



Методические особенности биомедицинских исследований влияния фармакологических средств на устойчивость организма к острой общей гипотермии

Е.Б. Шустов^{1,3}, Г.Д. Капанадзе², Ю.В. Фокин², Е.Л. Матвеев²

¹ – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России, Санкт-Петербург

² – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

³ – ФГБУН «Институт токсикологии ФМБА России», Санкт-Петербург

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

Рассмотрены методические особенности формирования и изучения острой общей гипотермии у лабораторных животных – белых крыс. Выявлено, что по уровню устойчивости животных к гипотермии исходная популяция животных не однородна, и в ней выделяются «резистентные» и низко устойчивые к воздействию животные. Показатели, отражающие динамику теплового состояния животных (скорость теплонакопления или теплопотерь), по особенностям своего статистического распределения далеки от нормального и не могут быть использованы для популяционного переноса и интерпретации полученных данных. Показатели, основанные на характеристиках работоспособности животных при иммерсионном холодовом воздействии, более корректно отражают динамику компенсаторно-приспособительных процессов и могут считаться преимущественными в исследованиях по изучению специфической фригопротекторной активности новых лекарственных средств. В исследованиях с применением референсных психомоторных стимуляторов (сиднокарб, кофеин) была подтверждена специфичность разработанной экспериментальной модели.

Ключевые слова: биомедицинские исследования, гипотермия, сиднокарб, кофеин, фригопротекторы.

Введение

На современном этапе социально-экономического развития России все большую актуальность приобретают исследования, направленные на расширение возможностей человека по промышленному освоению территорий с экстремальными климато-географическими условиями, в особенности – реги-

онов Крайнего Севера. В силу этого происходит увеличение числа исследований по разработке новых лекарственных средств, действие которых направлено на уменьшение степени гипотермии, т.е. повышение переносимости человеком состояний гипотермии (фригопротекторы). В то же время, в доклинических (биомедицинских) исследованиях не

сформирован корректно апробированный блок методик, позволяющий на интегральном уровне оценивать переносимость животными экстремальных холодовых воздействий и возможность выполнения при этом различных видов деятельности.

В практике биомедицинских исследований известно несколько методов формирования общей гипотермии у лабораторных животных. К ним относятся контактные методы (обкладывание тела фиксированных животных льдом), методы воздушной гипотермии (пребывание животных в климатической камере), водного охлаждения (пребывание фиксированного животного в воде с приподнятой головой, иммерсионная гипотермия свободно плавающего животного), комбинированного воздушно-водного охлаждения (животное в климатической камере стоит в ванночке с холодной водой) [2, 9]. В многочисленных исследованиях показана высокая вариабельность теплового состояния животных в одинаковых условиях охлаждения, а также температур холодной остановки дыхания и сердечной деятельности [10].

В условиях охлаждающего воздействия необходимо разделять две принципиально важные ситуации – острую воздушную гипотермию и острую иммерсионную гипотермию, связанную с пребыванием в холодной воде. В условиях острой воздушной гипотермии у всех теплокровных животных включается универсальная защитная реакция – контрактильный термогенез, связанный с катехоламиновой мышечной дрожью, активацией липолиза в бурой жировой клетчатке, экспрессией генов разобщающих белков, снижающих КПД митохондриального окисления и утечки

энергии в нефосфорилирующих реакциях. О состоянии организма при этом можно судить по динамике теплового содержания (для человека – по динамике температуры ядра тела (Т_р) и средне-взвешенной температуры оболочки тела (СВТК), для лабораторных животных – по динамике ректальной температуры).

Известно, что для человека устойчивость к холодовому воздействию во многом определяется балансом про- и антиоксидантных систем, выраженностью кортизолового и инсулинового ответа на холодовое воздействие, интенсивностью анаэробного гликолиза, напряженностью иммунных механизмов и выраженностью астенических проявлений, состояния регуляторных механизмов организма [7].

Генетическим предиктором уровня холодовой резистентности организма может являться полиморфизм генов разобщающего белка (UCP). Действие кодированного им протеина вызывает разобщение окисления и фосфорилирования в митохондриях, в результате чего большая часть высвобождаемой при биологическом окислении энергии тратится в виде тепла. Полиморфизм гена этого белка приводит к его недостаточности у части представителей популяции людей [8]. Полиморфизм выявлен у всех трех типов разобщающего белка – UCP1 (адипоциты бурой жировой ткани), UCP2 (многие ткани, белая жировая ткань), UCP3 (миоциты скелетных мышц).

Индивидуальная устойчивость организма к холоду зависит от множества факторов, в т.ч. от возраста, пола, массы тела, количества жировой ткани и т.д. Даже при отсутствии морфологических и возрастных различий устойчивость ор-

ганизма к холоду может быть различной, например, вследствие разной интенсивности обменных процессов, лежащих в основе теплопродукции. Естественно, особое значение различия в индивидуальной реактивности животных к охлаждающему воздействию приобретают в фармакологических исследованиях, т.к. изменение холодовой резистентности тканей, уровня теплопродукции, транспорта кислорода, окислительного фосфорилирования в ключевых органах и тканях может быть также мишенью действия лекарственных средств.

Целью настоящего исследования явилось изучение методических особенностей и статистических характеристик показателей методик, позволяющих формировать у лабораторных животных стандартизированное состояние умеренной гипотермии.

Материалы и методы

Исследование проводилось на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г, полученных из филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и прошедших 14-дневный карантин. Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствовали требованиям приказа МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Животные содержались по 6 особей в вентилируемых клетках RairIsoSystem при температуре воздуха 20-22°C, относительной влажности 40-60%, световом режиме 12:12 с включением света в 8⁰⁰. Использовался полнорационный корм ПК-120 (ООО «Лабораторкорм», Москва) при свободном доступе к водопроводной питьевой воде.

Охлаждающее воздействие в разных сериях создавалось помещением фиксированных в ограничивающих подвижность пластиковые пеналы животных в климатическую камеру, поддерживающую температуру воздуха $5\pm 1^\circ\text{C}$ при влажности 75-80%, или погружением животных в десатурированную воду температурой 10-12°C. Динамика теплового состояния при воздушной гипотермии определялась ректальным электротермометром для лабораторных животных Corelle D-10 (Италия) с фиксацией показаний каждые 10 мин. В серии с иммерсионной гипотермией фиксировались только исходные и конечные данные ректальной температуры с помощью портативного электротермометра ТПЭМ-1 (Россия).

В исследовании с воздушной гипотермией животные в исходном состоянии и при достижении ректальной температуры 36°C на короткое время (до 5 мин) извлекались из климатической камеры, и с ними проводилось исследование спонтанной поведенческой активности в тесте «Открытое поле» (НПК «Открытая Наука», Москва). Для этого каждое животное по одному помещали в центр поля и включали секундомер. Фиксировали количество пересечений, стоек, заглядываний в норки, дефекаций, уринаций, грумингов в течение 3-х мин. По истечении этого времени проверяли реакцию на хлопок и захват, результат выражали в баллах. Оценивали общую двигательную активность (ОДА), поисково-исследовательскую активность (ПИА), эмоциональную лабильность (ЭЛ) и агрессивность [1, 6].

В исследовании с иммерсионной гипотермией в качестве интегральной характеристики функционального со-

стояния животных использовалась характеристика их физической работоспособности – время предельного плавания с грузом 5% от массы тела [5].

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась методами описательной статистики, дисперсионного факторного и кластерного анализов с помощью пакета прикладных программ Statistica v. 10.

Результаты и их обсуждение

В условиях воздушного охлаждения анализировались данные, отражающие динамику ректальной температуры животных. Кластерный анализ позволил разделить массив наблюдений на две неравноценные по количеству группы – стандартную (85%) и резистентную (15%). Типичные примеры температурных кривых для этих групп представлены на рис. 1.

Для обеих групп анализ индивидуальных кривых ректальной температуры позволил вычленивать две фазы динамики теплового состояния. Первая фаза – кратковременный подъем или удержание

температуры на исходном уровне, затем прогрессирующее, практически линейное ее снижение. Длительность первой фазы может отражать способность организма мобилизовать стрессовые механизмы повышения теплопродукции, что является самостоятельным показателем для анализа. Вторая фаза, скорее всего, отражает суммарную скорость теплопотерь (излучением, теплопроводением) и определяется как механизмами регуляции кровотока, так и индивидуальными характеристиками теплоизоляционных свойств шерсти животных. Линейный характер снижения ректальной температуры у животных стандартной группы во время второй фазы позволяет достоверно прогнозировать скорость развития гипотермического синдрома в условиях воздушного охлаждения. С учетом этого, регрессионным анализом по индивидуальным кривым снижения ректальной температуры может быть определено время достижения критической температуры (35°C), при которой наблюдается срыв компенсаторно-приспособительных реакций организма.

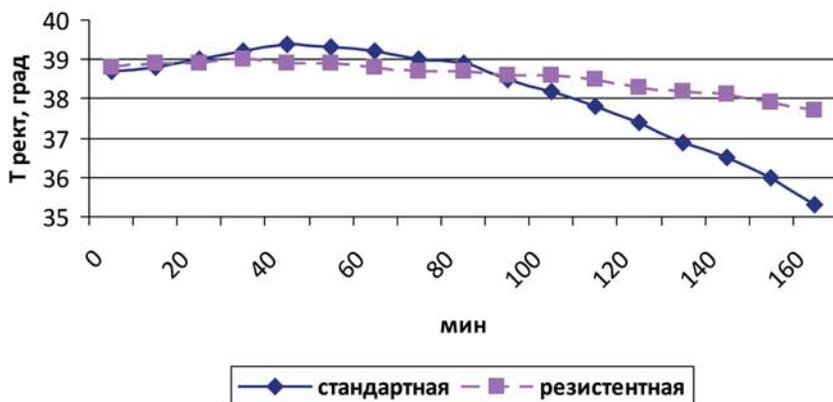


Рис. 1. Примеры типовых кривых динамики ректальной температуры крыс в ходе экспериментального воздушного охлаждения.

Для животных резистентной группы характерны более отчетливые механизмы сохранения теплосодержания в организме, отсутствие избыточной стрессиндуцированной реакции повышения теплопродукции, длительный период стабилизации температуры тела. Можно предположить, что эффект действия фригопротекторных лекарственных средств на животных стандартной и резистентной групп будет существенно отличаться, т.к. дальнейшее повышение уровня холодовой резистентности у таких животных будет требовать реализации иных механизмов действия [11]. Животные этой группы вносят существенный разброс в среднегрупповые данные, снижая статистическую достоверность полученных результатов. Т.к. различия между стандартной и резистентной группами выявляются уже в начале холодового воздействия, то появляется возможность в фоновом исследовании провести предварительную оценку типа холодового реагирования лабораторных животных и исключить животных резистентной группы из участия в исследованиях, направленных на оценку специфической фригопротекторной активности фармакологических средств.

В рассмотренной модели воздушной гипотермии, судя по тому, что не была выявлена группа низкоустойчивых животных, степень холодового воздействия не является экстремальной. Для выявления низкоустойчивых животных необходимо усиление воздействия, что может быть сделано за счет снижения теплоизоляционных свойств шерсти животных. Так, Застенская И.А. [4] для усиления воздушного холодового воздействия использовала периодическое орошение животных водой с температурой 5°C.

Количественными характеристиками описанной модели воздушной гипотермии могут быть: доля животных с резистентным типом реагирования на холодовую нагрузку (D, %), длительность первой фазы компенсаторно-приспособительных реакций (L1, мин), максимальный прирост ректальной температуры (T1, град), средняя скорость теплопотерь во второй фазе компенсаторно-приспособительных реакций (CT, град/час), длительность второй фазы (до достижения ректальной температуры 35°C, фактически или расчетно по результатам регрессионного анализа, мин). Проведенный статистический анализ этих показателей на нормальность их распределения показал, что даже для предварительно сформированной группы со стандартным типом реагирования животных на холодовое воздействие они *не соответствуют* критериям распределения случайной величины, и, следовательно, результаты этой модели не подлежат популяционному переносу и могут анализироваться только в рамках конкретного исследования. В исследованиях с применением фармакологических средств достоверность различий между группами должна определяться непараметрическими методами.

Во время пребывания животных во второй фазе гипотермии (прогрессирующее снижение температуры) в зависимости от конкретных целей исследования допускается кратковременное (до 5 мин) извлечение животных из климатической камеры для выполнения с ними экспериментальных методик (например, тест «Открытое поле»). Как показали наши исследования, за такой интервал времени тепловое состояние животных не успевает измениться, и с

ними может быть продолжено исследование с воздушной гипотермией. При этом, в целях максимальной стандартизации исследований, это желательно делать при достижении показателей ректальной температуры значения 36°C. Данные, характеризующие особенности поведенческой активности животных в тесте «Открытое поле» при гипотермии, представлены в табл. 1.

В условиях выраженной гипотермии (при достижении фиксированных значений ректальной температуры 36°C) поведение животных характеризуется резким угнетением двигательной и поисково-исследовательской активности, повышением агрессивности и эмоциональной лабильности. Такое резкое

(в 9 раз) снижение двигательной активности животных в условиях выраженной гипотермии свидетельствует о невозможности проведения с ними каких-либо нагрузочных двигательных тестов, как маркеров функционального состояния и работоспособности.

Для оценки фригопротекторной активности препаратов и их влияния на работоспособность была разработана модель острой иммерсионной гипотермии (плавание крыс в воде 10-12°C с грузом 5% от массы тела). Выбор температуры воды и отягощения был сделан на основании результатов предварительной серии экспериментов (рис. 2, табл. 2). Главными критериями выбора служили достижение умеренной ги-

Таблица 1
Влияние гипотермии на поведенческие характеристики крыс в тесте «Открытое поле» (средние по группе, $M \pm m$, $n=40$)

| Условия измерения | Общая двигательная активность, с | Поисково-исследовательская активность, с | Агрессивность, балл | Эмоциональная лабильность, балл |
|-------------------|----------------------------------|--|---------------------|---------------------------------|
| Термокомфортные | 109,3±4,1 | 14,1±0,9 | 0,9±0,2 | 1,7±0,2 |
| Гипотермия | 13,1±2,1* | 1,7±0,4* | 3,1±0,4* | 3,6±0,3* |

Примечание: * – отличия от термокомфортных условий достоверны, $p < 0,001$.

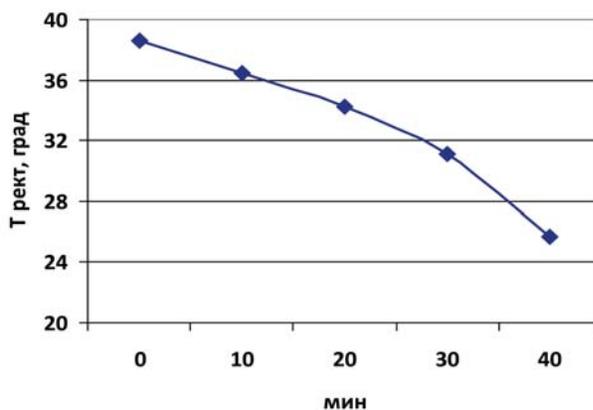


Рис. 2. Динамика ректальной температуры крыс при плавании в воде температурой 12-14°C.

Отработка методики воздействия (данные предварительных серий экспериментов)

| Номер серии | Масса груза, % | Температура воды, °С | Предельная продолжительность плавания, мин |
|-------------|----------------|----------------------|--|
| 1 | 0 | 13-14 | 103±24 |
| 2 | 2,5 | 13-14 | 80±15 |
| 3 | 4 | 13-14 | 50±11 |
| 4 | 5 | 13-14 | 22±6 |
| 5 | 5 | 10-12 | 17±2 |
| 6 | 8 | 10-12 | 6±4 |
| 7 | 10 | 10-12 | 3±2 |

потерии, оптимальная продолжительность плавания животных и минимальный разброс показателей в группе. Время плавания животных измерялось от начала погружения до полного прекращения двигательной активности (гибели). Таким образом, время плавания характеризует одновременно как уровень работоспособности, так и холодовую резистентность животных.

Представленные на рис. 2 данные показывают, что для формирования умеренной иммерсионной гипотермии достаточно пребывания в воде температурой 12-14°C (свободное плавание без груза) на протяжении 10-20 мин. Однако для оценки работоспособности животных при этом необходимо использование дополнительного утяжеления, обеспечивающего отрицательную плавучесть и вынуждающего животных активно работать для сохранения своей жизни. Возникающее при этом перемешивание воды рядом с телом усиливает теплоотведение, что способствует более четкому формированию состояния гипотермии.

Данные табл. 2 позволили выбрать в качестве оптимального следующий режим иммерсионной гипотермии: темпе-

ратура воды 10-12°C, груз 5% от массы тела животных. Использование более тяжелых грузов не целесообразно, т.к. при применении фармакологических средств стимулирующего действия в силу «эффекта малой базы» преобладать будут эффекты в отношении работоспособности животных (выраженная гипотермия еще не успеет развиваться), а исследования с использованием более малых грузов становятся не оптимальными в силу высокой продолжительности исследования.

Предварительные серии исследования показали также необходимость четкого выполнения процедуры десатурации при подготовке воды (при низкой температуре ее способность удерживать воздух выше, и во время плавания животных в воде без десатурации на их шерсти начинают скапливаться пузырьки воздуха, что обеспечивает животным как дополнительную плавучесть, так и теплоизоляцию).

Количественными параметрами данной методики являются время плавания животных с грузом, а также индекс устойчивости животных к холодовому воздействию. Статистический анализ показал, что в заданных условиях им-

мерсионной гипотермии (температура воды 10-12°C, груз 5% от массы тела) показатель времени плавания животных имеет параметры распределения, близкие к нормальному. Следовательно, полученные с использованием данной модели результаты могут подвергаться популяционному переносу, а при проведении исследований фригопротекторной активности лекарственных средств могут применяться как параметрические, так и непараметрические методы статистических оценок и моделирования.

Для определения индекса устойчивости строилась кумулятивная кривая (рис. 3) распределения предельного времени плавания, точки перегиба которой, в соответствии с принципом S-шкалирования, являются границами диапазонов устойчивости животных. График кумулятивной кривой, построенной

на результатах тестирования животных контрольной группы (n=40), показывает временные интервалы плавания, характеризующие уровень устойчивости животных к острой иммерсионной гипотермии (до 5 мин – низкая, 5-10 мин – средняя, более 10 мин – высокая).

Индекс устойчивости (IU) вычислялся по формуле:

$$IU = \frac{a + 2b}{2(a + b + c)},$$

где a – количество среднеустойчивых, b – высокоустойчивых и c – низкоустойчивых животных в группе.

В фармакологических исследованиях индекс устойчивости, близкий к «единице», указывает на максимальную активность введенной дозы препарата, обеспечивающей максимальное повышение холодовой устойчивости животных (максимальная продолжительность

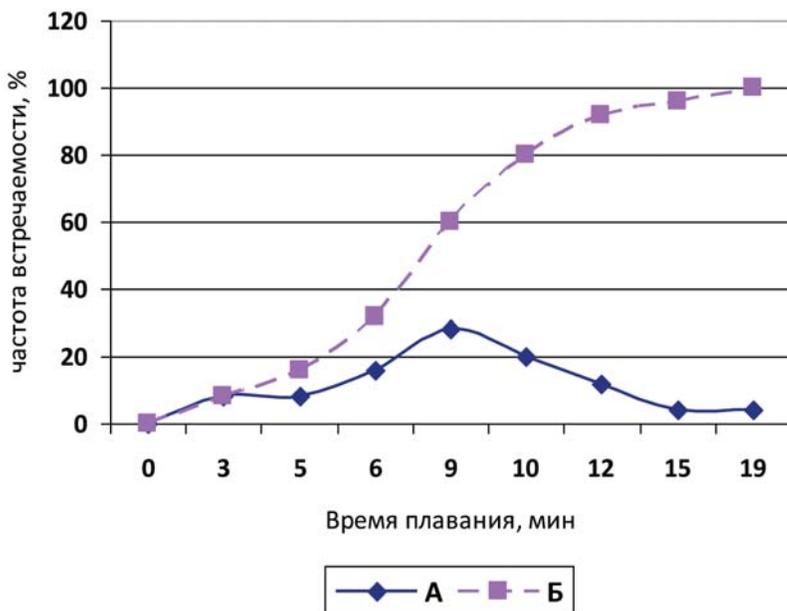


Рис. 3. Частотные кривые распределения времени предельного плавания животных в воде температурой 10-12°C и грузом 5% от массы тела. А – кривая распределения, Б – кумулятивная кривая.

плавания всех животных экспериментальной группы).

В качестве примера применения разработанной модели иммерсионной гипотермии в фармакологических исследованиях приведем результаты оценки фригопротекторной активности одного из стандартных (референсных) препаратов для этого вида фармакологической активности – сиднокарба. Фрагмент исследования спланирован как определение зависимости «доза-эффект». Препарат исследовался в широком диапазоне доз (от 0,15 до 1,5 мг/кг) при внутрижелудочном зондовом введении в 0,5 мл р-ра. Введение препарата осуществлялось за 1 ч до начала холодового воздействия. Контрольной группе вводили физ. р-р в эквивалентном количестве. Иммерсионная гипотермия создавалась погружением животных в предварительно десатурированную воду температурой 10-12°C. Регистрировалось время предельного плавания животных с грузом 5% от массы тела, зафиксированным на корне хвоста.

Зависимость «доза-эффект» для сиднокарба в графическом виде представлена на рис. 4.

Анализ зависимости «доза-фригопротекторный эффект» показывает, что сиднокарб положительно влияет на работоспособность животных в условиях гипотермии в относительно узком диапазоне доз (от 0,075 до 0,90 мг/кг). Наибольшая продолжительность плавания отмечается при введении препарата в дозах 0,15 мг/кг (177%) и 0,75 мг/кг (163%). Индекс устойчивости составил 0,92 и 0,83 ед. соответственно. Вероятно, высокий защитный эффект сиднокарба в отношении физической работоспособности животных в условиях гипотермии связан как с его непосредственным влиянием на физическую работоспособность, так и со способностью стабилизировать на определенное время тепловой статус организма.

Механизмы, приводящие к повышению теплопродукции на фоне сиднокарба, хорошо изучены. Это повышение

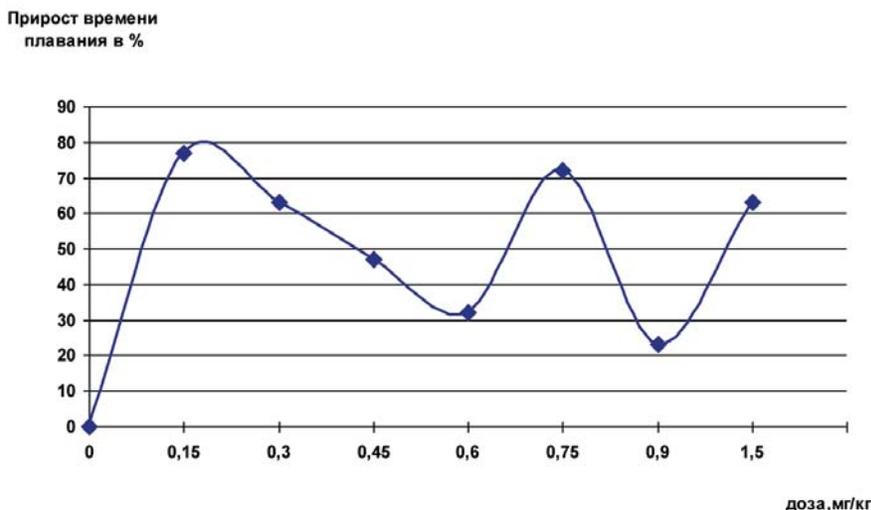


Рис. 4. Кривая «доза-эффект» для фригопротекторного действия сиднокарба.

тонуса симпатoadреналовой системы, активация липолиза, нарастание уровня свободных жирных кислот, которые обладают разобщающим действием на уровне митохондрий, прямое действие на терморегуляторный центр [2].

Для проверки специфичности модели было выполнено аналогичное исследование другого известного психомоторного стимулятора – кофеина, который вводился лабораторным животным в дозах 1-100 мг/кг. Исходя из известной способности кофеина, кроме возбуждения ЦНС, стимулировать периферический кровоток и устранять спазм мелких мышечных сосудов, можно предположить, что, в отличие от сиднокарба, кофеин будет усиливать теплопотери организма в холодной воде и, следовательно, не оказывать защитного эффекта в тесте плавания животных в холодной воде. Графически выявленные закономерности зависимости «доза-фригопротекторный эффект» для кофеина отражены на рис. 5.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что кофеин в исследованной экспериментальной модели только в одной, самой низкой, дозе 1 мг/кг проявляет слабый позитивный эффект, связанный с умеренной стимуляцией ЦНС лабораторных животных. Увеличение дозы препарата ведет не только к повышению его возбуждающего действия, но и к усилению периферических эффектов препарата, сопровождающихся, предположительно, усилением теплоотдачи организма и ухудшением переносимости гипотермии. В максимально эффективной дозе 1 мг/кг индекс защиты для кофеина составил 0,6 ед. (в контроле – 0,5 ед.), что является статистически недостоверным. Сопоставление эффектов, выявленных с помощью разработанной экспериментальной модели для сиднокарба и кофеина, позволяет считать модель специфичной для оценки работоспособности животных в условиях гипотермии.

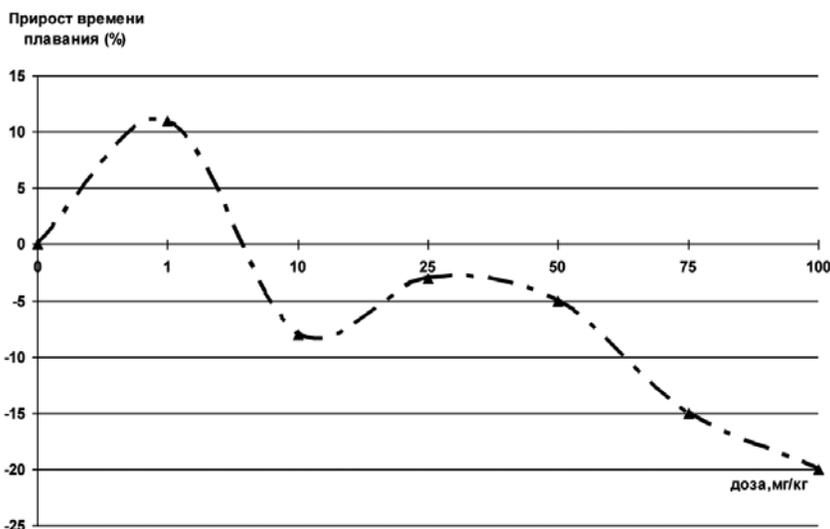


Рис. 5. Кривая «доза-фригопротекторный эффект» для кофеина.

Заключение

Проведенный анализ методов формирования и оценки гипотермических состояний у лабораторных животных (белые крысы) показал, что в интересах доклинического изучения специфической фригопротекторной активности новых лекарственных средств наиболее перспективным может считаться метод иммерсионной гипотермии – плавание животных с грузом 5% от массы тела в предварительно десатурированной воде температурой 10-12°C. Такая масса утяжеления обеспечивает длительность плавания животных, достаточную для формирования умеренной гипотермии.

Применение разработанной модели иммерсионной гипотермии в фармакологических исследованиях для выявления специфической фригопротекторной активности лекарственных средств продемонстрировано в исследованиях с применением широко используемых референсных препаратов психостимулирующего действия – сиднокарба и кофеина. Показано, что способность кофеина интенсифицировать периферический кровоток полностью устраняет его фригопротекторное действие в описанной модели, что может свидетельствовать о ее специфичности.

Список литературы

1. *Абуладзе Г.В.* Изучение эмоциональности крыс и мышей в поведенческих и фармакологических экспериментах методом «открытое поле» // Известия АН ГрССР. Серия «Биология». 1983. Т. 9. № 3. С. 156-165.
2. *Барер А.С., Лакота М.Г., Островская Г.З., Шапков В.С.* Фармакологическая коррекция холодовых воздействий на человека // Косм. биол. и мед. 1988. № 6. С. 66-73.
3. *Гулиева С.А.* О методах охлаждения, применяемых в условиях эксперимента // Азерб. мед. журнал. 1979. № 3. С. 44-50.

4. *Застенская И.А.* Метаболизм миокарда у крыс в условиях гипотермии // Здоровоохранение Беларуси. 1989. № 2. С. 28-31.
5. *Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б.* Очерки спортивной фармакологии. Т. 1. Векторы экстраполяции. - М., СПб.: Айсинг. 2013. 288 с.
6. *Маркель А.Л.* К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте «открытого поля» // Журнал высшей нервной деятельности. 1981. Т. 31. № 4. С. 301-306.
7. *Новиков В.С., Сороко С.И.* Физиологические основы жизнедеятельности человека в экстремальных условиях. - СПб.: Политехника-принт. 2017. 476 с.
8. *Новиков В.С., Шанин В.Ю., Козлов К.Л.* Общая патофизиология. - СПб.: Профессора медицинских академий. 2000. 288 с.
9. *Северина Т.Г., Кубарко А.И.* Влияние острой иммерсионной гипотермии на температуру тела и активность лизосомальных ферментов печени у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс // Мед. журнал. 2009. Т. 28. № 2. С. 112-115.
10. *Слепчук Н.А., Иванов К.П.* Температурные изменения в различных органах при иммерсионной гипотермии // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1992. Т. 28. № 12. С. 127-131.
11. *Тимочко М.Ф., Алексеева Я.К., Бобков Ю.Г.* О некоторых биохимических механизмах жизнеобеспечения высокорезистентных животных // Пат. физиол. и эксп. терапия. 1991. № 2. С. 28-29.

References

1. *Abuladze G.V.* Izuchenie ehmcional'nosti krys i myshej v povedencheskih i farmakologicheskikh ehksperimentah metodom «otkrytoe pole» // Izvestiya AN GrSSR. Seriya «Biologiya». 1983. T. 9. № 3. S. 156-165.
2. *Barer A.S., Lakota M.G., Ostrovskaya G.Z., Shashkov V.S.* Farmakologicheskaya korrekciya holodovyh vozdeystvij na cheloveka // Kosm. biol. i med. 1988. № 6. S. 66-73.
3. *Gulieva S.A.* O metodah ohlazhdeniya, primenyaemyh v usloviyah ehksperimenta // Azerb. med. zhurnal. 1979. № 3. S. 44-50.
4. *Zastenskaya I.A.* Metabolizm miokarda u krys v usloviyah gipotermii // Zdravooхранenie Belarusii. 1989. № 2. S. 28-31.
5. *Karkischenko N.N., Ujba V.V., Karkischenko V.N., Shustov E.B.* Ocherki sportivnoj

- farmakologii. T. 1. Vektory ehkstrapolyacii. - M., SPb.: Ajsing, 2013. 288 s.
6. **Markel' A.L.** K ocenke osnovnyh harakteristik povedeniya krysa v teste «otkrytogo polya» // Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti. 1981. T.31. № 4. S. 301-306.
 7. **Novikov V.S., Soroko S.I.** Fiziologicheskie osnovy zhiznedeyatel'nosti cheloveka v ehkstremal'nyh usloviyah. - SPb.: Politehnika-print. 2017. 476 s.
 8. **Novikov V.S., Shanin V.Yu., Kozlov K.L.** Obshchaya patofiziologiya. - SPb.: Professora medicinskih akademij. 2000. 288 s.
 9. **Severina T.G., Kubarko A.I.** Vliyanie ostroj immersionnoj gipotermii na temperaturu tela i aktivnost' lizosomal'nyh fermentov pecheni u ustojchivyh i neustojchivyh k holodu krysa // Med. zhurnal. 2009. T. 28. № 2. S. 112-115.
 10. **Slepchuk N.A., Ivanov K.P.** Temperaturnye izmeneniya v razlichnyh organah pri immersionnoj gipotermii // Fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova. 1992. T. 28. № 12. S. 127-131.
 11. **Timochko M.F., Alekseeva Ya.K., Bobkov Yu.G.** O nekotoryh biohimicheskikh mekhanizmah zhizneobespecheniya vysokorezistentnyh zhivotnyh // Pat. fiziol. i ehksp. terapiya. 1991. № 2. S. 28-29.

Methodical features of biomedical research of the influence of pharmacological agents on the resistance of the organism to acute general hypothermia

E.B. Shustov, G.D. Kapanadze, Yu.V. Fokin, E.L. Matveyenko

Methodical features of the formation and study of acute general hypothermia in laboratory animals – white rats are considered. It was revealed that the initial animal population is not homogeneous by the level of resistance of animals to hypothermia, and “resistant” and low resistant to animals are distinguished in it. Indicators reflecting the dynamics of the thermal state of animals (the rate of heat accumulation or heat loss), by the features of their statistical distribution are far from normal and cannot be used for population transfer and interpretation of the data. The indices, based on the performance characteristics of animals under immersion cold exposure, more correctly reflect the dynamics of compensatory-adaptive processes and may be considered preferable in studies on the specific frigoprotective activity of new drugs. In studies using reference psychomotor stimulators (sydnokarb, caffeine), the specificity of the developed experimental model was confirmed.

Key words: biomedical research, hypothermia, sydnokarb, caffeine, frigoprotectors.