

Модель оценки влияния фармакологических средств на динамику адаптации к физической нагрузке

С.В. Радько¹, С.В. Оковитый¹, А.Н. Куликов², Е.Ю. Чистякова¹

¹ – Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург

² – Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Контактная информация: Радько Степан Владимирович, stepan.radko@pharminnotech.com

Модифицирована модель плавания в тренировочной установке и произведена оценка некоторых физиологических изменений, развивающихся в ходе тренировочного процесса. В ответ на аэробную тренировочную нагрузку у животных развивалась компенсаторная брадикардия, возрастала общая выносливость. Предлагаемый тренировочный режим (плавание 2 раза в день по 90 мин с перерывом в 1 ч (кроме первых трех дней, где тренировки длились 1 ч в день), 5 дней в неделю на протяжении 4-х недель) позволяет оценить эффективность тренировочного процесса (адаптацию к физическим нагрузкам) у экспериментальных животных и влияние на него фармакологических средств.

Ключевые слова: физическая работоспособность, тренировочный процесс, биомоделирование, лабораторные животные.

Введение

Тренировочный процесс (ТП) является основой подготовки и достижения успеха в любом виде спорта – как для начинающих, так для спортсменов высокого класса. В ходе ТП приобретаются и совершенствуются двигательные умения и навыки, происходит адаптация систем органов к предъявляемым нагрузкам.

По биомеханической структуре движения физические упражнения подразделяются на циклические и ациклические. К циклическим видам спорта относится легкая атлетика, спортивная ходьба, плавание, гребля, велоспорт, лыжные гонки, скоростной бег на коньках. Эти виды спорта характеризуются работой больших групп мышц, что оказывает значительную нагрузку на сердечно-сосудистую систему и систему дыхания. К ациклическим

принадлежат гимнастика, спортивные игры и единоборства, многие другие скоростно-силовые виды спорта.

Разработка модели для оценки влияния фармакологических средств на динамику физиологической адаптации к нагрузке в ходе ТП спорта представляет собой большой интерес. Такая модель должна обеспечивать достоверные изменения физиологических параметров, которые можно подтвердить с помощью инструментальных и биохимических методов.

При разработке модели оценки влияния фармакологических средств на динамику физиологической адаптации к нагрузке за основу была взята методика, описанная в работе [4]. С ее помощью авторы проводили оценку влияния плавательной нагрузки и общей продолжительности тренировочного процесса на структурные изменения

миокарда и активность окислительных ферментов скелетных мышц для установления оптимального количества и продолжительности ежедневных тренировок в плавательной установке экспериментальных животных (мыши линии *CBL*).

Целью данного исследования был поиск и адаптация методики, имитирующей ТП в циклических видах спорта, с последующим подтверждением изменений в физической работоспособности (ФР).

Материалы и методы

Исследования проводились на нелинейных мышах-самцах массой 22-24 г. Животные содержались по 10 особей в клетке в стандартных условиях вивария при температуре воздуха 18-22°C и относительной влажности воздуха 50-65%. В ходе эксперимента обеспечивался свободный доступ к воде, корм для животных выдавался из расчета 5 г/сут на 30 г массы животного. Взвешивания проводились ежедневно перед тренировкой. Всего было поставлено 5 серий экспериментов в различное время года.

Предварительный отбор животных осуществляли с помощью методики челночного плавания, что позволило оценить начальную ФР и сделать выборку максимально однородной перед рандомизацией по экспериментальным группам [2]. Повторное исследование проводили через 4 недели тренировок. Оценивали время, необходимое животному для совершения отдельных заплывов, их количество и время плавания в целом. После предварительной рандомизации животных случайным образом делили на две группы по 10 животных в каждой, одна из которых подвергалась тренировкам (опытная группа), а вторая – нет (контрольная группа).

Тренировки проводили в плавательной установке, представляющей собой 200-литровый бассейн высотой 40 см, шириной 35 см и длиной 80 см, заполняемый водой до половины. Внутри него располагался контур из оргстекла высотой 30 см, шириной 30 см и длиной 75 см, разделенный на 10 отсеков (15х15 см каждый) (рис. 1). Температура воды поддерживалась постоянно на уровне 30-32°C.



Рис. 1. Плавательная установка для животных (общий вид).

Плавательные тренировки проходили 2 раза в день с перерывом в 1 ч, 5 дней в неделю на протяжении 4-х недель в одно и то же время. Продолжительность первых трех тренировок составляла 1 ч один раз в день, для адаптации животных к нагрузке. Длительность одной тренировки – 1,5 ч (табл. 1). Во время тренировки мыши каждый раз размещались в отсеках установки произвольным образом. Животные получали суточную норму еды после окончания второй тренировки, что позволяло избежать перекармливания перед тренировкой, негативно сказывающегося на тренировочном процессе.

В оригинальной методике плавание начиналось с 10-минутных заплывов 2 раза в день с постепенным увеличением до 90 мин. Мы использовали более высокий темп наращивания нагрузки, начиная с одного часа в течение трех дней и в дальнейшем по 90 мин 2 раза в день, рассчитывая на более быстрое формирование компенсаторных изменений сердечно-сосудистой системы у мышей при повышенной нагрузке.

Во избежание утопления в оригинальной методике животным снизу подавался воздух; если животное прекращало плавательные движения из-за образования «воздушной подушки» под шерстью, ему в нос подавалась струя воды. В отличие от оригинальной методики, мы отказались от подачи воздуха в плавательную камеру для предотвращения утопления экспериментальных животных, т.к. использовали аутбредных мышей, у которых шерсть более плотная и густая, чем у мышей линии *CBL*. В этом случае также отпадает необходимость постоянно контролировать плавательную деятельность животных т.к. она фактически непрерывна. Внешение данной модификации повышает воспроизводимость методики, т.к. мыши получают более равномерную и, главное, непрерывную нагрузку без отдыха, не снижающуюся за счет удержания животного на поверхности воды с помощью пузырьков, число и размеры которых могут зависеть от объема шерсти животных.

Таблица 1

Схема тренировочного процесса

Показатель		Количество и время тренировок	
		1-я тренировка	2-я тренировка
Первичный тест	0 день		
1-я неделя	1-3 дни	1 ч	-
	4-5 дни	1,5 ч	1,5 ч
	6-7 дни	Отдых	
2-я неделя	8-12 дни	1,5 ч	1,5 ч
	13-14 дни	Отдых	
3-я неделя	15-19 дни	1,5 ч	1,5 ч
	20-21 дни	Отдых	
4-я неделя	22-26 дни	1,5 ч	1,5 ч
	27-28 дни	Отдых	
Итоговый тест	29-й день		

В качестве методики возможного влияния препарата на адаптируемость сердечно-сосудистой системы к тренирующим нагрузкам используется методики челночного плавания [2]. В опыте использовали бассейн длиной 150 см, высотой 30 см и шириной 15 см, который за 24 ч до начала заполняли наполовину десатурированной водой. В один конец помещали мышь, которая в течение предыдущих трех дней обучалась проплывать бассейн из одного конца в другой, производили измерение времени преодоления отдельных бассейнов и их количество. Отсчет времени осуществляли с момента начала плавательных движений в нужном направлении. Эксперимент прекращали, если животное преодолевало один бассейн более чем за 60 с.

Критериями оценки служило увеличение способности животного более продолжительно сохранять темп плавания (общее время, в течение которого

один бассейн преодолевается менее чем за 1 мин), в связи с чем увеличивается количество пройденных бассейнов.

Для оценки влияния тренировочного процесса на морфофункциональные изменения в миокарде после финального тестирования у животных измеряли массу сердца (Мм) и левого желудочка (Мж), а также их соотношения. Для неинвазивной оценки морфологии и функции левого желудочка применяли ультразвуковой метод. Исследование выполняли с использованием ультразвуковой системы высокого разрешения MyLabTouch SL 3116 (Esaote, Италия). ЭхоКГ проводили в В-режиме (двумерное сканирование) с целью качественной оценки структурно-функциональных изменений сердца и определения оптимального среза для количественных измерений, последние выполняли в М-режиме (одномерное сканирование) по короткой оси левого желудочка на уровне папиллярных мышц (рис. 2).

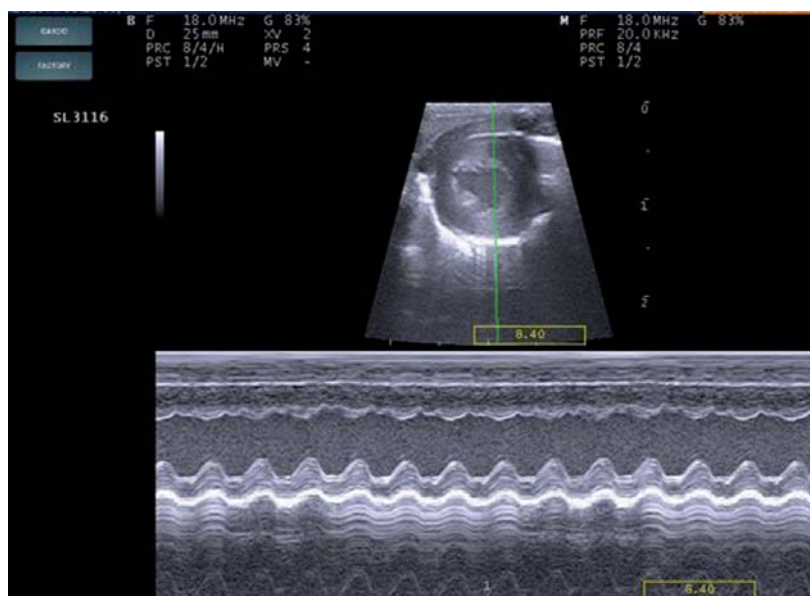


Рис. 2. Эхокардиограмма сердца экспериментального животного в В-режиме.

Оценивали толщину межжелудочковой перегородки в систолу (МЖПс) и диастолу (МЖПд), толщину задней стенки левого желудочка в систолу (ЗСЛЖс) и диастолу (ЗСЛЖд), конечный диастолический (КДР) и систолический (КСР) размеры левого желудочка, фракцию выброса (ФВ) и укорочения (ФУ), частоту сердечных сокращений (ЧСС).

Манипуляции с животными проводили под наркозом, используя внутримышечно смесь золазепама и тилетамина (Золетил, Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 37,5 мг/кг (100 мг/мл) в комбинации с ксилазином (Ксила, Interchemie, Нидерланды) в дозе 10 мг/кг (20 мг/мл).

По окончании эксперимента животных выводили из эксперимента, извлекали сердце и определяли массу миокарда и левого желудочка.

Все эксперименты выполняли в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Приказом Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ «Statistica 6.0». Осуществляли проверку нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений с использованием W-критерия Шапиро-Уилка, оценивали значимость различий при нормальном распределении количественных признаков с помощью t-критерия Стьюдента (для независимых выборок), а при ненормальном распределении – с помощью непараметрического критерия

Манна-Уитни (для сравнения двух попарно не связанных между собой вариационных рядов). Статистическую значимость изменений показателей в динамике у животных одной и той же группы оценивали, применяя критерий Вилкоксона для связанных выборок. Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: средняя арифметическая (М) ± стандартное отклонение (SD). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

Результаты и их обсуждение

Согласно полученным результатам, тренировочная нагрузка в виде плавания без груза 2 раза в день по 1,5 ч в течение пяти дней в неделю на протяжении четырех недель способствует повышению общей выносливости животных, определяющейся увеличением количества пройденных бассейнов и общего времени плавания (табл. 2). Так, количество пройденных бассейнов в опытной группе увеличилось по сравнению с исходным уровнем в 1,36 раза и было в 1,47 раза больше, чем в контроле. Эталонный актопротектор – этилтиобензимидазола гидрохлорид (25 мг/кг) увеличивал количество пройденных бассейнов в 2,25 раза по сравнению с контролем и в 1,66 раза – по сравнению с опытной группой. Общее время плавания в этой группе также возросло – как по сравнению с начальным показателем (в 1,68 раза), так и по сравнению с контролем (1,35 раза). В группе, получавшей этилтиобензимидазол, общее время плавания возросло в 3,52 раза по сравнению с контролем и в 2,6 раза по сравнению с опытной группой. В контрольной группе оба

Таблица 2

Влияние тренировочных нагрузок на показатели теста «челночное плавание»

Показатель	Группа	Исходно	Итог
Количество пройденных бассейнов	Контрольная	73,0±4,50	58,0±12,50
	Опытная	62,57±11,87	85,37±9,40 ^{1,2}
	Этилтиобензимидазол	68,58±23,61	142,5±47,52 ^{3,4,5}
Общее время плавания, мин	Контрольная	33,46±3,10	31,51±6,24
	Опытная	25,40±9,56	42,59±13,53 ¹
	Этилтиобензимидазол	25,42±6,40	111,08±36,40 ^{1,2,6}
Время прохождения 10-ти бассейнов, мин	Контрольная	2,65±0,32	2,32±0,32
	Опытная	1,95±0,25	2,23±0,50
Время прохождения 20-ти бассейнов, мин	Контрольная	6,23±0,43	5,77±0,73
	Опытная	4,25±0,62	5,03±1,27
Время прохождения 30-ти бассейнов, мин	Контрольная	10,63±1,05	10,40±1,53
	Опытная	8,88±2,58	9,67±0,50

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p<0,01$);
 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p<0,01$);
 3 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p<0,005$);
 4 – достоверные отличия от соответствующего показателя интактной группы ($p<0,005$);
 5 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p<0,05$);
 6 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p<0,001$).

этих показателя через 4 недели несколько снизились. Время наступления срыва работоспособности достоверно увеличивалось под влиянием проводимых тренировок, а также под воздействием этилтиобензимидазола.

Скоростные показатели в обеих группах достоверно не различались, подтверждая тот факт, что тест челночного плавания лабораторных животных ориентирован преимущественно на анализ выносливости и значимо не влияет на скоростные характеристики работоспособности. Для их анализа следует использовать кинезогидродинамический метод исследования [1].

Анализ влияния тренировочного процесса на функционально-морфологические изменения в миокарде позволил выявить следующее: показатели геометрии и сократительной функции

миокарда в результате вышеописанных тренировок достоверно не изменились (табл. 3). Однако при этом под влиянием физических нагрузок произошло развитие функциональной брадикардии: ЧСС в опытной группе животных снизилась в 1,42 раза по сравнению с контролем. По данному показателю можно судить о наличии адаптационных изменений у тренированных животных, проявляющихся в компенсаторной брадикардии покоя [3]. Исходно более низкая по сравнению с нормой ЧСС во всех группах мышей, очевидно, обусловлена воздействием наркоза.

Морфологическое исследование сердца подтвердило данные, полученные при эхокардиографическом исследовании: достоверных изменений по массе миокарда и левого желудочка не произошло (табл. 4).

Таблица 3

Влияние тренировочных нагрузок на ЭхоКГ-показатели миокарда

Показатель	Контрольная группа		Опытная группа	
	исходно	итог	исходно	итог
Масса тела, г	22,0±1,82	23,5±2,08	19,5±0,84	22,16±1,48
Толщина межжелудочковой перегородки в систолу, мм	1,01±0,07	1,26±0,06	1,08±0,10	1,14±0,12
Толщина межжелудочковой перегородки в диастолу, мм	0,47±0,03	0,55±0,05	0,56±0,06	0,56±0,05
Толщина задней стенки левого желудочка в систолу, мм	1,05±0,08	1,26±0,63	0,57±0,03	0,56±0,02
Толщина задней стенки левого желудочка в диастолу, мм	0,62±0,04	0,55±0,06	0,88±0,05	0,77±0,18
Конечный диастолический размер левого желудочка, мм	3,96±0,28	4,23±0,14	3,97±0,33	3,81±0,17
Конечный систолический размер левого желудочка, мм	2,43±0,43	2,30±0,14	2,75±0,21	2,38±0,24
Фракция выброса, %	74,21±7,40	85,99±0,86	64,39±2,89	78,61±2,81
Фракция укорочения, %	40,01±7,72	49,48±1,08	30,35±2,01	41,74±2,41
Частота сердечных сокращений, уд/мин	189,73±4,02	191,5±23,79	197,32±38,64	134,28±19,32 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p<0,01$);
2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p<0,01$).

Таблица 4

Влияние тренировочных нагрузок на морфологические параметры миокарда

Группа	Мо, г	Мм, мг	Млж, мг	Мм/Мо	Млж/Мо	Млж/Мм, %
Контрольная	26,73±3,25	133,25±16,0	89,50±11,50	5,01±0,58	3,36±0,35	67,25±3,14
Опытная	23,37±3,31	112,87±10,06	79,37±8,21	4,88±0,44	3,44±0,40	70,84±4,68
Этилтиобен- зимидазол	23,4±3,52	117,0±5,20	82,2±6,24	5,17±0,77	3,61±0,43	70,18±2,33

Примечание: Мо – масса животного, Мм – масса миокарда, Млж – масса левого желудочка.

В то же время в исследованиях, описанных в работе [4], тренировочная модель которых была взята нами за основу, к концу эксперимента было зафиксировано некоторое увеличение массы миокарда и левого желудочка. Учитывая, что масса тела мышей была сопоставима, и тренировочный режим максимально воспроизведен, очевидно, решающим фактором, оказавшим влияние на результат, является использование в наших экспериментах аутбредных животных, а не мышей линии *CBL*, как в вышеуказанной работе [4].

Таким образом, предлагаемый тренировочный режим (плавание 2 раза в день по 90 мин с перерывом в 1 ч (кроме первых трех дней, где тренировки длились 1 ч в день), 5 дней в неделю на протяжении 4-х недель) позволяет оценить эффективность тренировочного процесса (адаптацию к физическим нагрузкам) у экспериментальных животных и влияние на него фармакологических средств.

Выводы

1. Предлагаемый тренировочный режим позволяет имитировать аэробный тренировочный процесс с преимущественным увеличением выносливости и снижением утомляемости экспериментальных животных.

2. Формирование состояния тренированности животных сопровождается развитием компенсаторной брадикардии при отсутствии достоверных изменений массы и геометрии левого желудочка миокарда.

3. Предлагаемая модификация модели может быть использована для оценки влияния различных фармакологических средств на физическую работоспособность и адаптационные изменения, происходящие в процессе тренировок.

Список литературы

1. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Касинская Н.В. Кинезогидродинамическая оценка скоростных характеристик физической работоспособности животных в фармакологических исследованиях // Биомедицина. 2013. № 3. С.6-17.
2. Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б. Очерки спортивной фармакологии. Т. 1. Векторы экстраполяции / под ред. Н.Н. Каркищенко и В.В. Уйба. – М., СПб: Айсинг. 2013. 132 с.
3. Савка В.Г., Радько М.М., Воробьев А.А., Марценяк И.В., Бабюк А.В. Спортивная морфология: Уч. пособ. / под ред. Радько М.М. - Черновцы: Книги-XXI. 2005. 196 с.
4. Evangelista F.S, Brum P.C., Krieger J.E. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice // Braz. J. med. biol. res. 2003. Vol. 36. No. 12. P. 1751-1759.

The model of the impact assessment of pharmacological agents on the dynamics of adaptation to physical load

S.V. Radko, S.V. Okovitiy, A.N. Kulikov, E.Yu. Chistyakova

We have modified the model of swimming training and evaluated some physiological changes, developing during the training process. In response to aerobic training load animals have evolved applied compensatory bradycardia, increased overall endurance. The proposed training regimen (swimming twice a day for 90 min with a break of one hour (except the first three days where the workout 1 hour per day), five days a week for 4 weeks) to evaluate the effectiveness of the training process (adaptation to physical exercises) in the experimental animals and the influence of the pharmacological agents.

Key words: physical capacity, training process, biomodeling, laboratory animals.