

Научный журнал.

Основан в 2005 году Научным центром биомедицинских технологий РАМН

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати
Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324
09.06.2005г.

Подписной индекс 57995 в Каталоге «Издание органов научно-технической информации» ОАО «Роспечать»

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (редакция — март 2010 года)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор Н. Н. Каркищенко,
академик РАН, член-корреспондент РАМН

Г. Д. Капанадзе (д.б.н., зам. главного редактора),
В. Н. Каркищенко (д.м.н., проф., зам. главного редактора),
Л. Х. Казакова (к.б.н.), Ю. С. Макляков (д.м.н., проф.), Е. Л. Матвеев (к.э.н., доц.),
А. Н. Мурашев (д.б.н., проф.), Г. В. Раменская (д.ф.н., проф.), А. О. Ревякин (к.б.н.),
И. В. Сарвилина (д.м.н.), Х. Х. Семёнов (к.б.н.), Н. В. Станкова (к.б.н., ответственный секретарь),
Д. А. Сычев (д.м.н., проф.), Д. Б. Чайванов (к.ф.-м.н.), Е. В. Ших (д.м.н., проф.)

Редакционный совет:

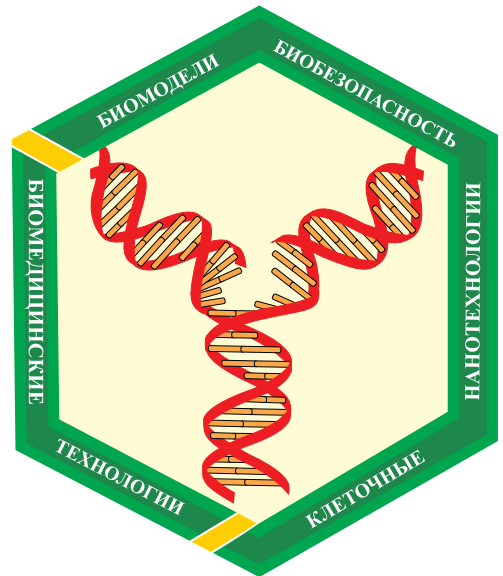
член-корр. РАН и РАМН К. В. Анохин, проф. Е. Е. Ачкасов, prof. Iorgen Backmen (Германия),
акад. РАМН и РАСХН В. А. Быков, проф. Витан Влахов (Болгария), акад. РАМН А. М. Дыгай,
prof. Moineao S.-F. D'Herelle (Канада), акад. РАМН С. И. Колесников, акад. РАМН А. А. Кубатиев,
акад. РАМН В. Г. Кукес, акад. РАН А. И. Мирошников, проф. С. П. Нечипоренко,
акад. РАН и РАМН М. А. Пальцев, акад. РАМН В. И. Петров, акад. РАМН К. В. Судаков,
акад. РАМН В. П. Фисенко, член-корр. РАМН Д. Ф. Хритинин, проф. Б. Д. Цыганков,
акад. РАМН В. Н. Ярыгин

Охраняется Законом Российской Федерации № 5351-1
«Об авторском праве и смежных правах» от 9 июля 1993 года
и иными нормативно-правовыми актами. Воспроизведение
всего издания, а равно его части (частей) без письменного
разрешения издателя влечет ответственность в порядке,
предусмотренном действующим законодательством.

Адрес редакции:

105064, Москва
Малый Казенный пер. 5, стр. 1
scbmt@mail.ru www.scbmt.ru
Тел.: 8 (495) 561-52-64

Отпечатано в типографии «Лин-Интер»
127591, Москва, ул. Дубнинская, д. 83а
Подписано в печать 07.12.2012 г.
Тираж 3 000 экз.



Содержание

НОВЫЕ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко Кинезогидродинамическая модель для оценки выносливости и работоспособности лабораторных животных	6
---	---

РАБОТОСПОСОБНОСТЬ И ВЫНОСЛИВОСТЬ В СПОРТИВНОЙ БИОМЕДИЦИНЕ

В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин, Л.Х. Казакова, О.В. Алимкина, Н.В. Касинская Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине	15
В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин, Н.В. Касинская, Х.Х. Семёнов, О.И. Степанова, С.Л. Люблинский, И.А. Берзин, И.Ю. Колышев Влияние рецептуры «МиоАктив-Спорт» на психофизические показатели лабораторных крыс	22
Е.М. Калинин, В.Н. Селуянов, С.К. Сарсания, В.А. Заборова, Аль Халили Моханед Метод кардиоинтервалографии при оценке аэробных возможностей спортсменов (на примере спортивных игр)	32
Ю.Г. Зюзькова, В.Е. Прокопьев, В.В. Удут, Л.Г. Воробьева, Н.Н. Каркищенко Возможности флуоресцентного (спектрального) экспресс-анализа твердых лекарственных форм	38

НОВЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ

Х.Х. Семенов, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, О.И. Степанова, Л.Х. Казакова, А.О. Ревакин, Н.В. Касинская, Е.Л. Матвеевко, С.Е. Деньгина, Ю.В. Фокин Влияние препаратов пептидного происхождения и их комбинаций на устойчивость крыс к острой гипобарической гипоксии	45
В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, Н.В. Станкова, А.О. Ревакин, Е.Л. Матвеевко, Р.Г. Костогрызова, С.Л. Люблинский, И.Ю. Колышев, И.А. Берзин Экспериментальная оценка адаптогенной активности новых лекарственных средств и веществ с использованием крупных лабораторных животных	49

СПОРТИВНОЕ ПИТАНИЕ

А.О. Ревакин, О.В. Алимкина, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, А.Г. Киселев, Л.Х. Казакова, О.И. Степанова, Н.В. Касинская, С.Е. Деньгина, С.Л. Люблинский, И.Ю. Колышев, И.А. Берзин Влияние рецептуры «МиоАктив-Спорт» на биохимические и гематологические показатели лабораторных крыс	59
А.О. Ревакин, О.В. Алимкина, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, А.Г. Киселев, Л.Х. Казакова, О.И. Степанова, Н.В. Касинская, С.Е. Деньгина, С.Л. Люблинский, И.Ю. Колышев, И.А. Берзин Исследование гормонального статуса лабораторных крыс при употреблении рецептуры «МиоАктив-Спорт»	67

В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, Н.В. Станкова, А.О. Ревакин, Е.Л. Матвеевко, Р.Г. Костогрызова, С.Л. Люблинский, И.Ю. Колышев, И.А. Берзин Оценка эффективности рецептуры «МиоАктив-Спорт» в модельных условиях высоких физических нагрузок	70
--	----

РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ

Т.Н. Саватеева-Любимова, К.В. Сивак Сравнительная оценка токсического действия лекарственных средств на интактных животных и в условиях моделирования патологических состояний	76
--	----

Д.А. Беляев, М.М. Пекелис, Ю.В. Фокин, Л.Х. Казакова Этологические аспекты крыс разных генетических линий на занятой и нейтральной территории	80
---	----

А.О. Ревакин, Г.Д. Капанадзе, С.Е. Деньгина, Н.В. Касинская, О.И. Степанова, Л.Х. Казакова, И.Ю. Колышев Моделирование стойкого токсического гепатита на мини-свиньях светлогорской популяции	92
---	----

А.В. Волков, В.А. Бадалян, А.А. Кулаков, И.И. Бабиченко, Г.Д. Капанадзе, Н.В. Станкова Гистоморфологические исследования взаимоотношений костной ткани с дентальным имплантатом	96
---	----

ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Л.А. Болотских, Н.Н. Каркищенко, Х.Х. Семенов, И.Ю. Егорова, Т.Б. Бескова, З.С. Лушников, Н.В. Касинская, Л.Х. Казакова Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических и биотехнических исследований	101
--	-----

МЕТОДЫ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Д.Б. Чайванов, Н.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин, В.Н. Каркищенко, Ю.А. Чудина, М.И. Стригина, Н.З. Орлова Физические методы оценки психофункционального состояния человека при электрической и магнитной стимуляции и в условиях сильных электромагнитных полей	106
--	-----

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Е.Е. Ачкасов, С.Ф. Алекперов, П.В. Мельников, И.Ю. Колышев, О.А. Калачёв, О.О. Орехов, Д.Ю. Каннер Гистопатоморфологические изменения кишечника при обтурационной опухолевой толстокишечной непроходимости	113
--	-----

И.В. Кулес, В.Н. Шан, М.К. Алимуратов, А.В. Семенов, В.М. Русейкин, Д.А. Сычев Организационные аспекты внедрения фармакогенетического тестирования в лечебно-профилактическую работу многопрофильного стационара	124
--	-----

Content

NEW BIOMEDICAL TECHNOLOGIES

N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko
Hydrokinesiodynamic model for the assessment of endurance and efficiency of laboratory animals..... 6

Working Capacity And Endurance In Sports Biomedicine

V.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, L.Kh. Kazakova, O.V. Alimkina, N.V. Kasinskaya
Methods of studying physiological functions of laboratory animals for preclinical researches in sports medicine..... 15

V.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, N.V. Kasinskaya, H.H. Semenov, O.I. Stepanova, S.L. Lyublinsky, I.A. Berzin, I.Yu. Kolyshev
Effect of composition "MioActive-Sport" on the psychophysical performance of laboratory rats..... 22

E.M. Kalinin, V.N. Seluyanov, S.K. Sarsaniya, V.A. Zaborova, Al Halili Mokhaned
Cardiointervalometry at an assessment of aerobic possibilities of athletes (for example, sports)..... 32

Yu.G. Zyuzkova, V.E. Prokopyev, V.V. Udut, L.G. Vorobyeva, N.N. Karkischenko
Possibilities of the fluorescent (spectral) express analysis of firm medicinal forms..... 38

NEW REGULATORY PEPTIDES

Kh.Kh. Semenov, N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, O.I. Stepanova, L.A. Bolotskykh, L.Kh. Kazakova, A.O. Revyakin, N.V. Kasinskaya, E.L. Matveyenko, S.E. Dengina, Yu.V. Fokin
Effect of drugs peptide origin and their combinations on the sustainability of the rats to acute hypobaric hypoxia..... 45

V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, N.V. Stankova, A.O. Revyakin, E.L. Matveyenko, R.G. Kostogryzova, S.L. Lyublinsky, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin
Experimental assessment of adaptogenic activity of new medicines and substances with use of large laboratory animals..... 49

SPORTS NUTRITION

A.O. Revyakin, O.V. Alimkina, N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, A.G. Kiselev, L.Kh. Kazakova, O.I. Stepanova, N.V. Kasinskaya, S.E. Dengina, S.L. Lyublinsky, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin
Influence of a composition "MioActive-Sport" on biochemical and gematological parameters of laboratory rats..... 59

A.O. Revyakin, O.V. Alimkina, N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, A.G. Kiselev, L.Kh. Kazakova, O.I. Stepanov, N.V. Kasinskaya, S.E. Dengina, S.L. Lyublinsky, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin
Research the hormonal status of laboratory rats at the use of a composition "MioActive-Sport"..... 67

V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, N.V. Stankova, A.O. Revyakin, E.L. Matveyenko, R.G. Kostogryzova, S.L. Lyublinsky, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin
Assessment of efficiency composition "MioActive-Sport" in modeling conditions of high physical activities..... 70

RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELING

T.N. Savateeva-Lyubimova, K.V. Sivak
Comparative evaluation of toxic effects drugs in intact animals (preclinical trials) and in modeling of disease..... 76

D.A. Belyaev, M.M. Pekelis, Yu.V. Fokin, L.Kh. Kazakova
Ethological aspects of rats different genetic lines on occupied and neutral territory..... 80

A.O. Revyakin, G.D. Kapanadze, S.E. Dengina, N.V. Kasinskaya, O.I. Stepanova, L.Kh. Kazakova, I.Yu. Kolyshev
Modelling of persistent toxic hepatitis on Svetlogorsk mini-pigs..... 92

A.V. Volkov, V.A. Badalyan, A.A. Kulakov, I.I. Babichenko, G.D. Kapanadze, N.V. Stankova
Histomorphological researches of relationship of a bone with dental implant..... 96

LABORATORY ANIMALS

L.A. Bolotskykh, N.N. Karkischenko, Kh.Kh. Semenov, I.Yu. Egorova, T.B. Beskova, Z.S. Lushnikova, N.V. Kasinskaya, L.Kh. Kazakova
Actual issues of laboratory animals standardization for biomedical and biotechnical researches..... 101

BIOMEDICAL METHODS

D.B. Chaivanov, N.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, V.N. Karkischenko, Yu.A. Chudina, M.I. Strigina, N.Z. Orlova
Physical methods of assessment functional state of a human brain at electric and magnetic stimulation or strong electromagnetic interference..... 106

CLINICAL RESEARCHES

E.E. Achkasov, S.F. Alekperov, P.V. Melnikov, I.Yu. Kolyshev, O.A. Kalachyov, O.O. Orekhov, D.Yu. Kanner
Histopathomorphological changes in bowel obstructive neoplastic colonic obstruction..... 113

I.V. Kukes, V.N. Shan, M.K. Alimuradov, A.V. Semenov, V.M. Ruseykin, D.A. Sychev
Organizational aspects of implementation pharmacogenetic testing in the treatment and prevention practice multidisciplinary hospital..... 124



Кинезогидродинамическая модель для оценки выносливости и работоспособности лабораторных животных

Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: академик РАРАН,

член-корр. РАМН Каркищенко Николай Николаевич, niknik2808@yandex.ru

Кинезогидродинамическая модель относится к гидроканалам с регулируемым током жидкости и может быть использована в научных целях при исследовании работоспособности и выносливости подопытных животных (крысы, собаки и др.), а также для оценки действия лекарственных и пищевых средств на эти процессы. Гидроканал оборудован домиком-приманкой, расположенным у торца подачи потока жидкости. Гидроканал снабжен градуировочной шкалой и специальными датчиками перемещения. Система предусматривает установление и поддержание постоянной температуры жидкости, снабжена видеокамерами сопровождения, а домик-приманка – емкостным датчиком, соединенным с системой отключения прокачки жидкости. Автоматический контроль осуществляется компьютером, на который замкнуты все системы датчиков. Модель включает математическое и гидродинамическое обоснование однозначной количественной оценки работоспособности и выносливости животных.

Ключевые слова: кинезогидродинамическая модель, выносливость, работоспособность, лабораторные животные.

Проблема оценки и количественного измерения выносливости и работоспособности людей, выполняющих работу при воздействии экстремальных факторов (водолазы, профессиональные пловцы, космонавты, спасатели, шахтеры и др.), а также спортсменов в условиях тренировочного и соревновательного процессов, особенно в режиме работы «до отказа», ставит задачи разработки и создания средств повышения энергетических ресурсов, защиты от вредных факторов среды, поиска недопинговых фармакологических средств коррекции и профилактики. Для оценки уровня подготовленности и переносимости сверх-

сильных и экстремальных физических и психоэмоциональных нагрузок требуется количественное измерение основных параметров организма человека. В качестве первого шага на этом пути необходимы адекватные доклинические и неклинические исследования на лабораторных животных, дающие возможность экстраполяции полученных данных и воздействия средств коррекции, а также профилактики с животных на человека. В доступной отечественной и зарубежной литературе, а также в результате проведения патентного поиска нами не найдено адекватного и однозначного метода, позволяющего построить

модель выносливости и работоспособности на лабораторных животных. Оценка выносливости и работоспособности в доклинических условиях осуществляется с помощью многочисленных методов, дающих неполное приближение к решению задачи, но позволяющих косвенно определить характер изменений в организме животных или человека [2].

Теоретические основы построения новой модели

Основным принципом предлагаемой модели является создание гидроканала с изменяющимся встречным потоком жидкости, который должно преодолевать подопытное животное. Теоретические основы предлагаемой модели базируются на законах и гипотезах гидродинамики. Математически это чрезвычайно сложный аппарат, который приближенно предсказывает движение реальных жидкостей путем использования дифференциальных уравнений в частных производных. Важнейшими моментами являются решение задач, относящихся как к началу состояния движения жидкости, ее взаимодействия со стенками и препятствиями, ограничивающими ее течение, а также к рассмотрению интегрального воздействия.

Основной вклад в формулирование законов движения жидкостей внесли Ньютон, Эйлер и Лагранж [1, 7]. Эйлером выведены основные уравнения для движения вязких жидкостей. Обозначим $u = u(x, t)$ в качестве вектора скорости жидкости в точке x в момент времени t . Пусть $\rho(x, t)$ означает плотность жидкости, $g(x, t)$ — внешнее гравитационное поле и $p(x, t)$ — давление в жидкости. Поскольку в экспериментах мы стараемся избегать явления турбулентности, которое вносит много неясных моментов

в конечный результат, то ламинарный поток может описываться уравнением неразрывности:

$$\operatorname{div}(\rho u) + \frac{\partial \rho}{\partial t} = 0 \quad (1)$$

Несомненным достоинством гипотезы Эйлера является описание гидродинамических характеристик непрерывных жидкостей, т.е. уравнение движения:

$$\frac{Du}{Dt} + \frac{1}{\rho} \operatorname{grad} p = g \quad (2)$$

Из этого уравнения вытекает уравнение состояния однородных невязких жидкостей, к которым, в частности, относится и вода:

$$\rho = h(p) \quad (3)$$

Движение жидкостей, удовлетворяющее уравнениям (1)-(3), принято обозначать термином баротропное течение.

На основании уравнений Эйлера (1)-(3), Гельмгольцем сформулирована теорема для баротропных течений:

$$u(x, t) = \nabla U = \operatorname{grad} U \quad (4)$$

Уравнение (4) справедливо для локальных безвихревых потоков и является основой для уравнения Бернулли, которое действительно для несжимаемых течений и отсутствия вихревых потоков:

$$p = P(t) - \rho_0 \left\{ \frac{1}{2} \nabla U \nabla U + \frac{\partial U}{\partial t} + G \right\} \quad (5)$$

Естественно, что подобное уравнение описывает идеальные условия в эксперименте, достигнуть которые весьма сложно или даже невозможно. Во всех случаях, когда осуществляется медико-

биологический эксперимент, наличие экспериментальных животных (крысы, собаки и т.д.) даже в «идеальном» ламинарном потоке будет создавать вихревые явления (рис. 1).

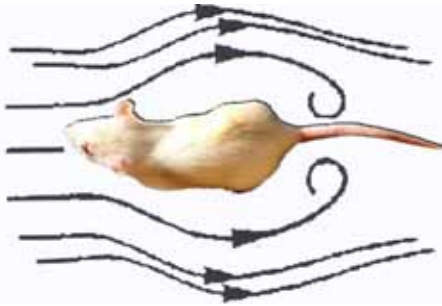


Рис. 1. Турбулентные и вихревые потоки, создаваемые в экспериментальной установке в условиях нахождения животного даже в «идеальном» ламинарном потоке.

Ламинарное течение можно достаточно точно описать некоторыми уравнениями – например, уравнением Навье-Стокса [1, 7]. Переход ламинарного течения в турбулентное описывается критическим числом Рейнольдса (Рекр). Из уравнений Рейнольдса вытекает следующий существенный вывод. При турбулентном движении вихревые потоки и беспорядочные пульсации колеблются вокруг некоего среднего значения, которое определяет конечную скорость турбулентного потока:

$$V_x(t) = \bar{V}_x + V_*^x(t), \quad (6)$$

где \bar{V}_x – осредненная за большой интервал времени скорость; $V_*^x(t)$ – пульсации скорости.

Скорость потока, обтекающего тело экспериментального животного, наиболее ярко проявляется вблизи поверхности тела и называется пограничным слоем. В свою очередь, толщина пограничного слоя влияет на так называемое касательное напряжение. Касательное

напряжение существенно влияет на сопротивление жидкости, особенно в условиях турбулентного режима [7].

Обтекание жидкостью выпуклой поверхности в передней и задней частях повышенное, а в средней части – пониженное. Это, в свою очередь, вызывает вращение жидкости и появление крупных вихрей, что существенно влияет на сопротивление водной среды движения животного (рис. 2).

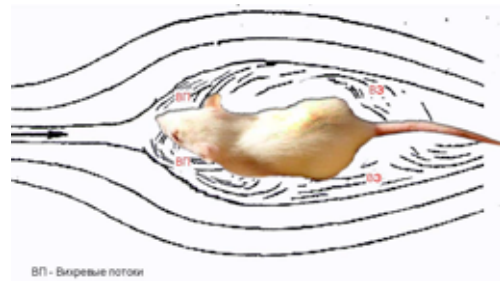


Рис. 2. Формирование вихревых потоков при движении животного в гидроканале, где ВП – формирование вихревых потоков в передней части, а ВЗ – формирование вихревых потоков в задней части животного.

Это существенно для расчета сопротивления среды движению экспериментального животного. Например, на определенном расстоянии перед телом животного, где поток не возмущен, скорость равна V_0 , а давление равно p_0 ,

$$p_0 + \frac{1}{2} \rho V_0^2 = p_1 + \frac{1}{2} \rho V_1^2 \quad (7)$$

Тогда давление в любой произвольной точке поверхности тела животного описывается

$$p_1 - p_0 = c_p \frac{\rho V_0^2}{2} \quad (8)$$

В соответствии с формулой (8) можно получить значение скоростного напора $\frac{\rho V_0^2}{2}$, а также коэффициент давления c_p .

Поскольку коэффициент c_p не зависит от рода жидкостей, а определяется только формой тела животного, то это создает удобство для экспериментатора в построении модели обтекания тела животного водным потоком.

В свою очередь, для измерения сопротивлений в потоке жидкости можно воспользоваться модифицированной трубкой Пито-Прандтля (рис. 3).

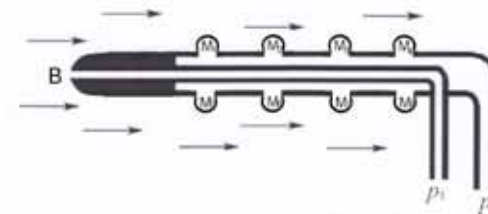


Рис. 3. Принцип измерения давлений в экспериментальной камере при нахождении в ней животного на основе использования модифицированной трубки Пито-Прандтля (в нашей модификации), где M_1 - M_8 – манометры и датчики перемещения экспериментальных животных.

Этим приемом мы определяем разность полного давления p_1 (вход в трубку в точке В) и значения давления в точке p_0 , а также промежуточных давлений в точках M_1 - M_8 . На основании выше приведенных формул можно вычислить скорость течения v_0 . Соответствующая градуировка манометров и наличие датчиков перемещения животных позволяет определить их скоростные характеристики в каждой конкретной точке от M_1 до M_8 .

Техническая реализация модели

Техническим результатом модели является получение однонаправленного ламинарного потока жидкости с относительно равномерным течением в небольшом объеме и расширение функциональных возможностей гидроканала

за счет оборудования системы средствами измерения, контроля и слежения за перемещением находящегося в нем объекта, а также оборудования чаши водосборниками.

Поставленный технический результат достигается тем, что гидроканал с искусственным течением, содержащий чашу с дном и бортами для протока жидкости, соединенные с ней трубопроводы и циркуляционный насос с возможностью регулирования скорости подачи жидкости, дополнительно содержит примыкающие к торцам чаши водосборники, домик-приманку, расположенный у торца входа потока жидкости, один из бортов в верхней части снабжен градуировочной шкалой и датчиками перемещения. Трубопроводы снабжены теплообменником с возможностью нагрева или охлаждения прокачиваемой жидкости. Кроме того, чаша может быть снабжена следящей видеокамерой сопровождения, домик-приманка снабжен емкостным датчиком, соединенным с системой отключения прокачки жидкости, и чаша в поперечном сечении выполнена прямоугольной или в виде равнобокой трапеции основанием вниз.

Выбор гидроканала как инструмента исследования кинезодинамики, в частности, выносливости подопытных животных и их поведения под действием различных препаратов при плавании объясняется тем, что наиболее энергозатратной работой организма является именно плавание, поскольку при этом расходуются как мышечная энергия, так и энергия на поддержание температуры тела.

Собственно, для целей исследования кинезодинамики подопытных животных в процессе плавания равномерность течения потока не так существенна, как существенна его ламинарность. Ламинарность потока обеспечивают водосборники, при-

мыкающие к торцам чаши гидроканала. В стенках водосборников, общих с чашей, выполнены отверстия для прохода жидкости, которые и обеспечивают ламинарное протекание (как подачу, так и отток жидкости). Кроме того, существенной является возможность быстрого перенастраивания системы, в частности, по скорости протекания жидкости и по температуре.

Понятно и объяснимо, что в процессе плавания человек сознательно выбирает направление и конечную цель плавания. У подопытного животного, насильственно помещенного в воду, нет иной мотивации к плаванию кроме инстинкта самосохранения: и направление плавания, и цель его у такого животного одна – по кратчайшему пути к ближайшему «берегу», т.е. стенке водоема (бассейна). При этом животное может цепляться за стенки гидроканала (или за дно при недостаточно большой глубине). Поэтому для чистоты эксперимента гидроканал выполняют достаточной глубины, а профиль поперечного сечения выполняют прямоугольным или в виде равнобокой трапеции основанием вниз. «Правильное» направление движения у подопытных животных вырабатывают тем, что в конце маршрута в гидроканале (в нашем случае – у торца подачи потока жидкости в чашу) помещают домик-приманку. Это может быть плавучее устройство типа спасательного плотика, которое можно в процессе тренировки (или обучения) передвигать все ближе к концу маршрута, или же устройство, имитирующее норку, например, типа скворечника, и др., схожие по функциональным признакам, устройства или приспособления.

Установленные на борту гидроканала градуировочная шкала и датчики перемещения, а также видеочасть сопровождающая обеспечивают корректную ре-

гистрацию кинезодинамики и скорости перемещения и продолжительности плавания (что регулируется, в частности, изменением скорости потока жидкости) подопытного животного.

В целом, вся система со всеми узлами управления, регулирования и регистрации скоммутирована с компьютером и снабжена соответствующим программным обеспечением.

В качестве чаши гидроканала может быть использован сосуд в виде параллелепипеда – соответственно, прямоугольной формы в поперечном сечении, или же в виде равнобокой трапеции, выполненный из прозрачного пластика (полистирол, поликарбонат и т.п.). То же самое касается и водосборников.

На рис. 4 представлена принципиальная схема кинезогидродинамической модели Каркищенко.

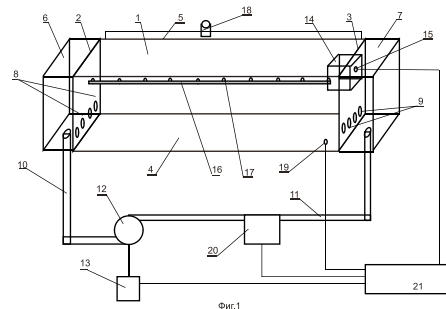


Рис. 4. Принципиальная схема кинезогидродинамической модели. Обозначения: 1 – чаша; 2, 3, 4, 5 – торцевые и боковые стенки чаши, соответственно; 6 и 7 – сообщающиеся с атмосферой водосборники; 8 и 9 – входные и сливные отверстия, соответственно; 10 и 11 – трубопроводы; 12 – циркуляционный насос; 13 – регулятор скорости вращения; 14 – домик-приманка; 15 – емкостной датчик отключения системы прокачки; 16 – калибровочная шкала; 17 – датчики перемещения; 18 – видеочасть сопровождающая; 19 – датчик температуры; 20 – узел подогрева или охлаждения прокачиваемой жидкости; 21 – компьютер.

Экспериментальные исследования

Для исследования кинезогидродинамических характеристик подопытных животных (лабораторные крысы WAG/GY) используют гидроканал (физические размеры чаши гидроканала в виде параллелепипеда – прямоугольная форма в поперечном сечении – составляют 0,4×0,2×0,4 м). Высота уровня жидкости равна 0,2 м (рис. 5, 6).

Лабораторных крыс содержат в конвенциональных условиях, в вентилируемых клетках «RAIR Isosystem», кормят гранулированным комбикормом фирмы «Лабораторкорм» ad libitum. Поение также ad libitum. Дополнительно к этому еженедельно им выдают белково-витаминную подкормку, в состав которой входит сухое молоко, овсянка, витамины А, Е, D в масле.

На первом этапе оценивалась способность подопытных животных к плаванию и поиску домика-приманки в спокойной воде. Проводились сравнительные исследования плавания с дополнительным грузом.

Масса животных к началу эксперимента составляла $200 \pm 12,2$ г. В экспери-

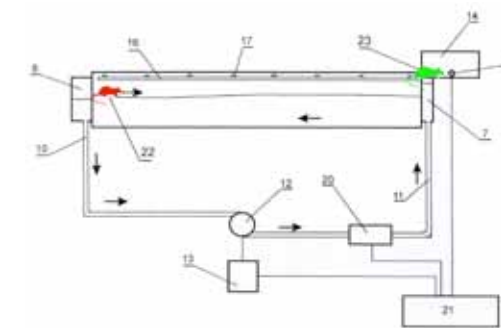


Рис. 5. Схема эксперимента в модели при встречном потоке жидкости. Основные обозначения те же, что и на рис. 4; 22 – исходная для принудительного плавания позиция подопытного животного; 23 – ожидаемая позиция подопытного животного в домике-приманке.

менте были использованы 60 крыс, самки. Плавание осуществляется как без груза, так и с грузом (свинцовый груз на резиновом кольце, прикрепляемый к корню хвоста), равным 7% от веса тела. После заплыва животное быстро извлекали из домика-приманки, и обсушивали сухим полотенцем. Животные, длительность плавания которых при рандомизации отклоняется от среднего времени плавания на 35%, исключаются из эксперимента. Животные предварительно в течение 3-х дней «тренировались», обучались плаванию. Заплыв осуществлялся в 3 этапа, на 2, 4 и 6-е сутки после обучения.

Экспериментальные животные всех групп за время эксперимента незначительно уменьшали время плавания в гидроканале, видимо, за счет адаптации к стрессовой ситуации и долгих тренировок. На 4-й день эксперимента крысы без груза плавали на 4%, а на 6-й день – на 9% быстрее, чем на 2-й день.

Животные с грузом проплывали дистанцию на 5-7% дольше, чем животные без груза. Они, как и животные без груза, плавали быстрее по сравнению со 2-м днем заплыва. Превосходство на 4-й день составило 8%, а на 6-й день – 12% по сравнению со 2-м днем эксперимента.



Рис. 6. Плавание крысы в бассейне, построенном на основе кинезогидродинамической модели

Исследования показали, что в отличие от традиционного теста «вынужденного» плавания (модифицированного теста Порсолта), дополнительный груз практически не влиял на время преодоления дистанции.

На следующем этапе исследовалось плавание животных во встречном потоке жидкости. После включения циркуляционного насоса система стабилизируется по скорости квазиламинарного потока воды не ниже 5 м/мин и температуре воды +24°C.

Подопытное животное помещают в чашу гидроканала у торца и отслеживают движение подопытного животного по направлению к домику-приманке. При необходимости отслеживают и фиксируют перемещение подопытного животного видеокамерой сопровождения. Когда животное достигает домика-приманки, срабатывает датчик, и прокачка воды прекращается. Подопытное животное извлекают из домика-приманки. Возможен также вариант, при котором эксперимент по исследованию кинезодинамических характеристик подопытных животных ведут в непрерывном режиме.

Следует отметить, что заявляемая полезная модель позволяет получить через определение кинезодинамических характеристик исчерпывающую информацию о действии на подопытных животных различных препаратов, лекарственных средств, биостимуляторов, пищевых добавок и т.п. веществ.

Обсуждение результатов

Таким образом, мы можем объективно измерить характеристики работоспособности и выносливости экспериментальных животных на каждом отрезке его движения в гидроканале и соотнести их с тем или иным биохимическим путем расходования энергии. В настоящее время считается доказанным [3, 4, 5, 6], что при максимальном

физическом напряжении энергопродукция и ее источники меняются в зависимости от продолжительности работы в режиме «до отказа» (табл.).

Очевидно, что организму для обеспечения мышечной деятельности необходимо наличие энергии. Дальнейшую трактовку мы приводим по данным [9]. Производство энергии в мышечных волокнах происходит путем отщепления от молекулы АТФ фосфатных групп. Запасы АТФ в мышечных волокнах ограничены, и их хватает для производства энергии в течение очень короткого времени (1-4 сек). Такой механизм энергопродукции используется при развитии максимальной скорости при максимальной скоростно-силовой деятельности и в начале интенсивной нагрузки. По мере выполнения физической нагрузки появляется необходимость в пополнении запасов АТФ. После исчерпания запасов АТФ восполнение их возможно несколькими способами. Механизм и скорость образования энергии зависят от величины, интенсивности, продолжительности и вариативности физической нагрузки. Существует два основных механизма энергообеспечения – анаэробный и аэробный.

При анаэробной продукции энергии синтез АТФ осуществляется, в основном, за счет креатинфосфата. Фосфокреатин – «аварийный запас» высокоэнергетического фосфата, который можно использовать для быстрого образования АТФ. В период покоя креатинкиназа фосфорилирует креатин до фосфокреатина. Если сделать резкое усилие/ускорение/рывок, то после исчерпания свободных АТФ фосфокреатин быстро отдает фосфатную группу АДФ, в результате чего образуется новая молекула АТФ.

Скорость реакции высокая, поэтому запасы креатинфосфата расходуются быстро (8-10 сек). Для развития такого механизма энергообеспечения спортсменами в трени-

Энергопродукция при максимальном физическом напряжении

Продолжительность нагрузки	Энергопродукция	Источник энергии	Примечания
1-4 сек	Анаэробная алактатная	АТФ	-
4-20 сек	Анаэробная алактатная	АТФ + КФ	-
20-45 сек	Анаэробная лактатная	АТФ + КФ + гликоген	Высокая продукция лактата
45-120 сек	Анаэробная лактатная	Гликоген + глюкоза	Высокая продукция лактата
120-240 сек	Аэробная + анаэробная лактатная	Глюкоза + гликоген	Снижение продукции лактата
240-600 сек	Аэробная	Глюкоза	Низкая продукция лактата
>30 мин	Аэробная	Глюкоза + жиры	Включение жиров в энергообразование

ровочном процессе используются короткие упражнения скоростного или силового характера в виде серий с максимальной степенью напряжения. Восстановление неполное, а период отдыха между сериями достаточен для ресинтеза АТФ (3-5 мин).

После того как АТФ гидролизует для высвобождения энергии, в клетках образуется и накапливается АДФ (аденозиндифосфорная кислота), которая также содержит энергоемкую фосфоангидридную связь. Эта энергия становится доступной после того как в анаэробных условиях две молекулы АДФ под воздействием аделилаткиназы образуют АТФ.

Данный механизм энергообеспечения является резервным и включается при исчерпании организмом других возможностей ресинтеза АТФ; не образуют молочную кислоту и ее соли – лактаты, поэтому они относятся к анаэробным алактатным механизмам продукции АТФ.

Существует анаэробный метаболизм глюкозы и гликогена с образованием АТФ. В процессе анаэробного гликолиза постоянно образуется лактат из глюкозы в эритроцитах, сетчатке и мозговом веществе почек. Этот лактат снова превращается в глюкозу в печени, в так называемом цикле Кори. Важно отметить, что при интенсивных тренировочных нагрузках лактатный анаэробный процесс достаточно трудно нормализуется, и равновесие «лактат – глюкоза» долго

восстанавливается между нагрузками.

Аэробный синтез АТФ включается после исчерпания «быстрых» ресурсов, для обеспечения энергией. Он заключается в окислении глюкозы и жирных кислот в митохондриях до углекислого газа и воды. При таком полном «сжигании» образуется в несколько раз больше молекул АТФ, чем при анаэробном процессе. В этот процесс вовлекается окисление липидов, причем продукция АТФ увеличивается более чем в 3 раза по сравнению с окислением глюкозы. В заключении следует отметить, что все эти процессы составляют единую дыхательную цепь за счет окисления углеводов и жирных кислот. Дыхательная цепь состоит из 5 комплексов и использует НАДН и ФАДН₂.

Сопоставляя этапы энергопродукции, продолжительность нагрузки (табл.) с кинезогидродинамическими показателями плавания, можно количественно определить с помощью данной модели этапы переключения аэробных и анаэробных процессов по времени и интенсивности нагрузки.

Предварительные исследования нейрорепродуктивных средств и новых пептидных продуктов показали преимущество оценки их влияния на работоспособность и выносливость в этой модели в сравнении с традиционными и общепринятыми методами, такими как тест «вынужденного» плавания, ротарод, тредбан и др. Преимущество заключается, прежде

всего, в объективизации и визуализации регистрируемых эффектов, получении дополнительной информации, сравнении и корреляции с биохимическими параметрами, исключении субъективных и неточных методов измерений, применяющихся в других методах. Конкретные данные по действию нейропсихотропных препаратов, регуляторных пептидов и средств, повышающих физическую и психоэмоциональную работоспособность, на основе описанной модели, будут приведены нами в следующих публикациях.

Список литературы

1. Биркгоф Г. Гидродинамика. Методы. Факты. Подobie. – Гос. изд-во иностранной литературы. 1963. 246 с.
2. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х., Алимкина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. № 4. 2012 (в печати).
3. Каркищенко Н.Н. Фармакология

процессов адаптации и переносимости предельных нагрузок в спорте и режимах работы «до отказа»: второй тайм для дженериков // Биомедицина. № 4. 2010. С. 6-23.

4. Ландырь А.П., Ачкасов Е.Е. Мониторинг сердечной деятельности в управлении тренировочным процессом в физической культуре и спорте. – М.: Триада-Х, 2011. 176 с.

5. Метаболизм в процессе физической деятельности / под ред. М. Харгривса. – Киев: Олимпийская литература. 1998. 286 с.

6. Михайлов С.С. Спортивная биохимия. – М.: Советский спорт, 2010, 348 с.

7. Основы гидродинамики : учеб. пособие / С. Д. Чижиумов. – Комсомольск-на-Амуре : ГОУВПО «КНАГТУ». 2007. 106 с.

8. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль–2С. 2010. 358 с.

9. Солвей Дж. Г. Наглядная медицинская биохимия. – М.: ГЭОТАР-Медиа.

Hydrokinesiodynamic model for the assessment of endurance and efficiency of laboratory animals

N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko

Hydrokinesiodynamic model refers to hydrochannels with adjustable shock fluid and can be used for scientific purposes in the study of efficiency and endurance of the experimental animals (rats, dogs, etc.), as well as for the evaluation of the medicinal and food resources for these processes. Hydrochannel is equipped with a house-bait, located at the side of the feed flow of the liquid. Hydrochannel is equipped with strapping scale and special sensors of movement. The system provides for establishing and maintaining a constant temperature of the fluid, equipped with video cameras support, and house-bait - capacitive sensor connected to the shutdown system pumping fluid. Automatic control is carried out by a computer, on which closed all sensor systems. Model includes mathematical and hydrodynamic rationale clear quantitative assessment of the efficiency and endurance of the animals.

Key words: hidrokinesiodynamic model, efficiency, endurance, laboratory animals.



РАБОТОСПОСОБНОСТЬ И ВЫНОСЛИВОСТЬ В СПОРТИВНОЙ БИОМЕДИЦИНЕ

Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине

В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин, Л.Х. Казакова, О.В. Алимкина, Н.В. Касинская

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: д.м.н., проф. Каркищенко Владислав Николаевич, scbmt@yandex.ru

Описаны методики, применяемые в доклинических исследованиях при разработке фармакологических субстанций для различных целей спортивной медицины. Рассмотрены основные моторные, сенсорные и когнитивные функции, а также выносливость и работоспособность.

Ключевые слова: лабораторные животные, методология, спортивная медицина, доклинические исследования.

Спорт высших достижений, как правило, сопряжен с экстремальными физическими и эмоциональными нагрузками, предъявляющими повышенные требования к здоровью. Как отмечали еще античные «отцы-основатели» медицины, организм регулярно и усиленно тренирующегося спортсмена отличается от обычного организма не в лучшую сторону. Еще Гиппократ (460-477 гг. до н.э.) писал: «Организм атлета нельзя считать «естественным», а Клавдий Гален (131-200 гг.), много лет занимавшийся наблюдением и лечением профессиональных спортсменов того времени – гладиаторов, еще более расширил это положение: «Жизнь атлета полностью противоположна тому, что предписывает гигиена, я считаю, что их образ жизни более способствует болезням, чем здоровью».

Спортивная фармакология — это, прежде всего, фармакология здорового человека, позволяющая расширить возможности приспособления организма к чрезвычайно большим нагрузкам спорта высших достижений, которые граничат с возможностями конкретного спортсмена. Рациональное применение препаратов при экстремальных тренировочных и соревновательных нагрузках способствует достижению собственного рекордного результата, поэтому фармакология спорта изучает влияние препаратов, которые повышают физическую работоспособность, психическую устойчивость и способность организма к быстрому восстановлению ресурсов [20].

Первым этапом разработки любой фармакологической субстанции являются доклинические исследования. Важ-

ной их составляющей является изучение влияния веществ-агентов на системы органов и организм в целом. По причине отсутствия единой регламентированной методики для доклинической оценки выносливости, работоспособности, стрессоустойчивости и проч. показателей психофизического и эмоционального состояния животных в настоящее время используется вся батарея стандартных тестов для поведенческого фенотипирования – SHIRPA-протокол [1, 6, 8, 13]. Он позволяет выявить нарушения в нервно-мышечной, сенсорной и вегетативной системах организма. Некоторые методики этого протокола пригодны для использования в доклинических исследованиях.

Для изучения веществ, способствующих повышению работоспособности, выносливости и др. качеств, необходимых для достижения высоких спортивных результатов, в доклинических исследованиях имеет смысл обращать внимание на моторные, сенсорные и когнитивные функции лабораторных животных. Взаимосвязь между этими функциями и работоспособностью представлена на рис. 1.

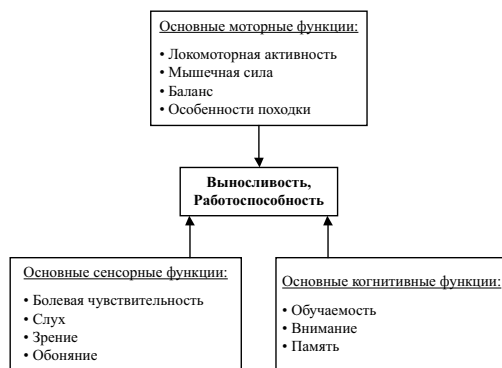


Рис. 1. Взаимосвязь между функциями организма.

Методики, рекомендуемые для оценки локомоторной активности

«Открытое поле» (*open field*). Этот тест был разработан американским исследователем Холлом [12] для оценки общей и исследовательской активности. Классическая установка представляет собой арену, поделенную на одинаковые квадраты. В центр помещается животное, регистрируется число пересеченных квадратов, то есть пройденное за определенное время (обычно 10 мин) расстояние.

Современные установки снабжаются фотоэлементами либо датчиками вибрации, и процессорами, позволяющими фиксировать различные виды локомоторной активности (базовую, исследовательскую, груминг, вертикальную активность, стереотипные движения), фиксировать траекторию движения, рассчитывать соотношения нахождения животного в центре и на периферии поля. Данные преобразовываются в цифровой формат.

Ротарод (*rotarode*) (рис. 2). Прибор, разработанный в 50-х г. XX века [9]. Предназначен для оценки чувства равновесия, способности балансировать на вращающемся барабане. Под барабаном расположена решетка, на которую подается напряжение. Увеличение скорости



Рис. 2. Тест на ротароде.

вращения провоцирует более быстрое падение с установки. Обычно регистрируется максимальная скорость вращения барабана, при которой животное может на нем удержаться в течение заданного времени (как правило, не более 30 секунд), или время падения с ротарода на разных скоростях.

«Прогулка по приподнятой перекладине» (*raised-beam walking*). Используется для оценки равновесия. Система представляет собой приподнятую перекладину разной конфигурации и толщины и закрытую безопасную платформу. Животное обучают проходить по перекладине. Фиксируется время прохода, соскальзывания лап, падения. При нарушении равновесия удлиняется время латентного периода перехода за счет того, что животное цепко держится лапами за перекладину [11].

Анализ походки по следам (*gait analysis system*). Тест для оценки координации животного. Установка представляет собой коридор, по которому животное обучается проходить. Регистрируют время и скорость прохода, продолжительность касания пола каждой частью тела животного (каждая нога, хвост, живот, нос). В норме центр следа стопы падает на центр предшествующего следа кисти. При нарушении координации постановка задней лапы изменяется.

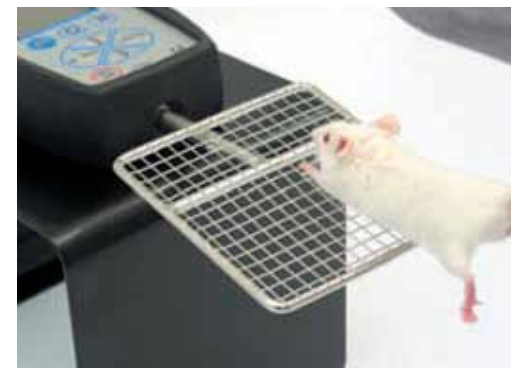


Рис. 3. Тест на силу хватки (*grip strength system*).

Тест на силу хватки (*grip strength system*). Прибор для оценки мышечной силы сжатия передних и/или задних лап (рис. 3). Состоит из решеток, подсоединенных к манометрам. Измеряется усилие, необходимое для того, чтобы животное разжало пальцы кистей или стоп. Современные установки позволяют автоматически регистрировать все необходимые параметры.

Методики, рекомендуемые для оценки сенсорных функций

Болевая чувствительность. Различают острую или постоянную боль. Самая распространенная модель постоянной боли – подкожная инъекция формалина в подошву лапы животного. Для моделирования острой боли используют высокую или низкую температуру в установках, перечисленных ниже. Оценивать с помощью данных тестов выносливость и работоспособность невозможно, поскольку силы организма здесь, в первую очередь, направлены на преодаление болевого синдрома.

«Горячая площадка» (*hot plate*). Оценивается пороговая чувствительность острой боли. Животное помещают на нагретую поверхность (55°C для мышей, 52,5°C для крыс). Фиксируется время, когда животное начинает облизывать одну из лап.

«Отдергивание хвоста» (*tail flick*). Прибор фокусирует обжигающий луч на хвосте животного. Фиксируется время отдергивания хвоста.

Слуховая чувствительность. Лабораторные животные слышат в диапазоне частот, отличном от человека (80-100 кГц для мышей). Грызуны более чувствительны к внезапным звукам, шумам. Наиболее точно слуховой порог определяется электрофизиологическим методом. Хорошее разрешение

имеет метод, основанный на рефлекторном вздрагивании животного при неожиданном звуке.

«Стартл-рефлекс» (*startle reflex system*). Методика является основной при изучении многих параметров аудиочувствительности. Современные установки создают комбинации различных шумов. Фиксируется вздрагивание животных на новые резкие аудиосигналы. При одновременном наблюдении за несколькими животными важно изолировать их друг от друга.

Зрительная чувствительность. Зрение лабораторных животных отличается от зрения человека. Грызуны являются ночными животными и инстинктивно избегают яркого света. Существуют линейные различия в остроте зрения [16]. В настоящее время нет единого протокола тестирования зрения у животных. Наиболее точными считаются неповеденческие методы – гистология сетчатки, электроретинограмма и метод вызванных корковых потенциалов. Однако существуют и этологические тесты для оценки зрения [1].

Visual cliff apparatus. Используется для оценки остроты зрения. Двухуровневая установка имеет уступ, на который помещается животное. Обрыв закрыт прозрачным стеклом. Особи с нормальным зрением останавливаются перед краем и исследуют его [7].

Virtual optomotor system. Метод основан на оптомоторном рефлексе: животное следит (поворачивает голову) за движущимся предметом. В тесте животному предлагается следить за бегущими на мониторе серо-белыми полосами, контрастность которых снижается в процессе тестирования [14].

Startle reflex system. У животного вырабатывают условный рефлекс на свет

или на предмет как на отрицательный стимул. Если животное не способно его видеть, рефлекс не выработается.

Обонятельная чувствительность. Исследование обонятельной перцепции основано на поиске и/или обнюхивании аттрактивной приманки (пища, феромоны), помещенной в клетку. Учитывается время обнаружения и изучения приманки [5, 10].

Методики, рекомендуемые для оценки выносливости и работоспособности

Выносливость – способность совершать работу заданного характера в течение возможно более длительного времени.

Работоспособность – это свойство организма в течение заданного времени и с определенной эффективностью выполнять максимально возможное количество работы [19].

Для оценки выносливости и работоспособности животных в доклинических исследованиях обычно используют беговую дорожку (тредбан). Для изучения выносливости и работоспособности в условиях повышенного уровня стресса используется вынужденное плавание с грузом. Необходимо также контролировать параметры дыхания и сердцебиения животных. Для мелких лабораторных животных (крысы, мыши) рекомендуется использовать системы дистанционного учета физиологических параметров. Для крупных лабораторных животных, при условии приучения к оборудованию, можно использовать проводные системы контроля.

Беговая дорожка (тредбан). Устройство представляет собой движущуюся ленту, оборудованную электродами, которые являются отрицательным подкреплением и стимулируют животное двигаться по ленте. На современных тредбанах воз-

можны регулировка угла наклона дорожки, скорости движения ленты, силы тока, подаваемого на электроды, времени бега. В НЦБМТ РАМН разработан тредбан для крупных лабораторных животных (мини-свиней).

Вынужденное плавание. Классическая методика теста Порсолта (вынужденного плавания) предназначена для оценки депрессивного поведения (в частности, «отчаяния»), однако после модификации, разработанной в НЦБМТ РАМН, ее можно рекомендовать для оценки выносливости и работоспособности в условиях стресса. Для этого используется груз (оптимально, по нашим расчетам, – 10% от массы тела животного), который прикрепляется к задним лапам животного.

Установка состоит из стеклянных емкостей для воды, круглых или квадратных в сечении (рис. 4). Высота и диаметр зависит от вида животного (для крыс, к примеру, $h=40$ см, $d=18$ см). Температура воды приближена к температуре тела животных. После прикрепления груза животное аккуратно опускают в воду и засекают время до полного отказа от плавания [3, 4, 16].



Рис. 4. Вынужденное плавание.

Методики, рекомендуемые для оценки когнитивных функций

Когнитивные (познавательные) процессы – виды поведения животных и человека, в основе которых лежит не условнорефлекторный ответ на воздействие внешних стимулов, а формирование мысленных представлений о событиях и связях между ними [2]. Основные когнитивные функции, важные в физиологии и медицине спорта – это различные виды памяти, способность к обучению и внимание.

Память и способность к обучению тесно связаны между собой, поэтому для их изучения используются схожие методики – в основном, различные лабиринты.

Метод радиального лабиринта. Используется специальное устройство – 6- или 12-лучевой радиальный лабиринт (рис. 5). Задача состоит в выборе животным стратегии исследования и нахождения пищи с минимумом усилий. Методика позволяет отдельно изучать кратковременную и долговременную память и скорость научения. Используется для мышей и крыс. Необходимо предварительное обучение животных.



Рис. 5. Радиальный лабиринт.

Метод Т-образного лабиринта. Основная задача животного – найти приманку. Учитывается количество ошибок, возвратов, посещений рукавов с приманкой. Используется для изучения памяти.

Метод Скиннера. Данная методика используется для изучения оперантного научения. Животное помещают в специальный ящик, оборудованный рычагом и устройством для подачи корма либо открывания двери. Отмечают время, за которое животное научится пользоваться рычагом.

Особенности изучения внимания у человека требуют наличия вербального общения, в связи с чем к животным неприменимы [21]. Для изучения внимания у животных целесообразно применять методы электроэнцефалографии и вызванной поляризации [17].

Заключение

Таким образом, значение поведенческих малоинвазивных методов доклинических исследований для медицины спорта высших достижений сложно переоценить. Необходимость моделирования изменения различных параметров организма в условиях экстремальных нагрузок не вызывает сомнений как при создании стимуляторов, так и быстродействующих лекарств для спортсменов.

Список литературы

1. **Амикишиева А.В.** Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. 2009. Т. 13. № 3. С. 529-542.

2. **Зорина З.А., Полетаева И.И.** Зоопсихология. Элементарное мышление животных. – М.: Аспект Пресс. 2001. 320 с.

3. **Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В.** Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 1. С. 72-74.

4. **Петунов С.Г., Бобков Д.В., Лукина А.М., Нечайкина О.В.** Оценка физической работоспособности при интенсивной физической нагрузке в моделях на лабораторных животных // Медико-биологические аспекты обеспечения химической безопасности Российской Федерации. Сборник трудов Всероссийского симпозиума, посвященного 50-летию со дня основания ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России. 2012. С. 101-102.

5. **Amikishieva A.V., Semendyaeva S.N.** Effects of baclofen on anxiety, sexual motivation, and olfactory perception in male mice in different psychoemotional states // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2007. V. 37. № 9. P. 929-937.

6. **Brown R.E., Stanford L., Schellinck H.M.** Developing standardized behavioral tests for knockout and mutant mice // *ILAR J.* 2000. V. 41. P. 163-174.

7. **Crawly J.N.** Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: experimental design and evaluation of general health, sensory functions, motor abilities, and specific behavioral tests // *Brain Res.* 1999. V. 835. P. 18-26.

8. **Crawly J.N.** Behavioral phenotyping strategies for mutant mice // *Neuron.* 2008. V. 57. P. 809-818.

9. **Dunham N.W., Miya T.S.** A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice // *J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 1957. V. 46. P. 208-209.

10. **Ferkin M.H., Li H.Z.** A battery of olfactory-based screens for phenotyping the

social and sexual behaviors of mice // *Physiol. Behav.* 2005. V. 85. P. 489-499.

11. **Goldstein L.B., Davis J.N.** Beam-walking in rats: Studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury // *J. Neurosci. Methods.* 1990. V. 31. P. 101-107.

12. **Hall C.S.** Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality // *J. Comp. Psychol.* 1934. V. 18. P. 385-403.

13. **Masuya H., Inoue M., Wada Yu., Shimizu A.** Implementation of the modified-SHIPRA protocol for screening of dominant phenotypes in a large-scale ENU mutagenesis program // *Mammalian Genome.* 2005. V. 16. P. 829-837.

14. **Prusky G.T., Alam N.M., Beekman S., Douglas R.M.** Rapid quantification of adult and developing mouse spatial vision using a

virtual optomotor system // *Inves. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004. V. 45. № 12. P. 4611-4616.

15. **Porsolt R.D., Anton G., Blavet N. et al.** Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment // *Europ. J. Pharmacol.* 1978. v. 47. p. 379-391.

16. **Voikar V.** Evaluation of methods and applications for behavioral profiling of transgenic mice. Academic dissertation. Faculty of Biosciences, University of Helsinki. 2006. 73 p.

17. <http://imp.rudn.ru/psychology/psychophysiology/6.html>

18. www.science-pribo.ru

19. http://sport-health.com.ua/read-teoriya_sporta-rabotosposobnost.html

20. <http://www.sportium.org/>

21. http://www.xliby.ru/psihologija/klinicheskaja_psihologija/p23.php

Methods of studying physiological functions of laboratory animals for preclinical researches in sports medicine

V.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, L.Kh. Kazakova, O.V. Alimkina, N.V. Kasinskaya

Describes the techniques used in preclinical researches in the development of pharmacological substances for various purposes of sports medicine. Considered the basic motor, sensory and cognitive functions as well as endurance and performance.

Key words: laboratory animals, methodology, sports medicine, preclinical researches.

Влияние рецептуры «МيوАктив-Спорт» на психофизические показатели лабораторных крыс

В.Н. Каркищенко¹, Ю.В. Фокин¹, Н.В. Касинская¹, Х.Х. Семёнов¹,
О.И. Степанова¹, С.Л. Люблинский¹, И.А. Берзин², И.Ю. Колышев³

¹ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

² – Федеральное медико-биологическое агентство России

³ – Федеральный медицинский центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Контактная информация: д.м.н., проф. Каркищенко Владислав Николаевич;
e-mail: scbmt@yandex.ru

В тесте вынужденного плавания (Порсолта), на чувствительность к острой гипобарической гипоксии, тесте на ротароде и «Бой самцов» показано, что употребление крысами рецептуры «МيوАктив-Спорт» в качестве кормовой добавки увеличивает выносливость и работоспособность животных в 5,2; 3,2; 7,1; 1,9 раза, соответственно. Максимальные значения достигаются преимущественно к концу курса потребления (на 21-е сутки исследования), но и спустя неделю после его завершения регистрируются достаточно высокие результаты, что свидетельствует о мощных и длительных остаточных эффектах вещества. Применение рецептуры также оказывает на организм крыс антистрессорное действие, не вызывает агрессии в поведении, что объясняется работой копинг-механизмов. В целом, поведение животных в период эксперимента характеризуется повышенной двигательной активностью и длительностью умывания, являющейся показателем благоприятного состояния. Таким образом, исследуемая рецептура «МيوАктив-Спорт» положительно влияет на тренированность животных, увеличивает их мышечную массу, что способствует повышению выносливости, работоспособности, помогает легче справляться с большими физическими и психоэмоциональными нагрузками и достигать более высоких результатов.

Ключевые слова: крысы, рецептура «МيوАктив-Спорт», психофизиологические показатели, выносливость, работоспособность, стрессоустойчивость, свободное поведение, тест вынужденного плавания, тест на чувствительность к острой гипобарической гипоксии, тест на ротароде, тест «Бой самцов».

Под влиянием интенсивных физических и психоэмоциональных нагрузок происходит повышенное расходование энергетических и пластических ресурсов, минералов, витаминов и других жизненно важных веществ. По этой причине в организме замедляются восстановительные и адаптационные реакции, что может привести к снижению работоспособности, ускоренному износу всех систем организма, а в итоге – к утрате физических сил и серьезным нарушениям здоровья [2]. Полноценное сба-

лансированное питание является одним из важнейших компонентов медико-биологического обеспечения тренировочного процесса и соревновательной деятельности. В настоящее время специальное и спортивное питание является базовой основой и первой фазой фармакологического обеспечения спортсменов [3, 4].

В составе комплекса «МيوАктив-Спорт» содержатся белки сыворотки молока, триглицериды среднепечечные, мальтодекстрин, гидролизат белков сыворотки молока, топинамбур, тыква

и кабачки сублимационной сушки, гемоглобин, волокна пищевые растворимые (инулин, фибригам), волокна пищевые пшеничные и яблочные, обогатитель минеральный кальциевый из скорлупы куриных яиц, белки плазмы крови, концентрат белка пищевого птичьего, лецитин, кислота лимонная, кислота янтарная (Е 363), ванилин, стевиозид, кислота аскорбиновая (Е 300), белок йодированный молочный. Препарат имеет свидетельство о государственной регистрации (№ RU.77.99.19.007.Е.008152.05.12 от 21.05.2012 г.) и не содержит запрещённых допинговых средств и/или их метаболитов (экспертное заключение № - S020S ФГУП «Антидопинговый центр» Министерства спорта, туризма и молодежной политики РФ).

Целью работы явилось изучение влияния рецептуры «МيوАктив-Спорт» на психофизические показатели (выносливость, работоспособность, стрессоустойчивость, преобладание поведенческих форм) крыс в различных тестах, используемых при проведении неклинических испытаний.

Материалы и методы

Эксперимент проводился в ФГБУ «НЦБМТ» РАМН. Тестировались трехмесячные крысы линии WAG/GY обоих полов в количестве 60 особей (30 самцов и 30 самок). Животные получены из филиала «Столбовая» ФГБУ «НЦБМТ» РАМН, Московская область, разведены специально и ранее не участвовали в исследованиях. Производитель животных предоставляет данные (ветеринарное свидетельство) последнего контроля здоровья животных.

Регулирующие стандарты. Исследования производились согласно Правилам лабораторной практики в Россий-

ской Федерации (Федеральный закон от 12.04.2010 N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 от 19.06.2003). Эксперименты на животных проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986). Исследования выполнялись согласно утверждённому письменному протоколу, в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП), санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [5]. Протокол эксперимента был разработан при участии и одобрении биоэтической комиссии ФГБУ «НЦБМТ» РАМН.

Дизайн и организация исследования направлены на определение выносливости, работоспособности, а также состояния нервной системы животных, употребляющих рецептуру «МيوАктив-Спорт» в качестве пищевой добавки, в тестах вынужденного плавания, на устойчивость к острой гипобарической гипоксии, тесте на ротароде, «Бой самцов», а также при регистрации свободного поведения. Количество объектов, принимающих участие в исследовании, достаточно для полной регистрации изучаемого эффекта [1].

Крыс содержали в микроизоляторной системе Rair IsoSystem по 5 особей. Животные соответствовали категории SPF. В качестве подстилки использовали

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

Тест вынужденного плавания (Порсолта). Для выявления фармакологической активности проводили тест вынужденного плавания, представляющий собой комбинированный жесткий вид стресса, сочетающий физический и эмоциональный компоненты.

В эксперименте животных всех групп метили водостойчивой краской и подвергали стрессу – плаванию в бассейне с грузом. Бассейн представлял собой прямоугольный аквариум размерами 80×80×130 см, сделанный из прочного прозрачного оргстекла и закрывающийся сверху сеткой. Уровень воды составлял 30 см. Температура воды – 24°C. После плавания крысы извлекались из бассейна.

Оценкой влияния препаратов на скорость развития утомления, т.е. на физическую работоспособность, служило время плавания животного. Плавание осуществлялось с грузом (свинцовый груз на резиновом кольце, прикрепляемый к корню хвоста), равным 7% от веса тела. Животные плавали с грузом до утомления, о котором свидетельствовало погружение животного на дно цилиндра. В этот момент животное быстро извлекали из воды и обсушивали сухим полотенцем. Живот-

ные, длительность плавания которых при рандомизации отклоняется от среднего времени плавания на 35%, исключались из эксперимента.

Тест на индивидуальную чувствительность к острой гипобарической гипоксии. Мерой оценки чувствительности животных к острой гипобарической гипоксии служило время жизни на «высоте». Каждое животное «поднималось» на критическую высоту (11,5 тыс. м) со скоростью 165 м/сек, где находилось до агонального состояния. Измеряли: время первого падения (переход в лежачее положение), характеризующее порог реакции организма на данное воздействие; время жизни на «высоте» (до появления агонального дыхания); время восстановления позы после «спуска» животного с «высоты».

Тест на ротароде. Выносливость животных тестировалась еженедельно, в течение всего курса потребления исследуемого вещества (21 день) и спустя 7 дней после его окончания (остаточные эффекты). Каждое животное помещалось в закрытую камеру (30×30×40 см) с отверстиями для воздухообмена. Пол камеры состоял из стальных стержней, на которые подавалось постоянное напряжение 35-40 В (ток 1 А без учёта сопротивления кожи животных). Это вынуждало крысу запрыгивать на вращающийся вал, поднятый на высоту 15 см от пола и покрытый мягким пористым материалом (диаметр вала – 7 см, скорость вращения – 1,5 об./сек) и в течение эксперимента передвигаться на нём. С помощью секундомера фиксировалась общая длительность пребывания животного на валу, окончание эксперимента определялось визуально, по снижению выносливости и физической усталости крысы, падающей на электрический пол камеры и не способной под-

няться на вал снова. Полученные данные (в сек) по группе животных суммировались, вычислялось среднее арифметическое значение (M) и ошибка средней (m). Аналогичным способом были получены фоновые данные (до начала потребления рецептуры), которые служили объектом сравнения. Частность, полученная делением среднего арифметического значения опытных данных на аналогичное среднее арифметическое значение фоновых данных, обозначалась как коэффициент (k), также разница выражалась в процентном соотношении.

Тест «Бой самцов». Тест проводится на самцах крыс в возрасте 2-3 мес. В начале эксперимента подбирались пары самцов, склонные к агрессивному поведению, проявляющемуся в борьбе (соперничестве) друг с другом под воздействием электрического тока. Животные помещались в клетку, на пол которой подавался ток по мере возрастания силы. В момент достижения агрессивной позы (вставание самцов на задние лапы, стойка) фиксировалось напряжение подаваемого электрического тока (в вольтах – В), и тест завершался. Перед экспериментом записывались фоновые данные, следующий тест проводился в заданный период исследования (на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни эксперимента).

Экспериментальная оценка поведения. Функциональное состояние нервной системы крыс оценивали в последний день потребления животными исследуемой рецептуры «МيوАктив-Спорт» (на 21-е сутки эксперимента) по спонтанной двигательной активности с помощью системы «Labogas» за период 15 мин. Чувствительная пластина прибора, снабженная сенсорами, позволяет определять такие поведенческие формы как:

- горизонтальная и вертикальная активность,
- неподвижность,
- умывание,
- элементы системного поведения.

Вычисляли средние (по группе) значения каждой поведенческой формы (в секундах от общей длительности эксперимента), которые сравнивались с аналогичными фоновыми. В выводах по исследованию фиксировались результаты сравнительного анализа и достоверные отличия показателей (по критерию Стьюдента).

Результаты и их обсуждение

Данные по физической выносливости и работоспособности животных в тесте принудительного плавания после употребления животными исследуемой рецептуры представлены в табл. 1.

В результате изучения влияния рецептуры «МيوАктив-Спорт», применяемой в качестве кормовой добавки, на продолжительность принудительного плавания мелких лабораторных животных (крыс) выяснилось, что она положительно влияет на выносливость животных. Повышение результатов в сравнении с фоном наблюдалось: на 7-й день – в 2,0 раза, на 14-й день – в 3,1 раза, на 21-й день – в 5,2 раза (максимальный показатель) и на 28-й день (через 7 дней после отмены употребления рецептуры) – в 2,1 раза по сравнению с фоном. Снижение эффекта на 28-й день по сравнению с 21-м днем составило 0,4 раза. При этом сохранялся эффект превышения фоновых показателей. Показатели животных опытной группы на протяжении всего эксперимента превосходили таковые в контрольной группе, где также отмечалось возрастание данных показателей выносливости, однако оно не превышало 1,08 раза.

Таблица 1

Сравнительные показатели в тесте принудительного плавания крыс на фоне употребления рецептуры «МиоАктив-Спорт»

Показатель \ Препарат	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
Время плавания, сек		
фон	110,1±9,1	114,2±10,1
7 день	112,4±9,6	228,2±8,9
14 день	114,2±10,2	342,0±9,0
21 день	115,0±12,4	581,3±11,3
28 день	118,6±10,2	239,2±6,2
Отношение времени плавания		
7 день/фон	1,02	2,0
14 день/фон	1,03	3,1
21 день/фон	1,04	5,2
28 день/фон	1,08	2,1
14 день/7 день	1,02	1,5
21 день/7 день	1,02	2,6
21 день/14 день	1,00	1,7
28 день/7 день	1,06	1,8
28 день/14 день	1,03	0,7
28 день/21 день	1,03	0,4

Результаты оценки антигипоксического действия исследуемой рецептуры представлены в табл. 2 и 3.

На фоне употребления животными рецептуры на всех этапах эксперимента наблюдали антигипоксический эффект. Это выразилось в следующих фактах. Применение рецептуры увеличивало время жизни «на высоте» лабораторных животных в 2,23 раза на 7-й день по сравнению с фоновыми показателями, на 14-й день наблюдалось увеличение в 2,52 раза, на 21-й день – 3,20 раза, а на 28-й день (через 7 дней после отмены употребления рецептуры) – в 2,46 раза по сравнению с фоном. При этом наблюдали уменьшение времени жизни «на высоте» на 28-й день эксперимента в 0,94 раза по сравнению с 14-м днем и в 0,77 раза по сравнению с 21-м днем. На

всех этапах показатели животных опытной группы были выше, чем таковые контрольной группы. Наблюдался линейный рост показателя «время жизни животных «на высоте»» в контрольной группе на протяжении всего эксперимента. В результате длительной тренировки животные увеличили время жизни «на высоте» в 1,01 раза на 7-й день эксперимента по сравнению с фоном, в 1,16 раза – на 14-й день, в 1,24 раза – на 21-й день эксперимента и в 1,30 раза – на 28-й день эксперимента. Однако эти показатели существенно уступают аналогичным показателям в группе животных, употреблявших рецептуру «МиоАктив-Спорт».

Данные по выносливости и работоспособности животных в тесте на ротароде при употреблении

Таблица 2

Сравнительные данные об антигипоксическом действии рецептуры «МиоАктив-Спорт» по тесту острой гипобарической гипоксии

Период наблюдения	Время жизни на высоте, сек		Время первого падения, сек		Время восстановления позы, сек	
	Контроль	«МиоАктив-Спорт»	Контроль	«МиоАктив-Спорт»	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
фон	214,0±12,4	206,7±9,5	15±0,1	15±0,4	43±2,6	45±1,9
7 день	216,1±10,4	460,0±10,6	15±0,1	20±0,3	45±3,0	50±2,6
14 день	248,4±16,3	520,0±19,1	10±0,2	35±0,4	35±2,8	30±3,1
21 день	265,2±12,1	659,2±17,5	15±0,2	30±0,2	35±3,4	20±2,6
28 день	278,1±14,9	506,4±19,4	15±0,4	30±0,3	40±4,0	25±2,4

Таблица 3

Отношение времени жизни на высоте

Показатель	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
7 день/фон	1,01	2,23
14 день/фон	1,16	2,52
21 день/фон	1,24	3,20
28 день/фон	1,30	2,46
14 день/7 день	1,15	1,13
21 день/7 день	1,23	1,43
21 день/14 день	1,07	1,27
28 день/7 день	1,29	1,10
28 день/14 день	1,12	0,97
28 день/21 день	1,05	0,77

рецептуры «МиоАктивСпорт» представлены в табл. 4.

Через 7 дней после начала эксперимента выносливость животных увеличилась на 179%, через 14 дней – на 399% (+220% по отношению к 7 дню), спустя ещё неделю (на 21-й день) она возросла на 580% (+401% по отношению к 7 дню, +181% по отношению к 14 дню), а через неделю после окончания курса приёма составила +613% к фону (+434% по отношению к 7 дню, +214% по отношению к 14 дню и +33% по отношению к 21 дню).

В контрольной группе животных отмечалось небольшое повышение физической выносливости, достигшее

максимального значения к 21-му дню исследования. Однако разница статистически не достоверна. После окончания курса приёма исследуемого вещества данные показатели снижались, и результат, полученный на 28-й день эксперимента, также статистически недостоверно отличим от фоновых значений. Данный эффект указывает на физиологически объяснимое свойство организма приспосабливаться к новым условиям окружающей среды.

Таким образом, действие данного вещества заключается в повышении выносливости животных, проявляющемся в развитии мышечной массы и способности справляться с большими физическими

Таблица 4

Время удержания животных на валу, сек

Показатель	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
Время удержания животных на валу		
фон	148,1 ± 5,16	142,7 ± 6,28
7 день	152,9 ± 8,24	398,2 ± 9,37
14 день	150,5 ± 8,02	712,2 ± 7,86
21 день	159,2 ± 7,70	970,5 ± 10,29
28 день	149,7 ± 16,35	1017,5 ± 24,20
Отношение времени удержания животных на валу		
7 день/фон	1,03	2,79
14 день/фон	1,02	4,99
21 день/фон	1,08	6,80
28 день/фон	1,01	7,13
14 день/7 день	0,98	1,79
21 день/7 день	1,04	2,44
21 день/14 день	1,06	1,36
28 день/7 день	0,98	2,56
28 день/14 день	1,00	1,43
28 день/21 день	0,94	1,05

нагрузками. Данный эффект усиливается в течение всего периода применения и спустя неделю после окончания курса приёма тестируемого вещества.

Результаты исследования влияния рецептуры «МиоАктив-Спорт» на агрессивное поведение, антистрессорную устойчивость и формирование копинга в тесте «Бой самцов» отражены в табл. 5.

После 7 дней потребления исследуемой рецептуры в тесте «Бой самцов» у крыс достоверно ($p \geq 0,998$ по критерию Стьюдента) возрастает индифферентность к электрическому току на 14,3 В. Причиной чего, вероятно, является снижение агрессивности в поведении, а также повышение физической выносливости и стрессоустойчивости.

После 14 дней потребления у крыс также достоверно ($p \geq 0,995$ по критерию Стьюдента) возрастает индифферент-

ность к электрическому току на 12,6 В по сравнению с фоновыми данными.

По сравнению с результатами, полученными на 7-й день эксперимента, наблюдается недостоверное снижение порога на 1,7 В. Предположительно, это является следствием того, что исследуемое вещество на данном этапе начинает вызывать возрастание агрессивности в поведении крыс.

После 21 дня приёма исследуемой рецептуры картина остаётся прежней: у крыс достоверно ($p \geq 0,995$ по критерию Стьюдента) возрастает индифферентность к электрическому току на 14,6 В по сравнению с фоновыми данными.

Достоверных отличий от результатов, полученных на 7-е и 14-е сутки эксперимента, не выявлено.

Спустя неделю после окончания курса потребления (28-й день эксперимента) в тесте «Бой самцов» данный эффект про-

Таблица 5

Сравнительные показатели в тесте принудительного плавания крыс на фоне употребления рецептуры «МиоАктив-Спорт»

Показатель \ Препарат	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
Напряжение тока при достижении стойки, Вольт		
фон	20,9 ± 0,75	21,7 ± 0,84
7 день	22,4 ± 1,98	36,0 ± 2,27
14 день	23,1 ± 2,12	34,3 ± 2,51
21 день	23,8 ± 2,09	36,3 ± 2,86
28 день	21,1 ± 2,36	40,2 ± 2,65
Отношение напряжений тока при достижении стойки		
7 день/фон	1,07	1,66
14 день/фон	1,11	1,58
21 день/фон	1,14	1,67
28 день/фон	1,01	1,85
14 день/7 день	1,03	0,95
21 день/7 день	1,06	1,01
21 день/14 день	1,03	1,06
28 день/7 день	0,94	1,12
28 день/14 день	0,91	1,17
28 день/21 день	0,89	1,11

должна наблюдаться, т. е. у крыс достоверно ($p \geq 0,998$ по критерию Стьюдента) возрастает индифферентность к электрическому току на 18,5 В по сравнению с фоновыми данными.

По сравнению с результатами, полученными ранее (7, 14 и 21 сутки), отмечается возрастание порога, в среднем, на 4,7 В, однако разница статистически недостоверна.

В контрольной группе животных регистрировалось небольшое повышение порога, максимальное значение которого отмечалось на 21-е сутки исследования, однако разница статистически недостоверна. Затем данный показатель снижался, приближаясь к фоновому значению. Данный результат объясняется физиологическим приспособлением организма к новым условиям среды.

Результаты исследования системного поведения животных, потреблявших рецептуру «МиоАктив-Спорт», представлены в табл. 6.

После окончания курса потребления (21 сутки) в поведении животных, получавших исследуемую рецептуру, отмечалось увеличение горизонтальной активности (на 2%), вертикальной активности (на 9%) и длительности умыывания (на 14%), а также снижение времени неподвижности (на 26%) и длительности ЭСП (на 12%). Результаты измерений в контрольной группе животных, полученные в фоне и через 21 день, достоверно не отличались друг от друга.

Таким образом, действие данного вещества характеризуется увеличением двигательной активности и возрастанием длительности умыывания крыс. Последний

Таблица 6

Оценка поведения на фоне действия рецептуры «МيوАктив-Спорт», сек

Вещество	Фон					21-й день				
	ЭСП	Г.а.	Им.	В.а.	Гр.	ЭСП	Г.а.	Им.	В.а.	Гр.
Контроль	327	55	48	321	149	324	57	45	328	146
«МيوАктив-Спорт»	339	52	42	340	127	299	53	31	372	145

Примечания: ЭСП – элементы системного поведения, Г.а. – горизонтальная активность (локомоции), Им. – иммобилизация (неподвижность), В.а. – вертикальная активность (стойки), Гр. – груминг (умывание).

факт указывает на то, что животные пребывают в комфортном, позитивном состоянии, т.е. усиление и активизирование сенсорных и сенсомоторных реакций не сопряжено с психоэмоциональным напряжением и тревожностью.

Выводы

1. В тесте вынужденного плавания убедительно показано, что рецептура «МيوАктив-Спорт», применяемая в качестве кормовой добавки, повышает выносливость и работоспособность лабораторных крыс. Рост указанных показателей происходит в течение всего периода исследования, максимального значения данный эффект достигает к 21-ому дню применения: фоновые значения в этот период превышены более чем в 5 раз.

2. В тесте на индивидуальную чувствительность к острой гипобарической гипоксии показано, что употребление исследуемой рецептуры в течение 21 дня существенно повышает выносливость крыс, а именно – время жизни «на высоте». Максимального значения этот эффект также достигает к концу курса, что отражается в увеличении собственных фоновых показателей в 3,2 раза.

3. Проведение теста на ротароде также подтвердило вышеуказанные выводы: вы-

носливость и работоспособность животных, принимавших «МيوАктив-Спорт», существенно возросла, и усиление этого эффекта наблюдалось на протяжении всех еженедельных исследований. Максимальное значение было зафиксировано через неделю после окончания курса приёма рецептуры (на 28-й день эксперимента) – оно более чем в 7 раз превышало фоновые показатели. Данный факт указывает на то, что исследуемое вещество способствует мышечному росту и усилению физической выносливости не только в период регулярного приёма, но и имеет мощные и длительные остаточные эффекты.

4. Оценив антистрессорную устойчивость, формирование приспособительных механизмов и уровень агрессивности животных, принимавших исследуемую рецептуру, в тесте «Бой самцов», можно также заключить, что она увеличивает выносливость крыс, но не способствует возникновению враждебного, девиантного поведения, что объясняется работой копинг-механизмов (когнитивных, эмоциональных и поведенческих стратегий, используемых для того, чтобы справиться со стрессом).

5. Проведение общей оценки свободного поведения позволило заключить, что

крысы, употреблявшие вместе с кормом рецептуру «МيوАктив-Спорт», были более подвижны, чем до приёма данного вещества, активнее перемещались в обитаемом пространстве и чаще умывались, что указывает на их комфортное состояние.

6. Таким образом, исследуемая рецептура положительно влияет на тренированность животных, увеличивает их мышечную массу, что способствует повышению выносливости, работоспособности, помогает легче справляться с большими физическими и психоэмоциональными нагрузками и достигать более высоких результатов.

Список литературы

1. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. – М.: Изд-во ВПК. 2007.

2. Каркищенко Н.Н. Психофармакологическое исследование некоторых элементов поведения и памяти животных и человека // Память и следовые процессы. Пущино. 1979. 71 с.

3. Каркищенко Н.Н., Макляков Ю.С., Солодилов В.В., Спиглазов В.И. Фармакологический скрининг биологически активных соединений пептидной природы // Сб.: «Проблемы клинич. фармакологии». Ростов-н-Д. 1981. 9 с.

4. Каркищенко Н.Н. Фармакология процессов адаптации и переносимости предельных нагрузок в спорте и режимах работы «до отказа»: второй тайм для дженериков // Биомедицина. № 4. 2010. С. 6-23.

5. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М.: Профиль-2С. 2010. 358 с.

Effect of composition "MioActive-Sport" on the psychophysical performance of laboratory rats

V.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, N.V. Kasinskaya, H.H. Semenov, O.I. Stepanova, S.L. Lyublinsky, I.A. Berzin, I. Yu. Kolyshev

In the forced swimming test (Porsolt test), sensitivity to acute hypobaric hypoxia, rotarode test and "Fight of males" shows that the use of rat composition "MioActive-sports" as a feed additive increases the endurance and performance of animals at 5.2, 3.2, 7.1, 1.9-fold, respectively. Maximum values are obtained primarily by the end of the course of consumption (at 21 days of research), but a week after its completion recorded fairly good results, indicating a strong and long-lasting residual effects of the substance. Application of formulations also has on the body of rats antistress effect, does not cause aggression in behaviour that the work of a coping mechanism. In general, the behaviour of the animals during the experiment is characterized by increased motor activity and duration of washing, which is an indicator of favorable condition. Thus, the studied composition "MioActive-Sport" has a positive effect on the fitness of animals, increasing their muscle mass, which increases stamina, performance, helping to better cope with significant physical and psycho-emotional stress and achieve better results.

Key words: rats, composition "MioActive-Sport", psychophysical indicators, endurance, performance, stress resistance, free behaviour, the forced swimming test, a test for sensitivity to acute hypobaric hypoxia, rotarode test, test "Fight of males".

Метод кардиоинтервалометрии при оценке аэробных возможностей спортсменов (на примере спортивных игр)

Е.М. Калинин¹, В.Н. Селуянов², С.К. Сарсания³, В.А. Заборова⁴,
Аль Халили Моханед⁵

¹ – ФГБОУ ВПО Российский государственный университет физической культуры, спорта, молодежи и туризма (ГЦОЛИФК)

² – Московский физико-технический институт, Москва

³ – Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Контактная информация: Заборова Виктория Александровна, vaz111v@gmail.com

Основная цель работы – изучить аэробные возможности футболистов различного амплуа и квалификации с использованием метода кардиоинтервалометрии. Для достижения поставленной цели были обследованы футболисты от уровня второго дивизиона до уровня команд премьер-лиги (n=115, возраст футболистов 17-36 лет, масса 77,3±7,8 кг, рост 182,4±6,6 см). Все спортсмены выполнили тест со ступенчато повышающейся мощностью на велоэргометре, исходная мощность 37,5 Вт, каждые 2 мин мощность увеличивалась на 37,5 Вт, при постоянном темпе педалирования 75 об/мин. Одновременно регистрировали ЧСС, вариативность кардиоинтервалов и определяли кардиоинтервальный порог для каждого футболиста с помощью пульсометра Polar rs800. Были рассчитаны средние значения показателей кардиоинтервального порога (КАнП): дисперсия кардиоинтервалов SD1 (мс); мощность МКАнП (Вт), МоКАнП (Вт/кг); ЧСС КАнП (уд/мин). Показано, что у защитников и полузащитников, выступающих в премьер-лиге, относительная мощность МоКАнП (Вт/кг) статистически достоверно выше по сравнению с игроками первого и второго дивизиона (p<0,001). Достоверных различий между нападающими премьер-лиги и первого дивизиона по относительной мощности (МоКАнП, Вт/кг) не выявлено (p>0,05), при этом дисперсия SD1(мс) при фиксировании кардиоинтервального порога, в среднем, равна 2,00±0,55 мс у всех футболистов. Метод кардиоинтервалометрии имеет высокую надежность (Rtt=0,97) и позволяет с высокой точностью определять по статистическому анализу кардиоинтервалов аэробные возможности футболистов.

Ключевые слова: анаэробный порог, методика, вариативность ритма сердца.

Критерием смены биоэнергетических механизмов энергообеспечения являются аэробный и анаэробный пороги [1, 2, 4, 6]. По ЧСС невозможно определить зоны энергетической производительности, необходимы более информативные показатели. В спортивной практике стали использовать показатели молочной кислоты в крови, регистрируемые при прохождении дистанции с различной скоростью [1, 15].

В полевых условиях (в тренировочном процессе) многократно брать пробы крови трудно – неудобно для испытуемого. В связи с этим, остается актуальным поиск полевых методов определения анаэробного порога, например, по анализу ритма сердца [6, 10, 13]. Делается это на основе анализа вариативности сердечного ритма, т. е. вариации кардиоинтервалов (вмиллисекундах,мс) между последовательными сердечными сокращениями [3, 5, 7, 16, 17].

В работе С.К. Сарсания [6] было замечено, что с ростом ЧСС вариативность RR-интервалов уменьшается, поэтому интересно более подробно изучить это явление. Позже в работах J.R.P. Lima et al. (1999) [14], G.K. Karapetian et al. (2008) [13], Simões, Rodrigo P. (2010) [15] было показано, что существует корреляционная связь между лактатным АнП и мощностью (скоростью) в момент появления минимальной величины дисперсии кардиоинтервалов. Однако величины коэффициентов корреляции были недостаточно высокими (r=0,6-0,8). Возможной причиной увеличения дисперсии показателей является несовершенство методики определения момента появления АэП и АнП.

В нашей работе [10] было показано, что во время выполнения теста со ступенчато повышающейся нагрузкой вентиляционный АнП (по легочной вентиляции) и найденный кардиоинтервальный порог в момент появления плато на кривой «SD1 – мощность» не совпадают по показателям мощности.

Для изучения зависимостей между мощностью АнП и «плато SD1 / мощность» был проведен регрессионный анализ.

В результате была установлена связь между потреблением кислорода на уровне вентиляционного анаэробного порога (ВАНП) и дисперсии «плато SD1 / мощность», были вычислены коэффициенты уравнения множественной регрессии:

$VO_{2AnT} = 0,35 + 0,01 * SD1W + 0,0016 * SD1HR + 0,106 * SD_1$,
(R=0,98; D=96%; σ=0,10 погрешность оценки функции; 0,26 л/мин; p<0,001),

где W (Вт) – мощность, HR – ЧСС (уд/мин), SD₁ – дисперсия кардиоинтервалов (мс) в момент регистрации кардиоинтервального порога.

Эти физиологические закономерности можно использовать для определения анаэробного порога футболистов различной квалификации и амплуа по кардиоинтервальному порогу, что и явилось целью нашего исследования.

Материалы и методы

В ходе исследования определялся анаэробный порог по кардиоинтервальному порогу у футболистов различной квалификации и амплуа при выполнении теста со ступенчато повышающейся нагрузкой.

Для достижения поставленной цели были обследованы футболисты от уровня второго дивизиона до уровня команд премьер-лиги (n=115, возраст футболистов 17-36 лет, масса 77,3±7,8 кг, рост 182,4±6,6 см). Все спортсмены выполнили тест со ступенчато повышающейся мощностью на велоэргометре «Monark-828E», исходная мощность 37,5 Вт, каждые 2 мин мощность увеличивалась на 37,5 Вт, при постоянном темпе педалирования 75 об/мин. Одновременно регистрировали мощность, ЧСС, вариативность кардиоинтервалов с помощью пульсометра Polar rs800 для каждого футболиста (рис.).

Статистический анализ проводился с использованием пакета анализа данных Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

Определение анаэробного порога по кардиоинтервальному порогу у футболистов различного амплуа и квалификации

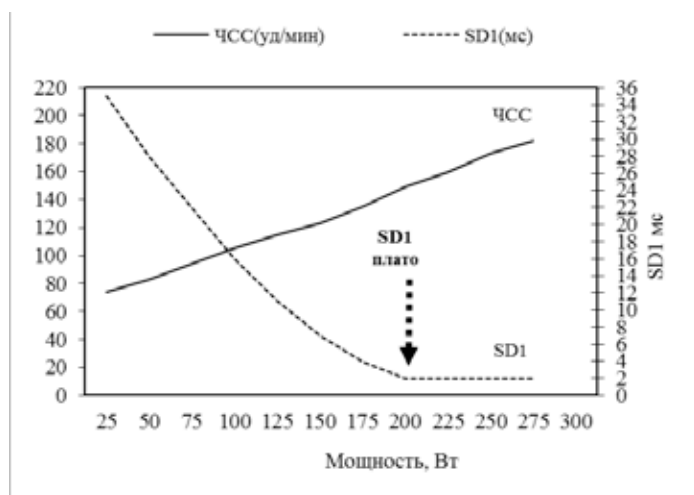


Рис. Схема динамики изменения ЧСС (уд/мин) и дисперсии кардиоинтервалов SD1 (мс) при выполнении теста со ступенчато повышающейся нагрузкой.

Таблица

Результаты тестирования аэробных возможностей футболистов (n=115)

Показатели	КАнП SD, мс		МКАнП, Вт		МКАнП, Вт/кг		ЧСС КАНП уд/мин		Масса, кг		ВАНП мл/кг/мин	
	x	σ	x	σ	x	σ	x	σ	x	σ	x	σ
ВРАТАРИ												
ПЛ n=6	1,9	0,47	272,0	37,1	3,05	0,42	151,8	9,6	89,2	4,1	39,5	4,0
ПД n=5	2,6	0,94	251,6	43,7	2,96	0,52	154,2	6,2	85,1	2,9	39,9	4,8
ВД n=5	2,2	0,06	210,0	30,0	2,65	0,27	148,6	16,7	79,1	7,8	36,9	2,5
ЗАЩИТНИКИ												
ПЛ n=11	1,9	0,84	279,9	33,9	3,50	0,38	155,6	6,7	80,2	7,0	44,9	3,7
ПД n=11	2,0	0,49	240,7	48,0	2,93	0,54	150,9	12,5	82,0	4,3	39,1	5,5
ВД n=11	2,2	0,50	191,1	31,1	2,60	0,29	142,4	9,8	73,3	7,5	37,2	3,1
ПОЛУЗАЩИТНИКИ												
ПЛ n=11	1,9	0,61	278,0	25,0	3,55	0,33	167,5	30,7	78,5	4,5	46,0	3,8
ПД n=21	1,9	0,43	209,2	42,2	2,81	0,58	149,6	12,8	74,6	5,6	38,7	6,3
ВД n=14	1,8	0,32	171,6	23,5	2,49	0,35	146,0	9,1	69,3	4,6	36,1	3,7
НАПАДАЮЩИЕ												
ПЛ n=7	2,0	0,24	273,4	19,5	3,34	0,16	152,9	10,7	82,0	5,9	43,2	2,4
ПД n=7	1,8	0,38	225,3	40,0	2,95	0,47	146,9	10,2	76,4	6,7	39,8	5,2
ВД n=6	1,9	0,16	187,8	21,7	2,59	0,13	141,8	6,0	72,6	8,1	36,8	2,1

Примечания: ПЛ – премьер-лига, ПД – первый дивизион, ВД – второй дивизион, КАНП – кардиоинтервальный порог, МКАнП – мощность кардиоинтервального порога, ВАНП – вентиляционный анаэробный порог.

Были рассчитаны средние значения показателей кардиоинтервального порога (КАнП):

- дисперсия (вариативность) кардиоинтервалов SD1 (мс);
- мощность абсолютная МКАнП (Вт), относительная МоКАнП (Вт/кг);
- ЧСС КАНП (уд/мин).

Из табл. видно, что кардиоинтервальный порог наблюдается в момент появления плато на кривой, у всех футболистов на уровне SD1=2,00±0,55 мс, при этом мощность у футболистов разной квалификации и амплуа достоверно различается.

Показано, что у защитников и полузащитников, выступающих в премьер-лиге, относительная мощность МоКАнП (Вт/кг) статистически достоверно выше по сравнению с игроками первого и второго дивизиона (p<0,001). Статистически достоверных различий между нападающими премьер-лиги и первого дивизиона по относительной мощности (МоКАнП, Вт/кг) не выявлено (p>0,05), но у нападающих премьер-лиги наблюдается большая масса тела (p>0,1), а по абсолютной мощности кардиоинтервального порога между двумя группами футболистов наблюдаются достоверные различия (p<0,05).

При сравнении вратарей была выявлена тенденция к увеличению абсолютной и относительной мощности кардиоинтервального порога (МоКАнП, Вт/кг) с ростом спортивного мастерства (от второго дивизиона до уровня премьер-лиги), различия не достоверны (p>0,1).

Как показано в табл., футболисты премьер-лиги при высокой относительной мощности кардиоинтервального порога (МоКАнП, Вт/кг) характеризуются более высокими значениями SD1 (мс), различия статистически до-

стоверны (p<0,05).

Также была выявлена тенденция к росту массы тела футболистов разного амплуа от уровня второго дивизиона до уровня премьер-лиги, различия достоверны (p<0,05), причем за счет увеличения мышечной массы, обхвата бедра и скоростно-силовых возможностей [9, 11].

Показатели потребления кислорода на уровне вентиляционного ВАНП были вычислены по ранее разработанной [10] формуле.

Данные о потреблении кислорода представлены в табл. в относительных значениях.

Полученные результаты согласуются с данными [9, 11], где проводилось сравнение футболистов разного уровня мастерства по оценке аэробных возможностей мышц ног (потребления кислорода на уровне вентиляционного ВАНП), однако не согласуются с приводимыми величинами ПК АнП футболистов ведущих команд России [7], по нашим данным соответствующих только уровню игроков второго дивизиона. Такое различие возможно, например, при обследовании футболистов в разные периоды годичного цикла, в данной работе обследование футболистов проводилось в середине соревновательного периода, а в приводимой З.Г. Орджоникидзе работе (2007) [7] – в переходный период.

Однако не всегда низкие аэробные возможности мышц ног футболистов характерны для переходного периода. Например, после смены главного тренера, в связи с неудовлетворительным выступлением команды, по результатам обследования были получены низкие значения ПК АнП (35,6±4,2 мл/кг/мин) для начала соревновательного периода команды первого дивизиона. Квалификация нового главного тренера позволила учесть при планировании физической, технико-тактической

подготовки индивидуальные особенности футболистов и применить для повышения аэробных возможностей биологически целесообразные средства и методы тренировки. В результате после завершения соревновательного периода произошло статистически достоверное увеличение ПК АнП (с $35,6 \pm 4,2$ до $49,0 \pm 7,5$ мл/кг/мин, $p < 0,001$), что в итоге привело к успешному выступлению команды.

Надежность теста. С целью определения надежности разработанного теста была сформирована группа из 48 футболистов, которая через две недели прошла повторное тестирование, в результате которого степень надежности полученных результатов при повторном тестировании R_{tt} была равна 0,97. Коэффициент корреляции достоверен при уровне значимости $p < 0,01$, что говорит о высокой надежности разработанного метода.

Выводы

1. Разработан метод, позволяющий с высокой точностью и надежностью ($R_{tt}=0,97$) определять по кардиоинтервальному порогу аэробные возможности футболистов.

2. По кардиоинтервальному порогу определены показатели аэробных возможностей футболистов различного уровня мастерства и амплуа: чем выше уровень мастерства футболиста, тем статистически достоверно выше абсолютная (МКАнП), относительная мощность (МоКАнП), частота сердечных сокращений (ЧССКАнП) на уровне кардиоинтервального порога, а также масса тела футболистов.

3. Дисперсия $SD1$ (мс), при фиксировании кардиоинтервального порога, в среднем, равна $2,00 \pm 0,55$ (мс) у всех футболистов.

Список литературы

1. Аулик И.В. Определение физической работоспособности в клинике и спорте / И.В. Аулик. М.: Медицина. 1990. 234 с.
2. Ачкасов Е.Е., Руненко С.Д., Пузин С.Н. Врачебный контроль в физической культуре М.: Триада-Х. 2012. 130 с.
3. Баевский Р.М. Синусовая аритмия с точки зрения кибернетики / Р.М. Баевский // Математические методы анализа сердечного ритма. М.: Наука. 1968. С. 9-30.
4. Волков Н.И. Биоэнергетика напряженной мышечной деятельности человека и способы повышения работоспособности спортсменов: автореф. дис. д-ра биолог. наук / Волков Николай Иванович; НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина. М., 1990. 83 с.
5. Жемайтите Д.И. Ритмичность импульсов синоатрикулярного узла в покое и при ишемической болезни сердца. Автореф. дисс. канд. мед. наук / Жемайтите Д.И. Каунас. 1965. 51 с.
6. Ландырь А.П., Ачкасов Е.Е. Мониторинг сердечной деятельности в управлении тренировочным процессом в физической культуре и спорте М.: Триада-Х. 2011. 176 с.
7. Орджоникидзе З.Г. Состояние функциональной готовности спортсменов из состава ведущих футбольных команд России / З.Г. Орджоникидзе, В.И. Павлов, Н.И. Волков, А.Е. Дружинин // Физиология человека. 2007. Т. 33. № 4. С. 114-118.
8. Сарсания С.К. Физиологические аритмии сердца: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Сарсания Сергей Константинович. М., 1968. 24 с.

9. Селуянов В.Н. Контроль физической подготовленности в спортивной адаптации / В.Н. Селуянов, С.К. Сарсания, К.С. Сарсания, Л.В. Слуцкий. Б.А. Стукалов // Теория и практика физической культуры. 2008. № 5. С. 36-38, 55-56.
10. Селуянов В.Н. Определение анаэробного порога по данным легочной вентиляции и вариативности кардиоинтервалов / В.Н. Селуянов, Е.М. Калинин, Г.Д. Пак, В.И. Маевская, А.Н. Конрад // Физиология человека. 2011. № 6. С. 106-110.
11. Селуянов В.Н. Физическая подготовка футболистов / В.Н. Селуянов, С.К. Сарсания, К.С. Сарсания. М.: ТВТ ДИВИЗИОН. 2004. 192 с.
12. Brunetto A.F. Ventilatory threshold and heart rate variability in adolescents / A.F. Brunetto, V.M. Silva, B.T. Roseguini, D.M. Hirail et al // Rev. Bras. Med. Esporte. 2005. Vol. 11. № 1 Jan/Fev. P. 28-33.
13. Karapetian G.K. Use of heart rate variability to estimate LT and VT /

G.K. Karapetian, H.J. Engels, R.J. Gretebeck // Int. J. Sports. Med. 2008. Vol.29. P. 652-657.

14. Lima J.R.P. Limiar de variabilidade da frecuencia cardiaca / J.R.P. Lima, M.A.P. Kiss // Rev. BrasAtiv. Fis. Saude. 1999. № 9. P. 29-38.

15. Simões R.P. Heart rate variability and blood lactate threshold interaction during progressive resistance exercise in healthy older men / R.P. Simões, G. R. Mendes, V. Castello, H.G. Machado et al // Journal of Strength & Conditioning Research. 2010. Vol. 24. P.1313-1320.

16. Tulppo M.P. Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise / M.P. Tulppo, T.H. Makikallio // Am. J. Physiol. 1996. P.244-252.

17. Voss A. The application of methods of non-linear dynamics for the improved and predictive recognition of patients threatened by sudden cardiac death / A. Voss, J. Kurths, J. Kleiner. – Cardiovascular Research. 1996. P. 419-433.

Cardiointervalometry at an assessment of aerobic possibilities of athletes (for example, sports)

E.M. Kalinin, V.N. Seluyanov, S.K. Sarsaniya, V.A. Zaborova, Al Halili Mokhaned

Research purpose – to study aerobic capacity and role players of different skills using the cardiointervalometry. To achieve goal football players of different sports skill (the second division to level of teams of premieres of league, including players of a national team of team), all $n=115$ of players (age of 17-36 years, mass of a body $77,3 \pm 7,8$ kg, growth $182,4 \pm 6,6$ by sm) were surveyed. All examinees carried out the test with in steps raising capacity on bicycle ergometer. The initial capacity was 37,5 W and increased by 37,5 W every 2 min. The pedaling rate remained constant (75 rpm). At the same time registered HR, the cardiac rhythm and cardiointerval threshold for each football player was studied using a Polar rs800cx. By results of the carried-out testing average values of indicators of a heart rate threshold (KANP) were calculated: dispersion (variability) cardio interval $SD1$ (ms); capacity MКАнП (W), МоКАнП (W/kg); ChSS KANP (heartbeat / mines). Were as a result defined: a) indicators of aerobic possibilities of football players of various level of skill and role according to a cardiointervalomet, than level of skill of the football player is higher, than subjects is statistically authentically higher absolute MКАнП and relative capacity of a cardiointerval threshold of MOKANP, above ChSSKANP and mass of a body of football players; b) dispersion of $SD1$ (ms), at fixation of a cardio interval threshold, is on the average equal – $2,00 \pm 0,55$ (ms) at all football players; c) the method allowing with high reliability ($R_{tt}=0,97$) to define aerobic possibilities of football players on the statistical analysis of variability cardiointerval is developed.

Key words: anaerobic threshold, method, cardiointerval variability.

Возможности флуоресцентного (спектрального) экспресс-анализа твердых лекарственных форм

Ю.Г. Зюзькова¹, В.Е. Прокопьев², В.В. Удут¹, Л.Г. Воробьева³,
Н.Н. Каркищенко⁴

¹ – ФГБУ «НИИ Фармакологии» СО РАМН

² – Институт сильноточной электроники СО РАН

³ – Институт оптики атмосферы СО РАН, Томск

⁴ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: Ю.Г. Зюзькова, e-mail: zzkvyulya@rambler.ru

В работе исследованы и измерены спектры флуоресценции и возбуждения флуоресценции таблетированных дротаверина гидрохлорида, папаверина гидрохлорида и их стандартов. Показано, что длинноволновый сдвиг в спектральных характеристиках дротаверина, по сравнению с папаверином, объясняется большим числом смежных сопряженных связей в его молекуле. Корреляционный и многомерный статистический анализ (метод главных компонент) спектров таблетированных форм изучаемых лекарственных средств позволяет их идентифицировать с точностью не менее чем 99,99%. Подтверждена возможность количественного определения лекарственных средств в присутствии сопутствующих вспомогательных веществ.

Ключевые слова: дротаверина гидрохлорид, папаверина гидрохлорид, спектры (возбуждения) флуоресценции, контроль качества, метод главных компонент.

Контроль качества лекарственных средств (ЛС) решает три основные задачи: испытание на подлинность, чистоту и количественное определение фармакологически активного компонента. Анализ осуществляется на всех этапах производства – от контроля сырья до оценки качества ЛС с оценкой его стабильности, сроков годности и стандартизации готовой лекарственной формы.

Методы оценки качества ЛС можно разделить на электрохимические, оптические и хроматографические: высокоэффективная жидкостная, газовая и твердотельная хроматографии, масс-спектрометрия, ЯМР, ИК-, УФ-спектроскопия, полярография и др. Их сочетание позволяет успешно решать задачи разделения сложных смесей, определять их качественный и количественный состав, а также природу отдельных компонентов. К сожалению, большинство этих методов требует сложной и длительной пробоподготов-

ки. Фотометрические методы в ИК-, УФ-, видимой области спектра и их модификации, включенные в национальные фармакопеи многих стран, просты для фармацевтического анализа, но не лишены принципиальных недостатков (относительно небольшой чувствительности и сложности оценки коэффициентов и спектров поглощения неоднородных, дисперсных и сильнопоглощающих веществ), исключающих возможность проведения экспресс-анализа твердых лекарственных форм. В этом контексте преимущества анализа спектров флуоресценции и комбинационного рассеяния органических молекул неоспоримы с учетом того, что возбуждение флуоресценции определяемых веществ возможно при облучении образцов не только оптическим излучением, но и электронными и рентгеновскими пучками [1, 2].

Целью исследования явился качественно-количественный анализ действующего начала

в таблетированных (Т) формах ЛС с помощью различных оптико-спектроскопических методов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования выбраны схожие по химической структуре, но различающиеся количеством и порядком сопряженных связей, числом оптических изомеров и длиной углеводородных радикалов спазмолитики бензилизохинолинового ряда – папаверина гидрохлорид (ПГ) и его полусинтетический аналог – дротаверина гидрохлорид (ДГ).

Исследованы таблетки различных производителей для ДГ: но-шпа, дротаверина гидрохлорид, дротаверин форте; и ПГ: папаверина гидрохлорид и папазол. А также субстанция (РСО) ДГ серии KY-DH-20090302 от 03.2009 г. производства «Чжецзян Апелоа Фармацевтикал Ко., Лтд», Китай, соответствует требованиям НД 42-12678-02 и ПГ серии 671107 от 04.2008 г. производства ОАО «Ирбитский ХФЗ», соответствует требованиям ФСП 42-0173-2324-02.

Препараты исследовались на воздухе при комнатной температуре в виде таблеток (Т-ДГ, Т-ПГ), моделей таблеток (МТ) и РСО. Модельные смеси включали вспомогательные вещества (сахароза, крахмал картофельный, кальция и магния стеарат, тальк, поливинилпирролидон, лактозы моногидрат, повидон), присутствующие в Т-ЛС. На основании метода стандартных эталонных проб по спектрам флуоресценции изучаемых объектов оценивалось количество действующих веществ.

Спектры флуоресценции и возбуждения флуоресценции снимали в диапазоне 200÷900 нм с разрешением 1 нм – на спектрофлуориметре «Hitachi 850».

В работе использована программа анализа спектральных характеристик, полученных

на приборах, созданных на базе фотодиодных линеек LX511 или датчиках аналогичного типа. Входными данными являлись файлы спектров, имеющие 2048 строки, содержащие частоту и интенсивность излучения соответствующих спектральных точек. Для анализа полученных спектров использован метод главных компонент [5, 6].

Результаты и их обсуждение

Спектры флуоресценции (СФ) и возбуждения флуоресценции (ВФ) ПГ изучали вблизи характерных длин волн поглощения и возбуждения флуоресценции в УФ-области. Для РСО регистрировали спектры на четырех длинах волн возбуждения ($\lambda_{\text{в}}$) 250, 280, 300, 350 нм. Было обнаружено, что максимальная интенсивность (I_{max}) СФ практически не зависела от длины волны СВФ (рис. 1б). Так, при переходе от $\lambda_{\text{в}250}$ к $\lambda_{\text{в}350}$ выявлено незначительное смещение максимумов полос спектров флуоресценции в длинноволновую область и увеличение их интенсивности: при $\lambda_{\text{в}250}$ максимум приходится на I_{448} ; при $\lambda_{\text{в}280}$ – I_{449} ; при $\lambda_{\text{в}300}$ – I_{450} ; при $\lambda_{\text{в}350}$ – I_{452} . Нормировка СФ РСО показала их совпадение в пределах точности измерений (рис. 1а). Исходя из I_{max} измеряемого сигнала флуоресценции, для определения подлинности РСО оптимальна $\lambda_{\text{в}350}$ нм.

На рис. 2 (а, б) приведены СФ Т-ПГ, МТ, плацебо и вспомогательных веществ, входящих в состав ЛС, при $\lambda_{\text{в}280}$ и $\lambda_{\text{в}350}$. Характерно, что интенсивность флуоресценции сахарозы и кальция стеарата минорна и не мешает определению действующего начала. Максимумы полос СФ плацебо при $\lambda_{\text{в}280}$ приходятся на I_{411} и на I_{426} при $\lambda_{\text{в}350}$, что близко к I_{max} излучения крахмала. При облучении образцов на $\lambda_{\text{в}280}$ спектры и интенсивности флуоресценции крахмала и плацебо близки к совпадению.

Снижение интенсивности СФ крахмала и плацебо при переходе с $\lambda_{\text{в}280}$ на $\lambda_{\text{в}350}$ объясня-

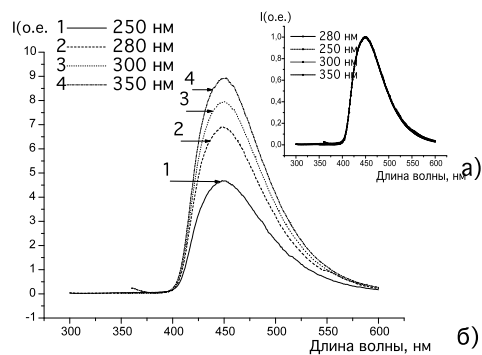


Рис. 1. Спектры РСО ПГ при $\lambda_{в}$ 250, 280, 300, 350 нм: (а) – нормированные СФ; (б) – СФ.

ется незначительным поглощением крахмала и других вспомогательных веществ вблизи 350 нм. Это демонстрирует максимальный вклад крахмала в СФ при $\lambda_{в280}$ и его снижение с ростом длины волны возбуждения. I_{max} флу-

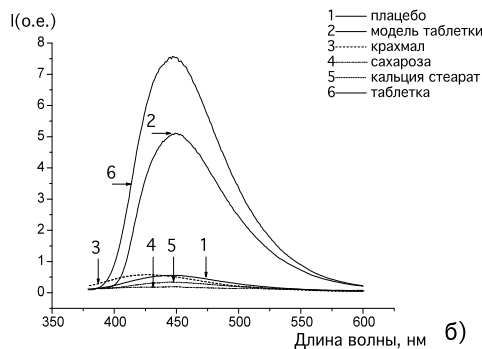
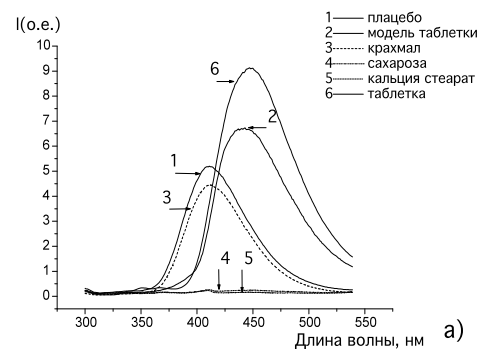


Рис. 2. СФ ПГ: 1 – плацебо; 2 – МТ; 3-5 – вспомогательных веществ (3 – крахмала, 4 – сахарозы, 5 – кальция стеарата); 6 – Т-ДГ, при $\lambda_{в}$ (а) 280, (б) 350 нм.

оресценции Т-ПГ при $\lambda_{в280}$ и $\lambda_{в350}$ приходится на 446 ± 1 нм. Для МТ I_{max} СФ близки к указанному выше (I_{443} при $\lambda_{в280}$ и I_{447} при $\lambda_{в350}$). Смещение первого I_{max} в коротковолновую область объясняется тем, что при ВФ на $\lambda_{в280}$ вклад в интенсивность флуоресценции вносит крахмал. Подтверждением этого являются результаты нормирования СФ изучаемых образцов (рис. 3): I_{max} РСО приходится на $\lambda_{в448}$; I_{max} в серии Т-ПГ не различается и в пределах 1 нм совпадает с таковой РСО; в МТ ПГ I_{max} сдвинута в коротковолновую сторону и составляет 443 нм. Это смещение свидетельствует об отсутствии влияния технологического процесса производства таблеток на физико-химические свойства модели (порошок), где соблюдены алиquotы используемых веществ, но исключены этапы растворения, грануляции и прессования.

На рис. 4 представлены нормированные СФ изучаемых образцов при $\lambda_{в350}$. Различия интенсивности СФ в области 390÷420 нм для Т-ЛС различных производителей в сравнении со СФ РСО объясняются вкладом флуоресценции входящего во вспомогательные вещества крахмала, который и повышает интенсивность в коротковолновой области спектра.

На рис. 5 представлены спектры ВФ исследуемых веществ, регистрируемые на λ_{450} нм. Видно, что спектры ВФ крахмала и плацебо идентичны, но отличаются от аналогичных спектров РСО и Т-ПГ. Длины волн возбуждения последних продолжают вплоть до λ_{420} нм, в то время как ВФ крахмала и плацебо регистрируется до λ_{350} нм с основным вкладом во флуоресценцию плацебо крахмала. Этот факт еще раз подтверждает необходимость использования $\lambda_{в350-400}$ нм для определения ПГ.

На рис. 6, где приведены спектры ВФ РСО и Т-ПГ при длине волны флуоресценции ($\lambda_{ф}$) 450 нм, видно, что спектр ВФ последней более сложен, и единственное объяснение этому – наличие вспомогательных веществ,

в частности, крахмала, который обеспечивает прирост интенсивности в области 280÷320 нм. Однако, несмотря на разницу в спектрах ВФ РСО и Т-ПГ, максимумы полос флуоресценции приходятся на 448 нм в широком диапазоне длин волн возбуждения (350÷400 нм). При возбуждении этих образцов на $\lambda_{в380}$. СФ по данным корреляционного анализа совпадают с точностью не ниже $\geq 99,99$.

Для РСО ДГ регистрация СФ проводилась на шести характерных $\lambda_{в}$ – 300, 350, 380, 400, 420, 450 нм. В отличие от РСО ПГ, для РСО ДГ положение полосы флуоресценции, его I_{max} и интенсивность зависела от $\lambda_{в}$ (рис. 7). При переходе от $\lambda_{в300}$ к $\lambda_{в450}$ наблюдается его

смещение в длинноволновую область и незначительное уменьшение интенсивности флуоресценции: при $\lambda_{в}$ = 300, 350 и 380 нм максимум приходится на I_{486} ; при $\lambda_{в400}$ – на I_{506} ; $\lambda_{в420}$ – I_{522} ; $\lambda_{в450}$ – I_{526} . При нормировании этих спектров видно, что положение полос флуоресценции и их максимумы $\lambda_{ф}$ (486÷526 нм) значительно изменяются и смещаются в длинноволновую сторону. Эти изменения указывают на неэлементарный характер происхождения спектров и свидетельствуют о молекулярной неоднородности субстанции, доказывая присутствие в РСО ДГ, по крайней мере, четырех оптических изомеров или ассоциатов молекул ДГ [3].

При сравнении и анализе СФ МТ ДГ, плацебо и вспомогательных веществ

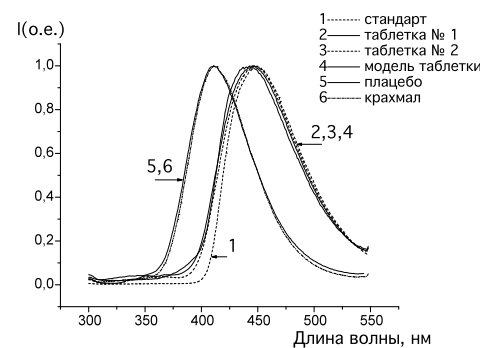


Рис. 3. Нормированные СФ: 1 – РСО; 2, 3 – Т-ПГ №№1, 2; 4 – МТ; 5 – плацебо; 6 – крахмала, при $\lambda_{в}$ 280 нм.

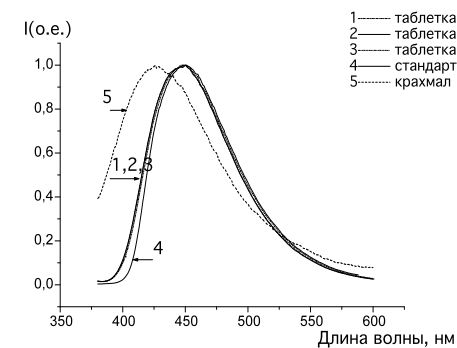


Рис. 4. Нормированные СФ: 1, 2, 3 – Т-ПГ №№1, 2, 3; 4 – РСО; 5 – крахмала, при $\lambda_{в}$ 350 нм.

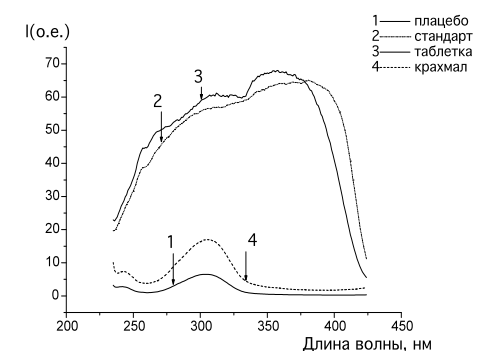


Рис. 5. Спектры ВФ: 1 – плацебо, 2 – РСО, 3 – Т-ПГ, 4 – крахмала, при $\lambda_{ф}$ 450 нм.

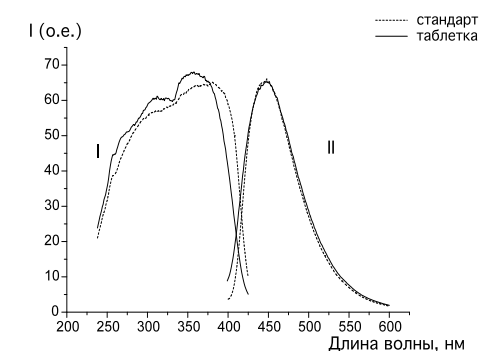


Рис. 6. Спектры РСО и Т-ПГ: I – ВФ ($\lambda_{ф}$ 450 нм), II – СФ ($\lambda_{в}$ 380 нм).

при $\lambda_{в280}$ и $\lambda_{в350}$ (рис. 8) выявлено, что I_{\max} полосы флуоресценции плацебо приходится на I_{413} при $\lambda_{в280}$ и на I_{428} при $\lambda_{в350}$, вблизи I_{\max} крахмала. А снижение интенсивности флуоресценции вещества при переходе с $\lambda_{в280}$ на $\lambda_{в350}$ объясняется уменьшением вклада крахмала (рис. 5). Смещение полосы флуоресценции в длинноволновую область спектра и увеличение интенсивности флуоресценции МТ ДГ также объясняется вкладом крахмала при $\lambda_{в280}$, что подтверждается длинноволновым сдвигом при $\lambda_{в350}$, когда усиливается вклад молекулы ДГ в интенсивность флуоресценции. Несмотря на относительно высокую интенсивность флуоресценции в области 400÷450 нм лактозы, магния стеарата, повидона и талька, при $\lambda_{в280}$ и $\lambda_{в350}$ их влияние можно не учитывать, поскольку полоса флуоресценции ДГ и её максимум находятся в области 500 нм.

Нормирование СФ изучаемых образцов при $\lambda_{в350}$ демонстрирует, что в СФ МТ наблюдается полоса, совпадающая с РСО – I_{486} , но отличающаяся от таковой Т-ДГ – I_{522} . Разведение МТ ДГ водой приводит к схождению их максимумов (для МТ ДГ – I_{524}). В этом случае в области 400÷500 нм форма и вид полосы отличается подъемом коротковолнового плеча, что указывает на присутствие коротковолновых изомерных форм ДГ [4].

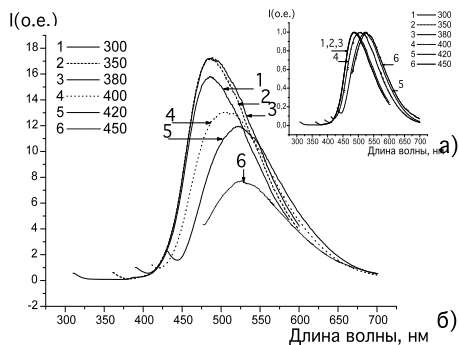


Рис. 7. Спектры РСО ДГ при $\lambda_{в}=300, 350, 380, 400, 420, 450$ нм: (а) – СФ; (б) – нормированные СФ.

По данным нормированных СФ и ВФ образцов (рис. 9, 10) следует, что определение подлинности готовых форм ДГ возможно при $\lambda_{в420}$ нм. При этом I_{\max} СФ должен приходиться на $\lambda_{в}=525\pm 1$ нм.

Методом главных компонент [7] определены матрицы счетов 8 образцов Т-ДГ и 7 Т-ПГ различных производителей и сроков хранения, их РСО и МТ. Данные в области 370÷700 нм с шагом 1 нм получены при $\lambda_{в350}$. Спектры нормированы на максимальное значение и затем центрированы (рис. 11). Максимум ПГ находится на ~450 нм (полуширина $\Delta\lambda\sim 40$), а максимум ДГ – на 525 ± 5 нм (полуширина $\Delta\lambda\sim 80$). Спектральные кривые перекрываются, и максимум ПГ приходится на коротковолновое крыло флуоресценции ДГ. Отношение ненормированных эксперимен-

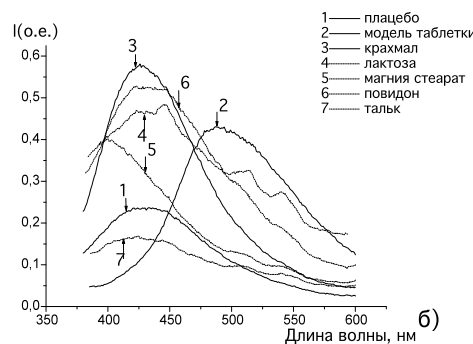
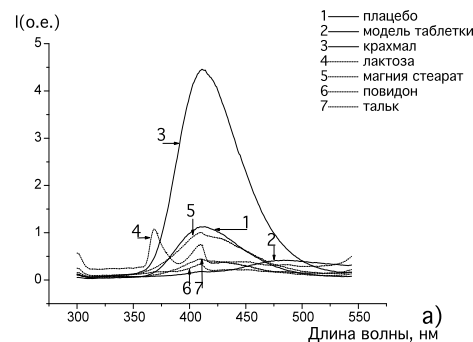


Рис. 8. СФ ДГ: 1 – плацебо; 2 – МТ; 3-7 – вспомогательных веществ (3 – крахмала; 4 – лактозы; 5 – магния стеарата; 6 – повидона, 7 – талька), при $\lambda_{в}$ (а) 280, (б) 350 нм.

тальных спектров $I_{ДГ}/I_{ПГ}$ для 40-й длины волны ($I_{\max} ПГ-\lambda_{450}$ нм) $\approx 0,18$. Длинноволновый сдвиг флуоресценции ДГ объясняется большим количеством смежных сопряженных связей [3]. СФ Т-ДГ, РСО и МТ ДГ, сохраняя форму и полуширину полосы флуоресценции, различаются на 5÷10 нм в зависимости от производителей, сроков и условий хранения. При $\lambda_{в420}$ СФ всех образцов, содержащих ДГ, совпадают.

Как видно из графика счетов (рис. 12), анализируемые ЛС образуют 2 кластера. Координаты ПГ и его РСО, в отличие от ДГ, имеют незначительный разброс. Для ДГ только возбуждение СФ РСО и МТ ДГ на $\lambda_{в420}$ обеспечивает совпадение их координат с Т-ЛС.

С учетом того, что в таблетированных формах и порошковых смесях определение значения оптической плотности в полосе поглощения действующего вещества невозможно вследствие больших абсолютных значений поглощения и рассеяния излучения, а также её зависимости от размеров и формы частиц, количество действующего вещества определяли по интенсивности излучения в максимуме полосы его флуоресценции. На рис. 13 показаны калибровочные кривые зависимости интенсивности флуоресценции от количества РСО в образцах. Линейность интенсивности флуоресценции на выбран-

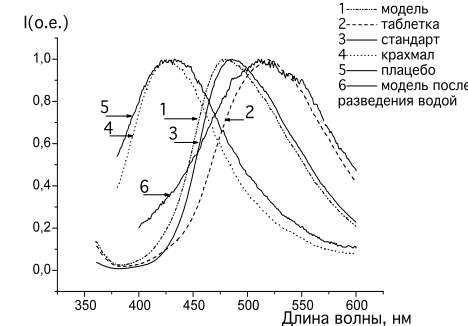


Рис. 9. Нормированные СФ: 1 – МТ ДГ до разведения водой; 2 – Т-ДГ; 3 – РСО; 4 – крахмала; 5 – плацебо; 6 – МТ после разведения, при $\lambda_{в}$ 350 нм.

ных длинах волн возбуждения и регистрации демонстрирует возможность количественного определения действующего вещества, по крайней мере, в исследованном диапазоне концентрации.

Выводы

Таким образом, определение действующего начала в Т-ЛС без их разрушения с использованием флуоресцентных технологий является весьма перспективным методом в силу его точности и экспрессности. При качественном и количественном определении ПГ для ВФ необходимо использовать $\lambda_{в}=350\pm 10$ нм, а максимум флуоресценции должен приходиться на $\lambda_{ф}=450\pm 1$ нм, а для ДГ, соответственно, $\lambda_{в}=420\pm 10$ нм и $\lambda_{ф}=525\pm 1$ нм.

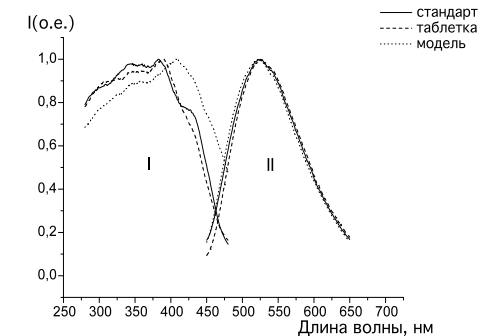


Рис. 10. Нормированные спектры: I – ВФ ($\lambda_{ф}$ 510 нм), II – СФ ($\lambda_{в}$ 420 нм): 1–РСО, 2– Т-ДГ, 3–МТ.

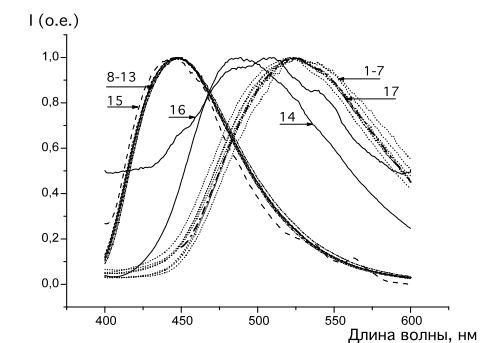


Рис. 11. Нормированные СФ: 1-7 – Т-ДГ, 8-10 – Т-ПГ, 11-13 – папазола; 14 – МТ ДГ с водой; РСО: 15 – ДГ, 16 – ПГ, при $\lambda_{в}$ 350 нм; 17 – ДГ, при $\lambda_{в}$ 420 нм.

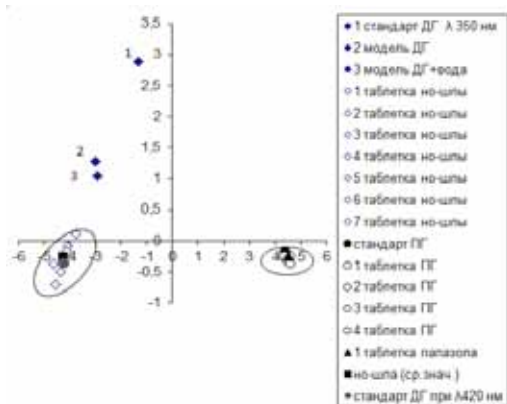
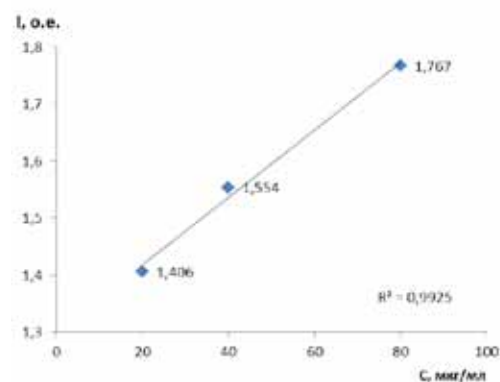


Рис. 12. Матрица счетов Т-ДГ и Т-ПГ, РСО, МТ ПГ и ДГ.

Рис. 13. Калибровочная кривая МТ ПГ $\lambda_{\text{в}}$ 280 нм.

Список литературы

1. Удут В.В., Прокопьев В.Е., Зюзькова Ю.Г., Стыкон Г.А. Оригинальный прибор экспресс-контроля качества готовых лекарственных средств // XVIII Международной конференции и дискуссионного научного клуба 10 «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». Украина. Крым. том 1. 2010. С. 56.

2. Прокопьев В.Е., Удут В.В. Установка экспресс-контроля качества готовых лекарственных средств // Медицинская техника. №6 (258). 2009. С. 27-33.

3. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. Пер. с англ. –

М.: Мир. 1986. 496 с.

4. Чушов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. Промышленная технология лекарств. Х.: МТК-Книга; Изд-во НФАУ. 2002. Том 2. С. 353.

5. Blanco M., Villarroya I. NIR spectroscopy a rapid-response analytical tool // Trends Anal. Chem. №21. 2002. 240 p.

6. Wold S., Esbensen K., Geladi P. Principal component analysis // Chemom. Intell. Lab. Syst. 1987. V.2. 37 p.

7. Naes T., Igrens C., Martens H. Comparison of linear statistical methods for calibration of NIR instruments. Appl. Stat. 1986. P. 35, 195.

Possibilities of the fluorescent (spectral) express analysis of firm medicinal forms

Yu.G. Zyuzkova, V.E. Prokopyev, V.V. Udut, L.G. Vorobyeva, N.N. Karkischenko

Fluorescence spectra, fluorescence excitation spectra of tableted form of papaverine hydrochloride and drotaverine hydrochloride and spectra the drugs standards were measured and studied. It was shown that spectral characteristics of drotaverine have a long-wave shift in comparison with spectral characteristics of papaverine that could be explained by the fact that drotaverine molecule has more adjacent conjugated bonds than papaverine molecule. Correlative and multivariate statistical analysis (method of principal components) of studied drugs tableted forms spectra allows to identify the drugs with an accuracy not less than 99,99. The present research confirmed the possibility of drugs quality analysis in the presence of adjuvants.

Key words: drotaverine hydrochloride, papaverine hydrochloride, fluorescence (excitation) spectra, quality control, principal components method.



НОВЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ

Влияние препаратов пептидного происхождения и их комбинаций на устойчивость крыс к острой гипобарической гипоксии

Х.Х. Семенов, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, О.И. Степанова, Л.Х. Казакова, А.О. Ревякин, Н.В. Касинская, Е.Л. Матвеевко, С.Е. Деньгина, Ю.В. Фокин

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: академик РАН, член-корр. РАН Каркищенко Николай Николаевич, niknik2808@yandex.ru

Работа посвящена поиску фармпрепаратов, способных повысить резистентность организма к гипоксии. На крысах линии Wistar проводили испытания препаратов пептидного происхождения и их комбинаций на гипоксическую активность. Экспериментально установлено: все исследуемые препараты и их комбинации были высоко активны, что проявилось в повышении резистентности организма подопытных крыс к острой гипобарической гипоксии по сравнению с контролем. Наибольшей активностью среди испытываемых препаратов обладали Пепт-9, Пепт-10 и Пепт-11, под влиянием которых на 21-й день после введения время жизни на «высоте» у экспериментальных животных было продлено более чем в 3 раза. Препараты Пепт-10 и Пепт-11 не только сохранили высокую антигипоксическую активность через 7 дней после прекращения их введения, но и превысили максимальный показатель, проявленный на 21-й день исследований. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что исследуемые препараты пептидного происхождения и их комбинации являются антигипоксантами.

Ключевые слова: гипоксия, резистентность организма, антигипоксантами.

Успехи современной химии и фармакологии позволили осуществить синтез и внедрить в практику новый класс лекарственных средств – так называемых «антигипоксантов» – веществ, облегчающих реакцию организма на гипоксию, либо предотвращающих ее развитие, увеличивающих резистентность организма или отдельных органов к ней [1, 3]. Применение антигипоксантов оказалось действенным при многих видах хронических форм кислородной недостаточности [1, 2, 4, 5]. Однако большинство используемых в настоящее время антигипоксантов не обладают необходимой эффективностью в качестве средств экстренной помощи, преимущественно из-за медленной скорости развития терапевтического действия. Помимо этого, арсенал данных лекарственных средств пока крайне ограничен, а многие из них имеют узкий диапазон действующих доз и оказывают

положительное действие не при всех видах гипоксии, а некоторые проявляют нежелательное побочное действие. Поэтому поиск лекарственных средств для повышения резистентности организма в условиях гипоксии все еще остается актуальной задачей экспериментальной и клинической фармакологии и медицины.

На основании изложенного, целью настоящей работы являлся поиск фармакологических препаратов, которые способны увеличить резистентность организма к гипоксии.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на крысах линии Wistar, полученных из филиала «Андреевка» НЦБМТ РАМН. В опыте и контроле были использованы самки трехмесячного возраста с массой тела 200-220 г, по 6 особей в каждой группе. Крысы содержались в конвенциональных условиях, в пластиковых клетках Т2 фирмы «Velaz» с автопоилками и получали гранулированный комбикорм фирмы «Лаборагоркорм» вволю. Дополнительно к этому еженедельно им выдавали белково-витаминную подкормку, в состав которой входило сухое молоко, овсянка, витамины А, Е, D в масле. Исследуемые препараты животного происхождения состояли из пептидов и низкомолекулярных белков с молекулярной массой 5-18 кД. Все препараты получили кодовые наименования. Действие препаратов исследовали путем ректального введения. Оценку их влияния осуществляли по тесту индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии животных опытных и контрольных групп. Для этого каждая крыса помещалась в барокамеру и «поднималась» на критическую высоту (11500 м) со скоростью 165 м/с, где она находилась до агонального состояния.

Исследуемые показатели: ВПП – время первого падения (переход в лежачее положение), характеризующее порог реакции организма на данное воздействие, сек.; ВЖ – время жизни на «высоте» (до появления агонального дыхания), сек.; ВВП – время восстановления позы после «спуска» животного с «высоты», сек.

Мерой оценки чувствительности животного к острой гипобарической гипоксии служило время жизни на «высоте».

Тестирование крыс проводили на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день после начала курса введения препарата.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных исследований представлены в таблице. Полученные данные свидетельствуют о существенном повышении устойчивости экспериментальных животных к острой гипобарической гипоксии под воздействием испытуемых фармакологических агентов. Так, препараты под номерами 9, 10, 11 уже на 7-й день после введения «продлили» срок жизни на «высоте» подопытных крыс, получавших их, в 2,0-2,4 раза. Коэффициент эффективности защиты от гипоксии у препаратов под номерами 5, 6, 7, 8 составил от 1,2 до 1,6, то есть во столько раз дольше прожили на «высоте» крысы из опытных групп по сравнению с аналогами в контроле. Максимальный антигипоксический эффект все препараты, исключая Пепт-10 и Пепт-11, проявили на 21-й день после начала введения. Следует заметить, что после 21-го дня введение всех исследуемых препаратов было прекращено. Это было вызвано необходимостью установить длительность их антигипоксического влияния на организм животных. С этой целью очередное тестирование крыс проводили через 7 дней после последнего введения препа-

рата. Полученные результаты показали, что их защитное действие, хотя и в различной степени, сохраняется. Так, коэффициент эффективности защиты у препаратов под номерами 5-9, в сравнении с его значением на 21-й день, снизился на 36%. В то время как продолжительность жизни животных, которым вводили препараты 10 и 11, согласно полученным результатам, увеличилась в 3,2 и 4,4 раза против 2,8 и 3,4, соответственно, на 21-й день тестирования.

Таким образом, выявлено, что исследуемые препараты пептидного происхождения и их комбинации обладают высокой степенью антигипоксической активности.

Выводы

В результате проведенного эксперимента установлено:

1. Все исследуемые препараты пептидного происхождения и их комбина-

ции проявили высокую антигипоксическую активность, выразившуюся в продлении жизни подопытных крыс на «высоте» по сравнению с их интактными аналогами в контроле.

2. Наибольшей активностью среди исследуемых препаратов обладали Пепт-9, Пепт-10 и Пепт-11, под влиянием которых на 21-й день после начала курса введения время жизни на «высоте» у экспериментальных животных было продлено более чем в 3 раза.

3. Высокую эффективность действия на резистентность организма крыс к гипоксии через 7 дней после прекращения введения (28-й день тестирования) сохранили препараты Пепт-10 и Пепт-11.

Таким образом, проведенные исследования показали, что изучаемые препараты пептидного происхождения и их комбинации обладают высокой антигипоксической активностью.

Таблица

Оценка антигипоксического действия исследуемых препаратов

Препарат	Среднее значение показателей ВЖ по срокам исследований					Коэффициент эффективности защиты по срокам исследований			
	Фон	7-й день	14-й день	21-й день	28-й день	на 7-й день	на 14-й день	на 21-й день	на 28-й день
Пепт-5	380	494	590	728	487	1,3	1,5	1,9	1,3
Пепт-6	398	517	655	720	665	1,3	1,6	1,8	1,7
Пепт-7	453	557	665	703	632	1,2	1,5	1,6	1,4
Пепт-8	252	398	485	627	570	1,6	1,9	2,5	2,3
Пепт-9	216	485	593	702	570	2,2	2,7	3,3	2,6
Пепт-10	323	632	795	897	1047	2,0	2,5	2,8	3,2
Пепт-11	226	550	682	770	1003	2,4	3,0	3,4	4,4

Список литературы

1. **Виноградов В., Смирнов А.** Антигипоксанты - важный шаг на пути разработки фармакологии энергетического обмена / В.М. Виноградов, А.В. Смирнов // Антигипоксанты и актопротекторы: итоги и перспективы. ААИП-СПб. 1994. Вып.1. С 23.
2. **Зарубина И.В., Шабанов П.Д.** Молекулярная фармакология антигипоксантов. СПб.: «Изд-во Н.-Л.». 2004.
3. **Парфенов Э.А. и др.** Гипоксия: механизм, коррекция, адаптация // Мат. Всеросс. Конф. М. 1999. 56 с.
4. **Смирнов А.В.** Патолофизиология экстремальных состояний. Тех. науч. конф. СПб.: В. Мед. А. 1993. С. 114-119.
5. **Шевченко Ю.Л.** Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. СПб.: Элби-СПб. 2000.

Effect of drugs peptide origin and their combinations on the sustainability of the rats to acute hypobaric hypoxia

Kh.Kh. Semenov, N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, O.I. Stepanova, L.A. Bolotskykh, L.Kh. Kazakova, A.O. Revyakin, N.V. Kasinskaya, E.L. Matveyenko, S.E. Den'gina, Yu.V. Fokin

The article is devoted to the search pharmaceuticals, able to increase the organism resistance to hypoxia. On Wistar rats conducted trials of drugs peptide of origin and their combinations on hypobaric effect. It is experimentally established, all the studied drugs and their combinations were highly active, which manifested itself in the increase of organism resistance experimental rats to acute hypobaric hypoxia compared with control. Most active among the subjects of drugs Pept-9, Pept-10 and Pept-11, under the influence of which on the 21st day after the introduction of the life-time of the «height» in experimental animals has been extended more than in 3 times. Pept-10 and Pept-11 are not only maintained a high level of anti-hypoxia effect within 7 days after the termination of their introduction, but also exceeded the maximum rate, shown on the 21st day of research. Thus, the obtained data show that the investigational agents peptide of origin and their combinations are anti-hypoxia trials.

Key words: hypoxia, the resistance of the organism, anti-hypoxia trials.

Экспериментальная оценка адаптогенной активности новых лекарственных средств и веществ с использованием крупных лабораторных животных

В.Н. Каркищенко¹, Г.Д. Капанадзе¹, Н.В. Станкова¹, А.О. Ревякин¹, Е.Л. Матвеевко¹, Р.Г. Костогрызова¹, С.Л. Люблинский¹, И.Ю. Колышев², И.А. Берзин³

¹ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

² – Федеральный медицинский центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

³ – Федеральное медико-биологическое агентство России

Контактная информация: д.б.н. Капанадзе Гия Джемалиевич, giyak@yandex.ru

В работе показано, что длительное (21 день) применение пептидов животного происхождения на крупных лабораторных животных повышает их выносливость. Пептиды не влияли отрицательно на физиологические показатели животных и картину крови.

Ключевые слова: выносливость, пептиды, мини-свиньи, эксперимент.

Для повышения работоспособности и выносливости организма при работе в экстремальных условиях (предельные, запредельные и продолжительные физические нагрузки, стрессовые ситуации и т.п.) прирост адаптационных сдвигов может быть достигнут с помощью фармакологических средств [2, 4, 5, 12].

Продукты химического синтеза, в том числе препараты, разрешенные для медицинского применения, существенно уступают в этом направлении пептидным и белковым продуктам природного происхождения. Поэтому мы обратили особое внимание на поиск новых оригинальных средств пептидной природы.

Пептидами являются представители достаточно большого класса линейных химических соединений, содержащих звенья – NH – CH(Ri) – COO – , являющиеся остатками 20-ти природных α-аминокислот. Аминокислотные остатки соединены между собой пеп-

тидной связью, давшей название всем представителям этого класса веществ. Хотя аминокислоты (кроме глицина) – оптически активные соединения, в пептидах обнаружены только L-изомеры. Аминокислоты в природных пептидах содержатся не в эквимолярных соотношениях, некоторые аминокислоты встречаются значительно реже других. Условно принято считать пептидами полимеры массой до ~ 5-6 кД, содержащие от 2 до ~ 50 аминокислотных остатков.

В настоящее время известно большое (порядка нескольких сотен) число пептидов, обладающих физиологической активностью. По мере их изучения становится очевиден полифункциональный характер пептидной регуляции.

В доступной нам литературе не обнаружено каких бы то ни было сведений о влиянии низкомолекулярных белков и пептидов на выносливость и работоспо-

способность как лабораторных животных, так и человека.

Поэтому нами была поставлена задача изучить влияние пептидов на работоспособность и выносливость организма.

Выбранная нами методика (принудительный бег мини-свиней на тредбане) использована для исследования действия препаратов за пределами максимально переносимых физических нагрузок, т.е. на стадии, превосходящей работу «до отказа» [1, 3, 6].

Цель исследования. Осуществить изучение в экспериментах на крупных лабораторных животных действий пептидов животного происхождения, предназначенных для повышения адаптивной активности, работоспособности и выносливости человека, находящегося в состоянии высокой физической и психоэмоциональной нагрузки.

Информация об исследовательской базе

Исследование было проведено в ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН.

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН основан в 2005 году. Учреждение занимается проведением фундаментальных и прикладных научных исследований (в том числе клинических) в области биомедицинских технологий, биобезопасности, нанотехнологий, фармакологии, токсикологии, биологического и альтернативного моделирования, направленных на сохранение и укрепление здоровья человека, развитие здравоохранения и медицинской науки.

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН со своими филиалами является основным поставщиком лабораторных животных для учреждений РАМН и других заинтересованных ведомств.

Регулирующие стандарты

Исследования были проведены в соответствии с нормативной документацией:

Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»;

ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»;

«Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». М.: Медицина, 2005;

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Минздравсоцразвития России) от 23 августа 2010 г. N 708н г. Москва "Об утверждении Правил лабораторной практики";

Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева – М.: Профиль–2С, 2010.

Протокол исследования был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией Центра.

Использованные СОПы

Проведение научно-исследовательской работы сопровождалось выполнением следующих стандартных операционных процедур:

Материалы и методы

Исследуемые вещества

Полученные в ФГБУ «НЦБМТ» РАМН пептиды животного происхождения были обозначены условно как Пепт-1 и Пепт-2. Пептиды вводились животным ежедневно в течение 21 дня в одно и то же время суток.

Животные и их содержание

Эксперименты выполнялись на лабораторных светлогорских мини-свиньях, самцах, в количестве 42-х голов, массой

PM-12-1	Формирование экспериментальных групп
PM-12-2	Маркировка клеток
PM-12-3	Взвешивание животных
PM-12-4	Клинический осмотр животных
PM-12-5	Подготовка доз лекарственных препаратов
СП-12-1	Фиксация животного
СП-12-2	Ректальное введение лекарственного средства
СП-12-6	Забор крови из хвостовой вены
СП-12-7	Эвтаназия
СП-12-8	Обескровливание
СП-12-9	Взвешивание органов
СП-12-10	Отбор органов и тканей для гистологии
СП-12-11	Подготовка органов и тканей для гистологических исследований
ПРНП-12-2	Работа на гематологическом анализаторе BC 3200
ПРНП-12-3	Работа на биохимическом анализаторе ChemWell+
PM-13-1	Формирование экспериментальных групп (мини-свиней)
PM-13-2	Маркировка клеток (мини-свиней)
PM-13-3	Взвешивание животных (мини-свиней)
PM-13-4	Клинический осмотр животных (мини-свиней)
PM-13-5	Подготовка доз лекарственных препаратов
СП-13-1	Фиксация животного (мини-свиней)

20±2,4 кг. Мини-свиньи по многим физиологическим параметрам близки к человеку [7, 8, 10, 11].

Карантин

Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла 14 дней. В течение карантина проводили ежедневный ос-

мотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках. Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации. Животные, не соответствующие

критериям, были исключены из исследования в течение карантина.

Содержание животных

Животных содержали в соответствии с требованиями ГОСТ Р от 02.12.2009 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». Животные содержались в стационарных клетках, индивидуально. В качестве подстилки использовали стерильные древесные опилки из хвойных пород деревьев. В качестве корма – стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для свиней ПК 58. Кормление животных осуществлялось по нормативам в соответствии с видом животных. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 18-22°C и относительная влажность 60-70%. Освещение в помещениях – естественно-искусственное. В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения.

Ежедневный осмотр

В течение исследования каждое животное осматривалось ежедневно. Осмотр включал в себя оценку общего поведения и общего состояния животных. При введении препарата осмотр проводился примерно через 1 ч после введения.

Тест принудительного бега мини-свиней на тренажере

Предварительно животных в течение 15 дней до начала эксперимента обучали бегу на беговой дорожке. Скорость движения беговой дорожки во время эксперимента – 9 км/ч. Длительность обучения – 30 мин ежедневно, с перерывом в 3 мин.

До начала ввода препаратов, а далее на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день измеряли показатели артериального давления, содержания кислорода в крови, температуру тела ректально. Далее животных принудительно заставляли бегать на беговой дорожке (Тогео Т-203). Измеряли время бега, дистанцию. После остановки беговой дорожки опять измеряли показатели артериального давления, ЭКГ, содержания кислорода в крови, температуру тела ректально, количество дыхательных движений в 1 мин. На 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни эксперимента у животных брали кровь из хвостовой вены. Для определения гематологических показателей кровь отбирали в обработанные ЭДТА капилляры объемом 20 мкл. Для определения биохимических показателей кровь собирали в пробирки с активатором свертывания, центрифугировали 6 мин при 4000 об. и температуре 8°C. Исследование проводилось с использованием автоматического биохимического анализатора ChemWell+ и автоматического гематологического анализатора MINDRAY BC-3200.

Бег мини-свиней на тредбане является апробированным нами ранее методом [9, 10].

Результаты и их обсуждение

Результаты длительности принудительного бега мини-свиней на фоне ректального введения препаратов Пепт-1 и Пепт-2 представлены ниже (табл. 1).

Животные контрольной группы незначительно увеличивали время бега на тредбане. На 14-й день эксперимента повышение составило 1,02 раза по сравнению с первым днем эксперимента, а на 28-й день – 1,04 раза. Эти

изменения, скорее всего, были обусловлены длительными тренировками животных на беговой дорожке.

При введении пептидов время бега мини-свиней увеличилось уже с 7-го дня эксперимента. Результаты значительно превосходили данные контрольной группы. Так, на 7-й день эксперимента на фоне введения пептидов Пепт-1 и Пепт-2 животные бегали дольше в 1,09 и 1,12 раза соответственно по сравнению

с собственными фоновыми показателями. На 14-й день эксперимента время бега увеличилось в 1,15 и 1,21 раза после введения Пепт-1 и Пепт-2. Прирост на 21-й день был максимальным и составил как для Пепт-1, так и для Пепт-2 2,32 раза. Далее, после отмены ввода пептидов, на 28-й день эксперимента, время бега незначительно снизилось, но при этом превосходило время фонового бега в 1,27 и 1,29 раза для пептидов

Таблица 1

Сравнительные показатели в тесте принудительного бега мини-свиней на фоне приема пептидов

Показатель \ Препарат	Контроль	Пепт-1	Пепт-2
Время бега, мин			
фон	24,8±5,7	22,33±1,9	22,75±2,1
7 день	24,4±4,5	24,66±2,1	25,0±3,0
14 день	25,0±6,1	26,0±3,0	26,75±1,8
21 день	25,4±4,2	30,0±1,9	29,5±1,4
28 день	25,9±3,6	28,67±2,4	28,75±1,9
Отношение времени бега в эксперименте к фону			
7 день/фон	1,0	1,09	1,12
14 день/фон	1,0	1,15	1,21
21 день/фон	1,02	1,32	1,32
28 день/фон	1,04	1,27	1,29
14 день/7 день	1,02	1,06	1,07
21 день/7 день	1,04	1,22	1,15
21 день/14 день	1,0	1,15	1,1
28 день/7 день	1,06	1,16	1,15
28 день/14 день	1,04	1,10	1,07
28 день/21 день	1,02	0,95	0,97

Пепт-1 и Пепт-2 соответственно. Время бега мини-свиней опытных групп значительно превосходило показатели животных контрольных групп на всех временных отрезках эксперимента.

Некоторые физиологические параметры и исследование ЭКГ мини-свиней на фоне предельных физических нагрузок после ввода пептидов

Запись электрокардиограммы проводилась после прикрепления электродов к конечностям, так как с грудных отведений снять ЭКГ у мини-свиней практически невозможно. Следует особо отметить, что любые манипуляции и, в частности, запись ЭКГ у мини-свиней сопровождаются стрессовыми реакциями. В качестве физической нагрузки использовался бег. Показатели ЭКГ записывали до и после забега на фоне введения препарата на 7, 14, 21 и 28-й день эксперимента, причем прекращали введение испытуемого препарата на 21-й день эксперимента.

Анализ полученных электроэнцефалограмм показал, что у всех испытуемых животных, независимо от вводимых пептидов, выявленные отклонения от нормы такие же, как и при фоновой записи: учащения пульса от 75 до 100 и более уд/мин, одиночные и групповые наджелудочковые экстрасистолы в виде бигеминии и тригеминии. Появление на ЭКГ блокад передне-верхних разветвлений левой ножки пучка Гиса вызваны запредельной физической нагрузкой, которая привела к нарушению возбуждения от синусового узла до окончания проводниковой системы и плохому наполнению левого желудочка. На некоторых

электрокардиограммах были выявлены отклонения электрической оси влево, что можно объяснить тяжелой физической нагрузкой, а выраженное отклонение электрической оси вправо – результатом резкого перевозбуждения проводящей системы сердца, вызванное стрессом. У некоторых животных отмечалось снижение частоты пульса с 85 до 45 уд/мин и появление одиночных желудочковых экстрасистол, что также можно объяснить резким возбуждением блуждающего нерва и запредельными физическими нагрузками. И только у одного животного с начала эксперимента и до его окончания постоянно отмечалась синусовая брадиаритмия и неопределенная электрическая позиция сердца, выраженное отклонение электрической оси вправо, что также можно объяснить резким раздражением блуждающего нерва, связанным с запредельной физической нагрузкой.

Приведенные ЭКГ мини-свиней отражают состояние животных на разных сроках эксперимента.

В заключении следует отметить, что при сравнении фоновых ЭКГ и ЭКГ после введения пептидов при запредельных нагрузках особых отличий в симптоматике не выявлено, прослеживалась определенная динамика продолжительности и полярности основных электрокардиологических параметров (интервалов зубцов), но вводимые препараты не увеличивали период восстановления ЭКГ и, соответственно, не уменьшали выносливость животных.

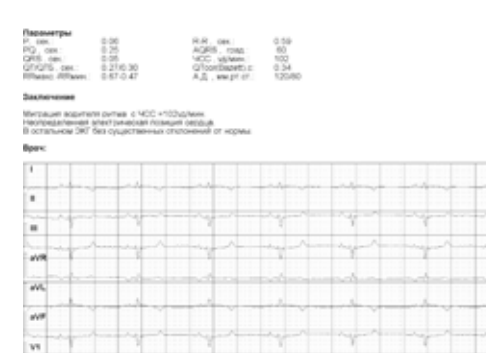


Рис. 1. Фоновая ЭКГ мини-свиней.



Рис. 2. ЭКГ мини-свиней после нагрузочной пробы, Пепт-1 (7-й день эксперимента).



Рис. 3. ЭКГ мини-свиней после нагрузочной пробы, Пепт-2 (14-й день эксперимента).



Рис. 4. ЭКГ мини-свиней после нагрузочной пробы, Пепт-1 (21-й день эксперимента).

До и после нагрузочных проб у крупных лабораторных животных измеряли температуру тела, ЧСС, ЧДД и содержание кислорода в крови (табл. 2).

Все изменения изучаемых параметров – как при введении Пепт-1, так и при введении Пепт-2 – находились в физиологической норме и были обусловлены стрессом и высокими физическими нагрузками.

Пепт-1 и Пепт-2 практически не изменяют биохимические показатели крови. Отмечено небольшое уменьшение креатинина, лактата и мочевины по отношению к контролю. Остальные показатели во

всех группах не отличались от контроля и находились в пределах нормальных значений.

Пептиды не внесли каких-либо значимых изменений в гематологическую картину крови исследуемых животных.

Выводы

1. Исследуемые нами пептиды животного происхождения Пепт-1 и Пепт-2 при длительном применении (21 день) повышают выносливость мини-свиней при беге на тредбане. Максимальную выносливость животных на фоне приема препаратов наблюдали на 21-е сутки эксперимента.

Показатель	Ректальная температура, С°		Частота сердечных сокращений, в мин		Число дыхательных движений, в мин		Содержание кислорода в крови									
	до нагрузки	после нагрузки	до нагрузки	после нагрузки	до нагрузки	после нагрузки	до нагрузки	после нагрузки								
Фон	Контроль 39,1±0,21	Пептид 1 38,3±0,09	Контроль 39,6±2,1	Пептид 1 -	Контроль 78,1±4,1	Пептид 1 79,5±2,0	Контроль 120,3±3,1	Пептид 1 -	Контроль 20,1±1,0	Пептид 1 18,5±0,6	Контроль 28,5±2,3	Пептид 1 -	Контроль 98,2±1,0	Пептид 1 95,5±0,9	Контроль 90,2±2,1	Пептид 1 -
7-й день	38,5±0,9	37,9±0,15	38,9±1,6	39,0±0,30	75,3±2,6	76,9±1,5	126,1±1,9	121,4±2,5	19,6±1,5	19,0±1,9	31,2±3,1	28,3±1,9	96,7±1,5	98,6±0,9	86,3±1,8	83,5±0,9
14-й день	38,7±1,3	38,2±0,3	39,2±0,2	39,0±0,31	78,1±1,9	76,7±1,0	115,4±2,0	110,9±3,9	18,9±0,9	19,9±2,6	28,7±2,0	26,4±1,8	95,8±0,9	94,5±0,5	87,5±0,9	92,3±0,8
21-й день	39,0±0,4	39,0±0,25	39,9±0,31	40,0±0,28	78,2±3,0	78,5±2,2	116,9±1,9	99,0±1,8	19,2±2,0	20,6±1,6	28,6±2,6	30,2±2,5	96,3±1,2	96,8±1,6	86,3±2,1	89,2±1,2
28-й день	38,9±0,28	37,9±0,25	38,5±0,36	39,2±0,20	76,3±1,9	76,8±1,5	120,0±2,1	99,2±3,0	19,4±1,8	20,5±0,8	31,2±3,5	29,8±2,0	97,2±1,3	98,4±0,7	84,9±2,0	85,6±1,6

Некоторые физиологические параметры мини-свиней после предельных физических нагрузок на фоне действия Пепт-1

Таблица 2

Таблица 3

Биохимические показатели крови мини-свиней контрольной и опытных групп

Показатель	Ед. изм.	Контроль	Пепт 1	Пепт 2
Глюкоза	ммоль/л	3,38±0,07	3,33±0,07	3,43±0,15
АЛТ	Ед/л	75,2±4,98	76,3±4,33	68,2±4,7
АСТ	Ед/л	115±2,16	112±3,73	120±9,83
КК	Ед/л	2836±324	2990±396	2498±153
Креатинин	мкмоль/л	107±8,7	102±6,78	97±7,16
Лактат	мг/дл	104±3,1	99,5±5,38	97,7±2,54
ЩФ	Ед/л	160±11	155±8,74	170±10,2
Альбумин	г/дл	31,2±0,83	30,3±0,99	31±0,52
Мочевина	мг/дл	27,2±0,9	25,5±2,05	24,5±1,73
Общ. бел.	г/дл	48,9±0,33	48,6±0,42	49,2±0,18
Триглиц.	мг/дл	39,5±1,23	42,7±2,81	43,3±4,49
Холестерин	мг/дл	47,8±1,35	49,3±1,7	49,5±1,81

Таблица 4

Гематологические показатели крови мини-свиней экспериментальных групп

Показатель	Ед. изм.	Контроль	Пепт 1	Пепт 2
Эритроциты	М/кл	6,01±0,32	7,03±0,08	5,97±0,26
Гематокрит	%	36,5±2,08	43,6±1,28	35,95±1,67
Гемоглобин	г/л	117±4,53	150±3,66	118,7±4,1
Тромбоциты	Т/мкл	578±40,8	519±39	556±54
Лейкоциты	Т/мкл	16,1±0,66	15,9±0,43	16,6±0,6

2. Пептиды Пепт-1 и Пепт-2 не изменяют физиологические параметры, ЭКГ мини-свиней, биохимические и гематологические показатели крови, что косвенно может служить показателем их безопасности.

Список литературы

1. Беллман Р. Математические методы в медицине. М.: «Мир». 1987. 200 с.
2. Вредные вещества в промышленности. Справочник под редакцией Н.В. Лазарева, Химия. Л. 1986 г.
3. ГОСТ 17768-90, Средства лекарственные. Упаковка, маркировка,

- транспортирование и хранение.
4. Государственная фармакопея IX, X, XI изд., вып. 2, XII.
 5. Денис В. Парк, Биохимия чужеродных соединений. М., «Медицина». 1972. С. 17-25.
 6. Додсон Р., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М., «Мир», 1991, 543 с.
 7. Капанадзе Г.Д., Ашуев Ж.А. Светлогорская популяция мини свиней // Биомедицина. 2007. № 6. С. 71-81.
 8. Станкова Н.В., Капанадзе Г.Д. Оптимизация светлогорских мини-свиней для биомедицинских исследований

// Биомедицина. 2010. № 5. С. 33-49.

9. Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 1. С. 72-74.

10. Капанадзе Г.Д. Использование миниатюрных свиней в биомеди-

цинских экспериментах // Биомедицина. 2006. № 2. С. 40-52.

11. Панов А.Е., Ревякин А.О., Капанадзе Г.Д. Доклинические исследования фармпрепаратов на крупных лабораторных животных (мини-свиньи) // Биомедицина. 2006. № 5. С. 84-88.

12. Каркищенко Н.Н. Лекарственная профилактика. М.: Воентехлит. 2001. 751 с.

Experimental assessment of adaptogenic activity of new medicines and substances with use of large laboratory animals

N.N. Karkishchenko, G.D. Kapanadze, N.V. Stankova, A.O. Revyakin, E.L. Matveyenko, R.G. Kostogryzova, S.L. Lyublinskiy, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin

This paper shows that long-term (21 days) use of peptides of animal origin on large laboratory animals increases their endurance. Peptides does not affect the physiological parameters of animals and blood picture.

Key words: endurance, peptides, mini-pig, experiment.



Влияние рецептуры «МиоАктив-Спорт» на биохимические и гематологические показатели лабораторных крыс

А.О. Ревякин¹, О.В. Алимкина¹, Н.Н. Каркищенко¹, В.Н. Каркищенко¹, Г.Д. Капанадзе¹, А.Г. Киселев¹, Л.Х. Казакова¹, О.И. Степанова¹, Н.В. Касинская¹, С.Е. Деньгина¹, С.Л. Люблинский¹, И.Ю. Колышев², И.А. Берзин³

¹ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

² – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

³ – Федеральное медико-биологическое агентство России

Контактная информация: д.м.н., проф. Каркищенко Владислав Николаевич, scbmt@yandex.ru

Оценивалось влияние рецептуры «МиоАктив-Спорт» на биохимические показатели и морфологический состав крови лабораторных крыс. Показано, что данная рецептура не вызывает патологических изменений исследованных показателей.

Ключевые слова: МиоАктив-Спорт, крысы, физические нагрузки, биобезопасность, биохимические и гематологические показатели, морфология крови.

Разработка биологически активных препаратов из натурального сырья является актуальной в первую очередь благодаря тому, что, в отличие от целого ряда синтетических и гормональных лекарственных препаратов, они не оказывают влияния на организм на генетическом уровне, не вызывают активных аллергических реакций, их применение не приводит к накоплению в организме большого количества вредных чужеродных соединений [1].

«МиоАктив-Спорт» – это специально разработанный комплексный высокобелковый полностью растворимый продукт,

предназначенный для профессиональных спортсменов и олимпийского резерва, а также для спецконтингента, подверженного повышенным физическим и психоэмоциональным нагрузкам. Он представляет собой концентрированный комплекс основных жизненно необходимых пищевых и биологически активных веществ, улучшающих способность человека переносить физические и психоэмоциональные нагрузки. В результате научных исследований и испытаний разработчики «МиоАктив-Спорт» полностью отказались от использования химически синтезируемых аминокислот и витаминов,

создав продукт, основные компоненты которого имеют натуральное природное происхождение. Белковые, полипептидные и аминокислотные компоненты имеют животное происхождение и получают путем ферментации и гидролиза белков сыворотки молока, мяса крупного рогатого скота и птицы. За счет современных технологий производства аминокислотный, витаминный, макро- и микроэлементный состав «МиоАктив-Спорт» оптимизирован с учетом метаболизма человека, подверженного высоким физическим нагрузкам. Рациональное распределение компонентов «МиоАктив-Спорт» обеспечивается за счет современных методов аналитического контроля готового сырья.

Целью настоящей работы была оценка влияния рецептуры «МиоАктив-Спорт» на показатели крови лабораторных животных (крыс).

Материалы и методы

Животные и их содержание

Эксперименты выполнялись на лабораторных белых аутбредных крысах. Лабораторные животные поступили из филиала ФГБУ «НЦБМТ» РАМН «Андреевка», пос. Андреевка Московской обл. Крысы средней начальной массой 245,2±3,9 г.

Карантин

Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла 14 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации.

Животные, не соответствующие критериям, были исключены из исследования в течение карантина.

Содержание животных

Работа выполнялась в соответствии с ГОСТ РВ 15.105-2001, по стандартным операционным процедурам лабораторий и согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 от 19.06.2003 г.), а также национальному стандарту Российской Федерации «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434-2009 [10, 11]. Животных содержали в соответствии с требованиями ГОСТ Р от 02.12.2009 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». Животные содержались в вентилируемых клетках RairIsoSystem, группами, по 3 особи в клетке. В качестве подстилки использовали стерильные древесные опилки из хвойных пород деревьев. В качестве корма – стандартный комбикорм гранулированный полнораціонный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Кормление животных осуществлялось по нормативам в соответствии с видом животных. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась ad libitum в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 20-24°C и относительная влажность 60-70% [8]. Освещение в помещениях – естественно-искусственное. В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения.

Ежедневный осмотр

В течение исследования каждое животное осматривалось ежедневно. Осмотр включал в себя визуальную оценку поведения и общего состояния животных.

Исследуемая рецептура

Рецептура «МиоАктив-Спорт» является высокобелковым растворимым составом, созданным на основе отечественных субстанций. Предназначена для питания лиц, испытывающих повышенные физические и психоэмоциональные нагрузки, обеспечивая потребности в основных макро- и микронутриентах. Содержит ряд компонентов, корректирующих метаболические нарушения и повышающих устойчивость тканей к гипоксии. Снижает содержание уровня лактата в организме, что увеличивает работоспособность спортсменов и ускоряет восстановление мышц после физических нагрузок. Оказывает

стресс-лимитирующее и адаптогенное воздействие.

Особенно следует подчеркнуть важность использования в составе продукта «МиоАктив-Спорт» легкоусвояемых полноценных белков и полипептидов животного происхождения, среднецепочечных триглицеридов, лецитина, минералоорганических форм макро- и микроэлементов: гемового железа из гемоглобина, органического йода в виде йодированных молочных сывороточных белков, биогенного кальция, полученного из яичной скорлупы, нерастворимых и растворимых пищевых волокон и т.д. Эти субстанции (табл. 1) производятся по оригинальным и запатентованным технологиям.

Таблица 1

Перечень основных компонентов, входящих в состав «МиоАктив-Спорт»

№ п/п	Субстанция	Область применения	Действующее начало	Биологическая ценность
1	«Гемобин» – гемоглобин с/х животных	Профилактика железодефицитных состояний	0,25 % гемового железа (Fe2+)	Усвоение Fe2+ более 80%. Отсутствие побочных эффектов
2	«Протемикс» – белки молочной сыворотки	Обогащение рациона полноценными животными белками, улучшение функциональных свойств	Концентрат (70%) белков молочной сыворотки	Аминокислотный скор более 100%
3	«Плазмин» – белки плазмы крови	Обогащение рациона полноценными животными белками, улучшение функциональных свойств	Концентрат (90%) белков плазмы крови (менее 10 кДа)	Источник незаменимых аминокислот
4	Концентрат белка пищевого птичьего	Обогащение рациона полноценными белками; коррекция белкового обмена	Концентрат (90%) гидролизованного животного белка (менее 10 кДа)	Источник незаменимых аминокислот
5	«Биоид» – йодированные молочные белки	Профилактика йоддефицитных состояний	2,5 % йода, ковалентно связанного с тирозином молочных белков	Усвоение около 100%. Отсутствие побочных эффектов
6	«Кальциевый обогатитель»	Обогащение рациона биологически доступным кальцием	37-40% биогенного кальция	Усвоение более 80%
8	Пищевые волокна растворимые (инулин)	Профилактика и лечение дисбактериозов, заболеваний ЖКТ, улучшение обмена веществ	99% растворимых пищевых волокон	Нормализация пищеварения
9	Пищевые волокна нерастворимые	Профилактика и лечение дисбактериозов, заболеваний ЖКТ	99% нерастворимых пищевых волокон	Нормализация пищеварения

В качестве основных белковых компонентов «МيوАктив-Спорт» используются белки сыворотки молока, гидролизаты молочных белков и куриного мяса, гемоглобин и белки плазмы крови, которые имеют высокую пищевую и биологическую ценность и обладают следующими важными преимуществами:

1. Белковые продукты производятся с помощью биотехнологических приемов, позволяющих получить полностью растворимый и легкоусвояемый пищевой белок.

2. Применяемые белки имеют полноценный аминокислотный состав. Количество незаменимых аминокислот в этих белках превышает рекомендуемый ФАО/ВОЗ «идеальный» для человека аминокислотный скор. Это дает возможность с их помощью корректировать рацион по

животному белку и незаменимым аминокислотам.

3. В используемых белках содержится большое количество (более 40% от незаменимых) разветвленных мышцеобразующих аминокислот – изолейцина, лейцина и валина – необходимых для формирования мышечной ткани.

4. Биологическая ценность этих белков значительно превышает аминокислотный скор идеального белка, принятого ФАО/ВОЗ, что позволяет легко обеспечить положительный белковый баланс в организме спортсмена даже при недостаточном потреблении белоксодержащих продуктов (мясо, молоко, рыба и т.д.) или в случае отсутствия у спортсмена пищевой аллергии на эти продукты питания.

Таблица 2

Сравнительное содержание незаменимых аминокислот в «МيوАктив-Спорт» и его компонентах, эталонном белке ФАО/ВОЗ и других белковых продуктах (г/100 г белка)

Пищевые продукты	Белок, %	Иле	Лей	Вал	Мет + Цис	Фен + Тир	Три	Тре	Лиз	Итого
Эталонный белок ФАО/ВОЗ	100	4,0	7,0	5,0	3,5	6,0	1,0	4,0	5,5	36,0
Женское молоко	1,5	4,6	10,6	8,2	5,2	8,1	2,3	5,8	11	57,6
Молоко коровье цельное	3,5	5,5	9,6	6,6	5,7	8,4	1,4	4,3	7,8	49,3
Мука пшеничная 1 с.	10,6	5,0	7,7	4,8	3,8	8,6	1,1	3,0	2,5	36,5
Белки сои	34,9	4,7	7,8	4,9	3,0	9,1	1,5	4,2	6,3	41,5
Белки сыворотки молока	70	6,4	13,0	5,3	6,0	8,2	2,0	5,6	11,4	56,1
Концентрат белка пищевого птичьего	90	4,1	7,2	6,0	3,3	6,6	0,8	4,8	8,7	42,0
Белки плазмы крови	90	0,9	13,2	8,7	2,6	10,7	1,4	4,8	9,7	52,0
Гемоглобин крови	90	0,5	11,4	8,4	2,3	9,2	1,7	4,6	9,6	47,7
«МيوАктив-Спорт»	29,8	4,9	11,8	5,9	4,9	8,0	1,7	5,2	10,4	52,2

Способ и частота введения

Потребление вместе с кормом, в течение 21 дня.

Исследуемые показатели

Биохимические показатели крови

Была исследована сыворотка крови крыс, принимавших данную рецептуру и участвовавших в тесте вынужденного плавления. Отбор крови проводился на следующий день после последнего теста.

Биохимические показатели крови определяли на биохимическом анализаторе «ChemWell+» (США) с использованием реагентов фирмы «Витал» (Россия) в сыворотке крови без следов гемолиза. Образцы крови центрифугировали 6 мин при скорости 4000 об/мин и температуре 6°С для получения сыворотки. Оценивали следующие показатели:

1. Аминотрансферазы (АЛТ и АСТ).
2. Щелочная фосфатаза.
3. Триглицериды.
4. Глюкоза.
5. Лактат.
6. Мочевина.

В настоящее время для диагностики состояния печени наиболее широко используется определение каталитической активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) [2, 5, 7]. Активность аминотрансфераз сыворотки крови является чувствительным индикатором повреждения клеток печени, вызванного лекарственными препаратами и гепатотоксичными веществами [4].

Щелочная фосфатаза используется для диагностики заболеваний печени, желчевыводящих путей, желудочно-кишечного тракта, почек и костной ткани, так как ее основная функция – это обмен фосфора в организме.

Глюкоза — основной показатель угле-

водного обмена. Более половины энергии, которую расходует наш организм, образуется за счет окисления глюкозы. Определение глюкозы — обязательный этап в диагностике сахарного диабета и истощения запасов гликогена в печени при перенагрузках.

Триглицериды — главный источник энергии для клеток. Лишние калории, которые поступают в организм вместе с едой, откладываются в жировых клетках в виде триглицеридов. Совершенно неважно, из какого вида пищи поступает энергия, это могут быть белки, жиры или углеводы. Триглицериды также синтезируются в жировой ткани, печени и кишечнике. Избыточное поступление в организм тех или иных веществ, в данном случае нас интересуют белки, может сказаться на уровне триглицеридов в крови [9]. Повышение количества влечет за собой возникновение ожирения и, как следствие, заболевания различных органов. В то же время перенагрузки могут способствовать истощению запасов энергии.

ЛДГ, или лактатдегидрогеназа, лактат – фермент, участвующий в процессе окисления глюкозы и образовании молочной кислоты. Лактат (соль молочной кислоты) образуется в клетках в процессе дыхания. ЛДГ содержится почти во всех органах и тканях, особенно много его в мышцах. При полноценном снабжении кислородом лактат в крови не накапливается, а разрушается до нейтральных продуктов и выводится. В условиях гипоксии, в том числе при физических нагрузках, накапливается, вызывает чувство мышечной усталости, нарушает процесс тканевого дыхания.

Мочевина – активное вещество, основной продукт распада белков. Мочевина вырабатывается печенью из аммиака и

участвует в процессе концентрирования мочи. В процессе синтеза мочевины обезвреживается аммиак. Из организма мочевины выводится почками. В диагностике мочевины является основным показателем работы почек [3].

Гематологические показатели периферической крови

Нами была исследована морфология крови крыс, получавших рецептуру «МиоАктив-Спорт». В качестве предельных физических нагрузок использовался стресс-тест «вынужденное плавание».

В отобранных образцах цельной крови определялись следующие показатели:

- Количество эритроцитов (RBC)
- Количество лейкоцитов (WBC)
- Уровень гемоглобина (HGB)
- Лейкоформула
- Гематокрит (HCT)
- Количество тромбоцитов (PLT)

Эритроциты – основной компонент крови. Их основная функция – перенос кислорода. Пониженное количество эритроцитов в крови указывает на анемию, повышенное значение может быть следствием дегидратации.

Гемоглобин – железосодержащий пигмент крови, в организме выполняет функцию переноса кислорода (O₂) из органов дыхания к тканям, играет также важную роль в переносе углекислого газа от тканей в органы дыхания. В диагностических целях необходим для оценки кислородного голодания (снижение), либо оценки дегидратации (повышение).

Гематокрит – соотношение объемов эритроцитов и плазмы. Характеризует степень недостатка или избытка красных кровяных телец в крови (зависит от количества и объема эритроцитов и является расчетной величиной).

Количество лейкоцитов является важным показателем воспалительных реакций в организме.

Лейкоцитарная формула позволяет оценить не только силу воспалительного процесса в организме, но также показывает напряженность иммунитета (количество лимфоцитов в крови), аллергические реакции, природу воспаления (вирусы, бактерии) [6].

Результаты и их обсуждение

Результаты биохимического исследования крыс, употреблявших рецептуру «МиоАктив-Спорт», представлены в табл. 3.

Таблица 3

Биохимические показатели крови крыс, получавших рецептуру «МиоАктив-Спорт»

Показатель	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
Глюкоза, моль/л	5,7±0,38	5,8±0,41
АЛТ, У/л	73±12,5	69±17,2
АСТ, У/л	131±9,4	124±16,2
ЩФ, У/л	152±20,6	143±14,8
Лактат, mg/dl	21,9±1,8	20,6±2,4
Мочевина, mg/dl	31,6±2,9	32,5±3,1
ТГ, mg/dl	74±4,3	68±5,6

В данной работе глюкоза является одним из важнейших показателей, её содержание находится в пределах нормы.

Содержание АЛТ и АСТ также не превышает контрольных показателей, являющихся физиологической нормой для исследуемых животных.

Как видно из таблицы, рецептура не вызывает избыточного накопления триглицеридов в крови, что поддерживает организм в условиях усиленных физических нагрузок.

Уровень лактата у подопытных животных не увеличивался в период нагрузок вследствие приема рецептуры.

В ходе эксперимента не выявлено негативного влияния исследуемой рецептуры на работу почек.

Таким образом, данные, приведенные в таблице, позволяют заключить, что рецептура «МиоАктив-Спорт» не оказывает каких-либо негативных эффектов на показатели функционального состояния печени – в частности, на освобождение органоспецифических

энзимов гепатоцитов, наблюдающееся в случаях повреждения клеток печени.

Результаты гематологического исследования крыс, употреблявших рецептуру «МиоАктив-Спорт», представлены в табл. 4.

Как видно из таблицы, количество эритроцитов в крови крыс, получавших «МиоАктив-Спорт», несколько выше по сравнению с контролем: предположительно, это связано с наличием в исследуемой рецептуре железа в доступной гемовой форме, которая легче усваивается организмом.

Как и в случае с эритроцитами, уровень гемоглобина в крови у подопытных крыс увеличен по сравнению с контролем.

Незначительное повышение показателя гематокрита в крови животных, получавших рецептуру, связано с повышением эритроцитов.

Количество лейкоцитов также не превышает нормального значения.

Лейкоцитарная формула подопытных крыс находится в пределах нормы.

Таблица 4

Морфологический состав крови крыс

Показатель	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
Эритроциты	8,76±0,13	9,16±0,21
Гемоглобин	174±5,3	182±4,2
Гематокрит	50,6±1,1	52,1±1,6
Тромбоциты	512±84	543±73
Лейкоциты	12,5±1,6	11,8±1,4
Лейкоцитарная формула		
Лимфоциты	9,2±1,3	8,3±1,1
Моноциты	0,9±0,15	0,7±0,21
Гранулоциты	2,4±0,41	2,8±0,5

Выводы

На основании результатов исследования можно сделать следующие выводы:

1. При исследовании биохимических показателей на фоне физических нагрузок нами показано, что исследуемая рецептура «МиоАктив-Спорт» практически не изменяет биохимические показатели крыс, что может говорить о протекторных свойствах данной рецептуры на внутреннюю среду на фоне физических нагрузок и об отсутствии токсических эффектов данного вещества.

2. Исследование гематологических показателей выявило тенденцию к повышению количества эритроцитов и гемоглобина в крови, что связано с биодоступностью железа, входящего в состав рецептуры. Остальные показатели не превышали нормальных значений. Таким образом, рецептура «МиоАктив-Спорт» не вызывает негативных изменений в морфологическом составе крови животных.

Список литературы

1. **Дорогова О.А.** Способ активационной терапии заболеваний. Патент РФ №2159116. А61К35/32, А61К35/34, А61К35/36, А61Р3/00, А61Р37/00, подан 18.04.2000, опублик. 20.11.2000.
2. **Камышников В.С.** Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2-х т. Т.1. Мн.: Беларусь. 2000. – 495 с.
3. Лабораторные методы исследования

в клинике / под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Медицина. 1987. С. 106-138.

4. **Reitman S., Frankel S.** A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // Amer. J. Clin. Pathol. 1957. Vol. 28. №1. P. 56-63.

5. **Александрова В.А., Рычкова С.В.** Даларгин - фармакологические и клинические аспекты. Педиатрия. №3. 1993. С. 101-104.

6. **Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В., Любимов Б.И., Либерман С.С., Верстакова О.Л.** Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. С. 41-54.

7. Биохимические методы исследования в клинике. Справочник. (Под ред. акад. АМН СССР А.А. Покровского). М., «Медицина». 1969. 256 с.

8. ГОСТ 12.1.005-88. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.

9. **Грудень М.А., Полетаев А.Б.** Биохимия. 1987: 52 (6): 915-917.

10. **Каркищенко Н.Н.** Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. – М.: Изд-во ВПК, 2007.

11. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М.: Профиль-2010. 2 с.

Influence of a composition "MioActive-Sport" on biochemical and gematological parameters of laboratory rats

A.O. Revyakin, O.V. Alimkina, N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, A.G. Kiselev, L.Kh. Kazakova, O.I. Stepanova, N.V. Kasinskaya, S.E. Dengina, S.L. Lyublinskiy, I.Yu. Kolyshhev, I.A. Berzin

Evaluated the effect of composition «MioActive-Sports» on morphological and biochemical parameters of the blood of laboratory rats. We show that this formulation does not cause abnormalities investigated parameters.

Key words: MioActive-Sport, rats, exercise, biosecurity, biochemical and gematological parameters, the morphology of the blood.

Исследование гормонального статуса лабораторных крыс при употреблении рецептуры «МиоАктив-Спорт»

А.О. Ревякин¹, О.В. Алимкина¹, Н.Н. Каркищенко¹, В.Н. Каркищенко¹, Г.Д. Капанадзе¹, А.Г. Киселев¹, Л.Х. Казакова¹, О.И. Степанова¹, Н.В. Касинская¹, С.Е. Деньгина¹, С.Л. Люблинский¹, И.Ю. Колышев², И.А. Берзин³

¹ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

² – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

³ – Федеральное медико-биологическое агентство России

Контактная информация: д.м.н., проф. Каркищенко Владислав Николаевич;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Показано, что добавление рецептуры «МиоАктив-Спорт» в рацион крыс не влияет на гормональный статус животных. Следовательно, вещества, входящие в состав добавки, и их комбинации не оказывают влияния на секрецию гормонов и функционирование желез внутренней секреции.

Ключевые слова: крысы, рецептура «МиоАктив-Спорт», гормональный статус, инсулин, тестостерон, эстроген.

Наряду с исследованием биохимических и гематологических, а также психофизиологических показателей лабораторных крыс при употреблении рецептуры «МиоАктив-Спорт», нами также было изучено влияние данной рецептуры на их гормональный статус.

Целью исследования явилась, в частности, оценка изменения уровня гормонов инсулина, тестостерона и эстрогена.

Инсулин – гормон белкового происхождения. В организме вырабатывается поджелудочной железой. Инсулин участвует в белковом обмене, образуя новые протеиновые соединения, кроме того, он способствует отложению жиров, необходимых организму для нормальной работы. Самая главная функция инсулина – это углеводный обмен. Под действием инсулина в печени откладывается гликогеновое депо, он же синтезирует глюкозу из жиров и белков при недостат-

ке. Таким образом, инсулин регулирует энергообмен в организме.

Тестостерон – половой гормон, образующийся в семенниках (у самцов), яичниках (у самок) и коре надпочечников. Тестостерон отвечает за половое развитие самцов, определённые поведенческие особенности, накопление мышечной массы, некоторые изменения костей, связанные с половым созреванием [1].

Эстроген – половой гормон, образующийся в яичниках у самок, в семенниках – у самцов и в коре надпочечников – у обоих полов. Непосредственным предшественником эстрогенов являются андростендион и мужской половой гормон тестостерон. Эстроген отвечает за половое развитие, поддерживает течение полового цикла у самок, обладает анаболическим действием, оказывают влияние на липидный обмен, обладает противосклеротическим действием,

задерживает распространение инфекции в организме путем повышения иммунных реакций и фагоцитоза, влияет на обмен гормонов коры надпочечников, щитовидной железы [2].

Материалы и методы

Эксперимент проводился в ФГБУ «НЦБМТ» РАМН на трехмесячных крысах линии WAG/GY обоих полов. Животные были разделены на 2 группы (самцы и самки) и содержались по 3 особи в микроизоляторных клетках [3]. Животные получали рецептуру «МيوАктив-Спорт» в кормушки вместе с основным комбикормом в соотношении 30:70 («МيوАктив-Спорт»: комбикорм). Отбор проб крови осуществляли на 2, 7, 14 и 21 сутки употребления исследуемой рецептуры.

Содержание гормонов определяли на приборе ChemWell Elisa с использованием реагентов DRG.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования гормонального статуса отражены в таблице. В ходе наших исследований не вы-

явлено резких колебаний инсулина у самцов. У самок наблюдается небольшое повышение данного показателя к 14-му дню – возможно, это связано с их половым циклом.

Как видно из табл., уровень тестостерона у самцов резко не повышался на протяжении эксперимента, у самок также не отмечалось каких-либо колебаний. Таким образом, данный факт коррелирует с результатами проведенного теста «Бой самцов», в котором было показано отсутствие агрессии у самцов крыс при употреблении рецептуры «МيوАктив-Спорт», т.е. комплекса биологически активных веществ.

Уровень эстрогенов у самок возрастал в ходе эксперимента, что связано с половым циклом; у самцов он несколько увеличивался в начале, а затем возвращался к фоновым значениям.

Выводы

1. Достоверных изменений исследуемых гормонов – инсулина, тестостерона и эстрогена – при употреблении рецептуры «МيوАктив-Спорт» не обнаружено.

Таблица

Влияние рецептуры «МيوАктив-Спорт» на гормональный статус лабораторных животных (крысы) при употреблении в течение 2, 7, 14 и 21 суток

Гормон	Самцы					Самки				
	фон	2	7	14	21	фон	2	7	14	21
Инсулин, МкМЕ/мл	0,36	0,28	0,36	0,31	0,41	0,54	0,38	0,45	0,81	0,67
Тестостерон, нг/мл	2,69	3,10	1,98	2,98	2,74	0,51	0,63	0,52	0,59	0,55
Эстроген, пг/мл	4,32	5,82	6,40	3,55	4,34	9,12	10,2	11,3	12,4	8,96

2. Уровень тестостерона, не превышающий фоновых значений в течение всего курса употребления исследуемой рецептуры, свидетельствует об отсутствии агрессии в поведении животных, что подтверждено другими тестами на выносливость и стрессоустойчивость.

3. Вещества, входящие в состав рецептуры «МيوАктив-Спорт», и их комбинации не оказывают влияния на секрецию гормонов и функционирование желез внутренней секреции.

Список литературы

1. Бландова З.К., Душкин В.А., Малашенко А.М., Шмидт Е.Ф. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. М., «Наука». 1983. 190 с.
2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., «Медицина». 1974. 143 с.
3. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М.: Профиль-2С. 2010.

Research the hormonal status of laboratory rats at the use of a composition "MioActive-Sport"

A.O. Revyakin, O.V. Alimkina, N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, A.G. Kiselev, L.Kh. Kazakova, O.I. Stepanova, N.V. Kasinskaya, S.E. Dengina, S.L. Lyublinskiy, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin

It is shown that the addition of composition "MioActive-sports" in the diet of rats has no effect on the hormonal status of the animals. Consequently, a substance included in the supplement, and their combination have no effect on hormones status and the functioning of the endocrine glands.

Key words: rats, "MioActive-Sport", hormonts status, insulin, testosterone, estrogen.

Оценка эффективности рецептуры «МиоАктив-Спорт» в модельных условиях высоких физических нагрузок

В.Н. Каркищенко¹, Г.Д. Капанадзе¹, Н.В. Станкова¹, А.О. Ревякин¹,
Е.Л. Матвеев¹, Р.Г. Костогрызова¹, С.Л. Люблинский¹, И.Ю. Колышев²,
И.А. Берзин³

¹ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

² – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна ФМБА России

³ – Федеральное медико-биологическое агентство России

Контактная информация: д.б.н. Капанадзе Гия Джемалиевич, giyak@yandex.ru

В работе показано, что длительное (21 день) применение рецептуры «МиоАктив-Спорт» на крупных лабораторных животных повышает их выносливость, при этом изученные физиологические параметры остаются в пределах нормы.

Ключевые слова: выносливость, МиоАктив-Спорт, мини-свиньи, эксперимент.

Под влиянием интенсивных физических и психоэмоциональных нагрузок у спортсменов происходит повышенное расходование энергетических и пластических ресурсов, минералов, витаминов и других жизненно важных веществ. По этой причине в организме замедляются восстановительные и адаптационные реакции, что может привести к снижению работоспособности, ускоренному износу всех систем организма, а в итоге – к утрате спортивных результатов и серьезным нарушениям здоровья.

Полноценное сбалансированное питание является одним из важнейших компонентов медико-биологического обеспечения тренировочного процесса и соревновательной деятельности. В настоящее время специальное и спортивное питание является базовой основой и первой фазой фармакологического обеспечения спортсмена.

Спортивное питание – это особая группа пищевых продуктов, выпускающаяся, преимущественно, для людей, ведущих активный образ жизни, занимающихся спортом и фитнесом.

Прием спортивного питания направлен, в первую очередь, на улучшение спортивных результатов, повышение силы и выносливости, укрепление здоровья, увеличение объема мышц, нормализацию обмена веществ, достижение оптимальной массы тела, и, в целом, на увеличение качества и продолжительности жизни.

В России спортивное питание относят к биологически активным добавкам. Спортивное питание разрабатывается и изготавливается на основе научных исследований в различных областях, например, в таких как физиология и диетология и, чаще всего, представляет собой тщательно подобранные по составу концентрированные смеси основных пищевых

элементов, специально обработанных для наилучшего усвоения организмом человека.

Цель исследования. Осуществление экспериментальной оценки эффективности рецептуры «МиоАктив-Спорт» в модельных и натуральных условиях высоких физических нагрузок, характерных для циклических видов спорта, на крупных лабораторных животных (мини-свиньи).

Информация об исследовательской базе, регулирующие стандарты эксперимента, используемые СОПы, условия карантина и содержания животных описаны в нашей работе «Экспериментальная оценка адаптогенной активности новых лекарственных средств и веществ с использованием крупных лабораторных животных» в этом же номере журнала, поэтому мы не будем их повторять.

Материалы и методы

Исследуемые вещества

Рецептура «МиоАктив-Спорт» является высокобелковым растворимым составом, созданном на основе отечественных субстанций. Предназначена для питания лиц, испытывающих повышенные физические и психоэмоциональные нагрузки.

В состав продукта «МиоАктив-Спорт» входят легкоусвояемые полноценные белки и полипептиды животного происхождения, среднецепочечные триглицериды, лецитин, минералоорганические формы макро- и микроэлементов: гемовое железо из гемоглобина, органический йод в виде йодированных молочных сывороточных белков, биогенный кальций из яичной скорлупы. Эти субстанции производятся по оригинальным и запатентованным технологиям.

Животные

Эксперименты выполнялись на лабораторных светлогорских мини-свиньях, самцах, в количестве 28 голов, массой $21 \pm 2,0$ кг. Мини-свиньи по многим физиологическим параметрам близко стоят к человеку [1, 2, 5].

Распределение по группам

Для исключения влияния предпочтений исследователя на формирование экспериментальных групп отбор животных осуществлялся при помощи метода модифицированной блочной рандомизации. Для этого всех животных случайным образом помещали в ячейки блока рандомизации (число ячеек блока рандомизации кратно числу групп в эксперименте). Далее, пользуясь генератором случайных чисел (статистическая программа Statistica 6.0), получали перечень данных, содержащий номера ячеек с животными и соответствующие им номера групп, куда в дальнейшем были размещены животные.

Идентификация животных

Маркировка клетки кодировала пол животных, породу, дату начала курса потребления, название группы. Мини-свиней маркировали бирками на ушной раковине.

Способ введения и выбор доз

Исследуемые дозы рецептуры «МиоАктив-Спорт» подопытные животные потребляли вместе с комбикормом ежедневно, на протяжении 21 дня.

Расчет дозы рецептуры «МиоАктив-Спорт» для крупных лабораторных животных (мини-свиньи) производился следующим образом: величина максимальной терапевтической дозы рецептуры «МиоАктив-Спорт» для человека массой 70 кг составляет 100 г/сут. $100 \text{ г}/70 \text{ кг} = 1,43 \text{ г}/\text{кг}$

для человека. $1,43 \text{ г/кг} \times 39$ (коэффициент для человека массой 70 кг) / 24 (коэффициент для мини-свиньи массой 20 кг) = 2,32 г/кг (для мини-свиньи).

Мини-свиньям рецептура «МиоАктив-Спорт» давалась в кормовые углубления, вместе с комбикормом. Животные контрольной группы получали комбикорм без добавления рецептуры.

Тест принудительного бега мини-свиней на тренажере

Предварительно животных в течение 15 дней до начала эксперимента обучали бегу на беговой дорожке. Скорость движения беговой дорожки во время эксперимента – 9 км/ч. Длительность обучения – 30 мин ежедневно, с перерывом в 3 мин.

До начала курса потребления, а далее на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день измеряли показатели артериального давления, содержания кислорода в крови, температуру тела ректально. Далее животных принудительно заставляли бегать на беговой дорожке (Торпео Т-203). Измеряли время бега, дистанцию. После остановки беговой дорожки опять измеряли показатели артериального давления, ЭКГ, содержания кислорода в крови, температуру тела ректально, количество дыхательных движений в 1 мин.

Бег мини-свиней на тредбане является апробированным нами ранее методом [3, 4].

Результаты и их обсуждение

Результаты длительности принудительного бега мини-свиней представлены ниже (табл. 1).

Мини-свиньи контрольной группы во время проведения эксперимента незначительно улучшали показате-

ли бега на тредбане. Время бега на 1-й и 7-й день опыта практически не отличались друг от друга, на 14-й день животные, предположительно, за счет долгой тренировки, увеличили время на 4,9%, а на 21 день – 6%. На 28-й день эксперимента разница с фоном составила 7,8%.

В опытной группе с рецептурой «МиоАктив-Спорт» наблюдалось постепенное возрастание продолжительности бега на движущейся ленте тредбана. Время бега опытной группы мини-свиней превосходило показатели животных контрольной группы на всех временных промежутках. На 7-й день эксперимента показатели времени бега превосходили собственные фоновые данные на 17%. На 14-й день показатели были выше на 35% в сравнении с собственными фоновыми. Через 21 день время бега животных выросло на 28% к фону.

При дальнейшем незначительном снижении, на 28-й день показатели бега превосходили фоновые на 24,6%.

Перед добавлением рецептуры, а далее на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день снимали ЭКГ у подопытных мини-свиней на диагностической системе «Валента» (производство Россия) по четырем точкам. Запись ЭКГ производилась на двух группах мини-свиней, каждая группа состояла из 6-ти голов, одного пола и возраста.

Все выявленные отклонения от нормы – как на фоновых ЭКГ, так и при применении рецептуры – объясняются резким перевозбуждением нервной системы (стресс) и предельной физической нагрузкой. Рецептура практически не изменяет показатели ЭКГ подопытных животных. При сравнительном анализе се-

рии стандартных ЭКГ, состоящей из исходной и ЭКГ на фоне приема исследуемой рецептуры в течение 7, 14, 21 и 28 дней, а также ЭКГ, регистрируемой во время проведения нагрузочной пробы, не было выявлено определенной динамики продолжительности и полярности основных электрокардиографических параметров.

Некоторые физиологические параметры мини-свиней после предельных физических нагрузок на фоне действия рецептуры «МиоАктив-Спорт»

До и после нагрузочных проб у животных измеряли температуру тела, ЧСС, ЧДД и содержание кислорода в крови (табл. 2).

Таблица 1

Сравнительные показатели в тесте принудительного бега мини-свиней на фоне приема рецептуры «МиоАктив-Спорт»

Показатель / Препарат	Контроль	«МиоАктив-Спорт»
Время бега, мин		
фон	22,1±4,7	24,2±6,0
7 день	22,4±4,3	28,3±3,9
14 день	23,2±5,7	32,7±6,9
21 день	23,4±6,0	31,0±5,7
28 день	23,8±5,8	30,2±4,8
Отношение времени бега в эксперименте к фону		
7 день/фон	1,0	1,17
14 день/фон	1,05	1,35
21 день/фон	1,06	1,28
28 день/фон	1,08	1,25
14 день/7 день	1,0	1,16
21 день/7 день	1,04	1,09
21 день/14 день	1,0	0,95
28 день/7 день	1,03	1,25
28 день/14 день	1,03	0,92
28 день/21 день	1,02	0,97

Все физиологические параметры (температура, ЧСС, ЧДД, содержание кислорода в крови) оставались как до, так и после нагрузки в рамках физиологической нормы, и их колебания были вызваны только физическими нагрузками животных. Исследуемая рецептура не повлияла на изменение изучаемых параметров.

Выводы

1. В тесте принудительного бега мини-свиньи контрольной группы незначительно улучшали фоновые показатели за счет тренировок. В опытной группе с рецептурой «МиоАктив-Спорт» наблюдалось постепенное возрастание продолжительности бега на движущейся ленте тредбана. Время бега мини-свиней

Таблица 2

Некоторые физиологические параметры мини-свиней после предельных физических нагрузок на фоне действия рецептуры «МиоАктив-Спорт»

Показатель	фон	7-й день	14-й день	21-й день	28-й день
Ректальная температура, °С					
до нагрузки	38,9±0,8	38,8±1,7	38,7±1,3	38,8±0,6	38,9±0,6
после нагрузки	-	39,9±0,5	40,0±0,3	40,1±0,15	40,2±0,17
Частота сердечных сокращений, в мин					
до нагрузки	79,4±2,2	77,8±1,5	79,5±1,7	77,4±2,8	78,8±1,6
после нагрузки	-	124,9±5,7	124,4±3,2	119,7±1,9	120±3,0
Число дыхательных движений, в мин					
до нагрузки	19,5±0,9	24,1±2,9	22,0±2,8	21,4±2,3	19,2±2,7
после нагрузки	-	39,2±4,8	38,4±3,2	37,3±3,8	38,7±2,6
Содержание кислорода в крови					
до нагрузки	96,7±1,7	97,9±1,9	98,5±1,6	95,4±1,5	95,8±1,7
после нагрузки	-	85,6±1,8	87,0±0,7	88,8±1,4	86,7±1,6

опытной группы превосходило показатели животных контрольной группы на всех временных промежутках: 7-й день на 17%, 14-й день – на 35%, 21 день – на 28% по отношению к фону. При дальнейшем незначительном снижении, на 28-й день показатели бега превзошли фоновые на 24,6%. Следовательно, прием рецептуры «МиоАктив-Спорт» в течение 21 дня значительно повышает выносливость лабораторных мини-свиней.

2. Величины изменений физиологических показателей, вызванные применением рецептуры, сравнивались с контролем. Во всех тестах степень изменения показателей, вызванная рецептурой, была практически идентична показателям контрольной группы: ни в одном случае не отмечалось достоверного отличия от контроля.

Список литературы

1. Капанадзе Г.Д., Ашуев Ж.А. Светлогорская популяция мини свиней // Биомедицина. 2007. № 6. С. 71-81.

2. Станкова Н.В., Капанадзе Г.Д. Оптимизация светлогорских мини-свиней для биомедицинских исследований // Биомедицина. 2010. № 5. С. 33-49.

3. Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 1. С. 72-74.

4. Капанадзе Г.Д. Использование миниатюрных свиней в биомедицинских экспериментах // Биомедицина. 2006. № 2. С. 40-52.

5. Панов А.Е., Ревякин А.О., Капанадзе Г.Д. Доклинические исследования фармпрепаратов на крупных лабораторных животных (мини свиньи) // Биомедицина. 2006. № 5. С. 84-88.

Assessment of composition "MioActive-Sport" efficiency in modeling conditions of high physical activities

V.N. Karkischenko, G.D. Kapanadze, N.V. Stankova, A.O. Revyakin, E.L. Matveyenko, R.G. Kostogryzova, S.L. Lyublinskiy, I.Yu. Kolyshev, I.A. Berzin

This paper shows that long-term (21 days) use composition «MioActive»-Sports on large laboratory animals increases their endurance. The study of the physiological parameters are within normal limits.

Key words: endurance, MioActive-Sport, mini-pigs, experiment.



Сравнительная оценка токсического действия лекарственных средств на интактных животных и в условиях моделирования патологических состояний

Т.Н. Саватеева-Любимова, К.В. Сивак

ФГБУ науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Контактная информация: drugs_safety@mail.ru, kv_sivak@toxicology.ru

Проведена сравнительная оценка миотоксичности ловастатина (как пример) в условиях его введения в рамках изучения безопасности на интактных крысах и в условиях экспериментальной гиперлипидемии. Были сформированы 6 экспериментальных групп животных, получавших внутривенно ловастатин 36 и 180 мг/кг/сут в течение 2 недель, гиперлипидемию индуцировали неионогенным детергентом. Установлены дозозависимые патологические изменения маркеров миотоксичности (увеличение активности креатинфосфокиназы в 1,6-2 раза, лактатдегидрогеназы – в 1,5-2 раза, миоглобина), качественно усиливающиеся в условиях испытания на модели гиперлипидемии. Выявленные закономерности обуславливают пересмотр параметров оценки безопасности данной группы лекарственных препаратов в связи с кумуляцией биологических и токсических эффектов.

Ключевые слова: статины, безопасность, миотоксичность.

В настоящий момент доклинические токсикологические исследования как воспроизведенных, так и новых лекарственных препаратов проводят в соответствии с методическими рекомендациями, на здоровых животных [1]. В то же время, известно, что на токсические свойства препарата могут оказывать существенное влияние и патологические процессы, для лечения которых он предназначен [2]. Нельзя оставить без внимания и тот факт, что по мере накопления клинического опыта применения тех или иных лекарственных средств, достаточно часто идет пересмотр их нежелательных лекарственных реакций, что далеко не всегда можно объяснить передозировкой или

длительностью применения. Одним из примеров такого пересмотра является снятый с рынка в 2011 г. препарат церивастатин, когда, несмотря на хорошую переносимость и доказанную в ходе фаз клинических испытаний безопасность статинов, она внезапно была подвержена сомнению после серии смертельных исходов вследствие рабдомиолиза и почечной недостаточности, вызванных церивастатином.

Целью настоящего исследования являлось сопоставление фармакодинамических и токсических свойств статинов (на примере ловастатина) на интактных животных и в условиях экспериментальной гиперлипидемии.

Материалы и методы

Формировали 6 экспериментальных групп: интактные крысы; крысы, получавшие ловастатин в дозах 36 и 180 мг/кг/сут внутривенно на протяжении 14 дней (дозы отобраны по результатам анализа современной литературы); крысы с гиперлипидемией (индуцированной неионогенным ПАВ тритоном WR-1339); крысы с гиперлипидемией, получавшие ловастатин в дозах 36 и 180 мг/кг/сут внутривенно на протяжении 14 дней. Каждая группа включала не менее 10 особей самцов нелинейных белых крыс.

По окончании введения ловастатина (ЛСТ) всех крыс подвергали эвтаназии под лёгким наркозом путем мгновенной декапитации с забором крови. В сыворотке крови, полученной при центрифугировании при 3000 об./мин в течение 15 мин, определяли маркеры специфического действия препарата (общий холестерин (ХЛН), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеиды низкой плотности (Х-ЛПНП)), холестерин липопротеиды высокой плотности (Х-ЛПВП), а также побочного действия (рабдомиолиза): активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общей креатинфосфокиназы (КФК), уровень миоглобина (Мг) и молочной кислоты (МК) с использованием унифицированных методов лабораторной диагностики и наборов фирмы «Ольвекс Диагностикум» (Россия), набора для иммуноферментного анализа уровня миоглобина фирмы «Kamiya Biomedical» (США). Результаты обрабатывали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни в программе Statistica 6.0, отличия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты представлены в табл. На этапе доклинических исследований наиболее доступными показателями функции мышечной системы являются биохимические показатели, т.к. в условиях общего клинического и биохимического анализа в забранных образцах крови возможно дополнительное специфическое исследование, подтверждающее риск развития миопатии или миотоксичность. Наряду с клиническими данными оценки мышечной силы, некоторых параметров электрокардиограммы, биохимические маркеры позволяют установить степень повреждения скелетной мускулатуры. Однако, в большинстве случаев, показано, что биохимические изменения активности миокардиального изофермента креатинкиназы, лактатдегидрогеназы и уровня миоглобина опережают во времени развитие функциональных нарушений, выявляемых при клиническом обследовании и выполнении физических нагрузок – в частности, при инфаркте миокарда и краш-синдроме. Объективность получаемых результатов лабораторных тестов позволяет как качественно, так и количественно оценить характер и степень повреждения мускулатуры. В противоположность этому, оценка мышечной силы является более варибельным тестом, зависящим от индивидуального состояния пациента, его конституции, заложенных в генах, т.е. генетически детерминированных показателей. Выполнение функциональных тестов мышечной силы, к тому же, несет определенный риск в отношении усугубления состояния пациента в момент поступления, что имеет уже негативное этическое значение.

Показано, что ловастатин, наряду с дозозависимым влиянием на показатели липидного обмена, вызвал дозозависимое же увеличение активности креатинфосфокиназы (КФК) в 1,6-2 раза, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в 1,5-2 раза и уровня молочной кислоты (МК), а также появление в крови миоглобина (при введении в дозе 180 мг/кг), что является характерным для рабдомиолиза, наиболее показательно в условиях гиперлипидемии. Кроме этого, у 40% модельных животных, в отличие от интактных, из группы, получавшей ловастатин в максимальной дозе, развились качественно иные побочные эффекты, выразившиеся в острой

почечной недостаточности с олигурией и гиперозотемией (миоглобинурический нефрит).

При анализе результатов обращает на себя внимание и тот факт, что у животных с моделью гиперлипидемии наблюдалась выраженная тенденция к повышению активности тех же биомаркеров – КФК, ЛДГ и МК. Последнее может быть связано с рядом факторов. Так, например, гиперлипидемию часто сопровождает не менее опасная патология – миокардиодистрофия, развивающаяся на фоне нарушения жирового баланса в кардиомиоцитах, при которой происходит закупорка капилляров мелкого калибра в сердечной

Таблица

Некоторые показатели эффективности и токсичности ловастатина в опытах на интактных животных и в условиях гиперлипидемии

Исследуемые показатели (М±m)	Экспериментальные группы, доза, мг/кг		
	Контроль 1	Ловастатин, 36	Ловастатин, 180
Интактные животные			
ХЛН, моль/л	1,57±0,09	1,37±0,08*	1,08±0,02**
Х-ЛПВП, ммоль/л	1,25±0,04	1,09±0,11	0,75±0,13*
Х-ЛПНП, ммоль/л	0,35±0,02	0,44±0,06	0,29±0,04
ТГ, ммоль/л	0,39±0,10	0,26±0,08	0,31±0,09
ЛДГ, МЕ/л	601±41	577±92	1041±60**
МК, ммоль/л	3,07±0,12	3,06±0,11	4,33±0,25**
КФК, МЕ/л	345±55	441±53	754±102**
Мг, нг/мл	0	0	13,2±5,9**
В условиях экспериментальной гиперлипидемии			
	Контроль 2	Ловастатин, 36	Ловастатин, 180
ХЛН, моль/л	3,29±0,28**	2,54±0,21**^	1,81±0,12**^
Х-ЛПВП, ммоль/л	0,98±0,03	1,01±0,10	1,05±0,09*
Х-ЛПНП, ммоль/л	2,04±0,35**#	1,89±0,21**#	1,62±0,18**^#
ТГ, ммоль/л	2,13±0,08*	1,65±0,15**^#	1,27±0,19**^#
ЛДГ, МЕ/л	760±90	806±94	1409±115**^#
МК, ммоль/л	4,05±0,46	4,09±0,38	5,93±0,39**^#
КФК, МЕ/л	461±29	464±39	831±67**^
Мг, нг/мл	0	0	37,2±8,8**
Качественные отличия	-	-	олигурия, гиперозотемиа

Примечания: * – отличия значимы по сравнению с интактными (контроль 1) крысами при $p \leq 0,05$; ** – отличия значимы по сравнению с крысами, получавшими ловастатин в дозе 36 мг/кг при $p \leq 0,05$; ^ – отличия значимы по сравнению с крысами с гиперлипидемией (контроль 2) при $p \leq 0,05$; # – отличия значимы по сравнению с крысами, получавшими ловастатин в дозе 180 мг/кг в условиях интактных животных при $p \leq 0,05$.

мышце (увеличение активности КФК и ЛДГ), а также нарастание аммиака, усиливающего анаэробный гликолиз и блокирующего выход молочной кислоты, что лежит в основе метаболических нарушений в мышцах.

Выводы

Выявленные нами дозозависимые патологические изменения уровней биомаркеров миотоксичности при применении статинов (на примере ловастатина), качественно усиливающиеся в условиях гиперлипидемии, свидетельствуют о необходимости более тщательного обследования препаратов из данной группы в рамках изучения его безопасности в связи с кумуляцией биологических и токсических эффектов.

В связи с отсутствием клинических данных о контроле за нежелательными лекарственными реакциями на фоне лечения гиперлипидемии препаратами из класса гиполипидемических средств, угнетающих синтез холестерина в организме за счет ингибирования ферментов на уровне сквалана-холестерина, а также выявлением в доклинических исследованиях качественных и количественных изменений биохимических параметров миотоксичности (активности креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, уровня миоглобина, миоглобину-

рия), необходимо наряду с оценкой эффективности (снижение атерогенности липидов крови, снижение уровней холестерина, триацилглицеридов, фракций липопротеидов), дополнительно в рамках специального дообследования включить тесты, характеризующие состояние мышечной и скелетной систем. По совокупности клинических (оценка физиологических параметров кардиомио- и миоцитов) и лабораторных (динамика изменения показателей по сравнению с фоновыми значениями у индивидуального пациента – активности ферментов креатинфосфокиназы, изоферментов лактатдегидрогеназы; уровень белков цитолиза, в том числе миоглобина в крови и моче) тестов оценивать безопасность лекарственных препаратов, назначаемых с целью снижения уровня липидов и атерогенности крови для профилактики риска развития патологии сердечно-сосудистой системы.

Список литературы

1. Березовская И.В., Гуськова Т.А., Дурнев А.Д. Методические рекомендации по изучению безопасности лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 3. С. 78-80.
2. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. Изд. второе дополненное. – М: МДВ. 2008. 196 с.

Comparative evaluation of toxic effects drugs in intact animals (preclinical trials) and in modeling of disease

T.N. Savateeva-Lyubimova, K.V. Sivak

In this report was carried out a comparative evaluation of lovastatin (example of miotoxic drug) under the conditions of its administration in the study of safety in intact rats and in conditions of experimental hyperlipidemia. Have been concluded 6 experimental groups of animals receiving 36 and 180 mg/kg b.w. lovastatin administration within 2 weeks. Hyperlipidemia was made by neonogenic detergent administration of triton WR-1339. It was established dose-dependent pathological changes of miotoxic markers (elevated activity of creatinekinase in 1.6-2 times, lactatdehydrogenase activity in 1.5-2 times, serum myoglobin concentration) is qualitatively worse in tests of hyperlipidemia model. Identified some changes that require a revision of the parameters of safety assessment of drugs in this group due to accumulation of biological and toxic effects.

Key words: statins, safety, miotoxicity.

Этологические аспекты крыс разных генетических линий на занятой и нейтральной территории

Д.А. Беляев¹, М.М. Пекелис¹, Ю.В. Фокин², Л.Х. Казакова²

¹ – РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва

² – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область.

Контактная информация: Беляев Дмитрий Анатольевич, d_belyaev@mail.ru.

В статье анализируется поведение крыс с различным развитием шерстного покрова при ссаживании на занятой и нейтральной территории. У самцов бесшерстных крыс была обнаружена малая частота проявления ориентировочно-исследовательского поведения, что может быть следствием менее подвижного типа ВНД.

Ключевые слова: бесшерстные крысы, территориальное поведение, агонистическое поведение, ориентировочно-исследовательское поведение, этологические исследования.

Серые крысы относятся к высоко социальным видам, для которых характерен групповой образ жизни – как на ранних ее этапах, так и во взрослом состоянии. Однако социальная структура у крыс, несмотря на прочность, чрезвычайно лабильна. В разных условиях она легко перестраивается и видоизменяется, особенно в природных условиях, где, кроме кланов крыс, живут и отдельные особи, которые могут объединять ся во временные группировки [10].

Основные формы социального поведения довольно сходны у грызунов разных видов [3, 4, 15, 21]. Как правило, формы поведения исследуют, проводя одно- или разнополюе ссаживания зверьков на занятой или нейтральной территории [16, 21, 25, 27]. Обычно при ссаживании животные демонстрируют исследовательскую и ориентировочную активность и агонистическое поведение [24].

Прежде всего, после попадания животного в новую обстановку у него преобладает ориентировочно-исследовательское поведение. Эта форма поведения является его важнейшей характеристикой, кото-

рая в значительной степени определяет успешность заселения зверьками новых мест обитания и адаптации к ним [11, 12]. Пространство вокруг активно исследуется по периметру, обнюхиваются все предметы, находящиеся на новой территории, и только потом животные выходят на середину вольеры [16]. Зверек прижимается к полу, движется крадущейся походкой и очень мелкими шажками. Периодически животное встает «столбиком» с настороженными ушами, голова и тело при этом поворачиваются в разные стороны, также ощупывает пол и предметы вибриссами или трогает губами, это так называемая «ориентировочная реакция» [15, 16, 17].

Важную роль играют и обонятельные контакты зверьков друг с другом [14]. Назо-назальные контакты отмечаются для всех особей, назо-анальные чаще отмечаются при встрече самца и самки или между особями группы и чужаком. Крысы с более высоким иерархическим положением, как правило, чаще выступают инициаторами обнюхиваний. Назо-назальные

контакты короче и менее напряженнее между знакомыми особями, чем между незнакомыми [3, 16]. Резидентный самец обычно обнюхивает чужака, и часто далее следует атака на него [24].

Большую роль в отношениях между грызунами в целом и крысами в частности играет агонистическое поведение. Под ним подразумевается любой вид адаптации, связанный с соперничеством или конфликтом между двумя животными, которое происходит за какой-либо ресурс – пищу, воду, доступ к половому партнеру, пространство, например, гнездовую территорию или убежище. При этом данный ресурс лимитирует выживаемость и успех размножения конкретной особи в популяции [22]. Агонистическое поведение включает борьбу (наступательную или защитную), бегство, пассивное поведение, акты доминирования и подчинения [3, 24]. Чаще всего, агонистическое поведение ритуализировано, и животные редко наносят друг другу серьезные повреждения или убивают друг друга. При этом его интенсивность и формы сильно зависят от многих факторов. Прежде всего, от того, ведут ли особи данного вида одиночный или групповой образ жизни [27]. Также на интенсивность агрессии влияет «чувство территории». В целом, у животных значительная часть конфликтов происходит для получения доступа к какой-либо территории. Территория обитания включает в себя пространство, где обитает данная особь или группа особей, которое используется исключительно ими и защищается от вторжения чужаков. На ней поддерживается определенная структура данной группы, которая строится на доминировании и иерархии [22]. Освоенная

территория стимулирует агрессивное поведение самцов – однако, в неодинаковой степени [6, 24]. Территориальные самцы, как правило, нападают на чужаков, зашедших на их территорию. Однако после того как чужак принимает позу подчинения, самец-резидент обычно прекращает агрессию [16]. Незнакомая обстановка также тормозит агрессивное поведение животных, и на нейтральной территории, где ни один из самцов не имеет преимущества, агрессивные контакты редки [24]. В условиях неволи на частоту проявления агрессивного поведения сильное влияние оказывает изоляция зверьков [5, 25]. В условиях изоляции у самцов усиливается склонность к дракам и снижается уровень серотонина и норадреналина в мозге [5].

Также на проявление агонистического поведения влияет размер и возраст зверьков при контакте [21].

Кроме того, агрессивность самца, одерживающего победы над противниками, возрастает в дальнейшем. Также, по-видимому, в значительной степени проявление агрессивного поведения зависит от врожденного типа ВНД зверька, его импульсивности и эмоциональной реактивности – соответственно, большими шансами на роль основателя группы обладает особь с более сильным типом ВНД [4, 6, 21].

Материалы и методы

Из этологических аспектов мы изучали проявление территориального поведения путем проведения 15-минутных ссаживаний на занятой территории [23, 24]. В исследованиях принимали участие три группы крыс, уравненных по массе, в возрасте 24-х недель: группа 1 (контрольная) – не-

линейные крысы с нормально развитым шерстным покровом (n=10), группа 2 – бесшерстные крысы аут-бредной популяции, полученные в результате спонтанной мутации (n=10), и группа 3 – гибриды F1 между крысами из групп 1 и 2 с промежуточным состоянием шерстного покрова (n=10). Крысы находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Содержались в клетках типа Т-3 при световом цикле 12:12, получали комбикорм для хомяков, крыс и мышей производства ООО «Лабораторкорм». Вода была в свободном доступе. Проводились ссаживания как самцов с самцами, так и самок с самками. В ящик размером 57×41×23 см помещалось на 3 суток животное, затем к нему на 15 мин подсаживали животное того же пола. Регистрировались основные формы поведения [3, 15, 24]. Всего было проведено 30 ссаживаний. Также проводились ссаживания и на нейтральной территории. Ящик, применяемый для предыдущей серии экспериментов, тщательно мыли водой для устранения запаха крыс и высаживали в него незнакомых крыс одного пола, которые здесь не бывали раньше, и регистрировали основные формы поведения. После проведения каждого ссаживания ящик снова промывали. Всего было проведено 29 таких ссаживаний.

Результаты и их обсуждение

Прежде рассмотрим поведение при ссаживании на занятой территории самцов. Как известно, крысы-самцы достаточно нетерпимы к чужакам на собственной территории и, как правило, их изгоняют. Такая парадигма поведения в целом характерна для очень

многих видов млекопитающих, включая и человека [26]. Самец-чужак, после того как оказывался в незнакомой обстановке, демонстрировал высокий уровень ориентировочного поведения. Зверек обходил ящик по периметру, постоянно приносиваясь к предметам, двигался он довольно быстро и неуверенно. При этом были часты стойки, когда зверек поднимался на задние лапы и нюхал воздух, либо стенки ящика выше того уровня, который может обнюхать крыса, стоя на четырех лапах. При этом он старался не вступать в контакт с самцом-резидентом, уходя от него. Последний же почти не проявлял ориентировочного поведения по отношению к окружающим предметам, поскольку обстановка была ему знакома. Однако он проявлял исследовательское поведение по отношению к зверьку-чужаку. Он старался догнать его и обнюхать. Мы не наблюдали атаки чужака без каких-либо проявлений исследовательского или некоторых демонстративных форм агрессивного поведения, как это может быть у диких пасюков или у самцов дикой формы домового мыши, когда территориальный самец атакует пришельцев сразу, как только их видит, и без всякого предупреждения [6, 9]. Это обусловлено, скорее всего, пониженной агрессивностью у лабораторных крыс – как к человеку, так и к другим крысам [22, 23]. Исследовательское поведение по отношению к другому зверьку можно разделить на три поведенческих акта: обнюхивание тела зверька, назально-назальное и назально-анальное обнюхивание. Судя по тому, как резидент старался произвести именно назально-анальное обнюхивание, можно сказать, что именно этот способ кон-

такта, по-видимому, является наиболее информативным у крыс [16]. В.Е. Соколов и К.Л. Ляпунова (1982) отмечают, что назо-анальные контакты больше характерны для разнополых особей и редко предшествуют агрессивному поведению, однако в нашей работе было отмечено, что чаще всего именно после назо-анального контакта происходило нападение самца-резидента на чужака. Назо-назальные контакты вообще встречались реже. Кроме того, довольно часто наблюдались обнюхивания разных участков тела чужака. Самец-чужак всячески старался избежать данного вида контакта с резидентом. Когда это не удавалось, он замирал и, как правило, давал произвести обнюхивание своей анально-генитальной области резидентом, но при первой возможности уходил от него. Далее, убедившись, что чужак – это именно самец, хозяин территории мог перейти к нападению. Как правило, хозяин территории приближался к чужаку, выгнув спину, и старался прижать его к стенке. Тогда он вставал в боковую стойку и приближался к чужаку. Далее следовала атака. Также зверьки могли какое-то время боксировать передними лапами, встав вертикально. После этого также могла последовать атака самца-резидента. Обычно самец-чужак оказывался побежденным и старался убежать от хозяина территории. После непродолжительной схватки он принимал одну из поз подчинения, обычно вставая вертикально и прижимаясь спиной к стенке ящика, стараясь обновить нападающего зверька передними лапами и защищая спину, куда чаще всего и старается нанести укус нападающая крыса [23, 26]. В целом, драки бесшерстных самцов выглядели более

жестокими и продолжительными, чем драки самцов с нормально развитым шерстным покровом. Как правило, резидент, после того как чужак принимал позу подчинения, терял к нему интерес и оставлял его в покое, отходил в другой угол ящика и начинал чиститься. Вероятно, это могло быть формой замещающего поведения [24]. Самец-чужак обычно оставался в позе подчинения до конца наблюдений, либо мог просто сидеть в углу ящика. Больше ни локомоторной активности, ни ориентировочного поведения он не проявлял. Самцы обычно сидели в противоположных концах ящика. Резидент выглядел уверенно и обычно не обращал внимания на побежденного чужака. Последний же продолжал сидеть в напряженной позе и следил за перемещениями и действиями хозяина территории. Когда резидент приближался к побежденному чужаку, тот сразу же вставал в позу подчинения, издавал писк, и резидентный самец терял к нему всякий интерес. Таким образом, снижение локомоторной активности крысы-чужака и демонстрация позы подчинения является механизмом, снижающим возможность проявления агрессии со стороны резидентного самца [23]. Как правило, весь процесс проявления агонистического поведения сопровождался щелканьем зубов – как со стороны победившего, так и со стороны побежденного. Долгой демонстрацией поз агрессии, характерной, например, для некоторых видов песчанок [3], не наблюдалось.

Однако не всегда побежденным в схватке оказывался самец-чужак, в отличие от литературных данных [24]. Резидент, как правило, проявлял агрессию и нападал, но в процессе драки иногда проигрывал и спасался от чу-

жака бегством. Тогда самцы менялись ролями, и самец-чужак становился хозяином положения, контролируя поведение самца-резидента. По всей вероятности, в этих случаях чужак оказывался с более сильным типом высшей нервной деятельности. Такая смена поведенческих ролей не являлась результатом того, что чужак был массивнее или старше, поскольку мы подбирали самцов примерно одинакового возраста и массы, они все были половозрелыми и имели сексуальные контакты. У помесных крыс-самцов частота проявления исследовательского поведения по отношению к другому зверьку была достоверно выше у самцов-резидентов ($p \geq 0,95$), а ориентировочное поведение достоверно чаще проявлялось у самцов-чужаков ($p \geq 0,95$). У самцов с нормально развитым шерстным покровом также частота проявления исследовательского поведения была выше у самцов-резидентов ($p \geq 0,95$), а частота ориентировочного поведения была выше у самцов-чужаков, с достоверностью 99%. Также у самцов-чужаков контрольной группы была достоверно выше частота проявления поведения подчинения ($p \geq 0,95$). У бесшерстных самцов достоверно различалась лишь частота проявления ориентировочного поведения – она была выше у самцов-чужаков ($p \geq 0,99$). Частота остальных форм поведения самцов-резидентов и чужаков достоверно не различалась в изучаемых группах. Достоверных различий в частоте проявления данного признака между группами самцов-резидентов также не обнаружено.

Самки, как правило, проявляли меньше агрессивности к самкам-чужакам. Самки-резидентки редко переходили в атаку на нового зверька. Обычно

они ограничивались демонстративными формами агрессивного поведения. Драки у самок иногда могли и вовсе не происходить (в 40% ссаживаний бесшерстных самок и самок с нормально развитым шерстным покровом драк не наблюдалось, у помесных самок драки отмечены в 100% случаев), тогда как у самцов ни одно ссаживание без этого не обходилось. Кроме того, драки между самками были не такими ожесточенными и более скоротечными по сравнению с самцами. Также у самок было замечено маркировочное поведение в отношении самки-чужака: резидентная самка старалась перелезть через чужака, оставив на ней свою запаховую метку. Такого поведения у самцов мы не отмечали. При ссаживании самок с нормально развитым шерстным покровом достоверные различия были получены в частоте проявления комфортного поведения: у резидентной самки частота его проявления была значительно выше, чем у самки-чужака ($p \geq 0,99$). Также у самок-резиденток была достоверно выше частота проявления исследовательского поведения, чем у самок-чужаков ($p \geq 0,95$), а у самок-чужаков – достоверно выше частота ориентировочного поведения ($p \geq 0,95$). Частота проявления остальных форм поведения достоверно не различалась между самкой-резиденткой и чужаком. У помесных самок достоверных различий в частоте проявления различных форм поведения нами обнаружено не было.

В частоте проявления разных форм поведения у самцов-чужаков отмечены достоверные различия в частоте проявления комфортного поведения: у самцов с нормально развитым шерстным покровом частота его проявления была достоверно выше, чем у помесных самцов ($12,6 \pm 4,39$ – у крыс с нормально развитым шерстным покровом и $3,8 \pm 3,77$ – у помесных самцов, $p \geq 0,999$).

Помесные самцы-чужаки достоверно чаще проявляли поведение подчинения – как по отношению к самцам с нормально развитым шерстным покровом ($p \geq 0,95$), так и к бесшерстным самцам ($p \geq 0,99$). В отношении частоты проявления исследовательского поведения к самцу-резиденту достоверных различий между группами не выявлено. Самцы-чужаки с нормально развитым шерстным покровом достоверно чаще проявляли ориентировочное поведение, чем помесные самцы ($p \geq 0,95$), бесшерстные самцы по частоте проявления данной формы поведения были ближе к помесным самцам.

У самок-резиденток были обнаружены достоверные различия в отношении частоты проявления комфортного поведения: оно было достоверно выше у самок контрольной группы – как в отношении помесных самок ($p \geq 0,99$), так и бесшерстных ($p \geq 0,99$). Агрессивное поведение чаще проявлялось бесшерстными самками-резидентками ($7,8 \pm 2,72$), и реже – самками с нормально развитым шерстным покровом ($5,8 \pm 2,01$), однако различия недостоверны.

В отношении самок-чужаков можно сказать, что достоверных различий между группами в частоте проявления различных форм поведения не обнаружено. Если сравнивать частоту проявления различных форм поведения по

полу, то можно сказать, что во всех группах крыс она достоверно не различалась. Хотя поведение самок выглядело менее агрессивным, частота проявления агрессивных форм поведения достоверно не отличалась от таковой у самцов. Другие исследователи также отмечали, что отношения незнакомых самок крыс отличаются малой толерантностью [7]. Схожие данные получены и для самок сирийских хомячков [21]. Иногда даже частота проявления агрессивного поведения была выше у самок – например, у помесных самок-резиденток и у бесшерстных самок-резиденток. У самок-резиденток контрольной группы частота проявления агрессивного поведения была несколько ниже, чем у самцов. У крыс-чужаков частота проявления агрессивного поведения была все же выше у самцов во всех трех группах, но различия также недостоверны. Стоит отметить, что, как самцы, так и самки-резидентки контрольной группы не проявляли поведения подчинения вообще, тогда как в других группах оно наблюдалось. Как мы можем судить из приведенных выше наблюдений, при ссаживаниях на занятой территории не всегда победа доставалась самцу-резиденту, иногда победителем в драках становился чужак. При этом самец-чужак никогда не проявлял первым агрессию, он проявлял так называемую «защитную агрессию» (defensive aggression), то есть это была лишь защита от нападения резидента [21, 26]. Если он побеждал в драке, то становился хозяином территории. При этом можно отметить, что частота проявления агрессивного поведения несколько выше была у самцов-резиденток контрольной группы, а меньше всего – у бесшерстных самцов.

По-видимому, бесшерстные самцы все же менее агрессивны по отношению друг к другу. При этом самцы с нормально развитым шерстным покровом вообще не проявляли поведения подчинения, также как и самки-резиденты с нормальным шерстным покровом, что, возможно, связано с высокой частотой проявления агрессии к чужаку (они всегда побеждали в драках).

При этом атак без предупреждения и без обследования нового зверька не наблюдалось. Такие атаки характерны для диких пасюков, но не для лабораторных крыс, у которых территориальная агрессия снижена [18]. Таким образом, мы видим, что взаимоотношения между исследуемыми группами крыс различаются как по признаку знакомства с территорией, так и в зависимости от половой принадлежности крыс. Можно сказать, что самцы с нормальным шерстным покровом отличаются несколько более развитым территориальным поведением, чем самцы других групп. Однако они чаще проявляют ритуализированные формы агрессии, чем самцы других групп. Напротив, самки контрольной группы проявляют меньше агрессии в поведении, но они чаще всего переходят к дракам. Как и следовало ожидать, у зверьков-чужаков очень сильно повышен уровень ориентировочного поведения, а у зверьков-резидентов – уровень исследовательского поведения по отношению к другому зверьку. Нельзя сказать, что бесшерстные крысы более социализированы, чем крысы других групп, особенно самцы. Хозяева территории, как правило, проявляют агрессию, однако это не всегда приводит к тому, что чужаки подчиняются им. Даже при отсутствии шерстного

покрова они стараются поддерживать территориальные отношения между собой. У бесшерстных крыс социальная иерархия сохранялась и поддерживалась за счет агонистического поведения, также как и у крыс с нормально развитым шерстным покровом. По сравнению с крысами других групп, у крыс с нормально развитым шерстным покровом была выше частота проявления комфортного поведения, что, видимо, связано с наличием наиболее густой шерсти. Оно, видимо, также играло роль замещающего поведения у зверьков. Ниже всего была частота проявления комфортного поведения у бесшерстных самцов – видимо, в связи с отсутствием волос.

Ссаживания зверьков разных групп на нейтральной территории, где ни один из них не имел преимуществ, показали следующие результаты.

Оказавшись в новой обстановке, зверьки принимались обнюхивать окружающие предметы, проявляя высокую двигательную активность и высокий уровень ориентировочно-исследовательского поведения. Затем они начинали обнюхивать другого зверька, т.е. только ознакомившись с обстановкой, зверьки могли перейти к выяснению отношений друг с другом. Основной формой поведения как самцов, так и самок всех групп было ориентировочное поведение, что подтверждается литературными данными [6, 13]. Доля данной формы поведения составляла 36% у бесшерстных самцов, 41% – у помесных и 48% – у крыс с нормально развитым шерстным покровом; у бесшерстных самок она составляла 56%, у самок с нормально развитым шерстным покровом – 40% (рис. 1-3).

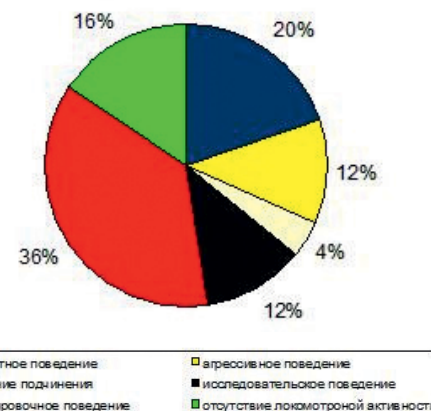


Рис. 1. Соотношение форм поведения самцов бесшерстных крыс на нейтральной территории.

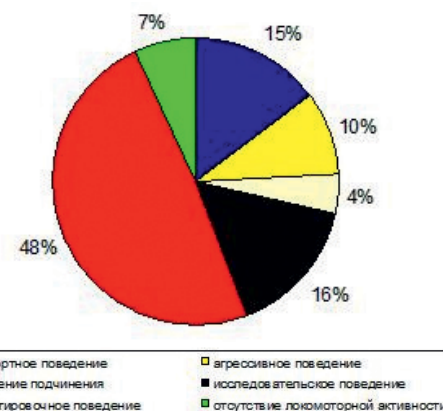


Рис. 2. Соотношение форм поведения самцов с нормально развитым шерстным покровом на нейтральной территории.

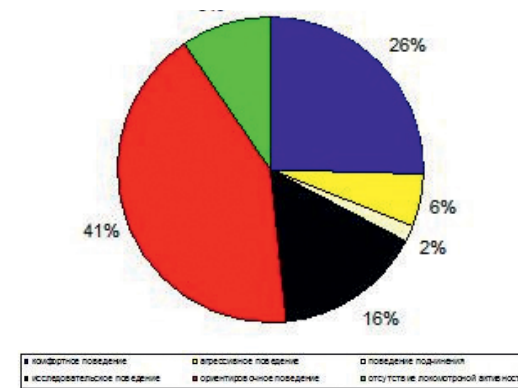


Рис. 3. Соотношение форм поведения самцов помесных крыс на нейтральной территории.

При этом частота проявления данной формы поведения у бесшерстных самцов была достоверно ниже, чем у самцов двух других групп ($p \geq 0,95$ – самцы с нормальным шерстным покровом; $p \geq 0,999$ – помесные самцы). Как и в ссаживаниях на занятой территории, в данном случае самцы контрольной группы показывали наибольший уровень ориентировочного поведения. Высокий уровень ориентировочно-исследовательского поведения характерен для животных с сильным типом нервной системы и подвижными нервными процессами [4], и обычно именно такие животные в дальнейшем занимают доминирующее положение [8]. Из этого мы можем заключить, что самцы бесшерстных крыс имеют наименее подвижный тип высшей нервной деятельности по сравнению как с помесными самцами, так и с самцами с нормально развитым шерстным покровом. Также бесшерстные крысы-самцы проявляли меньше интереса к другой особи, чем животные из остальных групп. Частота проявления исследовательского поведения по отношению к другому зверьку у них была достоверно ниже, чем таковая у помесных самцов ($p \geq 0,99$), и гораздо ниже, чем у самцов контрольной группы ($p \geq 0,90$). Доля данной формы поведения составляла у бесшерстных самцов 12%, в двух других группах – по 16%. Это также свидетельствует о меньшей подвижности нервной деятельности самцов бесшерстных крыс. По показателю горизонтальной активности бесшерстные крысы также уступают двум другим группам, хотя различия недостоверны. У бесшерстных самцов доля времени неподвижности составляет 16%, против 7% у самцов с нормально развитым шерстным покровом и 9% – у помесных самцов. Горизонтальная активность отражает высокую исследовательскую активность и эмоциональность, а вертикальная – харак-

теризует только исследовательскую активность [12]. То есть, можно сказать, что бесшерстные самцы менее эмоциональны и не так долго испытывают интерес к новизне, чем самцы других групп – соответственно, они хуже могут ориентироваться в новой обстановке.

Агрессивное поведение на нейтральной территории регистрировалось несколько реже, но совсем оно не элиминировалось, что характерно и для других грызунов [25]. Однако доля агрессивного поведения самцов разных групп достоверно не различалась: она составляла 12% у бесшерстных самцов, 10% – у самцов с нормально развитым шерстным покровом и 6% – у помесных самцов. По абсолютной частоте проявления элементов агрессивного поведения, однако, лидируют самцы контрольной группы. У них частота проявления агрессии, в среднем, составляла $4,50 \pm 1,69$ актов против $3,6 \pm 0,53$ у бесшерстных самцов и $2,7 \pm 0,91$ – у помесных. Агрессивное поведение у бесшерстных самцов имело, как правило, ритуализированный характер. Драки также несколько чаще происходили между самцами с нормально развитым шерстным покровом, и реже всего – между помесными самцами. Доля ссаживаний, когда драк вообще не возникало, составляла 20% у самцов с нормально развитым шерстным покровом, у безволосых самцов – 28,6%, и больше всего таких ссаживаний было у помесных самцов – 66,7%. Соответственно, можно сделать вывод, что бесшерстные самцы менее агрессивны друг к другу при нахождении на нейтральной территории, чем самцы контрольной группы, но более агрессивны, чем помесные самцы. Это также может свидетельствовать о том, что у самцов бесшерстных крыс инертный тип ВНД, поскольку установлено, что более выраженная агрессивность характерна для животных с более сильным и подвиж-

ным типом ВНД и устойчивостью к стрессовым ситуациям [4]. При тестировании в системе «Laboras» мы также установили, что самцам бесшерстных крыс присуща более низкая вертикальная активность (стойки на задних лапах), являющаяся одной из форм ориентировочного поведения [1].

На нейтральной территории уровень агонистического поведения понижался у самцов с нормально развитым шерстным покровом и у помесных, а у бесшерстных самцов оставался практически на том же уровне. Частота проявления собственно агрессивного поведения на нейтральной территории существенно снизилась в группах самцов с нормально развитым шерстным покровом и помесных, а в группе бесшерстных самцов – осталась почти на том же уровне, однако эти различия недостоверны. Значительно снизилась и частота проявления поведения подчинения в группе помесных самцов ($p \geq 0,90$), а в остальных группах различий практически не было. Количество же драк на нейтральной территории у помесных самцов достоверно снизилось ($p \geq 0,99$). В контрольной группе самцов количество драк осталось тем же, а в группе бесшерстных самцов незначительно снизилось. У помесных самцов больше всего изменялась частота агонистического поведения при разной степени знакомства с территорией. При этом на занятой территории, как уже отмечалось, помесные самцы-резиденты чаще дрались между собой. Доля же агрессивного поведения, в целом, на занятой территории была несколько выше у самцов с нормальным шерстным покровом. На нейтральной территории они также показали высокий уровень агрессивного поведения, а количество драк не изменилось. Соответственно, можно сказать, что тенденция проявления агрессивного поведения у самцов крыс с разным шерстным

покровом остается примерно одинаковой на занятой и нейтральной территории, то есть является генетически обусловленной [22], что доказано для крыс разных линий [20].

Развитие познавательных способностей, а также индивидуальные свойства ВНД (сила нервных процессов и устойчивость к стрессовым ситуациям) дает особи преимущества в борьбе за высокие ранги в иерархической структуре группы и при адаптации к новым условиям существования [4]. По всей видимости, помесные крысы обладают наиболее подвижным типом ВНД, поскольку уровень агрессии является средством адаптации к окружающей среде. Кроме того, уровень агрессии связан и с эмоциональной реактивностью животного, с уровнем в крови таких гормонов как тестостерон, серотонин и вазопрессин, а также индивидуальным опытом и научением [21, 22]. Также они демонстрировали большую частоту ориентировочно-исследовательского поведения и, при этом, большую частоту проявления комфортного поведения ($12,1 \pm 2,78$ у помесных крыс против $6,0 \pm 1,15$ у бесшерстных; $p \geq 0,90$), что свидетельствует о высокой стрессоустойчивости самцов данной группы, способных легко адаптироваться к новой обстановке. Бесшерстные же самцы, вероятно, обладают наименее подвижным типом адаптации (ориентировочное поведение у этих крыс довольно быстро угасает), они мало возбудимы и малообщительны, то есть тип их нервной системы, скорее всего, соответствует сильному уравновешенному инертному типу ВНД [2]. Это хорошо иллюстрирует следующий пример. При сравнении частоты проявления ориентировочного поведения на занятой и нейтральной территории мы видим, что сильнее всего этот показатель возрос на нейтральной территории у помесных самцов (в 3,6 раза), а слабее всего – у бес-

шерстных самцов (в 1,6 раза). У самцов с нормально развитым шерстным покровом частота проявления ориентировочного поведения выросла в 2,7 раза. Все указанные различия достоверны. Что интересно, развитие ориентировочно-исследовательского поведения бесшерстных самцов схоже с таковым у самцов дико живущих форм домовых мышей, а поведение помесных самцов и самцов с нормальным шерстным покровом больше походит на поведение синантропных форм домовых мышей [11]. Низкую адаптивность бесшерстных крыс показывает и такой пример. Сбежавшие из клеток помесные крысы и крысы с нормально развитым шерстным покровом быстро адаптировались к новой обстановке, приобретая навыки поведения, характерные для диких крыс, и большого труда стоило их поймать. Бесшерстные же крысы далеко не уходили и часто просто возвращались назад, а если не возвращались, то довольно быстро гибли. Бесшерстные самки, в отличие от самцов, показали достоверно более высокий уровень ориентировочного поведения по сравнению с самками с нормально развитым шерстным покровом ($p \geq 0,95$). Также они проявляли достоверно более высокую локомоторную активность ($p \geq 0,95$). При сравнении с поведением на занятой территории у бесшерстных самок было отмечено достоверное снижение частоты проявления агонистического поведения ($p \geq 0,95$), в то время как у самок контрольной группы, несмотря на общее снижение уровня агонистических контактов, разница была статистически недостоверна. Частота проявления комфортного поведения достоверно возросла при сравнении с занятой территорией – как у бесшерстных самок, так и у самок с нормально развитым шерстным покровом ($p \geq 0,95$). Возможно, это служит формой смещенной активности в условиях новой

обстановки [19]. Частота проявления как исследовательского поведения по отношению к другому зверьку, так и ориентировочного поведения также достоверно выросла в обеих группах по сравнению с исследованиями на занятой территории. У бесшерстных крыс-самок на нейтральной территории достоверно снизилось время отсутствия локомоторной активности ($p \geq 0,99$), тогда как у самок с нормально развитым шерстным покровом этот показатель почти не изменился.

Как показало сравнение, на нейтральной территории у бесшерстных крыс наблюдаются довольно существенные половые отличия в частоте проявления различных форм поведения. Так, у бесшерстных самок была зарегистрирована значительно большая частота проявления комфортного ($p \geq 0,999$), исследовательского и ориентировочного поведения (везде $p \geq 0,999$), а также наибольшая локомоторная активность ($p \geq 0,999$).

У самок контрольной группы на нейтральной территории была зафиксирована достоверно более высокая частота проявления комфортного поведения ($p \geq 0,999$), а также исследовательского поведения по отношению к другому зверьку ($p \geq 0,99$). По остальным формам поведения в данной группе крыс достоверных различий между самками и самцами нами не выявлено. Кроме того, у самок обеих групп мы наблюдали немногочисленные случаи дружелюбного аллогрумминга, чего никогда не происходило у самцов всех исследуемых групп. Все это может говорить о том, что у бесшерстных крыс имеются половые различия по типу ВНД: для самок характерен, как ни странно, подвижный тип ВНД, а не инертный, как у самцов, они более любопытны и эмоциональны, чем самцы, у них дольше проявляется интерес к новизне. Возможно, бесшерстные самки обладают большей способностью

адаптации к изменениям условий окружающей среды, чем бесшерстные самцы, и даже чем самки с нормально развитым шерстным покровом. Это может быть следствием того, что самки крыс все же менее агрессивны и испытывают меньший уровень стресса при общении друг с другом и самцами. Доля драк на нейтральной территории у самок была ничтожной в обеих группах. Самцы же даже на нейтральной территории стараются как можно быстрее установить иерархические отношения. Для крыс с нормально развитым шерстным покровом столь резких половых различий на нейтральной территории мы не обнаружили. По-видимому, у них нет такой выраженной разницы в типе ВНД между самками и самцами.

Выводы

При исследовании территориального поведения крыс методом ссаживаний было выявлено, что бесшерстные самцы менее активны, и их уровень ориентировочно-исследовательского поведения значительно ниже, чем у самцов с нормально развитым шерстным покровом и помесных самцов. У самок же, напротив, активность была гораздо выше. По всей видимости, самцы бесшерстных крыс обладают менее подвижным типом ВНД по сравнению с бесшерстными самками, а также самцами других групп. Большей степени социализации бесшерстных крыс в связи с отсутствием у них шерстного покрова нами не выявлено (как самцы, так и самки на занятой территории довольно нетерпимо относились к особям своего пола).

Список литературы

1. Беляев Д.А., Пекелис М.М., Фокин М.В., Казакова Л.Х. Анализ некоторых физиологических и этологических характе-

ристик бесшерстных крыс как новая модель биомедицинских исследований // Биомедицина. 2012. №1. С. 29-36.

2. Венедиктова Т.Н., Колобова Н.Г., Пушкарский В.Г. Что мы знаем о поведении животных. – М.: Колос, 1978. – 176 с.

3. Гольцман М.Е., Наумов Н.П., Никольский А.А., Овсянников Н.Г., Пасхина Н.М., Смирин В.М. Социальное поведение большойпесчанки (*Rhombomys opimus* Licht). // Поведение млекопитающих. М.: Наука, 1977. – С. 5-69.

4. Дмитриева И.Л., Крушинская Н.Л., Семиохина Е.И. Социальный ранг и некоторые характеристики высшей нервной деятельности серых крыс // Серая крыса (Экология и распространение) (Материалы 1-го Всесоюзного совещания по экологии и медицинскому значению серой крысы). М.: Наука, 1986. – Т.1. – С. 139-156.

5. Дьюсбери Д. Поведение животных. Сравнительные аспекты. – М.: Мир, 1981. – 479 с.

6. Золотарев С.А. Освоение территории как фактор, влияющий на агрессивное поведение самцов дикой домовой мыши // Групповое поведение животных (Доклады участников II Всесоюзной конференции по поведению животных). М.: Наука, 1977. – С. 134-137.

7. Квашний С.А., Суров А.В. Групповое поведение диких серых крыс (*Rattus norvegicus* Berkenhaut) в условиях неволи // Групповое поведение животных (Доклады участников II Всесоюзной конференции по поведению животных). М.: Наука, 1977. – С. 169-172.

8. Котенкова Е.В., Мешкова Н.Н., Шуртова М.И. О крысах и мышах. – М.: Наука, 1989. – 176 с.

9. Мерзлякин И.Р. Наблюдения за характером использования участка обитания серой крысы в природе // Коммуникативные механизмы регулирования популяционной

структуры у млекопитающих (Всесоюзное совещание). М.: ИЭМЭЖ им. А.Н. Северцова, 1988. – С. 75-78.

10. Мерзлякин И.Р., Погребная Е.А. О взаимоотношениях серых крыс во временной группировке // Коммуникативные механизмы регулирования популяционной структуры у млекопитающих (Всесоюзное совещание). М.: ИЭМЭЖ им. А.Н. Северцова, 1988. – С. 78-81.

11. Мешкова Н.Н., Котенкова Е.В., Загоруйко Н.В. Сравнительный анализ ориентировочно-исследовательского поведения синантропных и дикоживущих форм домовых мышей *Mus musculus s. lato* // Поведение, коммуникация и экология млекопитающих / Под ред. В.Е. Соколова, В.В. Рожнова, М.А. Сербенюка. М., 1998. – С. 106-118.

12. Мунтяну А.И., Чемыртан Н.А. Ориентировочно-исследовательское поведение *Apodemus microps* в периоды репродуктивного покоя и активности // Состояние териофауны в России и ближнем зарубежье. Тр. Международного совещания 1-3.П. 1995г. / Гл. ред. В.Е. Соколов. - М., 1996. - С. 231-237.

13. Пегельман С.Г. Некоторые аспекты внутрисемейных, внутривидовых и межвидовых взаимоотношений у грызунов // Групповое поведение животных (Доклады участников II Всесоюзной конференции по поведению животных). М.: Наука, 1977. – С. 294-296.

14. Серая крыса. Систематика. Экология. Регуляция численности / Отв. ред. В.Е. Соколов, Е.В. Карасева. – М.: Наука, 1990. – 456 с.

15. Смирин В.М. Позы и выразительные движения серой крысы // Серая крыса (Экология и распространение) (Материалы 1-го Всесоюзного совещания по экологии и медицинскому значению серой крысы).

М.: Наука, 1986. – Т.1. – С. 242-251.

16. **Соколов В.Е., Ляпунова К.Л., Хорлина И.М.** Особенности поведения и формирования социальной структуры группы серых крыс (*Rattus norvegicus norvegicus* Berkenhaut) в искусственных условиях // Поведение млекопитающих. М.: Наука, 1977. – С. 84-106.

17. **Соколов В.Е., Ляпунова К.Л.** Особенности иерархической структуры сообществ серых крыс (*Rattus norvegicus norvegicus* B.) в условиях вольерного содержания // Феромоны и поведение. М.: Наука, 1982. – С. 162-179.

18. **Соловьева М.Ю., Плюснина И.З.** Влияние доместикации на внутривидовую агрессию у серых крыс // Поведение и поведенческая экология млекопитающих. Материалы 2-й научной конференции 9-12 ноября 2009 г., г. Черноголовка. – М.: Т-во научных изданий КМК, 2009. – 14 с.

19. **Тинберген Н.** Поведение животных. – М.: Мир, 1985. – 192 с.

20. **Berton O., Ramos A., Chaouloff F., Mormède P.** Behavioral Reactivity to Social and Nonsocial Stimulations: A Multivariate Analysis of Six Inbred Rat Strains // Behavior Genetics. – 1997. – Vol.27, No. 2. – P. 155-166.

21. **Delville Y., David J.T., Taravosh-Lahn K., Wommack J.C.** Stress and the Development of Agonistic Behavior in Golden

Hamsters // Hormones and Behavior. – 2003. – No.44. – P. 263-270.

22. **Drickamer L.C., Vessey S.H.** Animal behavior: Concepts, Processes & Methods. – Belmont, CA: Wadsworth, 1986. – 619 p.

23. **Miczek K.A., de Boer S.F.** Aggressive, defensive and submissive behavior // I.Q. Whishalaw, B. Kolb (Eds.) The behaviour of the laboratory rat. A handbook with tests. – NY.: Oxford University Press, 2005. – P. 344-353.

24. **Mitcell P.J.** Ethological Studies of the Social Behaviour of the Rat // Animal Technology. – 1993. – Vol.44, No. 2. – P. 109-120.

25. **Norris M.L., Adams C.E.** Suppression of Aggressive Behaviour in the Mongolian Gerbil, *Meriones unguiculatus* // Laboratory Animals. – 1972. – No.6. – P. 295-299.

26. **Oliver B., Young L.J.** Animal Models of Aggression // K.L. Devis, D. Charney, J.T. Coyle, C. Nemeroff (Eds.) Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress. – New York, 2002. – P. 1699-1708.

27. **Volodin I.A., Goltsman M.E.** Strategies of Aggressive Fighting Reflect Degree of Sociality in Three Species of Gerbils // G.R. Singleton, L.A. Hinds, C.J. Krebs, D.M. Spratt (Eds.) Rats, Mice and People: Rodent Biology and Management. – Canberra, 2003. – P. 169-172.

Ethological aspects of rats different genetic lines on occupied and neutral territory

D.A. Belyaev, M.M. Pekelis, Yu.V. Fokin, L.Kh. Kazakova

Behaviour of rats with different development of hair covers during encounters on occupied and neutral territory is analyzed in the article. Hairless males are considered to display exploratory behaviour less frequently. It may be a result of less movable type of higher nervous activity of them.

Key words: hairless rats, territorial behaviour, agonistic behaviour, exploratory behaviour, ethological researches.

Моделирование стойкого токсического гепатита на мини-свиньях светлогорской популяции

А.О. Ревякин¹, Г.Д. Капанадзе¹, С.Е. Деньгина¹, Н.В. Касинская¹,
О.И. Степанова¹, Л.Х. Казакова¹, И.Ю. Колышев²

¹ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

² – Федеральный медицинский центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Контактная информация: к.б.н. Ревякин Артем Олегович, ar_info@mail.ru

В работе представлены данные экспериментального моделирования токсического гепатита на мини-свиньях Светлогорской популяции. Выявлены дозы и сроки введения четыреххлористого углерода для получения умеренного хронического гепатита.

Ключевые слова: биомодель, токсический гепатит, мини-свиньи.

Мини-свиньи являются удобными биологическими моделями для изучения многих заболеваний, распространенных у человека (атеросклероз, инфаркты, язва желудка и т.д.). Однако их использование в экспериментальном моделировании патологий печени очень слабо освещено в научной литературе [3, 4]. Индуцированный гепатит – необходимая составляющая доклинических исследований гепатопротекторных лекарственных средств [5]. По литературным данным, применение четыреххлористого углерода дает оптимальные результаты при моделировании гепатитов у лабораторных животных и свиней [1].

Целью эксперимента являлось получение модели стойкого токсического гепатита на мини-свиньях светлогорской популяции.

В задачи работы входило определение доз и схемы введения четыреххлористого углерода для получения острой формы гепатита; запуск аутоиммунных процессов путем введения Т-клеточного митогена Кон-А. Для контроля развития заболевания проводили регулярный отбор проб крови для биохимического анализа. По окончании

эксперимента был проведен сравнительный гистологический анализ печени.

Материалы и методы

Исследования проводились в ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН на 3-х мини-свиньях со средней живой массой 15 кг в возрасте 6-8 мес. Животные были взяты в эксперимент методом случайной выборки. Кормление осуществлялось стандартным полнорационным комбикормом, поение ad libitum. Животные содержались в групповых станках по 3 головы. Зоогигиенические параметры содержания были в пределах нормы. Ежедневно всем животным натошак перорально вводили 50% раствор СС14 в персиковом масле.

Отбор проб крови осуществлялся согласно схеме эксперимента из хвостовой вены. Биохимические показатели определяли на анализаторе ChemWell+ с использованием реактивов VITAL.

Забой животных производился на 102, 117 и 130 день от начала эксперимента. Из каждой группы брали по 1 животному и умерщвляли путем пропуска электрического тока.

После забоя животных проводили гистологическое исследование печени. Окрашивание срезов проводили двумя способами – эозином и по Ван Гизону.

Результаты и их обсуждение

Изменение биохимического состава крови и достоверное повышение печеночных трансаминаз, щелочной фосфатазы и лактата наблюдалось на 47 день эксперимента, что указывает на наличие острой фазы заболевания. На этом фоне был введен Т-клеточный митоген Кон-А в дозе 10 мг/кг.

К 58-му дню эксперимента отмечалось снижение активности ферментов до нормальных значений, что свидетельствует о переходе острой фазы гепатита в хроническую. Это

было подтверждено гистологическими исследованиями после забоя животных.

У одного животного мы отмечали появление морфологических признаков, характерных для цирроза печени, в виде появления ложных долек, широких соединительнотканых септ, появления дистрофически измененных гепатоцитов и явлений пролиферации части гепатоцитов. У двух других явления фиброза либо отсутствовали, либо носили менее выраженный характер. Воспалительная инфильтрация была разной степени выраженности, от слабой до умеренной, представлена лимфо-макрофагальными элементами с примесью небольшого количества эозинофилов и нейтрофилов, располагающихся преимущественно в портальных трактах с проникнове-

Таблица 1

Схема эксперимента

День наблюдения	Введение CCl4, доза 0,2 мл/кг	Введение CCl4, доза 0,3 мл/кг	Введение CCl4, доза 0,4 мл/кг	Отбор крови	Введение Кон-А, доза 10 мг/кг
1				+	
2-6	+				
7				+	
8-16		+			
17				+	
18-26		+			
27				+	
28-46			+		
47				+	+
58				+	

Таблица 2

Результаты биохимических тестов

Показатель	Дни отбора					
	фон	7	17	27	47	58
АЛТ	98±5,8	152±16,3	196±31,3	147±13	122±12,9	89±17,3
АСТ	158±17,2	199±22,6	131±19,1	46±22,6	395±74,2	151±28,7
Лактат	39±19,8				115±15,4	104±12,9
Креатинин	60,8±11				71±19,1	75±8,6
Мочевина	12±5,9	13±2,1	17±4,4	23±1,7	19±3,4	24±2,3
ЩФ	123±62,1	236±62,7	497±181,2	598±292	424±137,5	206±57,6
ТГ	30±10,5	64±9,7	44±5,5	38±5,1	35±4,5	68±17,9
ОБ	48,5±1,9	56±2,1	52±2,3	55±2,2	54±2	55±2,5

нием единичных клеток вглубь долек. Однако у одного животного выявили очаговое скопление лимфоцитов по типу лимфатического узелка с явлениями гиперплазии лимфоидной ткани, с образованием крупных лимфоидных фолликулов с большими центрами размножения. Выявленные дистрофические изменения гепатоцитов носили преимущественно слабо и умеренно выраженный характер, преобладала белковая дистрофия гепатоцитов. Таким образом, организм животных, в частности, мини-свиней обладает значительно более сильными аутогепатопротекторными возможностями, чем это описывалось ранее. Морфофункциональные изменения печени оказались менее выраженными, чем ожидалось.

Выводы

1. Была получена модель токсического гепатита на мини-свиньях с умеренными морфофункциональными изменениями печени.
2. Для получения модели с более выраженными изменениями печени рекомендуется увеличить дозы и (или) длительность приема четыреххлористого углерода.

3. С помощью биохимических тестов можно определить исключительно острую фазу заболевания, и данные методы не могут быть применены для диагностики хронического течения болезни.

4. Гистологическое исследование является наиболее достоверным для определения хронического токсического гепатита.

Список литературы

1. **Бокучава А., Макарадзе З.** Экспериментальное моделирование патологий печени // Известия ГУ Армении. 2009-1. С. 45-47.
2. **Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т.** Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопр. мед. химии. 2001. № 3. С. 346-552.
3. **Каркищенко Н.Н.** Альтернативы биомоделирования. М: Изд-во ВПК, 2007. – 320 с.
4. **Капанадзе Г.Д.** Использование мини-свиней в биомедицинских исследованиях // Биомедицина. № 2. 2006. С. 40-52.
5. **Орлов А.В.** Криохирургическое лечение хронических гепатитов и циррозов печени. Автореф. Дис. канд. мед. наук. Томск. 2004. 26 с.

Modelling of persistent toxic hepatitis on the Svetlogorsk mini-pigs

A.O. Revyakin, G.D. Kapanadze, S.E. Den'gina, N.V. Kasinskaya, O.I. Stepanova, L.Kh. Kazakova, I.Yu. Kolyshv

The paper presents the experimental modeling of toxic hepatitis on Svetlogorsk mini-pigs. Revealed dose and timing administration CCl4 for moderate chronic hepatitis.

Key words: biomodel, toxic hepatitis, mini-pigs.

Гистоморфологические исследования взаимоотношений костной ткани с дентальным имплантатом

А.В. Волков², В.А. Бадалян¹, А.А. Кулаков¹, И.И. Бабиченко²,
Г.Д. Капанадзе³, Н.В. Станкова³

¹ – Отделение клинической и экспериментальной имплантологии ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздравсоцразвития России

² – Отдел общей патологии ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздравсоцразвития России

³ – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: д.б.н. Капанадзе Гия Джемалиевич, giyak@yandex.ru

Разработанные нами критерии при экспериментальном исследовании дентальных имплантатов на мини-свиньях предоставляют значительную информацию о процессах их остеоинтеграции при развитии осложнений, приводящих к утрате имплантата. С помощью этих критериев можно охарактеризовать процессы, приводящие к утрате имплантата или развитию периимплантита, а также оценить распределение, степень и адекватность нагрузки.

Ключевые слова: эксперимент, мини-свиньи, гистоморфологические исследования, костная ткань, дентальная имплантация.

Несмотря на то, что имплантология является старейшей дисциплиной в стоматологии после хирургии («exodontia» – удаление зубов), активное развитие ее началось с экспериментальных работ Бранемарка [2]. Исследования на собаках, проводившиеся в течение 10 лет, наглядно продемонстрировали и доказали интеграцию титана без наличия признаков воспаления в твердых и мягких тканях. Термин «остеоинтеграция» был определен Бранемарком (1995) как «прямой контакт живых тканей с поверхностью имплантата».

Сегодня термин «остеоинтеграция» включает не только микроскопические характеристики, но и клиническую картину. Кроме того, уже предложены методики «клинических измерений» остеоинтеграции [1].

В настоящее время современные исследования эффективности и безопасности установки дентальных имплантатов невозможно проводить без качественного анализа взаимоотношений между дентальным имплантатом и воспринимающим ложем – костной тканью. Дентальный имплантат, несмотря на специальные сплавы и методы обработки поверхности, по сути является инородным телом, поэтому вопросы об изучении приживления дентальных имплантатов остаются актуальной проблемой в стоматологии. Кроме того, дентальный имплантат, выполняющий функцию протеза зуба, подвергается осевой и ротационной нагрузке при жевании, что также отражается на характере перестройки костной ткани и имеет важное значение в прогнозе «вы-

живаемости». Более того, исследования границы имплантат-кость имеют первостепенную важность для разработки оптимальных материалов, дизайна характера поверхности имплантатов.

Как известно, получить гистологический препарат, содержащий одновременно металлический имплантат и прилегающую к нему кость, можно только с использованием специальной техники гистологической препаровки. Рутинные гистологические методы заливки в парафин, целлоидин или поливакс не позволяют обеспечить условия для приготовления гистологических срезов при наличии в блоке тканей титана. Поэтому были разработаны специальные протоколы подготовки образцов, которые заключались в пропитке и заливке исследуемого материала в пластмассы и синтетические смолы [3]. Предложенная техника позволила получать 100–200-микронные первичные срезы, из которых в дальнейшем, путем шлифования, получали гистологические срезы толщиной от 10 до 50 мкм [4, 5]. Для визуализации клеточных и тканевых элементов также разработаны различные окраски, которые с помощью раздельного окрашивания или метахромозии позволяли получать слайды приемлемого качества. Следует отметить, что большинство рутинных красителей: (окрашивание гематоксилином и эозином, окраска по Маллори, окраска по Массону-Голднеру) не подходят для декальцинированной кости.

Возникает необходимость определения критериев для морфометрической оценки состояния костной и других тканей воспринимающего ложа, что требует применения имеющихся и разработки дополнительных критериев оценки эффективности остеоинтеграции.

В настоящее время в гистоморфологической практике принято определять так называемый Bone-implant contact (BIC) – фактически, поверхность или интерфейс кости, прилегающей или соприкасающейся с поверхностью имплантата [6]. Данный показатель зависит от исходного состояния воспринимающего ложа, сроков после операции имплантации, характера нагрузки на имплантат. Современная патоморфология позволяет выявить не только особенности остеоинтеграции имплантата, определить вектор нагрузки и ее степень (перегрузка, недостаточная нагрузка), но и высказать предположения о характере процесса, приведшего к его утрате. Например, при развитии периимплантита максимальное значение BIC будет наблюдаться в области нижней трети имплантата, а в его верхней и средней части будет отражаться процесс резорбции костной ткани, продуктивное воспаление и, как следствие, его преобладание фиброза, за которым неизбежно произойдет врастание эпителия слизистой оболочки рта. Так, при перенагрузке имплантата максимально выраженный BIC будет в области верхней трети имплантата, поскольку вектор осевой нагрузки рассеивается в пределах первых витков или насечек тела имплантата, тогда как в области верхушки может наблюдаться некоторое разрежение костной ткани.

Таким образом, для углубленного изучения процессов остеоинтеграции дентальных имплантатов необходима разработка, модернизация и внедрение методов исследования остеоинтеграции дентальных имплантатов с целью определения характера процесса, приведшего, например, к его утрате. В данной работе рассматриваются возможности использования методов изучения остеоинтеграции денталь-

ных имплантатов на примере фрагмента экспериментального исследования.

Материалы и методы

В настоящем исследовании были использованы два костных блока, содержащих по два дентальных имплантата, которые находились в течение 30 дней в альвеолярном гребне верхней челюсти у светлогорских мини-свиней. Образцы были доставлены под индексами 17 и 27 для выявления различий в их остеоинтеграции.

Подготовка образцов

Образцы костной ткани, содержащие имплантаты, фиксировали в 10% нейтральном формалине (Биоптика, Италия) в течение 72 ч.

Все образцы перед заливкой в полимер подвергали последовательной дегидратации с использованием последовательного повышения концентрации этанола с 70% до 100%. Затем препараты инфильтрировали метилметакрилатом с несколькими последовательными сменами реактива, после чего полимеризовали бензоилпероксидом. Из полученных блоков изготавливали первичные срезы 200 мкм (Lowspeed saw Jet, JET Tools GmbH, Швейцария), из которых готовили вторичные срезы толщиной 40-50 мкм.

Срезы окрашивали толуидиновым синим по оригинальной методике и заключали в монтирующую среду (Биоптика, Италия). Кость при этом окрашивалась в светло-фиолетовый цвет, а новообразованная не минерализованная костная ткань - в насыщенно голубой.

Морфометрическое исследование и параметры остеоинтеграции

Полученные срезы фотографировали на аппаратном микроскопическом комплексе на основе микроскопа Leica

DM1500. На слайдах были определены следующие морфометрические показатели и индексы (рис. 1):

- костный интерфейс, граничащий с дентальным имплантатом (BIC), выражающийся в доле по всей поверхности имплантата, контактирующей с костью;

- интерфейс имплантата, контактирующий с костным мозгом (BMIC);

- интерфейс имплантата, контактирующий с фиброзной тканью, в случае, если таковая имелась;

- толщину костной балки, контактирующей с имплантатом Th.

Рентгеновские методы исследования

Для ориентирования проекции линии разреза образцы были подвергнуты рентгенологическому исследованию с контрастным проводником (рис. 2).

Результаты и их обсуждение

При экспериментальном исследовании дентальных имплантатов выявлен ряд закономерностей. Например, не все имплантаты показали одинаковую

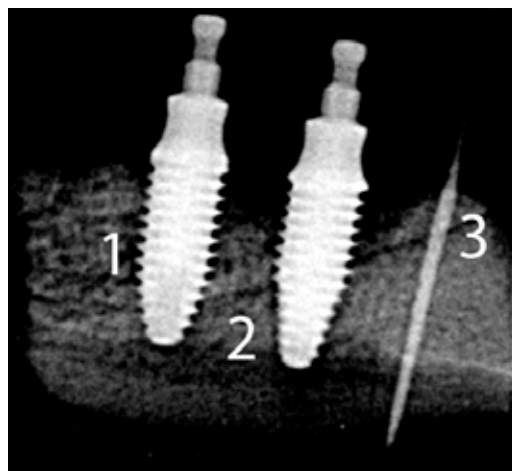


Рис. 1. Рентгеновский снимок фрагмента верхней челюсти у свиней с дентальными имплантатами (1, 2) и контрастным проводником (3).

остеоинтеграцию. Имплантаты под кодом 1 из обеих образцов показали высокий BIC, который составил 46%, тогда как образцы под кодом 2 - около 8% (BmIC 42% и 6% соответственно). При определении дополнительных параметров удалось установить, что основной причиной отсутствия остеоинтеграции был периимплантит (FIC 12% и 86%) (рис. 3). Распределение - так как изначально имплантаты не подвергались нагрузке (не устанавливалась коронка).

Проблемы остеоинтеграции дентальных имплантатов в экспериментальной и клинической медицине должны рас-

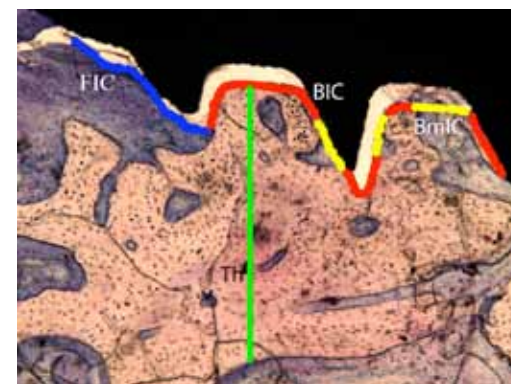


Рис. 2. Схема морфометрических исследований взаимоотношения между дентальными имплантатами и окружающими тканями. BIC - индекс остеоинтеграции (кость-имплантат); BmIC - индекс интеграции (имплантат-костный мозг); FIC - индекс интеграции (имплантат - соединительная ткань, в данном случае грануляционная и фиброзная ткань). Th - толщина трабекулы.



Рис. 3. Резорбция костной ткани вокруг имплантата (периимплантит); начало резорбции корня зуба при случайном его повреждении.

считываться не только с позиции взаимоотношений «имплантат-кость», но и с учетом всех процессов, которые могут оказать влияние на приживаемость имплантатов.

В нашей стране до сих пор все методики изучения процессов интеграции сводятся к удалению имплантатов из блока тканей и изучению декальцинированных срезов. Нет необходимости говорить, что при таком методе повреждаются костные структуры, нет информации о состоянии поверхности кость-имплантат, а сам метод трудоемок и затратен по времени. И самое главное, что он практически не информативен. Разработанные нами критерии предоставляют более значительную информацию о процессах остеоинтеграции дентальных имплантатов при развитии осложнений, приводящих к утрате имплантата. На основании предложенных критериев, можно определить не только алгоритм изучения взаимоотношений «кость-имплантат», но и охарактеризовать процессы, приводящие к утрате имплантата или развитию периимплантита, а также оценить распределение, степень и адекватность нагрузки, что, несомненно, будет способствовать внедрению отечественных имплантатов. Кроме того, мы считаем, что описанный метод может стать основой для разработки методики оценки и уточнения причин утраты дентальных имплантатов.

Список литературы

1. Albrektsson T., Zarb G.A. Determinants of correct clinical reporting // *Ont Dent.* 1999. Vol. 76. № 4. P. 29-337.
2. Brånemark P.I., Adell R., Breine U., Hansson B.O., Lindström J., Ohlsson A.

Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies // Scand.J.Plast.Reconstr.Surg. 1969. Vol.3. № 2. P. 81-100.

3. Donath K., Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sägeschliff (sawing and grinding) technique // J. Oral Pathol. 1982. Vol. 11. № 4. P. 318-326.

4. Johansson C.B., Jimbo R., Stefenson P. Ex vivo and in vivo biomechanical test of implant attachment to various materials: introduction of a new user-friendly removal torque equipment // Clin. Implant Dent. Relat. Res. 2010. Vol. 17., Jul.

5. Johansson C.B., Röser K., Bolind P., Donath K., Albrektsson T. Bone-tissue formation and integration of titanium implants: an evaluation with newly developed enzyme and immunohistochemical techniques // Clin. Implant Dent. Relat. Res. 1999. Vol 1. № 1. P. 33-40.

6. Röser K., Johansson C.B., Donath K., Albrektsson T. A new approach to demonstrate cellular activity in bone formation adjacent to implants // J. Biomed. Mater. Res. 2000. Vol. 51. № 2. P. 280-291.

Histomorphological researches of relationship of a bone with dental implant

A.V. Volkov, V.A. Badalyan, A.A. Kulakov, I.I. Babichenko, G.D. Kapnadze, N.V. Stankova

We have developed criteria for the experimental study of dental implants in the mini-pigs provide significant information on the osseointegration of dental implants in the development of complications that lead to loss of the implant. One may characterize the processes leading to the loss of the implant or the development of peri-implantitis, and to assess the distribution, extent and adequacy of the load.

Key words: experiment. mini-pigs, histomorphological researches, bone, dental implantation.



ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических и биотехнических исследований

Л.А. Болотских, Н.Н. Каркищенко, Х.Х. Семенов, И.Ю. Егорова, Т.Б. Бескова, З.С. Лушникова, Н.В. Касинская, Л.Х. Казакова

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: к.с.-х.н. Болотских Любовь Александровна, тел.: 8(495) 561-52-57

Полученные в результате работы СПФ-животные могут быть рекомендованы заинтересованным учреждениям с целью получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента с участием лабораторных животных.

Ключевые слова: изоляторная система, гнотобиологические методы, стерилизация, СПФ-животные.

Получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента можно достигнуть лишь при соблюдении стандартности всех его слагаемых и условий проведения. В этом смысле лабораторное животное является наиболее уязвимым звеном в системе медико-биологического эксперимента. Его состояние как живого объекта зависит от воздействия многочисленных как экзогенных, так и эндогенных факторов, влияние которых далеко не всегда бывает явным и легко регистрируемым. Среди них, прежде всего, следует отметить факторы инфекционной и инвазионной природы. Причем различные, в том числе даже патогенные представители вирусной и бактериальной флоры, не всегда вызы-

вают клинически явную картину заболевания. Часто они протекают в латентной форме или же в виде носительства. В настоящее время актуальность приобретает так называемая оппортунистическая, эндогенная инфекция, активизирующаяся при иммунодефицитных состояниях. Полноценность корма, сбалансированность всех его компонентов является важнейшим условием, обеспечивающим здоровье животного, поддержание неспецифической резистентности его организма на высоком уровне. Велико также взаимодействие экологических факторов на статус животного – условий его содержания и микроклимата. Все эти моменты, не учитываемые при проведении эксперимента, искажают и даже извращают его результаты.

Достижение современного уровня медико-биологического исследования возможно лишь при унификации всех факторов, воздействующих на организм лабораторных животных путем строгой стандартизации как условий содержания, так и самих животных. Введение в мировую практику требований системы GLP (Good Laboratory Practice) для проведения доклинических испытаний лекарственных веществ предъявило еще более жесткие условия к проблеме стандартизации животных, состоянию их здоровья.

В соответствии с международным опытом, стандартность лабораторных животных обеспечивается, с одной стороны, современной технологией их разведения и содержания в барьерной системе, с другой – едиными критериями оценки состояния здоровья. Основой этих критериев является принцип недопустимости носительства ряда патогенных и условно-патогенных агентов инфекционной и инвазионной природы: вирусов, бактерий, паразитов. То есть, стандартизация животных основана на исключении возможности возникновения явлений инфекционной и инвазионной патологии.

Во многих странах разработаны стандарты различных категорий качества животных по состоянию здоровья. Они включают перечень возбудителей, носительство которых исключается. Чем выше категория качества животного, тем больше перечень недопустимых агентов. Однако стандарты различных стран не идентичны. Единой международной классификации лабораторных животных по категориям качества и существующих стандартов не существует. В связи с этим, животные, именуемые как SPF (Specific pathogenfree), не

имеют четкой характеристики качества животных и создания единых стандартов. Примером могут служить разработки группы исследователей европейских стран: GV-SOLAS, FELASA [1].

Специалисты нашей страны, совместно с зарубежными коллегами, на основе мирового опыта, также приняли попытку создания требований к качеству лабораторных грызунов различных категорий, которые были приняты в 1989 г. на совместном совещании в Софии. Однако опыт работы по контролю состояния здоровья животных позволил видоизменить эти нормативы.

Классификация основана на методе получения исходных для разведения животных, наличии и надежности барьера и глубине или уровне контроля статуса животного по соответствующему стандарту (требованию). Предлагается различать 5 категорий качества животных: конвенциональные, содержащиеся в открытой системе (категория 1); улучшенные конвенциональные, находящиеся в барьерной системе неполного типа. Исходными животными этой категории могут быть только животные более высокого класса качества (SPF). Эта категория качества животных соответствует категории, именуемой во многих странах MD (Minimal Diseases), или (категория 2); а также категории SPF-животные, содержащиеся в строгой барьерной системе (категория 3); гнотобиоты и безмикробные, или аксенные, животные, содержащиеся в изоляторах (категории 4, 5a и 5b) [4].

Цель работы: получить лабораторных животных, свободных от патогенной микрофлоры (СПФ-животных), как основу экспериментальной медицины.

Материалы и методы

Работа проводилась с конвенциональными мышами коллекционного фонда ФГБУ «НЦБМТ» РАМН. Очистка мышей коллекционного фонда от патогенной микрофлоры проводилась усовершенствованным методом гистерэктомии [3]. Животные получали стерильный гранулированный корм и белково-витаминную добавку. В рабо-

те использовали новое зарубежное и отечественное оборудование: изоляторная система «RAIR Isosistem», английский гнотобиологический изолятор «TCOL»; ламинар – С-1,2; стерилизатор воздушный ГП-640-ПЗ; паровой стерилизатор LAC-6065sp и т.д. Зарубежное оборудование было закуплено в 2008-2010 гг. специально для воспроизводства СПФ-животных (рис. 1).



Рис. 1. Оборудование лаборатории гнотобиологии НЦБМТ РАМН для получения лабораторных животных СПФ-статуса.

В создании коллекционного фонда мышей СПФ-статуса строго соблюдали гнотобиологическую технологию, которая включает аппаратуру и комплекс методологических приемов, направленных на получение и поддержание гнотобиотических, в т.ч. СПФ-категорий, животных. Основой гнотобиологической аппаратуры в данном случае был не гнотобиологический изолятор, а приобретенная зарубежная изоляторная система «RAIR Isosistem», состоящая из 144 микроизоляторов (рис. 2).



Рис. 2. Изоляторная система «RAIR Isosistem».

Данная изоляторная система содержания лабораторных животных обеспечивает защиту не только самих лабораторных животных, но и обслуживающего их персонала. Специальные воздушные клапаны создают комфортную температуру и влажность для животных, снижают контакт обслуживающего персонала с животными, очищают воздух помещений от аллергенных частиц кожи и шерсти животных, существенно снижают запах в помещении, что улучшает условия работы персонала. В течение часа воздух в клетке обменивается до 50 раз, при этом система обеспечивает его подачу в клетку без сквозняков. При полном отключении микроизолятора от системы воздухоподачи СПФ-статус животных сохраняется до 4 ч, за счет специального фильтра, размещаемого в крышке изолятора, что позволяет не только переносить клетки в пределах одного учреждения, но и перевозить их на значительное расстояние. Специальные датчики постоянно следят за состоянием микроизолятора, отображая его условия на табло, что существенно упрощает процесс. Обслуживание микроизоляторов производится по стандартным операционным процедурам, как правило, не вызывающим существенных затруднений в работе.

Результаты и их обсуждение

Как было уже отмечено, стандартизация лабораторных животных обеспечивается, прежде всего, современной технологией их разведения, содержания и кормления. Впервые в НЦБМТ РАМН была отработана и внедрена современная технология получения и выращивания лабораторных животных СПФ-статуса в изоляторной системе с использованием гнотобиологических методов. От-

работаны режимы стерилизации корма, воды, клеток, подстилочного материала и т.д. Стерилизацию проводили, в основном, в воздушных стерилизаторах ГП-640-ПЗ, а также в паровом стерилизаторе LAC-6065sp. Учитывая, что любая стерилизация разрушает патогенную ценность корма, лабораторные животные нуждаются в белково-витаминной добавке. Апробирован и другой способ стерилизации гранулированного корма гамма-лучами. Этот вид стерилизации считается наиболее щадящим, в первую очередь, к витаминам. Однако, из-за высокой стоимости такая обработка корма не находит широкого применения.

В настоящее время в НЦБМТ РАМН в СПФ-статус переведены 13 линий мышей коллекционного фонда: BALB/c, C57BZ/6, DBA/2, AKR, C57BL/10,101/H, CBA/Y, B/Ks, 129/Y, C3H/He A/sn, WR, B10GFP (зеленые). Ведется племенной учет всех линий.

Выводы

1. В результате работы в НЦБМТ РАМН были получены СПФ-животные: мыши линий BALB/c, C57BZ/6, DBA/2, AKR, C57BL/10,101/H, CBA/Y, B/Ks, 129/Y, C3H/He A/sn, WR, B10GFP.

2. Для получения лабораторных животных СПФ-категории необходимо, прежде всего, иметь современное оборудование, отработанную гнотобиотехнологию и хорошо подготовленный обслуживающий персонал.

3. Переход на изолированную систему содержания лабораторных животных в заинтересованных учреждениях позволит иметь качественных, здоровых животных, свободных от патогенной микрофлоры, т.е. животных СПФ-статуса, которые крайне необходимы как основа экспериментальной медицины.

Список литературы

1. Абдрашитова Э.Х., Зайцев Т.И. и др. Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья // Ланималогия. 1993. № 1.

2. Болотских Л.А., Подопригора Г.И. Разработка и использование гнотобиологических методов в лабораторном животноводстве. В сб.: Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биоло-

гических исследований. М. 1987. 23 с.

3. Болотских Л.А., Лушникова З.С. Усовершенствованный способ получения гнотобиотических животных // Биомедицина. 2005. № 1. С. 114-115.

4. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С. 2010. С. 89-90.

Actual issues of laboratory animals standardization for biomedical and biotechnical researches

L.A. Bolotskykh, N.N. Karkischenko, Kh.Kh. Semenov, I.Yu. Egorova, T.B. Beskova, Z.S. Lushnikova, N.V. Kasinskaya, L.Kh. Kazakova

Received as a result of the SPF-animals may be recommended by the concerned agencies with the purpose to get reliable and reproducible results of biomedical experiments with participation of experimental animals.

Key words: insulating system, gnotobiotic methods, sterilization, SPF-animals.





Физические методы оценки психофункционального состояния человека при электрической и магнитной стимуляции и в условиях сильных электромагнитных полей

Д.Б. Чайванов¹, Н.Н. Каркищенко², Ю.В. Фокин², В.Н. Каркищенко²,
Ю.А. Чудина¹, М.И. Стригина¹, Н.З. Орлова¹

¹ – НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: к.ф.-м.н. Чайванов Дмитрий Борисович,
e-mail: chaivanov@yandex.ru;

акад. РАРАН, чл.-корр. РАМН, д.м.н., проф. Каркищенко Николай Николаевич,
e-mail: niknik2808@yandex.ru.

В настоящей статье рассматриваются неэлектрические физические методы диагностики динамики психофункционального состояния человека, применимые в процессе электрической и магнитной стимуляции или в условиях сильных электромагнитных помех.

Ключевые слова: электрическая и магнитная стимуляция, психофункциональное состояние, электромагнитные помехи, неэлектрические методы диагностики состояния мозга человека.

При традиционном полиграфическом анализе основными способами оценки психофункционального состояния человека являются такие электрические физические методы как электроэнцефалография, кожно-гальваническая реакция, анализ variability сердечного ритма по данным электрокардиограммы, электромиограмма и др. Все эти методы требуют измерения потенциалов с амплитудой порядка 100-1000 мкВ в частотном диапазоне от 1 до 3000 Гц. Лечебные электромагнитные воздействия и электромагнитные поме-

хи, создаваемые приборами, делают невозможным фиксацию полезного сигнала столь малой амплитуды. Так, например, во время проведения таких лечебных процедур как электросон, транскраниальная амплипульстерапия, центральная электроанальгезия, амплипульстерапия, электростимуляция мышц, транскраниальная магнитная стимуляция и некоторых других, становится невозможным фиксация электрических потенциалов, применяющихся для диагностики текущих изменений функционального состояния организма и мозга [2]. Также крайне

сложно измерять электрические показатели активности у персонала, выполняющего работы вблизи трансформаторных подстанций, движущихся электропоездов, линий электропередач, силовых кабелей мощных электрогенераторов и электродвигателей и т.д. Однако текущий контроль показателей изменения функционального состояния является весьма важным и даже необходимым. Текущая фиксация динамики состояний организма и мозга пациента непосредственно во время проведения лечебной процедуры повысит ее безопасность, так как позволит более гибко и индивидуально осуществлять настройку характеристик данного лечебного воздействия. Не менее важной задачей является мониторинг работоспособности и адекватности персонала, работающего в условиях опасных производств, электротехнического персонала, машинистов электропоездов и т.п.

Настоящее сообщение посвящено обзору применяющихся и разрабатываемых нами неэлектрических физических методов оценки психофункционального состояния человека, которые могут быть использованы для текущего мониторинга состояний пациентов и специалистов, работающих в сложных психофизиологических условиях. В основе рассматриваемых методов лежат процедуры фиксации физиологических показателей с помощью датчиков, устойчивых к электромагнитным воздействиям. К таким методам относятся: анализ информационных параметров ультразвуковой вокализации, анализ variability сердечного ритма по данным фотоплетизмограммы, анализ характеристик дыхания и анализ изменений температуры тела.

Методы записи информационных параметров ультразвуковой вокализации

Физиологические основы. Известно, что ультразвуковая вокализация в состоянии покоя свойственна многим лабораторным животным (мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики, мини-свиньи, обезьяны), а также человеку. У людей феномены ультразвуковой вокализации более выражены при физической и психоэмоциональной нагрузке [4]. Установлено, что информационные параметры ультразвуковой вокализации являются маркерами психофункционального состояния животных и человека [4].

Техника записи. Для записи ультразвукового сигнала в частотном диапазоне 15-120 кГц нами используется система Sonotrack (Metris B.V., Нидерланды), а для обработки сигнала – как поставляемое фирмой-производителем программное обеспечение, так и оригинальное программное обеспечение, написанное на языке Matlab. В качестве более доступной в финансовом плане альтернативы для записи ультразвукового сигнала можно рекомендовать звуковую карту персонального компьютера с частотой семплирования не ниже 192 кГц. Некоторые звуковые карты могут иметь входной фильтр высоких частот, который необходимо шунтировать на аппаратном уровне. Применение высокочастотных микрофонов совместно с такими картами может позволить осуществлять запись ультразвука с частотой до 40 кГц, для записи которого необходимо использовать программное обеспечение, позволяющее записывать сигнал с частотой семплирования 192 кГц, – например, Sonar 7.0.

Способы подавления ультразвуковых помех. Чрезвычайно важной задачей при записи информационных параметров ультразвуковой вокализации является

исключение посторонних ультразвуковых шумов, основными источниками которых в лабораторных помещениях могут являться:

- 1) система отопления;
- 2) система вентиляции;
- 3) работающие компьютеры.

Источниками ультразвуковых шумов в системах отопления являются:

- 1) избыточные скорости движения теплоносителя в системах отопления;
- 2) шум от циркуляционных насосов и вентиляторов горелок;
- 3) шум, вызванный ударами твердых предметов об трубопроводы системы отопления и отопительные приборы;
- 4) скрежет, вызванный скольжением расширяющихся или сжимающихся вследствие изменения температуры теплоносителя трубопроводов по опорам системы отопления.

Требования к допустимым скоростям движения теплоносителя, нормы и правила, исключая движение теплоносителя со скоростями выше допустимых, изложены в СНиП 41-01-2003 [7]. Для снижения шума циркуляционных насосов следует предусматривать шумопоглощающие опоры и шумопоглощающие вставки между патрубками насосов и трубопроводами системы отопления. Если шум, производимый циркуляционными насосами, обусловлен избыточной скоростью движения теплоносителя в насосах, может потребоваться установка насосов с меньшей частотой вращения. Для устранения шума от вентиляторов горелок следует применять инъекционные газовые горелки. Для предотвращения шума, вызванного ударами твердых предметов о трубопроводы системы отопления, следует применять мягкую теплоизоляцию. Скрежет, вызванный

скольжением расширяющихся или сжимающихся вследствие изменения температуры теплоносителя трубопроводов по опорам системы отопления, можно исключить, применяя неподвижные опоры и линзовые компенсаторы теплового расширения. Для предотвращения распространения шума, образовавшегося в других помещениях, следует применять шумопоглощающие вставки в трубопроводы системы отопления.

Источниками ультразвуковых шумов в системах вентиляции являются:

- 1) избыточные скорости движения воздуха в системах вентиляции;
- 2) шум от вентиляторов;
- 3) шум, распространяющийся по воздуховодам из соседних помещений.

Требования к допустимым скоростям движения воздуха, нормы и правила, исключая движение воздуха со скоростями выше допустимых, изложены в СНиП 41-01-2003 [7]. Для снижения шума вентиляторов следует предусматривать шумопоглощающие опоры и шумопоглощающие вставки между патрубками вентиляторов и воздуховодами, использовать специальные малозумные вентиляторы. Для снижения шума, передающегося из соседних помещений, следует использовать шумоглушители и шумопоглощающие вставки воздуховодов.

Основными источниками шумов в компьютерах являются вентиляторы и жесткий диск. Данные шумы усиливаются вследствие резонанса корпуса из тонкой стали. Наиболее радикальным способом снижения шума от жесткого диска является использование FLASH-диска. Также необходимо использование малооборотных вентиляторов, в том числе в блоке питания, и выбор блока питания с 30% запасом мощности.

Методы записи и анализа variability сердечного ритма по данным фотоплетизмограммы

Фотоплетизмография (ФПГ) относится к фотометрическим методам исследования биологических объектов, в которых измерение характеристик и параметров кровообращения (пульсовой кривой, давления крови, степени насыщения артериальной крови кислородом и др.), оценка сосудистых реакций и обменных процессов выполняются путем регистрации интенсивности потоков электромагнитного излучения оптического диапазона после их взаимодействия с тканями живого организма [12].

В медицинской практике существует концепция о сердечно-сосудистой системе как индикаторе адаптационных реакций всего организма [6]. Для измерения состояния сердечно-сосудистой системы используется метод оценки variability сердечного ритма (ВСР), позволяющий оценить состояние механизмов регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы, которое рассматривают как интегральный показатель функционального состояния организма в целом [9]. Для оценки ВСР используются данные электрокардиограммы (ЭКГ). Однако в условиях значительных помех фиксация данных ЭКГ оказывается невозможной. В настоящее время в лаборатории физических методов коррекции нейрокognитивных процессов НИЦ «Курчатовский институт» ведутся исследования, посвященные перспективам использования сигналов фотоплетизмограммы (ФПГ) в качестве материала для анализа variability сердечного ритма.

Физиологические основы. Метод ФПГ основан на регистрации оптической плотности исследуемой ткани, которая определяется по объему содержащейся

в ней крови. Изменение объема крови зависит от интенсивности деятельности сердечно-сосудистой системы. ФПГ предоставляет возможность получить объективную информацию о динамике кровообращения как в покое, так и под воздействием различных, в том числе стрессовых, факторов [11]. Известно, что в норме кровь очередного ударного объема достигает пальцевого датчика через 3-5 с, а ушного — через 2-3 с после сердечного сокращения. Существуют ситуации, в которых такая задержка (разница в длительности кардиоинтервалов) может увеличиваться или уменьшаться [11], то есть длительность кардиоцикла по данным ЭКГ и ФПГ будет различаться. Выявление условий, в которых задержка будет постоянной или сильно варьирующей, является задачей дополнительного исследования. Предполагается, что variability задержки может быть связана с рядом факторов — например, со степенью нагрузок, действующих на испытуемого, а также с его индивидуальными психофизиологическими характеристиками, в частности — с типом вегетативного реагирования. Тип вегетативного реагирования, как устойчивая индивидуальная характеристика, во многом определяет адаптационные возможности организма, а также особенности эмоционально-мотивационной и когнитивной сферы [9].

Техника записи. В процессе записи ФПГ исследуемый участок ткани просвечивается инфракрасным светом, который после рассеивания (или отражения) попадает на фотопреобразователь. Интенсивность света, отраженного или рассеянного данным участком ткани, определяется объемом содержащейся в нем крови. Наиболее удобными и информативными участками для снятия

фотоплетизмограммы являются концевая фаланга пальца руки и мочка уха, что объясняется физиологическими свойствами данных участков, а именно малым количеством мышечной ткани и высокой интенсивностью кровотока [11]. Для записи ФПГ нами используется психофизиологическое телеметрическое устройство в составе реабилитационного психофизиологического комплекса для тренинга (РПК) с биологической обратной связью (БОС) «Реакор» (г. Таганрог).

Источники артефактов. Источники артефактов при записи ФПГ можно разделить на несколько категорий. Как правило, выделяют внешние и внутренние источники. К наиболее частым источникам погрешностей в измерениях ФПГ относятся движения испытуемого. Также в качестве источников артефактов указывается низкая амплитуда ФПГ, оптические помехи. Для снижения влияния внешних факторов на качество сигнала используется его экранирование, частотная фильтрация, вычитание сигнала помехи [12].

Методы записи и анализа характеристик дыхания

Физиологические основы. Дыхание является одним из важнейших физиологических процессов, за счет которого обеспечивается нормальное функционирование организма человека. Два вида дыхания – внешнее (легочное) и внутреннее (тканевое) – являются двумя основными проявлениями данного процесса. Внешнее дыхание является источником тканевого дыхания и обеспечивает окислительные, обменные и энергопроизводящие процессы в клетках организма. Биологические ткани человека не могут длительно существовать без постоянного обмена веществ, который уча-

ствует в клеточном дыхании. Регулируют дыхательную функцию специальные отделы мозга, расположенные в ретикулярной формации ствола. Экспираторный и инспираторный центры продолговатого мозга зависят от работы мостового центра ритмики дыхания, который определяет смену их активации. Основной задачей этих нервных центров является обеспечение динамики частоты и глубины (амплитуды) дыхания в зависимости от изменений состояний организма [10]. Изменение соотношений кислорода и углекислого газа в крови, особенно в сторону увеличения концентрации последнего, приводит к активации дыхательных центров ствола мозга. Угнетение работы этих центров может привести к полной остановке дыхания. Надо отметить, что человек может произвольно задержать дыхание на достаточно короткое время, но прекратить дышать ему не под силу. В обычных условиях изменение частоты и глубины дыхания осуществляется автоматически, без непосредственного контроля со стороны сознания. В условиях стресса происходит мобилизация всех физиологических функций, в том числе дыхания [1]. Рост физических и эмоциональных нагрузок влечет за собой увеличение потребления тканями кислорода и интенсификацию удаления углекислого газа, что отражается на изменении параметров дыхания. Резкое увеличение потребления кислорода тканями и возрастание углекислого газа в крови приводит к автоматической интенсификации вентиляции легких, которая осуществляется за счет увеличения глубины и частоты дыхания [1].

Для анализа динамики дыхательной функции используется регистрация показателей внешнего (легочного) дыхания. В основе легочного дыхания лежит изменение объема легких на вдохе (объем увеличивается) и выдохе (объем уменьшается).

При спокойном дыхании изменение грудной клетки составляет 1-3 см по окружности, при форсированном – может увеличиваться до 10 см и более. Частота дыхания в покое составляет 12-14 раз за минуту, при этом через легкие проходит около 0,4-0,6 л воздуха за один дыхательный цикл [10]. В экстремальных условиях легочная вентиляция увеличивается до 1,5-2 л на фоне изменения частоты дыхания в 2-2,5 раза (25-40 дыхательных движений в минуту).

Техника записи. Датчики дыхания реагируют именно на изменение объема грудной клетки. Они фиксируют амплитуду, длительность и задержку верхнего и нижнего дыхания. Датчик верхнего дыхания устанавливается по центру грудной клетки на уровне 3-4 ребра, датчик нижнего дыхания – на 2-3 пальца выше пупка [10]. Для анализа характеристик дыхания нами используются датчики растяжения, в которых применяются тензоэлементы. Принцип действия таких датчиков основан на растяжении провода или резинки, натянутой вокруг живота или груди при вдохе [3]. Регистрация дыхательной динамики осуществляется датчиком рекурсии дыхания (ДПГ-1М) для оценки брюшного и грудного дыхания (частоты и амплитуды дыхания, длительности фаз вдоха и выдоха) и выявления дыхательных нарушений на основе измерения растяжения респираторного пояса в составе РПК с БОС «Реакор».

Методы записи и анализа характеристик поверхностной температуры кожи

Физиологические основы. Поверхностная температура кожи зависит, в основном, от интенсивности периферического кровообращения, которое регулируется нейронами сосудодвигательных центров ретикулярной формации ствола мозга, влияющих на симпатическую нерв-

ную систему. Нейроны сосудосуживающего центра, влияя на симпатическую нервную систему, поддерживают основной тонус сосудов, а нейроны в составе сосудорасширяющего центра, путем угнетения сосудосуживающего центра, снижают тонус сосудов, в том числе периферических. Повышение тонуса сосудов и уменьшение их просвета приводит к снижению температуры, при уменьшении симпатического влияния происходит увеличение температуры. Кроме того, замечено, что при перерезке симпатических нервов наблюдается значительное повышение температуры. Это свидетельствует о влиянии симпатической системы на динамику температуры. Оценка тонуса периферических сосудов на основании изменений поверхностной температуры кожи при различных функциональных состояниях позволяет расширить диапазон методов психофизиологической диагностики [5, 10]. Несмотря на то, что физиологический предел колебаний поверхностной температуры кожи не велик (не превышает 1-го градуса), динамика показателей поверхностной температуры кожи может служить дополнительным критерием при оценке функционального состояния. Особый интерес составляет регистрация температуры в определенных местах кожной поверхности (зоны Захарьина – Геда) [8].

Техника записи. Для анализа характеристик поверхностной температуры кожи используется датчик, регистрирующий сигнал с внутренней поверхности дистальной фаланги пальца или иных поверхностей кожи. Датчик может располагаться на любом участке поверхности кожи при условии свободы кровотока. Регистрация данных осуществляется датчиком для оценки температуры кожной поверхности в составе РПК с БОС «Реакор».

Список литературы

1. Варламов В.А. Детектор лжи. – М. ПЕР СЭ-Пресс. 2004. С. 90-99.
2. Гурленя А.М., Багель Г.Е., Смычек В.Б. Физиотерапия в неврологии. Медицинская литература. М. 2008.
3. Журин С.И. Практика и теория использования детекторов лжи. – М., Горячая линия-Телеком. 2004. 143 с.
4. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Сахаров Д.С., Каркищенко В.Н., Капаназе Г.Д., Чайванов Д.Б. Ультразвуковая вокализация и ее информативные параметры у животных и человека // Биомедицина. 2011. № 1. С. 4-24.
5. Марютина Т.М., Кондаков И.М. Психофизиология. – М.: МГППУ. 2004.
6. Парин В.В., Баевский Р.М., Волков Ю.Н., Газенко О.Г. Космическая кардиология. Л.: Медицина. 1967.
7. СНиП 41-01-2003. Отопление, вентиляция и кондиционирование.
8. Табеева Д.М. Руководство по иглорефлексотерапии. – М.: Медицина. 1980.
9. Усенко А.Б., Кузьмина К.А. Особенности произвольной саморегуляции поведения младших подростков с разными типами вегетативного реагирования // Психологические исследования. Т. 5. № 24. 6 с. <http://psystudy.ru>.
10. Хэссет Дж. Введение в психофизиологию. М.: Мир. 1981. 248 с.
11. Шурыгин И.А. Мониторинг дыхания: пульсоксиметрия, капнография, оксиметрия. БИНОМ. 2000.
12. Юран С.И. Методы и средства автоматизированного контроля оптической плотности биологических тканей при изменении их кровенаполнения в условиях действия артефактов // автореф. на соиск. уч. степ. д.т.н., Ижевск. 2008.

Physical methods of assessment functional state of a human brain at electric and magnetic stimulation or strong electromagnetic interference

D.B. Chaivanov, N.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, V.N. Karkischenko, Yu.A. Chudina, M.I. Strigina, N.Z. Orlova

In this article it have been reviewed non-electrical physical methods used as diagnostic technique especially for dynamic functional state of a human brain suitable for its monitoring either during electromagnetic (pulse electromagnetic-field) stimulation or strong electromagnetic interference.

Key words: electromagnetic (pulse electromagnetic-field) stimulation, functional state of a human brain, electromagnetic interference, non-electrical physical methods used for monitoring functional state of a human brain.



КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистопатоморфологические изменения кишечника при обтурационной опухолевой толстокишечной непроходимости

Е.Е. Ачкасов, С.Ф. Алекперов, П.В. Мельников, И.Ю. Колышев, О.А. Калачёв, О.О. Орехов, Д.Ю. Каннер

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития РФ, Москва
ГКБ №67 г. Москвы

МГОб №62 г. Москвы

Федеральный медицинский центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Контактная информация: профессор, д.м.н. Ачкасов Евгений Евгеньевич,
2215.g23@rambler.ru

Изучены особенности морфологических изменений в стенке ободочной и тонкой кишки у 26 больных с обтурационной опухолевой толстокишечной непроходимостью (ОТКН). Выявлена динамика в развитии морфологических изменений кишечной стенки в зависимости от степени компенсации ОТКН, которая заключалась в прогрессирующем отёке, нарушении кровообращения с внутрисосудистыми предтромботическими изменениями и острой воспалительной реакции. Подобные острые изменения в кишечной стенке происходили на фоне хронических морфологических изменений, особенно у больных пожилого и старческого возраста, которые могут способствовать нарушению всасывательной функции кишки. На основании полученных данных можно сделать вывод, что следует воздерживаться от выполнения первичных межкишечных соустьев на высоте ОТКН, а выполнение радикальных операций с формированием межкишечных анастомозов следует осуществлять не ранее, чем через 3-4 недели после устранения кишечной непроходимости.

Ключевые слова: гистопатоморфология, колоректальный рак, острая толстокишечная непроходимость, ободочная кишка, тонкая кишка, острая воспалительная реакция, внутрисосудистые предтромботические изменения, морфологические изменения, всасывательная функция кишки, межкишечные анастомозы.

Диагноз ОТКН охватывает гетерогенный клинический синдром, включающий кишечный стаз, вследствие имеющейся злокачественной опухоли в брюшной полости, и полиорганную недостаточность. Именно поэтому обтурационная толстокишечная непроходимость (ОТКН) опухолевого генеза давно имеет печальную славу весьма тяжелого по течению, трудного для диагностики и неблагоприятного по исходам заболевания [3]. С точки зрения гистопатоморфологии, острая кишечная непроходимость – не нозологическая единица, а группа различных патологических состояний, объединенных одним признаком – нарушением про-

ходимости кишечника [6]. В нескольких работах экспериментально обнаружены обширные морфологические и нейрохимические изменения в гипертрофированной кишке, расположенной орально от хронического частичного стеноза просвета кишки. Так, перед декомпенсацией кишечной проходимости, в престенотическом сегменте кишки может предшествовать уменьшение уровня субстанции Р, вазоактивного интестинального полипептида и секретоневрина [8]. Более того, было выявлено нарушение нейромышечной перистальтической передачи как за счет рецепторного (ацетилхолинового), так и нереперторного (К+) пути, которая восстанавливается только через 2 недели [5]. В то же время, гипертрофический рост гладкомышечной мускулатуры кишки приводит к гиперреактивности циркулярных мышечных волокон и к повышенной чувствительности к расслабляющимся агентам продольных мышечных волокон [6]. А по данным световой микроскопии стенки толстой кишки, при ОТКН выявляли дегенерацию и десквамацию эпителия, уменьшение бокаловидных клеток, увеличение гликопротеиновых кислот, гипертрофию в мышечном слое и фиброгенез в интерстиции. Электронная микроскопия показала гипертрофию миоцитов и коллагенобласты I-II типа [7].

Все вышеперечисленные изменения необратимо ведут к первичному расстройству мембранного пищеварения, что вызывает тотальные нарушения процессов переваривания (мальдигестия) и всасывания (мальабсорбция) и характеризуется расстройством ТС, тяжелыми метаболическими сдвигами [2]. Именно поэтому тактику лечения ОТКН следует рассматривать не только в хирургической плоскости, но и обращая внимание

на гистопатоморфологические изменения стенки кишки.

Белково-энергетические нарушения и нарушения трофического статуса с развитием полиорганной недостаточности, большая частота несостоятельности межкишечных анастомозов при ОТКН во многом обусловлены нарушением моторной, секреторной, переваривающей и всасывательной функций кишечника на фоне нарушения регионарного кровообращения [1, 3, 4]. Хотя сам факт наличия такой связи не вызывает сомнения, характер и степень морфологических изменений тонкой и ободочной кишки при разных степенях компенсации ОТКН малоизучены, что требует дальнейшей разработки этого вопроса.

Цель исследования – изучение морфологических изменений в стенке кишечника в зависимости от степени компенсации обтурационной толстокишечной непроходимости опухолевого генеза.

Материалы и методы

Морфологическое исследование кишечника провели у 26 больных на фоне ОТКН: компенсированная (6), субкомпенсированная (11) и декомпенсированная (9). Изучили 24 фрагмента ободочной кишки и 5 – тонкой кишки. Из общего количества больных было 14 (53,8%) женщин и 12 (46,2%) мужчин. Подавляющее число больных с ОТКН были в возрасте старше 60 лет (18 пациентов; 69,2%), а средний возраст составил $68,9 \pm 3,7$ лет.

Материалом для морфологического исследования кишечника служили фрагменты приводящего отдела ободочной и тонкой кишки, удаленные во время экстренных и срочных операций – прицельных илео- или колостом из мини-доступа, а также во время резекций ободочной кишки и гемиколэктомий как на

высоте ОТКН, так и через 3-4 недели после устранения ОТКН путём колостомии из мини-доступа. Во время операции, соблюдая условия минимальной хирургической (механической) травмы, вырезали фрагмент противобрыжеечного участка кишечной стенки (ободочной кишки в области тени) на всю её толщину, размером 1,5 x 1,5 см. Материал фиксировали в течение 24 ч в 10%-растворе формалина (рН 7,2-7,4). Затем из него вырезали 3-4 продольных кусочка, которые заливали в парафин. Весь материал исследовали микроскопически с помощью гистологических, гистохимических методов окрасок. Для определения количественных показателей патологического процесса использовали морфометрию. Для гистологического и гистохимического исследования парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, фуксилином по Вейгерту с докраской пикрофуксином по Ван-Гизону, ставили ШИК-реакцию.

При морфометрическом исследовании под увеличением микроскопа x400 с помощью окулярной линейки измеряли толщину слизистой оболочки, циркулярного и продольного слоев мышечной оболочки, толщину стенок и диаметр просвета артерий и вен подслизистой основы с вычислением индекса Керногана (индекс Керногана = $hcr/d_{вн}$, соотношение толщины стенки сосуда и диаметра его просвета).

Изменения морфометрических показателей и индекса Керногана оценивали при изучении фрагментов ободочной кишки, удаленной во время плановой операции у 8 больных дополнительной контрольной группы в возрасте от 44 до 68 лет, у которых при профилактическом осмотре выявили рак ободочной кишки T1-T2 с поражением опухолью не

более 1/3 окружности ободочной кишки без стенозирования просвета и нарушения пассажа по ободочной кишке.

Все гистологические препараты кодировали специальными номерами для определения соответствия морфологической картины степени ОТКН и объективной оценки динамики патологического процесса. Гистологическую картину описывали "вслепую", без знания клинических данных. В дальнейшем же проводили клинико-морфологические сопоставления.

Результаты и их обсуждение

Исследование кишечной стенки на фоне ОТКН позволило выявить зависимость характера морфологических изменений от степени ОТКН.

При компенсированной ОТКН слизистая оболочка тонкой кишки обычной толщины, поверхностный эпителий ворсинок сохранен. Однако в собственной пластинке ворсинок отмечали умеренную лимфогистиоцитарную инфильтрацию с выраженной примесью эозинофильных лейкоцитов. Капилляры были спавшиеся и потому незаметны, а строма ворсинок имела обычную плотность. В подслизистой основе на границе с базальным слоем слизистой располагалось множество лимфатических фолликулов. Несмотря на умеренный отёк соединительнотканной стромы, лимфатические капилляры были значительно расширены.

Отметили полнокровие артерий и вен подслизистого сосудистого сплетения. Причём просвет артерий практически не содержал плазмы и был плотно выполнен эритроцитами. Стенки многих артерий имели умеренно гипертрофированную среднюю оболочку и утолщенную наружную эластическую мембрану. В расширенном просвете вен обнаруживали

немногочисленные эритроциты с отщипыванием плазмы. Вены имели извитой ход, с гиперэластозом стенок.

Мышечная оболочка тонкой кишки при компенсированной ОТКН состояла из двух сплошных мышечных слоев – циркулярного и продольного. Циркулярный мышечный слой был представлен мышечными пучками, разделенными достаточно широкими интерстициальными прослойками, представленными рыхлой соединительной тканью, что создавало впечатление его разволокненности. Интерстициальная ткань, разделяющая мышечные пучки и по ходу сосудов, проходящих через циркулярный мышечный слой, отличалась заметной фуксинофилией. Продольный мышечный слой, в отличие от циркулярного, состоял из плотно расположенных мышечных пучков, разделённых нежными фуксинофильными интерстициальными прослойками.

Субсерозный слой был расширен за счёт зрелой грануляционной ткани с выраженным эластозом. Отмечали умеренную гипертрофию миоэнтерального нервного сплетения, периганглионарно встречались единичные эозинофилы.

Слизистая оболочка ободочной кишки при компенсированной ОТКН имела толщину $0,56 \pm 0,13$ мм. Поверхностный эпителий был сохранен на всем протяжении, архитектура крипт не нарушена. В собственной пластинке слизистой оболочки, так же как и в тонкой кишке, определяли умеренную лимфогистиоцитарную инфильтрацию. Однако микрососуды слизистой толстой кишки были паретически расширены, особенно в области мышечной пластинки, толщина которой – $0,024 \pm 0,012$ мм.

Умеренно отёчная подслизистая основа ободочной кишки содержала расширенные лимфатические капилляры,

артерии с гипертрофированной средней оболочкой и извитые вены. В просвете большинства артерий обнаруживали эритроциты, а в отдельных – лейкоциты. Индекс Керногана в артериях – 1:1. Просвет вен содержал плазму практически без клеточных элементов. Индекс Керногана в венах – 1:5.

Мышечная оболочка ободочной кишки при компенсированной ОТКН была представлена циркулярным слоем и продольным, собранным в 3 мышечных тяжа – тении. Толщина циркулярного мышечного слоя – $1,36 \pm 0,31$ мм. Мышечные пучки более плотно, чем в тонкой кишке, прилежали друг к другу. На границе с продольным слоем закономерно обнаруживали отдельные миоциты с вакуолизированной цитоплазмой. По ходу интерстициальных прослоек встречали единичные эозинофильные лейкоциты и лимфоциты. Капилляры циркулярного мышечного слоя значительно расширены, но не полнокровны. Несмотря на то, что при морфометрическом исследовании отметили истончение мышечной оболочки ввиду дилатации просвета кишки в условиях ОТКН, сами миоциты, тем не менее, были с признаками неравномерной гипертрофии (разных размеров, содержали различающиеся по величине гиперхромные ядра). Продольный мышечный слой имел компактную структуру за счёт плотно расположенных мышечных пучков. Толщина его составляла $1,12 \pm 0,28$ мм. Отмечали резкое паретическое расширение субсерозных сосудов.

При субкомпенсированной ОТКН выявляли уже выраженные, сходные между собой, патологические изменения кишечной стенки как тонкой, так и ободочной кишки.

В большинстве наблюдений (9), несмотря на то, что слизистая оболочка обо-

дочной кишки имела толщину $0,44 \pm 0,07$ мм (при компенсированной – $0,56 \pm 0,13$ мм), а поверхностный эпителий был сохранен, в малокровной собственной пластинке значительно возрастали явления отёка с расширением лимфатических капилляров. Воспалительная инфильтрация на этом фоне была незаметна. Толщина мышечной пластинки слизистой оболочки ободочной кишки – $0,037 \pm 0,019$ мм, миоциты её были разобщены за счёт интерстициального отёка.

Особенно отёк был выражен в значительно утолщенной подслизистой основе (рис. 1). Благодаря резкому расширению лимфатических щелей (рис. 2) она приобрела сетчатый вид с диффузно, но неравномерно распределёнными немногочисленными воспалительными клетками, представленными как лимфогистиоцитарными элементами, так и нейтрофилами и эозинофилами. Артерии и вены дилатированы, просвет их заполнен жидкой, практически не окрашенной эозином, плазмой без клеточных элементов. Индекс Керногана в артериях подслизистой основы ободочной кишки – 1:3, в венах – 1:4,3.

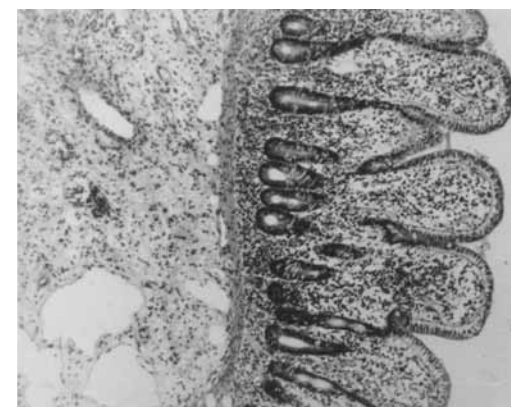


Рис. 1. Отёк и умеренная воспалительная инфильтрация собственной пластинки слизистой и подслизистой основы тонкой кишки при субкомпенсированной ОТКН. Окраска гематоксилином и эозином, х 250.

Циркулярный слой мышечной оболочки отёчный, с выраженной в базальных отделах вакуолизацией миоцитов, их дистрофией, в ободочной кишке толщиной $1,29 \pm 0,19$ мм. Отёк распространялся по ходу интерстициальных прослоек с разволокнением и фрагментацией мышечных пучков и особенно выражен в интерстиции, который разделял циркулярный и продольный слои мышечной оболочки и окружал ганглии миоэнтерального нервного сплетения (рис. 3). Продольный мышечный слой – $1,02 \pm 0,27$ мм, отёчный.

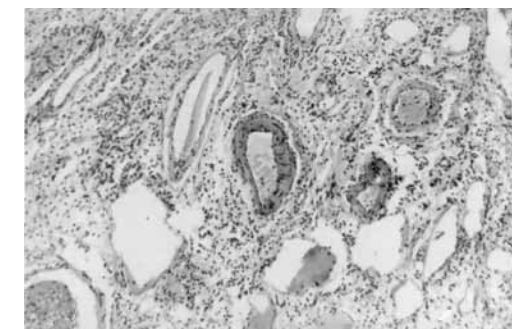


Рис. 2. В расширенном просвете артерий и вен плазма с небольшим количеством форменных элементов, выраженный отёк, расширение лимфатических сосудов в подслизистой основе ободочной кишки при субкомпенсированной ОТКН. Окраска гематоксилином и эозином, х 400.

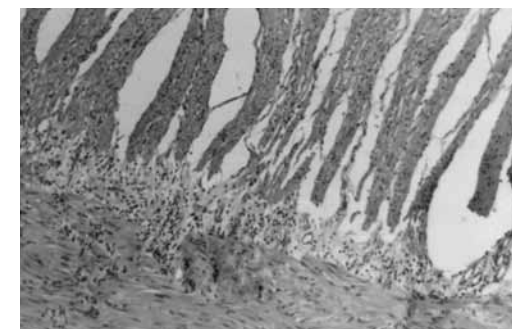


Рис. 3. Выраженный отёк, разволокнение пучков и дистрофия миоцитов циркулярного слоя мышечной оболочки тонкой кишки при субкомпенсированной ОТКН. Окраска гематоксилином и эозином, х 400.

Серозная оболочка с десквамированным мезотелием, субсерозный слой значительно утолщен за счёт отёка, с расширенными полнокровными сосудами. По ходу мезотелиальной базальной мембраны имелась полоска фибриноидного некроза с лейкоцитарной инфильтрацией.

В единичных наблюдениях (2) при субкомпенсированной ОТКН отёк собственной пластинки слизистой был менее выражен, однако отмечали полнокровие, стаз эритроцитов и лейкоцитарную инфильтрацию. В отдельных участках обнаруживали поверхностные эрозии. В подслизистой основе был умеренный отёк, полнокровие, лейкоцитарная инфильтрация. Последняя по интерстициальным прослойкам распространялась на циркулярный слой мышечной оболочки, миоциты которого на границе с продольным слоем были с признаками дистрофии. Такие изменения приближались к морфологической картине, характерной для декомпенсированной ОТКН.

При декомпенсированной ОТКН толщина слизистой оболочки толстой кишки составила $0,55 \pm 0,07$ мм. В слизистой были участки десквамации поверхностного эпителия и изъязвлений. Эпителий крипт сохранён. Собственная пластинка с умеренным или незначительным отёком, но со значительной гиперемией капилляров, заметной воспалительной инфильтрацией нейтрофильными и эозинофильными гранулоцитами, мононуклеарными лейкоцитами (рис. 4). Мышечная пластинка слизистой имела толщину $0,031 \pm 0,002$ мм, расщеплена на отдельные волокна за счет отёка и гиперемии её капилляров.

Подслизистая основа с менее выраженным отёком. В гистологической картине преобладает полнокровие сосудов, становится заметной воспалительная инфильтрация. В артериях и венах – эритростазы, вплоть до сладжей в артериях, иногда с отмишиванием плазмы в венах. Индекс Керногана в артериях – 1:3, в венах – 1:5,8. Лимфатические сосуды очагово умеренно расширены. Подслизистая основа и собственная пластинка слизистой выглядят компактнее, чем при субкомпенсированной ОТКН, но с воспалительной инфильтрацией.

Циркулярный мышечный слой компактный, толщиной $1,08 \pm 0,31$ мм. По всей его толщине отмечали миоциты с неравномерно выраженной вакуолизацией цитоплазмы. На границе с продольным слоем такие клетки образуют целые участки. Между пучками мышц по ходу сосудов наблюдали отёк и скопление воспалительных клеток. По-прежнему был выражен отёк интерстициальной ткани между слоями мышечной оболочки и вокруг ганглионарных образований. Но, в отличие от субкомпенсированной ОТКН, есть воспалительная инфильтрация.

Продольный слой мышц компактный, толщиной $0,57 \pm 0,067$ мм, но резко выражен отёк субсерозного слоя. На серозной оболочке были участки грануляций. В значительно расширенных сосудах лейкостазы с пристеночным стоянием лейкоцитов. В большинстве сосудов картина васкулита с инфильтрацией лейкоцитами сосудистой стенки и переваскулярной ткани. На серозной оболочке определяли фибриновые наложения с нейтрофильными лейкоцитами (рис. 5).



Рис.4. Выраженная воспалительная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки ободочной кишки с щелевидной язвой при декомпенсированной ОТКН. Окраска гематоксилином и эозином, х 400.



Рис. 5. Отёк субсерозного слоя и фибринозно-лейкоцитарные наложения на серозной оболочке ободочной кишки при декомпенсированной ОТКН.

В тонкой кишке морфологические изменения наиболее выражены. В слизистой были участки десквамации поверхностного эпителия и изъязвлений. В собственной пластинке обнаруживали гиперемию и диффузный густой воспалительный инфильтрат, который распространялся на подслизистую основу и мышечную оболочку. В сосудах подслизистой основы лейкостазы с краевым стоянием нейтрофилов. Субсерозный и серозный слои отёчные, с десквамированным мезотелием и фибриноидным некрозом субмезотелиальной ткани.

При исследовании через 3-4 недели после разрешения суб- и декомпенсированной ОТКН морфологические изменения кишечной стенки были близки к гистологической картине у больных без признаков кишечной непроходимости и при компен-

сированной ОТКН. Они характеризовались незначительным отёком и полнокровием стенки кишки, очаговой лимфогистиоцитарной инфильтрацией собственной пластинки слизистой оболочки. В мышечной оболочке отмечали огрубение, гиперэластоз с фуксинофилией как коллагенового, так и эластического каркаса, разделяющего мышечные пучки и особенно интерстициальной ткани между циркулярным и продольным мышечными слоями, в которую заключены ганглионарные структуры мышечно-кишечного нервного сплетения. В субсерозном слое и на серозной оболочке были покрытые мезотелием участки зрелой грануляционной ткани с толстостенными микрососудами и очаговыми скоплениями лимфогистиоцитарных элементов.

Таблица 1

Значение индекса Керногана артерий и вен подслизистой основы ободочной кишки в зависимости от степени ОТКН

Вид сосудов	Контроль	Степень ОТКН		
		компенсация	субкомпенсация	декомпенсация
артерии	1: 15	1:1	1:3	1:3
вены	1: 30	1: 5	1: 4,3	1:5,8

Выраженное изменение индекса Керногана (табл. 1) при ОТКН (в 6-15 раз) относительно больных без признаков кишечной непроходимости указывало на сужение просвета артерий и вен за счёт гипертрофии сосудистой стенки, а незначительная динамика индекса Керногана при суб- и декомпенсированной ОТКН (в 1-3 раза) по сравнению с компенсированной ОТКН подтверждала, что изменения сосудистой стенки хронические и фоновые. Однако, при суб- и декомпенсированной ОТКН отметили некоторое увеличение просвета артерий относительно толщины сосудистой стенки (индекс Керногана 1:3 и 1:3, соответственно) по сравнению с компенсированной ОТКН (индекс Керногана 1:1), что можно объяснить спазмом артериальных сосудов при компенсированной ОТКН и их паретическим расширением при прогрессировании воспалительной реакции, которая характерна для суб- и декомпенсиро-

ванной ОТКН. Следует отметить, что спазм артериальных сосудов при компенсированной ОТКН мог способствовать нарушению интрамурального кровообращения кишки.

Уже при компенсированной ОТКН, когда ещё клинические проявления водно-электролитных нарушений выражены незначительно, изменения стенки тонкой и ободочной кишок свидетельствовали о регионарном нарушении водно-электролитного баланса. Возникал отёк слизистой оболочки и подслизистой основы на фоне нарушения лимфообращения и умеренных изменений регионарного кровообращения с начинающимся формированием эритростазов, в собственной пластинке слизистой выявляли единичные эозинофилы. Однако уже на этом этапе была выражена дилатация кишки, что подтверждалось значительным истончением всех слоёв кишечной стенки за счёт её растяжения (табл. 2).

Таблица 2

Толщина слоев стенки ободочной кишки в зависимости от степени ОТКН

Степень ОТКН	Толщина слоев кишечной стенки (мм)			
	слизистой оболочки	мышечной пластинки слизистой	циркулярного мышечного слоя	продольного мышечного слоя
Контроль	1,18±0,08	0,056±0,010	4,07±0,32	2,50±0,27
Компенсация	0,56±0,13 p<0,05	0,024±0,012 p<0,05	1,36±0,31 p<0,05	1,12±0,28 p<0,05
Субкомпенсация	0,44±0,07 p<0,05	0,037±0,019 p<0,05	1,29±0,19 p<0,05	1,02±0,27 p<0,05
Декомпенсация	0,55±0,07 p<0,05	0,031±0,002 p<0,05	1,08±0,31 p<0,05	0,57±0,07 p<0,05

p – различия с нормальными морфометрическими показателями.

В дальнейшем эти изменения прогрессировали, и при субкомпенсированной ОТКН выявляли значительные нарушения лимфо- и кровообращения с резким интерстициальным отёком и полнокровием, вплоть до эритростазов. Лейкостазы на этом этапе отмечали лишь в отдельных сосудах, а в воспалительном инфильтрате обнаруживали небольшое количество гранулоцитов, но не только эозинофилов, но и нейтрофилов. В циркулярном слое мышечной оболочки были поврежденные миоциты с вакуолизированной цитоплазмой за счёт внутриклеточного отёка.

Значительное расширение ободочной кишки при ОТКН, выявляемое при клиническом и рентгенологическом обследовании, приводило к выраженному истончению кишечной стенки, преимущественно мышечной оболочки. Изменения слизистой выражены в меньшей степени, по-видимому, благодаря отёку (табл. 2).

В условиях декомпенсированной ОТКН наряду с признаками нарушения лимфо- и кровообращения уже отмечали выраженную воспалительную реакцию с обильной нейтрофильной инфильтрацией всех слоёв кишечной стенки, фибринозными наложениями на серозной оболочке, нарушением структуры мышечной оболочки, распространёнными повреждениями мышечных клеток.

Следует отметить, что в условиях декомпенсированной ОТКН отёк кишечной стенки менее выражен, чем при субкомпенсированной ОТКН. Это свидетельствует, по-видимому, о значительном нарушении проницаемости кишечной стенки. Интерстициальная жидкость с компонентами плазменных белков уже пропотела в брюшную по-

лость, где она участвовала в формировании внутрибрюшного экссудата. На этом этапе обнаруживали и ярко выраженные явления перитонита в виде наложений фибрина с лейкоцитами на серозной оболочке кишок. У 11 (42,3%) пациентов с декомпенсированной (9) и субкомпенсированной (2) ОТКН из выпота брюшной полости высеяли E.coli, что указывало на транслокацию бактерий из просвета кишечника в брюшную полость.

Другим интересным фактом является и закономерное обнаружение в субсерозном слое кишечной стенки – как при компенсированной, так и при субкомпенсированной ОТКН – участков, представленных грануляционной тканью. Эти изменения могут быть объяснены тем, что у больных уже до данной госпитализации имели место эпизоды полной обтурации ободочной кишки, разрешившейся консервативными методами.

Заключение

Таким образом, можно выделить определенную динамику в развитии морфологических изменений по мере декомпенсации ОТКН. Они заключались в прогрессирующем отёке, нарушении кровообращения с внутрисосудистыми предтромботическими изменениями и возникающей в конечном счете острой воспалительной реакции. В то же время эти явления возникали на фоне хронических изменений кишечной стенки, которые могли способствовать нарушению всасывательной функции кишки. Фоновые изменения, по-видимому, были обусловлены длительным нарастающим сужением просвета ободочной кишки, особенно у больных пожилого и старческого возраста, и заключались

в хронических изменениях внутрисстеночных сосудов и мышечной оболочки. Результатом влияния этих факторов были: 1 – развитие умеренной гипертрофии мышечной оболочки кишки как ответ на постепенно возрастающее внутрипросветное давление при затруднении пассажа по ободочной кишке; 2 – явления хронического воспаления в собственной пластинке слизистой, которое гистологически проявлялось умеренной лимфоплазмочитарной инфильтрацией; 3 – гипертрофия стенок артерий и вен, обусловленная как нарушением системного кровотока за счёт атеросклероза, гипертонической болезни, ИБС, так и сдавливанием сосудов в толще кишечной стенки при повышении внутрикишечного давления. В этой ситуации развивалась регионарная артериовенозная гипертензия, а сосудистая стенка реагировала на повышение давления гемодинамической перестройкой: гипертрофией и эластозом мышечной оболочки сосудов, формированием интимальных мышечных подушек, артериализацией вен, что приводило к сужению просвета сосудов с хроническим нарушением трофики кишечной стенки.

Через 3-4 недели после декомпрессии отметили регресс острых изменений кишечной стенки. Гистологическая картина при этом характеризовалась умеренной лимфогистиоцитарной инфильтрацией собственной пластинки слизистой, остаточными грануляциями на серозной оболочке, признаками полнокровия и незначительного отёка. Последние изменения могут являться следствием операционной травмы.

Вышеуказанные микроциркуляторные нарушения и воспалительные процессы в кишечной стенке в значитель-

ной мере могут способствовать, даже при компенсированной ОТКН, нарушению репаративных процессов в области межкишечных анастомозов, выполненных при экстренных операциях на высоте ОТКН, что может приводить к их несостоятельности.

На основании проведенных морфологических исследований кишечной стенки можно сделать вывод о том, что следует воздерживаться от выполнения операций, сопряжённых с наложением межкишечных анастомозов на высоте ОТКН, и необходимо осуществление у подобных больных операций, направленных на разрешение кишечной непроходимости, в срочном порядке, с последующими радикальными операциями и формированием межкишечных анастомозов не ранее, чем через 3-4 недели после устранения ОТКН и проведения энтерального питания как наиболее рационального источника нутритивной поддержки.

Список литературы

1. **Бабков О.В.** и соавт. Ранняя энтеральная терапия и нутриционная поддержка больных с опухолевой кишечной непроходимостью. – Вестник Российской военно-медицинской академии. 2010. 3(31). С. 165-169.
2. **Войнов В.А.** Атлас по патофизиологии. М. 2007. 255 с.
3. **Пугаев А.В., Ачкасов Е.Е.** Обтурационная опухолевая толстокишечная непроходимость. М., 2005. 223 с.
4. **Салтанов А.И.** Основы нутритивной поддержки в онкологической клинике. М. 2009. 239 с.
5. **Bertoni S., Gabella G., Ballabeni V., et al.** Plasticity of rat small intestine after removal of a chronic mechanical obstruction. *Neurogastroenterol Motil.* 2006. Sep;18(9):862-72.

6. **Bertoni S., Ballabeni V., Flammini L. et al.** Intestinal chronic obstruction affects motor responsiveness of rat hypertrophic longitudinal and circular muscles. *Neurogastroenterol. Motil.* 2008. Nov;20(11):1234-42. Epub. 2008. Aug 5.
7. **Stoianov Kh., Gulubova M., Tsaneva M. et al.** Histopathological, electron microscopic and microbiological

studies in patients with obstructive large-bowel ileus of tumor origin. – *Khirurgia-Sofia.* 1994; 47(2): 11-4.

8. **Prommegger R., Marksteiner J., Wetscher G. et al.** Obstructive ileus of large bowel is associated with low tissue levels of E. *Digestive Diseases and Sciences* (1997) Volume: 42, Issue: 7, Pages: 1513-1518.

Histopathomorphological changes in bowel obstructive neoplastic colonic obstruction

E.E. Achkasov, S.F. Alekperov, P.V. Melnikov, I.Yu. Kolyshchev, O.A. Kalachyov, O.O. Orekhov, D.Yu. Kanner

Particular morphological changes in the wall of colon and small intestine have been studied in 26 patients with obturation tumorous intestine obstruction (OTIO). The dynamics in the development of morphological changes of intestinal wall were detected according to the rate of compensation of the OTIO, which lied in progressing edema, blood circulation disturbance with vessels prethrombus changes and acute inflammatory reaction. Such acute changes in the intestine wall occurred against a background of chronic morphologic changes, especially by the patients of elderly and senile age, which can contribute to the disturbance of sucking intestine function. On the base of received data can be made a conclusion about inadmissibility of realization of primary enterostomies on the height of OTIO, and realization of radical surgeries with forming interintestinal anastomosis should be done not earlier than in 3-4 weeks after elimination of ileus.

Key words: histopathomorphology, colorectal cancer, acute colon impossibility, colon, small intestine, acute inflammatory reaction, vessels prethrombus changes, morphological changes, absorptive intestine function, interintestinal anastomosis.

Организационные аспекты внедрения фармакогенетического тестирования в лечебно-профилактическую работу многопрофильного стационара

И.В. Кукес¹, В.Н. Шан³, М.К. Алимуратов³, А.В. Семенов⁴, В.М. Русейкин⁴, Д.А. Сычев²

¹ – Первый МГМУ им И.М. Сеченова, Москва

² – Центр клинической фармакологии НЦЭСМП Минздравсоцразвития РФ, Москва

³ – МГУ им И.М. Ломоносова, Москва

⁴ – Городская клиническая больница №23, Москва

Контактная информация: д.м.н. Дмитрий Алексеевич Сычев, dimasychev@mail.ru

На сегодняшний день известно около 900 генетических тестов, результаты которых активно применяются в практической медицине по всему миру. Помимо клинической значимости, генетическая диагностика положительно отражается и на экономической составляющей лечения пациентов. В данной работе будут рассмотрены аспекты создания фармакогенетической лаборатории и ее интеграция в рабочие процессы многопрофильного стационара муниципальной городской больницы г. Москвы.

Ключевые слова: фармакогенетическая лаборатория, фармакогенетическое тестирование, непрямые антикоагулянты, многопрофильный стационар.

На сегодняшний день известно около 900 генетических тестов, результаты которых активно применяются в практической медицине по всему миру. Они помогают в диагностике заболевания, оптимизации лечения заболевания, в частности, подбору оптимального режима дозирования лекарственных средств, оценке прогноза течения заболевания и ряда других элементов лечебного процесса, играющих важнейшую роль в оказании качественных современных медицинских услуг в целом.

И, исходя из этого, актуальным сегодня является интеграция фармакогенетического тестирования в государственную систему здравоохранения.

Модель интеграции в рабочие процессы многопрофильного стациона-

нарного отделения государственного лечебно-профилактического учреждения фармакогенетической лаборатории будет создаваться на основе использования фармакогенетического тестирования для оптимизации режима дозирования непрямым антикоагулянтам.

Роль генетических полиморфизмов CYP2C9 и VKORC1 в подборе режима дозирования непрямым антикоагулянтам на сегодняшний день хорошо изучена и доказана [3].

На данный момент мы разработали экономическую модель функционирования лаборатории в первые 15 мес. с момента ее создания и начала работы. Основные критерии, которые включены в данную модель, – оборудование, персонал и его заработная плата, рас-

ходные материалы, мебель, дополнительные приборы и аксессуары. Это позволило нам рассчитать себестоимость 1-го фармакогенетического тестирования для 1-го пациента, с учетом исследования 3-х полиморфизмов. Далее была проанализирована дополнительная надбавка на эту сумму, учитывающая, например, амортизацию оборудования и, в то же время, значительно не увеличивающая стоимость самого фармакогенетического тестирования.

По результатам этих данных сегодня сформулированы основные задачи локального характера (задачи обсуждаемого ЛПУ), решение которых позволит эффективно интегрировать услуги данной лаборатории в ежедневный рабочий процесс врача.

Стратегические задачи:

- Экономические: оценка затрат, связанных с интеграцией функционирования лаборатории в рабочий процесс многопрофильного стационарного отделения.

- Логистические: оптимизация процедуры взаимодействия схемы врач -> медицинская сестра (процедурная сестра) -> фармакогенетическая лаборатория -> клинический фармаколог -> врач, для получения показателей с положительным соотношением «затрачиваемое время/трудоемкость выполняемого процесса».

- Организационные: детальное информирование врачей, в т.ч. заведующих отделений, персонала фармакогенетической лаборатории, клинических фармакологов, обо всех аспектах проведения фармакогенетического тестирования, для синхронизации их работы; проведение качественных и количественных исследований среди

всех упомянутых звеньев для поиска не выявленных ранее проблем синхронизации между ними.

Задачи инновационного характера:

- Экономические: пути улучшения экономических показателей, например, по снижению затрат лаборатории на выполнение фармакогенетического тестирования.

- Организационные: поиск и перераспределение не используемых или не эффективно используемых ресурсов; постоянный контроль качества выполняемых услуг, выявление скрытых проблем и негативных факторов по предоставлению данных услуг.

- Научные: поиск новых областей применения методологии фармакогенетического тестирования и, как следствие, увеличение спектра предоставляемых услуг для нужд ЛПУ.

Проведение ряда дополнительных исследований в условиях обсуждаемого многопрофильного стационарного отделения данного ЛПУ поможет дать конкретные пути решения сформулированных и поставленных задач.

Перспективы же создания и интеграции фармакогенетической лаборатории положительно отразятся и на бюджете ЛПУ, т.к. прогнозируется сокращение сроков госпитализации пациентов, которым проводится подбор режима дозирования непрямым антикоагулянтам. Таким образом, ЛПУ будет выгоднее в экономическом плане провести фармакогенетическое тестирование стоимостью 550,45 руб. (себестоимость теста – 393,16 руб.), по сравнению, скажем, со стоимостью 1-го койко-дня по тарифам медико-экономических стандартов для фибрилляции и мерцания предсердий (69190), – 944,88 руб. [1]. В мировой практике использования фармакогенетического тестирования для опти-

мизации режима дозирования непрямых антикоагулянтов экономическая эффективность также доказана [2].

Стоимость создания лаборатории составит 1200000,00 руб., и по предварительным ожиданиям, за год проходимость лаборатории составит в таком случае – 4157 пациентов. При таком экономическом плане за год получается дохода на 2288116,84 руб., что позволяет покрыть расходы на ее создание в размере 2278273,84 руб. и выйти в прибыль на 9843 руб., на 13 мес. ее функционирования.

В итоге мы получим эффективный инструмент персонализированного лечения тяжелых пациентов за счет качественного интегрирования данных услуг в практическую работу врача, а также рационализируем мощности данной лаборатории для расширения спектра предоставляемых услуг для ЛПУ.

Список литературы

1. Тарифы медико-экономических стандартов для оплаты по системе обязательного медицинского страхования, актуальные на ноябрь 2011 года (последняя версия).

2. **Eckman M.H., Rosand J., Greenberg S.M., Gage B.F.** Cost-effectiveness of using pharmacogenetic information in warfarin dosing for patients with nonvalvular atrial fibrillation. // *Ann Intern Med.* 2009. Jan 20;150(2):73-83.

3. **Eriksson N., Wadelius M.** Prediction of warfarin dose: why, when and how? // *Pharmacogenomics* March 2012. Vol. 13. No. 4. Pages 429-440. DOI 10.2217/pgs.11.184 (doi:10.2217/pgs.11.184).

Organizational aspects of implementation pharmacogenetic testing in the treatment and prevention practice multidisciplinary hospital

I.V. Kukes, V.N. Shan, M.K. Alimuradov, A.V. Semenov, V.M. Ruseykin, D.A. Sychev

Today, we know about 900 genetic tests which results are used extensively in medical practice worldwide. In addition to the clinical relevance, genetic diagnosis has a positive impact in economic component of patient care. In this research will discuss about some aspects of pharmacogenetics laboratory creation, and its integration into the workflow of the diversified department of the municipal hospital in Moscow.

Key words: pharmacogenetic laboratory, pharmacogenetic testing, indirect anticoagulants, multidisciplinary hospital.



