УДК 612.821—053

МЕТОДИКА ВИЗНАЧЕННЯ СИЛИ ЗБУДЖУВАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ У СОБАК В ОНТОГЕНЕЗІ

В. М. Києнко, М. О. Куликов, В. В. Сиротський

Відділ фізіології вищої нервової діяльності
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Дослідження типологічних властивостей вищої нервової діяльності в онтогенезі відрізняється тим, що для вивчення питання необхідно виробити єдину методику оцінки достовірності тих змін вищої нервової діяльності, які можуть здійснитися на кожному з досліджуваних вікових періодів постнатального розвитку тварин.

Як відомо, основним тестом, яким користується більшість дослідників для судження про силу збуджувалнього процесу у піддослідних тварин, є застосування кофеїнових проб [1, 2].

За малим стандартом досліджень силу процесу збудження оцінюють зміною рівня позитивних умовних рефлексів у день введення кофеїну в порівнянні з вихідним фоновим показником. Багато дослідників неодноразово намагалися виробити єдину методику оцінки достовірності цих змін, проте ці спроби натрапили на ряд труднощів, описаних в літературі [3].

Ці труднощі пов'язані, переважно, з тим, що дія кофеїну на умовнорефлекторну діяльність тварин зв'язана з рядом впливів, які не беруть до уваги, тому рівень умовнорефлекторної діяльності у день введення кофеїну може зазнати сильних змін, і висновок про граничну дозу кофеїну, яка не викликає значимого зниження величини позитивних умовних рефлексів, часто може бути не достовірним. У зв'язку з цим виявилась необхідність введення такої методики статистичної обробки, при якій ця складність була б усунена.

Ловчиков [3] пропонує проведення ряду повторних кофеїнових проб при тій самій дозі кофеїну та порівняння середнього з одержаних результатів з середнім фоновим рівнем умовних рефлексів.

Проте цей метод пов'язаний з необхідністю повторення ряду експериментів, що значно подовжує процес дослідження і тому для визначення сили збуджувального процесу в ранньому онтогенезі мало придатний.

Вимоги до більш простого і швидкого методу статистичної обробки, на нашу думку, мають бути такі: 1) обраний метод повинен якомога мало залежати від екстремальних значень, одержаних в процесі встановлення фону умовних рефлексів; 2) метод повинен базуватися на невеликій кількості спостережень; 3) метод не повинен грунтуватися на припущенні про тип розподілу спостережень.

Остання вимога пов'язана з тим, що визначення типу розподілу за невеликою кількістю дослідів надзвичайно ускладнене, і нема апріорної впевненості в тому, що при порогових дозах кофеїну величина позитивних умовних рефлексів підлягає закону нормального розподілу.

У зв'язку з цим ми гадаємо, що показником реакції умовнорефлекторної діяльності тварини на дію кофеїну є не тільки реакція в день його введення, але й протягом ряду наступних днів. Дійсно, розглянемо, наприклад, умовнорефлекторну діяльність собаки Буяна при введенні йому 0,8 *г* кофеїну (табл. 1).

Як видно, у день введення кофеїну величина умовних рефлексів практично не змінилась, тоді як згодом протягом кількох днів спостерігалось значиме зниження рівня умовнорефлекторної діяльності. Ясно, що брати до уваги результат застосування дози у день введення кофеїну недостатньо, і слід орієнтуватися також і на більш віддалені дні.

Численні дослідження сили збуджувального процесу з допомогою кофеїнових проб (76 проб на 23 собаках) показали, що оцінка сили збуджувального процесу

Таблиця 1

Вплив кофеїну на умовнорефлекторну діяльність собаки Буяна
(доза кофеїну 0,8 *г*)

Величина позитивних і гальмівних умовних рефлексів до введення кофеїну (фон)					Величина умовних рефлексів у день введення кофеїну	Величина позитивних і гальмівних рефлексів після введення кофеїну				
6.X	7.X	9.X	12.X	13.X	14.X—64	15.X	16.X	17.X	19.X	20.X
+31	34	32	30	27	31	19	6	12	9	17
—3	2	3	2	3	0	0	0	0	0	1

тільки за результатами зміни умовнорефлекторної діяльності у день введення кофеїну почасти не приводить до достовірних висновків.

Розглянемо умовнорефлекторну діяльність собаки Дружка при введенні йому 0,7 і 0,8 *г* кофеїну (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив кофеїну на умовнорефлекторну діяльність собаки Дружка
(дози 0,7 *г* (*А*) і 0,8 *г* кофеїну (*Б*)

Величина позитивних і гальмівних рефлексів до введення кофеїну (фон)					Величина умовних рефлексів у день введення 0,7 *г* кофеїну	Величина позитивних і гальмівних умовних рефлексів після введення кофеїну				
А										
9.X	11.X	12.X	13.X	14.X	15.X—63	16.X	17.X	18.X	19.X	21.X
+15	17	17	17	17	16	13	13	13	12	15
— 0	0	1	1	2	10	5	4	2	2	4
Б										
30.X	1.XI	2.XI	3.XI	4.XI	5.XI—63	6.XI	7.XI	9.XI	10.XI	11.XI
+28	16	23	17	22	5	1	7	11	20	18
— 1	4	3	1	0	6	3	1	2	1	3

Якщо судити за результатами у день введення кофеїну, то доза 0,7 *г* викликає недостовірне зниження (τ_a =0,45) і доза 0,8 *г* також викликає недостовірне зниження (τ_a = 1,67) [5], при критичних значеннях відповідно 1,92 і 2,07. Водночас, порівнюючи стан умовнорефлекторної діяльності у собак до і після введення кофеїну, ми виявили достовірне її зниження у тварини як при дозі 0,7 *г*, так і при дозі 0,8 *г* кофеїну. Отже, якщо б ми орієнтувались тільки на показники у день введення кофеїну, то ми мали б вважати граничною дозою кофеїну 0,8 *г*, проте порівнюючи стан до і після введення кофеїну, ми знаходимо значно меншу дозу, навіть нижче 0,7 *г*.

Це збігається з висновком Ловчикова [3] щодо того, що оцінка сили збуджувального процесу за результатами кофеїнових проб у день його введення дає, як правило, завищений результат. З іншого боку, ми бачимо, що повільне відновлення умовнорефлекторної діяльності до фонового рівня після введення навіть середніх доз кофеїну свідчить про порушення умовнорефлекторної діяльності.

При цьому ми не заперечуємо, що результат впливу кофеїну на умовнорефлекторну діяльність тварини у день його введення має певне фізіологічне значення, хоч вірніше обов'язкове урахування умовнорефлекторної діяльності собаки протягом кількох днів після одноразового введення кофеїну.

Пропонується така методика статистичної обробки кофеїнових проб.

I. Застосування непараметричних критеріїв. Для перевірки стійкості фону умовних рефлексів можна користуватися критерієм т [5]. Як фоновий показник беремо величину позитивних умовних рефлексів п'яти днів, які безпосередньо передують кофеїновій пробі, і якщо одне із значень фонових спостережень різко відрізняється від інших, воно виключається з групи спостережень, а як фон беруть решту чотири значення.

II. Перевірка належності показника у день введення кофеїну до фонової сукупності. Користуючись тим самим критерієм т, ми знаходимо відношення різниці між значенням позитивних умовних рефлексів у день проведення досліду і близьким до нього мінімальним (або максимальним) значенням фону та ділимо його на різницю між значенням у день проби і найближчим до максимального (або відповідно мінімального фонового значення). Якщо одержана величина менше 0,689 або значення позитивного умовного рефлексу в день проби лежить між фоновими значеннями, то ми вважаємо це показником того, що застосована доза кофеїну істотно не змінює умовнорефлекторну діяльність у день досліду. У протилежному випадку гадаємо, що зміна істотна.

Зміни в умовнорефлекторній діяльності при введенні кофеїну виявились такими. Величини позитивних умовних рефлексів у день досліду залишались незмінними, або зменшувались. Тому грунтуватися на результатах, одержаних у день кофеїнової проби, для остаточного висновку про силу збуджувального процесу явно недостатньо, і необхідно брати до уваги стан умовнорефлекторної діяльності тварини у дальші два — чотири дні після введення кофеїну.

Для цієї мети можна користуватися критерієм Манна — Уітнея [4] або його модифікацією — критерієм Вілкоксона [5]. Суть цього методу полягає в тому, що виписується п'ять фонових значень позитивних умовних рефлексів і п'ять значень, одержаних після введення кофеїну (величина позитивних умовних рефлексів, одержана в день введення кофеїну, виключається, оскільки, на нашу думку, ця величина може бути первинною реакцією організму, яка є нетиповою для дальшого стійкого стану). Результати цих десяти спостережень упорядковуються за величиною, наприклад, від меншого до більшого і нумеруються у порядку підвищення. Якщо два або більше спостереження мають те саме цифрове значення, то кожному з них приписується номер (ранг), який є середнім з усіх місць, що вони займають. Потім знаходимо суму номерів (рангів) усіх фонових спостережень, позначену через R. Далі обчислюємо величину U, рівну $n_1n_2+\frac{n_1(n_1+1)}{2}-R$, де n_1 — число фонових спостережень, n_2 — число спостережень після введення кофеїну.

Якщо $U > \frac{n_1n_2}{2}$, то воно замінюється на $n_1n_2 - U$, і якщо ця величина перевищує певну критичну межу для $n_1 = n_2 = 5$, $U = 4$, то вважають, що дані групи спостережень у своїй основній масі (за середньою тенденцією) не розрізнянні, тобто фонові значення величини позитивних умовних рефлексів незначимо відрізняються від показників, одержаних після кофеїнових проб.

Перевищення критичної величини показує, що дана доза кофеїну виявила істотний вплив на збуджувальний процес, при цьому з дальших спостережень легко встановити знак зміни реакції.

Точні числові значення вірогідності істотної відмінності рівней умовних рефлексів при даному U наведені в таблицях, описаних в літературі [4, 6].

Як правило, при застосуванні послідовно збільшуваних доз кофеїну величини позитивних умовних рефлексів недостовірно знижуються (при введенні граничних доз) і, нарешті, достовірно знижуються при введенні позамежних доз. Отже, при оцінці граничних доз кофеїну не завжди необхідна перевірка всіх можливих доз.

Описаний метод з математичної точки зору відрізняється простотою, високою достовірністю і відсутністю вимог до виду розподілу спостереження.

Остання немаловажлива перевага пов'язана з тим, що коли одне спостереження різко відрізнятиметься від інших, але не може бути виключено з фізіологічних міркувань, то його місце у ранжированому ряду не зміниться, і, отже, висновок про реакцію на дану дозу кофеїну також не буде значно залежати від цього поодинокого спостереження.

Так, наприклад, нами одержана така послідовність величин позитивних умовних рефлексів (собака Ворон) до і після введення кофеїну в дозі 0,7 *г*: 225, 217, 221, 226, 220 (152 у день введення кофеїну), 163, 195, 224, 205, 220. Доза 0,7 *г* викликає значне зниження показників позитивних умовних рефлексів, тобто є граничною $R=37{,}5$; $U=2{,}5$; $p=2{,}2\%$ — за критерієм Манна — Уітнея, і $t=1{,}85$; $p=5{,}4\%$ — за критерієм Стьюдента. Отже, ми бачимо, що значиме зниження, відзначене за критерієм Манна — Уітнея, за критерієм Стьюдента класифікується як недостовірне.

Аналіз показує, що це відбулося внаслідок великої дисперсії спостережень після введення кофеїну, а ця дисперсія, в свою чергу викликана появою величини позитивного умовного рефлексу, що дорівнює 163 у перший день після введення кофеїну (що значно нижче усіх інших значень).

Якщо ж замість цього візьмемо, наприклад, значення 183, то величина R за критерієм Манна — Уітнея не зміниться, а за критерієм Стьюдента $t = 2{,}10$, що відповідає $p = 3{,}4\%$, тобто в цьому випадку результати застосування обох критеріїв збігаються, вказуючи на значиме зниження позитивних умовних рефлексів у наступні п'ять днів після введення тварині 0,7 *г* кофеїну.

Нарешті, відзначимо ще одну особливість обробки даних.

Таблиця 3

Коефіцієнт варіації (*CV*) позитивних умовних рефлексів у собак у процесі вироблення стереотипу умовних рефлексів

№ п.п.	Кличка тварини	Коефіцієнт варіації (*CV*) позитивних умовних рефлексів	Встановлена гранична доза кофеїну (в грамах)	Тип вищої нервової діяльності
1.	Альфа	25,0	1,2	Сильний
2.	Аді	27,2	1,0	Сильний
3.	Дик	28,0	0,8	Сильний
4.	Макс	29,0	0,8	Сильний
5.	Пелікан	30,6	0,6	Слабка варіація сильного типу
6.	Ара	33,2	0,5	Слабка варіація сильного типу
7.	Мишка	33,7	0,6	Слабка варіація сильного типу
8.	Звьоздочка	34,3	0,6	Слабка варіація сильного типу
9.	Тимка	34,6	0,6	Слабка варіація сильного типу
10.	Дружок	35,1	0,6	Слабка варіація сильного типу
11.	Бобик	40,7	0,6	Слабка варіація сильного типу
12.	Мук	41,0	0,6	Слабка варіація сильного типу
13.	Байкал	43,3	0,6	Слабка варіація сильного типу
14.	Пират	44,5	0,5	Слабка варіація сильного типу
15.	Радж	50,6	0,6	Слабка варіація сильного типу
16.	Пальма	51,1	0,5	Слабка варіація сильного типу
17.	Буян	52,4	0,5	Слабка варіація сильного типу
18.	Леді	56,4	0,2	Сильна варіація слабкого типу
19.	Роко	64,9	0,3	Сильна варіація слабкого типу
20.	Астра	67,1	0,3	Сильна варіація слабкого типу
21.	Памір	67,6	0,3	Сильна варіація слабкого типу
22.	Альма	67,9	0,3	Сильна варіація слабкого типу
23.	Рона	72,7	0,3	Сильна варіація слабкого типу

Як відомо, класична статистична методика за критерієм Стьюдента, як правило, ґрунтується на двобічному критерії значимості, тобто визначається вірогідність того, що два порівнюваних середніх значення відрізняються в силу випадкових причин з меншою вірогідністю, ніж обраний рівень значимості (звичайно 5%). Проте, при проведенні кофеїнових проб нас цікавить не ця вірогідність, а імовірність того, що се-

реднє значення з п'яти величин позитивних умовних рефлексів після введення кофеїну менше або більше середнього значення п'яти фонових величин з вірогідністю випадкової відмінності не більше 5%, тобто ми в цьому випадку повинні користуватися не двобічним, а однобічним критерієм значимості.

У цьому випадку величина критичного значення t відповідає критичному значенню для двобічного критерію при рівні значимості 2α, тобто для 10%.

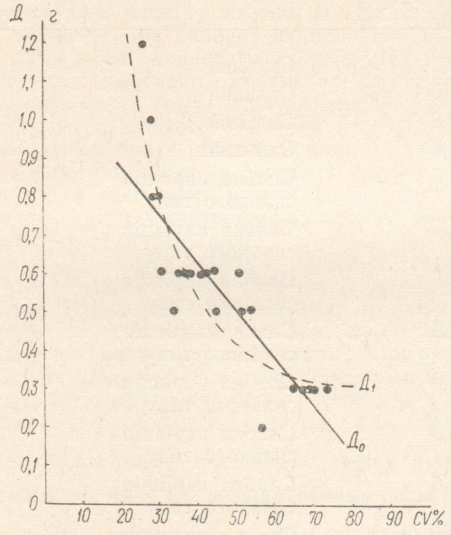
Для випадку п'яти спостережень в кожній з груп критична величина t дорівнює 1,86, тоді як при рівні значимості 0,05 (5%) t дорівнює 2,31.

При застосуванні критерію Манна — Уітнея в таблицях Оуена [5] наведені критичні значення числа U для однобічного критерію, тобто одержання $U \leqslant 4$ вказує на достовірність відмінності середніх.

Якщо ми завжди підраховуватимемо суму рангів для фонових значень, то можна вважати (не переходячи до величини $U = n_1 n_2 - U$), що значення $U < 4$ свідчить про достовірне зниження величини умовних рефлексів після досліджень кофеїном (тобто про те, що розглядувана доза є позамежною); якщо $U \geqslant 21$, то реакція перебуває в межах нормальних фазових відношень.

Значення U від 5 до 20 може свідчити про надзвичайну малу дозу кофеїну, яка практично не змінює умовнорефлекторну діяльність.

Введення різних доз кофеїну змінювало не тільки рівень позитивних умовних рефлексів, але й величину гальмівних умовних рефлексів. Гранична



Графічне зображення кореляції між стабільністю позитивних умовних рефлексів і граничною дозою кофеїну.

Д — доза кофеїну в *г*, по горизонталі *CV* (коефіцієнт варіації позитивних умовних рефлексів) $Д_0$ і $Д_1$ — гадане значення граничної дози кофеїну.

доза кофеїну, як правило, викликала розгальмування диференціювання, проте таке саме явище відзначалось і при дозах менше граничних.

Багаторічні дослідження по вивченню впливів різних доз кофеїну на умовнорефлекторну діяльність собак показало, що він у день введення звичайно викликає нечіткий ефект. Найчастіше, особливо у тварин сильного типу вищої нервової діяльності не відзначено посилення позитивних умовних рефлексів. Навпаки, нерідко вони навіть знижувались. Проте у дальші дні індивідуально умовнорефлекторна діяльність змінювалась відповідно дозі кофеїну. Чим більшою була доза кофеїну, тим більше порушення умовнорефлекторної діяльності можна було чекати у наступні два — чотири дні.

На великому експериментальному матеріалі ми намагалися провести також кореляцію між стабільністю (стійкістю) позитивних умовних рефлексів у процесі вироблення стереотипу умовних рефлексів з даними кофеїнових проб. Результати зіставлення наведені в табл. 3. Коефіцієнт варіації позитивних умовних рефлексів був обчислений за даними протоколів дослідів, проведених на 23 собаках. Тип вищої нервової діяльності визначали за «малим стандартом».

Для обчислення коефіцієнта варіації були використані дані всіх дослідів, проведених з моменту введення диференціювального подразника до проведення функціональних проб. Так само був обчислений коефіцієнт варіації гальмівного рефлексу.

Виявилось, що чим стабільніші у тварини рефлекси, тим більшу дозу кофеїну вона витримує. Отже можна заключити, що стабільність рефлексів у процесі вироблення стереотипу є надійним показником сили збуджувального процесу тварини. Для її визначення практично достатньо 40—50 дослідів по виробленню стереотипу умовних рефлексів.

Коефіцієнт лінійної кореляції між коефіцієнтом варіації позитивних умовних рефлексів у процесі вироблення стереотипу (*CV*) і встановленою граничною дозою кофеїну (*Д*) вказує на існування високого негативного достовірного зв'язку між цими величинами ($-83 \pm 0{,}12$). Гадані значення $Д_0$ можна передбачити за одержаними при виробленні стереотипу значеннями *CV* з допомогою рівняння: $Д_0 = 1{,}14 - 0{,}013\ CV$.

Ці показники можна визначити за графіком (суцільна лінія на рисунку) або з допомогою такої таблиці:

CV	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%	60%	65%	70%	80%
$Д_0$	0,82	0,75	0,69	0,62	0,56	0,49	0,43	0,36	0,30	0,24	0,17
$Д_0^+$	0,92	0,83	0,76	0,68	0,62	0,55	0,50	0,44	0,40	0,35	0,30
$Д_0^-$	0,72	0,67	0,62	0,56	0,50	0,43	0,36	0,28	0,20	0,10	0,04
$Д_1$	1,00	0,79	0,64	0,54	0,47	0,42	0,38	0,35	0,33	0,32	0,31,

де $Д_0$ — гадане значення граничної дози кофеїну, $Д_0^+$ і $Д_0^-$ — відповідно найбільше і найменше значення граничної дози кофеїну, що узгоджується з спостережуваним значенням CV (вірогідність помилки не більше 5%). $Д_1$ — гадане значення граничної дози кофеїну, розраховане з дещо більш точного (для високих граничних доз) рівняння: $Д_1 = 0{,}0051\ CV + \frac{35.524}{CV} - 0{,}549$.

Ця крива відмічена на графіку пунктиром. По горизонталі нанесені значення CV, по вертикалі — відповідні гадані граничні дози. Точки на графіку відповідають експериментальним даним.

Отже, можна запропонувати таку методику визначення сили збуджувального процесу при застосуванні кофеїнових проб.

1. У процесі вироблення стереотипу по 40—50 дослідам визначається коефіцієнт варіації позитивних умовних рефлексів. За одним з двох наведених рівнянь знаходимо гадану величину граничної дози кофеїну.

2. Як експериментальну дозу кофеїну слід обирати дозу, меншу на 0,1—0,2 *г* граничної величини. Величина позитивних умовних рефлексів враховується протягом п'яти днів до введення експериментальної дози, у день введення і протягом п'яти днів після введення.

3. Послідовність спостережень перевіряється на стійкість фонових значень, сумнівні спостереження з дальшої обробки виключаються.

4. За критерієм Манна — Уітнея визначається достовірність зміни рівня позитивних умовних рефлексів після введення кофеїну в порівнянні з фоновим рівнем. Наявність недостовірного зниження рівня служить показником близькості експериментальної дози до граничної, наявність достовірного зниження — показником позамежності дози.

5. Якщо експеримент триває при новому дозуванні кофеїну, необхідно заздалегідь порівняти новий фоновий рівень з попереднім для усунення можливого впливу попередньої кофеїнової проби.

Література

1. Колесников М. С., Трошихин В. А.— Журн. высш. нервн. деят., 1951, 1, 4, 739.
2. Красуский В. К.— Журн. высш. нервн. деят., 1951, 1, 3, 399.
3. Ловчиков В. А.— В кн.: Высш. нервн. деят. в норме и патол., К., «Здоров'я», 1967, 2, 49.
4. Оуэн Д. Б.— В сб.: Статистич. таблицы, М., Вычислит. центр АН СССР, 1966, 390.
5. Урбах В. Ю.— Биометрические методы, М., «Наука», 1964.
6. Siegel S.— Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences, N. V., 1956.

Надійшла до редакції
18.V 1970 р.

УДК 612.141

ДЕЯКІ ПИТАННЯ МЕТОДИКИ І ОБ'ЄКТИВНОЇ ОЦІНКИ ПАРАМЕТРІВ РЕОЕНЦЕФАЛОГРАМИ (РЕГ)

Ф. Ф. Гетман, Г. І. Кульбаба, А. А. Новиков

Одеський медичний інститут

Реоенцефалографічний метод дослідження дає надійну інформацію про інтенсивність і симетричність кровонаповнення тканин головного мозку, а також еласто-тонічний стан церебральних судин.

Висока чутливість і об'єктивність реографічного методу ставить до нього певні вимоги щодо вірогідності кривої та її оцінки, зокрема основного параметра — довжини анакротичної фази реограми (α). Цей параметр самостійно і в сполученні з іншими служить показником швидкості і характеру кровонаповнення тканин мозку, еластичності і тонусу церебральних судин [4, 6 та ін.].

Тривалість анакротичної фази реограми, як відомо, визначається відрізком часу від початку виникнення РЕГ-хвилі до її вершини. Проте, при порушеннях мозкового