

МЕТОДИКА РАНЖИРОВАНИЯ КРЫС ПО СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЪЕМА ВЫБОРКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УШИБЕ СЕРДЦА

Приймак А.Б.¹, Корпачева О.В.¹, Золотов А.Н.¹, Ключникова Е.И.¹

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет Минздрава России», Омск, e-mail: prima-macter@yandex.ru

Эксперименты выполнены на 216 белых крысах-самцах массой 250–300 г. Оценка стрессоустойчивости крыс проводилась при помощи теста принудительного плавания Порсолта и теста «Открытое поле». Через 10 дней после ранжирования по стрессоустойчивости формировали 4 группы: контрольную, моделирование ушиба сердца, моделирование ушиба сердца на фоне применения агониста опиатных рецепторов даларгина, моделирование ушиба сердца на фоне применения блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона. В каждой группе имелись подгруппы с высокой, низкой и средней стрессоустойчивостью по 8 особей в каждой. Через 1 сутки после моделирования ушиба сердца оценивали уровень кортикостерона, глюкозы и содержание лейкоцитов в крови, а также концентрацию восстановленного глутатиона и общую антиоксидантную способность в гомогенатах миокарда. Расчет минимального объема выборки проводили при помощи онлайн-калькулятора. Сочетанное применение теста «Принудительное плавание» с грузом и теста «Открытое поле» позволяет отобрать животных с самыми ярко выраженными поведенческими характеристиками стрессоустойчивости и формировать группы крыс с различной стрессовой реактивностью. Эффективность методики подтверждается полученными на модели ушиба сердца статистически значимыми различиями по содержанию кортикостерона, глюкозы и лейкоцитов в крови, а также по уровню антиоксидантов в ткани миокарда между группами с различной стрессоустойчивостью. Медиана, средние значения и стандартные отклонения аффилированных со стрессом показателей в группах сравнения с использованием онлайн-калькулятора позволяют рассчитать минимальный объем выборки для выявления различий в течении посттравматического периода экспериментального ушиба сердца, обусловленных индивидуальной стрессоустойчивостью.

Ключевые слова: экспериментальный ушиб сердца, стрессоустойчивость, открытое поле, принудительное плавание, объем выборки.

THE METHOD OF RANKING RATS BY STRESS RESISTANCE AND SAMPLE SIZE DETERMINATION IN EXPERIMENTAL HEART CONTUSION

Priymak A.B.¹, Korpacheva O.V.¹, Zolotov A.N.¹, Klychnicova E.I.¹

¹Omsk State Medical University, Omsk, e-mail: prima-macter@yandex.ru

The experiments were performed on 216 white male rats weighing 250–300 g. The stress resistance of rats was assessed using the Porsolt forced swimming test and the Open Field test. 10 days after ranking by stress resistance, 4 groups were formed: control, modeling of a heart contusion, modeling of a heart contusion against the background of the use of an opiate receptor agonist dalargin, modeling of a heart contusion against the background of the use of the mineralocorticoid receptor blocker eplerenone. In each group there were subgroups with high, low and medium stress resistance of 8 individuals each. A day after modeling a heart contusion, the level of corticosterone, glucose and leukocyte content in the blood, as well as the concentration of reduced glutathione and total antioxidant capacity in myocardial homogenates were evaluated. The sample size determination was carried out using an online calculator. The combined use of the Porsolt forced swimming test with cargo and the Open Field test makes it possible to select animals with the most pronounced behavioral characteristics of stress resistance and form groups of rats with different stress reactivity. The effectiveness of the technique is confirmed by statistically significant differences in the content of corticosterone, glucose and leukocytes in the blood, as well as in the level of antioxidants in myocardial tissue between groups with different stress resistance obtained on the model of a heart contusion. The median, average values and standard deviations of stress-related indicators in comparison groups using an online calculator allow us to calculate the minimum sample size to identify differences during the post-traumatic period of experimental heart contusion due to individual stress resistance.

Keywords: experimental heart contusion, stress resistance, open field test, forced swimming test, sample size determination.

Патогенез ушиба сердца (УС) неразрывно связан с развитием стресса как

неспецифического ответа организма человека и животных на воздействие любого значительного по силе или патогенного раздражителя [1]. Развитие общего и местного адаптационных синдромов, как известно, направлено на сохранение гомеостаза и формирование неспецифической резистентности организма по отношению к любому повреждающему фактору. При этом физиологические изменения (напряжение функциональных систем, перестройка метаболизма и др.) и поведенческие реакции в рамках стресс-реакции могут значительно варьировать в зависимости от индивидуальной реактивности, что, в свою очередь, способно существенно влиять на отдельные характеристики факторов повреждения и защиты в рамках патогенеза тупой травмы сердца. Отправной точкой любого исследования с этих позиций является оценка индивидуальной стрессовой реактивности.

В экспериментальной биологии и медицине существует множество методических подходов к оценке стрессовой реактивности, которые базируются на моделях, воспроизводящих стресс, и оценивают поведенческую стратегию животного в условиях воздействия стрессора [2]. Среди наиболее широко применяемых методик оценки стрессоустойчивости – различные модификации теста «Открытое поле» (Open field test) [3], теста «Принудительное плавание» (Porsolt forced swimming test, Behavioural Despair test) [4].

В основе теста принудительного плавания Порсолта лежит оценка поведенческой реакции экспериментального животного на угрозу утопления. Характер реакции позволяет судить о предрасположенности индивида к депрессивному настроению, а сам тест чаще всего используется для исследований в области психофармакологии. Однако в последнее десятилетие валидность теста и адекватность модели для оценки эффективности антидепрессантов подвергаются сомнению. Критическому анализу подвергается даже классическая интерпретация некоторых результатов теста. В частности, обсуждается вопрос о том, что собой представляет длительная неподвижность грызуна – поведенческий признак безнадежности и отчаяния или же, напротив, позитивный коррелят привыкания, адаптации [5]. Более того, в тесте Порсолта, особенно при высоте сосуда более 50 см, животные демонстрируют по крайней мере четыре различных паттерна плавания [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**], что затрудняет интерпретацию результатов и ранжирование животных по стрессоустойчивости.

В тесте «Открытое поле» оценивается поведение (двигательная и ориентировочно-исследовательская активность) животного в новой, неизвестной для него обстановке. Тест позволяет исследовать врожденные особенности ориентировочно-исследовательского поведения и резистентности к стрессу по Холлу [6] и часто используется для проведения доклинических исследований фармакологических препаратов. В этом тесте снижение общей

подвижности животных, замирание также трактуется как повышенный уровень стрессированности. Однако базовый постулат о том, что тест основан на противоречии между инстинктивным стремлением грызуна к исследованию нового и стремлением избежать потенциальной опасности в этой ситуации, также подвергается критике. Очевидно, что все животные модели имеют непреодолимые недостатки. Более того, сочетанное применение тестов нередко дает расхождение результатов [8], что ставит перед исследователем проблему выбора теста для конкретного исследования.

Не менее важный вопрос при разработке дизайна экспериментального исследования – определение объема выборки. Необходимость получения достоверных результатов исследования, с одной стороны, и неукоснительное соблюдение принципа гуманности в обращении с экспериментальными животными – с другой требуют корректного решения этого вопроса [9]. Таких исследований на модели ушиба сердца с учетом стрессоустойчивости ранее не проводилось.

Цель исследования – изучить возможность сочетанного применения поведенческих тестов для определения стрессоустойчивости крыс и методики расчета минимального размера выборки на модели экспериментального ушиба сердца.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 216 белых аутбредных крысах-самцах массой 250–300 г с соблюдением правил проведения работ и содержания животных (приказ Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики»). Получено разрешение локального этического комитета ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России на проведение исследования, включая все этапы эксперимента. На инвазивных этапах эксперимента использовался общий анестетик Золетил 100 (Zoletil 100, Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 30 мг/кг внутривенно.

Оценка стрессоустойчивости крыс проводилась при помощи теста принудительного плавания Порсолта (ПП) и теста «Открытое поле» (ОП). Тест принудительного плавания проводился с грузом 10% веса животного в прозрачном сосуде высотой 80 см при температуре воды $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Определение стрессоустойчивости проводилось по времени плавания [10].

Через 72 часа после принудительного плавания с грузом проводили тест «Открытое поле» в круглой арене белого цвета, разделенной на 37 секторов, в течение 3 минут. Для облегчения подсчета показателей проводилась видеозапись. В ходе теста фиксировали следующие показатели: горизонтальная двигательная активность (ГДА), вертикальная двигательная активность (ВДА), латентный период (ЛП) первого движения, время замираний по ходу движения, время выхода в центр арены. По результатам теста рассчитывали коэффициент стрессоустойчивости [3, 11] и применяли методы статистической

классификации. По результатам каждого теста животные разделялись на 3 категории: низкоустойчивые (НУ), высокоустойчивые (ВУ) и среднеустойчивые (СУ).

Через 10 дней после ранжирования крыс по стрессоустойчивости формировали по 3 соответствующие подгруппы (НУ, СУ и ВУ, по 8 особей в каждой) в контрольной группе и в трех опытных группах: моделирование ушиба сердца (УСО), моделирование ушиба сердца на фоне применения агониста опиатных рецепторов далагина (УС+Д) и моделирование ушиба сердца на фоне применения блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона (УС+Э). Ушиб сердца в опытных группах воспроизводили при помощи оригинального устройства [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**], имитирующего удар передней грудной стенки о стойку руля при столкновении движущегося автомобиля с препятствием. Животное фиксировали в вертикальном положении на подвижном устройстве в виде тележки, приводимой в движение падающим грузом. В конце пути следования тележки располагалось препятствие (щиток из дерева), имеющее выступ, площадь которого есть площадь удара с передней грудной клеткой животного при столкновении. В модели предусмотрена техническая возможность предварительного смещения (вверх/вниз) препятствия для приведения в соответствие уровня препятствия с областью проекции сердца на грудную клетку. Далагин вводили внутрибрюшинно в дозе 100 мкг/кг за 2 часа до введения в наркоз, непосредственно перед травмой и через 2 часа после моделирования ушиба сердца. Эплеренон вводили энтерально в дозе 100 мг/кг в сутки на протяжении 10 дней, предшествующих моделированию УС.

Для оценки стресс-реакции и корректности ранжирования животных по стрессоустойчивости через 1 сутки после моделирования ушиба сердца оценивали в плазме крови уровень кортикостерона методом ИФА и содержание глюкозы при помощи тест-систем компании «Ольвекс» (Россия). Выраженность оксидативного стресса в поврежденном сердце оценивали по содержанию в гомогенатах миокарда восстановленного глутатиона (GSH) и общей антиоксидантной способности (TAS) при помощи тест-систем ELISA Kit фирмы Cloud-Clone Corp. (Китай). Реакцию системы крови оценивали по общему содержанию лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов. Исследование проводилось на гематологическом анализаторе Mindray BC-3000Plus (Китай) и в мазках крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе. Расчет минимального объема выборки проводили при помощи онлайн-калькулятора [12].

Статистическая обработка данных осуществлялась методами описательной статистики, сравнение двух независимых выборок проводилось при помощи U-критерия Манна–Уитни. Уровень статистической значимости принят равным 0,05. Корреляционный анализ переменных проводился при помощи коэффициентов Спирмана и Кендалла. Для ранжирования животных в тесте «Открытое поле» применялся иерархический кластерный

анализ методом внутригрупповой связи со стандартизацией показателей. Обработка данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 23.

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе в исследование вошли 130 крыс. Они были ранжированы в тесте ПП по времени плавания методом разделения выборки на квантили. Высокоустойчивыми считали животных, показавших наибольшее время плавания, – находящихся ниже 3-го квантиля. К низкоустойчивым отнесли животных, находящихся выше 1-го квантиля. Остальных считали среднеустойчивыми. При формировании группы со средней устойчивостью к стрессу столкнулись с проблемой недостаточного различия между группами, которая была частично решена сокращением группы среднеустойчивых животных наполовину, в результате получили 3 равные по численности подгруппы – по 32 ВУ, СУ и НУ животных.

При оценке стрессоустойчивости при помощи теста ОП использовался коэффициент стрессоустойчивости (индекс активности). Для его расчета сумму горизонтальной и вертикальной двигательной активности делили на сумму латентного периода выхода из центра арены и времени выхода в центр [11]. В результате наибольшее количество животных пришлось на низкоустойчивых, а наименьшее – на высокоустойчивых. Такое неравномерное распределение осложняет формирование экспериментальных групп для исследований по показателю стрессоустойчивости.

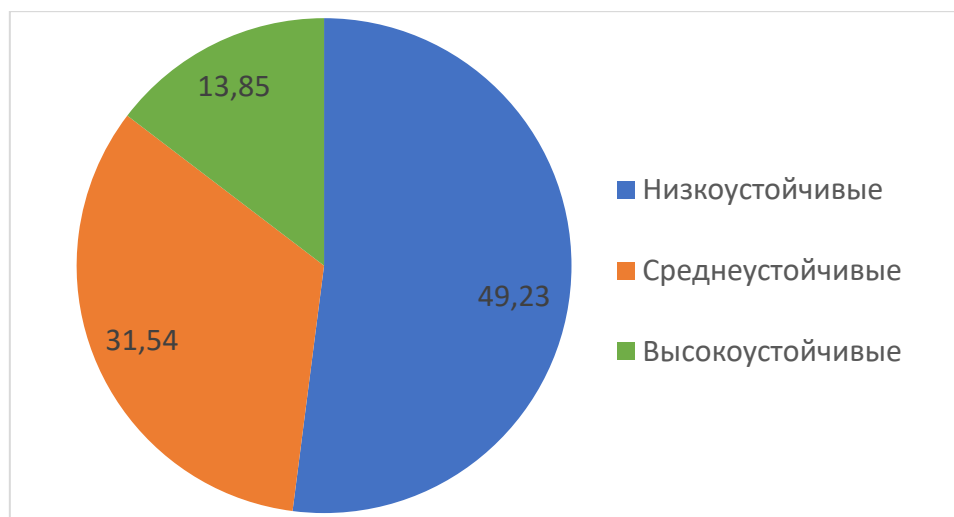


Рис. 1. Распределение животных (%) по стрессоустойчивости в тесте «Открытое поле»

Далее было проведено сравнение переменных, полученных при проведении двух поведенческих тестов, с целью поиска зависимости между показателями и для оценки взаимозаменяемости этих тестов [14]. Корреляционный анализ не выявил значимой связи между переменными в тесте ОП и временем плавания. Коэффициенты корреляции Спирмена и Кендалла колебались в диапазоне от $-0,18$ до $0,12$. Этот факт подтверждает, что тесты ПП и

ОП оценивают различные компоненты стрессовой реакции и не могут заменить друг друга. Тест ПП воспроизводит и оценивает сочетание эмоционального стресса и стресса физической нагрузки, причем высокой интенсивности, тогда как тест ОП оценивает исключительно эмоциональный компонент стресса, причем относительно невысокой интенсивности. Совместное применение этих тестов может помочь ранжировать животных с опорой на большой набор характеристик стрессовой реактивности.

С этой целью была предпринята попытка объединить результаты тестов и сформировать группы по стрессоустойчивости из животных, показавших одинаковый уровень стрессоустойчивости в обоих тестах, однако процент совпадений между тестами по оценке стрессоустойчивости оказался слишком низким, особенно в группе высокоустойчивых животных.

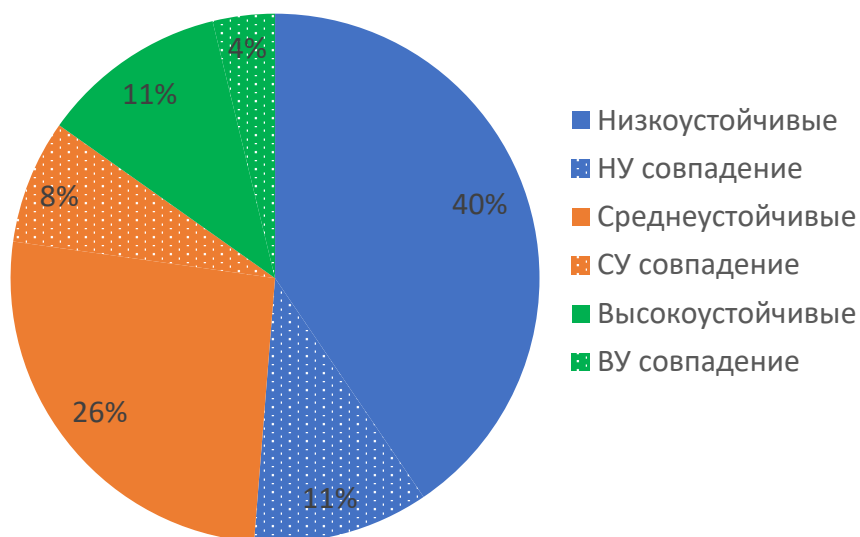


Рис. 2. Распределение животных (%) по стрессоустойчивости в тестах «Открытое поле» и «Принудительное плавание» на первом этапе исследования. Зоны совпадения результатов двух тестов отмечены белыми точками на цветном фоне

В связи с этим было принято решение на первом этапе исследования использовать только тест ПП, но увеличить различия между ВУ, СУ и НУ животными за счет выбросов и включить в подгруппы по 16 животных каждой категории стрессоустойчивости. Уменьшение численности групп в 2 раза позволило увеличить различия во времени плавания в группах практически в 3 раза (табл. 1).

Таблица 1

Время плавания животных в тесте «Принудительное плавание»

Подгруппы животных	Время плавания (сек)				
	НУ	Разница между НУ и СУ	СУ	Разница между СУ и ВУ	ВУ

Без выбросов (в каждой n=32)	55–86	8	94–110	11	121–231
С выбросами (в каждой n=16)	55–77	21	98–105	31	136–231
Примечание. НУ – низкоустойчивые, СУ – среднеустойчивые, ВУ – высокоустойчивые к стрессу животные.					

В результате получены убедительные данные (рис. 3), отражающие статистически значимые различия по всем стресс-ассоциированным биохимическим показателям между опытной (УСО) и контрольной группами, а также между подгруппами с различной стрессоустойчивостью в пределах группы УСО [15, 16].

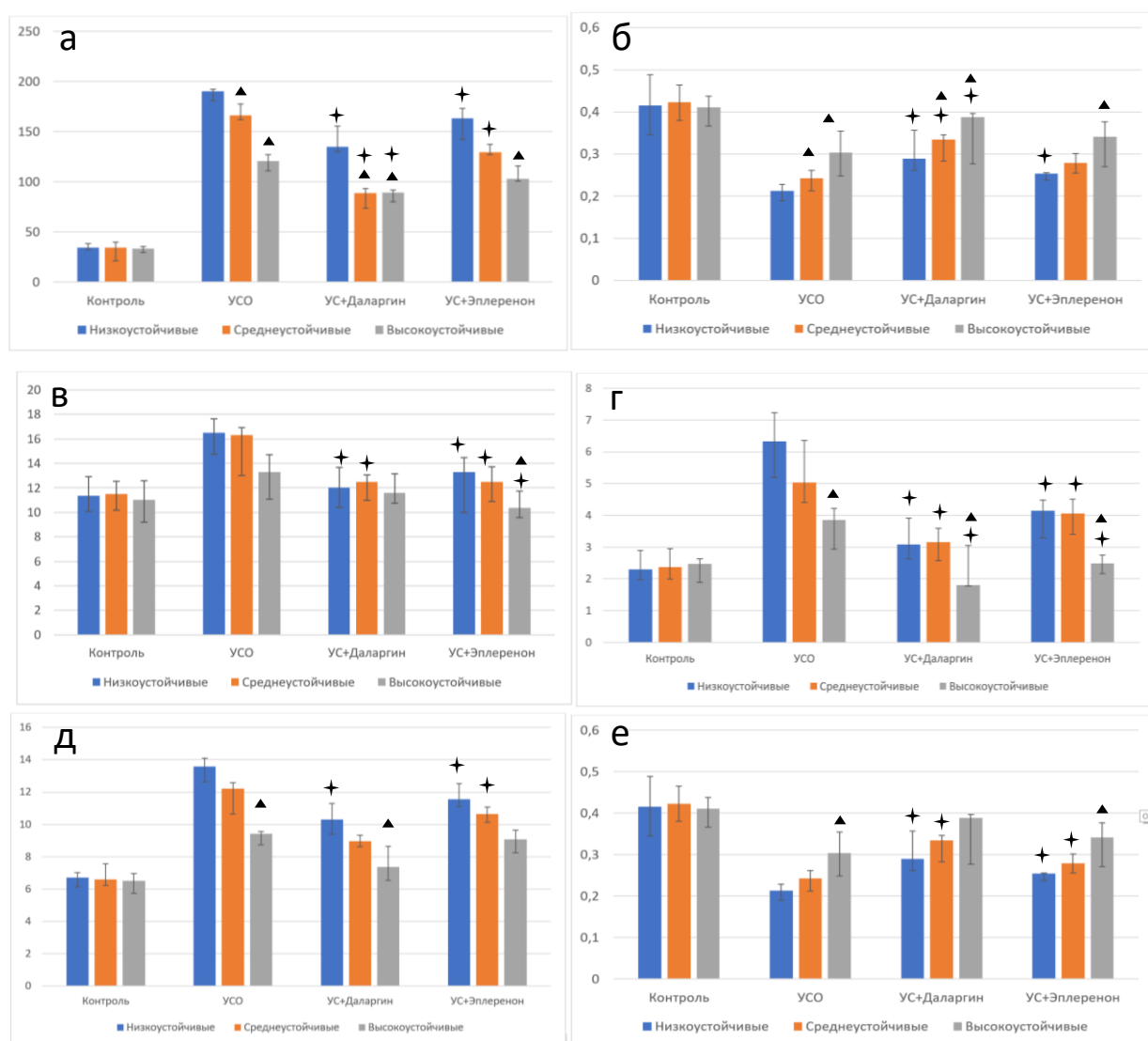


Рис. 3. Биохимические и гематологические показатели крыс с различной стрессоустойчивостью через 24 часа после моделирования ушиба сердца: а – кортикостерон (плазма крови, нг/мл); б – глюкоза (плазма крови, ммоль/л); в – лейкоциты (кровь, 10⁹л⁻¹); г – нейтрофилы (кровь, 10⁹л⁻¹); д – восстановленный глутатион (миокард, мкг/мл); е – общая антиоксидантная способность (миокард, ммоль/мг); –

статистически значимые различия в сравнении с группой УСО; e – статистически значимые различия между подгруппами по стрессоустойчивости

Так, содержание кортикостерона и глюкозы показало статистически значимые различия между ВУ, СУ и НУ животными опытной группы; при оценке оксидативного стресса в ткани миокарда травмированных животных выявлены различия между ВУ и НУ к стрессу животными. Полученные данные свидетельствуют о том, что, во-первых, стресс-ассоциированные показатели в посттравматическом периоде УС различаются в зависимости от исходной стрессоустойчивости экспериментальных животных, а, во-вторых, ранжирование крыс по времени плавания с грузом позволяет сформировать подгруппы с различной стрессовой реактивностью. Примечательно, что различия в уровнях кортикостерона и глюкозы в плазме крови выявляются только в состоянии стресса, сопряженного с тупой травмой сердца. В контрольной группе статистически значимых различий этих показателей между животными с различной стрессоустойчивостью не обнаружено.

Для расчета минимального размера выборки были рассчитаны медианы, средние значения и стандартные отклонения по ключевым показателям в группах сравнения. На основе этих данных при помощи онлайн-калькулятора [12] был рассчитан минимальный объем выборки. Сравнивались контрольные и опытные группы с одинаковыми характеристиками стрессоустойчивости, а также проводилось исследование внутри опытной группы между подгруппами с различной стрессоустойчивостью. Обобщенные данные о минимальном количестве животных в подгруппах с различной стрессоустойчивостью по каждому исследуемому показателю (табл. 2) позволяют сделать вывод: несмотря на небольшое колебание размера выборки в большую или меньшую сторону, 8 животных в среднем достаточно для исследования выбранных переменных.

Таблица 2

Расчетный размер выборки в контроле и опыте для каждой отдельной подгруппы крыс с различной стрессоустойчивостью по исследуемым показателям

Показатель	Минимальный размер выборки (число животных)
Кортикостерон (кровь)	5–7
Глюкоза (кровь)	4–8
Восстановленный глутатион (миокард)	6–11
Общая антиоксидантная способность (миокард)	8–11
Общее содержание лейкоцитов (кровь)	7–16
Содержание нейтрофилов (кровь)	6–12

В соответствии с задачами исследования на втором этапе изучалось влияние агониста опиатных рецепторов и блокатора минералокортикоидных рецепторов на течение посттравматического периода УС у крыс с различной стрессоустойчивостью. Для выполнения этой задачи необходимо было сформировать еще 2 группы с фармакологической модуляцией, причем с представительством в каждой из них животных трех подгрупп с различной стрессоустойчивостью. Таким образом, суммарно нужно было сформировать еще 6 подгрупп по 8 животных в каждой. С этой целью к ранжированным, но не вошедшим в исследование на первом этапе, необходимо было добавить определенное количество животных для комплектации подгрупп опытных групп численностью 8 особей каждая. С этой целью ранжированию были подвергнуты еще 86 крыс.

Для повышения чувствительности ранжирования животных на этом этапе использовались оба теста (ПП и ОП), причем способ оценки стрессоустойчивости в открытом поле был изменен. Основанием послужили наблюдения, сделанные на первом этапе эксперимента, а также данные литературы об обоснованности применения кластерного анализа (а не конкретного коэффициента) для ранжирования крыс по стрессоустойчивости в тесте «Открытое поле» [17, 18], что не усложняет процесса проведения эксперимента благодаря доступности вычислительной техники. Суть наблюдения заключается в том, что показатель «время выхода в центр арены» оказывает слишком большое влияние на коэффициент стрессоустойчивости – часть животных все время бежит по периферии и не выходит в центр.

В связи с этим было принято решение использовать методы статистической классификации для разделения животных по данным теста «Открытое поле», заменив при этом показатель времени выхода в центр арены на время замираний по ходу движения. Этот показатель в литературе считается признаком страха и низкой устойчивости к стрессу у крыс [19]. Разделение животных по стрессоустойчивости на 3 подгруппы осуществлялось при помощи иерархического кластерного анализа методом внутригрупповой связи. Учитывая неоднородность переменных, была применена стандартизация данных методом z-оценки.

В результате были получены 3 достаточно близкие по численности подгруппы (рис. 4), корректность разделения на которые была проверена при помощи критерия Манна–Уитни. При этом выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между полученными подгруппами по показателям горизонтальной двигательной активности, вертикальной двигательной активности и времени замирания. Число пересечений в оценке результатов по двум тестам в пределах одной подгруппы получилось близким во всех подгруппах и составило около 30–39%, а крыс, получивших идентичную оценку в обоих тестах, оказалось достаточно для нужд второго этапа исследования.

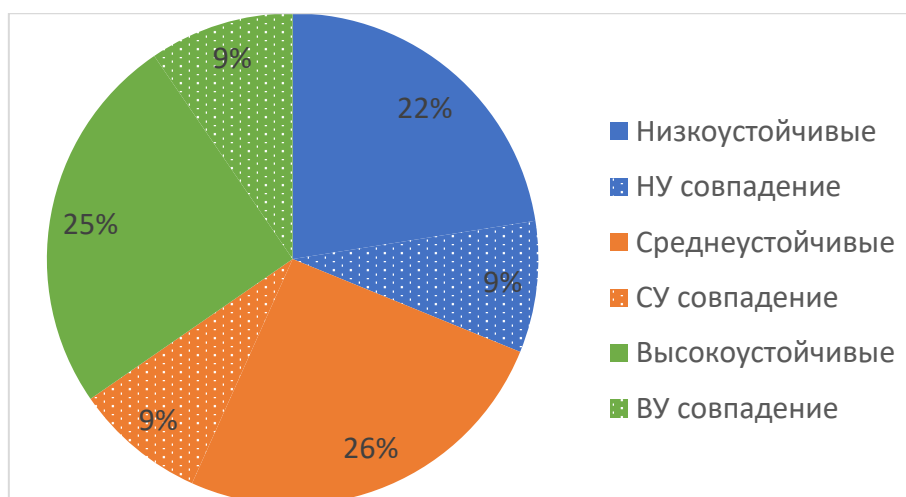


Рис. 4. Распределение животных (%) по стрессоустойчивости в тестах «Открытое поле» и «Принудительное плавание» на втором этапе исследования. Зоны совпадения результатов двух тестов отмечены белыми точками на цветном фоне

Таким образом, для второго этапа исследования были отобраны по 8 животных каждого типа стрессоустойчивости (подгруппы ВУ, СУ, НУ) в опытные группы УС+Д и УС+Э. Результаты биохимических и гематологических исследований обнаружили статистически значимые различия между опытными группами с применением препаратов (УС+Д и УС+Э) и без фармакологического вмешательства (УСО), а также частично сохранились различия исследованных показателей между подгруппами ВУ, СУ и НУ животных внутри каждой из групп УС+Д и УС+Э (рис. 3).

Эти данные подтверждают обоснованность сочетанного применения поведенческих тестов для ранжирования нелинейных крыс с учетом индивидуальной стрессоустойчивости в условиях экспериментального ушиба сердца. Вероятно, подобная методика применима для изучения роли индивидуальной стрессовой реактивности и на других моделях.

Заключение

Сочетанное применение теста «Принудительное плавание» с грузом и теста «Открытое поле» в предложенной модификации позволяет отобрать животных с самыми ярко выраженными поведенческими характеристиками стрессоустойчивости и, как следствие, формировать группы аутбредных крыс с различной стрессовой реактивностью. Эффективность методики подтверждается полученными на модели ушиба сердца статистически значимыми различиями по ряду аффилированных со стрессом биохимических и гематологических показателей в зависимости от исходной стрессоустойчивости животных через сутки после травмы, в том числе в условиях фармакологической коррекции.

Медиана, средние значения и стандартные отклонения аффилированных со стрессом показателей в группах сравнения с использованием онлайн-калькулятора позволяют

рассчитать минимальный объем выборки для выявления различий в течении посттравматического периода экспериментального ушиба сердца, обусловленных индивидуальной стрессоустойчивостью.

Список литературы

1. Bali A., Jaggi A.S. Preclinical experimental stress studies: protocols, assessment and comparison. *European Journal of Pharmacology*. 2015. no. 746. P. 282-292. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.10.017.
2. Геворкян В.С., Геворкян И.С. Современные исследования воздействия различных стресс-факторов на крыс и мышей // *Электронное научное издание Альманах Пространство и Время*. 2017. Т. 15. № 1. С. 9.
3. Козлов А.Ю., Никенина Е.В. Ноцицептивная чувствительность крыс с различной прогностической устойчивостью к стрессу // *Академический журнал Западной Сибири*. 2018. Т. 14. № 2. С. 40-43.
4. Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Горячева М.А. Применение теста "принудительное плавание" при проведении доклинических исследований // *Международный вестник ветеринарии*. 2015. № 4. С. 90-95.
5. Molendijk M. L., de Kloet E. R. Coping with the forced swim stressor: Current state-of-the-art. *Behavioural Brain Research*. 2019. no. 364 P. 1-10. DOI:10.1016/j.bbr.2019.02.005.
6. Dos Reis I., Martins L., de Araujo G. G., Gobatto C. A. Forced Swim Reliability for Exercise Testing in Rats by a Tethered Swimming Apparatus. 2018. *Frontiers in physiology*. vol. 9. P. 1839. DOI: 10.3389/fphys.2018.01839.
7. Бахтиярова Ш.К., Капышева У.Н., Аблайханова Н.Т., Баимбетова А.К., Жаксымов Б.И., Корганбаева А.А., Ыдырыс А., Болатхан М.Б., Даутова М.Б. Поведение животных в различных тестах // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017. № 8. С. 92-96.
8. Судаков С.К., Назарова Г.А., Алексеева Е.В., Башкатова В.Г. Определение уровня тревожности крыс: расхождение результатов в тестах «открытое поле», «крестообразный приподнятый лабиринт» и тесте Фогеля // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013. Т. 155. № 3. С. 7-12.
9. Исламов Р.А. Методология эксперимента с использованием лабораторных животных // *Вестник КазНМУ*. 2016. №1. С.489-492.
10. Липатова А.С., Поляков П.П., Каде А.Х. Влияние транскраниальной электростимуляции на выносливость крыс с разной устойчивостью к стрессу // *Биомедицина*.

2018. №. 1. С. 84-91.

11. Юдицкий А.Д., Пермяков А.А., Елисеева Е.В., Щепина Т.П., Исакова Л.С. Паттерны поведения и мотивации у крыс с различной прогностической устойчивостью к стрессу // Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле. 2014. № 4. С. 72-82.

12. Способ моделирования ушиба сердца у мелких лабораторных животных (полезная модель): пат. 37427 Российская Федерация: МПК7 G 09B9/00 / Долгих В.Т., Корпачева О. В., Ершов А. В.; заявитель и патентообладатель Омская государственная медицинская академия. – № 2003133897/20 (036729); заявл. 24.11.03; опубл. 20.04.04, Бюл. № 11.

13. Sample size calculator for mann whitney test. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.benchmarksixsigma.com/calculators/sample-size-calculator-for-mann-whitney-test/> (дата обращения: 10.08.2022).

14. Приймак А.Б. Методы оценки стрессоустойчивости животных в эксперименте // Актуальные проблемы биомедицины – 2021: материалы XXVII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием, 25–26 марта 2021 года. СПб.: Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, 2021. С. 95-96.

15. Приймак А.Б., Корпачева О.В., Золотов А.Н., Новиков Д.Г. Стратегии адаптации при ушибе сердца у крыс с различной стрессоустойчивостью // Вестник СурГУ. Медицина. 2021. № 4. С.110-116.

16. Приймак А.Б., Корпачева О.В., Таран Н.И., Золотов А.Н. Реакция системы крови в остром посттравматическом периоде ушиба сердца у крыс с различной стрессоустойчивостью // Современные проблемы науки и образования. 2022. №1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31519> (дата обращения: 24.07.2022).

17. Гостюхина А. А., Замощина Т. А., Прокопова А. В., Зайцев К. В. Индивидуально-типологические особенности реагирования лабораторных крыс на многокомпонентный стресс // Современные вопросы биомедицины. 2022. Т. 6. No. 2(19). [Электронный ресурс]. URL: <https://svbskfmba.ru/arkhiv-nomerov/2022-2/gostyukhina2022> (дата обращения: 10.08.2022). DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_02_5.

18. Наследов А.Д. IBM SPSS Statistics 20 и AMOS: профессиональный статистический анализ данных. СПб.: Питер, 2013. 416 с.

19. Gould T.D., Dao D.T., Kovacsics C.E. The Open Field Test. In: Gould, T. (eds) Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. Neuromethods. 2009. vol. 42. DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9_1.