

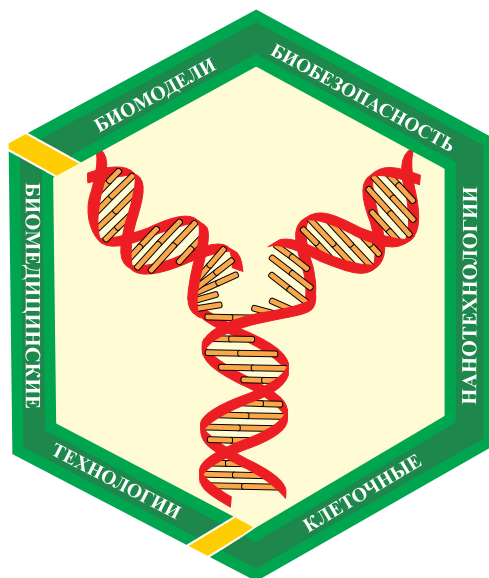
Научный журнал.

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 «Издания 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. Капаназде (к.с.-х.н., зам. главного редактора),

В. Н. Каркищенко (д.м.н., проф.),

Ю. С. Макляков (д.м.н., проф.), Е. Л. Матвеев (к.э.н., доц., ответственный секретарь),

А. Н. Мурашев (д.б.н., проф.), Г. В. Раменская (д.ф.н., проф.), А. О. Ревякин (к.б.н.),

Д. В. Сахаров (к.б.н.), Х. Х. Семенов (к.б.н.), Н. В. Станкова (к.б.н.),

Д. А. Сычев (д.м.н., проф.), Е. В. Ших (д.м.н., проф.)

Редакционный совет:

prof. Hans-W. Ackermann (Канада), prof. Iorgen Backmen (Германия), проф. Е.Е. Ачкасов, акад. РАМН и РАСХН В.А.Быков, проф. Витан Влахов (Болгария), акад. РАМН А.М.Дыгай, prof. Ralf Edwards (Швеция), prof. Moineao S.-F. D'Herelle (Канада), акад. РАМН С.И. Колесников, акад. РАМН А.А.Кубатиев, акад. РАМН В.Г.Кукес, prof. Michael Orme (Великобритания), акад. РАН А.И.Мирошников, акад. РАН и РАМН М.А.Пальцев, акад. РАМН В.И.Петров, акад. РАМН К.В.Судаков, prof. Solemene Umberto (Италия), 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

matveyenkoel@mail.ru

Тел.: 561-52-64, 917-32-17



Фармакология процессов адаптации и переносимости предельных нагрузок в спорте и режимах работы «до отказа»: второй тайм для дженериков

Н.Н.Каркищенко

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

*Контактная информация: Каркищенко Николай Николаевич, академик РАН, член-корреспондент РАМН, директор Научного центра биомедицинских технологий РАМН
e-mail: niknik2808@yandex.ru*

С целью оптимизации поиска новых фармакологических средств, повышающих физическую и психо-эмоциональную выносливость в режиме работы «до отказа», предложена технологическая схема скрининга среди дженериков (Мексикора, Идебенона, Эпокрин и т.д.), а также блокатора миостатина – Миобласта. Представлены результаты оптимизации процессов восстановления и управления функциональным состоянием систем организма лабораторных животных для последующей экстраполяции в подготовку спецконтингентов для силовых ведомств, спорта высших достижений, спасателей МЧС.

Ключевые слова: фармакология адаптации к предельным нагрузкам, «вторичный» скрининг дженериков, технологическая схема поиска средств улучшения выносливости и восстановления для, спасателей, спецконтингентов и спортсменов.

Фармакологическая поддержка подготовки спецконтингентов МЧС и вооруженных сил, водолазов, летчиков, восстановления и повышения физической работоспособности в спорте высших достижений ориентируется на два типа физических нагрузок: стандартные и максимальные или предельные. *Стандартные* физические нагрузки, как правило, строго дозированы и используются для оценки эффективности индивидуальных тренировок. К ним относятся Гарвардский степ-тест, велоэргометры, тредбаны и специальные тренажеры. *Максимальные* физические нагрузки выполняются с заданной интенсивно-

стью в течение определенного времени. *Предельные* нагрузки могут выполняться с использованием вышеуказанных и иных тестов, но при условии требований к их осуществлению с максимально возможной мощностью. В ряде случаев нагрузки обозначаются как запредельные и выполняются в режиме работы «до отказа». С этой целью оцениваются анаэробная и аэробная работоспособность, скоростная выносливость, максимальная напряженность, высокая динамичность и статическая интенсивность, переносимость физических и психоэмоциональных перегрузок при оптимальной координации движений [5,8].

Работы сотрудников НЦБМТ РАМН (далее Центра) позволили выявить ряд фармакологических препаратов, влияющих на работоспособность, утомляемость и восстановление физической активности лабораторных животных при нагрузках различной интенсивности, включая запредельные. Исследования выполнены с соблюдением требований биоэтической концепции, стандартизированных условий и принципов надлежащей лабораторной практики GLP (Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53434-2009) и использованием гармонизированных стандартных операционных процедур [6].

В данной работе мы исходили из того, что в фармакологической коррекции предельно высокой работоспособности и выносливости могут быть использованы лишь абсолютно безопасные и не имеющие лимитирующих побочных эффектов лекарственные средства, обязательно внесенные в реестр разрешенных к применению лекарственных препаратов в Российской Федерации [2, 4, 8].

Тем не менее, вся разрешительная система в отношении фармакологических средств ориентирована на их использование при той или иной патологии, но не у здоровых людей. Угрожающие экстремальные ситуации, необходимость адаптации к новым условиям при шельфовой добыче ископаемых, полетах в стратосфере и дальнем космосе, жизненноопасным спасательным работам, возрастающих спортивных и профессиональных нагрузок требует разработки биомедицинских подходов в *фармакологии здорового человека* и междисциплинарных исследованиях [4, 7, 8].

Поиск эффективных средств повышения физических и психоэмоциональных кондиций человека может быть об-

легчен за счет *вторичного скрининга* дженериков. При грамотной постановке вопроса уже разрешенные и многолетне оцененные естественные и синтетические фармакологические препараты могут быть изучены с точки зрения их влияния на механизм адаптации при напряженных физических и психологических нагрузках и оптимизации процессов восстановления отдельных функций и систем организма. При таком подходе укорачивается цикл создания новых рецептур, снижается риск неожиданных побочных эффектов, улучшаются фармакоэкономические показатели.

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ПРЕПАРАТОВ

На протяжении ряда лет сотрудниками Центра вместе с химиками, путем направленного синтеза, получены соединения, влияющие на работоспособность и адаптивные возможности организма. Поскольку процесс доклинических и клинических исследований, процедура регистрации и отработка промышленного регламента составляет ни один год (или десятилетие), в данном исследовании были выбраны лишь те аналоги лекарственных препаратов, которые разрешены для медицинского применения.

Следует подчеркнуть, что применение дженериков или оригинальных соединений по новым показаниям автоматически относит эти препараты к новому классу и, по действующей международной практике, эффективная субстанция в виде новой лекарственной формы получают другое коммерческое название.

В данной работе использованы линейные крысы WAG/GY, мини-свиньи MSY. Исследовано более 30 дженериков, здесь мы остановимся на четырех из них. Ис-

пользованные нами соединения этилметилгидроксипиридина сукцината – *Мексикор*, рекомбинантного эритропозтина – *Эпокрин* 2,3-диметокси-5-метил-6-(10-гидроксидецил) –1,4-бензохион *Идебенон* ингибитора и блокатора миостатина – *Миобласт* (коммерческое название нейтрализующего средства Муозар CSP3) исследованы нами не только в отношении новых показаний, но и на принципиально новый объект воздействия, т.е. в отношении практически здоровых, а не больных людей. Если в тексте исследованные дозы не оговорены специально, то они составляли для Мексикора – 11 мг/кг, Идебенона – 5 мг/кг, Эпокрин – 0,5 мг/кг, Миобласта – 0,1 мг/кг. Мексикор и Идебенон вводили ежедневно в течение 14 дней. Эпокрин и Миобласт – в течение 21 дня.

Не затрагивая все стороны действия препаратов, остановимся лишь на тех механизмах их действия, которые важны для их выбора в качестве кандидатов «вторичного» скрининга.

Эпокрин – рекомбинантный эритропозтин человека. Он является гликопротеидным стимулятором эритропоза. Продукция эритропозтина зависит от соотношения между потребностями тканей в кислороде и его доставкой: почки и печень секретируют эритропозтин и др. факторы в ответ на *гипоксию* [15, 18]. Биологическая активность эпокрин обусловлена наличием в молекуле остатков тирозина, триптофана, а также сиаловой кислоты, мембранным типом рецепции эритропозтинчувствительными клетками, изменением внутриклеточных концентраций циклических нуклеотидов, ионов калия и кальция. Эпокрин напрямую воздействует на краткосрочную и долговременную синаптическую пластичность гиппокампа и механизмы работы памяти.

Эритропозтин можно отнести к препаратам двойного действия, который, наряду со стимулирующим эффектом на активность нейронов, улучшает кровообращение ряда отделов мозга.

Идебенон имеет структурное сходство с коэнзимом Q10 (сильным митохондриальным нейтрализатором свободных радикалов), но в отличие от него обладает меньшим размером (в 5 раз), меньшей гидрофобностью и большей антиоксидантной активностью. Является переносчиком ионов водорода, компонентом дыхательной цепи, нормализует ПОЛ, предохраняя мембраны нейронов от повреждений избыточным выбросом глутамата, ингибирует процессы апоптоза, ингибирует метаболизм арахидоновой кислоты, действуя на циклооксигеназу и липооксигеназу. Действует на серотонинергическую, холинергическую и дофаминергическую системы. Наряду с антигипоксическим и антиоксидантным эффектами, он оказывает мнемотропное и ноотропное действие. Препарат проникает через ГЭБ, распределяется в ткани мозга, где активизирует потребление глюкозы, синтез АТФ и элиминацию лактата. Улучшает кровоснабжение и оксигенацию тканей мозга.

Мексикор (этилметилгидроксипиридина сукцинат) является донатором субстрата для цикла Кребса. Сукцинат активизирует энергосинтезирующую функцию митохондрий и приводит к конформационным изменениям белковых макромолекул синаптических мембран, вследствие чего он оказывает модулирующее влияние на активность мембраносвязанных ферментов, ионных каналов и рецепторных комплексов, в частности бензодиазепиновый, ГАМК, ацетилхолиновый, усиливая их способность связывания с лигандами, повышая активность

нейромедиаторов и активацию синаптических процессов. В связи с активацией сукцинатам внутриклеточного «дыхания» препарат обладает мощным антигипоксическим эффектом, эффект которого связан с влиянием на энергосинтезирующие функции митохондрий. Производные 2-этил-6-метил-3-оксипиридина, к которым относится Мексикор, подавляют агрегацию тромбоцитов, вызываемую коллагеном, тромбином, АДФ и арахидоновой кислотой, ингибируют фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов тромбоцитов, а также защищают клетки крови при механической травме. Наблюдается стабилизационная устойчивость мембран эритроцитов к гемолизу и ускорение процессов кроветворения. Механизм действия Мексикора определяют прежде всего его антиоксидантные свойства, способность стабилизировать биомембраны клеток, активировать энергосинтезирующие функции митохондрий, модулировать работу рецепторных комплексов и прохождение ионных токов, усиливать связывание эндогенных веществ, улучшать синаптическую передачу и взаимосвязь структур мозга. Он имеет большой спектр эффектов, малые побочные проявления и низкую токсичность. Обладает способностью потенцировать действие других центральнодействующих веществ, в особенности тех, которые реализуют свое действие как прямые агонисты рецепторов.

Миостатин – один из трансформирующих факторов роста (TGF- β) обладает способностью ограничивать рост мышечной массы и служит потенциальной мишенью для терапевтического воздействия при дегенеративных заболеваниях, травмах и других патологиях мышечной системы, особенно в спортивной медицине [14, 16, 17]. Его также называ-

ют базовым фибробластным ростовым фактором, слущивающемся с клетки, аналогично поверхностным молекулам клеточной адгезии [10, 11]. В суперсемейство ростовых факторов TGF- β входят механозависимый ростовой фактор MGF, инсулиноподобный ростовой фактор IGF, их агонисты и рецепторы [18, 19]. Активность Миостатина возрастает при экспрессии рецепторов кортикостероидов [20].

В настоящее время открыты и изучены несколько десятков ингибиторов Миостатина, которые являются генетическими или биохимическими субстанциями.

Миобласт. В ряду ингибиторов и блокаторов миостатина, наряду с Myo-029, Pheramass-tm, Pheravol-V и др., заметное место занимает Миобласт, коммерческий препарат, включающий в себя миостатин-нейтрализующую субстанцию Myozag CSP3. Миобласт участвует в нескольких механизмах блокировки эффектов миостатина, в том числе через снижение миостатиновой мРНК и за счет влияния на интерферирующие РНК к гену миостатина [14, 16], воздействия на обмен оксида азота [19] и др. Блокаторы и ингибиторы миостатина активно занимают коммерческую нишу в спорте, фитнесе, бодибилдинге и других всенародных увлечениях, хотя механизмы их влияния на работоспособность и выносливость до конца не ясны.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ К МЫШЕЧНОЙ РАБОТЕ

Адаптационные изменения в организме человека и животных зависят от эффективности физической нагрузки и средств их коррекции. Классиче-

ские подходы к тренировочному процессу указывают, что наилучшие адаптационные изменения достигаются в диапазоне эффективных нагрузок и ослабевают в диапазонах предельных и, особенно, за предельных нагрузок. Прирост адаптационных сдвигов при предельных и за предельных нагрузках может быть достигнут с помощью фармакологических средств. В противном случае использование таких нагрузок может приводить к срыву адаптации и вызывать дезадаптацию организма.

Следует подчеркнуть, что широко популяризируемая практика использования «адаптогенов» позволяет улучшить неспецифическую адаптацию организма к неблагоприятным условиям. К классическим адаптогенам относятся препараты женьшеня, элеутерококка, левзеи, радиолы, аралии, пантокрина. Но, во-первых, они должны вводиться длительно, во-вторых, необходим подбор различных адаптогенов, имеющих общий характерный эффект по влиянию на работоспособность, протекторную активность, психоэмоциональную сферу и т.д., в-третьих, при желательности единого конечного эффекта, они непредсказуемо различаются по профилю фармакологической активности. В тоже время эффекты природных адаптогенов трактуются как «мобилизация функциональных резервов организма», хотя механизмы их действия далеки от понимания.

В отличие от классических представителей «адаптогенов», используемых преимущественно для повышения объема и интенсивности тренировочных нагрузок, выбранные нами для исследования вещества ориентированы на достижение максимальных результатов у спортсменов на этапе соревновательного процесса, а у контингентов спасате-

лей и спецназа на работу в экстремальных условиях

Выбранные нами методики использованы для проведения исследований действия препаратов на этапе за предельных или максимально переносимых физических и психоэмоциональных нагрузок, т.е. того, что находится уже за работой «до отказа».

Своей целью мы ставили задачу отработки технической схемы «вторичного» скрининга в ряду дженерических препаратов, основные показания для которых лежат совсем в иных сферах фармакотерапии. Помимо знания их фундаментальных механизмов действия, необходим выбор оптимальных и адекватных методов моделирования процессов и состояний, не менее надежных систем регистрации и контроля. В этом ключе мы и представим некоторые из полученных, в нашем Центре результаты.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНДИВИДУАЛЬНОГО И КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ИССЛЕДОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Тест вынужденного плавания и отчаяния

Тест представляет собой комбинированный жесткий вид стресса с физической и эмоциональной составляющей. Тест проводился в прозрачном бассейне размером 80×80×130 см.; уровень воды 30 см; температура 24°. Плавание осуществлялось с грузом (7% от массы тела), прикрепленным к корню хвоста крыс WAG/GY. Оценкой влияния препаратов на физическую выносливость служило время плавания животного до утомления, о котором свидетельствует погружение животного на

дно. В этот момент животное быстро извлекали из воды и обсушивали. Показатели, отклоняющиеся от среднего времени более чем на 35%, исключались. Особенностью данной методики являются условия, в которых работоспособность животных в значительной мере зависит от обеспечения мышечной

активности со стороны высшей нервной деятельности. Груз слишком велик, и животные плавают на пределе своих физических возможностей, что рождает у них паническое состояние. На рис. 1 приведены данные по продолжительности плавания в тесте отчаяния, нормированные к контролю.

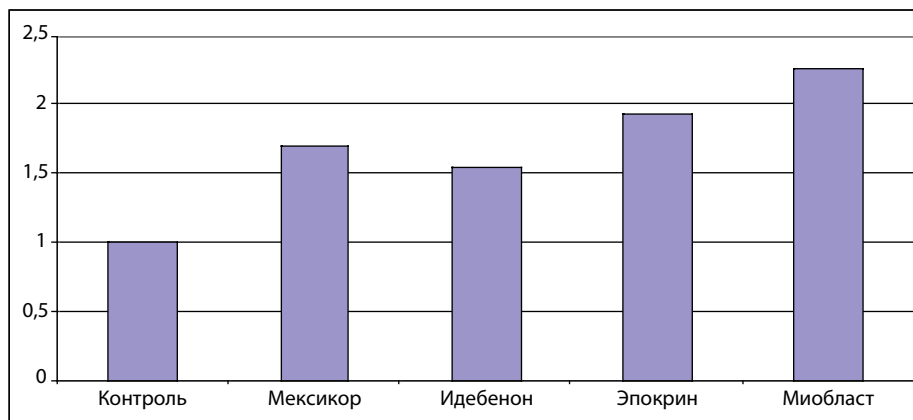


Рис. 1. Нормированные значения продолжительности вынужденного плавания крыс WAG/GY под влиянием исследованных препаратов. По оси ординат – коэффициенты, отражающие эффекты препаратов, относительно контроля.

Приведенные на рис. 1 относительные коэффициенты позволяют оценить действие Миобласта как наиболее выраженное в сравнении с другими средствами. Несколько уступает ему эффект Эпокрин, но прослеживается тенденция в значительном повышении работоспособности средств метаболического и энергизирующего действия. Так, если Миобласт существенно наращивает мышечную массу животных, то действие Эпокрин проявляется в увеличении эритроцитарной массы и, соответственно, улучшении кровоснабжения органов и тканей, особенно мышечных. Следующим по выраженности действия является Мексикор, эффекты которого можно

соотнести с его антиоксидантными и метаболическими механизмами.

Тест острой гипоксии

Цель проведения теста – сравнительное исследование антигипоксического действия фармакологических препаратов, оцениваемого по индивидуальной чувствительности крыс к острой гипобарической гипоксии. Данный тест отражает возможности организма противостоять резкому понижению давления и острой нехватки кислорода за счет мобилизации внутренних ресурсов. Тест также имеет эмоциональную составляющую. Исследование проводили на кры-

сах линии WAG/GY. В эксперименте использовали половозрелых особей обоих полов 3-х месячного возраста с массой в начале эксперимента 180 г. Каждое животное «поднималось» на критическую высоту (11,5 тыс.м) со скоростью

165м/сек. Мерой оценки чувствительности животных к острой гипобарической гипоксии служило время жизни на «высоте». В табл. 2 приведены коэффициенты эффективности защиты препаратов.

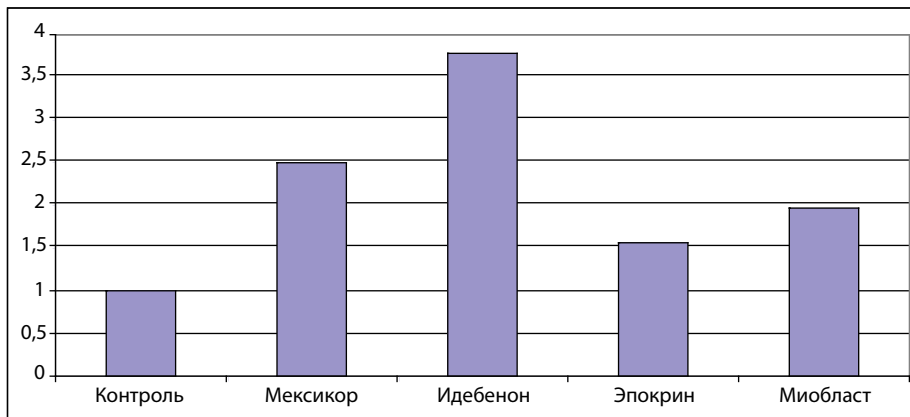


Рис. 2. Влияние исследованных препаратов на нормированные значения коэффициентов переносимости гипобарической гипоксии. По оси ординат – коэффициенты, отражающие эффекты препаратов, относительно контроля.

В отличие от теста вынужденного плавания, показатели эффектов препаратов при гипоксии наиболее выражены у Мексикора и Идебенона. Это связано с высокой антиоксидантной активностью у них и способностью усиливать внутриклеточное дыхание и энергосинтезирующие функции митохондрий. По-видимому, в эффекты этих препаратов вносят свой вклад механизмы влияния на моноаминергические системы.

Тест ROTA-ROD

Система для проведения теста представляет собой закрытую камеру размером 30×30×40 см, с отверстиями для воздухообмена, с вращающимся стержнем,

расположенным параллельно полу на высоте 15 см. Имеется возможность регулировать скорость вращения стержня от 6 до 12 об/мин. Вращающийся вал покрыт мягким пористым материалом (диаметр 7 см). Чтобы избежать прыгивания животного, пол камеры находится под электрическим напряжением (25В, 1А). С помощью теста оценивают координацию движений и физическую выносливость животного.

Продолжительность теста – 45 минут. При падении животного на пол микрофон регистрирует вокализацию животного в слышимом диапазоне. По количеству записанных эпох определяют число падений с вала. Результаты теста отражены в табл. 1.

Влияние препаратов на число падений с вращающегося стержня

Показатель	Число падений	
Мексикор	Контроль	11,33±7,7
	Препарат	14,67±7,7
Идебенон	Контроль	26,67±12,8
	Препарат	40±21,4
Эпокрин	Контроль	18,2±8,3
	Препарат	15,5±6,8
Миобласт	Контроль	15,6±7,2
	Препарат	12,1±5,4

Анализируя полученные результаты, следует подчеркнуть, что широко используемый тест ROTA-ROD оптимален лишь в сравнительных полиметодических исследованиях. Он более предпочтителен для оценки физической выносливости, что и наблюдалось в наших работах. Эпокрин, обеспечивающий быстрое увеличение эритроцитарной массы, и Миобласт, приводящий к резкому нарастанию мышечной массы, прекрасно экспонируется в табл. 1 в отличие от Мексикора и Ибенона

Поведенческие тесты

Система LABORAS представляет собой комплекс (до 8 клеток одновременно) для полного автоматического распознавания, регистрации и анализа поведения лабораторных грызунов, основанная на вибрации и анализе энергии. Датчики, расположенные под треугольной платформой улавливают все движения вызванные животным. Каждое из движений имеет свой собственный уникальный сигнал, который регистрируется специальной компьютерной программой. LABORAS – уникальная система, позволяющая определить большое число

естественных движений (горизонтальная и вертикальная активность, груминг, поедание корма, питье, неподвижность) и стереотипное поведение животного (жевательные движения, подергивание головой, отряхивание, поскрёбывание) без участия человека. В дополнении к этому система позволяет отслеживать предпочтительное местонахождение, максимальную скорость передвижения, среднюю скорость, пройденное расстояние, а также оценивать работоспособность, выносливость и активность животного.



Рис. 3. Компьютеризированная система автоматической оценки различных форм поведения животных.

С помощью LABORAS оценивается поведение животного в числовом выражении. Крыса помещалась в специаль-

ную клетку на платформе со свободным доступом к пище и воде. Движения животного в течение 1 часа детектировались платформой и переводились в цифровой сигнал. Определяли количественное соотношение таких форм поведения, как: движение (горизонтальная активность), неподвижность, вставание на задние лапы и умывание. Кроме этого оценивалась траектория движения животного в течение всего периода и предпочитаемое место в камере. Те же формы поведения оценивались и после инъекции выбранных препаратов. Исследование элементарных форм поведения показало,

что как в покое, так и при действии любого из тестируемых веществ животные были преимущественно спокойны и неподвижны. Сразу после физической нагрузки на фоне действия любого из изучаемых препаратов исходная неподвижность переходила в такие формы поведенческих реакций как горизонтальная активность, вставание на задние лапы и умывание. Вероятно, это связано с остаточным возбуждением двигательных центров. Результаты по процентному соотношению длительности поведенческих форм в период эксперимента представлены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние препаратов на различные формы поведения крыс WAG/GY

Форма поведения	Контроль	Мексикор	Идебенон
Горизонтальная активность	0,13±0,13	2,75±1,26	5,23±0,49*
Неподвижность	74,27±14,53*	28,62±8,70*	32,32±5,30*
Вставание на задние лапы	0,73±0,41	4,85±1,90	18,46±2,49*
Умывание	9,55±4,78	10,44±4,75	43,99±2,68*

* – достоверно при $p \geq 0,95$

Система LABORAS позволяет пояснить, казалось бы, парадоксальную реакцию Мексикора и Идебенона по тесту ROTA-ROD. Оба эти препарата активизируют целеориентированное поведение животных, не подавляя мотивационные механизмы и системное поведение.

Ультразвуковая вокализация

С помощью комплекса SONOTRACK (Metris, Нидерланды) можно оценить функциональное состояние животных, анализируя их вокализацию в ультразвуковом диапазоне. Для записи колебаний

от 20 кГц до 90 кГц используют специальный микрофон. В ходе анализа данных можно определить количественное соотношение молчания и писка крысы, частоты, составляющие писк, и длительность каждого ультразвукового колебания в различные временные промежутки. Специальная программа представляет результаты эксперимента в трёх видах: амплитуда общего сигнала, меняющаяся во времени; спектр частот записанного сигнала во времени, цветом указывается амплитуда сонограммы в 3D-графе.

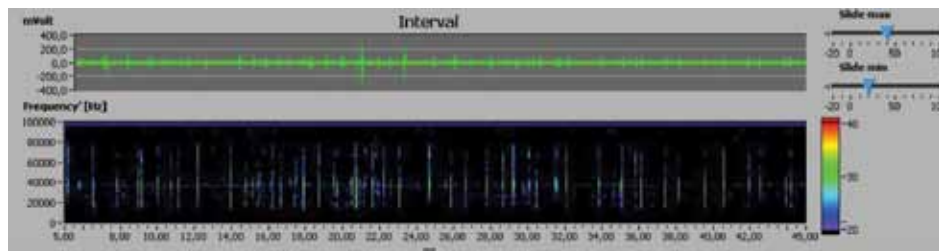
Поскольку высокочастотные колебания, не слышимые человеком, свидетель-

ствуют об эмоциональных и мотивационных изменениях лабораторных животных, SONOTRACK может применяться для исследования благосостояния животного, обнаружения болевых ощущений, изменений при действии фармакологических веществ, можно также исследовать трансгенных животных [12, 13].

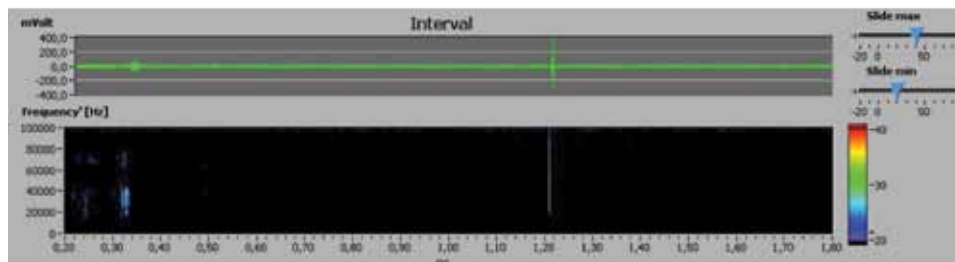
На рис. 4 представлены результаты, полученные при записи звуков в диапазоне 20-90 кГц. Выраженная физическая нагрузка по тесту ROTA-ROD отражается в сонограммах (рис.4А) мощным всплеском активности во всех диапазонах, с превалированием 26,9; 44,6 и 63,8 кГц. Для действия исследованных ве-

ществ характерна бедность спектра как при введении любого из тестируемых веществ, так и при физической нагрузке на фоне действия этих веществ. Существенные снижения средней частоты вокализации (вплоть до полного её отсутствия) наблюдались во всех диапазонах, кроме 30-60 кГц, значения которого соответствуют состоянию спокойного бодрствования. Частота вокализации в данном числовом диапазоне при действии любого из исследуемых веществ осталась практически без изменений. Средние частоты ультразвуковой вокализации отражены в табл. 3.

А



Б



В

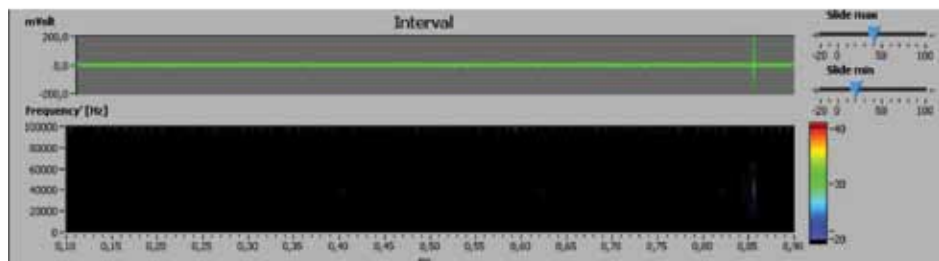


Рис. 4. Иллюстрации сонограмм ультразвуковой вокализации крыс при физической нагрузке по тесту ROTA-ROD. А – контроль (без введения препаратов), Б – через 30 минут после введения Мексипренола, В – через 30 минут после введения Идебенона.

В табл. 3 представлены интервалы нахождения медиан ультразвуковых частот. Характерно, что на разные по механизм действия (анксиолитик Мексикор и психостимулятор Идебенон) однозначно снижают частоту вокализации, хотя и в разных диапазонах. Иными сло-

вами эти препараты возвращают психоэмоциональный статус в зону комфорта, тогда как предельные физические нагрузки и болевые воздействия трансформируют частоты в диапазоне 30-60 кГц до предела 53-58 кГц.

Таблица 3

Медианы ультразвуковых частот при физической нагрузке и действии препаратов у крыс WAG/GY

Диапазон частот, кГц	Контроль	Мексикор	Идебенон
20-30	26,91±2,38	26,511±1,50	23,13±0,16
30-60	44,65±0,61	40,16±2,58	44,33±1,98
60-80	63,79±0,58	61,36±0,83	61,12±1,07

Метод регистрации ультразвуковой вокализации является объективным и надежным инструментом оценки стрессорных воздействий на психоэмоциональную сферу животных и количественных показателей корректирующего действия нейрорепродуктивных средств.

**КОМПЬЮТЕРНАЯ
ФАРМАКО-ЭЭГ**

За неделю до начала эксперимента животных анестезировали (Zoletil 100, фирма VIRBAC-06516-CARROS, Франция, доза 55 мг/кг) и стереотаксически, в стерильных условиях эпидурально вживляли хронические электроды с антикоррозийным покрытием. Электроды располагались в симметричных точках обоих полушарий, (рис. 5-8,

Plan). Регистрацию ЭЭГ осуществляли монополярно, референтный электрод располагали в носовых костях. Все манипуляции осуществлялись в соответствии с международными нормами этического обращения с животными. Эксперименты на крысах в свободном поведении выполнены по методикам, описанным ранее [1, 2].

Запись и компьютерный анализ ЭЭГ осуществляют на электроэнцефалографе-анализаторе ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03». Анализировали изменение спектральной мощности и когерентности электрической активности мозга в стандартных физиологических диапазонах частот: дельта – 1-4 Гц, тета – 4.25-8 Гц, сигма – 8.25-13 Гц, бета – 13.25-30 Гц, гамма – 30.25-45 Гц. Эпоха анализа составляла 4 с.

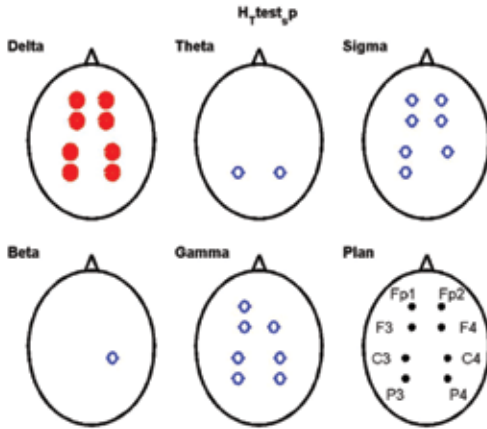


Рис. 5. Распределение мгновенных значений спектральных мощностей электрической активности (СМ ЭАМ) мозга крыс после введения Идебенона.

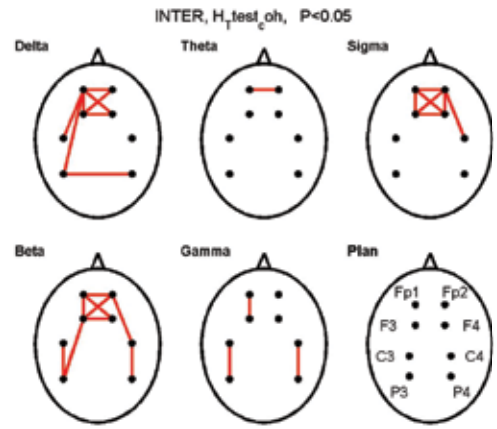


Рис. 7. Распределение функций когерентности после введения Идебенона.

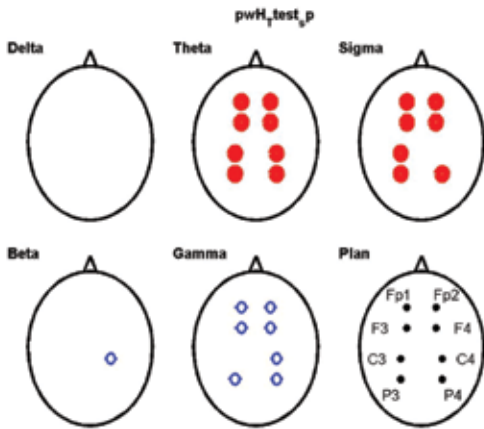


Рис. 6. Распределение мгновенных значений СМ ЭАМ мозга крыс при введении Идебенона после физической нагрузки по тесту ROTA-ROD.

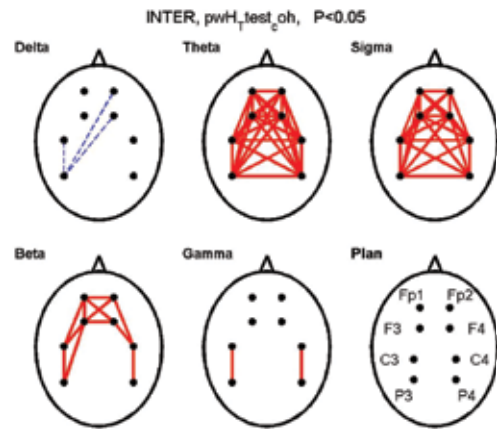


Рис. 8. Распределение функций когерентности после введения Идебенона после физической нагрузки по тесту ROTA-ROD.

Анализ изменений спектральной мощности электрической активности мозга (СМ ЭАМ) и когерентности (Ког ЭАМ) выявил разносторонние изменения в зависимости от вводимых веществ. Через 30 минут после инъекции мексикора происходило достоверное снижение СМ ЭАМ в тета- и гамма-диапазонах во всех анализируемых отведениях, в дельта-, сигма-, и бета-диапазонах. Снижение встречалось во фронтальной коре.

Повышение СМ ЭАМ происходило в дельта-диапазоне в центрально-теменной области. Изменения Ког ЭАМ происходило, главным образом, в тета-диапазоне – в сторону снижения (по всему неокортексу). В других диапазонах изменения малочисленны, диффузны и разнонаправлены. После физической нагрузки отмечалось снижение СМ ЭАМ во всех частотных диапазонах. Ког ЭАМ значительно не изменилось, если не учи-

тывать снижение межполушарных Ког ЭАМ в дельта-диапазоне. Снижение СМ ЭАМ при действии мексикора, вероятно, связано со снижением уровня сознания. Мексикор, по-видимому, как снижает уровень сознания, так и обладает противострессорным эффектом.

Через 30 минут после инъекции Идебена происходило достоверное повышение СМ ЭАМ в дельта-диапазоне по отношению к фоновым данным, в сигма- и гамма-диапазонах отмечалось снижение СМ. Изменение Ког ЭАМ выражалось в повышении сочетанности потенциалов фронтальных областей в дельта-, сигма- и бета-диапазонах. После физической нагрузки имело место повышение СМ ЭАМ в тета- и сигма-диапазонах, снижение отмечалось в гамма-диапазоне частот. Кроме этого происходило повышение Ког ЭАМ в бета-диапазоне, а в полосе 4-13 Гц повышение было по всей коре. Вероятно, действие Идебена ве-

дёт к снижению уровня функционального напряжения, вызываемого предельными физическими нагрузками.

Гематология и биохимия

Данные тесты позволяют судить об изменениях внутренней среды организма.

Анализы выполнены автоматическими системами, что исключает «субъективный фактор». Гематологические показатели определяются на анализаторах GRANIS 3 и BC-3200, биохимия – ChemWell+. Перед проведением анализов животные подвергаются пищевой депривации 12-16 часов. На основании полученных результатов можно судить о воздействии того или иного препарата на организм и оценить течение интимных процессов межклеточного обмена. Основные показатели приведены в табл. 4.

Как видно из таблицы 4, достоверные данные по гематологическим показателям наблюдаются только в группе,

Таблица 4

Влияние исследованных препаратов на гематологические и биохимические показатели крови крыс

Показатель	Контроль	Мексикор	Идебенон	Эпокрин
Г Е М А Т О Л О Г И Я				
Эритроциты	5,54±0,02	5,54±0,13	5,75±0,1	7,33±0,21
Гемоглобин	14,7±0,48	15,4±0,34	14,5±0,24	20,3±0,81
Лейкоциты	16,1±1,64	16,26±1,83	13,6±3,35	17,4±1,15
Тромбоциты	189±16,1	189±14,6	185±23	381±51,3
Б И О Х И М И Я				
АЛТ	69,1±8,3	71,5±8,58	70,9±10,8	69,6±4,7
АСТ	162±19	140±16,4	155±24,1	146,2±10
Креатинин	39,7±15,3	34±9,45	37±11,2	19±3,7
ЩФ	325±63	255±49,5	283±38	246±20
Лактат	18±1,5	22,6±3,41	18,2±1,9	17±4,1
Мочевина	30±6,7	21,7±2,20	40±10,4	31±1,41
Триглицериды	77±11	89,7±9,56	53±7,84	66±3,51

получавшей Эпокрин. Как и следовало ожидать, увеличивается количество эритроцитов и тромбоцитов, а так же повышается гемоглобин. Достоверных отличий по биохимическим показателям не наблюдается, однако можно отметить тенденцию к уменьшению креатинина в группе «Эпокрин», уменьшение мочевины в группе «Мексикор» и увеличение мочевины в группе «Идебенон».

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НА МИНИ-СВИНЬЯХ SG/Y

С целью подтверждения эффективности исследованных препаратов на работоспособность и работу «до отказа» на крупных животных, проведены исследования на мини-свиньях SG/Y.

Животных принудительно заставляли бегать по беговой дорожке (Торнео Т-203, производства Япония), до начала введения препаратов, а далее через каждые

7 дней. Измеряли артериальное давление, показатели пульса, ЭКГ, расхода калорий, время утомляемости, дистанцию. Скорость движения ленты беговой дорожки составляла – 9 км/час. Было отобрано 9 мини-свиней светлогорской популяции(самцы) живой массой $16 \pm 0,6$ кг.

Препараты животным вводили внутримышечно.

1 группа (Мексикор) – ежедневно в дозе 100 мг/кг на протяжении 7 и 14 дней.

2 группа (Идебенон) – ежедневно в дозе – 1,5 мг/кг на протяжении 7 и 14 дней.

3 группа (Эпокрин) – ежедневно в дозе – 1000 мкг/животное на протяжении 7 и 14 дней. В контрольной группе вводили физраствор.

Здесь приводятся результаты по оценке эффективности препаратов после семидневного введения для Мексикора и Идебенона и после двадцатидневного введения Эпокрин.

Таблица 5

Влияние препаратов на время и протяженность бега мини-свиней

Препарат	Время бега, мин	Протяженность бега, м
Контроль	$30,5 \pm 4,1$	4540 ± 520
Мексикор	$34,1 \pm 3,2$	4910 ± 380
Идебенон	$36,8 \pm 3,6$	6020 ± 440
Эпокрин	$35,1 \pm 2,8$	5176 ± 290

Анализ полученных результатов указывает на то, что Мексикор увеличивал время бега мини-свиней в режиме «до отказа» на 107,6%, тогда как преодолеваемая ими дистанция возрастала на 107,7%. Более выраженное действие оказывал Идебенон, после введения которого время бега увеличилось на 120,8%, а протя-

женность пробега возрастала на 132,6%, что говорит об увеличении интенсивности двигательной активности животных. При введении Мексикора и Эпокрин на время бега увеличивалось на 111,8% и 115,0%, соответственно, а преодолеваемая во время бега дистанция – на 108,2% и 114,0%, соответственно.

Технологическая схема скрининга дженериков

Планирование и выполнение исследований по скринингу дженериков с целью выявления тех или иных свойств требует несколько иных подходов в сравнении с первичным скринингом химических соединений. На рис. 9 представлена технологическая схема «вторичного скрининга» дженериков с целью поиска их влияния на выносливость организма при предельных и за предельных нагрузках. На основе анализа результатов клинических испытаний и мониторинга эффектов дженериков в процессе их клинического использования вырабатываются рекомендации по прогнозированию и оценке искомых эффектов. С учетом генетических полиморфизмов обосновываются генетические показания для их применения, а также оптимизируются дозы с целью уменьшения ожидаемых побочных эффектов.

Постклинические испытания, включающие фармакологические, токсикологические и иные важные тесты, преследуют цель отработки требований валидации дженериков для новых показаний. Экспериментальные исследования включают выявление новых эффектов дженериков, фармакологические и токсикологические характеристики, а также изучение возможных новых механизмов, особенно при комбинированном применении дженериков. После оценки биоэквивалентности, биодоступности, созданных новых лекарственных форм и оценки их лекарственной токсикологии, исследуемые препараты проходят клинические испытания по традиционной схеме. Особая роль в первой – четвертой фазах клинического испытания принадлежит

оценке фармакобезопасности дженериков и фармаконадзору лекарств. Жесткость контроля определяется, наряду с общепринятыми требованиями, еще и тем, что эти препараты ориентированы и предназначены для *здоровых* людей.

Существенным моментом является адекватное использование математических и компьютерных программ, алгоритмов и моделей. В прежних публикациях [2, 3] мы подробно излагали математические основы принятия решений для фармакологических средств. Одним из таких подходов является процесс распознавания на основе использования формулы полной вероятности или формулы Байеса [2]. Функция Байеса позволяет сопоставить разноразмерные количественные и качественные показатели и на их основании осуществить построение математических моделей (рис. 9).

В последнее время хорошо разработан и достаточно широко используется для создания компьютерных моделей метод Монте-Карло. Стохастический алгоритм интегрирования методом Монте-Карло применяется при наличии многих (N) биомедицинских измерений в ограничении n -мерным параллелепипедом, площадь которого S_n включает в себя все многообразие экспериментальных данных. В этом случае построение искомой модели методом Монте-Карло осуществляется по формуле $S = S_n(K/N)$, где K – число экспериментальных точек под графиком функции. Метод Монте-Карло приложим к анализу сложных биологических систем или явлений, когда иные математические приемы слишком громоздки и трудоемки, к которым относятся процедуры первичного и «вторичного» скрининга дженериков. Для метода Монте-Карло имеется хорошо разработанный математический ап-

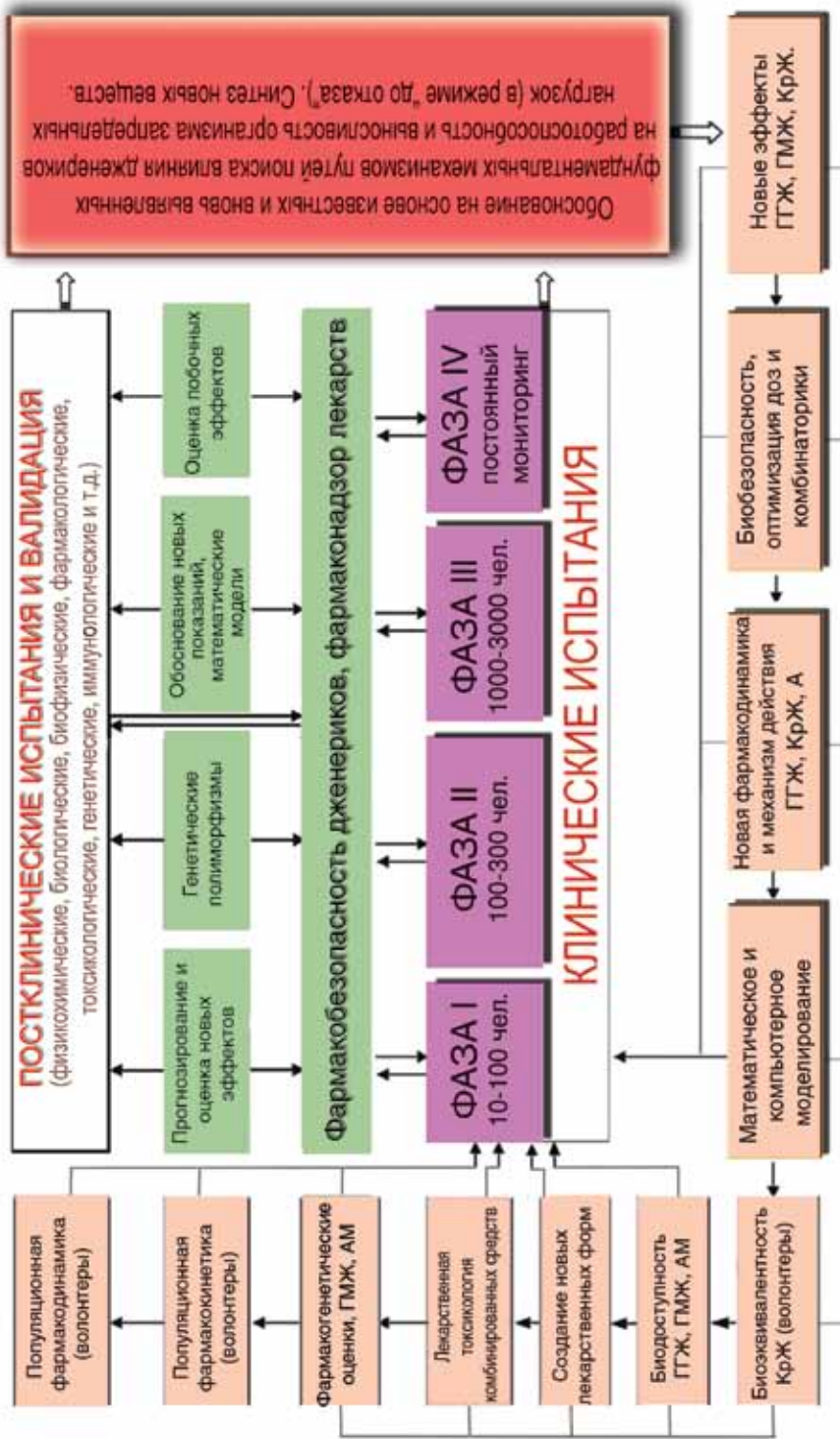


Рис. 9. Технологическая схема проведения «вторичного» скрининга дженериков.

Обозначения: ГГЖ – гетерогенные животные, ГМЖ – генетически модифицированные животные, КрЖ – крупные животные (мини-свиный, собаки), АМ – альтернативные модели.

парат и качественный продукт для компьютерной обработки.

Подобный подход имеет не только познавательное и научно ориентированное значение, но отражает один из основных принципов фармакоэкономики. Иными словами затратность подобных исследований для получения высокоэффективных средств многократно выше, чем путь первичного скрининга вновь создаваемых соединений химического, минерального или биологического происхождения. Достоинством предлагаемого подхода, как показывает наш опыт, является возможность направленного создания новых лекарственных средств на основе хорошо изученных дженериков, например, в виде наноинженерных структур и соединений [3]. Этот путь оказывается не только экономически оправданным, но и фундаментально более достойным.

Автор благодарен за корректное и качественное экспериментальное воплощение его идей С.Е.Деньгиной, Л.Ф.Казаковой, Г.Д.Капанадзе, Н.В.Касинской, Д.С.Сахарову, Х.Х.Семенову, А.О.Ревякину, А.А.Рожкову, Ю.В.Фокину. Особая благодарность Е.Л.Матвеевко за обработку и статистический анализ полученных данных.

Список литературы

1. *Думенко В.Н.* Высокочастотные компоненты ЭЭГ и инструментальное обучение. – М.: Наука, с. 29, 2006.
2. *Каркищенко Н.Н.* Альтернативы биомедицины. Т.1. Основы биомедицины и фармакомоделирования. – М.: Изд-во ВПК, 2007. 319 с. Т.2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. – М.: Изд-во ВПК, 2007. 447 с.
3. *Каркищенко Н.Н.* Наноинженерные лекарства: новые биомедицинские инициативы в фармакологии // Биомедицина № 2, 2009, с. 5-27.
4. Лекарства и БАД в спорте / Под ред. *Р.Д.Сейфуллы, З.Г.Орджоникидзе* – М.: Терра, 2003.
5. *Марков Г.В., Романов В.И., Гладков В.Н.* Система восстановления и повышения физической работоспособности в спорте высших достижений: методическое пособие. – М.: Советский спорт, 2009. – 52 с.
6. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. *Н.Н.Каркищенко, С.В.Грачева.* – М.: Профиль–2С, 2010, 358 с.
7. *Сарвилина И.В., Каркищенко В.Н., Горшкова Ю.В.* Междисциплинарные исследования в медицине. – М.: Техносфера, 2007. 368 с.
8. *Сейфулла Р.Д., Орджоникидзе З.Г., Эмирова Л.Р., Рожкова Е.А., Сейфулла А.Р.* Мониторинг и фармакологическая коррекция факторов, лимитирующих спортивную работоспособность. – М., 2005.
9. *Adler F. and Anisko J.,* The behavior of communicating: an analysis of 22 kHz call of rats (*Rattus Norvegicus*). *Amer Zool* 19, 1979, pp. 493–508.
10. Alternate Pathways For Anabolism – Mind and Muscle Forums some times, the obvious thing is not known, example, androgens down regulates myostatin. – *J Anim Sci.*2006 Apr; 84 Suppl: E140-9.
11. *Bogdanovich S., Krag T.O., Barton E.R., Morris L.D., Whitemore L.A., Ahima R.S., Khurana T.S.* Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature*, 2002, 420, 418-421.

12. *Calvino et al., 1996B. Calvino, J.M. Besson, A. Boeher and A. Depaulis*, Ultrasonic vocalization (22–28 kHz) in a model of chronic pain, the arthritic rat: effects of analgesic drugs. *NeuroReport* 7 (1996), pp. 581–584.
13. *Haney M. and Miczek K.A.*, Ultrasounds emitted by female rats during agonistic interactions: effects of morphine and naltrexone. *Psychopharmacology* 114 (1994), pp. 441–448.
14. *Kim D., Rossi J.*, RNAi mechanisms and applications. *Biotechniques*, 2008., 44, 613-616.
15. *Rhoads R.P., Johnson R.M., Rathbone C.R., Liu X., Temm-Grove C., Sheehan S.M., Hoying J.B., Allen R.E.* Satellite cell-mediated angiogenesis in vitro coincides with a functional hypoxia-inducible factor pathway/ *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296:C1321-8.
16. *Sato F., Kurakawa M., Yamauchi N., Hattori M.A.* Gene silencing of myostatin in differentiation of chicken embryonic myoblasts by small interfering RNA. *Am.J.Physiol. Cell Physiol*, 2006., 291, C538-C545.
17. *Springer Jochen; Adams Volker; Anker Stefan D. Stefan* Anker-research profile on BimedExprets Myostatin: Regulator of muscle wasting in heart Failure and treatment target for cardiac cachexia. *Circulation* 2010; 121 (3):354-6.
18. *Tatsumi R, Allen RE.* Active hepatocyte Growth factor is present in skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve*, 2004., 30:654-8.
19. *Tatsumi R., Lui X., Pulido A., Morales M., Sakata T., Dial S., Hattori A., Ikeuchi Y., and Allen R.E.* Satellite cell activation in stretched muscle and the role of nitric oxide and hepatocyte growth factor. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*, 2006., 290: C 1487-94.
20. *Yamada M, Sankoda Y, Tatsumi R, Mizunoya W, Ikeuchi Y, Sunagawa K, Allen R.E.* Matrix metalloproteinase-2 mediates stretch-induced activation of skeletal muscle satellite cells in a nitric oxide-dependent manner, *Int J Biochem Cell Biol*, 2008., 40:2183-91.

Pharmacology of adaptation processes and endurance of maximum loads in sports and operating mode «to overflowing»: the second time for generics

N.N.Karkischenko

For the purpose of optimization of search of the new pharmacological means raising physical and psycho-emotional endurance in an operating mode "to overflowing", the technological scheme of screening among generics (is offered Meksikor, Idebenon, Epokrin etc.), and also miostatin-blocker: Mioblast. For the subsequent extrapolation results of optimization of restoration and management processes of a functional condition of laboratory animals organism systems are presented to special group preparation for power departments, rescuers of the Ministry of Emergency Measures sports of the higher achievements,.

Keywords: pharmacology of adaptation to maximum loads, "secondary" generics screening, the technological scheme of search of means of improvement of endurance and restoration for sportsmen, rescuers and special troops.