

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ И ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ИНТЕРЕСАХ АРКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

М. В. Волкова , С. А. Бирюков

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия

Освоение арктических территорий неразрывно связано с возникновением медико-биологических проблем. Необходима разработка медицинских изделий и лекарственных средств для профилактики или оказания неотложной помощи в условиях Арктики. В обзоре представлен анализ дополнительных требований к лекарственным препаратам, предназначенным для использования в условиях Крайнего Севера, и аналитическое сравнение методов моделирования экстремальных состояний у животных. Обозначены медико-биологические проблемы региона и акцентировано внимание на основных направлениях арктической фармакологии: выборе лекарственной формы, использовании криопротекторов и разработке адаптогенов. Основное внимание уделено поиску информации по моделированию экстремальных факторов окружающей среды в экспериментах на животных, так как это является ключевым звеном в доклинических исследованиях препаратов для арктической медицины. Показаны актуальные направления дальнейшей работы для развития данного направления: разработка критериев оценки состояния гипоксии и гипотермии, разработка методов моделирования на крупных лабораторных животных, совершенствование технического оснащения.

Ключевые слова: гипоксия, гипотермия, фотопериодизм, экстремальные факторы внешней среды, исследования на животных

Вклад авторов: М. В. Волкова — разработка концепции, сбор и анализ литературы, подготовка рукописи; С. А. Бирюков — редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: работа выполнена с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской организации (2013 г.) и последующих ее пересмотров.

 **Для корреспонденции:** Марина Викторовна Волкова
Институтский пер., д. 9, г. Долгопрудный, 141701, Россия; biotech.volkova@list.ru

Статья получена: 06.12.2022 **Статья принята к печати:** 25.01.2023 **Опубликована онлайн:** 26.02.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.004

METHODOLOGICAL ASPECTS OF DRUG DEVELOPMENT AND PRECLINICAL RESEARCH IN THE INTERESTS OF ARTIC MEDICINE

Volkova MV , Biryukov SA

Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Moscow, Russia

There is an inextricable link between exploration and development of the Arctic territories and emergence of associated problems of medical and biological nature. It is necessary to design and develop emergency care and prevention drugs and medical devices for use in the Arctic. This review presents an analysis of additional requirements for drugs intended for the Far North and compares methods of modeling extreme conditions in animals. We outline medical and biological problems of the region highlight key areas of Arctic pharmacology: choice of pharmaceutical form, use of cryoprotectants and design of adaptogens. The study mainly revolves around the search for information on modeling extreme environmental factors in animal experiments, as this is a key stage in preclinical studies of drugs for the Arctic medicine. We present the relevant directions of further work promoting the subject: development of the hypoxia and hypothermia assessment criteria, development of modeling methods employing large laboratory animals, improvement of the equipment used.

Keywords: hypoxia, hypothermia, photoperiodism, extreme environmental factors, animal research

Author contribution: Volkova MV — development of the concept, collection and analysis of the published papers, manuscript authoring; Biryukov SA — manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the work was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki.

 **Correspondence should be addressed:** Marina V. Volkova
Institutsky per., 9, Dolgoprudny, 141701, Russia; biotech.volkova@list.ru

Received: 06.12.2022 **Accepted:** 25.01.2023 **Published online:** 26.02.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.004

Почти 18% территории Российской Федерации находятся в Арктическом регионе (АР): от земли Франца-Иосифа до островов Врангеля и Геральд, что составляет около трети всей площади шельфа Арктики. АР значим для России, так как через полярные территории проходят важные транспортные коридоры. Одним из направлений освоения территорий значится добыча углеводородов. В совокупности с другими факторами Арктика имеет глобальное геополитическое значение [1–4].

Постоянно проживающие в регионе люди обеспечивают освоение АР: способствуют комплексному социально-экономическому развитию, проведению научных исследований, формированию инфраструктуры и обеспечению экологической безопасности [3–5]. В то же время, освоение территорий Крайнего Севера неразрывно связано с возникновением медико-физиологических проблем, обусловленных воздействием на организм

человека суровых природно-климатических условий: холода, повышенной электромагнитной активности, радиации, специфического фотопериодизма и т. д. [4, 6–8]. С целью разработки эффективных мер профилактики и лечения была выделена область медицинской науки — арктическая медицина, которая нацелена на выявление и изучение внутренних механизмов адаптации организма человека, выявление особенностей течения различных заболеваний и разработку методов их лечения [9].

При подготовке настоящего обзора использованы ресурсы поисковых систем PubMed и Google Scholar. Предпочтение было отдано источникам, опубликованным за последние 10 лет в базах данных Scopus и Web of Science. Поиск литературы для контент-анализа проведен по вышеуказанным ключевым словам.

Цель обзора — рассмотреть дополнительные требования к лекарственным препаратам (ЛП),

предназначенным для использования в условиях Крайнего Севера, и аналитически сравнить методы моделирования экстремальных состояний у животных.

Медико-биологические проблемы арктического региона

На жизнедеятельность человека оказывают значительное влияние климатогеографические и психофизиологические факторы АР. Это приводит к вовлечению всех физиологических резервов организма и сложной перестройке гомеостатических систем [10–12].

Под действием экстремально низких температур окружающей среды возрастают потребности организма в обогреве, увеличивается теплопродукция тела, что приводит к снижению коэффициента полезного действия физической работы [13]. Происходят изменения в обмене веществ: повышается потребность в белках и жирах, а также в жирорастворимых витаминах, таких как А, D и Е [6, 13]. В связи с этим, появляются особые требования к питанию и режиму труда и отдыха [14].

Кроме того, в условиях АР развивается тканевая гипоксия, которая может иметь разные физико-химические или физиологические причины (изменение структуры мембран эритроцитов, осуществляющих доставку кислорода к тканям и т. д.) [14–15]. Высокий кислородный запрос тканей влияет на дыхательную систему организма, вызывая адаптационные изменения органов дыхания для улучшения газообмена: увеличение площади альвеолярной поверхности легких и объема легочных капилляров [14].

Влияние низких температур и разреженной атмосферы Арктики необходимо рассматривать в совокупности, так как не исключается их взаимопотенцирующий эффект [15]. В частности, холод способствует сужению сосудов и снижению интенсивности кровотока, в первую очередь, к коже. Это приводит к локальному охлаждению рук и ног, лица и верхнего дыхательного пути, что является причиной снижения физической работоспособности и изменения функций внешнего дыхания [16–17]. Кроме того, гипоксия в сочетании с холодовым стрессом способствует развитию ишемических изменений кардиомиоцитов, оказывая влияние на сердечно-сосудистую систему [15].

Наравне с воздействием низких температур существенное влияние на физиологическое состояние человека в АР оказывает фотопериодизм [18–19]. Почти все клеточные функции и физиологические системы организма подвержены циркадному контролю, способствующему оптимальной активности организма, энергосбережению и поддержанию внутреннего гомеостаза [20]. Циркадным ритмом (ЦР) управляют внутренние «механизмы», но он синхронизируется с внешними стимулами, основной из которых — свет определенного спектра и интенсивности [21–22]. Для полярной зоны характерны недостаток ультрафиолета и выраженная сезонная асимметрия. Световой стресс в совокупности с холодом вызывают сдвиги в функционировании гормональных систем организма [21, 23]. Рассогласование между ЦР и внешними сигналами может приводить к развитию метаболических, иммунных и психических заболеваний, а также усугублению заживления ран, снижению детоксикации организма и т. д. [24]. Происходит развитие десинхронозов, характеризующихся снижением физической и умственной работоспособности, нарушением сна и непредсказуемостью поведения человека [10, 13, 25].

При изучении факторов АР изменение ЦР организма необходимо рассматривать в совокупности с гипотермией.

Температура тела повышается днем и снижается ночью, что обеспечивает оптимальное течение физиологических процессов. Различные заболевания и особенности их течения тоже связаны с нарушением температуры тела, например, высокая температура, как правило, свидетельствует о значительной системной воспалительной реакции [26].

В АР световой эффект, обусловленный прямыми и отраженными от снежного покрова солнечными лучами, выступает в качестве агрессивного фактора. Воздействие света видимого и ультрафиолетового спектра усугубляется малым углом падения. Без профилактики и средств защиты происходит ожог конъюнктивы и роговой оболочки глаза, называемый снежной слепотой [27].

Другой медико-биологической проблемой АР является широкое распространение инфекционных заболеваний, в том числе природно-очагового характера (сибирская язва и др.). Это обусловлено как большим количеством кровососущих двукрылых в летний период, так и скученным размещением людей, большую часть времени пребывающих в искусственной среде [6, 28]. Немалую роль играет и низкое качество воды. Талые воды содержат тяжелые металлы, органические загрязнители и различных микроорганизмов. При длительном употреблении такая вода нарушает водно-солевой обмен в организме, способствуя вымыванию солей и замедлению восстановления тканей при травмах [29].

Отдельно следует выделить заболевания, которые в АР распространены больше, чем в средней полосе [1]. Заживление различных травм кожи и мягких тканей, в частности обморожений, осложнено наличием тканевой гипоксии и развитием ишемически-реперфузионного синдрома в следствие общего переохлаждения. Переохлаждение приводит к увеличению тяжести травм путем нарушения плазматической коагуляции и функций тромбоцитов, иммуносупрессии, повышению риска развития сепсиса. Повреждение местных сосудов увеличивает гипоксию в травмированных тканях, что препятствует синтезу коллагена и ангиогенезу и значительно снижает темпы регенерации тканей в целом. В результате, хирургическое вмешательство в сроки, установленные принятыми стандартами лечения, может быть отложено. Это увеличивает риск смерти тяжелораненого пациента [30–31].

Экстремальные климатические условия, низкая плотность населения, удаленность и труднодоступность районов сказываются на организации систем оказания медицинской помощи (МП), в том числе при спасении людей, пострадавших в чрезвычайных ситуациях [30]. Поэтому разработка новых методов лечения также необходима в связи с особенностями оказания МП.

Осуществление большинства медицинских манипуляций невозможно в условиях холодного климата. Поэтому создание современного оборудования, медицинских изделий (МИ) и ЛП, пригодных для применения в АР, стратегически важно. Одним из ключевых условий становится устойчивость к воздействию экстремально низких температур. В качестве дополнительных можно отметить устойчивость к влажности и радиации, ветровым нагрузкам и осадкам, а также стабильность при множественных циклах воздействия неблагоприятных факторов.

Применение ЛП и МИ для лечения заболеваний в АР можно разделить на три категории. В первую группу входят ЛП, необходимые для оказания первой помощи при

жизнеугрожающем состоянии. Использование таких ЛП и МИ, в частности для обезбоживания, остановки массивных кровотечений или предотвращения асфиксии, происходит на открытом воздухе в наиболее агрессивных условиях. Во вторую группу можно объединить ЛП, предназначенные для использования в условиях ограниченного объема помещений, например медпункта. Воздействие ветров, осадков и низкой температуры в этом случае минимально и происходит преимущественно при транспортировке. В эту группу помимо ЛП для оказания первой помощи могут быть включены и профилактические средства. Третья группа объединяет в себе ЛП, МИ и, потенциально, может включать клеточные продукты, применяемые в условиях медицинского стационара вне АР. Выделение данной группы из всего спектра разработанных ЛП обусловлено сочетанным воздействием факторов Крайнего Севера на организм, которое приводит к усложнению патогенеза заболеваний.

Лекарственные препараты для профилактики и лечения

Для профилактики заболеваний и оказания первой помощи пострадавшим на Севере нужен определенный набор ЛП и МИ. Можно выделить следующие группы необходимых ЛП: сердечно-сосудистые препараты, анальгетики и спазмолитики, антибиотики и противовирусные препараты, ЛП для оказания помощи при респираторных заболеваниях и отморожениях, адаптогены и профилактические препараты (например, для защиты глаз), витамины.

При выборе конкретных ЛП необходимо учитывать ряд факторов, ограничивающих их применение в АР. Многие ЛП нельзя замораживать. Жидкие лекарственные формы (ЛФ) рассчитаны преимущественно на использование при положительной температуре окружающей среды. На стабильность ЛП может оказывать влияние транспортировка, которую проводят на сотни километров зачастую без использования специально оборудованного транспорта. Низкие температуры, высокая влажность, яркое освещение и механические воздействия, а также неконтролируемые циклы размораживания/замораживания непосредственно влияют на качество ЛП. Необходимо также учитывать возможное усиление побочных реакций ЛП на организм.

Наиболее удобными в применении остаются твердые и мягкие ЛФ. Воздействие низких температур приводит к повышению хрупкости ЛФ, нарушению целостности пленочной оболочки таблеток и капсул. Различные пластыри и повязки под воздействием низких температур могут терять клейкие и функциональные свойства. При оказании МП на месте их применение сильно ограничено из-за наличия многослойной одежды. Использование порошков и гранул для приготовления жидких форм может быть затруднено.

Для оказания первой помощи наиболее эффективны инъекционные ЛП (например, обезболивающие). Они менее устойчивы к многократным циклам размораживания/замораживания. С целью сокращения времени разморозки и/или предотвращения замерзания, а также защиты активного компонента от деградации могут быть использованы криопротекторы: спирты, полимерные соединения и др. [32]. Криопротектор должен быть не токсичным, не накапливаться в организме и быстро выводиться из него, чтобы предотвратить развитие побочных эффектов [33]. Другим важным требованием является отсутствие отрицательного влияния на активное вещество.

Одним из перспективных криопротекторов может быть пропиленгликоль — многоатомный спирт, полностью метаболизирующийся в организме [33–34]. На сегодняшний день его используют в качестве вспомогательного вещества в ЛП диазепама (200 мг пропиленгликоля на 1 мл препарата, что составляет 19% от объема) и других для внутримышечного или внутривенного введения. Предварительные исследования показали, что добавление к анестетику пропиленгликоля в концентрации менее 40% обеспечивало снижение температуры замерзания до значений ниже минус 25 °С. При этом отсутствовал негативный эффект пропиленгликоля на эффективность активного компонента (неопубликованные данные).

Помимо совершенствования имеющихся ЛП, разрабатываются адаптогены — биологически активные вещества растительного или животного происхождения, предназначенные для холодовой и когнитивной адаптации организма к экстремальным условиям и повышению физических возможностей. Разработка адаптогенов является сложной задачей: отсутствует конкретная фармакологическая мишень, необходимо комплексное действие на различные органы и системы. Кроме того, существует проблема, что препараты данной группы отличаются по своей активности в зависимости от производителя [35].

Только малое количество ЛП и МИ выпускается специально для использования в условиях Арктики. Это связано с тем, что к данным препаратам предъявляют дополнительные требования по оценке возможности их применения в условиях сочетанного действия экстремальных внешних факторов.

Моделирование экстремальных условий в экспериментах на животных

Оценить *in vitro* стабильность ЛП, как и МИ, после воздействия агрессивных факторов, присущих Крайнему Северу, можно путем испытаний на климатических стендах с последующим использованием современных физико-химических и биохимических методов.

Возможности проведения исследований *in vivo* сильно ограничены. Требуются разработка и внедрение моделей, позволяющих оценивать функции сердечно-сосудистой и нервной, эндокринной и иммунной систем организма, а также внешнего дыхания. Такие исследования позволили бы регулировать адаптационные возможности человека в условиях АР [4, 36].

Фактором, значительно ограничивающим работоспособность, является гипоксия. Экспериментально установлено, что дыхание газовой смесью с 10% кислорода приводит к изменениям в легочной вентиляции уже в первые минуты: гипервентиляция и возрастание минутного объема дыхания являются наиболее ранними компенсаторными механизмами [37]. Поэтому первоочередными условиями для изучения адаптационных возможностей организма являются эксперименты в условиях гипоксической гипоксии, связанной с изменением барометрического давления вдыхаемого воздуха или понижением процентного содержания кислорода в воздухе [38]. Исследования преимущественно проводят на грызунах, которых помещают в гермокамеры различного объема с заданным уровнем разрежения атмосферы или газовой смеси. Тем не менее для разных моделей отсутствует единый методический подход для оценки выраженности созданного гипоксического состояния. Использование

Таблица 1. Способы моделирования гипотермии у грызунов

Вид	Способ	$t_{\text{внеш}}^{\circ}\text{C}$	τ	N	$t_{\text{рект}}^{\circ}\text{C}$	Дополнительные факторы	Ссылка
Мыши	контактный (метал. пластина)	18	8 ч	1	33	наркоз	42
Крысы	холодная вода	12–14	10–20 мин	1	34–35	фиксация	41
	гермокамера	4–6	160 мин	1	36–38	фиксация, влажность 75–80%	
Крысы	гермокамера	1–2	3,5–4 ч	1	14–18	гипоксия (камера 5л)	43
Крысы	гермокамера	2–6	2 суток	10	36–37	гипоксия (15% O_2)	44
Крысы	гермокамера	минус 25	3–9 ч	1	30	нет	45
Крысы	гермокамера	4–6	14 суток	группы	33	гипоксия (30–50 мг/кг NaNO_2), влажность 75–80%, стрессовые факторы (свет, звук, огранич-е корма)	23

Примечание: $t_{\text{внеш}}$ — температура окружающей среды; τ — время содержания в имитируемых экстремальных условиях; N — количество животных, одновременно находившихся в имитируемых условиях (в одной клетке в случае использования гермокамер; группы — точное количество животных в одной клетке не указано); $t_{\text{рект}}$ — ректальная температура животных, по истечении времени содержания или по достижении которой животных удаляли из имитируемых условий; в дополнительных факторах перечислены условия, созданные во время содержания животных в имитируемых экстремальных условиях, например фиксация животных в пластиковом пенале.

тестов с гипоксической гипоксией для оценки действия ЛП на организм не позволяют конкретизировать ее уровень, а только подтверждают наличие и выраженность антигипоксического действия препаратов [38].

Моделирование гипотермии более вариабельно. Добиться снижения температуры тела можно с помощью охлаждения воздуха в гермокамере, путем погружения в холодную воду [39–40], обкладыванием тела фиксированного животного льдом или помещением на холодную поверхность [41], а также их комбинированием. Понижение температуры тела животного и влияние индивидуальных различий на результаты будут зависеть от условий эксперимента (табл. 1).

Соответствие температуры тела определенному состоянию необходимо оценивать с учетом физиологических особенностей грызунов, но единой классификации для этого нет. В одних исследованиях температура тела ниже 37°C является пониженной, а 35°C — критической [46], в других ориентируются на показатели умеренной гипотермии $32\text{--}35^{\circ}\text{C}$ [23]. Таким образом, для моделирования гипотермии тоже необходима разработка единых методических рекомендаций на основе справочных данных о физиологических особенностях выбранных животных.

Несмотря на то что для достижения нужной температуры тела животного в условиях холодного воздуха требуется больше времени, моделирование гипотермии преимущественно осуществляют с помощью гермокамер (табл. 1), так как возможно успешное их сочетание с другими факторами, например, гипоксией [15]. Для усиления холодового воздействия на животных создают повышенную влажность в камере. В одном исследовании использовали свет как дополнительный стрессорный фактор.

Как говорилось ранее, наравне с гипотермией и гипоксией значительное влияние на организмы в АР оказывает фотопериодизм. ЦР следует учитывать при разработке режимов дозирования и оценке эффективности ЛП, а также при измерении их уровня в крови. Подтверждено также, что острые симптомы многих заболеваний и состояний проявляются в определенное время суток (инфаркт миокарда, ревматоидный артрит). Таким образом, циркадная регуляция молекулярных процессов может влиять на патологическое состояние и на результаты терапии [20].

Изменение ЦР у животных в эксперименте возможно тремя способами: светом, едой и температурой.

Температура окружающей среды обладает слабым синхронизирующим эффектом, так как животные имеют внутренние механизмы, обеспечивающие температурную компенсацию. Сбросить ЦР можно и с помощью несветового стимула. Питание, ограниченное по времени, часто используют для изучения ЦР, но при периоде менее 6 ч животные не могут съесть эквивалентное количество корма по сравнению с режимом *ad libitum* [44]. Это дополнительное стрессорное воздействие необходимо учитывать в эксперименте.

Для экспериментов по моделированию условий АР наиболее предпочтителен, на наш взгляд, световой фактор. Под стандартным содержанием животных подразумевают, как правило, использование равноденственного фотопериода (12-часовой день). Увеличение светового дня до 22 ч или его снижение до 2 ч позволяет создать условия, сбивающие ЦР животных. Например, грызуны активны в темное время суток, поэтому стрессом для них будет увеличение светового дня.

По литературным данным проведем сравнение всех имеющихся методов и возможность их сочетания (табл. 2). Большинство методов охарактеризовано на основании единичных публикаций. Поэтому недостаток числа экспериментальных исследований остается одной из основных проблем при формировании методических рекомендаций для доклинических исследований ЛП, предназначенных для применения в АР. Единственным документом на сегодняшний день являются рекомендации по изучению антигипоксической активности лекарств [38], рассматривающие моделирование различных гипоксических состояний у животных. К сожалению, подобных методических рекомендаций для моделирования гипотермии или фотопериодизма обнаружено не было.

С учетом достоинств и недостатков конкретных методов, а также возможности их сочетания можно сформировать следующие рекомендации по моделированию арктических факторов в доклинических исследованиях на мелких лабораторных животных. Проведение исследований требует длительного содержания грызунов, поэтому для создания гипотермии необходимо использование гермокамеры. Рекомендуемая температура — $2\text{--}6^{\circ}\text{C}$. Число животных в клетке — не более пяти, так как в больших группах они сбиваются вместе и согревают друг друга. Содержание по одной особи в клетке предпочтительно, но не всегда возможно. Для увеличения воздействия холодового фактора в камере может быть создана повышенная влажность. Если эксперимент

Таблица 2. Методы моделирования экстремальных условий Арктики

Фактор	Способ	Достоинства	Недостатки	Возможные сочетания с другими стрессовыми факторами	Возможность оценки физической или поведенческой активности*	Длительность эксперимента
Гипоксия	Использование гермокамеры	Применим для группы животных; использование не требует дополнительных навыков	Преимущественно для мелких лабораторных животных; необходимо ограничение манипуляций с животными; контроль заданных параметров в разных точках камеры	Гипотермия (гермокамера, холодная вода), фотопериодизм (свет, корм)	Тесты, которые могут быть проведены внутри камеры, или другие тесты вне камеры в течение короткого промежутка времени (до 5 мин)	Несколько суток и более
	Ингаляция (маска)	Точно заданный состав вдыхаемого воздуха	Преимущественно для крупных лабораторных животных; необходимо приучение к ношению маски	Гипотермия (все), фотопериодизм (свет)	В зависимости от теста	Несколько часов
	Гемическая (в/в введение окислителя гемоглобина)	Создание определенного уровня гипоксии	Необходим подбор концентрации и способа введения для каждого вида животных; возможна индивидуальная непереносимость	Гипотермия (все), фотопериодизм (свет, корм)	Проведение любых тестов (теоретически)	Несколько суток и более
Гипотермия	Использование гермокамеры	Применим для группы животных; использование не требует дополнительных навыков	Преимущественно для мелких лабораторных животных; контроль заданных параметров в разных точках камеры	Гипоксия (все), фотопериодизм (свет, корм)	Тесты, которые могут быть проведены внутри камеры, или другие тесты вне камеры в течение короткого промежутка времени (до 5 мин)	Несколько суток и более
	Помещение в холодную воду	Быстрое достижение требуемой температуры тела животного; возможно совмещение с физической нагрузкой (плавание, плавание с грузом)	Выше разница между резистентными и чувствительными к холоду животными	Гипоксия (гермокамера, гемическая)	Плавание либо извлечение животного из воды на короткий промежуток времени для проведения других тестов	Несколько часов
	Контактный (холодная поверхность, лед)	Удобно контролировать физиологические параметры при снижении температуры тела	Требуется наркоз; для каждого животного индивидуально	Гипоксия (маска, гемическая)	Невозможно	Несколько часов

Примечание: * — указывается возможность проведения тестов при сохранении воздействия стрессовых факторов на организм.

не подразумевает проведение поведенческих или длительных экспериментов (более 5 мин) с извлечением животного из камеры в ходе всего периода нахождения его в контролируемых условиях, то гипоксию также предпочтительнее создавать ингаляционно, путем поддержания в гермокамере заданного уровня кислорода. При необходимости проведения периодических тестов или неоднократных ежедневных манипуляций следует рассмотреть возможность использования гермокамер небольшого объема на 2–3 клетки с несколькими животными, индивидуальных гермокамер или создание гемической гипоксии. Это необходимо для сокращения времени пребывания животных вне условий гипоксии и времени на восстановление заданного уровня кислорода в воздухе в случае использования гермокамер.

Ввиду отсутствия рекомендаций, стандартизованного оборудования и достаточного объема практических исследований, перед каждым исследованием необходимо проведение предварительного эксперимента на конкретной установке. Во-первых, это позволит оценить влияние гипоксии и гипотермии на организм животного в каждом конкретном случае (измерение температуры тела через короткие промежутки времени, забор крови и т. д.), и значительно сократит число манипуляций во время проведения основного эксперимента, сохранив информативность получаемых данных. Например, в предварительном эксперименте измерение ректальной

температуры у животных может быть проведено каждые 6–12 ч на протяжении нескольких суток, а во время основного эксперимента его можно сократить до одного раза в сутки и проводить сравнение получаемых значений с полученными в ходе предварительного исследования данными. Во-вторых, значение предварительного эксперимента заключается в выявлении резистентных и чувствительных к стрессовым условиям особей. В исследованиях [23, 41] было показано различное влияние внешних стрессовых факторов на животных: около 10–20% крыс в эксперименте были резистентными, так как температура тела у них снижалась значительно медленнее, чем у других грызунов. Таким образом, в зависимости от условий испытания возможен предварительный отбор, а также формирование экспериментальных групп, содержащих одинаковое число чувствительных и резистентных животных. С учетом литературных данных можно отметить, что для выявления резистентных особей и определения ключевых параметров состояния животных достаточно 2–3 суток. При этом основной эксперимент может занимать до двух недель. Стоит также отметить, что такое двухстадийное исследование подразумевает использование одних и тех же животных. Это требует особого контроля со стороны биоэтической комиссии к процедурам, проводимым в ходе предварительного испытания. Крайне важно минимизировать негативное влияние на состояние животных на первом этапе и

установить оптимальный срок между предварительным и основным экспериментами для их полного восстановления.

Наиболее популярными моделями для исследований являются крысы. Спланировать эксперимент и создать условия АР для других более крупных видов сложно, так как устойчивость к гипоксии крупных лабораторных животных ниже, чем у грызунов [38]. В связи с этим одной из актуальных задач является масштабирование имеющихся или разработка иных способов моделирования экстремальных условий окружающей среды для других видов животных.

Существенным пробелом являются и критерии оценки тяжести факторов. Для мелких лабораторных животных разработаны физиологические и биохимические критерии тяжести гипоксических состояний [38], но для крупных животных подобной характеристики нет. Оценку гипотермии, как правило, проводят по одному показателю — ректальной температуре, а степень устанавливают с опорой на другие литературные данные, выбранные исследователем исходя из личных предпочтений. Стоит отметить, что эти данные пусть и не полностью, но согласуются друг с другом и есть возможность сопоставления полученных результатов. При включении в моделирование экстремальных условий такого фактора, как фотопериодизм, потребуется разработка основных критериев оценки светового стресса у животных, например, температуры и/или уровня кортизола и мелатонина [20].

В связи с широким использованием гермокамер для моделирования условий АР (табл. 1) целесообразно отметить техническую проблему: ввиду отсутствия специализированного оборудования большинство используемых установок созданы под конкретный эксперимент. Это важно, так как воспроизводимость результатов во многом зависит от возможности стандартизации оборудования. Используемые камеры должны обеспечивать максимально равномерное поддержание технологических параметров (температура, уровень кислорода и др.) по всему объему камеры. Отдельной задачей стоит подбор оптимальных способов регистрации жизненных показателей животных, так как открывание гермокамеры влечет за собой нарушение заданных условий и требует времени на восстановление установленных параметров внутри нее. Технологические аспекты необходимо рассматривать и при разработке иных способов моделирования условий АР на других видах животных.

Устойчивость организма к экстремальным воздействиям, а также патогенез заболеваний зависят от множества факторов (возраста, пола и т. д.). Моделирование экстремальных состояний преимущественно проводят на здоровых животных, но в клинической практике воздействию экстремальных факторов больше подвержены люди, имеющие хронические заболевания. Поэтому для объективной экстраполяции предложено работать и с животными, имеющими стойкое патологическое состояние, например, не имеющим одного парного органа [47]. Данное исследование не учитывалось нами при сопоставлении способов моделирования гипотермии у грызунов, так как содержит недостаточно данных о характеристиках моделируемых состояний у животных, но оно подтверждает снижение жизнеспособности животных в экстремальных условиях после нефрэктомии и показывает возможности осуществления данного подхода в экспериментах для оценки ЛП.

В связи с этим, важным аспектом доклинических исследований в интересах арктической медицины

является моделирование патологических состояний. Жители АР имеют свои характерные заболевания. Например, наиболее часто встречаются обморожения, определяемые как комплекс патологических изменений при местном и общем охлаждении организма. Для изучения механизмов развития и лечения, а также исследования ЛП и терапевтических методов, существует несколько экспериментальных моделей [48]. Возможно создание разных степеней обморожения, но при некоторых из них наблюдается плохая воспроизводимость. Кроме того, для большинства клинических случаев характерно поражение конечностей, в то время как в экспериментах на животных травму наносят преимущественно на туловище. Поэтому необходима дальнейшая разработка моделей с целью сочетания криотравмы с другими воздействиями и обеспечения воспроизводимости характеристик ран [48–49].

Исследований по моделированию иных заболеваний, которые могут быть осложнены факторами экстремальной среды Арктики, обнаружено не было. Это является еще одной проблемой в дальнейшем проведении доклинических исследований, так как протекание патологического процесса без лечения в экстремальных условиях потребует дополнительного моделирования и изучения. Оценку эффективности ЛП необходимо будет проводить в сравнении с его действием на животных, которых содержат в стандартных условиях. Нами были разработаны модели рвано-ушибленной раны [44], обморожения и химического ожога, полученные в условиях, имитирующих АР. При разработке последней модели на мышах обнаружено, что нанесение ожога III степени животным, которые в течение суток находились в климатической камере, отличается меньшим временем экспозиции по сравнению с аналогичной разрабатываемой моделью на животных, которых не помещали в гермокамеру (неопубликованные данные). Это может быть обусловлено значительным снижением температуры кожи по сравнению с ректальной температурой, так как известно, что температура спины и конечностей у животных отличается от температуры прямой кишки примерно на 0,5 и 6 °C соответственно [46]. Подобные нюансы могут возникать и при разработке других моделей заболеваний, в первую очередь касающихся кожи, опорно-двигательного аппарата, дыхательной системы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на накопленные знания и опыт, апробированного и сертифицированного блока методик для оценки воздействия холода на организм животных не сформировано [37]. Это характерно и для исследования гипоксических состояний *in vivo*. Роль фотопериода в создании экстремальных условий зачастую упускается из виду. В целом, сложное многофакторное моделирование подобных экспериментов обуславливает на сегодняшний день отсутствие единого подхода. Тем не менее эксперименты с воссозданием гипоксии и гипотермии в контролируемых условиях необходимы для проведения не только фармакологических, но и физиологических исследований [37], что, в свою очередь, требует развития теоретической и нормативно-правовой базы, а также создания методических рекомендаций с целью разработки воспроизводимых моделей.

При разработке ЛП для арктической медицины необходимо акцентировать внимание на выборе оптимальной ЛФ, улучшении свойств инъекционных препаратов с помощью криопротекторов. В качестве

одного из актуальных направлений можно выделить разработку адаптогенов.

Наиболее сложной задачей, на наш взгляд, является моделирование экстремальных условий АР в экспериментах на животных. В качестве ключевых факторов стоит выделить гипотермию, гипоксию и фотопериодизм. На сегодняшний день возможно формирование рекомендаций по проведению подобных исследований на мелких лабораторных животных, но существуют значительные пробелы в понимании того, какими методами возможно воссоздать воздействие арктических факторов в эксперименте на крупных моделях. Требуется разработка критериев оценки всех перечисленных состояний и стандартизация технической базы.

Отдельной сферой исследований является моделирование патологических состояний (заболеваний), развитие которых может сопровождаться осложнениями, обусловленными воздействием агрессивных факторов АР. Развитие данного направления способно стимулировать

разработку новых более эффективных ЛП, которые будут применимы не только на Крайнем Севере.

Стоит отметить положительную динамику: с каждым годом данных по адаптационным возможностям организмов к экстремальным условиям АР становится все больше. Методики и разрабатываемые гермокамеры для экспериментов *in vivo* могут быть применимы и в других сферах, например, для разработки методов лечения пострадавших в катастрофах, связанных с быстрым охлаждением, таких как аварии на подводных лодках. Данные исследования во многом перекликаются с элементами экстремальных природных факторов высокогорья. Ведущим биотропным фактором в этом случае аналогично выступает падение парциального давления кислорода, способствующее развитию тканевой гипоксии. Низкая температура воздуха со значительными суточными колебаниями и сильные ветры увеличивают риски развития заболеваний органов дыхания, обморожений и озноблений [50].

Литература

1. Азаров И. И., Бутаков С. С., Жолус Б. И., Зеткин А. Ю., Реммер В. Н. Опыт сохранения здоровья военнослужащих в Арктике в повседневной деятельности и чрезвычайных ситуациях. Морская медицина. 2017; 3 (3): 102–111.
2. Казакевич Е. В., Архиповский В. Л., Середа А. П., Абакумов А. А. Особенности организации медицинской помощи морякам в условиях Арктики. Медицина экстремальных ситуаций. 2017; 4 (62): 15–20.
3. О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года: указ Президента Российской Федерации от 07.05.2018 № 204. Доступно по ссылке: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/43027>.
4. Сергейчик О. И., Ярославская Е. И., Плюснин А. В. Влияние факторов внешней среды на риск сердечно-сосудистых заболеваний населения Арктики. Журнал медико-биологических исследований. 2022; 10 (1): 64–72.
5. Krutikov AV, Smirnova OO, Bocharova LK. Strategy for the Development of the Russian Arctic. Results and Prospects. Artic and North. 2020; (40): 213–26.
6. Солонин Ю. Г., Бойко Е. Р. Медико-физиологические проблемы в Арктике. Известия Коми научного центра УрО РАН. 2017; 4 (32): 33–40.
7. Журавель В. П. Российская армия, МЧС и росгвардия в Арктике: вопросы безопасности и международного сотрудничества. Научно-аналитический вестник Института Европы РАН. 2018; (5): 158–164.
8. Watts N, Amann M, Arnell N, Ayeb-Karlsson S, Beagley J, Belesova K, et al. The 2020 report of the Lancet Countdown on health and climate change: responding to converging crises. The Lancet. 2021; 397 (10269): 129–170.
9. Тихонов Д. Г. Арктическая медицина. Якутск: Изд-во ЯНЦ СО РАН, 2010; 320 с.
10. Пряничников С. В. Психофизиологическое состояние организма в зависимости от длительности пребывания в высоких широтах Арктики. Экология человека. 2020; 27 (12): 4–10.
11. Grimaldi S, Partonen T, Haukka J, Aromaa A, Lonnqvist. Seasonal vegetative and affective symptoms in the Finnish general population: testing the dual vulnerability and latitude effect hypotheses. Nordic Journal of Psychiatry. 2009; 63 (5): 397–404.
12. Гришин О. В., Устюжанинова Н. В. Дыхание на Севере. Функция. Структура. Резервы. Патология. Новосибирск: Art-Avenue, 2006; 253 с.
13. Панин Л. Е. Фундаментальные проблемы приполярной и арктической медицины. Сибирский научный медицинский журнал. 2013; 33 (6): 5–10.
14. Нагибович О. А., Уховский Д. М., Жекалов А. Н., Ткачук Н. А., Аржавкина Л. Г., Богданова Е. Г. и др. Механизмы гипоксии в Арктической зоне Российской Федерации. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2016; (2): 202–5.
15. Заднипрный И. В., Сатаева Т. П., Третьякова О. С. Патоморфологические изменения миокарда крыс при воздействии гипобарической холодовой гипоксии. Оперативная хирургия и клиническая анатомия. 2019; 3 (2): 13–18.
16. McDonald A, Stubbs R, Lartey P, Kokot S. Environmental Injuries: Hypothermia and Hypothermia. MacEwan University Student Journal. 2020; 4 (1): 1–14.
17. Овечкина Е. С., Овечкин Ф. Ю. Патопфизиология человека в условиях севера России. Бюллетень науки и практики. 2021; 7 (8): 185–91.
18. Кочан Т. И. Сезонные изменения показателей углеводного, липидного и белкового обмена у жителей Европейского Севера. Евразийский союз ученых. 2016; 7–1 (28): 32–35.
19. Грибанов А. В., Аникина Н. Ю., Котцова О. Н., Вилова Т. В. Сезонная динамика церебрального энергообмена у человека в арктической зоне. Экология человека. 2021; (5): 13–19.
20. Gaspar LS, Alvaro AR, Carmo-Silva S, Mendes AF, Relogio A, Cavadas C. The importance of determining circadian parameters in pharmacological studies. British Journal of Pharmacology. 2019; 176 (16): 2827–47.
21. Ульяновская С. А., Баженов Д. В., Шестакова В. Г., Калинин М. Н. Влияние климатогеографических факторов Севера на адаптивные реакции организма человека. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2020; 64 (1): 147–154.
22. Arendt J, Middleton B. Human seasonal and circadian studies in Antarctica (Halley, 75 S). General and comparative endocrinology. 2018; 258: 250–8.
23. Ганапольский В. П., Агафонов П. В., Матыцын В. О. Моделирование холодо-стрессовой дезадаптации у крыс с целью разработки методов ее фармакологической коррекции. Российские биомедицинские исследования. 2022; 7 (1): 3–15.
24. Finger AM, Dibner C, Kramer A. Coupled network of the circadian clocks: a driving force of rhythmic physiology. FEBS letters. 2020; 594 (17): 2734–69.
25. Хаснулин В. И., Хаснулин П. В. Современные представления о механизмах формирования северного стресса у человека в высоких широтах. Экология человека. 2012; (1): 3–11.
26. Coiffard B, Diallo AB, Mezouar S, Leone M, Mege J-L. A tangled

- threeosome: circadian rhythm, body temperature variations, and the Immune System. *Biology*. 2021; 10 (1): 65.
27. Келешашвили Л. В., Волченкова А. В., Соколова А. С. Гигиеническое обоснование методов коррекции синдрома «снежная слепота» в условиях Арктики. В сборнике: Материалы III Дальневосточного медицинского молодежного форума; 2–4 октября 2019; Хабаровск. Актуальные вопросы современной медицины. 2019: 317–320.
 28. Солдатов Е. А., Голота А. С., Корнилова А. А., Крассий А. Б., Левандо К. К., Чувашев М. Л. и др. Медицинское обеспечение в Арктике: 2015 г. Военно-медицинский журнал. 2016; 337 (5): 44–51.
 29. Мирошниченко Ю. В., Кононов В. Н., Родионов Е. О., Мустаев О. З., Солдатов Е. А., Чувашев М. Л. и др. Влияние особых медико-географических условий Арктики на обеспечение соединений и воинских частей медицинским имуществом. *Фармация и фармакология*. 2017; 5 (4): 368–79.
 30. Котенко П. К., Шевцов В. И. Анализ медико-социальных факторов, определяющих перспективный облик системы оказания медицинской помощи пострадавшим в чрезвычайных ситуациях в Арктической зоне Российской Федерации. *Морская медицина*. 2019; 4 (4): 44–54.
 31. Moffatt SE. Hypothermia in trauma. *Emergency Medicine Journal*. 2013; 30 (12): 989–996.
 32. Raja R, Bryant SJ, Wilkinson BL, Bryant G. The need for novel cryoprotectants and cryopreservation protocols: Insights into the importance of biophysical investigation and cell permeability. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2021; 1865 (1): 129749.
 33. Bozkurt Y, editor. Cryopreservation biotechnology in biomedical and biological sciences. BoD-Books on Demand; 2018.
 34. Warner RM, Brown KS, Benson JD, Eroglu A, Higgins AZ. Multiple cryoprotectant toxicity model for virification solution optimization. *Cryobiology*. 2022; 108: 1–9.
 35. Куркин В. А., Петрухина И. К., Акушская А. С. Исследование номенклатуры адаптогенных лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации. *Фундаментальные исследования*. 2014; 8 (4): 898–902.
 36. Pomatto LCD, Davies KJA. Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. *Free Radical Biology and Medicine*. 2018; 124: 420–30.
 37. Голубев В. Н., Королев Ю. Н., Белокопытова Е. В. Индивидуальная стратегия адаптации дыхательной системы человека как реакция на гипоксическую гипоксию. *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2019; 38 (3): 172–7.
 38. Каркищенко Н. Н., Каркищенко В. Н., Шустов Е. Б., Канападзе Г. Д., Ревякин А. О., Семенов Х. Х. Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств. М.: Научный центр биомедицинских технологий ФМБА, 2017; 97 с.
 39. Бобров И. П., Лепилов А. В., Гуддаева З. Н., Долгатов А. Ю., Алымова Е. Е., Крючкова Н. Г. и др. Тучноклеточная инфильтрация легких крыс после гипотермии. *Современные проблемы науки и образования*. 2019; (1): 1–8.
 40. Кличханов Н. К., Исмаилова Ж. Г., Астаева М. Д. Интенсивность свободнорадикальных процессов в крови крыс при глубокой гипотермии и в ходе самосогревания. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1 (5): 104–9.
 41. Шустов Е. Б., Канападзе Г. Д., Фокин Ю. В., Матвеев Е. Л. Методические особенности биомедицинских исследований влияния фармакологических средств на устойчивость организма к острой общей гипотермии. *Биомедицина*. 2017; (3): 4–15.
 42. Акимов А. Г., Егорова М. А. Влияние гипотермии на импульсную активность нейронов первичной слуховой коры домовой мыши (*Mus musculus*). *Интегративная физиология*. 2022; 3 (1): 100–9.
 43. Аксёнова Г. Е., Логвинович О. С., Фиалковская Л. А., Афанасьев В. Н., Игнатъев Д. А., Коломийцева И. К. и др. Влияние гипотермии на активность орнитиндекарбоксилазы в тканях крыс. *Доклады академии наук*. 2009; 428 (4): 547–9.
 44. Волкова М. В., Бояринцев В. В., Трофименко А. В., Рыбалкин С. П., Ковалева Е. В., Бирюков С. А. и др. Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2022; 41 (3): 261–8.
 45. Лычева Н. А., Шахматов И. И., Киселев В. И., Вдовин В. М. Изучение отставленного влияния гипотермии на параметры системы гемостаза у крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2014; 34 (4): 25–29.
 46. Абрашова Т. В., Гуцин Я. А., Ковалева М. А., Рыбакова А. В., Селезнева А. И., Соколова А. П. и др. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. СПб: ЛЕМА, 2013; 116 с.
 47. Шорманов И. С., Косенко М. В., Петровский А. К., Петровская А. Ю., Андреева Л. А., Федоров В. Н. и др. Фармакологическая поддержка адаптивных возможностей организма в условиях экспериментального операционного стресса. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2016; 11 (2): 47–52.
 48. Байкалов Г. И., Ершов К. И., Бахарева К. И. Экспериментальные методы моделирования отморожений. *Сибирский медицинский вестник*. 2020; (3): 44–49.
 49. Handford C, Thomas O, Imray CHE. Frostbite. *Emergency Medicine Clinics*. 2017; 35 (2): 281–99.
 50. Солдатов Е. А., Анисимов А. С., Блинов В. А., Белкин Н. В. Совершенствование медицинского обеспечения мероприятий по подготовке военнослужащих для выполнения задач в высокогорной местности. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2017; 36 (2): 3–8.

References

1. Azarov II, Butakov SS, Zholus BI, Zetkin AYU, Remmer VN. Opyt soxraneniya zdorov'ya voennosluzhashix v Arktike v povsednevnoj deyatel'nosti i chrezvychajnyx situacijax. *Morskaya medicina*. 2017; 3 (3): 102–111. Russian.
2. Kazakevich EV, Arxipovskij VL, Sereda AP, Abakumov AA. Osobennosti organizacii medicinskoj pomoshhi moryakam v usloviyax Arktiki. *Medicina ehkstremaal'nyx situacij*. 2017; 4 (62): 15–20. Russian.
3. O nacional'nyx celyax i strategicheskix zadachax razvitiya Rossijskoj Federacii na period do 2024 goda: ukaz Prezidenta Rossijskoj Federacii ot 07.05.2018 # 204. Dostupno po ssylke: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/43027>. Russian.
4. Sergejchik OI, Yaroslavskaya EI, Plyusnin AV. Vliyanie faktorov vneshnej sredy na risk serdechno-sosudistyx zabolevanij naseleniya Arktiki. *Zhurnal mediko-biologicheskix issledovanij*. 2022; 10 (1): 64–72. Russian.
5. Krutikov AV, Smirnova OO, Bocharova LK. Strategy for the Development of the Russian Arctic. *Results and Prospects. Arctic and North*. 2020; (40): 213–26.
6. Solonin YuG, Bojko ER. Mediko-fiziologicheskie problemy v Arktike. *Izvestiya Komi nauchnogo centra UrO RAN*. 2017; 4 (32): 33–40. Russian.
7. Zhuravel VP. Rossijskaya armiya, MChS i rosgvardiya v Arktike: voprosy bezopasnosti i mezhdunarodnogo sotrudnichestva. *Nauchno-analiticheskij vestnik Instituta Evropy RAN*. 2018; (5): 158–164. Russian.
8. Watts N, Amann M, Arnell N, Ayeb-Karlsson S, Beagley J, Belesova K, et al. The 2020 report of the Lancet Countdown on health and climate change: responding to converging crises. *The Lancet*. 2021; 397 (10269): 129–170.
9. Tixonov DG. *Arkticheskaya medicina*. Yakutsk: Izd-vo YaNC SO RAN, 2010; 320 s. Russian.
10. Pryanichnikov SV. Psixofiziologicheskoe sostoyanie organizma v zavisimosti ot dlitel'nosti prebyvaniya v vysokix shirotax Arktiki. *Ehkologiya cheloveka*. 2020; 27 (12): 4–10. Russian.
11. Grimaldi S, Partonen T, Haukka J, Aromaa A, Lonnqvist. Seasonal

- vegetative and affective symptoms in the Finnish general population: testing the dual vulnerability and latitude effect hypotheses. *Nordic Journal of Psychiatry*. 2009; 63 (5): 397–404.
12. Grishin OV, Ustyuzhanina NV. Dyxanie na Severe. Funkciya. Struktura. Rezervy. Patologiya. Novosibirsk: Art-Avenue, 2006; 253 s. Russian.
 13. Panin LE. Fundamental'nye problemy pripolyarnoj i arkticheskoy mediciny. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*. 2013; 33 (6): 5–10. Russian.
 14. Nagibovich OA, Uxovskij DM, Zhekalov AN, Tkachuk NA, Arzhavkina LG, Bogdanova EG, i dr. Mexanizmy gipoksii v Arkticheskoy zone Rossijskoj Federacii. *Vestnik Rossijskoj voenno-medicinskoj akademii*. 2016; (2): 202–5. Russian.
 15. Zadnipyanyj IV, Sataeva TP, Tret'yakova OS. Patomorfologicheskie izmeneniya miokarda krys pri vozdeystvii gipobaricheskoy xolodovoy gipoksii. *Operativnaya xirurgiya i klinicheskaya anatomiya*. 2019; 3 (2): 13–18. Russian.
 16. McDonald A, Stubbs R, Lartey P, Kokot S. Environmental Injuries: Hypothermia and Hypothermia. *MacEwan University Student Journal*. 2020; 4 (1): 1–14.
 17. Ovechkina ES, Ovechkin FYu. Patofiziologiya cheloveka v usloviyax severa Rossii. *Byulleten' nauki i praktiki*. 2021; 7 (8): 185–91. Russian.
 18. Kochan TI. Sezonnye izmeneniya pokazatelej uglevodnogo, lipidnogo i belkovogo obmena u zhitelej Evropejskogo Severa. *Evrasijskij soyuz uchenyx*. 2016; 7–1 (28): 32–35. Russian.
 19. Gribanov AV, Anikina NYu, Kotcova ON, Vilova TV. Sezonnaya dinamika cerebral'nogo ehnergoobmena u cheloveka v arkticheskoy zone. *Ehkologiya cheloveka*. 2021; (5): 13–19. Russian.
 20. Gaspar LS, Alvaro AR, Carmo-Silva S, Mendes AF, Relogio A, Cavadas C. The importance of determining circadian parameters in pharmacological studies. *British Journal of Pharmacology*. 2019; 176 (16): 2827–47.
 21. Ulyanovskaya SA, Bazhenov DV, Shestakova VG, Kalinkin MN. Vliyaniye klimatogeograficheskix faktorov Severa na adaptivnye reakcii organizma cheloveka. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya*. 2020; 64 (1): 147–154. Russian.
 22. Arendt J, Middleton B. Human seasonal and circadian studies in Antarctica (Halley, 75 S). *General and comparative endocrinology*. 2018; 258: 250–8.
 23. Ganapol'skij VP, Agafonov PV, Matycyn VO. Modelirovaniye xolodo-stressovoy dezadaptatsii u krys s cel'yu razrabotki metodov ee farmakologicheskoy korrektsii. *Rossijskie biomedicinskie issledovaniya*. 2022; 7 (1): 3–15. Russian.
 24. Finger AM, Dibner C, Kramer A. Coupled network of the circadian clocks: a driving force of rhythmic physiology. *FEBS letters*. 2020; 594 (17): 2734–69.
 25. Xasnulin VI, Xasnulin PV. Sovremennye predstavleniya o mexanizmax formirovaniya severnogo stressa u cheloveka v vysokix shirotax. *Ehkologiya cheloveka*. 2012; (1): 3–11. Russian.
 26. Coiffard B, Diallo AB, Mezouar S, Leone M, Mege J-L. A tangled threesome: circadian rhythm, body temperature variations, and the Immune System. *Biology*. 2021; 10 (1): 65.
 27. Kelexashvili LV, Volchenkova AV, Sokolova AS. Gigienicheskoe obosnovaniye metodov korrektsii sindroma «snezhnaya slepota» v usloviyax Arktiki. V sbornike: *Materialy III Dal'nevostochnogo medicinskogo molodezhnogo foruma*; 2–4 oktyabrya 2019; Xabarovsk. Aktual'nye voprosy sovremennoj mediciny. 2019; 317–320. Russian.
 28. Soldatov EA, Golota AS, Kornilova AA, Krassij AB, Levando KK, Chuvashov ML, i dr. Medicinskoe obespecheniye v Arktike: 2015 g. *Voennomeditsinskij zhurnal*. 2016; 337 (5): 44–51. Russian.
 29. Miroshnichenko YuV, Kononov VN, Rodionov EO, Mustaez OZ, Soldatov EA, Chuvashov ML, i dr. Vliyaniye osobykh mediko-geograficheskix uslovij Arktiki na obespecheniye soedinenij i voinskix chastej medicinskim imushchestvom. *Farmaciya i farmakologiya*. 2017; 5 (4): 368–79. Russian.
 30. Kotenko PK, Shevcov VI. Analiz mediko-social'nyx faktorov, opredelyayushhix perspektivnyj oblik sistemy okazaniya medicinskoj pomoshhi postradavshim v chrezvychajnyx situatsiyax v Arkticheskoy zone Rossijskoj Federacii. *Morskaya medicina*. 2019; 4 (4): 44–54. Russian.
 31. Moffatt SE. Hypothermia in trauma. *Emergency Medicine Journal*. 2013; 30 (12): 989–996.
 32. Raja R, Bryant SJ, Wilkinson BL, Bryant G. The need for novel cryoprotectants and cryopreservation protocols: Insights into the importance of biophysical investigation and cell permeability. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2021; 1865 (1): 129749.
 33. Bozkurt Y, editor. Cryopreservation biotechnology in biomedical and biological sciences. *BoD-Books on Demand*; 2018.
 34. Warner RM, Brown KS, Benson JD, Eroglu A, Higgins AZ. Multiple cryoprotectant toxicity model for virification solution optimization. *Cryobiology*. 2022; 108: 1–9.
 35. Kurkin VA, Petrukhina IK, Akushskaya AS. Issledovaniye nomenklatury adaptogennyx lekarstvennyx preparatov, predstavlenykh na farmacevticheskom rynke Rossijskoj Federacii. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; 8 (4): 898–902. Russian.
 36. Pomatto LCD, Davies KJA. Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. *Free Radical Biology and Medicine*. 2018; 124: 420–30.
 37. Golubev VN, Korolev YuN, Belokopytova EV. Individual'naya strategiya adaptatsii dyxatel'noj sistemy cheloveka kak reakciya na gipoksicheskuyu gipoksiyu. *Izvestiya Rossijskoj Voennomedicinskoj akademii*. 2019; 38 (3): 172–7. Russian.
 38. Karkishhenko NN, Karkishhenko VN, Shustov EB, Kanapadze GD, Revyakin AO, Semenov XX. Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izucheniye antigipoksicheskoy aktivnosti lekarstvennyx sredstv. M.: Nauchnyj centr biomedicinskix texnologij FMBA, 2017; 97 s. Russian.
 39. Bobrov IP, Lepilov AV, Guldaeva ZN, Dolgatov AYU, Alymova EE, Kryuchkova NG, i dr. Tushnokletochnaya infil'traciya legkix krys posle gipotermii. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2019; (1): 1–8. Russian.
 40. Klichxanov NK, Ismailova ZhG, Astaeva MD. Intensivnost' svobodnoradikal'nyx processov v krovi krys pri glubokoy gipotermii i v xode samosogrevaniya. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1 (5): 104–9. Russian.
 41. Shustov EB, Kapanadze GD, Fokin YuV, Matveenko EL. Metodicheskie osobennosti biomedicinskix issledovaniy vliyaniya farmakologicheskix sredstv na ustojchivost' organizma k ostroj obshhej gipotermii. *Biomedicina*. 2017; (3): 4–15. Russian.
 42. Akimov AG, Egorova MA. Vliyaniye gipotermii na impul'snyuyu aktivnost' nejronov pervichnoj sluxovoy kory domovoy myshi (*Mus musculus*). *Integrativnaya fiziologiya*. 2022; 3 (1): 100–9. Russian.
 43. Aksyonova GE, Logvinovich OS, Fialkovskaya LA, Afanasev VN, Ignatev DA, Kolomijceva IK, i dr. Vliyaniye gipotermii na aktivnost' ornitindekarsilazy v tkanyax krys. *Doklady akademii nauk*. 2009; 428 (4): 547–9. Russian.
 44. Volkova MV, Boyarincev VV, Trofimenko AV, Rybalkin SP, Kovaleva EV, Biryukov SA, i dr. Ehffektivnost' primeneniya mezenximal'nyx stromal'nyx kletok dlya lecheniya rvano-ushiblenykh ran v usloviyax gipotermii i gipoksii. *Izvestiya Rossijskoj voennomedicinskoj akademii*. 2022; 41 (3): 261–8. Russian.
 45. Lycheva NA, Shaxmatov II, Kiselev VI, Vdovin VM. Izucheniye otstavlennoy vliyaniya gipotermii na parametry sistemy gemostaza u krys. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*. 2014; 34 (4): 25–29. Russian.
 46. Abrashova TV, Gushhin YaA, Kovaleva MA, Rybakova AV, Selezneva AI, Sokolova AP, i dr. Fiziologicheskie, bioximicheskie i biometricheskije pokazateli normy ehksperimental'nyx zhivotnyx. SPb: LEMA, 2013; 116 s. Russian.
 47. Shormanov IS, Kosenko MV, Petrovskij AK, Petrovskaya AYU, Andreeva LA, Fedorov VN, i dr. Farmakologicheskaya podderzhka adaptivnyx vozmozhnostej organizma v usloviyax ehksperimental'nogo operacionnogo stressa. *Medicinskij vestnik Bashkortostana*. 2016; 11 (2): 47–52. Russian.
 48. Bajkalov GI, Ershov KI, Baxareva KI. Ehksperimental'nye metody modelirovaniya otmorozhenij. *Sibirskij medicinskij vestnik*. 2020; (3): 44–49. Russian.
 49. Handford C, Thomas O, Imray CHE. Frostbite. *Emergency Medicine Clinics*. 2017; 35 (2): 281–99.
 50. Soldatov EA, Anisimov AS, Blinov VA, Belkin NV. Sovershenstvovaniye medicinskogo obespecheniya meropriyatij po podgotovke voennosluzhashhix dlya vypolneniya zadach v vysokogornoj mestnosti. *Izvestiya Rossijskoj voennomedicinskoj akademii*. 2017; 36 (2): 3–8. Russian.