



Факторы, влияющие на физическую работоспособность лабораторных животных в кинезогидродинамическом исследовании

В.Н. Каркищенко, Е.Б. Шустов, Ю.В. Фокин, О.В. Алимкина,
Х.Х. Семёнов, Г.Д. Капанадзе

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: д.м.н. Шустов Евгений Борисович, shustov-msk@mail.ru

В статье представлена разработка условий стандартизации методики кинезогидродинамического исследования физической работоспособности лабораторных животных. Организация исследований была построена по принципу однофакторного эксперимента. Анализируемыми факторами были возраст животных, температура воды в гидроканале, обучение и тренировка животных, предшествующее утомление, стресс, голод и гипоксия. Показано, что оптимальным условием для выполнения данных исследований является использование взрослых самок крыс, предварительно обученных методике и прошедших цикл тренировок, при температуре воды в гидроканале +24°C. Предварительное гипоксическое воздействие вызывает практически полный срыв работоспособности и невозможность выполнения кинезогидродинамического исследования. Не компенсированное естественными восстановительными процессами утомление, стресс и голод вызывают ухудшение показателей физической работоспособности.

Ключевые слова: лабораторные животные, биомоделирование, физическая работоспособность, кинезогидродинамическое исследование, факторный анализ.

Введение

Одной из нерешенных методических проблем биомедицинских исследований в области спортивной медицины и доклинического изучения фармакологических средств, влияющих на физическую работоспособность, является несопоставимость результатов, полученных разными исследователями, в силу методических вариаций и расхождений в условиях проведения исследований [4]. Универсальной мето-

дикой, сочетающей способность одновременно оценивать неспецифическую динамическую работоспособность в аэробном диапазоне нагрузок и специфическую выносливость для такого вида спорта, как плавание, является кинезогидродинамическое исследование [1-3]. Методика позволяет в одном исследовании оценивать скоростные характеристики, работоспособность, выносливость и утомляемость животных [6].

Материалы и методы

Регулирующие стандарты. Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», Приказ Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г.), в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986), согласно утвержденному письменному протоколу, в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП), санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [5]. Протокол эксперимента был одобрен биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Тестируемые животные. Исследования проводились на белых лабораторных крысах-самках линии WAG/GY, в возрасте 1,5-3,5 мес., средней массой 160-240 г, конвенционального статуса. Животные были распределены по группам в соответствии с задачами эксперимента (в каждой группе по 10 особей), уравнены по массе, условиям кормления и содержания.

Условия кормления и содержания. Крыс содержали в микроизоляторной системе «RairIsoSystem». В качестве подстила использовали стерильные

древесные опилки. В качестве корма – стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась вволю в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 18-22°C и относительная влажность 60-70%. Освещение в помещениях – естественно-искусственное. Вновь прибывшие животные находились на карантине 7 дней в клетках.

Кинезогидродинамическая модель плавания. Исследование проводится в специальном гидроканале с изменяющимся встречным потоком воды, который должно преодолевать лабораторное животное. Гидроканал построен из прозрачного пластика прямоугольной и равнобокой трапецевидной формы в поперечном сечении (0,4х0,2х0,4 м). Длина канала составляет 1,2 м. Высота уровня жидкости равна 0,2 м. Он оснащен с торцевых сторон водосборниками, обеспечивающими ламинарность потоков воды, циркуляционным насосом с регулируемой мощностью прокачки, теплообменниками для нагрева или охлаждения прокачиваемой жидкости. После включения циркулярного насоса система стабилизируется на скорости квазиламинарного потока воды не ниже 5 м/мин и температуре воды 24±1°C. «Правильное» направление движения в гидроканале у животных вырабатывается в ходе предварительного обучения с использованием в конце маршрута домика-приманки (плавающий плотик, который по ходу обучения можно отодвигать дальше к торцу гидроканала) или ими-

тации домика-норки (типа «скворечник»). В процессе эксперимента регистрируется время прохождения рабочей дистанции (1,2 м) и количество выполненных заплывов, до отказа животного от плавания. Скорость встречного потока – 0,25 м/с.

Расчетными показателями модели являются:

- максимальная скорость плавания ($V_{\max}$)

$$V_{\max} = V_p + L / T_{\min},$$

где V_p – скорость потока, L – длина мерного участка (1,2 м), $T_{\min}$ – минимальное время проплыва мерного участка;

- выносливость (A) – количество выполненных заплывов;

- работоспособность (R) – суммарное преодоленное расстояние

$$R = L * A + V_p * T_{\text{sum}},$$

где L – длина мерного участка (1,2 м), A – количество выполненных заплывов, V_p – скорость потока, T_{sum} – суммарное время плавания по всем заплывам;

- утомляемость (U) – тангенс угла наклона эргографической кривой (определяется как угловой коэффициент линейной регрессии зависимости продолжительности заплывов от их количества);

- средняя скорость плавания

$$V_s = R / T_{\text{sum}}.$$

В качестве контролируемых факторов анализировались возраст животных (юные – 1,5 мес., взрослые – 3-5 мес.), температура воды (24 и 34°C соответственно), фактор обучения и тренировки, фактор предшествующего утомления (выполнение предварительно физической нагрузки за 1 ч до тестирования), предшествующего стрессового воздействия (электрокожное раздражение, 30

В, 30 сек, за 10-15 мин до тестирования), голод (депривация пищи в течение 6 ч до тестирования), предшествующее гипоксическое воздействие (барокамерный подъем на критическую для крыс высоту 11500 м).

Статистическая обработка. Оценка значимости влияния контролируемых факторов проводилась методом однофакторного дисперсионного анализа (приложение «Пакет анализа» к процессору таблиц Microsoft Office Excel 2010).

Результаты и их обсуждение

Все животные, в т.ч. и контрольных групп, прошли кинезогидродинамическое исследование. В экспериментальных группах при воздействии неблагоприятных факторов отмечались отказы животных от исследований, несмотря на токовую стимуляцию. Так, в условиях голода 10% животных отказалось от плавания, в условиях стресса – 20%, в условиях предшествующего утомления – 20%, на фоне предшествующего гипоксического воздействия – 90% (что сделало невозможным проведение статистической обработки данной серии исследований).

Параметры кинезогидродинамического исследования анализировались по отдельности. Полученные результаты дисперсионного факторного анализа представлены в табл. 1-6.

На максимальную скорость плавания животных негативно влияют повышенная температура воды, предшествующие тренировки, утомление, стресс и голод (табл. 1). На среднюю скорость плавания негативно влияют юный возраст животных, предшествующее утомление и голод, повышенная температура воды (табл. 2).

Таблица 1

Результаты однофакторного дисперсионного анализа контролируемых факторов, влияющих на максимальную скорость плавания животных

Контролируемый фактор	Центроиды групп (м/мин)		Отличия групп, %	Параметры дисперсионного анализа	
	1	2		D	p
Фактор возраста	Юные 24,8	Взрослые 25,6	103	0,02	0,44
Температура воды	+24° С 25,6	+34° С 23,2	89	0,29	0,02
Фактор обучения и тренировки	До 23,8	После 20,9	87	0,19	$6 \cdot 10^{-7}$
Фактор утомления	До 25,1	После 21,6	86	0,29	0,02
Фактор голода	Фон 25,5	Голод 24,1	95	0,10	0,18
Фактор стресса	Фон 25,6	Стресс 22,0	86	0,34	0,01
Фактор гипоксии	Фон 25,4	Гипоксия 19,4	76		

Примечание (здесь и далее в табл. 1-6): D – коэффициент детерминации модели, p – уровень значимости.

Таблица 2

Результаты однофакторного дисперсионного анализа контролируемых факторов, влияющих на среднюю скорость плавания животных

Контролируемый фактор	Центроиды групп (м/мин)		Отличия групп, %	Параметры дисперсионного анализа	
	1	2		D	p
Фактор возраста	Юные 23,1	Взрослые 22,8	99	0,005	0,67
Температура воды	+24° С 22,9	+34° С 21,1	92	0,20	0,06
Фактор обучения и тренировки	До 19,7	После 20,1	102	0,03	0,43
Фактор утомления	До 22,7	После 20,9	92	0,26	0,03
Фактор голода	Фон 22,0	Голод 21,2	96	0,22	0,04
Фактор стресса	Фон 22,8	Стресс 20,1	88	0,43	0,003
Фактор гипоксии	Фон 22,3	Гипоксия 17,7	79		

Таблица 3

Результаты однофакторного дисперсионного анализа контролируемых факторов, влияющих на выносливость животных

Контролируемый фактор	Центроиды групп (ед.)		Отличия групп, %	Параметры дисперсионного анализа	
	1	2		D	p
Фактор возраста	Юные 2,8	Взрослые 5,6	198	0,29	0,0006
Температура воды	+24° С 5,3	+34° С 4,2	89	0,29	0,02
Фактор обучения и тренировки	До 4,8	После 5,2	108	0,03	0,43
Фактор утомления	До 4,3	После 1,5	35	0,25	0,025
Фактор голода	Фон 4,8	Голод 4	83	0,02	0,59
Фактор стресса	Фон 7,0	Стресс 5,7	81	0,02	0,63
Фактор гипоксии	Фон 6,2	Гипоксия 0,4	6		

На показатель выносливости (табл. 3) положительно влияют фактор обучения и тренировки и взрослый возраст животных, отрицательно – все остальные контролируемые факторы.

Суммарное время плавания (табл. 4) имеет более высокие значения у взрослых животных и резко снижается на

фоне предшествующего утомления. Суммарная дистанция проплыва (табл. 5), наиболее полно характеризующая работоспособность животных, находится под положительным влиянием факторов возраста и тренировок, и под отрицательным влиянием фактора температуры воды и предшествующего утомления.

Таблица 4

Результаты однофакторного дисперсионного анализа контролируемых факторов, влияющих на суммарную продолжительность плавания животных

Контролируемый фактор	Центроиды групп (с)		Отличия групп, %	Параметры дисперсионного анализа	
	1	2		D	p
Фактор возраста	Юные 24,0	Взрослые 44,3	185	0,23	0,003
Температура воды	+24° С 47,1	+34° С 43,7	93	0,002	0,86
Фактор обучения и тренировки	До 60,6	После 69,7	115	0,08	0,01
Фактор утомления	До 33,3	После 17,1	52	0,16	0,10
Фактор голода	Фон 40,8	Голод 43,4	106	0,002	0,86
Фактор стресса	Фон 52,6	Стресс 51,6	97	0,001	0,97
Фактор гипоксии	Фон 51,2	Гипоксия 69,6	136		

Таблица 5

Результаты однофакторного дисперсионного анализа факторов, влияющих на работоспособность (суммарная дистанция проплыва) животных

Контролируемый фактор	Центроиды групп (м)		Отличия групп, %	Параметры дисперсионного анализа	
	1	2		D	p
Фактор возраста	Юные 8,8	Взрослые 16,6	189	0,27	0,001
Температура воды	+24° C 17,7	+34° C 14,9	84	0,009	0,69
Фактор обучения и тренировки	До 19,4	После 21,6	111	0,09	0,006
Фактор утомления	До 12,7	После 6,1	48	0,17	0,09
Фактор голода	Фон 15,0	Голод 15,2	101	0,001	0,98
Фактор стресса	Фон 20,3	Стресс 17,2	85	0,02	0,58
Фактор гипоксии	Фон 19,0	Гипоксия 2,1	11		

Утомляемость имеет более высокие значения у юных животных, на фоне предшествующего утомления и стресса, при более высокой температуре воды (табл. 6). Голод, обучение и тренировки не оказывали достоверного влияния на утомляемость.

Таблица 6

Результаты однофакторного дисперсионного анализа контролируемых факторов, влияющих на утомляемость животных

Контролируемый фактор	Центроиды групп (ед.)		Отличия групп, %	Параметры дисперсионного анализа	
	1	2		D	p
Фактор возраста	Юные 22,5	Взрослые 12,1	54	0,36	0,0001
Температура воды	+24° C 16,1	+34° C 32,9	204	0,17	0,07
Фактор обучения и тренировки	До 13,5	После 15,6	116	0,04	0,28
Фактор утомления	До 21,2	После 48,8	230	0,39	0,006
Фактор голода	Фон 19,4	Голод 21,1	109	0,003	0,83
Фактор стресса	Фон 12,4	Стресс 25,2	203	0,14	0,14
Фактор гипоксии	Фон 16,6	Гипоксия 15,0	90		

Выводы

Фактор возраста существенно влияет на утомляемость (у взрослых крыс – ниже, чем у юных), выносливость и работоспособность животных (у взрослых крыс – выше) и не оказывает влияния на скоростные характеристики плавания.

Фактор температуры воды ухудшает скоростные характеристики (как максимальную, так и среднюю скорость плавания) и повышает утомляемость животных (на уровне статистических тенденций). На показатели выносливости и работоспособности, при общем негативном влиянии, повышение температуры воды не оказывает статистически достоверного влияния.

Фактор предшествующего утомления существенно снижает скоростные характеристики плавания, выносливость и работоспособность животных. В наибольшей степени это влияние проявляется в повышении утомляемости.

Фактор обучения и тренировки оказывает неоднозначное влияние на показатели кинезогидродинамического исследования. При умеренном повышении выносливости и работоспособности отмечается ухудшение скоростных характеристик плавания животных, в особенности – в отношении максимальной скорости плавания (снижение на 13%).

Факторы голода и предшествующего стресса не оказывают существенного влияния на выносливость и работоспособность животных, однако несколько ухудшают скоростные характеристики плавания.

Фактор предшествующей гипоксии вызывает практически полный срыв работоспособности. 90% животных экспериментальной группы полностью отказались от выполнения теста физической нагрузки.

Список литературы

1. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н. Методы доклинических исследований в спортивной фармакологии // Спортивная медицина. – 2013. – № 1. – С. 7-17.
2. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х., Алимкина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 15-21.
3. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н. Кинезогидродинамическая модель для оценки выносливости и работоспособности лабораторных животных // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 6-14.
4. Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б. Очерки спортивной фармакологии. Т.1. Векторы экстраполяции / под ред. Н.Н. Каркищенко и В.В. Уйба. – М., СПб.: Айсинг. – 2013. – 288 с.
5. Руководство по лабораторным животными альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М.: Профиль-2С. – 2010. – 358 с.
6. Шустов Е.Б., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Касинская Н.В. Кинезогидродинамическая оценка скоростных характеристик физической работоспособности животных в фармакологических исследованиях // Биомедицина. – 2013. – № 3. – С. 6-17.

Factors influencing the physical performance of laboratory animals in kinesis hydrodynamic studies

V.N. Karkischenko, E.B. Shustov, Yu.V. Fokin, O.V. Alimkina,
Kh.Kh. Semenov, G.D. Kapanadze

The article presents the development of conditions of standardization techniques kinesis hydrodynamic study of physical health of laboratory animals. Organization of research was built on the principle of single-factor experiment. Analyzed factors were the age of the animals, the water temperature in hydraulic canals, education and training of animals prior to tiredness, stress, starvation and hypoxia. It is shown that the optimal conditions for the implementation of this research is the use of adult female rats prior training methodology and training cycle held at a temperature of water in hydraulic canals +24°C. Preliminary hypoxic exposure causes almost a complete breakdown of health and inability to perform kinesis hydrodynamic research. Uncompensated natural processes reducing tiredness, stress and hunger cause deterioration in physical performance.

Key words: laboratory animals, biomodeling, physical performance, kinesis hydrodynamic study, factor analysis.