследованиях на любой стадии их выполнения.

3. ФЗ «О лекарственных средствах» от 22.06.1998 № 86-ФЗ. Он создает правовую основу деятельности субъектов обращения лекарственных средств, устанавливает систему государственных органов, осуществляющих издание нормативных правовых актов, действия по контролю и надзору, оказание государственных услуг, правоприменительную практику в соответствии с федеральным законом, распределяет полномочия органов исполнительной власти в сфере обращения лекарственных средств.

В соответствии с законом разработка новых лекарственных средств включает в себя поиск новых фармакологически активных веществ, последующее изучение их лекарственных свойств, а также доклинические исследования. В законе говорится, что целью доклинических исследований лекарственных средств является получение научными методами оценок и доказательств эффективности и безопасности лекарственных средств.

Говоря о регулировании правоотношений в области проведения экспериментов, необходимо отметить стандарт отрасли ОСТ 42-511-99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации» (утв. Минздравом РФ 29 декабря 1998 г.). Стандарт устанавливает требования к проведению клинических испытаний лекарственных средств. Требования данных правил должны соблюдаться при проведении клинических испытаний лекарственных средств, результаты которых планируется представить в разрешительные инстанции. В соответствии с данными правилами клинические испытания должны проводиться в соответствии с основополагающими этическими принципами Хельсинкской декларации, Правилами GCP и действующими нормативными требованиями.

Необходимо подчеркнуть, что в законодательстве РФ нет единого закона, регулирующего не только медицинские исследования, но и другие аспекты экспериментальной деятельности на человеке (например, ради науки). Экспериментальные исследования с привлечением человека — это сложная, многогранная система действий посредством активного влияния на человека новейшими методами и средствами. В настоящее время данная сфера правоотношений, несмотря на существующий массив подзаконных актов, должным образом не урегулирована. Ведомственные акты лишь регулируют порядок проведения исследований на человеке, но не всегда регулируют защиту прав и свобод человека в соответствии с гуманными принципами, провозглашенными законодательством Российской Федерации и международным сообществом. Интересы человека должны иметь приоритет над интересами общества или науки.

Глава 3. МЕТОДЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Классификация методов физиологических исследований

Физиологический эксперимент в отличие от простого наблюдения — это целенаправленное вмешательство в текущее отправление организма, рассчитанное на выяснение природы и свойств его функций, их взаимосвязей с другими функциями и с факторами внешней среды. Физиологический эксперимент позволяет ответить на вопросы: что происходит в организме и как происходит.

Вмешательство часто требует подготовки живого объекта, может носить острую (вивисекционную, от слова *vivo* — живое, *seksia* — секу, т. е. «секу по живому») или хроническую (экспериментально-хирургическую) формы. В связи с этим физиологический эксперимент подразделяют на 2 вида: острый (вивисекция) и хронический.

Воздействия на экспериментальных животных в **острых опытах** могут быть несовместимы с сохранением жизни животных, например действие больших доз облучения, токсических веществ, кровопотери, искусственная остановка сердца, остановка кровотока. У животных могут удаляться отдельные органы для изучения их физиологических функций или возможности пересадки другим животным.

Начиная с XIX в. в остром эксперименте стали применять наркоз. Это привело к нарушению процессов регуляции со стороны ЦНС, в результате нарушается целостность реагирования организма и его связь с внешней средой. Так применение наркоза и хирургическая травма при вивисекции вносит в острый эксперимент неконтролируемые параметры, которые трудно учесть и предвидеть.

Острый эксперимент, как и любой экспериментальный метод, имеет свои достоинства: 1) вивисекция — один из аналитических методов, дает возможность моделировать разные ситуации, 2) вивисекция дает возможность получать результаты в относительно короткий срок; и недостатки:

1) в остром эксперименте при применении наркоза нарушается целостность реагирования организма,

2) нарушается связь организма с окружающей средой в случае применения наркоза,

3) при отсутствии наркоза идет неадекватный нормальному физиологическому состоянию выброс стрессорных гормонов и эндогенных (вырабатываемых внутри организма) морфиноподобных веществ эндорфинов, оказывающих обезболивающий эффект.

Постановка опытов с использованием изолированных органов была особенно популярна в период XIX — начала XX в., когда шло накопление знаний о функциях органов и отдельных их структур. Для постановки физиологического эксперимента наиболее удобно применение изолированных органов холоднокровных животных, длительно сохраняющих свои функции. Так, изолированное сердце лягушки в условиях промывания его солевым раствором Рингера может сокращаться при комнатной температуре многие часы и отвечать на различные воздействия изменением характера сокращения. Из-за легкости приготовления и важности получаемой информации такие изолированные органы используют не только в физиологии, но и в фармакологии, токсикологии и других областях медицинской науки. Например, препарат изолированного сердца лягушки (по методу Штрауба) используется как стандартизированный объект для тестирования биологической активности при серийном производстве некоторых лекарств и разработке новых лекарственных средств.

Однако возможности острого опыта ограничены не только из-за этических моментов, связанных с тем, что животные во время опыта подвергаются болевому воздействию и погибают, но и с тем, что исследование часто ведется при нарушении системных механизмов, регулирующих протекание физиологических функций, или в искусственных условиях — вне целостного организма.

Хронический опыт лишен ряда перечисленных недостатков. В хроническом опыте исследование проводится на практически здоровом животном в условиях оказания на него минимальных воздействий и при сохранении его жизни. Перед исследованием на животном могут проводиться операции по подготовке его к опыту (вживляться электроды, формироваться фистулы для доступа в полости и протоки органов). Постановка опытов на таких

животных начинается после заживления раневой поверхности и восстановления нарушенных функций.

Хронический эксперимент впервые был разработан И. П. Павловым и широко применяется в физиологических исследованиях. Метод, разработанный Павловым, — метод наложения фистул на полые органы и на органы, имеющие выводные протоки. Фистулы могут накладываться на желудок, протоки слюнных желез, кишечник, пищевод и др. Отличие павловской фистулы от басовской состоит в том, что Павлов накладывал фистулу на «малый желудочек», сделанный искусственно хирургическим путем и сохраняющий пищеварительную и гуморальную регуляцию. Это позволило Павлову выявить не только качественный и количественный состав желудочного сока на принимаемую пищу, но и механизмы нервной и гуморальной регуляции пищеварения в желудке. За свои работы в области пищеварения Павлов был удостоен Нобелевской премии.

Выделяют следующие методы экспериментальной физиологии.

Экстирпация — один из самых древних способов изучения. Заключался в удалении того или иного органа у живого существа с дальнейшим наблюдением за реакцией организма и фиксацией результатов. Экстирпация различных участков головного мозга и коры головного мозга выявляют функции этих отделов. Например, при удалении мозжечка было выявлено его участие в регуляции движения, в поддержании позы, статокинетических рефлексов.

Фистульный метод. Его основа — во введении внутрь органов, имеющих полость, трубок из металла или пластмассы и фиксации таким образом биологических жидкостей. Получаются данные об изменении химической природы веществ, т. е. исследуется секреторная функция организма.

Метод катетеризации — введение по тонким трубочкам в органы и сосуды фармакологических препаратов, вызывающих изменения в функционировании органа. Так изучается работа сердца, кровеносных сосудов, желез внешней и внутренней секреции. Перфузия — пропускание растворов различного химического состава по наличию в нем метаболитов (глюкоза, молочная кислота) или по содержанию биологически активных веществ (гормоны, нейрогормоны, эндорфины и др.). Канюля позволяет вводить растворы с разным содержанием в ту или иную область

мозга и наблюдать изменение функциональной активности со стороны двигательного аппарата, внутренних органов или поведения, психологической деятельности.

Метод денервации. Используется для исследования механизмов нервной регуляции рабочих органов. Этот способ может сочетаться с искусственной стимуляцией нервов с дальнейшей фиксацией результатов.

Биохимические методы. Это большая группа методик, с помощью которых в циркулирующих жидкостях, тканях, а иногда и органах определяют уровень макро- и микроэлементов, энергетических веществ, ферментов, биологически активных веществ (гормоны и др.). Биохимические методы позволяют оценивать функциональную активность того или иного органа или его части, а иногда и целой системы органов. Например, по уровню 11-ОКС (оксикортикостерон) можно судить о функциональной активности пучковой зоны коры надпочечников. Но также по уровню 11-ОКС можно судить и о функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в целом, поскольку 11-ОКС является конечным продуктом периферического звена этой системы — коры надпочечников.

Структурно-функциональные методы исследования

Томография — получение срезов мозга искусственным путем. Для построения срезов используют просвечивание тканей рентгеновскими лучами. **Компьютерная томография (КТ)** — новейший метод, дающий точные и детальные изображения малейших изменений плотности мозгового вещества. КТ соединила в себе последние достижения рентгеновской и вычислительной техники, отличаясь принципиальной новизной технических решений и математического обеспечения. При помощи компьютерной томографии можно получить множество изображений одного и того же органа и таким образом построить внутренний поперечный срез, или «ломтик», этой части тела.

Компьютерная томография стала родоначальницей ряда других, еще более совершенных методов исследования: томографии с использованием эффекта ядерного магнитного резонанса (МРТ-томография, ФМРТ), позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ). Эти методы относятся к наиболее перспективным

способам неинвазивного совмещенного изучения структуры, метаболизма и кровотока мозга.

Магнито-резонансная томография мозга — метод исследования внутренних органов и тканей с использованием физического явления ядерного магнитного резонанса. Метод основан на том, что в момент, когда тело находится в особо настроенном очень сильном магнитном поле (*в 10 000 раз сильнее, чем магнитное поле нашей планеты*), молекулы воды, присутствующие во всех клетках организма, формируют цепочки, расположенные параллельно направлению магнитного поля. Если же внезапно изменить направление поля, молекула воды выделяет частичку электричества. Именно эти заряды фиксируются датчиками прибора и анализируются компьютером. На выходе исследователь имеет монохромное изображение, на котором можно увидеть тонкие срезы органа в мельчайших подробностях. Полученные посредством МРТ-томографии изображения дают информацию об изучаемых структурах головного мозга не только анатомического, но и физико-химического характера. Помимо этого, преимущество ядерно-магнитного резонанса заключается в отсутствии ионизирующего излучения; в возможности многоплоскостного исследования, осуществляемого исключительно электронными средствами; в большей разрешающей способности.

Функциональная магнито-резонансная томография (ФМРТ) — разновидность магнитно-резонансной томографии, которая проводится с целью измерения *гемодинамических реакций* (изменений в токе крови), вызванных *нейронной* активностью *головного* или *спинного мозга*. ФМРТ основана на использовании парамагнитных свойств агентов, которые первоначально не обладают магнитными свойствами, но приобретают их, попав в магнитное поле. ФМРТ использует парамагнитные субстанции гемоглобина, точнее соотношение окисленного и восстановленного гемоглобина. Когда HbO отдает кислород, он становится парамагнитным. При активации возрастает метаболическая активность мозга. Существование локусов активации создает неоднородность магнитного поля, что используют для создания локальных карт активации. Этот метод основывается на том, что мозговой кровотоки и активность нейронов связаны между собой. Когда область мозга активна, приток крови к этой области также увеличивается.

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), она же **двухфотонная эмиссионная томография**, — *радионуклидный томографический* метод исследования внутренних органов человека или животного. В основе этого метода лежит возможность при помощи специального детектирующего оборудования (ПЭТ-сканера) отслеживать распределение в организме биологически активных соединений, меченных позитрон-излучающими радиоизотопами. ПЭТ-томография сочетает возможности КТ и радиоизотопной диагностики. В ней используются ультракороткоживущие позитронизлучающие изотопы («красители»), входящие в состав естественных метаболитов мозга, которые вводятся в организм человека через дыхательные пути или внутривенно. Метод основан на регистрации пары *гамма-квантов*, возникающих при *аннигиляции позитронов*. Позитроны возникают при *позитронном бета-распаде* радионуклида, входящего в состав *радиофармпрепарата*, который вводится в организм перед исследованием.

Активным участкам мозга нужен большой приток крови, поэтому в рабочих зонах мозга скапливается больше радиоактивного «красителя». Излучения этого «красителя» преобразуют в цветовую гамму изображения на мониторе. С помощью ПЭТ измеряют региональный мозговой кровоток и метаболизм глюкозы или кислорода в отдельных участках головного мозга. ПЭТ позволяет осуществлять прижизненное картирование на «срезах» мозга регионального обмена веществ и кровотока.

3.2. Электрофизиологические методы исследования процессов жизнедеятельности

Электрофизиология (электро- + физиология) — раздел физиологии, изучающий электрические явления в живых организмах. В настоящее время собственно электрофизиология является одновременно методической базой многих разделов биологии, психологии, медицины.

Электрофизиологический метод регистрации электрических потенциалов, возникающих во время активных физиологических функций во всех без исключения живых тканях, — наиболее удобный и точный метод исследования этих процессов, измерения их

временных характеристик и пространственного распределения, так как электрические потенциалы лежат в основе механизма генерации таких процессов, как возбуждение, торможение, секреция.

Центральное место в ряду методов исследования процессов жизнедеятельности занимают различные способы регистрации электрической активности органов и систем. Большинство методов основано или на регистрации непосредственных биоэлектрических процессов (электрическая активность мозга — электроэнцефалограмма (ЭЭГ), сердца — электрокардиограмма (ЭКГ), мышц — электромиограмма (ЭМГ), кожи — кожно-гальваническая реакция (КГР), или на преобразовании биохимических (рН), механических процессов температуры в электрические процессы.

Электрические потенциалы отражают физико-химические изменения, связанные с обменными процессами, и являются **надежными, точными и универсальными показателями жизнедеятельности.**

Надежность показателей связана с тем, что в ряде случаев они являются единственным средством обнаружения активности (например, состояние мозга при коме).

Точность показателей, т. е. их временное и динамическое соответствие физиологическим процессам, основана на физико-химических процессах генерации электрических потенциалов, являющихся необходимым компонентом деятельности нервных и мышечных структур.

Универсальность показателей связана с единообразием процессов, происходящих в нервной клетке, нервном волокне, мышечной клетке, так же как и суммарных электрических потенциалов в целостном органе. Эти потенциалы могут быть зарегистрированы, и, что самое главное, они являются адекватным показателем функционирования органа или ткани.

Все процессы жизнедеятельности организмов сопровождаются появлением в клетках и тканях электрических потенциалов. Генерация и распространение электрических потенциалов — важнейшее физическое явление, которое лежит в основе возбудимости клеток, регуляции внутриклеточных процессов, работы нервной системы, регуляции мышечного сокращения. Благодаря непосредственной связи биопотенциалов с обменными процессами и физиологическим состоянием органов и тканей они являют-

ся чувствительным и точно измеримым показателем различных изменений в организме в норме и патологии.

Биоэлектрические потенциалы — электрические потенциалы, возникающие в живых клетках и тканях. Основными видами биопотенциалов являются **мембранный потенциал (или потенциал покоя), потенциал действия, постсинаптические потенциалы**. Другие виды биопотенциалов различных органов и тканей (рецепторные, секреторные, потенциалы сердца, головного мозга и др.) являются производными перечисленных.

Мембранный потенциал (потенциал покоя) регистрируется между наружной и внутренней сторонами мембраны живой клетки. Его наличие обусловлено неравномерным распределением ионов (в первую очередь ионов натрия и калия) между внутренним содержанием клетки (её цитоплазмой) и окружающей клетку средой. Внутренняя сторона мембраны заряжена отрицательно по отношению к наружной. Величина мембранного потенциала различна у разных клеток: для нервной клетки она составляет 60–80 мВ, для поперечнополосатых мышечных волокон — 80–90 мВ, для волокон сердечной мышцы — 90–95 мВ. При неизменном функциональном состоянии клетки величина потенциала покоя не изменяется; поддержание постоянной его величины обеспечивается нормальным протеканием клеточного метаболизма. Увеличение разности потенциалов между клеткой и окружающей средой называется гиперполяризацией, уменьшение — деполяризацией.

Механизм возникновения биопотенциалов в живых клетках обусловлен неравномерной концентрацией ионов натрия, калия, кальция и хлора на внутренней и наружной поверхности клеточной мембраны и её различной проницаемостью для них. Величина мембранного потенциала покоя определяется соотношением концентраций проникающих через мембрану ионов. Высокие концентрационные градиенты ионов калия и натрия поддерживаются благодаря существованию в клеточной мембране калиево-натриевого насоса, который обеспечивает выделение из цитоплазмы проникающих в неё ионов натрия и введение в цитоплазму ионов K^+ . Подобный насос работает против их концентрационных градиентов и требует для этого энергии. Источником энергии является аденозинтрифосфорная кислота (АТФ).

Потенциал действия. Под влиянием различных факторов (раздражителей) физической или химической природы величина мембранного потенциала может изменяться. При уменьшении потенциала покоя до определенной критической величины (порог возбуждения) возникает кратковременное колебание, получившее название **потенциала действия**. Если потенциал покоя присущ всем живым клеткам без исключения, то потенциал действия характерен для специализированных возбудимых образований и является показателем развития процесса возбуждения. Амплитуда потенциала действия у большинства нервных клеток млекопитающих составляет 100–110 мВ, в скелетных и сердечных мышечных волокнах — 110–120 мВ. Длительность потенциалов действия у нервных клеток 1–2 мс, у скелетных мышечных волокон 3–5 мс, у сердечных мышечных волокон — 50–300 мс. Потенциал действия обеспечивает распространение возбуждения от рецепторов к нервным клеткам, от нервных клеток — к мышцам, железам, тканям. В мышечном волокне потенциал действия способствует осуществлению цепи физико-химических и ферментативных реакций, лежащих в основе механизма сокращения мышц. Механизм возникновения потенциала действия обусловлен последовательно изменяющейся во времени проницаемостью мембраны для ионов. Восходящая фаза потенциала действия связана с повышением проницаемости для ионов натрия благодаря все увеличивающемуся количеству открываемых натриевых каналов. Последующая смена активации натриевых каналов на их инактивацию приводит к снижению проницаемости для ионов натрия и возрастанию проницаемости для ионов калия, что приводит к реполяризации мембраны и появлению её потенциала покоя. В гладких мышцах, в отличие от нервных клеток и скелетных мышц, в генезе восходящей фазы потенциала действия ведущая роль отводится повышению проницаемости для ионов кальция. В мышце сердца сохранение потенциала действия на определенном уровне (плато потенциала действия) также обусловлено повышением проницаемости мембраны для ионов кальция.

Постсинаптические потенциалы возникают на небольших участках клеточной мембраны (постсинаптической мембране), входящих в состав синапса. Величина постсинаптических потенциалов составляет несколько милливольт, длительность — 10–15 мс.

Возбуждающий постсинаптический потенциал (ВПСП) связан с деполяризацией клеточной мембраны. При достижении критической точки деполяризации возникает распространяющийся потенциал действия. Тормозящий постсинаптический потенциал (ТПСП), связанный с гиперполяризацией клеточной мембраны, препятствует возникновению потенциала действия.

На мембранах секреторных клеток формируются секреторные потенциалы. Их величина прямо связана с характером секреторной деятельности, что дает возможность оценивать функциональное состояние секреторных клеток. В тканях или органах может происходить суммация биоэлектрической активности отдельных клеток, работающих синхронно или асинхронно. Суммарная биоэлектрическая активность также отражает функциональное состояние того или иного органа или ткани.

Изучение механизмов возникновения клеточных биопотенциалов стало возможным благодаря развитию методов электрофизиологии, важную роль в которых сыграли, во-первых, разработка техники микроэлектродных отведений, во-вторых, создание специальных усилителей биопотенциалов, обладающих высоким входным сопротивлением (до 10^{10} Ом), малой постоянной времени (от 10 мс) и высокой чувствительностью (токи от 10^{-12} А), а также удачный первоначальный выбор объектов исследования (аксон кальмара). Использование результатов электрофизиологических опытов в сочетании с физическим и математическим моделированием транспортных процессов лежит в основе современных теорий электрогенеза в биологических структурах.

3.3. Оборудование для электрофизиологических исследований

На данном этапе исследований преимуществом электрических показателей является удобство регистрации при наличии современного аппаратного обеспечения (электроды — усилитель — передатчик — приемник — регистратор — обработка и анализ — компьютер).

Регистрация электрических процессов происходит в 3 этапа:

1. Выделение и преобразование сигнала.

2. Обработка сигнала (усиление, фильтрация, вторичное преобразование).

3. Собственно регистрация и сохранение сигнала (бумажная, фотозапись, магнитная).

Успехи современной физиологии в изучении функций целостного организма, его систем, органов, тканей и клеток во многом обусловлены широким внедрением в практику физиологического эксперимента компьютеров, а также биохимических и фармакологических методов исследования. Быстрое совершенствование электронной техники открыло новые пути для познания многих физиологических процессов, что ранее было принципиально невозможно. Создание разнообразных систем датчиков, преобразующих неэлектрические процессы в электрические, совершенствование измерительной и регистрирующей аппаратуры позволили разработать новые, высокоточные методы объективной регистрации (например, биотелеметрия) физиологических функций, что в значительной мере расширило возможности эксперимента.

При исследовании физиологических функций с использованием различной аппаратуры в эксперименте и клинике формируют своеобразные системы. Их можно разделить на две группы:

1 — системы для регистрации различных проявлений жизнедеятельности и анализа полученных данных;

2 — системы для воздействия на объект или его структурно-функциональные единицы.

Многие функции организма можно исследовать без *электронной аппаратуры* и регистрировать процессы либо непосредственно, либо после некоторых преобразований. Примерами могут служить измерение ртутным термометром температуры, регистрация сердечных сокращений с помощью пишущего рычажка и кимографа, регистрация дыхания с использованием капсулы Марэя, плетизмография с применением водяного плетизмографа, определение пульса и т. д.

Блок-схема системы, позволяющей регистрировать биоэлектрические процессы в организме, **состоит из объекта исследования, отводящих электродов, усилителя, регистратора и блока питания.** Регистрирующие системы такого рода используют для электрокардиографии, электроэнцефалографии, электромиографии и др.

Электроды

В физиологических исследованиях *электроды* являются связующим звеном между объектом исследования и аппаратурой. Они применяются для регистрации (отведения) биоэлектрической активности и для раздражения клеток, тканей и органов, поэтому их принято подразделять на *регистрирующие и стимулирующие*. *Один и тот же электрод может быть использован и как стимулирующий и как отводящий, т. к. принципиальной разницы между ними нет.*

В зависимости от способа регистрации или раздражения различают **биполярные** и **униполярные** электроды. При биполярном способе чаще используют два одинаковых электрода, при униполярном электроды различаются и по функциональному назначению, и по конструкции. В этом случае активный электрод располагают в зоне отведения биопотенциалов или на участке ткани, который нужно стимулировать.

Активный электрод, как правило, имеет относительно небольшие размеры по сравнению с пассивным (индифферентным) электродом. Индифферентный электрод обычно фиксируют на некотором удалении от активного. При этом необходимо, чтобы зона фиксации индифферентного электрода не имела собственного потенциала либо этот участок должен быть выбран с более низким и относительно стабильным потенциалом (например, мочка уха). Индифферентные электроды часто представляют собой пластины из серебра, олова, свинца или другого металла.

В зависимости от расположения электроды делятся на **поверхностные** и **погружные**. Поверхностные электроды фиксируют или на поверхности объекта исследования (например, при регистрации ЭКГ, ЭЭГ), или на отпрепарированных и обнаженных структурах (при стимуляции нерва, отведении вызванных потенциалов от поверхности коры головного мозга и т. п.).

Погружные электроды используют для исследования объектов, расположенных в глубине органов или тканей (например, при стимуляции нейронов, расположенных в подкорковых структурах головного мозга, или отведении от них биоэлектрической активности). Эти электроды имеют особую конструкцию, которая должна обеспечить хороший контакт с объектом исследования и надежную изоляцию остальной токопроводящей части электро-

да от окружающих тканей. Все электроды независимо от типа и способа их использования не должны оказывать вредного влияния на объект исследования.

Недопустимо, чтобы сами электроды становились источником потенциалов. Следовательно, электроды не должны иметь поляризационных потенциалов, которые в ряде случаев могут значительно искажать результаты исследований. Величина поляризационного потенциала зависит от материала, из которого изготовлен электрод, а также свойств и параметров электрического тока.

Меньшую способность к поляризации имеют электроды из благородных металлов: золота, серебра и платины. Поляризация практически не возникает, если через электроды течет *переменный* или *импульсный электрический ток* с изменяющейся полярностью импульсов. Возможность поляризации электрода увеличивается при его взаимодействии с постоянным или импульсным монофазным током. Поэтому при воздействии на объект постоянным током и при отведении постоянных или медленно изменяющихся потенциалов используют *неполяризующиеся электроды*.

В электрофизических экспериментах наиболее часто используют неполяризующиеся электроды следующих типов: серебро — хлористое серебро, платина — хлористая платина и цинк — серноокислый цинк.

Серебряные электроды при соприкосновении с тканевой жидкостью, содержащей хлориды, быстро покрываются слоем хлористого серебра и после этого поляризуются с трудом. Однако для точных экспериментальных исследований серебряные электроды покрывают слоем хлористого серебра до их использования в эксперименте.

Датчики

При исследовании и регистрации с *помощью электронной аппаратуры* целого ряда неэлектрических процессов, происходящих в организме, необходимо их предварительно преобразовать в электрические сигналы. Для этого используют различные датчики. Системы с применением датчиков используют для баллистокордиографии, плетизмографии, сфигмографии, регистрации двигательной активности, кровяного давления, дыхания, определения газов в крови и выдыхаемом воздухе и т. д.

Если системы дополнить и согласовать с работой *радиопередатчика*, то становится возможным передавать и регистрировать физиологические функции на значительном расстоянии от объекта исследования. Этот метод получил название *биотелеметрии*. Она позволяет исследовать физиологические функции не только в лабораторных условиях, но и в условиях свободного поведения, во время трудовой и спортивной деятельности, независимо от расстояния между объектом исследования и исследователем.

Датчики — это устройства, преобразующие различные физические величины в электрический сигнал.

Внедрение различных типов датчиков в физиологические и клинические исследования позволяет получать объективную информацию о многих функциях организма, например о сокращении мышц, смещении центра тяжести тела при перераспределении крови, давлении крови, кровенаполнении сосудов, степени насыщения крови кислородом и углекислым газом, о тонах и шумах сердца, температуре тела и многих других.

Пьезоэлектрические датчики. Создание этого типа датчиков основано на пьезоэлектрическом эффекте, который выражается в следующем: некоторые кристаллические диэлектрики (кварц, сегнетова соль, титанат бария) под действием механической деформации способны поляризоваться и генерировать электрический ток. Пьезоэлектрический датчик состоит из кристалла, на который путем напыления нанесены металлические контакты для отведения генерируемого датчиком электрического потенциала. При деформации пьезоэлектрического датчика с помощью механической системы можно регистрировать различного рода смещения, ускорения и вибрацию (например, пульс), а пьезоэлектрические микрофоны могут быть использованы для регистрации *фоноэлектрокардиограммы*.

Термоэлектрические датчики. Этот тип датчиков преобразует изменения температуры в электрический ток (*термопара*) или изменяет под влиянием температуры силу тока в электрической цепи (*терморезисторы*).

Термопара состоит из двух разнородных проводников, соединенных друг с другом. Для её изготовления применяют различные материалы: платину, медь, железо, вольфрам, иридий, константен, хромель, копель и др.

Терморезисторы — это полупроводниковые резисторы, способные изменять свое сопротивление по мере повышения температуры. Термоэлектрические датчики используют для измерения температур. Их широко используют для создания электротермометров.

Фотоэлектрические датчики, или фотоэлементы. Этот тип датчиков представляет собой устройства, которые изменяют свои параметры под действием света. При освещении фотодиода кванты света выбивают из полупроводника электроны, которые проходят через запирающий слой и заряжают отрицательно один электрод; сам полупроводник и другой электрод приобретают положительный заряд. Следовательно, фотодиод при его освещении становится генератором электрической энергии, величина которой зависит от интенсивности светового потока.

Фоторезисторы обладают свойством менять свое активное сопротивление под влиянием светового потока. *Фотоэлементы* используют в ряде медицинских приборов (например, в пульсотонометрах, оксигемометрах и др.).

Омические датчики способны изменять свое сопротивление при линейных и угловых перемещениях, при деформации и вибрации.

Существуют различные типы омических датчиков. В *реостатных* и *потенциометрических* омических датчиках изменение сопротивления достигается за счет перемещения подвижного контакта, который имеет механическую связь с объектом преобразуемого перемещения. В проволочных омических датчиках (*тензодатчиках*) подвижный акт отсутствует. Под влиянием внешних сил эти датчики меняют свое сопротивление за счет изменения длины, сечения и удельного сопротивления металлической проволоки.

Емкостные датчики. Принцип действия этих датчиков основан на том, что преобразуемые физиологические показатели (давление, изменение объема органа) влияют на определенные параметры датчика (диэлектрическую проницаемость, площадь обкладок, расстояние между обкладками) и тем самым изменяют его емкость. Они используются, например, в измерителях кровяного давления, плетизмографах и других приборах, которые предназначены для преобразования неэлектрических величин,

отражающих физиологические функции, в пропорциональные электрические величины.

Индуктивные датчики. Преобразующее действие этих датчиков основано на свойстве катушки индуктивности изменять свое сопротивление. Этого можно достигнуть при введении в неё ферромагнитного сердечника или при изменении величины зазора в магнитном сердечнике, на котором находится катушка (баллистокардиография).

Преобразование неэлектрических процессов в электрические представляет широкие возможности для их регистрации. Это объясняется не только чисто техническими преимуществами, но и точностью измерения регистрируемых величин, удобством сопоставления данных различных опытов и возможностью их обработки с помощью вычислительных машин. Важно, что этот метод позволяет в одних и тех же временных координатах вести синхронную запись электрических и неэлектрических процессов, сопоставлять их, выявлять существующие между ними причинно-следственные отношения и т. д., т. е. дает новые возможности изучения физиологических процессов.

Усилители биологических потенциалов

Электрическая активность биологических объектов и электрические параметры многих датчиков, преобразующих неэлектрические процессы в электрические, характеризуются относительно малыми величинами: сила тока — милли- и микроамперами, напряжение — милли- и микровольтами. Поэтому регистрировать их без предварительного усиления чрезвычайно трудно или вообще невозможно.

Таблица 1

Параметры биоэлектрических сигналов

Метод исследования	Амплитуда, мВ	Полоса частот, Гц
ЭКГ	0,1–5,0	0,5–400
ЭЭГ	0,01–0,50	1–100
ЭМГ	0,01–500	1–1000
ЭОГ	0,05–0,20	0,5–15
ЭПГ	0,1–1,0	0,01–10

Для усиления электрических сигналов малой величины используют *усилители*. Они необходимы для многих измерительных схем и раньше конструировались с использованием электронных ламп или полупроводниковых приборов. Ушли в далекое прошлое приборы, работающие на лампах, практически не применяются и транзисторы. Это связано с огромным количеством радиоэлектронных элементов, необходимых для создания того или иного современного измерительного прибора. Сочетание компактности, надежности работы и простоты в эксплуатации стало возможным на базе микроэлектроники.

Основным конструктивным принципом микроэлектроники является элементная интеграция, т. е. объединение в одном сложном радиоэлектронном элементе многих простых. Полученный сложный радиоэлектронный элемент называется интегральной микросхемой.

Интегральная микросхема — это микроэлектронное устройство, содержащее множество активных и пассивных элементов, которые изготавливаются в едином технологическом процессе, электрически соединены между собой, заключены в общий корпус и представляют единое целое. Интегральные микросхемы, таким образом, представляют собой целые функциональные устройства, предназначенные для преобразования электрического сигнала.

По назначению они подразделяются на аналоговые и логические. Аналоговые микросхемы обеспечивают пропорциональные зависимости между входным и выходным сигналами. Основными параметрами линейно-импульсных микросхем являются коэффициент усиления по напряжению K , входное сопротивление $R_{вх}$, выходное сопротивление $R_{вых}$, максимальное выходное напряжение U_{max} , нижняя и верхняя границы частотного диапазона $f_{ниж}$ и $f_{верх}$. Логические интегральные микросхемы — это устройства, в которых входные и выходные напряжения могут принимать определенные значения, при этом выходное зависит от наличия или отсутствия напряжения на входах.

Примером аналоговой микросхемы может служить операционный усилитель, изготовленный в виде одной платы. Операционный усилитель — это дифференциальный усилитель постоянного тока с высоким коэффициентом усиления. Условное обозначение, общепринятое для всех их типов, представлено на рис. 2.

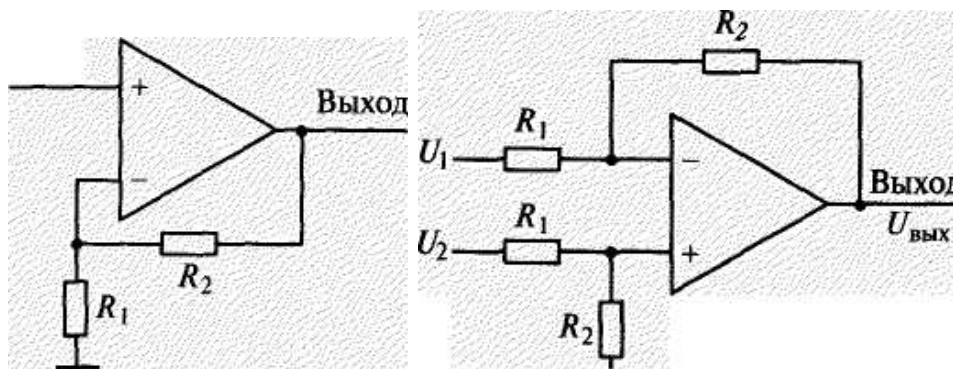


Рис. 2. Схема операционного усилителя

Входы обозначают как (+) и (-). Это, однако, не значит, что потенциал на одном входе всегда должен быть более положительным, чем на другом. Символика определяет относительную фазу выходного сигнала. Поэтому вход, обозначенный (+), называют обычно «неинвертирующий», а (-) — «инвертирующий».

Для операционного усилителя характерна необходимость использования отрицательной обратной связи. Отрицательная обратная связь — это процесс передачи выходного сигнала обратно на вход, при котором погашается часть входного сигнала. Отрицательная обратная связь уменьшает коэффициент усиления, но улучшает другие параметры усилителя. Крайне важно, что с её помощью можно получить очень большое или очень малое входное сопротивление операционного усилителя.

В тех случаях, когда один усилительный каскад не дает нужного усиления, используют *усилители с несколькими каскадами*. Связь между каскадами в усилителях переменного тока осуществляется через *разделительные конденсаторы*, с помощью которых переменная составляющая напряжения от предшествующего каскада передается на вход следующего. В усилителях постоянного тока разделительных конденсаторов нет. Коэффициент усиления всего усилителя зависит от коэффициента усиления отдельных каскадов, их количества и определяется произведением коэффициентов усиления всех каскадов усилителя.

Усилители выполняют роль промежуточного звена между объектом исследования (а также электродами, датчиками) и регистраторами, т. е. представляют собой канал связи. Они не должны искажать характер исследуемого процесса. Поэтому, прежде чем обращаться к техническим характеристикам усилителя, необходимо знать электрические свойства сигнала (биопотенциала) жи-

вого объекта или датчика, а также учитывать внутреннее сопротивление источника сигнала.

Передача сигнала по каналу связи (через усилитель) возможна лишь в том случае, когда основные характеристики сигнала не выходят за соответствующие границы характеристик канала связи. Если же параметры сигнала превышают характеристики канала связи, то передача сигнала по этому каналу без потери информации невозможна.

В физиологических лабораториях наиболее часто применяют два типа усилителей: усилители переменного тока и усилители постоянного тока.

Усилители переменного тока. Усилители этого типа состоят из нескольких усилительных каскадов, соединенных между собой с помощью разделительных конденсаторов. Такие приборы используют для усиления переменных составляющих сигнала благодаря их способности пропускать частоты от 0,1 Гц до 10–15 кГц. Они, как правило, имеют большой коэффициент усиления и могут усиливать входной сигнал в миллионы раз, что позволяет отчетливо регистрировать сигналы с исходной амплитудой в несколько микровольт. Усиление и полоса пропускания частот обычно регулируются. Эти устройства применяют для усиления биопотенциалов мозга и сердца, а также сигналов, генерируемых различными датчиками; по выходным характеристикам они легко согласуются с большинством отечественных регистраторов.

Усилители постоянного тока. Эти усилители не имеют разделительных конденсаторов. Между отдельными каскадами у них существует гальваническая связь, поэтому нижняя граница пропускаемых частот доходит до нуля. Данный тип усилителей может усиливать сколь угодно медленные колебания. По сравнению с усилителями переменного тока эти усилители имеют значительно меньший коэффициент усиления. Это связано с тем, что у усилителя постоянного тока с увеличением коэффициента усиления уменьшается стабильность работы, появляется дрейф нуля. Поэтому они применяются для усиления сигналов, величина которых превышает 1 мВ (например, мембранный потенциал нейронов, мышечных и нервных волокон и т. п.).

Регистрирующие приборы общего назначения

Регистраторы необходимы для трансформации электрических потенциалов, которые поступают к ним от отводящих электродов или датчиков (чаще после необходимого усиления), в процессы, воспринимаемые нашими органами чувств. Регистраторы могут преобразовывать и отображать исследуемый процесс или функцию в различных формах, например в отклонении стрелки измерительного прибора, цифровой индикации, отклонении луча на экране осциллографа, графической регистрации на бумаге, фотографической или магнитной ленте, а также в виде световых или звуковых сигналов и пр.

В медицинской регистрирующей аппаратуре наиболее широко используются три вида преобразователей, создаваемых на основе трех различных принципов трансформации энергии колебаний электрических потенциалов.

1. Использование силы, действующей на проводник с током в магнитном поле. На основе этого принципа конструируют различные системы гальванометров, вибраторов, которые применяются в чернильно-пишущих регистраторах.

2. Использование отклонения потока электронов (электронного луча) в электрическом и электромагнитном поле. Этот принцип реализуют с помощью электронно-лучевых трубок, которые являются основной частью электронных осциллографов.

3. Использование свойства ферромагнитных материалов намагничиваться под влиянием магнитного поля и сохранять это состояние. На этом принципе конструируют различные типы магнитографов (аналоговые устройства) и цифровая компьютерная регистрация данных.

Осциллограф

Осциллограф представляет собой наиболее необходимый и широко распространенный измерительный прибор. Это универсальные регистрирующие устройства. Они практически безынерционны и за счет наличия усилителей имеют высокую чувствительность. При стандартных измерениях осциллограф позволяет изучать напряжение в схеме в виде функции времени. Прибор всегда запускается в определенной точке сигнала, поэто-

му при периодических процессах можно наблюдать стационарное изображение. Поскольку в настоящее время существует большое количество всевозможных типов осциллографов, остановимся на описании некоего абстрактного осциллографа.

Вертикальное отклонение луча. Сигнал вертикальной развертки подается на схему вертикального отклонения и перемещает луч вверх и вниз по экрану. В каждом канале имеется калибровочный переключатель усиления, с помощью которого на экране осциллографа устанавливают масштаб «Вольт/Деление». Осциллограф имеет связи по постоянному току, поэтому на его экране отображается только сигнал напряжения постоянного тока. Однако иногда интерес может представлять переменный сигнал, имеющий большое смещение в виде неизменного напряжения постоянного тока. В этом случае можно переключить вход на связь по переменному току, при этом последовательно со входом подключается конденсатор, постоянная времени которого равна примерно 0,1 с.

Горизонтальное отклонение луча. Сигнал горизонтальной развертки создается внутренним генератором пилообразного напряжения, обеспечивающим отклонение, пропорциональное времени. Как и для усилителей вертикального отклонения, предусмотрен калибровочный переключатель «Время/Деление».

Схема запуска. Сигналы вертикального отклонения и горизонтальной развертки необходимы для построения графика зависимости напряжения от времени. Но если сигнал горизонтальной развертки не будет перехватывать входной сигнал каждый раз в одной и той же точке (при условии, что входной сигнал является периодическим), то изображение будет представлять собой сплошную путаницу, т. к. входное колебание будет накладываться само на себя в разные моменты времени. Схема запуска позволяет выбрать уровень и наклон («+» или «-»), определяющие момент начала развертки.

Существует несколько вариантов выбора сигналов, поступающих на вход схемы запуска и несколько вариантов выбора режима её работы. В режиме внутреннего запуска («Авто») в отсутствие сигнала развертка начинает «бегать», развертка запускается от сети переменного тока. Его используют в тех случаях, когда интерес представляют фон или пульсации в схеме. Внешние вхо-

ды схемы запуска используют в тех случаях, когда на схему подается некоторый испытательный входной сигнал.

Принцип работы цифрового осциллографа

Цифровые осциллографы, в отличие от аналоговых, не повторяют получаемый сигнал сразу на экран, а предварительно его преобразовывают в «цифровую» форму. Для этого входной сигнал замеряется определенное число раз в секунду, затем прибор после некоторых преобразований этих данных реконструирует сигнал и отображает его на экране. Оцифровка выполняется помощью блока аналогово-цифрового преобразования. *Современный осциллограф представляет собой компьютер, который собирает, преобразует, анализирует и манипулирует измеренными значениями сигнала, поданного на вход. Это современный вычислительный комплекс.*

Ключевые характеристики цифрового осциллографа

Полоса пропускания

Все приборы имеют ограничения, которые определяют сигналы какой минимальной и максимальной частоты или амплитуды с помощью этого прибора могут быть измерены. А полоса пропускания — это как раз та характеристика прибора, которая говорит, какой диапазон частот может быть измерен этим прибором.

Количество каналов

Многие современные осциллографы могут анализировать сразу несколько сигналов, отображая их на экране одновременно. Обычно прибор содержит от двух до четырех каналов.

Частота дискретизации (Sampling rate). Эта характеристика определяет, сколько раз в единицу времени осциллограф считывает измеряемый сигнал. Для приборов, имеющих более одного канала, частота дискретизации может уменьшиться, если одновременно используется несколько каналов.

Глубина памяти

Цифровые осциллографы называются запоминающими (DSO = Digital Storage Oscilloscope), т. к. запоминают измеренный сигнал. Точнее, они сохраняют во временной памяти измеренные значения сигнала в отдельные моменты времени. На что влияет данный параметр? Чем больше глубина памяти, тем выше частота

дискретизации по мере снижения скорости развертки — время/дел. Дело в том, что чем ниже скорость развертки, тем больше измеренных значений осциллографу приходится сохранять у себя в памяти для последующей обработки и отображения на экране. Так что в целом, чем больше глубина памяти, тем лучше.

Максимальное входное напряжение

Любая деталь или цепь имеет предельно допустимое напряжение. Осциллограф не исключение. Если подать на его вход напряжение, которое превышает максимально допустимое, то есть высокий шанс того, что прибор будет поврежден.

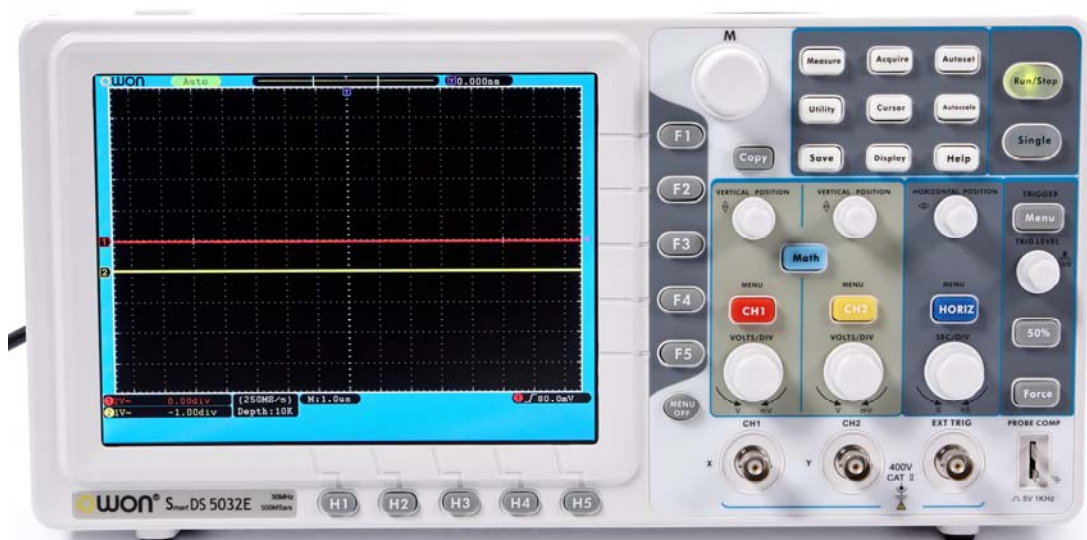


Рис. 3. Осциллограф

Главная задача этого прибора в том, чтобы отобразить на экране изменение электрического сигнала с течением времени. Для этого на экране осциллографа размечена координатная система. Обычная декартова система, на которой имеются ось X и ось Y. По оси X отмеряется время, а по оси Y — напряжение. Управляющие ручки и кнопки, которые расположены вокруг экрана прибора, предназначены для того, чтобы можно было настраивать отображение сигнала: масштаб по X, масштаб по Y, триггеры и курсоры.

Структура и принцип действия цифрового осциллографа

На рис. 4 показана структурная схема цифрового осциллографа (ЦО).

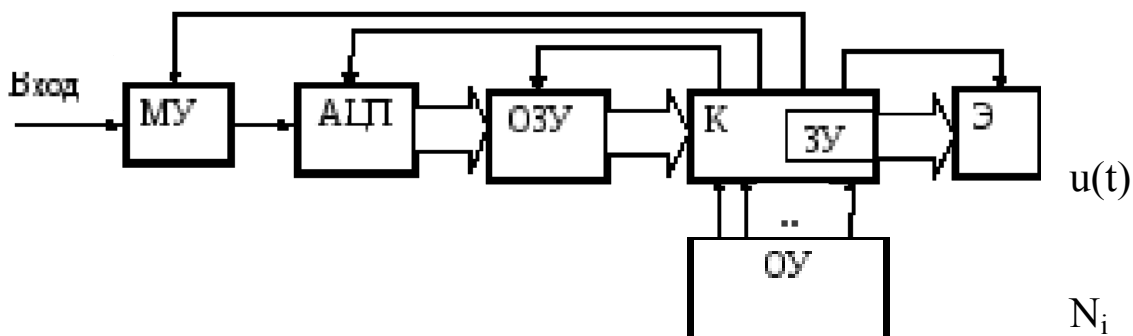


Рис. 4. Схема цифрового осциллографа (ЦО):

МУ — масштабирующее устройство (усилитель и делитель напряжения); АЦП — аналого-цифровой преобразователь; ОЗУ — оперативное запоминающее устройство; МК — микроконтроллер; ЗУ — запоминающее устройство; Э — экран; ОУ — органы управления (кнопки, ручки)

Пройдя через МУ, входное напряжение $u(t)$ преобразуется АЦП в дискретную последовательность кодовых слов N_i , отображающих мгновенные значения u_i этого напряжения. Каждое новое кодовое слово записывается в ОЗУ. При этом все предыдущие записанные отсчёты сдвигаются на одну ячейку (регистр сдвига), а самый первый N_1 исчезает, как бы «выталкивается». После этого содержимое некоторого количества ячеек ОЗУ переписывается в запоминающее устройство ЗУ, входящее в состав микроконтроллера МК.

Каждой ячейке ЗУ соответствует точка на экране, по цвету отличающаяся от фона. Её абсциссу определяет номер ячейки, а ординату — кодовое слово N_i , находящееся в этой ячейке. Для хорошего изображения сигнала на экране вполне достаточно 2 точек на 1 мм. Средних размеров экран имеет высоту 100 мм и ширину 120 мм. Следовательно, на экране должны располагаться $200 \times 240 = 48\,000$ точек или более.

Таким образом, для формирования хорошего изображения АЦП должен иметь не менее 8 двоичных разрядов (256 точек по вертикали) и ЗУ должно содержать 256 ячеек.

Ещё одно принципиальное отличие от аналоговых осциллографов состоит в том, что в ЦО можно видеть предысторию сигнала до появления импульса запуска. Это называют «предзапуском». Кодовые слова переписываются из ОЗУ в ЗУ так, что в момент появления импульса запуска первой ячейкой ЗУ будет та, что даёт точку на вертикальной линии, проходящей через центр

экрана, последующие точки располагаются направо от неё, предыдущие — налево. Положение первой ячейки можно смещать влево или вправо от центра и тем самым соответственно уменьшать или увеличивать видимый интервал предыстории.

Частоту дискретизации (частоту «выборок») можно изменять в широких пределах, что соответствует изменению масштаба по горизонтали и аналогично изменению скорости развёртки в аналоговых осциллографах.

Для изменения масштаба по вертикали, как и в аналоговых осциллографах, можно изменять коэффициенты усиления или деления соответственно входного усилителя или делителя напряжения.

В целом ЦО имеет больше сходства с компьютером, чем с аналоговым осциллографом. Он позволяет выполнять различные математические операции: растягивать во времени фрагменты записанного в память сигнала, складывать и вычитать сигналы в разных каналах, определять частотный спектр сигнала путём применения быстрого преобразования Фурье и проч.

При отображении сигнала на экране осциллографа искажение сигнала может возникать при дискретизации входного сигнала в АЦП (рис. 5). Самый простой способ — выбрать как можно большую частоту дискретизации (исходя из соображений целесообразности и полосы пропускания) и записать их в память. Такая дискретизация, с жестко установленным временем между точками дискретизации, называется **периодической**. Шаг дискретизации T_0 задается периодом импульсов. Частота дискретизации равна $F_d = 1/T_0$.

Недостатком такого способа является то, что информация между точками дискретизации (красные точки, наложенные на сигнал) теряется безвозвратно.

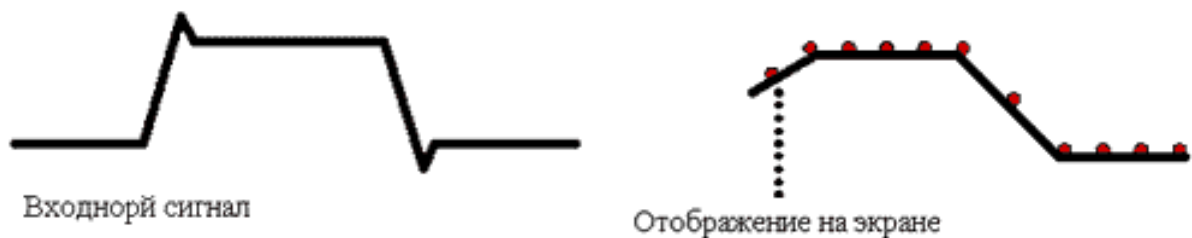


Рис. 5. Отображение сигнала на экране осциллографа

Естественно, изменения сигнала между точками дискретизации не отображаются на экране, поэтому отображение сигнала на экране искажается.

Компьютеры

В современных условиях РС являются неотъемлемой частью научно-исследовательских лабораторий. Наиболее удобно и экономично вводить информацию в РС с помощью специального устройства — амплитудно-цифрового преобразователя (АЦП). Амплитудно-цифровой преобразователь трансформирует амплитудно-временные параметры исследуемого процесса (например, амплитуду и длительность различных компонентов ЭКГ) в цифровой код, который воспринимается, анализируется и обрабатывается процессором ЭВМ. Математически обработанная (по заданным программам) в РС информация может быть представлена в различных формах: в виде таблицы, отпечатанной на принтере; в виде графика, построенного графопостроителем; в виде изображения на экране монитора или в другой форме. При этом исследователь освобождается от рутинной работы не только по измерению, обсчету, математическому анализу результатов, но и от необходимости составлять таблицы и строить графики.

Приборы специального назначения

Приборы специального назначения обычно предназначены для регистрации какой-либо одной функции или процесса, например электрокардиограммы, электроэнцефалограммы, электрогастрограммы и др. Такая специализированная аппаратура, как правило, компактна, проста в эксплуатации и удобна для проведения клинических исследований. В её состав входят различные блоки (системы) общего назначения, поэтому знание принципиального устройства отдельных блоков позволяет легко разобраться в работе приборов специального назначения. Общая структура прибора специального назначения включает электроды или датчик, коммутатор, усилитель, регистратор и блок питания. Более детальное знакомство с каждым прибором осуществляется с помощью инструкции по эксплуатации, прилагаемой к прибору.

Системы для воздействия на объект исследования

Системы, предназначенные для воздействия на организм или его структурно-функциональные единицы, оказывают различные влияния: пусковые, стимулирующие и тормозящие. Методы и варианты воздействия могут быть самыми разнообразными.

При исследовании *дистантных анализаторов* стимулирующий импульс может восприниматься на расстоянии, в этих случаях стимулирующие электроды не нужны. Так, например, можно воздействовать светом на зрительный анализатор, звуком — на слуховой и различными запахами — на обонятельный.

В физиологических экспериментах в качестве раздражителя часто используют *электрический ток*, в связи с чем широкое распространение получили *электронные импульсные стимуляторы* и *стимулирующие электроды*. Электрическую стимуляцию применяют для раздражения рецепторов, клеток, мышц, нервных волокон, нервов, нервных центров и т. д. Регистрирующие и стимулирующие системы часто используют одновременно, что значительно расширяет возможности физиологических экспериментов. Эти системы можно комбинировать в различных вариантах.

Электростимулятор — один из самых распространенных и необходимых приборов. Он обеспечивает оптимальные условия раздражения тканей (с наименьшим их травмированием при длительной стимуляции) и удобен в работе. Для электрической стимуляции биологических объектов вплоть до середины прошлого столетия применяли индукционные катушки, которые в настоящее время полностью заменены *электростимуляторами*.

Электростимулятор состоит из нескольких блоков (каскадов), принципиальное назначение которых не зависит от типа стимулятора. Рассмотрим назначение отдельных каскадов стимулятора и связанных с ними органов управления.

Генератор частоты следования импульсов (задающий генератор) часто конструируют по схеме мультивибратора; он может работать в ждущем и непрерывном режимах. При работе в ждущем режиме задающий генератор может генерировать импульсы или при нажатии кнопки «Пуск», или при подаче на вход мультивибратора запускающих сигналов от другого источника импульсов. В первом случае генерируется только один импульс, во вто-

ром — частота импульсов будет соответствовать частоте запускающих сигналов. При непрерывном режиме работы задающий генератор стимулятора генерирует импульсы непрерывно, их частоту можно изменять от долей герца до нескольких сотен герц.

Импульсы от задающего генератора подаются на следующий каскад стимулятора — каскад задержки, а также могут быть использованы для запуска развертки осциллографа (импульс синхронизации). В каскаде задержки импульс задающего генератора может задержаться на время 1–1000 мс. Каскад задержки позволяет (например, при исследовании вызванных потенциалов) независимо от скорости развертки осциллографа установить потенциал на экране осциллографа в удобном для регистрации месте. Импульсы от каскада задержки могут быть использованы для запуска других стимуляторов, если в эксперименте применяют несколько стимуляторов и их работу нужно синхронизировать.

От каскада задержки импульсы подаются на вход каскада формирования выходных сигналов. В этом каскаде формируются импульсы прямоугольной (или другой) формы с определенной длительностью, затем они передаются на усилитель мощности, который позволяет регулировать их амплитуду.

С выхода стимулятора посредством соединительных проводов и стимулирующих электродов импульсы необходимой формы, длительности и амплитуды передаются на объект исследования. Полярность выходных импульсов можно изменять. Для уменьшения артефакта раздражения некоторые типы стимуляторов имеют изолирующие выходные устройства.

Кроме импульсных стимуляторов, в физиологических экспериментах используют *фото-* и *фоностимуляторы*. Их устройство во многом принципиально сходно с устройством импульсного стимулятора. Отличие состоит в основном в структуре *выходного блока*, формирующей световые сигналы в фотостимуляторе или звуковые — в фоностимуляторе.

Основные правила эксплуатации электронной аппаратуры

Помимо общих правил обращения с аппаратурой, необходимо в каждом отдельном случае вначале ознакомиться с правилами эксплуатации незнакомого прибора и лишь затем приступать к работе с ним. Основные правила состоят в следующем.

До включения прибора в сеть необходимо:

1) убедиться, что напряжение сети соответствует напряжению, на которое рассчитан прибор или на которое переключен в данный момент его силовой трансформатор;

2) заземлить прибор, т. е. соединить клемму (или гнездо «земля») с шиной контура заземления (ни в коем случае нельзя заземлять приборы на элементы проводки газа);

3) проверить все провода сетевого тока (исправность изоляции и наличие вилок), категорически запрещается включать в розетки питания оголенные концы проводов;

4) проверить провода, предназначенные для коммутации приборов и составления рабочей схемы (они не должны иметь лишенных изоляции мест);

5) проверить у всех приборов тумблеры и другие переключатели сети — они должны находиться в положении «Выкл.».

Включение приборов в сеть должно проводиться переключателями, расположенными на приборах.

После включения приборов следует:

- проверить по световым индикаторам, все ли приборы получили питание (если индикатор не горит, необходимо обратиться к преподавателю и совместно установить причину неисправности; чаще всего это бывает связано с перегоранием предохранителя прибора или светового индикатора);

- помнить, что электронные приборы начинают стабильно работать только после предварительного прогрева; для большинства транзисторных приборов этот срок составляет до 2–5 мин.

3.4. Микроэлектродные исследования

Микроэлектродный метод исследования — метод отведения биоэлектрических потенциалов, генерируемых возбудимыми тканями организма животных и человека, при помощи микроэлектродов, которые могут быть погружены вглубь ткани без её существенного повреждения.

В тридцатые годы прошлого века японский исследователь Г. Като одним из первых зарегистрировал потенциалы с одиночного нервного волокна седалищного нерва лягушки. На XV Международном конгрессе физиологов, проходившем в Москве в 1935 г., Като демонстрировал свои знаменитые опыты, основанные

на ювелирной технике препаровки волокон седалищного нерва и последовательной их перерезки. Используя микроскоп, физиологи убеждались, что в участке расщепления нерва оставалось одноединственное волокно, сохранявшее способность проводить возбуждение и реагировать по закону «все или ничего».

Однако этот путь очень труден. Поэтому физиологи в стремлении проникнуть в клетку пошли по двум разным направлениям. С одной стороны, был найден очень удобный «макроскопический» объект исследований одиночных элементов в виде гигантского аксона кальмара, который имеет диаметр до 1 мм. Работая с таким гигантским волокном, А. Ходжкин и Э. Ф. Хаксли в 1945 г. установили кардинальные положения современной мембранной теории биоэлектrogenеза, обнаружив реверсию потенциала при раздражении этого волокна. С другой стороны, Дж. Грэхем и Р. Джерард в 1946 г., а затем В. Л. Настук и А. Ходжкин в 1950 г. впервые показали на портняжной мышце лягушки, что для изучения физиологии одиночного волокна нет надобности расщеплять мышцу на одиночные волокна, а достаточно проколоть поверхность любого волокна микропипеткой (с диаметром кончика не более 1 мкм), заполненной солевым раствором, чтобы зарегистрировать скачок потенциала. В 1950 г. Гуннар Светихин, а в 1951 г. Джон Кэрью Экклс впервые ввели такие микропипетки внутрь нервных клеток. Светихин ввел в клетки чувствительных ганглиев спинного мозга лягушки, а Экклс — в мотонейроны спинного мозга кошки. При этом были впервые зарегистрированы электрические ответы клеток при различных условиях их стимуляции.

В последующие годы методика микроэлектродных исследований непрерывно совершенствовалась и одновременно накапливался чрезвычайно важный материал, относящийся к физиологии клетки, особенно к физиологии нервной клетки, нервного и мышечного волокна и физиологии синапсов.

Микроэлектроды применяются либо для внутриклеточного, либо внеклеточного, либо, наконец, фокального отведения биоэлектropотенциалов. В последних случаях они могут иметь толщину от 1 до нескольких (15–20) микрометров. В первом случае они должны иметь диаметр кончика менее 1 мкм (до 0,1 и даже до 0,05 мкм). Различают три основных способа микроэлектродной отведения: отведение от группы клеток (фокальное внекле-

точное отведение); отведение от отдельной клетки при расположении кончика микроэлектрода возле неё (единичное внеклеточное отведение); отведение от отдельной клетки при расположении кончика микроэлектрода внутри неё (внутриклеточное отведение). Характер регистрируемой биоэлектрической активности определяется диаметром кончика микроэлектрода. Например, при диаметре кончика микроэлектрода не более 5 мкм можно зарегистрировать потенциалы действия одиночных нейронов (в этих случаях кончик микроэлектрода должен приблизиться к исследуемому нейрону или находиться внутри клетки). При диаметре кончика микроэлектрода больше 10 мкм одновременно регистрируется активность рядом расположенных десятков, а иногда сотен нейронов.

Применяют два основных типа микроэлектродов — металлические и стеклянные.

Металлические микроэлектроды представляют собой иглу из твердого металла, покрытую на всем протяжении, за исключением самого кончика, слоем изолирующего материала. В ряде случаев несколько микроэлектродов скрепляют вместе, располагая их кончики на различной глубине, что создает возможность для одновременного отведения множества биоэлектрических потенциалов. Металлические микроэлектроды отличаются низким электрическим сопротивлением. Однако из-за того, что диаметр их кончика не может быть сделан меньше нескольких микрон, такие электроды используют только для внеклеточного отведения.

Стеклянные микроэлектроды изготавливают в основном из тугоплавкого стекла пирекс. Стеклянный микроэлектрод представляет собой микропипетку из стекла, заполненную электролитом. Диаметр кончика пипетки может быть равен нескольким десятым долям микрона. Поэтому стеклянный микроэлектрод может быть введен внутрь отдельной клетки без существенного нарушения её функций. Недостатком стеклянных микроэлектродов является большая хрупкость, исключая возможность их длительного применения, особенно в условиях хронического опыта, а также высокое электрическое сопротивление (до нескольких десятков МОм). Сопротивление снижают путем заполнения стеклянных микроэлектродов концентрированными солевыми растворами (чаще хлористым калием). Широкое распро-

странение получило изготовление многоканальных стеклянных микроэлектродов, которые вытягиваются из нескольких предварительно скрепленных между собой стеклянных трубочек; при этом часть каналов может использоваться не для регистрации электрической активности, а для подведения к клетке или введения внутрь её тех или иных веществ.

Для закрепления и присоединения электродов к входному усилителю применяют различные держатели. Доставка микроэлектрода к месту измерения и манипулирование им осуществляют посредством различных микроманипуляторов.

На рис. 6 представлена схема микроманипулятора для электрофизиологических исследований.

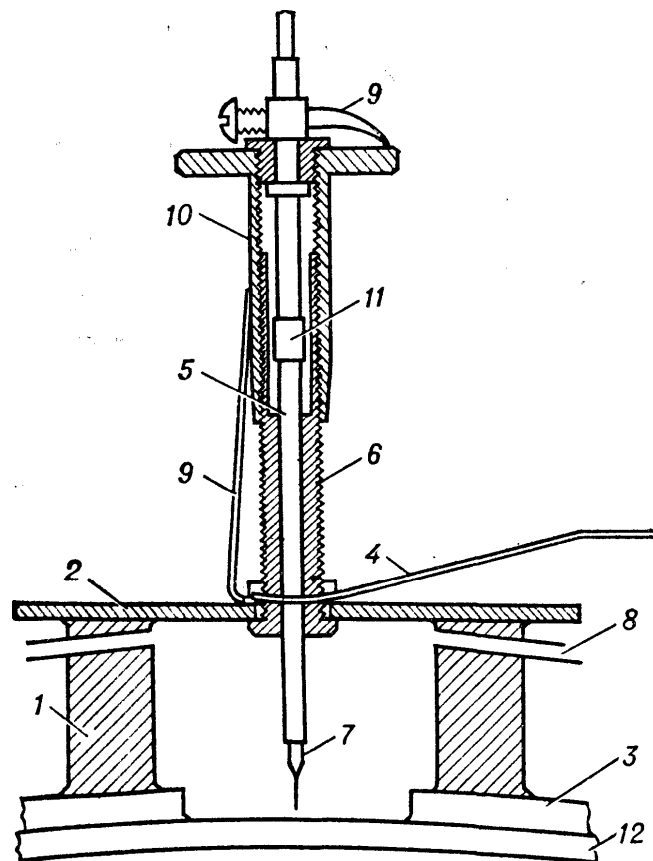


Рис. 6. Схема микроманипулятора для микроэлектродного исследования коры головного мозга: 1 — кольцо; 2 — диск; 3 — кость черепа с трепанационным отверстием; 4 — пружина; 5 — микроэлектродный держатель; 6 — микрометрический винт; 7 — микроэлектрод; 8 — отверстия (каналы) в кольце; 9 — указатели глубины погружения; 10 — втулка; 11 — муфта, предотвращающая проворачивание держателя; 12 — оболочки головного мозга

Во всех случаях микроэлектродного отведения источником биоэлектрических потенциалов является поверхностная мембрана возбудимой клетки с существующей на ней трансмембранной разностью потенциалов, создаваемой неравномерным распределением основных неорганических ионов между цитоплазмой клетки и внеклеточной средой. В качестве индифферентного (т. е. относительного) используется электрод большой площади, расположенный на удалении (например, на поверхности ткани); такой электрод можно рассматривать как имеющий постоянный нулевой потенциал. При внутриклеточном отведении источник эдс (т. е. поверхностная мембрана клетки) оказывается между микро- и относительным электродом, что приводит к отведению постоянной разности потенциалов в несколько десятков милливольт. Скачкообразное появление такой разности является основным критерием проникновения кончика микроэлектрода внутрь клетки. Появление активной реакции в отводимой клетке регистрируется как изменение постоянной разности потенциалов в сторону её уменьшения (деполяризация) либо увеличения (гиперполяризация).

Фокальное микроэлектродное отведение находит применение при изучении распространения возбуждения в пределах отдельных мозговых структур. Особенно широко фокальное отведение используется при исследовании коры больших полушарий головного мозга, позволяя в определенной степени отделить процессы, протекающие в дендритах пирамидальных нейронов (образующих верхние слои серого вещества), от процессов, протекающих в их телах. В стволе головного мозга и в спинном мозге также имеется относительно правильная ориентация мотонейронов и их аксонов, поэтому фокальное отведение было использовано здесь для установления особенностей распространения процесса возбуждения в различных частях клетки (миелинизированная и немиелинизированная части аксона, сома и отчасти дендриты).

Единичное внеклеточное микроэлектродное отведение нашло применение при отведении биоэлектрических потенциалов от мышц, некоторых рецепторов (сетчатка глаза) и т. д. В первом случае обычно изучают электрическую активность группы мышечных волокон, иннервируемых одним двигательным волокном и образующих нейромоторную единицу. При отведении биопотенциалов от сетчатки возможна регистрация дея-

тельности отдельных ганглиозных элементов путем прикладывания микроэлектрода к внутренней поверхности сетчатки (без погружения внутрь клетки). Внеклеточное отведение активности отдельных нейронов мозга широко производится сейчас от всех его участков как в эксперименте, так и в клинических условиях во время нейрохирургических операций. Основным критерием отведения активности отдельной клетки является при этом регистрация разряда импульсов постоянной амплитуды. Внеклеточное отведение с успехом используется для исследования механизма конвергенции возбуждающих и тормозящих синаптических влияний, изменений деятельности нейронов в различных физиологических условиях, под действием фармакологических факторов и т. д. Внеклеточное отведение синаптических потенциалов отдельных клеток значительно менее эффективно, чем отведение импульсной активности, поскольку создаваемые ими электрические поля во много раз слабее полей, создаваемых потенциалами действия. Кроме того, практически невозможно достоверно подтвердить факт отведения активности от одной клетки, поскольку синаптические потенциалы не подчиняются правилу «все или ничего» и величина их является весьма вариабельной в одном и том же нейроне. Внеклеточное отведение потенциалов отдельных нейронов является пока единственно возможным методом тонкого анализа деятельности нервной системы. При особых методах погружения микроэлектродов возможно достаточно длительное внеклеточное отведение на животных без наркоза при сохраненной высшей нервной деятельности и даже в условиях свободного поведения.

Настоящий прорыв в микроэлектродных исследованиях вызвал метод локальной фиксации потенциала — *patch-clamp* (англ. *patch* — фрагмент, *clamp* здесь — фиксация). В настоящее время все электрофизиологические исследования мембран клеток производят при помощи данного метода.

Метод *patch-clamp* позволяет регистрировать на изолированных клетках их потенциалы, токи или одиночные ионные каналы посредством специальной стеклянной пипетки (*patch*-пипетки), напоминающей микроэлектрод, но имеющей сопротивление от 2 до 10 МОм в зависимости от типа исследуемых клеток. Кроме того, метод позволяет регистрировать ионные каналы с изоли-

рованного кусочка мембраны, который может быть расположен по отношению к отверстию пипетки либо внешней, либо внутренней стороной.

На рис. 7 показаны микроэлектрод (а) и patch-пипетка (б) и продемонстрированы их основные отличия.

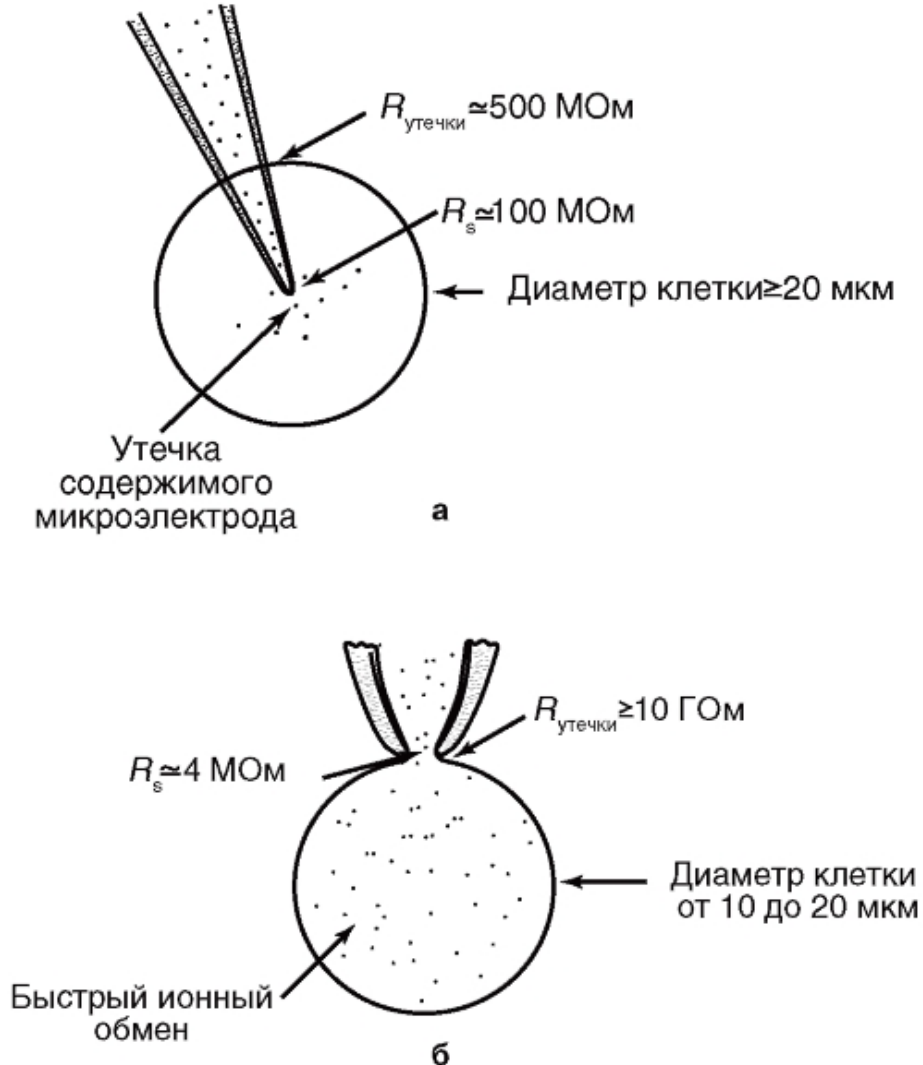


Рис. 7. Микроэлектрод (а) и patch-пипетка (б)

По сравнению с методами микроэлектродной техники и классической фиксации потенциала применение пипетки имеет ряд преимуществ. Во-первых, техническая поддержка метода позволяет при помощи одного прибора исследовать клетки как в режиме фиксации тока, так и в режиме фиксации потенциала. Во-вторых, метод *patch-clamp* позволяет изучать мелкие клетки без существенного повреждения их мембран, тогда как даже один микроэлектрод, а тем более два существенно повреждают мембрану. Далее, сопротивление утечки «микроэлектрод — мембрана» не превышает

500 МОм, а при использовании метода *patch-clamp* и *patch-pipетки* — более 10 ГОм, что существенно влияет на качество регистрации. Для исследований методом *patch-clamp* существуют специализированные компьютерные системы, позволяющие в режиме *current-clamp* (фиксации тока) регистрировать потенциалы клеток и осуществлять их электрическое раздражение, а в режиме *voltage-clamp* (фиксации потенциала) — измерять суммарные ионные токи клетки или токи через одиночные ионные каналы. Кроме того, в комплект поставки включены программа для регистрации процессов во всех режимах работы и программа для обработки зарегистрированных процессов.

Успех данного метода состоит в том, что он позволяет изучать клетки в условиях практически интактной нервной системы при сохранении синаптических контактов. Применение *patch-clamp* на срезах мозга не требует предварительной обработки ферментами, которая может привести к изменению свойств мембран клеток, и, кроме того, позволяет изменять внутриклеточную среду при использовании пипеточных растворов, различающихся по составу, производя записи активности отдельных нейронов в условиях, максимально приближенных к физиологическим. В последнее десятилетие спектр применения *patch-clamp* на срезах мозга дополнительно расширился в связи с внедрением методики определения характера экспрессии генов на одиночном нейроне, что позволило охарактеризовать отдельные клетки мозга физиологически и молекулярно-биологически.

Внутриклеточное отведение — это основной метод изучения внутренних механизмов функционирования возбудимых клеток, в том числе ионных механизмов генерации потенциала действия, возбуждающих и тормозящих постсинаптических потенциалов и т. д. Именно с помощью внутриклеточного микроэлектродного отведения была впервые показана связь постсинаптического торможения с гиперполяризацией постсинаптической мембраны. Широкое применение внутриклеточное отведение нашло при изучении деятельности рецепторов, в частности при изучении происхождения и функционального значения генераторных потенциалов.

3.5. Электрическая активность мозга. Электроэнцефалография

Наука пыталась найти методы, которые позволили бы исследовать работу мозга, не нарушая его нормальную деятельность. В 1875 г. английский хирург Ричард Кэтон впервые показал, что у животного можно зарегистрировать электрическую активность мозга. Он обнаружил, что на поверхности сенсорной коры у кролика при воздействии на глаз светом возникали изменения электрических колебаний.

Только более чем через 50 лет после работ Р. Кэтона, в конце 1920-х гг., австрийский психиатр Ганс Бергер получил первые электроэнцефалограммы — записи электрической активности мозга человека. К тому времени уже было известно, что нервные импульсы — это колебания электрических потенциалов и именно они являются языком, на котором нейроны общаются друг с другом и с подчиненными им клетками мышц и желез. Наука получила доступ к неуловимому «секрету мозга», к прямым проявлениям его работы. С помощью этого метода сделано немало важнейших открытий, а в некоторых областях (в физиологии сна, диагностике эпилепсии) его роль просто исключительна. Но вычитать в энцефалограмме даже самую простенькую мысль не удалось никому. Мозг состоит из миллиардов нейронов, и электрод может отразить только суммарную, усредненную активность клеток, оказавшихся по соседству с ним. Это похоже на гул, который производит многотысячное скопление пчел в улье.

Электроэнцефалография (ЭЭГ) — метод регистрации суммарной биоэлектрической активности мозга как с поверхности скальпа, так и из глубинных структур. Общепризнано, что суммарная электрическая активность отражает изменения функционального состояния нервной ткани. Возможность одновременной регистрации электрических потенциалов с разных областей мозга делает электроэнцефалографию одним из наиболее тонких способов исследования функционального состояния ЦНС. Мозг — наиболее сложный орган и его функционирование наименее понятно для нас, так же сложна его электрическая активность. До настоящего времени ЭЭГ остается наиболее перспективным, но наименее расшифрованным источником данных

о механизмах мозговой деятельности. Одна из самых отличительных черт ЭЭГ — её спонтанный автономный характер. ЭЭГ регистрируется даже у плода, т. е. еще до рождения организма.

Ганс Бергер во время нейрохирургических операций зарегистрировал с поверхности черепа «мозговые волны». Он отметил, что характер активности зависит от состояния испытуемого. Наиболее заметны были колебания синусоидальной формы с частотой 10 гц. Бергер назвал их альфа-волнами. При возбуждении появились более частые колебания малой амплитуды — бета-волны. Бергер считал, что обнаружил физиологический показатель работы мозга, аналогичный ЭКГ. Его работы были встречены скептически, и только в 1935 г., когда Эдгар Дуглас, и Джордж Метьюз осуществили наглядную демонстрацию записи ЭЭГ и продемонстрировали факт депрессии альфа-ритма при открывании глаз, возник интерес к ЭЭГ исследованиям.

Существуют два принципиально различных вида электрической активности мозга: во-первых, импульсная активность отдельных нейронов и их отростков (аксонов) и, во-вторых, суммарная медленная электрическая активность мозговых структур.

В функциональном отношении суммарная, или медленная, электрическая активность мозга делится на два вида: спонтанную, или фоновую, активность и вызванные потенциалы (ВП).

Фоновая активность — электрическая активность мозга, которая наблюдается при отсутствии внешних раздражителей и не связана с двигательной активностью.

ВП — электрическая реакция, т. е. изменения биопотенциалов определенной формы, возникающие в определенных зонах мозга в ответ на контролируемое раздражение рецепторов или афферентных систем.

Электроэнцефалография

Регистрация биотоков мозга человека осуществляется с помощью многоканального усилителя биоэлектрических сигналов — электроэнцефалографа, который состоит из входного устройства с коммутатором; блока усилителей; регистрирующего устройства; блока контроля и калибровки.

Внедрение компьютерных технологий в электроэнцефалографию стало огромным шагом в развитии медицинской техники,

поскольку данный метод обследования стал наиболее удобным, надежным и максимально комфортным. По своей сути компьютерный электроэнцефалограф мало чем отличается от стандартного. Единственное отличие состоит в том, что за счет компьютеризации произошло полное автоматизирование системы управления электроэнцефалографа. Наличие многих каналов регистрации (обычно не более 32) позволяет осуществлять одновременную синхронную запись целого ряда показателей жизнедеятельности организма, включая ЭЭГ, ЭКГ, ЭМГ, КГР и др., т. е. получить полиграфическую запись.

Составляющие компьютерного *электроэнцефалографа*:

1. Комплект электроэнцефалографических электродов.
2. Шлем, позволяющий их крепить.
3. Многоканальный электроэнцефалографический усилитель.
4. Коммутационное устройство.
5. Фото-фоностимулятор.
6. Компьютер.

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.

Для регистрация ЭЭГ используются специальные электроды (наиболее распространенные — мостиковые, чашечковые). Электроды, применяемые для отведения биопотенциалов головного мозга, должны иметь малое переходное сопротивление и малое напряжение поляризации. Их в основном изготавливают из токопроводящих металлов, которые обладают антикоррозионными свойствами, например серебра. Необходимый контакт при наложении электродов на кожу головы пациента обеспечивает специальная электродная паста.

С целью обеспечения возможности сравнения ЭЭГ международная федерация обществ электроэнцефалографии приняла так называемую систему «10–20», позволяющую точно указывать расположение электродов.

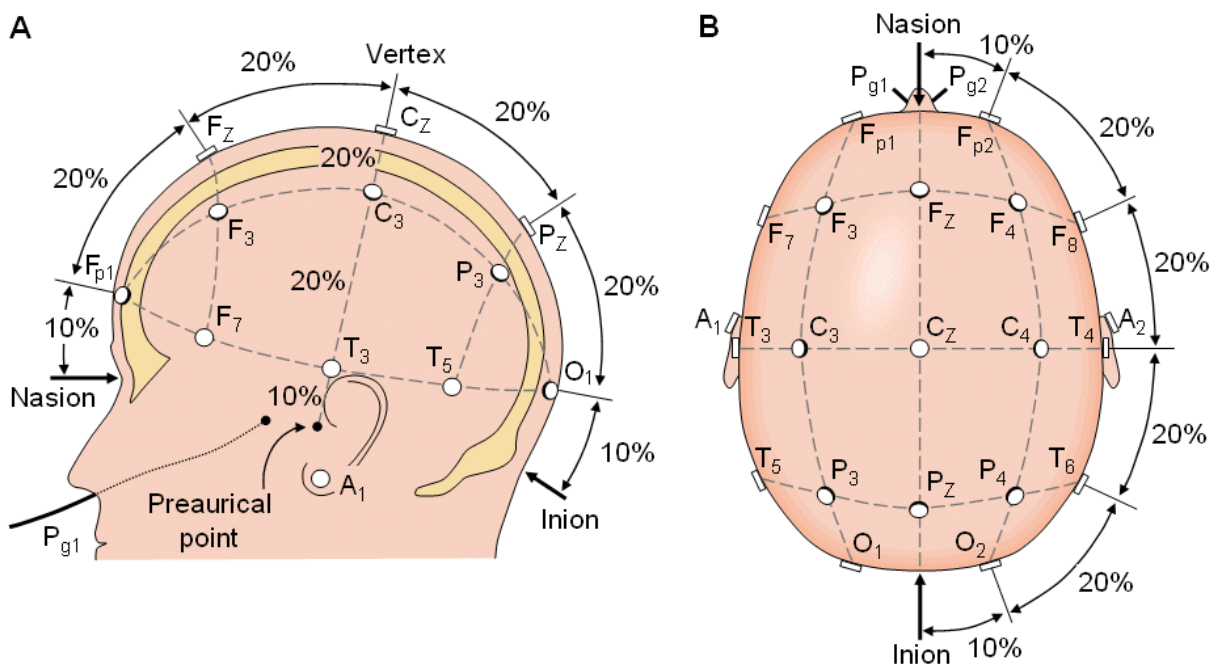


Рис. 8. Схема наложения электродов при регистрации ЭЭГ

В соответствии с этой системой электроды располагают по стандартной Международной системе 10–20 %. При этом ориентирами для установки электродов служат переносица, затылочный бугор и наружные слуховые проходы. Длину продольной полуокружности между переносицей и затылочным бугром, а также поперечной полуокружности между наружными слуховыми проходами делят в соотношении 10 %, 20 %, 20 %, 20 %, 20 %, 10 %. Для удобства регистрации поверхность скальпа разделена на области, обозначенные буквами: F — лобная, O — затылочная область, P — теменная, T — височная, C — область центральной борозды. Нечетные номера отведений относятся к левому, а четные — к правому полушарию. Буквой Z обозначаются отведения по срединной линии.

Электроды устанавливают в местах пересечений проведённых через эти точки меридианов. Ближе всего ко лбу (на расстоянии 10 % от переносицы) устанавливают лобно-полюсные электроды (Fp1, Fpz и Fp2), а далее (через 20 % длины у разных больных полуокружности) — лобные (F3, Fz и F4) и передневисочные (F7 и F8), затем — центральные (C3, Cz и C4) и височные (T3 и T4). Далее — теменные (P3, Pz и P4), задневисочные (T5 и T6) и затылочные (O1, Oz и O2) электроды соответственно. Всего таким образом накладывается 21 электрод.

Существуют два основных способа отведения биопотенциалов мозга: униполярный (монополярный) и биполярный (рис. 9).

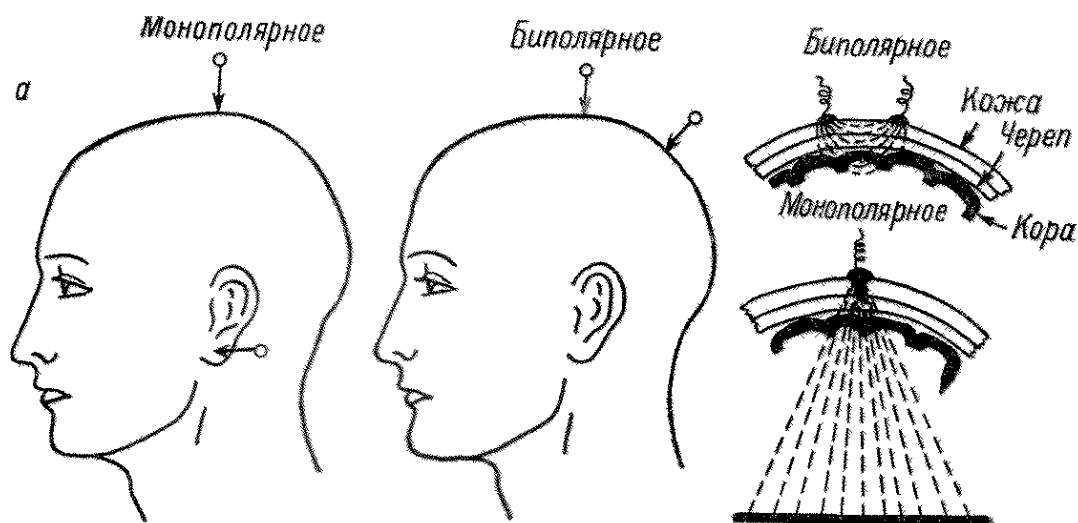


Рис. 9. Способы отведения биопотенциалов мозга

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. В качестве индифферентной точки используют области головы, обладающие минимальной собственной электрической активностью. 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 способ дает возможность регистрировать разницу напряжения биопотенциалов под двумя электродами и иметь представление о локализации очага биоэлектрической активности. Биполярный метод регистрации дает возможность судить об активности в области отведения ЭЭГ.

Основные ритмы ЭЭГ

ЭЭГ является интегративным пространственно-временным показателем спонтанной электрической активности мозга. Суммарная биоэлектрическая активность, регистрируемая с поверхности головы, характеризует состояние коры головного мозга в целом и её отдельных областей, а также функциональное состояние подкорковых структур разного уровня.

При характеристике ЭЭГ в ней учитывают амплитуду (размах) колебаний в мкВ и частоту колебаний в Гц. Фоновая активность в коре мозга проявляется в различных по частоте, амплитуде и физиологической значимости электрических колебаниях. Традиционно в ЭЭГ выделяют ряд частотных диапазонов, имеющих разное физиологическое значение. К специфическим видам активности относят пять основных ритмов: альфа-, бета-, тета-, дельта-, и гамма-ритм.

Ритм — электрические колебания потенциалов мозга в определенном диапазоне частот. Ритм состоит из волн.

Степень выраженности того или иного ритма характеризует понятие «индекс ритма». **Индекс ритма** — отношение отрезка времени, в течение которого регистрируется ритм, ко времени общей продолжительности регистрации электрической активности мозга (% выраженности ритма).

Различные формы жизнедеятельности приводят к существенному изменению ритмов биоэлектрической активности мозга. При умственной работе усиливается бета-ритм, а альфа-ритм исчезает. При мышечной работе статического характера происходит десинхронизация электрической активности мозга. Появляются быстрые колебания низкой амплитуды. Во время динамической работы периоды синхронизации и десинхронизации сменяют друг друга соответственно моментам работы и отдыха.

Формирование условного рефлекса сопровождается десинхронизацией активности мозга. Значительные изменения ЭЭГ происходят при переходе от бодрствования ко сну.

Альфа-ритм, или ритм Бергера, представляет собой почти синусоидальные колебания с частотой 8–13 Гц и амплитудой 20–60 мкВ. Альфа-ритм характерен для ЭЭГ взрослого здорового человека при бодрствовании в состоянии физического и психи-

ческого покоя. Наиболее альфа-ритм выражен в теменно-затылочных областях мозга. В лобных областях альфа-ритм выражен хуже и может вообще отсутствовать. Альфа-ритм лучше выражен при закрытых глазах или в темноте при отсутствии мышечного и умственного напряжения. Открытие глаз, освещение, умственная работа, волнение вызывают угнетение альфа-ритма. Альфа-ритм существенно изменяется при действии самых различных раздражителей: стоит попросить человека открыть глаза или подействовать на него вспышкой яркого света, звуком и т. п., стоит даже ему чем-то встревожиться или о чем-либо подумать (например, решить мысленно простую арифметическую задачу), как альфа-ритм исчезает и вместо него начинают регистрировать колебания более низкой амплитуды (порядка 10–15 мкВ) и большей частоты (от 14 до 35 в с), которые получили название бета-ритма.

Явление угнетения альфа-ритма называют депрессией альфа-ритма, реакцией десинхронизации, реакцией активации, реакцией пробуждения. Эмоциональные переживания: страх, боль, радость, волнение — также вызывают депрессию альфа-ритма. Если при открытых глазах на свету альфа-ритм отсутствовал, то закрытие глаз обычно приводит к его появлению со скрытым периодом 0,3–0,5 с. Если альфа-ритм присутствовал в ЭЭГ до закрытия глаз, то после закрывания глаз он значительно усиливается. Так же действует темнота: если потушить свет при открытых глазах, альфа-ритм усиливается, если его не было до затемнения, то он появляется. Обычно амплитуда альфа-волн претерпевает характерную модуляцию, т. е. более или менее периодическое усиление и ослабление. Благодаря этому альфа-волны собраны в своеобразные веретена или группы. Как повышение, так и понижение уровня активации мозга ведет к угнетению альфа-ритма. Когда мы закрываем глаза, наши альфа-ритмы усиливаются и приобретают характер длинных рядов синусоидальных колебаний.

Существует немало предположений, касающихся функциональной роли альфа-ритма. Основоположник кибернетики Н. Винер и вслед за ним ряд других исследователей считали, что этот ритм выполняет функцию временного сканирования («считывания») информации и тесно связан с механизмами восприятия и памяти. У большинства людей альфа-волны исчезают, когда

они открывают глаза и перед ними возникает та или иная реальная картина. Это позволяет думать, утверждал Грей Уолтер, что альфа-ритм — это процесс поиска следов в памяти, затухающий, когда паттерн найден.

Предполагается, что альфа-ритм отражает реверберацию возбуждений, кодирующих внутримозговую информацию и создающих оптимальный фон для приема и переработки афферентных сигналов. Его роль состоит в своеобразной функциональной стабилизации состояний мозга и обеспечении готовности реагирования. Предполагается также, что альфа-ритм связан с действием селектирующих механизмов мозга, выполняющих функцию резонансного фильтра и таким образом регулирующих поток сенсорных импульсов. Установлено, что характер альфа-ритма связан с типом ВНД человека, с уровнем возбудимости ЦНС. Лица с низкой частотой альфа-ритма выполняют психофизические тесты (сенсомоторная реакция) медленнее, чем лица с быстрым альфа-ритмом. Более быстрый ритм, как утверждал Г. Уолтер, гарантирует большую оперативность решений и действий. Характер альфа-ритма сугубо индивидуален. У большинства людей, имеющих четко выраженный альфа-ритм, преобладает способность к *абстрактному мышлению*. У незначительной группы испытуемых обнаруживается полное отсутствие альфа-ритмов даже при закрытых глазах. Эти люди свободно мыслят зрительными образами, однако испытывают трудности в решении проблем абстрактного характера.

К **бета-ритму** относят колебания с частотой от 14 до 30 Гц, низкой амплитуды, порядка 5–30 мкВ. Чем выше частота бета-волн, тем меньше их амплитуда. Бета-ритм характерен для деятельного состояния мозга. Колебания типа бета-ритма регистрируются у человека и в тот первый момент, когда он расположился с электродами в камере, но еще не закрыл глаза и не вполне успокоился. Бета-ритм является доминирующим для центральных и лобных областей мозга. Появление диффузной бета-активности характерно для ориентировочной реакции и реакции активации. Переход от состояния покоя к напряжению всегда сопровождается реакцией десинхронизации, главным компонентом которой служит высокочастотная бета-активность. Умственная деятельность у взрослых сопровождается повышением мощности

бета-ритма, причем значимое усиление высокочастотной активности наблюдается при умственной деятельности, включающей элементы новизны, в то время как стереотипные, повторяющиеся умственные операции сопровождаются её снижением. Установлено, что успешность выполнения вербальных заданий и тестов на зрительно-пространственные отношения оказывается положительно связанной с высокой активностью бета-диапазона ЭЭГ левого полушария. По некоторым предположениям, эта активность связана с отражением деятельности механизмов сканирования структуры стимула, осуществляемой нейронными сетями, продуцирующими высокочастотную активность ЭЭГ.

Постоянная генерализованная низкоамплитудная бета-активность может быть признаком патологического процесса в структурах мозга.

Дельта-ритм — колебания с частотой 0,5–4 Гц и амплитудой до 200–300 мкВ. У здорового человека в состоянии бодрствования дельта-ритм в ЭЭГ наблюдается только в виде единичных низкоамплитудных волн в передних и центральных отделах коры мозга. Отчетливое появление дельта-ритма наблюдается в состоянии глубокого сна и наркоза, что говорит об его отношении к процессам торможения. (Это явление используется в клинике для определения глубины наркоза. С углублением наркотического сна происходит замедление ритмов ЭЭГ и преобладание дельта-ритма.) Наличие высокоамплитудной дельта-активности порядка 500–100 мкВ, как правило, характерно для локальных органических поражений мозга: опухоли, травмы, кровоизлияния. В бессознательном состоянии биоэлектрическая активность коры мозга может быть представлена одними дельта-колебаниями с очень низкой амплитудой, не более 510 мкВ (ЭЭГ-кома).

Тета-ритм представляет собой колебания с частотой 4–7 Гц и амплитудой 30–100 мкВ. Тета-ритм в основном характерен для височно-теменных областей. При бодрствовании в ЭЭГ регистрируется лишь незначительное количество тета-волн, не более 5 % записи. Тета-ритм является нормальным видом активности для гиппокампа.

По некоторым наблюдениям, тета-ритм тесно связан с эмоциональным и умственным напряжением. Его иногда так и называют — стресс-ритм, или ритм напряжения. У человека одним из ЭЭГ

симптомов эмоционального возбуждения служит усиление тэта-ритма с частотой колебаний 4–7 Гц, сопровождающее переживание как положительных, так и отрицательных эмоций. При выполнении мыслительных заданий может усиливаться и дельта-, и тета-активность. Причем усиление последней составляющей положительно соотносится с успешностью решения задач. По своему происхождению тэта-ритм связан с кортико-лимбическим взаимодействием. Предполагается, что усиление тэта-ритма при эмоциях отражает активацию коры больших полушарий со стороны лимбической системы. Появление тета-ритма характерно для начальных стадий сна. Считают, что тета-ритм занимает промежуточное положение между альфа- и дельта- ритмами. Появление множественного тета-ритма у человека связано с повреждениями таламуса и таламокортикальных структур. Часто тета-ритм наблюдается при психических заболеваниях.

В последние годы пристальное внимание исследователей привлекает высокочастотная электрическая активность мозга, так называемый γ -ритм. К **гамма-ритму** относят колебания с частотой выше 30 Гц. Частота этого ритма варьирует, по данным разных авторов, от 30 Гц до 80, 200 и более Гц, а амплитуда не превосходит 5–10 мкВ. Наличие этого ритма обнаружено не только у человека, но и у животных. У человека зарегистрированы колебания в ЭЭГ с частотой до 500 Гц. Гамма-ритм лучше выражен в передних отделах коры мозга. Волны этого ритма имеют очень малую амплитуду и не всегда могут быть обнаружены в ЭЭГ. Длительное время считали, что появление гамма-активности в коре мозга отражает процессы локального возбуждения. Однако в последние годы наблюдается стремительный рост числа исследований о роли гамма-активности с частотой 30–170 Гц. Усиление гамма-активности связывают с контролируруемыми когнитивными процессами, в частности с произвольным вниманием. У человека усиление ритма с частотой 40 Гц отмечали в связи с состоянием направленного внимания. На частоте гамма-ритма происходит синхронизация активности корковых нейронов при опознании и формировании ответа на значимые стимулы. Синхронизацию вызывают сенсорное воздействие, решение сенсомоторной задачи и другие активирующие факторы. Они могут охватывать нейроны как сенсорной, так и моторной коры

Согласно популярной в настоящее время гипотезе γ -ритм у человека играет ключевую роль в обеспечении когнитивных процессов. Это подтверждают полученные в последнее время данные о связи γ -ритма с процессами восприятия, внимания, сознания и обработки семантической информации. Считают, что именно на частоте γ -ритма происходит синхронизация активности и функциональное объединение пространственно удаленных популяций нейронов при осуществлении сознательной деятельности. Все это позволяет предположить наличие определенной связи между активностью головного мозга на частоте γ -ритма, с одной стороны, и показателями интеллекта и успешностью выполнения различных видов интеллектуальной деятельности — с другой. Есть гипотезы (Ф. Крик, прожекторная теория сознания), связывающие наличие гамма-ритма с активацией сознания.

3.6. Вызванные потенциалы мозга

При экспериментальных исследованиях нервной системы (а не только мозга) широко используется изучение электрической реакции определенной части или отдела ЦНС в ответ на афферентные импульсы, возникающие при раздражении рецепторов или афферентных нервов. Эта электрическая реакция получила название вызванного потенциала. В психофизиологической литературе название ВП часто обозначают как ССП (связанный с событием потенциал — Event-Related Potential). Исследователи считают, что изменения ВП отражают включение мозговых структур в анализ поступающей информации.

Вызванный ответ (ВО), или вызванный потенциал (ВП), — биоэлектрическая реакция, возникающая в различных мозговых образованиях при действии периферических стимулов, которая используется в качестве функционального индикатора афферентных процессов, протекающих в этих образованиях. ВП представляет собой суммарное биоэлектрическое отражение многих гетерогенных процессов, генерируемых системами нейронов в ответ на поступление афферентного залпа при раздражении рецепторов проводящих путей или ядерных образований.

В отличие от фоновой ритмики вызванный потенциал представляет собой специфический характерный всплеск электрической активности в виде положительных и отрицательных колеба-

ний, возникающий с определенным латентным периодом после подачи стимула. В целом, ВП 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.

Метод ВП является главным способом установления наличия функциональных связей периферии с центральными нервными механизмами и исследования межцентральных соотношений в нервной системе. Регистрируя ВП, удалось установить основные закономерности функционирования специфической и неспецифической систем афферентации и их взаимодействия между собой. Методом ВП изучено представительство сенсорных систем в структурах мозга. Методика ВП используется для объективного тестирования сенсорных функций (зрения, слуха, соматической чувствительности). Исследования ВП различных уровней нервной системы являются основным методом тестирования действия фармакологических нейротропных препаратов. С помощью метода ВП успешно изучают в экспериментах процессы высшей нервной деятельности: выработку условных рефлексов, сложные формы обучения, эмоциональные реакции, процессы принятия решения.

По временным характеристикам ВП подразделяют на первичные (ПО) и вторичные (ВО).

ПО связаны с поступлением в кору возбуждения по специфическим афферентным путям. ПО регистрируются в проекционных зонах соответствующих корковых анализаторов: зрительного, слухового, кожного, интероцептивного. На основании регистрации ПО были созданы точные карты представительства различных сенсорных систем в коре мозга, что имело важное значение для выяснения вопроса о локализации функций в КБП.

Помимо ПО, возникающих в проекционных зонах с коротким латентным периодом, в коре регистрируется ряд поздних или вторичных ответов (ВО). ВО регистрируются с более длительным ЛП, чем ПО в 40–80 мс, отличаются более сложной и нестабильной формой, не имеют строгой локализации и обнаруживаются, кроме

первичных зон, в зонах перекрытия анализаторов. При генерации ВП возбуждение в кору поступает по двум путям: специфическим, что отражается в ПО, и неспецифическим (ретикулярным), что отражается во вторичных компонентах — ВО. Полагают, что возникновение ВО связано с поступлением в кору импульсов по неспецифическим путям, через РФ, со многими переключениями импульсов на пути к коре. В частности, поступление в определенные области коры возбуждения из ассоциативных ядер таламуса. ВО отражают нервные процессы, наступающие вслед за первичной реакцией нейронов проекционных областей и осуществляющие сложные акты анализа действующих раздражителей.

Основная сложность регистрации ВП заключается в том, что ответы мозга значительно ниже активности спонтанной ритмики ЭЭГ и других сигналов, но имеют с ними общий спектр. Например, если средний амплитудный уровень ЭЭГ составляет 50 мкВ, то зрительные ВП имеют амплитуду до 5 мкВ, соматосенсорные ВП при стимуляции нервов — около 2 мкВ. На этом фоне ВП, не превышающий в среднем в норме 5 мкВ, простым визуальным анализом выделен быть не может.

Прогресс в области изучения ВП у человека был достигнут с применением процедуры усреднения ЭЭГ с использованием компьютерной техники. Процедура усреднения сводится к многократному суммированию участков кривой, следующих за подачей стимула, который является точкой отсчета времени. В основе идеи усреднения лежит положение о том, что фоновая ЭЭГ — случайный процесс, а регистрируемый ВП — периодически повторяемый процесс. Усреднение нивелирует случайный процесс и усиливает периодический. При этом «спонтанная» ЭЭГ, имеющая случайный характер, не будет возрастать по амплитуде, тогда как ВП, имеющий относительно стабильные временные и фазовые характеристики, складываясь когерентно, при многократном повторении процедуры будет непрерывно возрастать, так что появляется возможность стабильно выделять сколь угодно малый сигнал из шума спонтанной ЭЭГ. На рис. 10 представлены результаты последовательного усреднения ВП и фоновой ЭЭГ.

Кроме усреднения, современные ПК одновременно проводят и анализ ВП: подсчитывают дисперсию временных и амплитудных характеристик, выполняют кросс и автокорреляци-

онный анализ, измеряют амплитуду сигнала и т. д. Традиционно компоненты ВП обозначают буквами Р и N (положительный и отрицательный) с указанием ЛП данного компонента в мс — Р 300, N 200.

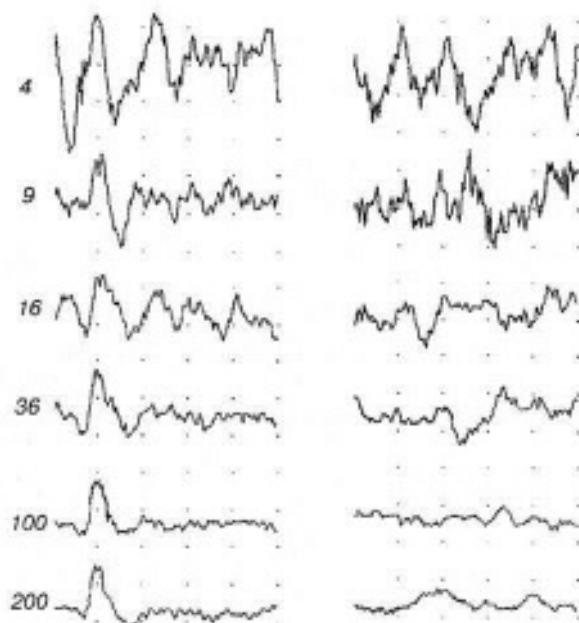


Рис. 10. Результаты последовательного усреднения ВП (слева) и фоновой ЭЭГ (справа)

Примерные латентности основных компонентов ВП в мс приведены в табл. 2.

Таблица 2

Примерные латентности основных компонентов ВП, мс

P ₁	N ₁	P ₂	N ₂	P ₃	N ₃	P ₄	N ₄
30–35	50–55	80–85	120–125	180–185	245–255	290–310	335–350
Первичный ответ				Вторичный ответ			

ВП мозга человека трактуются не только как электрический процесс, связанный с периодическим изменением активности нейронных структур мозга, но и как феномен, отражающий физические параметры стимула; как выражение семантической значимости стимула; как отражение некоторых видов психического состояния индивида.

Исследования с применением усреднения показали, что ВП определенной модальности представляет собой весьма стабильный феномен, четко воспроизводимый у данного индивидуума и хорошо сохраняющий свои формальные и количественные характеристики при повторных исследованиях. Это послужило основанием для широкого применения метода ВП в психологических исследованиях восприятия, распознавания образов, уровней функциональной активности мозга, поскольку по существу психологи впервые получили в распоряжение объективный параметр, достаточно адекватно отображающий процессы восприятия и преобразования мозгом сенсорной информации.

Это свойство, а также привязанность ВП к определенным зонам коры мозга есть обстоятельство, которое дает возможность связывать ВП или их компоненты с определенными структурными образованиями мозга и позволяет рассматривать ВП как более тонкий коррелят психической активности, чем ЭЭГ.

При исследовании ВП у человека экспериментатор имеет возможность, предлагая испытуемому определенные инструкции, получить отчет об ощущениях, вызываемых стимулом, о состоянии субъекта при наличии объективных реакций — ВП. Иными словами, мы получаем субъективную оценку ощущения, восприятия и состояния при наличии объективных нейрофизиологических показателей электрической активности мозга в виде регистрируемых ВП.

Вызванные ответы представляют собой последовательность позитивных и негативных колебаний, в которых различают начальные компоненты, непосредственно связанные с анализом и обработкой сенсорной информации (так называемые экзогенные компоненты) и более поздние колебания (эндогенные), отражающие процессы переработки информации разной степени сложности в зависимости от стоящих перед испытуемым задач. Более стабильными по своим параметрам являются начальные компоненты; поздние в силу зависимости от многих факторов (внимания, значимости, наличия следовых процессов) отличаются значительной вариабельностью.

С позиций когнитивного подхода ВП трактуются как отражение процессов приема и переработки информации.

Когнитивные, или «эндогенные», потенциалы отражают электрические процессы, обусловленные собственной активностью мозга. Их формирование обусловлено процессами, связанными с психическими познавательными функциями, такими как память, функция ожидания, различение, переработка информации, принятие решения, выбор реакции. Суть использования метода когнитивных ВП заключается в анализе происходящих в мозге событий, связанных с распознаванием и запоминанием стимула.

Один из компонентов когнитивных вызванных потенциалов — это позитивная волна Р 300, которая возникает в интервале 250–450 мс (в среднем около 300 мс) после предъявления стимула. Считается, что этот компонент наиболее тесно связан с когнитивными процессами восприятия и внимания. Р 300 — только часть сложного потенциала, возникающего в модели направленного внимания при выполнении когнитивной задачи. Процесс отбора значимого стимула включает в себя чисто сенсорную часть, связанную с физическими параметрами, в основном отражающуюся в параметрах ранних компонентов вызванных потенциалов. Следующим этапом является первичное опознание и классификация стимулов, что наиболее четко отражается в негативном отклонении в области 96–250 мс после начала стимула, которое обозначают как N 200. Затем следует окончательная идентификация стимула, требующая сравнения его с образцом в памяти и принятия решения в отношении связанного с ним действия. С этими событиями связан собственно потенциал Р 300.

Современным методом выделения эндогенных событий, позволившим улучшить анализ и понимание когнитивных процессов, является исследование когнитивного потенциала Р 300. С этой целью наиболее часто используется методика «одд-болл». Методика «одд-болл» (парадигма необычного стимула), используется для изучения селективного внимания. Объекту исследования в случайном порядке предъявляют последовательность из двух стимулов, различающихся по какому-либо параметру (например, по высоте звукового тона), причем вероятность появления одного стимула существенно ниже, чем другого. Требуется реагировать на редкий стимул. Предполагают, предъявление редкого стимула нарушает ожидание, складывающееся после нескольких повторений частого стимула, что ведет к рассогласова-

нию с существующей нервной моделью. При реализации «одд-болла» Р 300 стабильно возникает в ответ на редкий стимул. Происходит синтез информации о стимуле, включая как его физические характеристики, так и эмоционально-мотивационную значимость, именно этот процесс проявляется в ЭЭГ в виде генерации волны Р 300. Эта методика основывается на подаче в случайной последовательности серий из двух слуховых стимулов, которые нередко различаются по параметрам. При обычном выделении ответов на эти отличающиеся стимулы, без условия их опознания, регистрируются длиннотентные слуховые ВП (V-волна), которые незначительно отличаются друг от друга из-за разницы параметров стимулов. Однако ситуация резко меняется, когда дается инструкция, что один из стимулов будет значимым и его нужно опознать и подсчитать. В то же время физические свойства стимулов не меняются. При выделении и усреднении в такой серии характер ответов на значимые стимулы резко отличается от обычной серии **появлением большой позитивной волны (или комплекса) в области 300 мс** после подачи стимула. Увеличение компонента Р 300 происходит при фиксации в памяти образа правильно опознанного стимула.

Выделение ответов в условиях распознавания стимулов, отличающихся от других по каким-либо параметрам, может быть сделано на любую модальность стимула: слуховую, зрительную, соматосенсорную. ВП Р 300 имеют широкую топографию распределения по поверхности головы с преобладанием в лобно-центральных и реже — в теменно-центральных отделах. Международная ассоциация энцефалографии и клинической нейрофизиологии рекомендует параметры регистрации Р 300, где используются активные электроды Fz, Cz, Pz. В российских лабораториях, по данным многоканальных записей, Р300 максимально выражен в следующих областях: лобной (F3, F4) — 45 %, центральной (C3, C4) — 45 %, теменной (P3, P4) — 10 %, при монополярной регистрации с использованием референтных ушных электродов А1 — А2. При этом отмечается значимая межполушарная асимметрия: Р 300 преобладает по амплитуде слева в 64 % и справа — в 36 % случаев.

Выделяют еще один специфический вид вызванной активности, впервые описанный Г. Уолтером и названный волной ожи-

дания (Е-волна — EW — expectancy wave или CNV — Contingent Negative Variation). Е-волна представляет собой появление медленного длительного отрицательного потенциала на поверхности коры мозга и возникает у субъекта в состоянии готовности. Экспериментально её можно получить в следующей ситуации. Предупреждающий сигнал (кондиционирующий стимул — щелчок) предшествует появлению командного сигнала (тестирующего стимула — вспышки), на которую испытуемый должен ответить двигательной реакцией (нажать кнопку). Интервал между стимулами должен быть не менее 1–2 с.

В условиях, требующих ответа (двигательной реакции), наблюдается медленное негативное колебание потенциала ЭЭГ в период между кондиционирующим и тестирующим стимулами. Это колебание начинается через 200 мс после кондиционирующего стимула и нарастает до тех пор, пока не будет подан командный сигнал, на который испытуемый дает ответ. В этот момент происходит крутой спад волны к изолинии или в сторону позитивности. В ситуациях, не требующих ответа, Е-волна не возникает.

Формирование Е-волны является электрофизиологическим выражением интегративных процессов разного содержания. Так как любое условие осуществления целенаправленного произвольного действия требует мобилизации памяти, внимания, а в период между предупреждающим и пусковым сигналом субъект находится в состоянии ожидания, это позволяет рассматривать Е-волну как эквивалент разных психических процессов, обеспечивающих подготовку и реализацию действия. Считают, что возникновение Е-волны связано с механизмами активации избирательного фокусированного внимания и связанной с ним кратковременной памяти. С этих позиций Е-волна может отражать общий уровень возбудимости центральных структур за счет РФ и неспецифических ядер таламуса. Она формируется при специфическом психическом состоянии, свидетельствующем о готовности к какому-либо действию, при напряжении воли и внимания. Е-волна регистрируется при выполнении сознательных, ожидаемых действий. Её можно рассматривать как ЭЭГ-коррелят акцептора действия, обеспечивающего предвидение результатов действия до его завершения. Е-волна преимущественно выражена в центральных и лобных областях. При наличии выраженной

Е-волны ЛП произвольных двигательных реакций сокращается с 200–300 мс до 120–150 мс.

3.7. Электромиография

Электромиография (от греч. *mys, myos* — мышца, *grapho* — записываю) — регистрация электрических потенциалов скелетных мышц. Электромиографию используют как метод исследования нормальной и нарушенной функции двигательного аппарата человека и животных. Электромиография включает методики по изучению электрической активности мышц в состоянии покоя, при произвольных, непроизвольных и вызванных искусственными раздражениями сокращениях. Регистрация мышечных потенциалов производится специальными приборами — электромиографами различных типов.

С помощью электромиографии изучают функциональное состояние и функциональные особенности мышечных волокон, двигательных единиц, нервно-мышечной передачи, нервных стволов, сегментарного аппарата спинного мозга, а также надсегментарных структур; изучают координацию движений, выработку двигательного навыка при различных видах работы и спортивных упражнениях, перестройку работы пересаженных мышц, утомление. Хотя электромиограммы отражают только колебания потенциалов, которые возникают непосредственно в мышце, все же по их качественным и количественным особенностям можно судить также о нормальном или патологическом состоянии ЦНС, регулирующей все виды двигательной активности человека. При различных заболеваниях возникают разнообразные нарушения нормальной картины электромиограммы (рис. 11).

Основным источником биопотенциалов мышц является распространяющийся по мышечным волокнам процесс возбуждения. Однако, поскольку электромиограмма регистрируется в области двигательных точек, часть электрического потенциала составляет потенциал, возникающий при возбуждении концевых пластин. Электрические потенциалы скелетных мышц можно отводить внутриклеточно или внеклеточно.

Внутриклеточное отведение электрических потенциалов отдельных мышечных волокон у человека позволяет определять те характеристики, которые раньше изучались при микроэлектрод-

ных исследованиях на животных или препаратах: величины мембранных потенциалов мышечных волокон, деполяризацию и гиперполяризацию мембран и т. п.

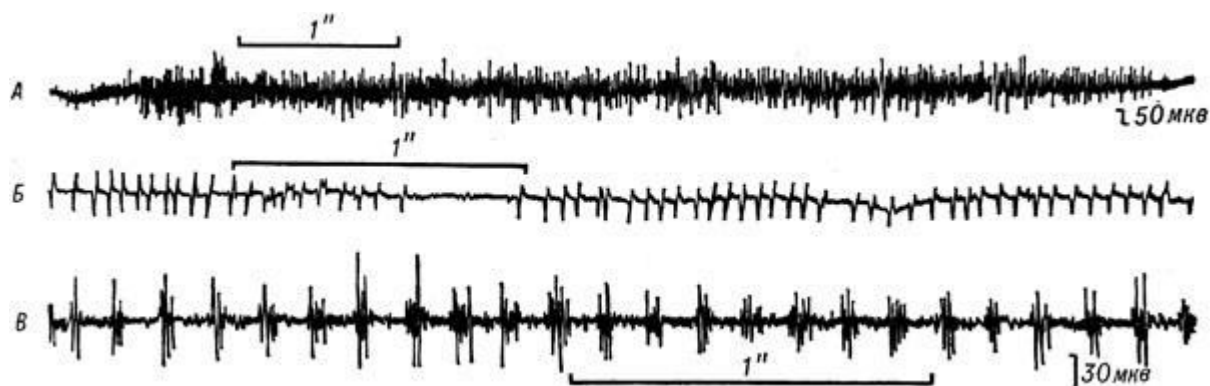


Рис. 11. Электромиограмма при сокращении общих разгибателей пальцев: А — в норме; Б — при тяжелом парезе мышц после полиомиелита; В — при паркинсоническом дрожании и ригидном повышении тонуса

Внеклеточное отведение электрических потенциалов проводят двумя методами: 1) при помощи электродов с относительно малой отводящей поверхностью (сотые доли квадратного миллиметра), погружаемых в мышцу посредством игл (рис. 12); при этом во всех случаях, кроме униполярного отведения, оба отводящих электрода находятся на небольшом расстоянии друг от друга (как правило, менее 0,5 мм); 2) при помощи электродов с относительно большой отводящей поверхностью (30–100 мм²), обычно помещенных на кожу над мышцей на сравнительно большом расстоянии друг от друга (1–2 см). В первом случае принято говорить о локальном, во втором — об общем отведении. «Локальное» отведение позволяет изучать электрические потенциалы, возникающие в небольшом объеме мышечной ткани: потенциалы отдельных двигательных единиц, суммарные потенциалы небольшого количества двигательных единиц. Основным объектом изучения является двигательная единица — совокупность мышечных волокон, иннервируемых одним мотонейроном. Почти одновременное возникновение возбуждения в мышечных волокнах двигательной единицы приводит к тому, что возникают колебания потенциала, отражающие возбуждение двигательной единицы в целом (потенциалы двигательной единицы). Для исследования потенциалов двигательных

единиц обычно используют концентрический электрод. Биполярные электроды значительно искажают начальную и конечную часть потенциала двигательной единицы.

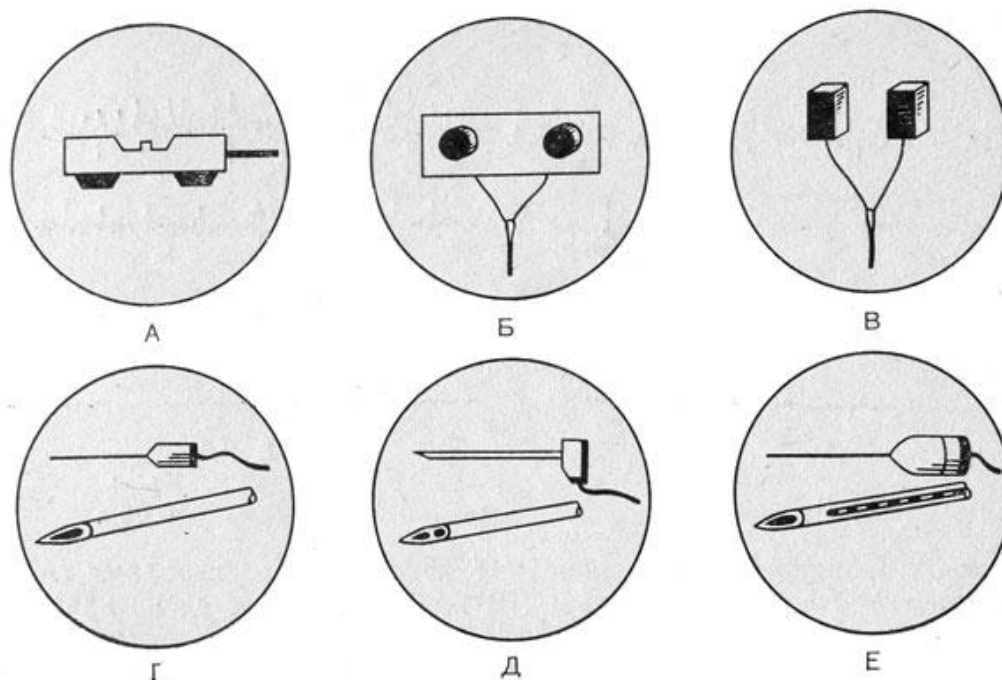


Рис. 12. Накожные и игольчатые электроды для регистрации электромиограмм: А, В — накожные электроды различных типов; Г — концентрический; Д — биполярный; Е — мультиэлектрод

Форма потенциала двигательной единицы двухфазная или трехфазная с преимущественно выраженной отрицательной фазой; примерно в 3 % случаев встречаются полифазные потенциалы. Длительность потенциала двигательных единиц зависит от их структуры. Она, как правило, больше в мышцах с крупными двигательными единицами и меньше в мышцах с мелкими двигательными единицами. Например, в четырехглавой мышце бедра и передней большеберцовой мышце, где имеются крупные двигательные единицы, включающие до 1500–2000, а иногда и более мышечных волокон, средняя длительность потенциала двигательной единицы у взрослых составляет 10–15 мс, а в мышцах глаза, двигательные единицы которых имеют 5–10 мышечных волокон, — всего 1–3 мс. Амплитуда колебаний потенциала двигательной единицы зависит от большего или меньшего удаления электрода от активных мышечных волокон и может достигать 3–5 мВ, однако средние величины значительно меньше — порядка 200 мкВ. В расслабленной мышце биопотенциалы не регистрируются.

При слабом сокращении мышцы потенциалы двигательной единицы следуют друг за другом в виде не строго ритмического ряда примерно одинаковых по амплитуде колебаний. Для мышц конечностей количество разрядов двигательных единиц в одну секунду принимается равным 5–10 при слабом сокращении, 20–30 при среднем по силе сокращении и 50–60 при сильном сокращении. Частота разрядов двигательных единиц в мелких мышцах обычно выше, чем в крупных (в мышцах глаза достигает 150–200 в 1 с).

Потенциалы отдельных мышечных волокон можно зарегистрировать только при денервации мышцы, когда двигательные единицы перестают существовать как функциональное целое и отдельные мышечные волокна начинают «спонтанно» возбуждаться. Это так называемые потенциалы фибрилляций, которые имеют длительность 0,5–3 мс и амплитуду 50–200 мкВ.

Общее отведение позволяет изучать колебания электрических потенциалов, возникающих в большом объеме мышечной ткани, содержащей обычно сотни двигательных единиц. Как правило, эти потенциалы отражают сумму потенциалов многих двигательных единиц; поэтому электромиограмму при общем отведении часто называют суммарной, хотя при некоторых обстоятельствах при общем отведении могут регистрироваться и потенциалы отдельных двигательных единиц. В большинстве случаев применяют биполярное или униполярное отведение накожными электродами. В клинике в настоящее время используют почти исключительно биполярное отведение. При нем отводящие электроды располагаются на расстоянии 1–2 см друг от друга так, чтобы один находился над двигательной точкой, а другой — дистальнее или оба над двигательной точкой. Обычно отводящие электроды постоянно фиксированы на изолирующей пластинке.

У здоровых испытуемых в расслабленных мышцах или не выявляется никаких колебаний потенциала, или выявляются низкоамплитудные колебания, которые рядом авторов считаются проявлением тонуса мышцы. При позно-тонических и произвольных сокращениях мышц электромиограмма представлена нерегулярными колебаниями различной амплитуды, формы и длительности. При слабом сокращении регистрируются более редкие и неравномерные по амплитуде колебания потенциала, при сильном сокращении возрастают частота следования и амплитуда колебаний.

В среднем частота следования колебаний при максимальном по силе сокращении составляет 100–150 в 1 с. Амплитуда колебаний при максимальном по силе сокращении может достигать 4–6 мВ. Частота следования колебаний потенциала и амплитуда колебаний изменяются при изменении синхронизации разрядов двигательных единиц. Увеличение синхронизации при утомлении и некоторых режимах работы мышц ведет к уменьшению частоты следования колебаний и увеличению амплитуды.

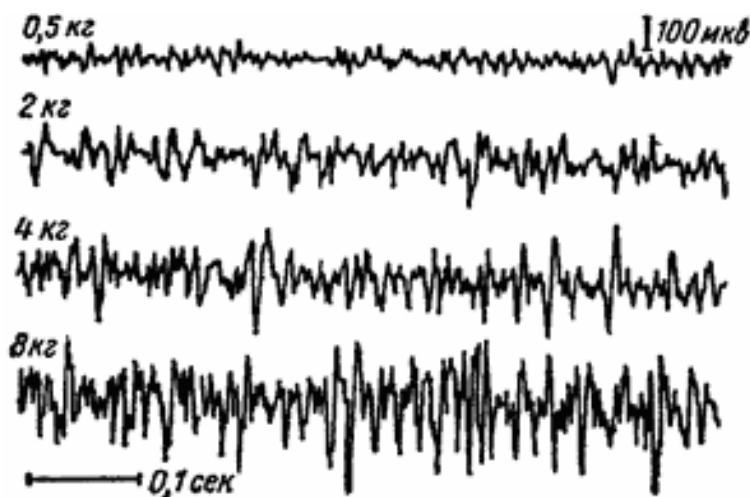


Рис. 13. Электромиограмма двуглавой мышцы плеча при статическом напряжении различной силы (разная нагрузка)

Сведения о состоянии различных звеньев двигательного аппарата позволяет получить регистрация биопотенциалов мышцы при электрическом раздражении нервных стволов и мышечных волокон. Этот метод называется «стимуляционная электронейромиография». Его целью является изучение вызванных ответов мышцы, т. е. электрических явлений, возникающих в мышце вследствие стимуляции соответствующего двигательного нерва. Это позволяет исследовать значительное количество явлений в периферическом нейромоторном аппарате, из которых наиболее распространенными являются скорость проведения возбуждения по двигательным нервам и состояние нервно-мышечной передачи. Существует два варианта стимуляционной электронейрографии: М-ответ и Н-рефлекс.

М-ответ — суммарный потенциал действия, возникающий в мышце при электрическом раздражении её двигательного нерва. Максимальную амплитуду и площадь М-ответ имеет в зоне

распределения концевых пластинок (в двигательной точке). Двигательной точкой называют проекцию на кожу зоны концевых пластинок нерва. Двигательная точка обычно располагается на самом выпуклом участке (брюшке) мышцы. При исследовании М-ответа используют биполярный способ отведения: один электрод является активным, второй — референтным. Активный регистрирующий электрод располагают в области двигательной точки мышцы, иннервируемой исследуемым нервом; референтный электрод — в области сухожилия данной мышцы или в месте при крепления сухожилия к костному выступу.

Для измерения скорости проведения возбуждения по двигательному нерву отводящий и стимулирующий электроды устанавливают соответственно над мышцей и нервом. Сначала регистрируют М-ответ на стимуляцию в проксимальной точке нерва. М-ответ имеет обычно двухфазную негативно-положительную форму. Промежуток от начала артефакта раздражения до начала отклонения ПД мышцы от изоэлектрической линии определяет латентное время М-ответа. Это время соответствует проведению по волокнам нерва с наибольшей проводимостью. Дополнительно к регистрации латентного времени ответа из проксимального пункта стимуляции нерва измеряют латентное время ответа на стимуляцию одного и того же нерва в дистальном пункте и высчитывают скорость проведения возбуждения V по формуле:

$$V = L / (T_p - T_d),$$

где L расстояние между центрами пунктов приложения активного стимулирующего электрода по ходу нерва; T_p — латентное время ответа в случае стимуляции в проксимальном пункте; T_d — латентное время ответа при стимуляции в дистальном пункте. Нормальная скорость проведения по периферическим нервам составляет 40–85 м/с.

Н-рефлекс (Н-ответ) — суммарный потенциал действия ДЭ мышцы, возникающий при слабом раздражении электрическим током афферентных нервных волокон, идущих из этой мышцы. Возбуждение передаётся по афферентным волокнам нерва через задние корешки спинного мозга на вставочный нейрон и на мотонейрон, а затем через передние корешки по эфферентным нервным волокнам на мышцу.

Анализируемые показатели Н-ответа: порог возникновения, форма, отношение амплитуды Н-рефлекса к М-ответу, латентный период или скорость его рефлекторного ответа. При поражении пирамидных нейронов порог возникновения Н-ответа снижается, а амплитуда рефлекторного ответа резко повышается. Причиной отсутствия или снижения амплитуды Н-ответа могут быть патологические изменения в передних рогах спинного мозга, афферентных или эфферентных нервных волокнах, задних или передних спинальных корешках нервов.

Регистрация электромиограммы при электрической стимуляции мышечных волокон позволяет определить в норме и патологии скорость распространения возбуждения по мышечным волокнам, а при раздражении нервных стволов — состояние нервно-мышечной передачи, скорость распространения возбуждения по двигательным нервным волокнам, а также изучить моно- и полисинаптические рефлексы. Помимо общей визуальной оценки, применяется и математическая обработка электромиограмм.

Глава 4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Сердечно-сосудистая система является важнейшей системой организма, её параметры являются ведущими для оценки функционального состояния всего организма. Наиболее общие и часто используемые параметры сердечно-сосудистой системы — частота сердечных сокращений, артериальное давление. Частота сердечных сокращений — важная характеристика, многосоставная компонента, динамика её позволяет судить об адаптации системы кровообращения к потребностям организма. Частота сердечных сокращений зависит от возраста, индивидуальных особенностей, типа регуляции сердечной деятельности. У людей с преобладанием симпатической регуляции имеет место тенденция к высокой частоте сердечных сокращений (тахикардии), при преобладании парасимпатической регуляции — к редкой (брадикардии).

Информацию о деятельности сердца получают при изучении физических явлений (электрических, механических, звуковых и др.), которыми сопровождается работа сердца. Существует ряд внешних проявлений деятельности сердца, которые можно зарегистрировать с поверхности тела, не нанося при этом какого-либо вреда организму. Такие методы исследования называются неинвазивными. К ним относят электрокардиографию, фонокардиографию, баллистокардиографию и др. Эти методы имеют большое практическое значение, однако с их помощью можно получить лишь косвенные данные о деятельности сердца. В клинической практике при некоторых заболеваниях, а также в экспериментах на животных используют инвазивные методы. Это методы внутрисосудистых и внутрисердечных измерений при помощи специальных катетеров.

4.1. Электрокардиография

Электрокардиография — метод регистрации биоэлектрической активности сердца, возникающей в нем во время сердечного цикла. Электрокардиограмма (ЭКГ) — это запись, которая отражает процесс распространения возбуждения по проводящей системе к миокарду. Тело человека является проводником электричества, поэто-

му электрический потенциал, генерируемый сердцем, можно зарегистрировать в самых различных точках поверхности тела.

ЭКГ обычно состоит из трех направленных вверх положительных зубцов P, R, T и двух направленных вниз отрицательных зубцов Q, S (рис. 14). Зубец P представляет собой результат охвата возбуждением мышцы предсердий, комплекс QRS отражает распространение возбуждения по миокарду желудочков, зубец T связан с развитием процесса реполяризации миокарда желудочков. Амплитуда одних и тех же зубцов ЭКГ, зарегистрированная в различных отведениях, неодинакова и зависит от направления электрической оси сердца. Амплитуда зубцов ЭКГ характеризует процесс возбуждения миокарда, а длительность интервалов — проведение возбуждения по различным отделам сердца.

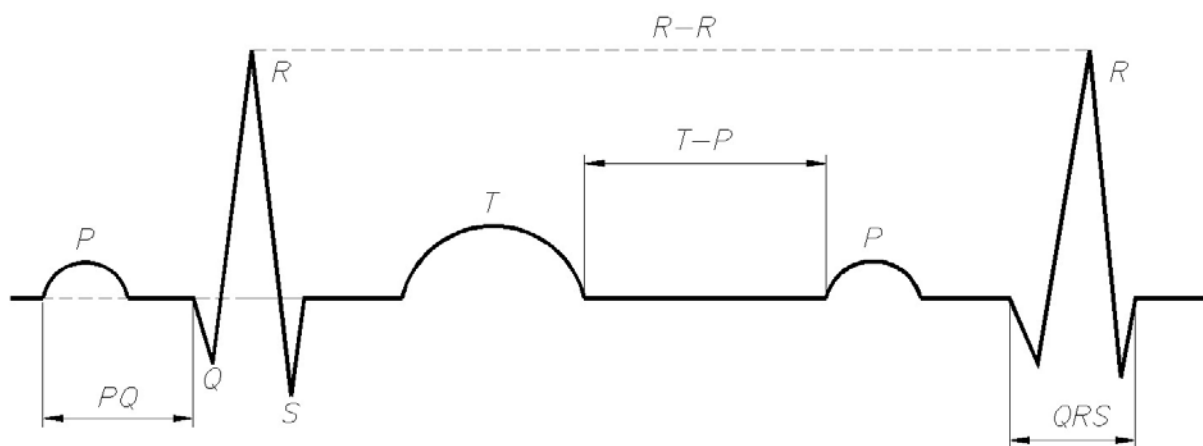


Рис. 14. Электрокардиограмма

При электрокардиографии используют методы биполярных и униполярных отведений. Наиболее распространены стандартные биполярные отведения, при которых регистрируется разность потенциалов между конечностями — от правой и левой руки (I отведение), от правой руки и левой ноги (II отведение), от левой руки и левой ноги (III отведение).

Анализ электрокардиограммы

1. Анализ ЭКГ начинают с оценки правильности её регистрации:

- наличие разнообразных помех, если они значительны, необходимо заново записать ЭКГ;

- проверить амплитуду калибровочного сигнала ($1\text{ мВ}=10\text{ мм}$). Если его амплитуда отличается от стандартной более чем на 1 мм, то амплитуду измеряемых зубцов подсчитывают по формуле: $X = 10U/K$, где X — действительная амплитуда зубца в мм, U — измеренная амплитуда зубца в мм, K — амплитуда калибровочного сигнала в мм;

- оценивают скорость движения бумаги во время регистрации ЭКГ. При записи со скоростью 50 мм/с 1 мм на бумажной ленте соответствует отрезку времени в 0,02 с.

2. Определение источника сердечного ритма (синусовый или несинусовый ритм). В норме регистрируется синусовый ритм, который характеризуется наличием во II стандартном отведении положительных зубцов P, имеющих нормальную, одинаковую форму и предшествующих каждому комплексу QRS. Длительность интервала PQ одинакова и равна 0,12–0,2 с.

3. Определение характера ритма (правильный, неправильный). Анализ характера ритма проводят во II стандартном отведении. Измеряют длительность 5–6 последовательно зарегистрированных интервалов R–R. Если длительности этих интервалов равны или отличаются друг от друга не более чем на $\pm 10\%$ от средней величины, ритм считается правильным.

4. Определение частоты сердечных сокращений (ЧСС). Подсчет ЧСС в минуту проводится по средней длительности интервала R–R, которая соответствует длительности одного сердечного цикла. При правильном ритме сердца для подсчета ЧСС необходимо 60 с разделить на длительность RR-интервала в секундах. В состоянии покоя у здорового человека ЧСС составляет от 60 до 90 ударов в минуту. Увеличение ЧСС называется «тахикардия», уменьшение — «брадикардия».

5. Оценка проводимости. Для оценки проводимости во II стандартном отведении измеряют:

- длительность зубца P, которая характеризует скорость проведения возбуждения по предсердиям, в норме она составляет 0,08–0,1 с;

- длительность интервала PQ, в норме — 0,12–0,2 с;

- общую длительность желудочкового комплекса QRS — проведение возбуждения по желудочкам, в норме 0,06–0,1 с.

6. Оценка амплитуды зубцов и интервалов ЭКГ во II стандартном отведении.

Таблица 3

Зубцы ЭКГ	Норма	
	мм	с
P	0,5–2	0,08–0,1
Q	0–3	0–0,03
R	10–20	0,03–0,09
S	0–6	0–0,03
T	2–5	0,05–0,25
PQ		0,12–0,20
QRS		0,06–0,10
QT		0,30–0,40
RR		0,8–1,0

Функциональная проба для оценки состояния сердца по электрокардиограмме

Изучение изменений ЭКГ на фоне физической нагрузки позволяет выявить нарушения сердечного ритма, проводимости, возбудимости, установить функциональное состояние миокарда. При функциональной пробе кровоснабжение работающих органов резко увеличивается, значительно повышается нагрузка на сердце. В этих условиях несоответствие между реальным кровоснабжением миокарда и его потребностями может вызвать ишемические изменения, отражающиеся на ЭКГ.

При хорошем функциональном состоянии сердца ЭКГ после физической нагрузки характеризуется незначительными изменениями:

- 1) увеличивается частота сердечных сокращений на 50–60 % по сравнению с исходной;
- 2) положение электрической оси не изменяется или несколько смещается вправо, реже — влево;
- 3) интервал PQ не изменяется или незначительно укорачивается;
- 4) длительность комплекса QRS не изменяется или незначительно укорачивается;

- 5) сегмент ST смещается книзу не более чем на 0,5 мм;
- 6) уплощение зубца Р в I отведении и увеличение во II отведении не более чем до 3 мм;
- 7) незначительное увеличение амплитуды зубца Т во II и III отведении;
- 8) зубцы Q и S существенно не изменяются или слегка углубляются в I отведении;
- 9) восстановление исходных показателей заканчивается на 5-й минуте отдыха.

4.2. Исследование variability сердечного ритма

Математический анализ variability сердечного ритма (ВСР) позволяет сделать заключение о состоянии систем управления активности синусового узла. Динамический ряд значений продолжительности сердечного цикла может быть представлен разнообразными математическими моделями. Наиболее простым и доступным является временной анализ. Для его проведения, в соответствии со стандартами, вводится параметр NN-интервал (normal-to-normal), который определяется как все интервалы между последовательными комплексами QRS, вызванные деполяризацией синусового узла. Временной анализ при изучении ритмограммы проводится статистическими и графическими методами. Для анализа вариационной пульсограммы используют графические методы. Статистические методы делятся на две группы: полученные непосредственно измерением NN-интервалов и полученные сравнением различных NN-интервалов.

Пульсограмма — это графическое изображение сгруппированных значений сердечных интервалов, где по оси абсцисс откладываются временные значения, по оси ординат — их количество. Изображение той же функции в виде сплошной линии называется вариационной пульсограммой. Различают следующие типы пульсограмм (рис. 15):

- 1) асимметричную, указывающую на нарушение стационарности процесса, наблюдаемую при переходных состояниях;
- 2) нормальную, близкую по виду к кривым Гаусса, типичную для здоровых людей в состоянии покоя;

3) эксцессивную, характеризующуюся очень узким основанием и заостренной вершиной, регистрируется при выраженном стрессе, патологических состояниях;

4) встречается также многовершинная гистограмма, которая обусловлена наличием несинусового ритма, а также множественными артефактами.

Различают нормотонические, симпатикотонические и ваготонические типы гистограмм, по которым судят о состоянии вегетативной (автономной) нервной системы.

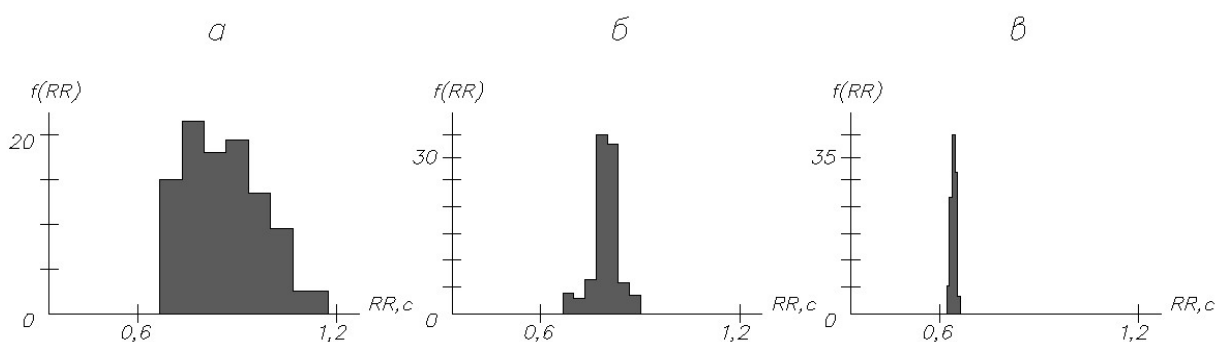


Рис. 15. Вариационные пульсограммы:
а — асимметричная; б — нормальная; в — эксцессивная

Вариационные пульсограммы отличаются параметром моды, амплитуды моды, вариационного размаха, по форме, симметрии, амплитуде.

Мода (M_0) — наиболее часто встречающиеся значения RR -интервала, которые соответствуют наиболее вероятному для данного времени уровню функционирования систем регуляции. *Амплитуда моды* (AM_0) — доля кардиоинтервалов, соответствующая значению моды. Физиологический смысл этих параметров заключается в том, что они отражают влияние центрального контура регуляции на автономный по нервным (AM_0) и гуморальным (M_0) каналам. *Вариационный размах* (X) — разность между длительностью наибольшего и наименьшего RR -интервалов. Это показатель деятельности контура автономной регуляции ритма сердца, который целиком связан с дыхательными колебаниями тонуса блуждающего нерва.

Для определения степени адаптации сердечно-сосудистой системы к случайным и постоянно действующим агрессивным факторам и оценки адекватности процессов регуляции Р. М. Баевский предложил ряд параметров, являющихся производными

классических статистических показателей (индексы Баевского): индекс вегетативного равновесия (ИВР), вегетативный показатель ритма (ВПР), показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР), индекс напряжения регуляторных систем (ИН).

ИВР определяет соотношение симпатической и парасимпатической регуляции сердечной деятельности. ПАПР отражает соответствие между уровнем функционирования синусового узла и симпатической активностью. ВПР позволяет судить о вегетативном балансе: чем меньше величина ВПР, тем больше вегетативный баланс смещен в сторону преобладания парасимпатической регуляции. ИН отражает степень централизации управления сердечным ритмом.

Таблица 4

Матрица для распределения длительности кардиоинтервалов R–R вариационного ряда по классовым интервалам ($k + 0,05$ с)

Значения кардиоинтервалов RR			Частота распределения	
Интервал, мм	Интервал, с	Середина класса, К	n	P
72,6-75,0	1,46-1,50	1,485		
70,1-72,5	1,41-1,45	1,435		
67,6-70,0	1,36-1,40	1,385		
65,1-67,5	1,31-1,35	1,335		
62,6-65,0	1,26-1,30	1,285		
60,1-62,5	1,21-1,25	1,236		
57,6-60,6	1,16-1,20	1,185		
55,1-57,5	1,11-1,15	1,135		
52,6-55,0	1,06-1,10	1,085		
50,1-52,5	1,01-1,05	1,035		
47,6-50,0	0,96-1,00	0,985		
45,1-47,5	0,91-0,95	0,935		
42,6-45,0	0,86-0,90	0,885		
40,1-42,5	0,81-0,85	0,835		
37,6-40,0	0,76-0,80	0,785		
35,1-37,5	0,71-0,75	0,735		
32,6-35,0	0,66-0,70	0,685		
30,1-32,5	0,61-0,65	0,635		

Значения кардиоинтервалов RR			Частота распределения	
Интервал, мм	Интервал, с	Середина класса, К	n	P
27,6-30,0	0,56-0,60	0,585		
25,1-27,5	0,51-0,55	0,535		

Таблица 5

**Математические показатели сердечного ритма
(Галлеев А. Г. и др., 1999)**

Показатель	Условная норма	Тип регуляции
Mo, с	0,67–0,78	0,67 — эйтония; ниже 0,67 — симпатикотония; выше 0,78 — ваготония
AMo, %	32–41	32–41 — эйтония; ниже 32 — симпатикотония; выше 41 — ваготония
X, с	0,24–0,31	0,24–0,31 — эйтония; ниже 0,24 — симпатикотония; выше 0,31 — ваготония
ИН, усл. ед.	71–120	71–120 — эйтония; более 121 — симпатикотония; менее 70 — ваготония

4.3. Баллистокардиография

Баллистокардиография (БКГ) позволяет исследовать сократительную функцию сердца бескровным методом. Этот метод основан на графической регистрации движений тела человека, которые вызываются сокращениями сердца и перемещением крови в крупных сосудах. Такие движения могут быть зарегистрированы с помощью специальных датчиков и усилителей. Анализ БКГ позволяет выяснить силу и координированность сердечных сокращений, объем и скорость систолического изгнания, особенности заполнения сердечных полостей во время диастолы.

Нормальная БКГ представляет собой кривую, состоящую из периодически повторяющихся волн различной амплитуды, продолжительности и направленности (рис. 16). Подъемы кривой

соответствуют движению тела испытуемого в краниальном направлении, спуск — в каудальном. Различают пресистолические (F, G), систолические (H, I, J, K) и диастолические (L, M, N, O) волны. Пресистолическая волна F связана с систолой предсердия, направленная вниз волна G определяется ударом выбрасываемой из предсердий крови о стенки желудочков. Волна H связана с фазой изометрического сокращения желудочков. Вершина волны I соответствует началу фазы быстрого изгнания крови. Генез волны J связывают с ударом тока крови о дугу аорты и бифуркацию легочной артерии. Происхождение волны K объясняют замедлением тока крови в аорте и её ударом о место бифуркации аорты.

Диастолические волны связывают с гемодинамическими силами, проявляющимися в разные фазы диастолического наполнения. Волна L возникает в изометрической фазе диастолы. Волна M образуется в начале фазы быстрого наполнения, а волна N — в конце фазы наполнения желудочков. Амплитуда диастолических волн возрастает при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях.

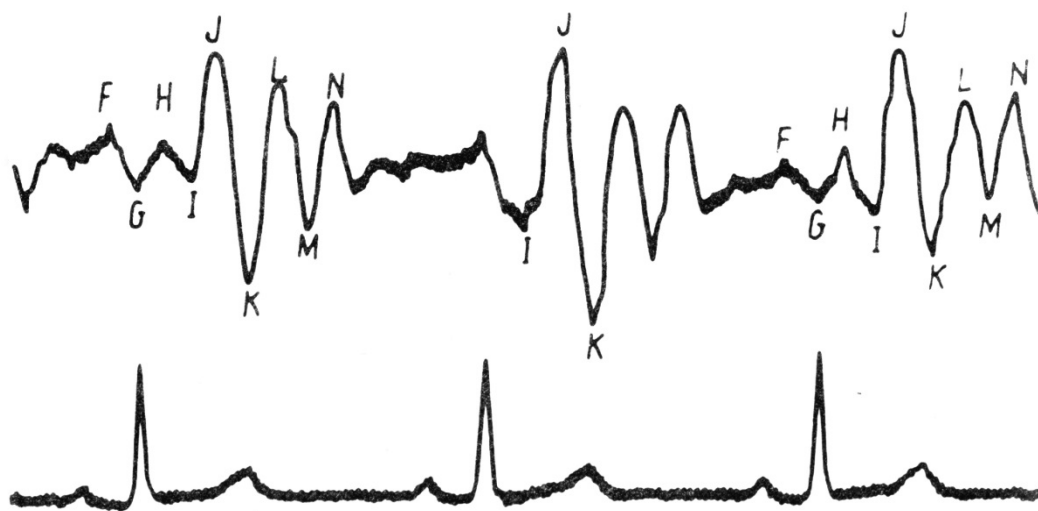


Рис. 16. Баллистокардиограмма

4.4. Плетизмография

Плетизмография — метод непрерывной графической регистрации колебаний объема органа или части тела, обусловленных изменением их кровенаполнения. Приборы, используемые для плетизмографии называются плетизмографами, они подразделяются на механические и электрические (импедансные, диэлектрические и фотоэлектрические). Для записи объемного

пульса исследуемый орган помещают в герметически закрывающийся сосуд или датчик, наполненный воздухом или водой. Изменения кровенаполнения органа, а значит, его объема приводят к колебаниям давления воздуха или воды в сосуде, в котором находится орган.

Кровенаполнение органа зависит от его метаболических потребностей, от механических воздействий на сосуды, от уровня системного артериального давления и др. Во время систолы орган увеличивается в связи с притоком к нему крови, во время диастолы наблюдаются обратные явления. В скелетных мышцах соотношение между притоком и оттоком крови зависит от характера совершаемой работы.

Плетизмографию используют для оценки тонуса периферических сосудов, определения скорости распространения пульсовой волны, изучения перераспределительных реакций сосудистой системы при различных воздействиях на организм (температурных, брометрических, звуковых, световых и др.). На плетизмограмме различают волны трех типов: волны I порядка — пульсовые, они синхронны с сокращениями сердца; волны II порядка — дыхательные, они соответствуют колебаниям кровенаполнения органа во время вдоха и выдоха; волны III порядка не имеют строгой периодичности и отражают изменения периферического кровообращения в процессе взаимодействия организма с изменяющимися условиями окружающей среды.

4.5. Реография

Метод реографии основан на регистрации изменений электрического сопротивления тканей тела человека проходящему через них переменному току высокой частоты (до 500 кГц) и малой силы (не более 10 мА). Эти изменения обусловлены пульсовыми колебаниями их кровенаполнения в соответствии с деятельностью сердца. Во время систолы кровенаполнение органа увеличивается, электрическое сопротивление уменьшается, во время диастолы происходят обратные явления.

Реографию используют для определения интенсивности кровенаполнения, состояния сосудистого русла и венозного оттока в данном участке тела, скорости кровотока и скорости распространения пульсовой волны в исследуемой артерии.

На реограмме различают анакротическую фазу (крутой подъем). Она соответствует систоле сердца и отражает состояние сосудистого тонуса и степень притока крови к органу. Её длительность в норме составляет 0,1–0,12 с. Катакротическая фаза (нисходящая часть кривой) соответствует диастоле сердца. Она отражает состояние сосудистого тонуса и степень оттока крови от органа, её длительность в норме равна 0,4–0,7 с. Амплитуду реограммы определяют при калибровке по стандартному сопротивлению R в 0,05–0,1 Ом, что соответствует 12–18 мм.

Величину систолического притока крови к органу определяют по реографическому индексу (J) — отношению амплитуды (H, мм) реограммы к высоте калибровочного сигнала (E, мм): $J = H/E$. Для здоровых людей J колеблется от 1 до 3.

4.6. Функциональные пробы на реактивность сердечно-сосудистой системы

Для оценки функционального состояния сердечно-сосудистой системы в клинической практике широко используются различные функциональные пробы. При патологии реакции на эти пробы могут отсутствовать, быть чрезмерными или противоположными по сравнению с таковыми в норме.

Ортостатическая проба служит для характеристики функциональной полноценности рефлекторных механизмов регуляции гемодинамики. Для поддержания оптимального артериального давления к сердцу по венам должно поступать достаточное количество крови. Когда человек переходит из горизонтального состояния в вертикальное, под действием силы тяжести кровь задерживается дольше обычного в венах ног. При этом к сердцу по венам поступает меньше крови, сердце выбрасывает в артерии меньше крови — артериальное давление снижается, иногда появляется головокружение, человек может потерять равновесие. При хорошем здоровье таких явлений нет. Чем выше уровень здоровья и тренированности сердечно-сосудистой системы, тем меньше выражена и более кратковременна ортостатическая реакция.

У обследуемого после 5-минутного пребывания в положении лежа подсчитайте частоту пульса и измерьте артериальное

давление. Обследуемый по команде встает. Подсчитайте пульс на 1-й и 3-й минуте вертикального положения, артериальное давление — на 3-й и 5-й. Проведите оценку в соответствии с данными табл. 6.

Таблица 6

Оценка ортостатической пробы

Исследуемый показатель	Переносимость пробы		
	Хорошая	Удовлетворительная	Неудовлетворительная
Частота сердечных сокращений	Учащение на 11 сокращений и менее	Учащение на 12–18 сокращений	Учащение на 19 сокращений и более
АДСистолическое	Повышается	Не меняется	Снижается на 5–10 мм рт. ст.
АДДиастолическое	Снижается	Не изменяется или повышается на 5–10 мм рт. ст.	Повышается более чем на 10 мм рт. ст.
АДПульсовое	Повышается	Не меняется	Снижается
Вегетативные реакции	Отсутствуют	Потливость	Потливость, шум в ушах

Клиноостатическая проба (проба Даниелополу). Испытуемый перед проведением пробы должен находиться в вертикальном положении не менее 3 мин. После этого измерьте у него частоту пульса. Попросите испытуемого лечь и через 10 с опять подсчитайте частоту пульса. В норме пульс замедляется на 4–6 ударов в мин.

Холодовая проба. Измерьте артериальное давление и, не снимая манжеты, попросите испытуемого погрузить вторую руку в холодную воду. Через 1–3 мин повторно измерьте артериальное давление. В норме систолическое давление повышается на 10–20 мм рт. ст.

Дыхательная проба (проба Геринга). У испытуемого в положении стоя определите частоту пульса. Затем попросите сделать глубокий вдох и задержать дыхание. Подсчитайте пульс на фоне задержки дыхания. В норме наблюдается уменьшение частоты сердечных сокращений на 4–10 ударов в мин.

Проба Эрбена. У испытуемого в положении стоя подсчитайте частоту пульса. Затем предложите присесть на корточки и сильно наклонить голову вперед так, чтобы подбородок коснулся коленей. В этом положении подсчитайте частоту пульса. В норме возникает замедление пульса в пределах 8–12 ударов в мин. Большее замедление расценивается как повышение тонуса центров блуждающих нервов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Копаладзе, Р. А. Биоэтика и эволюция биомедицинского эксперимента от Алкмеона до Павлова / Р. А. Копаладзе // Успехи физиологических наук. — 2009. — Т. 40, № 3. — С. 89–104.
2. Лукьянов, А. С. Биоэтика с основами биоправа : учеб. пособие / А. С. Лукьянов. — М. : Научный мир, 2008.
3. Петрова, Н. П. История медицинской этики : учеб.-метод. пособие / Н. П. Петрова. — Гомель : ГомГМУ, 2010.
4. Фундаментальная и клиническая физиология : учебник для студ. высш. учебн. заведений / под ред. А. Г. Камкина и А. А. Каменского. — М. : Академия, 2004.
5. Большой практикум по физиологии человека и животных / под ред. А. Г. Камкина. — М. : Академия, 2007.
6. Физиология : Руководство к экспериментальным работам / под ред. А. Г. Камкина, И. С. Киселевой. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011.
7. Зудбинов, Ю. И. Азбука ЭКГ / Ю. И. Зудбинов. — Ростов н/Д. : Феникс, 2003.
8. Михайлов, В. М. Вариабельность ритма сердца : Опыт практического применения метода / В. М. Михайлов. — Иваново : Ивановская гос. мед. академия, 2000.
9. Гнездицкий, В. В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике / В. В. Гнездицкий. — Таганрог : Медиком-Лтд, 1997.
10. Зенков, Л. Р. Клиническая электроэнцефалография / Л. Р. Зенков. — Таганрог : Медиком-Лтд, 1996.

Оглавление

Введение	3
Глава 1. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ	5
1.1. Классификация экспериментальных исследований	5
1.2. Понятие о биотехнологии	18
Глава 2. БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОЭТИКА	27
2.1. Основные этапы, состояние и перспективы развития биотехнологий в современном мире	27
2.2. Этические аспекты развития биотехнологических методов	31
2.3. Формирование этических взглядов в экспериментальной физиологии	35
2.4. Этические и законодательные требования к экспериментам на животных	43
2.5. Этические и правовые аспекты исследований на человеке	54
Глава 3. МЕТОДЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	62
3.1. Классификация методов физиологических исследований	62
3.2. Электрофизиологические методы исследования процессов жизнедеятельности	67
3.3. Оборудование для электрофизиологических исследований	71
3.4. Микроэлектродные исследования	90
3.5. Электрическая активность мозга. Электроэнцефалография	98
3.6. Вызванные потенциалы мозга	108
3.7. Электромиография	116
Глава 4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ	123
4.1. Электрокардиография	123

4.2. Исследование variability сердечного ритма	127
4.3. Баллистокардиография	130
4.4. Плетизмография	131
4.5. Реография	132
4.6. Функциональные пробы на реактивность сердечно-сосудистой системы	133
Литература	136

Учебное издание

Мышкин Иван Юрьевич
Ботязова Ольга Александровна
Тятенкова Наталия Николаевна

**Экспериментальная биология
и биотехнологии:
экспериментальная физиология**

Учебное пособие

Редактор, корректор М. Э. Левакова
Верстка М. Э. Леваковой

Подписано в печать 26.07.2018. Формат 60×84 1/16.

Усл. печ. л. 8,14. Уч.-изд. л. 7,0.

Тираж 25 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен
в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.

Ярославский государственный университет
им. П. Г. Демидова.
150003, Ярославль, ул. Советская, 14.

