**ПРОТОКОЛ**

экспериментального исследования «Выявление в продолговатом мозге лягушки влияния изменения афферентного потока на эфферентный сигнал при помощи методики высокочастотного электромагнитного поля»

1.Введение

Исследования в рамках иерархической системы ритмогенеза сердца позволили получить факты, свидетельствующие о том, что в условиях целостного организма ритм сердца зарождается в головном мозге и в виде залпов импульсов передается к сердцу по блуждающим нервам, вызывая его сокращение. В то же время характеристика сигналов, возникающих в головном мозге, остается малоизученной, что продиктовано методическими сложностями. Использование методики высокочастотного электромагнитного поля открывает новые возможности регистрации сигнала в центральной нервной системе, связанного с сердечным ритмом. Дополнительные возможности методики высокочастотного электромагнитного поля в отношении регистрации процесса возбуждения были показаны в ряде ранее выполненных работ (Перова М.Ю., Арделян А.Н., Перова Ю.Ю. и др.)

2.Цель исследования – изучить влияние изменения афферентного потока на эфферентный сердечный сигнал в продолговатом мозге лягушки при помощи методики высокочастотного электромагнитного поля.

Задачи

- Оценить регистрируемое свечение процесса возбуждения в продолговатом мозге лягушки в исходном состоянии.

- Оценить изменение регистрируемого свечения эфферентных очагов в продолговатом мозге лягушки после удаления сердца.

- Оценить изменение регистрируемого свечения эфферентных очагов в продолговатом мозге лягушки после перерезки правого вагосимпатического ствола, а затем и левого.

- Оценить изменение регистрируемого свечения эфферентных очагов в продолговатом мозге лягушки после перерезки левого вагосимпатического ствола, а затем и правого.

3.Объект и длительность исследования

Экспериментальное исследование будет выполнено на 90 лягушках Rana temporaria массой 140±15г, содержащихся на базе вивария ФГБОУ ВО КубГМУ при температуре 16-18°С. Все эксперименты будут проведены в соответствии с требованиями приказа Министерства здравоохранения РФ от 01 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (NAP, 2011) на кафедре нормальной физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ. Критериями исключения из исследования будут служить видимые анатомические дефекты и признаки болезней. Каждый эксперимент на одном животном будет длиться 90±20 мин.

4.Методология

Дизайн исследования

**90 лягушек**

Регистрация свечения продолговатого мозга лягушки в исходном состоянии

**30 лягушек**

Регистрация свечения продолговатого мозга лягушки после удаления сердца

**30 лягушек**

Регистрация свечения продолговатого мозга лягушки после перерезки правого вагосимпатического ствола, затем левого

**30 лягушек**

Регистрация свечения продолговатого мозга лягушки после перерезки левого вагосимпатического ствола, затем правого

Такое количество экспериментальных животных обусловлено вариативностью процессов на уровне ЦНС, что требует большого количества экспериментальных животных.

План исследования

- Обездвиживание лягушки посредством разрушения спинного мозга.

- Вскрытие черепной коробки, визуализация продолговатого мозга лягушки.

- Помещение продолговатого мозга в поле установки, создающей высокочастотное электромагнитное поле.

- У всех лягушек будет производиться регистрация свечения продолговатого мозга в исходном состоянии.

- У 30 лягушек после регистрации в исходном состоянии будет производиться регистрация свечения продолговатого мозга после удаления сердца (на фоне снижения афферентного потока).

- У 30 лягушек после регистрации в исходном состоянии будет производиться регистрация свечения продолговатого мозга после перерезки правого вагосимпатического ствола (на фоне снижения афферентного потока). Затем будет производиться регистрация свечения продолговатого мозга после дополнительной перерезки левого вагосимпатического ствола.

- У 30 лягушек после регистрации в исходном состоянии будет производиться регистрация свечения венозного синуса сердца после перерезки левого вагосимпатического ствола (на фоне снижения афферентного потока). Затем будет производиться регистрация свечения продолговатого мозга после дополнительной перерезки правого вагосимпатического ствола.

- Утилизация биологических отходов по завершению проведения эксперимента.

5. Регистрируемые процессы

В ходе проведения эксперимента будут регистрироваться очаги свечения в продолговатом мозге лягушки в высокочастотном электромагнитном поле, отражающие процесс возбуждения. При этом имеются зоны разной интенсивности свечения, характеристики которых меняются при изменении афферентного потока. Будет прослежена динамика эфферентных очагов в ответ на изменение афферентного потока (удаление сердца, перерезка одного вагосимпатического ствола, потом другого) по сравнению с исходным состоянием.

6. Работы по регистрации возбуждения в различных структурах нервной и системы с помощью методики высокочастотного электромагнитного поля проводились ранее (Арделян А.Н., Перова Ю.Ю.).

7. Анализ данных

Статистическая обработка полученных данных будет проводиться с помощью программного обеспечения «MS Excel 2016» (Microsoft Inc., США), «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., США) и «GraphPad Prism 7.00» (GraphPad Software Inc., США). Проверка нормальности распределения количественных признаков в исследуемых группах будет проводиться с использованием критерия Шапиро-Уилка. Если распределение значений будет отличаться от нормального, для дальнейших расчетов будут использованы методы непараметрической статистики. Полученные результаты будут представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 и Q3). Для оценки статистически значимых различий при парных сравнениях зависимых групп будет использован критерий Вилкоксона (W-test). Критический уровень значимости (р-value) при проверке статистических гипотез равен 0,05.