

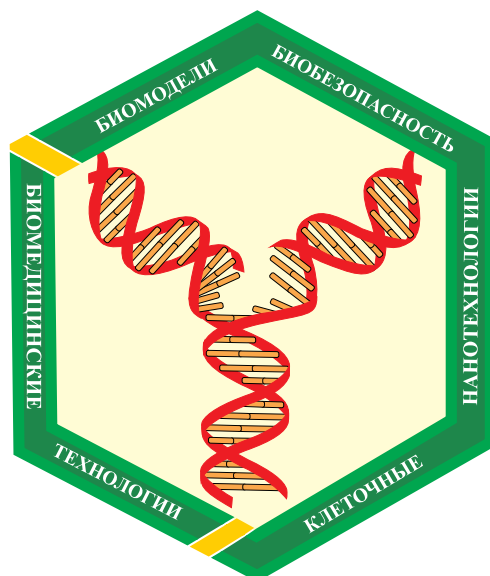
Научный журнал.

Основан в 2005 году ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»

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

И. А. Берзин (д.м.н., проф.), Г. Д. Капаназе (д.б.н., зам. главного редактора),
В. Н. Каркищенко (д.м.н., проф., зам. главного редактора), С. Л. Люблинский (к.б.н.),
Ю. С. Макляков (д.м.н., проф.), Е. Л. Матвеево (к.э.н., доц.), А. Н. Мурашев (д.б.н., проф.),
Г. В. Раменская (д.ф.н., проф.), А. О. Ревякин (к.б.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.), Е. Б. Шустов (д.м.н., проф.)

Редакционный совет:

член-корр. РАН и РАМН К. В. Анохин, проф. Е. Е. Ачкасов, акад. РАМН и РАСХН В. А. Быков,
к.х.н. В. И. Вареник, акад. РАМН А. М. Дыгай, д.б.н. М. Ф. Киселёв, акад. РАМН А. А. Кубатиев,
акад. РАМН В. Г. Кукес, акад. РАН А. И. Мирошников, акад. РАН и РАМН М. А. Пальцев,
проф. А. С. Радилов, проф. В. Р. Рембовский, акад. РАМН К. В. Судаков,
акад. РАМН В. П. Фисенко, член-корр. РАМН Д. Ф. Хритинин, проф. Б. Д. Цыганков

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:

143442, Московская область,
Красногорский р-н, п. Светлые горы,
владение 1
Тел.: 8 (495) 561-52-64

Отпечатано в типографии «Лин-Интер»
127591, Москва, ул. Дубнинская, д. 83а
Подписано в печать 12.09.2013 г.
Тираж 3 000 экз.

Биологическое моделирование утомления при физических нагрузках

Е.Б. Шустов¹, В.Ц. Болотова²

¹ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»

² – ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия МЗ РФ»

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

Представлены статистические характеристики биологической модели утомления при физических нагрузках, реализованной как методика челночного плавания мелких лабораторных животных – белых мышей, в том числе с дополнительным утяжелением. Показана возможность ее использования в фармакологических исследованиях для оценки влияния лекарственных средств на скоростные характеристики, работоспособность, выносливость и утомляемость животных.

Ключевые слова: утомление, работоспособность, методы биологического моделирования, челночное плавание, фармакологическая коррекция работоспособности.

Введение

В спорте хорошо известен методический подход к оценке скоростных качеств и выносливости спортсменов, связанный с многократным пробегом коротких дистанций (от 10 до 100 м, в зависимости от специализации спортсмена) – челночный бег. Важно отметить, что челночный бег достаточно хорошо имитирует специфические особенности физических нагрузок не столько бегунов, сколько спортсменов игровых видов спорта (баскетбол, футбол, хоккей). Существующие модификации челночного бега позволяют оценивать такие скоростные характеристики как стартовые и финишные рывки, ускорения, координату движений при смене направлений движения, а также выносливость спортсмена и особенности возникновения у него утомления (челночный бег до отказа) [4]. При этом время первого пробега дистанции отражает скоростные характеристики спортсмена, динамика

показателя времени повторных пробегов дистанции отражает утомление, суммарное время челночного плавания до отказа характеризует выносливость спортсмена, а суммарная дистанция пробега – его работоспособность. Таким образом, челночный бег до отказа является ценным методическим подходом, позволяющим в одном упражнении оценить основные параметры работоспособности спортсмена, его скоростные качества, выносливость, а также процесс формирования усталости. Этот же комплекс характеристик требуется оценить и при моделировании физических нагрузок у лабораторных животных, особенно при разработке средств фармакологической коррекции работоспособности.

Необходимо также учитывать, что динамика восстановления (или поддержания на приемлемом уровне) физической работоспособности является важной характеристикой практически любой лечебной технологии. Поэтому мето-

дика комплексного исследования физической работоспособности животных, являющихся биологическими моделями какого-либо заболевания и метода его лечения, проводимая в наиболее «мягком», физиологическом варианте физических нагрузок, будет также полезной и при доклинических исследованиях широкого круга новых медицинских средств [3].

Известные методы оценки физической работоспособности не позволяют в рамках одного исследования дать полную характеристику параметров работоспособности животных. Так, тесты вынужденного (предельного) плавания [6] или бега животных на тредбане характеризуют качества выносливости животных, тест на ротароде – координированность двигательных актов и выносливость, тест удержания на скользком вертикальном стержне – статический компонент выносливости, тест на силу хватки – силовую характеристику статического мышечного усилия [1, 2, 5]. Тест челночного плавания Киплинджера на скорость утомления [7] не оценивает скоростных характеристик, выносливости и работоспособности животных.

В связи с этим, мы попытались перенести методические подходы «челночного бега до отказа» на лабораторных животных, создав модификацию теста челночного плавания, пригодную для комплексной оценки основных характеристик физической работоспособности у животных. При этом мы учитывали, что методика должна предоставлять возможность в отдельных случаях (например, при выполнении исследований в интересах спорта высших достижений) менять интенсивность создаваемой нагрузки. Дополнительная нагрузка для животных может создаваться фиксацией к крестцовой зоне или хвосту груза, пропорционального массе тела.

Материалы и методы

Тест челночного плавания мелких лабораторных животных (белых мышей) осуществляется в специальном плавательном бассейне длиной 1,5 м, шириной не менее 20 см и глубиной не менее 40 см. Бассейн заполняется на половину своей глубины десатурированной водой температуры 22-24°C (десатурация осуществляется путем предварительного отстоя воды не менее 3 ч, для усиления процесса десатурации в воду погружается 2-3 марлевые ленты). Расстояние от уровня воды до верхней кромки бассейна должно быть не менее 10 см при использовании в исследовании мышей, 15 см – крыс. Для формирования стимула к плаванию животных в заданном направлении, в финишной зоне бассейна, над его торцевой стенкой, в недоступной для находящихся на уровне воды животных устанавливается проволочная кормушка, привлекающая обоняние.

Не менее чем за 2 ч до начала исследования животные лишаются корма и воды. Если это предусмотрено планом исследования, за 30 мин до его начала, после взвешивания животного, на нем дополнительно фиксируется утяжеляющий груз. Тестирование проводится одновременно на одном животном. Предварительно обученные плаванию в бассейне животные помещаются в воду в стартовой зоне головой по направлению к финишной зоне. Секундомер включается при начале перемещения животного в сторону финишной зоны и выключается при ее достижении. После этого животное без какого-либо периода отдыха сразу же возвращается лаборантом в стартовую зону для нового заплыва. Критерием завершения эксперимента является отказ животного от дальнейшего плавания в заданном направлении или превышение

критического периода продолжительности плавания (для длины бассейна 1,5 м – 60 сек). Далее животное извлекается из воды, обсушивается мягкой тканью и помещается в стандартную клетку.

Предварительное обучение животных плаванию осуществляется не менее чем в течение 3-х суток, с постепенным наращиванием расстояния от финишной зоны до стартовой, по 3-5 заплывов в день: в первый день расстояние проплыва составляет 50 см, во второй – 1 м, в третий – 1,5 м.

В протоколе исследования для каждого животного фиксируется его масса, груз утяжеления, номер заплыва и его продолжительность. В случае отказа животного в протоколе указывается критическое время – 60 сек.

Результаты исследований и их обсуждение

Усредненные по группе результаты челночного плавания животных (белых мышей-самцов массой 18-25 г) без дополнительного утяжеления представлены на рис. 1.

Анализ кривой длительности заплывов при челночном плавании позволяет выявить 4 области, различающиеся между собой. В зоне А (заплывы 1-10) отмечается устойчивая высокая скорость плавания, утомление животных не проявляется. У некоторых животных отмечается период вработывания (незначительное увеличение скорости плавания к 3-4-му заплыву) с последующим удержанием этой скорости до конца зоны А. Зона Б (11-20 заплывы) характеризуется начальными признаками утомления, при котором скорость плавания животных поддерживается на достаточно высоком уровне (увеличение времени заплыва примерно в 2 раза). Зона В (заплывы 21-55) характеризуется нарастающим утомлением, в ходе которого сначала у менее выносливых животных, а затем и животных со средним уровнем выносливости начинает отмечаться срыв работоспособности.

Характер срыва работоспособности у разных животных отличается. У некоторых животных он идет по типу равномер-

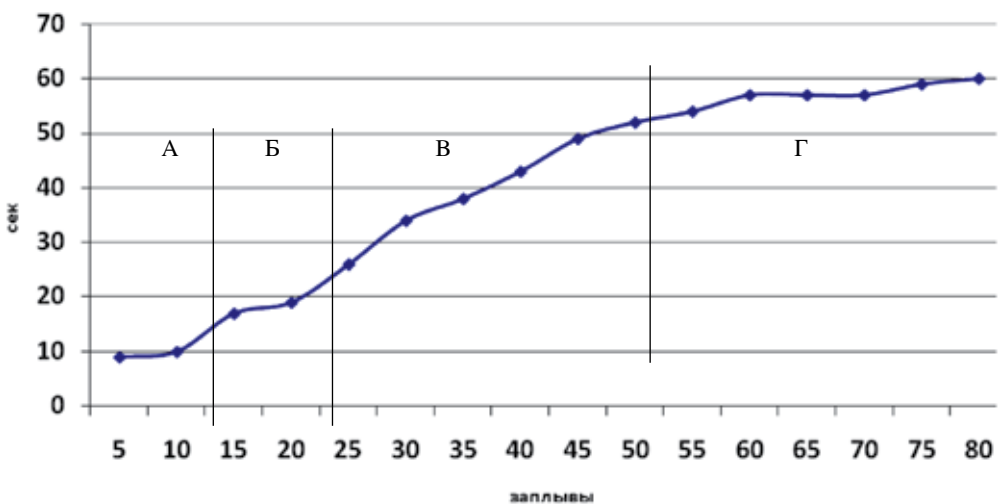


Рис. 1. Динамика средней длительности заплыва лабораторных мышей при челночном плавании.

ного нарастания утомления, у других – с резким нарастанием времени заплывов. Вероятно, различия в характере срыва работоспособности могут быть связаны с разным уровнем функциональных резервов животных и разной индивидуальной стратегией их использования. Так, встречались отдельные животные, у которых чередовалось заметное снижение скорости плавания в течение одного – двух заплывов (период отдыха) с последующим ее увеличением до среднегруппового уровня. Зона Г (заплывы 56-80) характеризуется выраженным утомлением и срывом работоспособности животных. Только единичные, особо выносливые животные еще сохраняют в этом диапазоне работоспособность на уровне, близком к 20% от исходного.

Таким образом, модель челночного плавания животных позволяет выявить и количественно оценить **скоростные характеристики** выполнения нагрузки (средняя скорость плавания в зоне А), собственно **работоспособность** (время удержания скорости плавания на высоком уровне – длительность фазы Б), **выносливость** (суммарная продолжительность (мин) и длительность (м) плавания до срыва работоспособности), а также **утомляемость**, или **скорость развития утомления** (отношение длительности предельного заплыва к их общему количеству; или в соответствии с подходом Киплинджера [7], коэффициент наклона линии регрессии длительности заплыва к их количеству). Дополнительным показателем, учитываемым в данной модели, может быть доля животных, отнесенных к группе с высокой выносливостью.

Для групповой характеристики скорости развития утомления линейную регрессионную модель целесообразно строить по усредненным значениям

длительности заплывов. Остальные показатели рассчитываются по индивидуальным данным с последующим усреднением и определением стандартного отклонения от средних значений. Кроме того, можно условно распределить животных по диапазонам выносливости. Границей диапазона высокой выносливости, в соответствии с принципами S-образного шкалирования, будет уровень последних 16-20% животных по кривой частотного анализа. В нашем случае такой границей высокой выносливости будет 50-й заплыв, при преодолении которого животное может быть отнесено к этой группе. В исследуемой группе к высоко выносливым животным можно было отнести 20% мышей.

Описанная модель челночного плавания достаточно полно характеризует работоспособность, выносливость и скорость развития утомления у лабораторных животных в обычных условиях. Однако в практике спорта высших достижений, а также медицине экстремальных состояний не редки ситуации, когда интенсивность физических нагрузок существенно выше, чем при выполнении даже интенсивной работы в обычных условиях, или же на организм воздействует какой-либо дополнительный неблагоприятный фактор (нагрузки в условиях гипоксии, при выраженном предшествующем утомлении, наличии острого или обострении хронического заболевания сердечно-сосудистой или дыхательной систем). В этих ситуациях для большей адекватности необходимо ввести в экспериментальную модель утомления фактор дополнительной нагрузки. На модели челночного плавания таким фактором может быть дополнительное утяжеление животного (прикрепленный груз, равный 2,5% от массы тела).

График динамики челночного плавания животных с утяжелением представлен на рис. 2. Сопоставление основных характеристик методики челночного плавания с дополнительным грузом и без него представлено в табл. 1.

низком количестве заплывов (21-60 заплывов до полного срыва работоспособности, по сравнению с 55-80 заплывами в модели без утяжеления).

Частотные распределения моментов полного срыва работоспособности (дли-

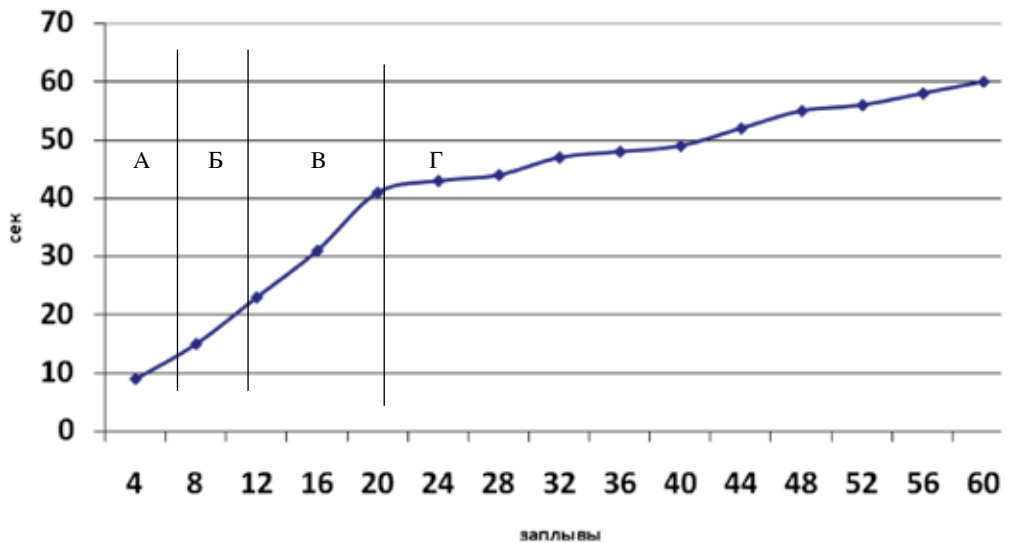


Рис. 2. Динамика времени заплывов лабораторных животных при челночном плавании с утяжелением, равным 2,5% от массы тела.

Сопоставление рис. 1 и 2 показывает, что начальная скорость плавания животных в обеих моделях совпадает, но зона А с 10-ти заплывов сокращается до 4-5, а зона Б (удержания работоспособности на высоком уровне) сокращается с 20-ти заплывов до 8-10. Зона нарастающего утомления (зона В) характеризуется более быстрым утомлением (в среднем, 12-20 заплывов, а не 20-55, как в плавании без утяжеления). Зона срыва работоспособности (зона Г, граница – точка перегиба на графике) начинается при меньшей степени утомления (25-28% от исходной скорости плавания, в модели без утяжеления – при 18-20% от исходной скорости плавания) и при существенно более

тельностью заплыва 60 сек и более) у лабораторных животных в моделях челночного плавания с утяжелением и без него представлены на рис. 3. Если в модели без утяжеления частотное распределение имеет характер, приводимый методами нормализации (z- и T-нормирование, стенирование) к нормальному статистическому распределению со средним значением в области 38-ми заплывов, то модель с утяжелением имеет характер распределения, существенно отличающийся от нормального. Область максимума распределения смещена в левую часть (среднее значение соответствует 27-му заплыву), без начальной зоны малой частоты встречаемости, что является

признаком экстремальности воздействия. В то же время, исходя из особенностей частотной кривой в области высоких значений количества заплывов, можно определить границу диапазона высокой выносливости животных: сохранение работоспособности более 45-ти заплывов в модели с дополнительным утяжелением и 50-ти заплывов – в модели без утяжеления. Доля высоко выносливых животных в обеих моделях составляет 20%.

более достоверной. Однако увеличение при этом степени экстремальности воздействия на животных может стать препятствием к применению такой модели в доклинических исследованиях различных лечебных и реабилитационных технологий.

Обе модели челночного плавания (с грузом или без) могут быть успешно применены для проведения фармакологических исследований в рамках разработки

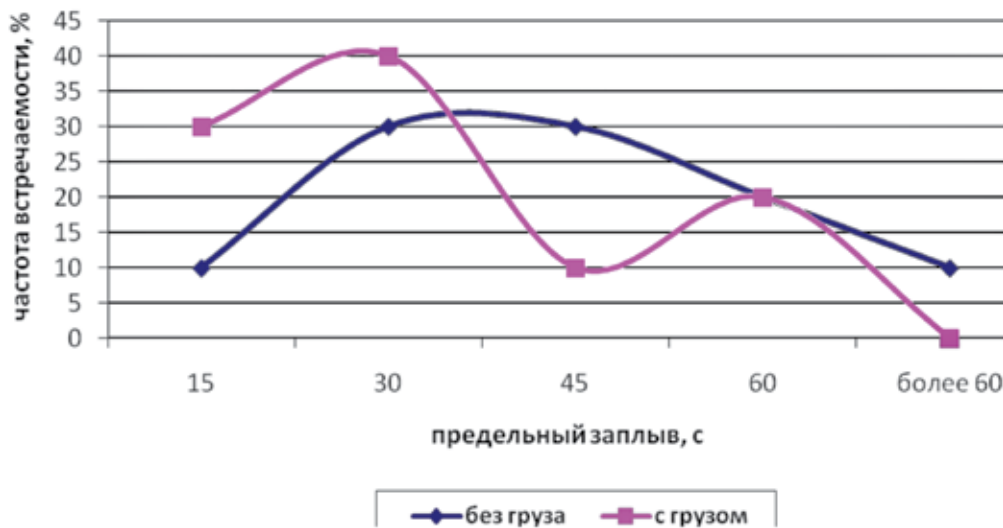


Рис. 3. Частотное распределение срывов работоспособности в моделях челночного плавания.

Таким образом, за исключением показателя скорости плавания на стартовом этапе, остальные параметры, характеризующие работоспособность, выносливость и развитие утомления, в моделях челночного плавания с дополнительным утяжелением и без него имеют тенденцию к статистическим отличиям. Модель с дополнительным утяжелением в 2,5% от массы тела характеризуется как вызывающая, в среднем, на 20-30% более выраженное утомление лабораторных животных. Вероятно, прибавление груза до 4,5-5% сделает расходимость моделей

средств, замедляющих развитие утомления. Для подтверждения адекватности модели представлены результаты выполненного нами исследования по сравнительной оценке влияния на физическую работоспособность животных некоторых органических солей кислот цикла Кребса.

Исследование выполнено на двух моделях челночного плавания животных (с дополнительным утяжелением и без), позволяющих достаточно полно характеризовать процессы утомления у лабораторных животных. Тестируемые препараты вводились перорально

Различия между моделями челночного плавания (средние по группе, $M \pm m$)

Показатель		Модели плавания		Отличия и их достоверность
Обозначение	Наименование	Без груза	Груз 2,5%	
V1	Скорость плавания, стартовая фаза, м/мин	10,9±1,0	10,7±2,5	-2%, p=0,81
T1	Время удержания высокой работоспособности, с	240±120	158±126	-34%, p=0,15
Lmax	Суммарная дистанция плавания до отказа, м	57±27	41±25	-28%, p=0,17
Tmax	Суммарное время плавания до отказа, мин	11,1±7,1	8,2±4,5	-26%, p=0,30
K1	Утомляемость, ед.	2,0±1,2	2,9±1,4	+45%, p=0,12
K2	Скорость развития утомления (коэффициент линейной регрессии, ед)	1,06	1,28	+21%, p=0,21
K3	Доля животных с высокой выносливостью, %	20	20	0%, p=1,0

Примечание: достоверность отличий для показателей V1, T1, Lmax, Tmax, K1 оценивалась методом однофакторного дисперсионного анализа, для показателей K2, K3 – методом точной вероятности Фишера.

через зонд, в дозе 50 мг/кг, однократно, за 1 ч до исследования. Лабораторные животные содержались в стандартных условиях вивария. Контрольным животным вводился физиологический раствор в эквивалентных количествах. В качестве стандартного препарата сравнения (контроль 2) использовался препарат из группы актопротекторов Метапрот (этилтиобензимидазола гидробромид), предназначенный для сохранения и повышения работоспособности в обычных и осложненных условиях, в дозе 50 мг/кг. Результаты исследования представлены в табл. 2 и 3, на рис. 4 и 5.

Анализ полученных данных показывает, что в тесте челночного плавания без утяжеления 3 исследуемых препарата оказывали заметное влияние на процессы утомления: Метапрот, фумарат и сукцинат представленных органических производных. Малатные соли имели слабо выраженный эффект.

Введение в модель челночного плавания дополнительной нагрузки в виде утяжеления привело к тому, что только 2 препарата – Метапрот и R-фумарат – стали умеренно снижать скорость появления утомления, а использование сукцината и малата приводило даже к некоторому ускорению утомляемости (графики лежат выше линии контроля).

Выводы

1. Модель челночного плавания мелких лабораторных животных является адекватной для комплексной оценки скоростных характеристик, работоспособности, выносливости и особенностей возникновения утомления при физических нагрузках.

2. Результаты челночного плавания животных без дополнительного утяжеления, после выполнения процедур нормализации, могут быть распространены на генеральную совокупность животных,

Таблица 2

Влияние фармакологических средств (R-соль) на показатели челночного плавания животных без дополнительной нагрузки (средние по группе, M±m)

Показатель	Контроль (физ. р-р)	R-фумарат	R-сукцинат	R-L-малат	R-LD-малат	Контроль 2 (Метапрот)
V1	10,9±1,0	11,5±0,8	11,6±1,6	10,7±1,7	12,4±2,3 *	11,9±1,9
T1	240±120	438±231**	440±220**	334±198	333±106	495±378*
Lmax	57±27	71±34	76±17	60±21	66±22	116±35***
Tmax	11,1±7,1	13,4±6,4	12,6±3,1	10,8±3,1	11,6±4,6	19,5±4,6**
K1	2,00±1,21	1,82±1,58	1,24±0,27	1,65±0,60	1,48±0,44	0,84±0,26*
K2	1,06	0,80	0,79	0,95	0,86	0,51*
K3	20	40	60	20	40	80***
Интегральная оценка	1,00	1,27*	1,34*	1,09	1,20	1,66**

Примечание: 1) достоверность отличий для показателей V1, T1, Lmax, Tmax, K1 оценивалась методом однофакторного дисперсионного анализа, для показателей K2, K3 и интегральной оценки – методом точной вероятности Фишера для четырехпольной таблицы;

2) отличия от плацебо достоверны: * – p<0,1; ** – p<0,05; *** – p<0,01.

Таблица 3

Влияние фармакологических средств (R-соль) на показатели челночного плавания животных в условиях дополнительной нагрузки (средние по группе, M±m)

Показатель	Контроль (физ. р-р)	R-фумарат	R-сукцинат	R-L-малат	R-LD-малат	Контроль 2 (Метапрот)
V1	10,7±2,5	8,6±1,9	10,0±1,5	9,8±1,8	11,4±2,2	9,8±2,9
T1	158±126	327±207*	143±84	148±112	165±71	270±211
Lmax	41±25	57±37	30±17	35±18	41±14	52±33
Tmax	8,2±4,5	11,3±6,3	6,4±2,6	7,6±2,9	7,8±2,8	10,1±4,3
K1	2,9±1,4	2,3±1,5	3,6±1,6	3,4±1,9	2,4±0,6	2,3±1,2
K2	1,28	0,91*	1,42	1,55	1,30	0,88*
K3	20	40	0	0	20	20
Интегральная оценка	1,00	1,33*	0,83	0,86	1,03	1,21*

Примечание: 1) достоверность отличий для показателей V1, T1, Lmax, Tmax, K1 оценивалась методом однофакторного дисперсионного анализа, для показателей K2, K3 и интегральной оценки – методом точной вероятности Фишера для четырехпольной таблицы;

2) отличия от плацебо достоверны: * – p<0,1; ** – p<0,05; *** – p<0,01.

и, следовательно, в дальнейшем анализироваться методами параметрического анализа. Статистическая обработка результатов челночного плавания животных с дополнительным утяжелением (кроме показателя скорости плавания) будет корректна только при применении непараметрических методов статистики.

3. При выполнении исследований в интересах спорта высших достижений и экстремальной медицины в модель необходимо вводить дополнительное утяжеление животных, составляющее не менее чем 2,5% от их массы.

4. Исследуемые соединения – производные солей кислот цикла Кребса могут

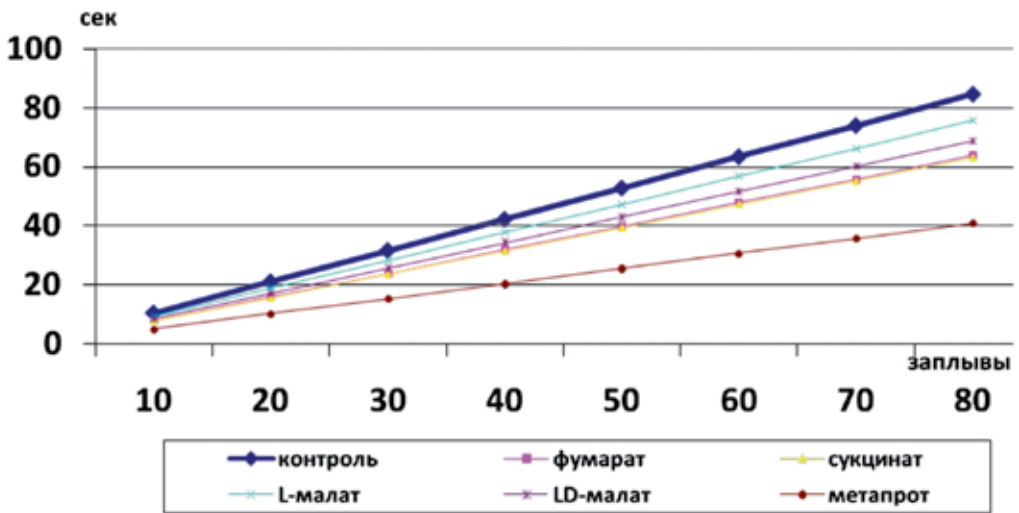


Рис. 4. Графики линейных регрессионных функций показателя утомляемости в тесте челночного плавания без дополнительного утяжеления.

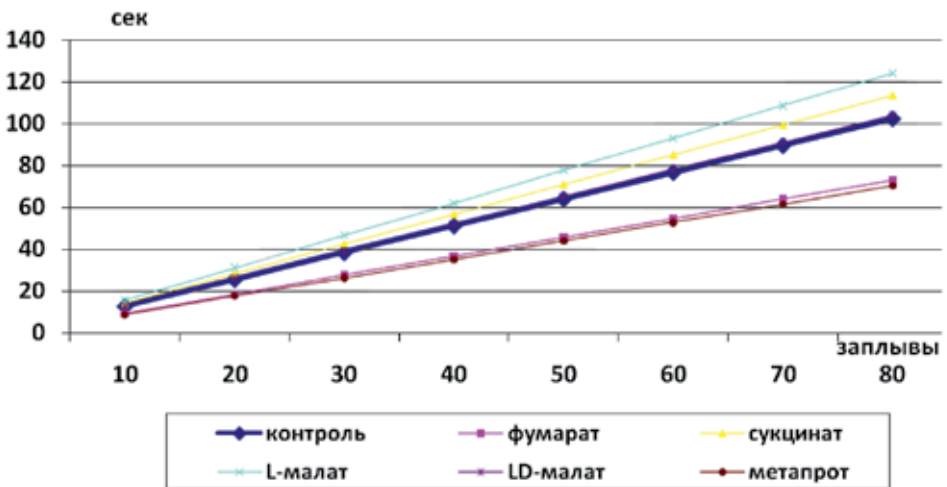


Рис. 5. Графики линейных регрессионных функций показателя утомляемости в тесте челночного плавания с дополнительным утяжелением, равным 2,5% от массы тела.

быть перспективными для дальнейшего изучения в качестве средств, замедляющих процесс утомления при физической нагрузке.

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, Казакова Л.Х., Алимкина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. 2012. № 4. С. 15-21.

3. **Каркищенко Н.Н.** Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармако моделирования. – М.: Изд-во ВПК. 2007. 320 с.
4. **Карпман В.Л.** Тестирование в спортивной медицине. – М.: Физкультура и спорт. 1988. 129 с.
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.
6. **Рылова М.Л.** Методы исследования хронического действия вредных факторов в эксперименте. – Л.: Медицина. 1964. 148 с.
7. **Kiplinger G.L.** The effects of drugs on the rate of development on fatigue in mice // Texas Rep. biol. med. 1967. V. 25. P. 531-540.

Biological modeling of fatigue during physical activities

Е.В. Shustov, V.Ts. Bolotova

Statistical characteristics are submitted of the biological models of fatigue during physical activities, practiced as a technique of shuttle swimming of small laboratory animals – white mice, including with additional weighting. Possibility of its use in pharmacological researches to assess the effects of medicines on high-speed characteristics, working capacity, endurance and fatigue of animals is shown.

Key words: fatigue, working capacity, methods of biological modeling, shuttle swimming, pharmacological correction of working capacity.