



## Кинезогидродинамическая оценка скоростных характеристик физической работоспособности животных в фармакологических исследованиях

Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Е.Б. Шустов, Н.В. Касинская

*ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл.*

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

---

Представлены статистические характеристики кинезогидродинамической модели исследования скоростных характеристик физической работоспособности мелких лабораторных животных – белых крыс. Показана возможность использования данной модели в доклинических исследованиях для оценки влияния лекарственных средств на работоспособность животных.

**Ключевые слова:** работоспособность, кинезогидродинамическая модель, фармакологическая коррекция работоспособности.

---

К числу самых современных методов исследования физической работоспособности на биологических моделях (крысах) относится кинезогидродинамическая оценка. Основным принципом кинезогидродинамической модели является создание гидроканала с изменяющимся встречным потоком жидкости, который должно преодолевать лабораторное животное. Гидроканал из прозрачного пластика прямоугольной и равнобокой трапециевидной формы, длиной 200 см в поперечном сечении, оснащается с торцевых сторон водосборниками, обеспечивающими ламинарность потоков воды, циркуляционным насосом с регулируемой мощ-

ностью прокачки, теплообменниками для нагрева или охлаждения прокачиваемой жидкости. После включения циркуляционного насоса система стабилизируется на скорости квазиламинарного потока воды не ниже 5-ти м/мин и температуре воды +24°C. Установленные на борту гидроканала градуированная шкала, датчики перемещения животного, видеокамера сопровождения обеспечивают корректную регистрацию кинезодинамики, скорость перемещения и длительность плавания животного. Несомненным преимуществом модели является возможность плавного изменения нагрузки, в т.ч. имитация финишного рывка животного.

Компьютерная обработка результатов исследования позволяет сопоставлять режимы нагрузок, этапы энергопродукции, признаки утомления животных, что дает возможность получать информацию для всестороннего анализа влияния изучаемых фармакологических средств на физическую работоспособность животных [1, 4].

На рис. 1 представлена принципиальная схема кинезогидродинамической модели. Для исследования кинезогидродинамических характеристик подопытных

составляла в процессе разработки от 100 до 200 см. Высота уровня жидкости равна 0,2 м.

Преимущество разработанной модели (внешний вид устройства представлен на рис. 2) заключается, прежде всего, в объективизации и визуализации регистрируемых эффектов, получении дополнительной информации, сравнении и корреляции с биохимическими параметрами, исключении субъективных и неточных показателей измерений, имеющих в других методах.

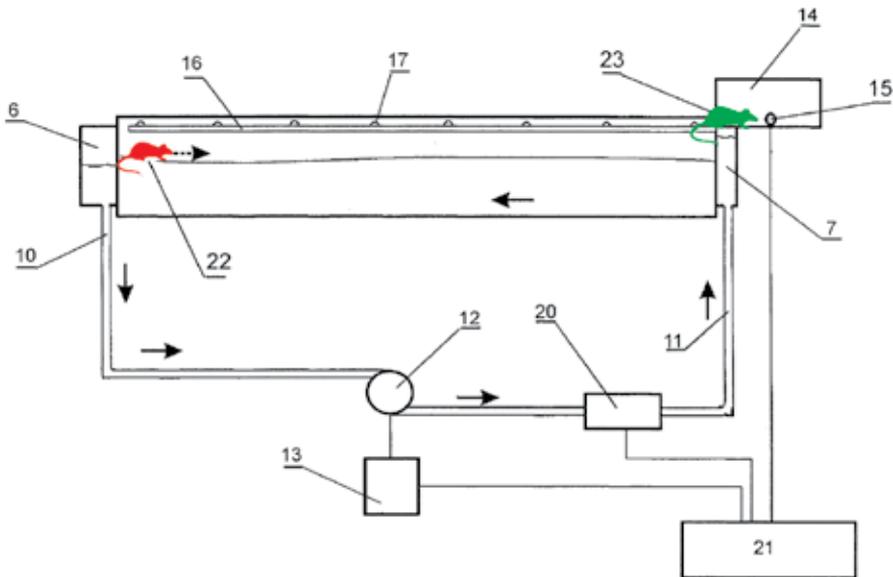


Рис. 1. Принципиальная схема кинезогидродинамической модели.

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 – видеокамера сопровождения; 19 – датчик температуры; 20 – узел подогрева или охлаждения прокачиваемой жидкости; 21 – компьютер.

животных (лабораторные крысы линии WAG/GY) используют гидроканал (физические размеры чаши гидроканала в виде параллелепипеда прямоугольной формы в поперечном сечении составляют 0,4×0,2×0,4 м). Длина гидроканала

Важной и практически значимой для спортивной медицины характеристикой физической работоспособности являются скоростные параметры (средняя скорость, стартовый и финишный рывок) выполняемой работы. Однако традици-

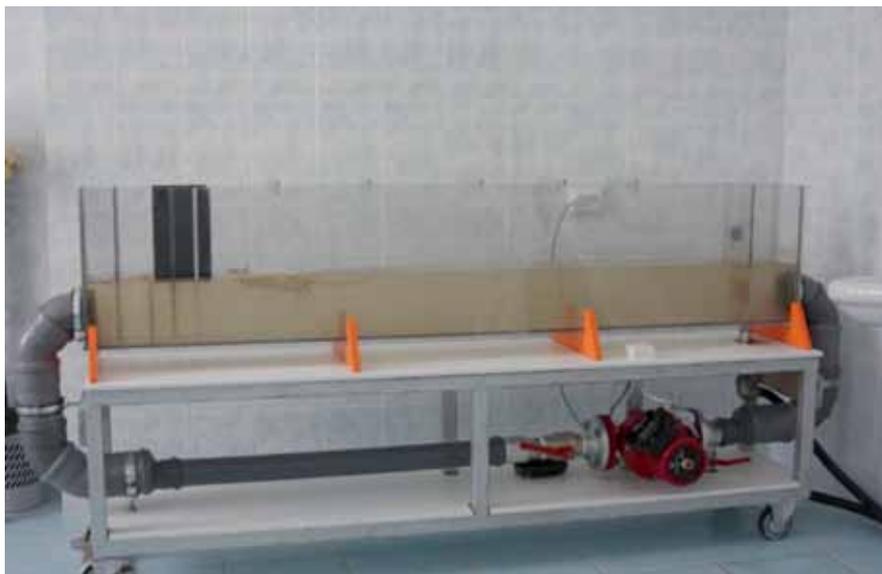


Рис. 2. Устройство для кинезогидродинамического моделирования физической работоспособности.

онно используемые методы исследования физической нагрузки (тесты вынужденного плавания или бега на тредбане) ориентированы преимущественно на анализ выносливости и не учитывают скоростных характеристик работоспособности.

Наиболее корректно скоростные характеристики работоспособности могут быть оценены только в кинезогидродинамическом исследовании. При этом в каждый момент времени  $i$  собственная скорость перемещения животного в гидроканале должна суммироваться со скоростью встречного потока воды. Для гидроканала со стабильным ламинарным потоком это уравнение имеет следующий вид:

$$V_i = V_0 + V_1,$$

где  $V_i$  – скорость плавания;  $V_0$  – скорость потока воды;  $V_1$  – скорость перемещения животного по гидроканалу, равная отношению длины мерного участка к времени его проплыва. Таким образом, для определения скоростных характеристик работо-

способности необходимо знать скорость ламинарного потока в момент тестирования и время прохождения животным мерного участка. Для определения средней скорости учитывается время проплыва всей длины рабочей зоны гидроканала, стартовой и финишной скорости – первых и последних 50 см дистанции.

Для фармакологических исследований основное значение имеет средняя скорость плавания животных. Для обеспечения лучшей сопоставимости результатов скорость потока воды должна быть одинаковой на всем протяжении исследования, так как в случае ее повышения или понижения в силу изменения гидродинамического сопротивления будет меняться и величина нагрузки на животное, и степень его утомления (как правило, нелинейно). При константных значениях скорости потока воды динамика скоростных характеристик работоспособности может быть оценена по первично измеряемому показателю – времени проплыва животного (с учетом обратной пропорциональности величин).

Для отработки статистических параметров модели было выполнено несколько серий исследований с крысами линии WAG/GY, самками массой  $200 \pm 12,2$  г. Скорость встречного потока воды была установлена равной 14 м/мин (0,233 м/с). Такой встречный поток оказывает крысам ощутимое сопротивление и без активного плавания быстро сносит их к торцевой стенке гидроканала.

В первой серии исследований оценивались статистические параметры плавания необученных крыс. Затем на протяжении 3-х дней крыс обучали плаванию в заданном направлении в гидроканале, на меньшей скорости встречного потока воды. Повторное тестирование осуществлялось через сутки после завершения обучения. Результаты статистического описания полученного массива данных представлены в табл. 1 и на рис. 3.

Полученные данные показывают, что без предварительного обучения пла-

ванию параметры выборки животных существенно отличаются от таковых нормального статистического распределения (большая разница между средним значением, модой и медианой, высокие значения асимметрии и коэффициента вариации, размаха вариативности). Обучение плаванию приблизило величины к нормальному распределению, уменьшило размах вариативности за счет сокращения доли медленно плавающих животных. Повысилась доля животных с высокой скоростью плавания. Следовательно, данные, полученные после обучения животных, могут быть распространены на генеральную совокупность, и в исследовании должны включаться только животные, прошедшие предварительное обучение плаванию в гидроканале.

Дисперсионный факторный анализ различий между двумя выборками по фактору «Предварительное обучение животных» показал, что они различают-

Таблица 1

Описательная статистика продолжительности плавания крыс в гидроканале без и после трехдневного предварительного обучения

Статистический параметр	До обучения	После обучения
Среднее	22,93548	15,03774
Стандартная ошибка	1,150015	0,380776
Медиана	20	14,5
Мода	12	15
Стандартное отклонение	11,09035	5,544178
Дисперсия выборки	122,9958	30,73791
Эксцесс	0,493946	0,195039
Асимметричность	1,046279	0,719111
Размах вариативности	45	25
Минимум	10	5
Максимум	55	30
Счет	93	212
Коэффициент вариации	0,48	0,37

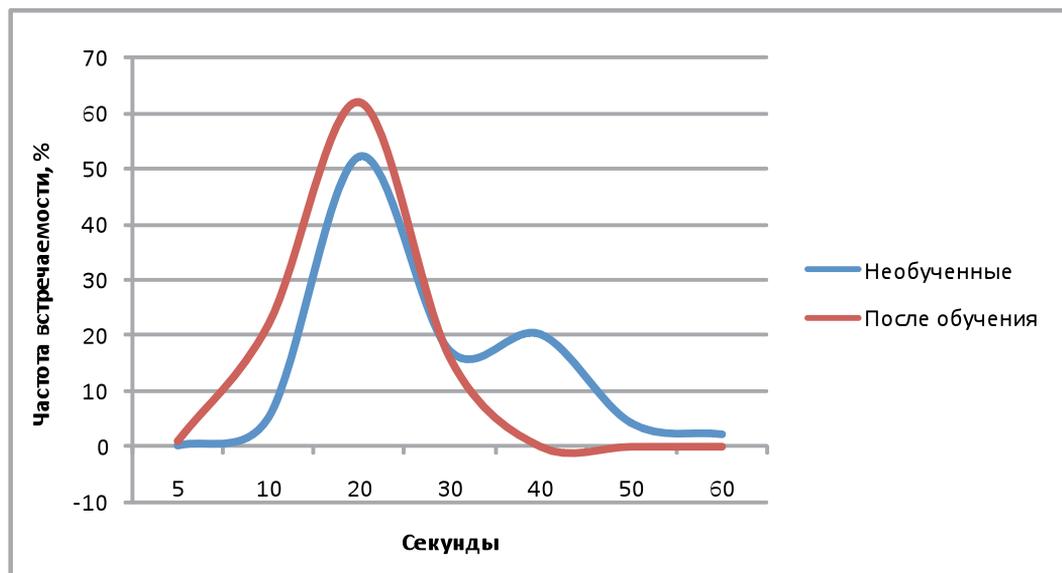


Рис. 3. Частотный анализ времени проплыва крысами мерного участка кинезогидродинамического устройства.

ся с уровнем значимости  $p=6 \cdot 10^{-13}$ , и 21% вариативности признака (продолжительность проплыва мерного участка) связаны с проведенным их предварительным обучением плаванию в гидроканале.

В фармакологических исследованиях достаточно часто возникают ситуации повторного тестирования животных, при этом сам факт тестирования может оказывать тренировочное значение. В связи с

Таблица 2

Результаты дисперсионного анализа фактора «Тренировка»

Группы	Счет	Сумма	Среднее	Дисперсия		
T1	48	739	15,39583	30,92509		
T2	42	652	15,52381	43,08479		
T3	42	659	15,69048	37,14576		
T4	30	390	13	15,7931		
T5	30	449	14,96667	31,75747		
T6	20	299	14,95	10,78684		
Дисперсионный анализ						
Источник вариации	SS	df	MS	F	P-значение	F критическое
Между группами	158,8499	5	31,76998	1,03442	0,398412	2,257909
Внутри групп	6326,848	206	30,71286			
Итого	6485,698	211				

этим была выполнена серия исследований по оценке дополнительного тренировочного воздействия повторных тестовых исследований. С этой целью предварительно обученные плаванию в гидроканале животные повторно, до 7 раз включительно, с интервалом в 1-2 дня, тестировались на кинезогидродинамической установке. Полученный массив данных был обработан методом однофакторного дисперсионного анализа (фактор «Тренировка»). Было установлено (табл. 2), что центры рассеивания подгрупп, сформированных по кратности тренировок от 1 до 6, находятся достаточно тесно, и с уровнем значимости 0,61 составляют общую, не дифференцированную группу. В то же время, 7-кратная тренировка выводит животных на новый уровень устойчивости, сопровождающийся увеличением скорости плавания практически на 30%, и эти отличия от массива тренировок с кратностью от 1 до 6 имеют значимость статистических тенденций ( $p=0,07$ ).

Следовательно, если планом фармакологического исследования предусмотрено не более 6-ти повторных тестирований работоспособности в кинезогидродинамической установке, то эффект тренировки при этом еще не развивается, и исследование можно выполнять с единой контрольной группой. Но исследования с большим количеством повторных тестирований уже будут чувствительны к фактору тренировки.

При выбранной нами скорости встречного потока воды (14 м/мин, или 0,234 м/с) у предварительно обученных крыс параметр средней скорости плавания имеет нормальное статистическое распределение (рис. 4), что позволяет использовать эти данные как приближенные к популяционному контролю (табл. 3).

Так как для фармакологических исследований зачастую важны не абсолютные значения скорости плавания животных, а их относительные изменения, то для исследователей может быть

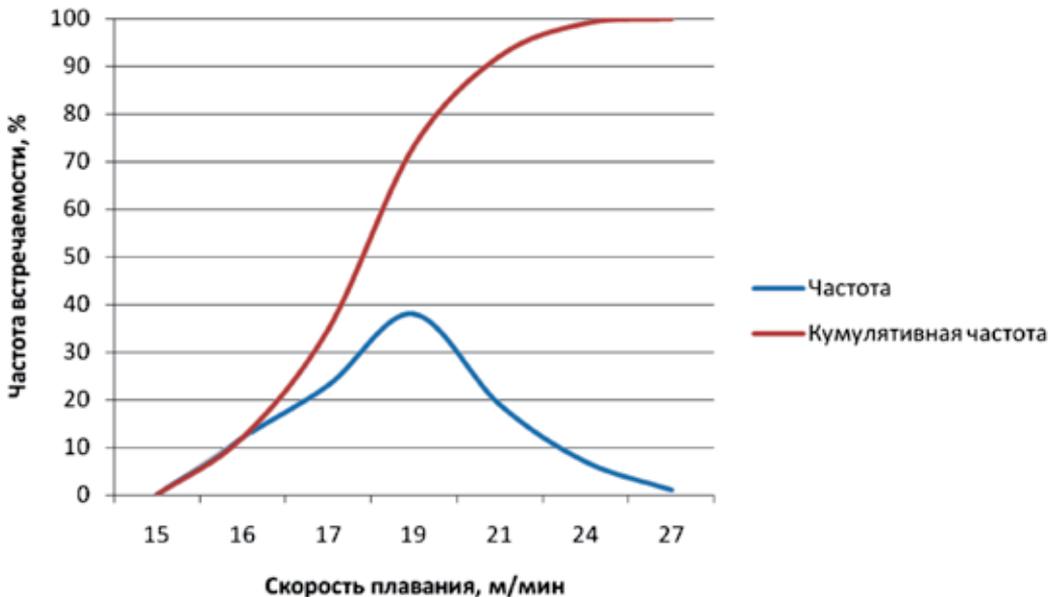


Рис. 4. Частотный анализ распределения скорости плавания крыс в гидродинамическом канале при встречном потоке воды 14 м/мин.

Таблица 3

Статистическое описание среднего времени плавания крыс в гидроканале

Статистический параметр	Скорость плавания, м/с	Скорость плавания, м/мин
Среднее	0,317961	19,07765
Стандартная ошибка	0,002259	0,135543
Медиана	0,309952	18,59714
Мода	0,307333	18,44
Стандартное отклонение	0,032892	1,973535
Дисперсия выборки	0,001082	3,894841
Эксцесс	1,430279	1,430279
Асимметричность	1,124173	1,124173
Интервал	0,183333	11
Минимум	0,270667	16,24
Максимум	0,454	27,24
Счет	212	212

Таблица 4

Шкала стеновых (нормированных баллов) для оценки скорости плавания крыс в гидроканале при встречном потоке воды 14 м/мин

Показатель	Стены (нормированные баллы)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
сек	30 и более	27-29	22-26	18-21	13-17	11-12	9-10	8	7-6	5 и менее
м/с	0,27 и менее	0,272-0,275	0,276-0,284	0,285-0,296	0,297-0,319	0,320-0,334	0,335-0,356	0,357-0,372	0,373-0,429	0,430 и более
м/мин	16,2 и менее	16,3-16,5	16,6-17,0	17,1-17,7	17,8-19,1	19,2-20,0	20,1-21,4	21,5-22,3	22,4-25,0	25,1 и более

предложена шкала стенов (10-балльная нормированная шкала, соотношенная с генеральной совокупностью). При этом среднее значение для контрольной группы животных равно 5, а сдвиг более чем на 2 стена является статистически значимым с уровнем значимости  $p=0,05$ ; более чем на 4 стена – с уровнем значимости  $p=0,01$  (табл. 4).

Для фармаколога важным является определить ключевые точки воздействия на анализируемый параметр работоспо-

собности. Очевидно, что скоростные характеристики любой физической работы зависят от активности медиаторных систем мозга, а также от метаболического (энергетического) обеспечения мышечной деятельности. В связи с этим было выполнено исследование скоростных характеристик плавания животных в гидроканале со встречным потоком воды при измененном «медиаторном пейзаже» мозга.

Системное накопление в мозге нейромедиаторов [3] достигалось с помощью

трехдневного приема фармакологических препаратов.

1. **Ацетилхолин** накапливался за счет применения *галантамина* (препарат «Нивалин», в дозе 1 мг/кг, перорально). Это селективный, конкурентный и обратимый ингибитор ацетилхолинэстеразы, который стимулирует преимущественно никотиновые рецепторы и повышает чувствительность постсинаптической мембраны к ацетилхолину. Облегчает проведение возбуждения в нервно-мышечном синапсе и восстанавливает нервно-мышечную проводимость. Повышая активность холинергической системы, галантамин улучшает когнитивные функции у животных и человека.

2. **Гамма-аминомасляная** кислота накапливалась в тканях мозга за счет приема экзогенной ГАМК (препарат «Аминалон», в дозе 60 мг/кг, перорально) – ноотропного средства, принимающего участие в нейромедиаторных и метаболических процессах в мозге. ГАМК является основным тормозным нейромедиатором, ГАМК-рецепторы широко распространены в ЦНС человека и млекопитающих и выявляется примерно в 50% нервных окончаний мозга.

3. **Серотонин** накапливался за счет применения *сертралина* (препарат «Ципралекс», в дозе 1 мг/кг, перорально) – антидепрессанта, селективного ингибитора обратного захвата преимущественно серотонина, не взаимодействующего с м-холино-, серотониновыми, допаминовыми, гистаминовыми, адрено-, ГАМК- и бензодиазепиновыми рецепторами.

4. **Дофамин** накапливался в тканях мозга за счет применения *накома* (препарат «Наком», в дозе 180 мг/кг, перорально) – противопаркинсонического средства, устраняющего или уменьшающего напряженность мышц, скованность движе-

ний, затем уменьшающего дрожание рук, головы, признаки паркинсонизма и модулирующего поведение и двигательную активность животных. Наком содержит L-ДОФА (предшественник дофамина) и карбидопу (периферический ингибитор фермента ДОФА-декарбоксилазы, разрушающего L-ДОФА в крови и периферических тканях). В результате действия Накома происходит накопление L-ДОФА в крови до уровня проницаемости гематоэнцефалического барьера и ее эффективное накопление в тканях мозга.

5. **Норадреналин** накапливался за счет применения *атомоксетина* (препарат «Страттера», в дозе 1 мг/кг, перорально) – высокоселективного мощного ингибитора пресинаптических переносчиков норадреналина с минимальным сродством к другим норадренергическим рецепторам. Атомоксетин не относится к психостимуляторам, нормализует дефицит внимания и гиперактивность животных и человека.

Тестирование физической работоспособности лабораторных животных осуществлялось в описанной выше кинезогидродинамической установке на предварительно обученных крысах ежедневно, через 1-1,5 ч после введения препарата. Достоверность различий с контролем оценивалась методом однофакторного дисперсионного анализа (факторы «Прием препарата» и, если фактор приема препаратов был значимым, то дополнительно проводился анализ по фактору «Длительность приема препарата»).

Результаты влияния изменения «медиаторного пейзажа» на скорость плавания животных в гидроканале представлены в табл. 5 и на рис. 5.

Анализ полученных данных показывает, что трехдневное накопление в тканях мозга ацетилхолина и норадреналина способствует достоверному (на 10%,  $p=0,02$ )

Влияние изменения «медиаторного пейзажа» на скорость плавания крыс в гидроканале

Медиатор	Скорость плавания, м/мин, по дням приема		
	1	2	3
Контроль	19,1±0,1		
Ацетилхолин % от контроля	17,5±0,2 92 p=0,05	20,2±0,5 <b>106 p=0,07</b>	21,1±0,6 <b>110 p=0,02</b>
ГАМК % от контроля	18,0±0,4 94 p=0,25	20,0±0,8 105 p=0,18	19,4±0,6 101 p=0,41
Серотонин % от контроля	17,9±0,1 94 p=0,35	19,0±0,4 99 p=0,60	19,1±0,4 100 p=0,45
Дофамин % от контроля	16,9±0,2 88 p=0,0001	15,6±0,1 81 p=8*10 <sup>-28</sup>	15,5±0,1 80 p=3*10 <sup>-30</sup>
Норадреналин % от контроля	18,9±0,4 99 p=0,70	18,9±0,4 99 p=0,65	20,8±0,2 <b>109 p=0,02</b>

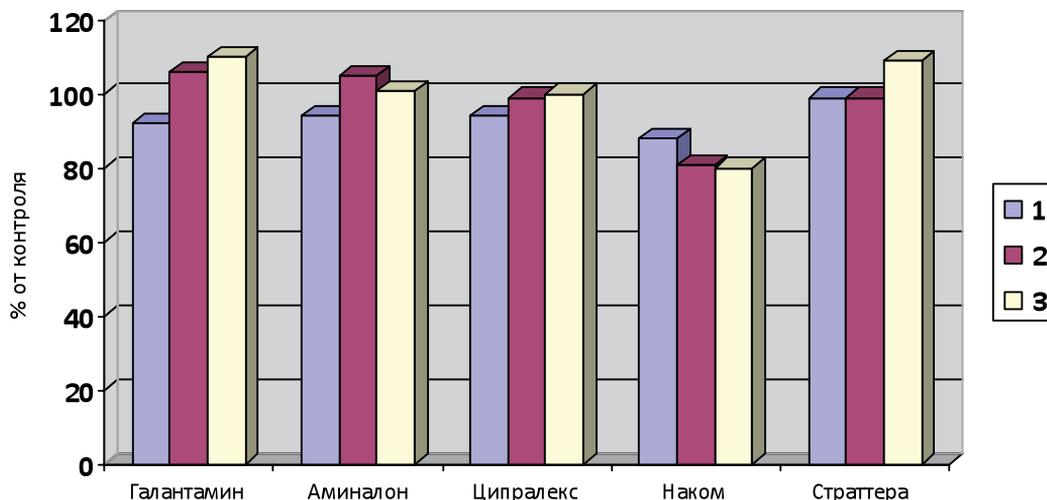


Рис. 5. Влияние кратности приема препаратов на скорость плавания крыс.

повышению скорости плавания животных, причем накопление ацетилхолина в первые сутки может снизить скорость плавания (в среднем, на 8%,  $p=0,05$ ), но уже при втором приеме галантамина наблюдается небольшой прирост этого показателя к уровню контрольных животных (+6%,  $p=0,07$ ). Повышение концентрации в тканях мозга ГАМК и серотонина не влияло на скорость плавания животных, а дофамина – существенно

ухудшало этот показатель (однократный прием Накома снижал скорость плавания, в среднем, на 12%, последующие второй и третий приемы – на 19-20%).

Для трех препаратов, продемонстрировавших достоверное влияние на скорость плавания животных, был выполнен дисперсионный анализ фактора «Длительность приема препарата». Его результаты для Галантамина представлены в табл. 6.

Результаты дисперсионного анализа фактора «Длительность приема препарата» для Галантамина

Группы	Счет	Сумма	Среднее	Дисперсия		
T1	6	105,0152	17,50254	0,343565		
T2	6	121,4067	20,23444	1,299741		
T3	6	126,4352	21,07254	1,904766		
D = 0,702152						
<b>Дисперсионный анализ</b>						
Источник вариации	SS	df	MS	F	P-значение	F критическое
Между группами	41,82133	2	20,91067	17,68059	0,000113	3,68232
Внутри групп	17,74036	15	1,18269			
Итого	59,56169	17				

Таким образом, эффект приема Галантамина существенно и достоверно (коэффициент детерминации  $D=0,70$ ;  $p=0,0001$ ) зависит от длительности его применения.

Для Норадrenalина (препарат «Стратера») фактор длительности приема был несколько менее значим (коэффициент детерминации  $D=0,44$ ;  $p=0,01$ ). Особенно выраженное значение фактор длительности приема играл для дофаминового звена (препарат «Наком»): повторное применение препарата усиливало его **негативное влияние** на скорость плавания животных (коэффициент детерминации  $D=0,83$ ;  $p=2*10^{-6}$ ).

Для проверки влияния вектора метаболического обеспечения физической работы на скорость плавания животных были проведены испытания специализированного продукта спортивного питания «МиоАктив-Спорт» [2]. В состав продукта входят легкоусвояемые полноценные белки и полипептиды животного происхождения, среднецепочечные триглицериды, мальтодекстрин, лецитин, минералоорганические формы макро-

микроэлементов (в т.ч. гемового железа из гемоглобина, органического йода в виде йодированных молочных сывороточных белков, биогенного кальция из яичной скорлупы), природный поливитаминный комплекс из сублимированных ягод и плодов, субстраты цикла Кребса (лимонная и янтарная кислоты), нерастворимые и растворимые пищевые волокна. Указанный пищевой комплекс вводился крысам в эквивалентных рекомендуемых для спортсменов дозах, 1 раз в день перорально, ежедневно на протяжении 21 дня. На 2-й, 7-й, 14-й, 21-й дни приема, а также спустя 7 дней после его прекращения (для выявления следовых эффектов) проводилось тестирование физической работоспособности животных на кинезогидродинамической модели. Результаты исследования представлены в табл. 7 и на рис. 6.

Таким образом, специализированное спортивное питание «МиоАктив-Спорт» начинает оказывать положительное влияние на скорость плавания лабораторных животных уже со 2-го дня приема. Особенно заметным это влияние стано-

Влияние приема рецептуры «МиоАктив-Спорт» на скорость плавания животных в гидроканале

Группа	Скорость плавания, м/мин, по дням исследования				
	2	7	14	21	28
Контроль	19,1±0,1				
МиоАктив-Спорт	19,7±0,5	20,2±0,5	23,9±0,7	24,6±0,7	23,1±0,8
% от контроля	103 p=0,08	105 p=0,04	125 p=1*10 <sup>-5</sup>	128 p=2*10 <sup>-6</sup>	121 p=1*10 <sup>-4</sup>

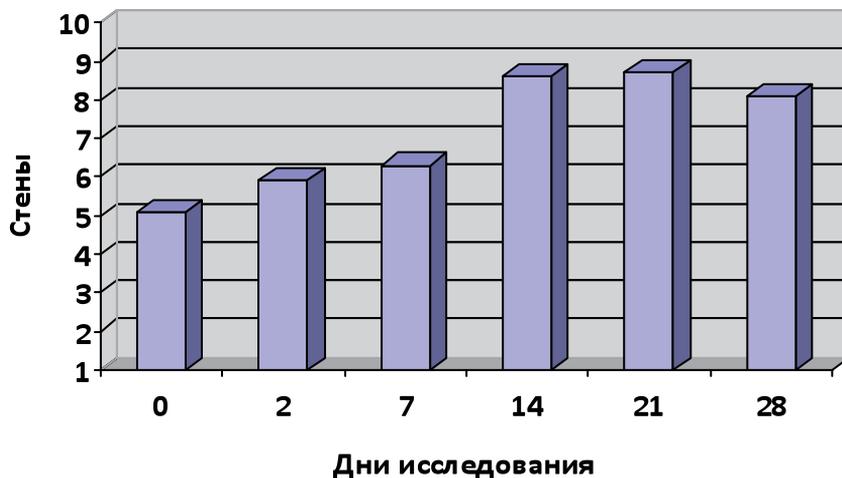


Рис. 6. Влияние курсового приема рецептуры «МиоАктив-Спорт» на скорость плавания животных (в нормированных по популяции баллах (стенах)).

Примечание: 0 – значение для контрольной группы; 2, 7, 14, 21 – дни приема «МиоАктив-Спорт»; 28 – значения через 7 дней после его прекращения (следовой эффект).

вится к 14-му дню приема (+25% к контролю). Дальнейший прием рецептуры «МиоАктив-Спорт» не усиливает скоростные характеристики работоспособности животных, однако важным показателем является достаточно длительное сохранение (не менее 7-ми дней) полученного результата.

### Выводы

1. Кинезогидродинамическая модель является адекватной для исследования скоростных характеристик физической работоспособности лабораторных животных.

2. Статистическое распределение скорости плавания животных в гидроканале

при встречном потоке воды со скоростью 14 м/мин соответствует критериям нормального распределения, а полученные статистические параметры могут быть распространены на генеральную совокупность.

3. Предложенная в статье нормированная по генеральной совокупности бальная шкала (шкала стенов) является удобным инструментом в фармакологических исследованиях.

4. Поиск фармакологических средств, повышающих скоростные качества животных при выполнении ими физической работы, целесообразно вести среди лекарственных средств, обеспечивающих накопление ацетилхолина и норадренали-

на в нервной системе, или среди средств метаболического действия, улучшающих энергетические и пластические процессы в организме.

5. Накопление дофамина в ЦНС не является желательным для повышения скоростных характеристик работоспособности.

6. Накопление ГАМК и серотонина в ЦНС не сопровождается повышением скоростных качеств физической работы.

7. Специализированный продукт спортивного питания «МиоАктив-Спорт» может быть рекомендован для приема спортсменами, тренирующими скоростно-силовые качества.

### Список литературы

1. *Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н.* Методы доклинических исследований в спортивной фармакологии // Спортивная медицина. № 1. 2013. С. 7-17.
2. *Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Касинская Н.В., Семенов Х.Х., Степанова О.И., Люблинский С.Л., Берзин И.А., Колышев И.Ю.* Влияние рецептуры «МиоАктив-Спорт» на психофизические показатели лабораторных крыс // Биомедицина. 2012. № 4. С. 22-31.
3. *Каркищенко Н.Н.* Фармакология системной деятельности мозга. – Р.-н.-Д.: Ростиздат. 1975. 260 с.
4. *Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н.* Кинезогидродинамическая модель для оценки выносливости и работоспособности лабораторных животных // Биомедицина. 2012. № 4. С. 6-14.

## The kinezohydrodynamic assessment of high-speed characteristics of physical efficiency of animals in pharmacological researches

N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, E.B. Shustov, N.V. Kasinskaya

The statistical characteristics of kinezohydrodynamic model of research of high-speed characteristics of physical efficiency of small laboratory animals – white rats are submitted. Possibility of its use in preclinical researches for an assessment of influence of medicines on efficiency of animals is shown.

**Key words:** working capacity, kinezohydrodynamic model, pharmacological correction of working capacity.