

doi : 10.52485/19986173_2022_2_34

УДК 613.731;615.31

Геращенко А.Д., Шабанова Н.Б.

ВЛИЯНИЕ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ VMA-10-18 НА ВЫНОСЛИВОСТЬ МЫШЕЙ В ТЕСТЕ «БЕГ НА ТРЕДБАНЕ» С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ОЦЕНКОЙ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

Цель. Оценить влияние нового соединения VMA-10-18 на работоспособность мышечной системы в тесте «Бег на тредбане» с последующей оценкой некоторых биохимических показателей животных.

Материалы и методы. Физическая нагрузка воспроизводилась на модели теста «Бег на тредбане» с последующим забором крови и оценкой биохимических показателей. Исследуемое соединение и препарат сравнения вводили *per os* в соответствующих дозировках 10 мг/кг и 25 мг/кг за 1 час до выполнения физической нагрузки на протяжении 10 дней. Предварительную оценку лактат-иона и глюкозы осуществляли перед началом бега животных (1-й день) и после окончания десятидневного эксперимента.

Результаты и обсуждения. В ходе исследования было установлено, что применение исследуемого соединения в дозе 10 мг/кг повышало выносливость животных в эксперименте, что подтверждается увеличением продолжительности бега мышечной системы. Пик физической активности группы, получавшей изучаемое соединение, был выше в 2,6 раза ($p < 0,05$), относительно дня максимальной выносливости группы негативного контроля. Необходимо отметить, что лактат, а также уровень глюкозы, после перенесенной физической нагрузки в данной группе, был ниже в 3,3 ($p < 0,05$) и 1,8 раз ($p < 0,05$), в сравнении с группой негативного контроля.

Заключение. VMA-10-18 повышает работоспособность и выносливость животных на фоне истощающих нагрузок, корректируя при этом возникающие метаболические нарушения.

Ключевые слова: VMA-10-18, работоспособность, физическая нагрузка, Метапрот®, мышцы

Gerashchenko A.D., Shabanova N.B.

INFLUENCE OF THE NEW COMPOUND VMA-10-18 ON THE ENDURANCE OF MICE IN THE TREDBAN TEST WITH SUBSEQUENT ASSESSMENT OF SOME BIOCHEMICAL INDICATORS
Pyatigorsk medical and pharmaceutical Institute is a branch of the Volgograd state medical University, 11 Kalinina Ave., Pyatigorsk, Stavropol region, Russia, 357532

The aim of the research. Evaluate the impact of the new connection VMA-10-18 on performance mice in the test «Running on a treadmill» with subsequent evaluation of some biochemical parameters of animals.

Materials and methods. Physical activity was reproduced on the model of the test «Running on a treadmill» with subsequent blood sampling and assessment of biochemical parameters. The test compound and reference drug were administered *per os* at the respective doses of 10 mg/kg and 25 mg/kg 1 hour before exercise for 10 days. Preliminary assessment of lactate ion and glucose was carried out before the animals started running (day 1) and after the end of the ten-day experiment.

Results and discussions. During the study, it was found that the use of the test compound at a dose of 10 mg/kg increased the endurance of the animals in the experiment, as evidenced by the increase in the duration of the running of mice. The peak physical activity of the group receiving the studied compound was 2.6 times higher ($p < 0.05$) relative to the day of maximum endurance of the negative control group. It should be noted that lactate, as well as the level of glucose after exercise in this group, was lower by 3.3 ($p < 0.05$) and 1.8 times ($p < 0.05$), compared with the negative group. control.

Conclusion. VMA-10-18 improves the performance and endurance of animals against the background of debilitating loads, while correcting the resulting metabolic disorders.

Keywords: VMA-10-18, working capacity, physical activity, Метапрот®, mice

Чрезмерные физические нагрузки и психоэмоциональное напряжение, которое отмечено при них, приводит к угнетению центральной нервной системы. В результате наблюдается ухудшение координации движений, изменяется способность к обучению. Отмечается также, что существенное влияние нагрузки оказывают на иммунную систему [1], на сердечно-сосудистую [2-4]. Ввиду этого повышается частота сокращений сердца, увеличивается интенсивность кровотока [5] и отмечается повреждающее действие в отношении эндотелия. Усиленная мышечная работа также приводит к регистрации гипоксических явлений, с чем связано накопление недоокисленных продуктов обмена (молочная кислота, неорганические фосфаты и тд) [6-8]. Перечисленные последствия в совокупности приводят к снижению работоспособности, выносливости, сбою в работе многих систем организма.

В связи с этим актуальным является вопрос поиска соединений, которые бы не только повышали физическую работоспособность и выносливость, но при этом имели способность нивелировать возникшие на фоне нагрузки метаболические нарушения.

Целью данного исследования явилось изучение влияния нового соединения VMA-10-18 на выносливость мышей в тесте «Бег на тредбане» с последующей оценкой некоторых биохимических показателей животных.

Материалы и методы. Объектом исследования были лабораторные беспородные мыши-самцы массой 23-25 г. Животные содержались в виварии ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ. Все экспериментальные животные, в процессе проведения эксперимента, содержались в стандартных условиях вивария на полноценном сбалансированном комбинированном рационе в соответствии с рекомендациями ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ в помещении с температурой + 20-24°C с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях. С целью моделирования физической нагрузки животные всех 4-х групп подвергались бегу на тредбане. Первый бег мышей проводился с целью рандомизации по устойчивости к физической нагрузке. После чего было сформировано четыре равные экспериментальные группы. Первая группа – интактный контроль (ИК); вторая группа негативный контроль (НК), которая подвергалась физической нагрузке (бегу на тредбане), но получала на всем протяжении 0,9 % раствор натрия хлорида в эквимолярном объеме; третья получала исследуемое синтетическое соединение VMA-10-18 в дозировке 10 мг/кг; четвертая группа получала референтный препарат Метапрот® в дозировке 25 мг/кг [10] (ФАРМРОЕКТ, Россия). Экспериментальные дозы были выбраны с учетом ЛД₅₀ для данных соединений (1/30 от ЛД₅₀) и ранее проведенных исследований. Исследуемые соединения и препарат сравнения животные получали интрагастрально за 1 час до выполняемой физической нагрузки. Физическую работоспособность оценивали в условиях моделирования истощения в модели «Бег на тредбане» до отказа в течение 10 дней [11-13]. До начала эксперимента во всех группах проводилась предварительная оценка лактат-иона и глюкозы у мышей. Также подобный забор крови и оценка биохимических показателей осуществлялась на 10-й экспериментальный день после воспроизведенной физической нагрузки.

Содержание лактата определяли с помощью стандартного набора реагентов «Молочная кислота Абрис +». Оптическую плотность (E) измеряли спектрофотометрически при длине волны 500 нм. Расчет содержания молочной кислоты проводили по формуле:

$$C = 3,34 * \frac{E \text{ пробы}}{E \text{ калибратора}} \text{ (ммоль/л)}.$$

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики. Межгрупповые различия анализировались параметрическими или непараметрическими методами, в зависимости от типа распределения. В качестве параметрического критерия использован критерий Стьюдента. В качестве непараметрического критерия – U-критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение. Группа интактных животных подвергалась физическим нагрузкам группами (каждый день $n=3$, во второй день бега другие $n=3$ и т.д.). На протяжении 10-дневного эксперимента продолжительность бега животных статистически значимо не изменялась, что отражено на рисунке 1.

В группе негативного контроля, не подвергавшейся фармакологической поддержке, выносливость мышей-самцов повышалась с первого экспериментального дня по третий, при этом пик активности был отмечен на 3-й день и составил $137,9 \pm 2,3$ сек. С 4-го дня выносливость животных стала заметно снижаться, что, по-видимому, может свидетельствовать о развитии постепенного утомления мышей. К концу эксперимента (10-й день) время бега животных было статистически значимо ниже в 1,6 раз, относительно первого дня бега данной группы ($p < 0,05$).

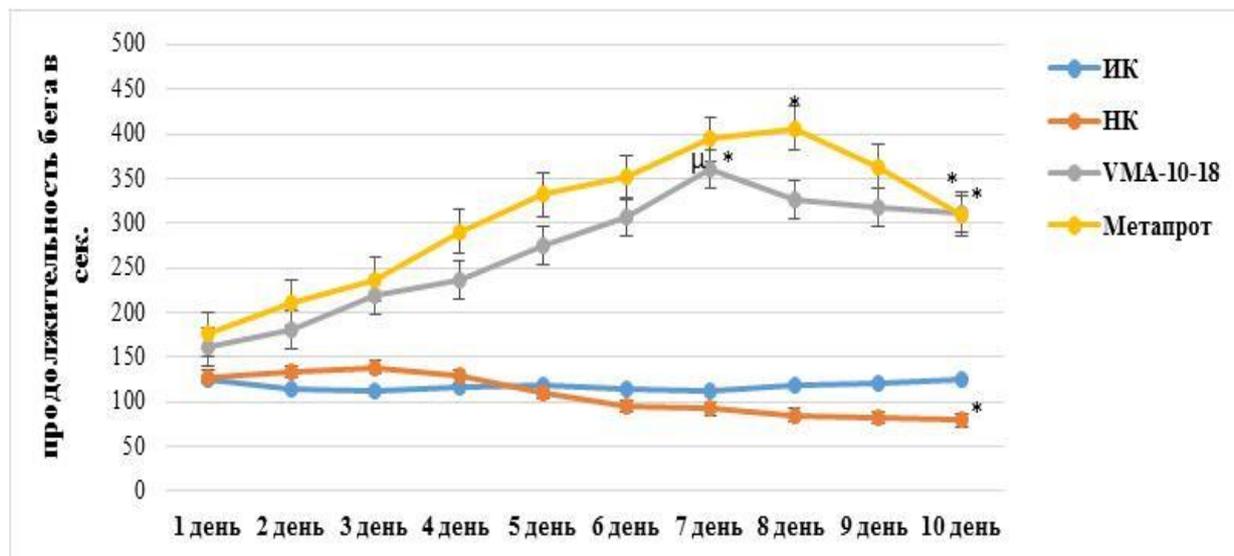


Рис. 1. Изменение выносливости мышей в тесте «Бег на тредбане» на фоне применения исследуемого соединения и препарата сравнения.

Примечание: *— статистически значимо, относительно фонового показателя данной группы (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ—статистически значимо относительно пикового дня группы мышей НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$).

В группе мышей, получавшей исследуемое синтетическое производное под шифром VMA-10-18, было отмечено постепенное повышение выносливости животных с 1-го дня введения соединения. Пик наибольшей продолжительности бега наблюдался на 7-й экспериментальный день и составлял $360 \pm 3,2$ сек, что было выше относительно первого дня бега данной группы в 2,2 раза ($p < 0,05$), и в 2,6 раз выше аналогичного показателя группы НК. В последующие дни резкого падения выносливости животных не наблюдалось. К 10-му дню эксперимента продолжительность бега мышей данной группы была выше в 1,9 раз ($p < 0,05$) относительно фонового времени.

Применение референтного препарата Метапрот® способствовало повышению тренированности животных на всем протяжении эксперимента. Было отмечено, что выносливость животных линейно увеличивалась с 1-го дня эксперимента, при этом пиковая активность мышей была отмечена на 8-й день, что было выше относительно фонового значения в 2,3 раза ($p < 0,05$). Стоит также отметить, что время бега конечного дня эксперимента группы, получавшая Метапрот®, было выше в 1,8 раз ($p < 0,05$) относительно 1-го дня эксперимента.

При сравнении показателя пиковая выносливость в группе, получавшей исследуемое соединение под лабораторным шифром VMA-10-18, с группой, получавшей Метапрот®, а

также конечного времени эксперимента в данных группах, статистически значимых отличий отмечено не было.

После теста «Бег на тредбане» были оценены некоторые метаболические показатели в крови. Было установлено, что уровень лактат-иона и глюкозы у мышей до выполнения физической нагрузки во всех группах статистически значимо не изменялся.

В группе интактных животных изменения уровня лактата и глюкозы, как до физической нагрузки (ФН), так и после не претерпевали достоверных изменений.

В группе животных НК было отмечено повышение молочной кислоты и глюкозы после нагрузки относительно фонового значения в 12,4 ($p < 0,05$) и 3,0 ($p < 0,05$) соответственно.

Введение исследуемого соединения VMA-10-18 на протяжении 10 дней лабораторным животным привело к повышению уровня как лактата – в 3,5 раза ($p < 0,05$), так и глюкозы в 1,6 ($p < 0,05$) относительно исходных значений данной группы (рисунок 2). При этом необходимо отметить, что после воспроизведения нагрузок данные показатели были ниже относительно аналогичных группы НК в 3,3 раза ($p < 0,05$) (лактат-ион) и в 1,8 раза ($p < 0,05$) (глюкоза).

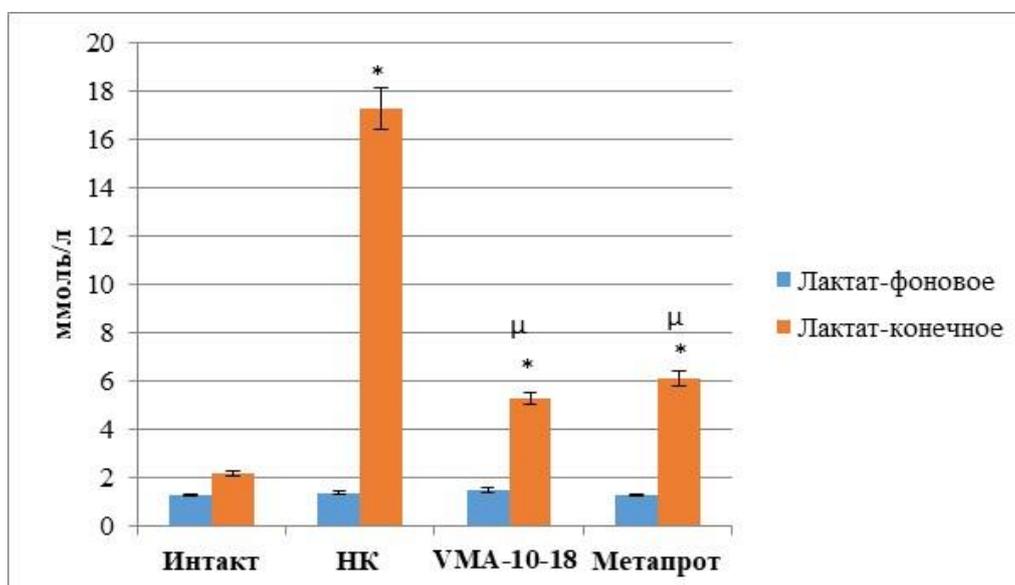


Рис. 2. Влияние исследуемого соединения и препарата сравнения на изменение концентрации лактат-иона до и после воспроизведения физической нагрузки у мышей

Примечание: * - статистически значимо относительно фонового значения данной группы (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ - статистически значимо относительно конечного значения группы мышей НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$).

На фоне применения препарата сравнения Метапрот® после ФН наблюдалось увеличение содержания лактата в 4,7 раза ($p < 0,05$), и глюкозы в 1,4 раза относительно фоновых значений данной группы. В сравнении с группой мышей НК показатель лактата и глюкозы был ниже в 2,8 раз и 2,2 раза ($p < 0,05$), соответственно (рисунок 3).

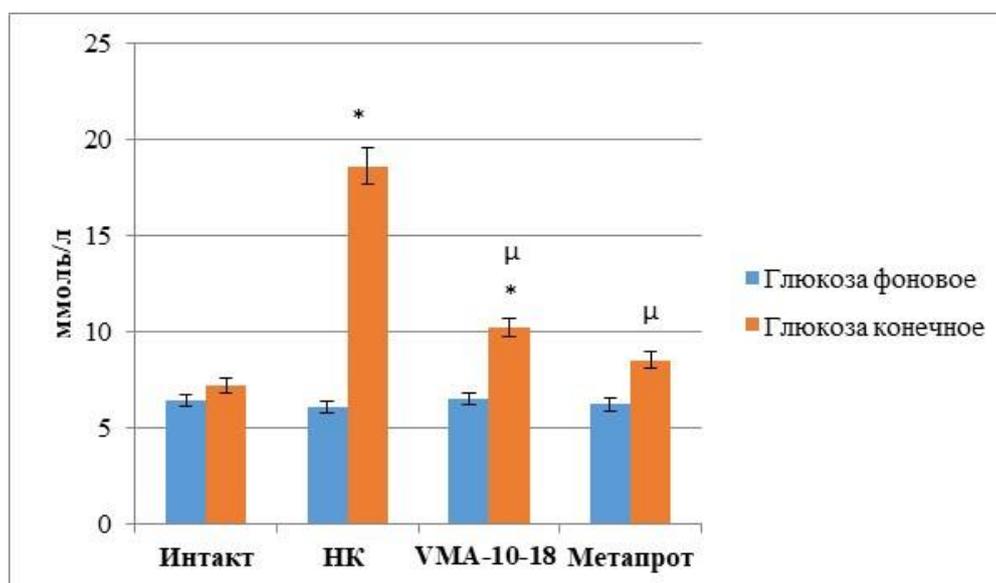


Рис. 3. Влияние исследуемого соединения и препарата сравнения на изменение концентрации глюкозы до и после воспроизведения физической нагрузки у мышей.

Примечание: *- статистически значимо относительно фонового значения данной группы (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ - статистически значимо относительно конечного значения группы мышей НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$).

Статистически значимых отличий между группами животных, получавших исследуемое соединение VMA-10-18 и Метапрот® по биохимическим показателям после воспроизведенной ФН, отмечено не было.

Выводы.

1. Курсовое 10-дневное введение мышам синтетического производного VMA-10-18 в дозировке 10 мг/кг позволило повысить работоспособность и выносливость у животных, это подтверждается тем, что к концу эксперимента продолжительность бега мышей была выше, относительно исходного (1-й день) в 1,9 раз ($p < 0,05$). При этом, пик физической активности наблюдался на 7-й день, и превышал аналогичный день наивысшей выносливости у животных группы НК в 2,6 раз ($p < 0,05$).
2. Введение VMA-10-18 на фоне длительных аэробных нагрузок привело к снижению молочной кислоты и повышению уровня глюкозы, в сравнении с группой негативного контроля, в 3,3 и 1,8 раз ($p < 0,05$) соответственно. При этом статистически значимых отличий между группами, получавшими исследуемое соединение VMA-10-18 Метапрот® по биохимическим показателям, после воспроизведенной ФН, отмечено не было.
3. Таким образом, данные, полученные в результате эксперимента, позволяют рекомендовать исследуемое соединение в качестве средства, повышающего работоспособность, при этом корректирующего возникшие метаболические сдвиги, что несомненно, представляет интерес для более углубленного изучения данного производного.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело финансовой поддержки.

Вклад авторов:

Герашенко А.Д. – 60 % (сбор данных, анализ литературы по теме исследования, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Шабанова Н.Б – 40 % (сбор данных, анализ литературы по теме исследования, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи, техническое редактирование).

Список литературы:

1. Калинин С.А., Шульгина С.М., Антропова Е.Н., Рыкова М.П., Садова А.А., Орлова К.Д., Яздовский В.В., Кофиади И.А. Состояние системы иммунитета человека и животных при физических нагрузках различного генеза. Иммунология. 2019. 40 (3). 72-82.
2. Тюренок И.Н. Методический подход к оценке эндотелиальной дисфункции в эксперименте. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2008. 71(1). 49-51.
3. Дзугкоев С.Г., Можаяева И.В., Такоева Е.А., Дзугкоева Ф.С., Маргиева О.И. Механизмы развития эндотелиальной дисфункции и перспективы коррекции. Фундаментальные исследования. 2014. 1 (4). 198-204
4. Ferguson A., Penney R., Solo-Gabriele H. A review of the field on children's exposure to environmental contaminants: a risk assessment approach. Tchounwou PB, ed. International journal of environmental research and public health. 2017.14(3).265. DOI:10.3390/ijerph14030265.
5. Duerschmidt N., Stielow C., Muller G., Pagano P.J., Morawietz H. NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells. The Journal of Physiology. 2006. 557-567.
6. Воронков А.В., Геращенко А.Д. Влияние экстракта тыквы на уровень выносливости и некоторые биохимические показатели крови мышей на фоне физической нагрузки. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019.14(1-2). 270-272.
7. Tangier C., Abel T., Zeller S., Quittmann O.J., Perret C., Strüder H.K. Comparison of Different Blood Lactate Threshold Concepts for Constant Load Performance Prediction in Spinal Cord Injured Handcyclists. Front Physiol. 2019 Sep 27.1054. DOI10.3389/fphys.2019.01054
8. Биохимия мышечной деятельности /под. ред. Н.И. Волкова, Э.Н. Несена, А.А.Осипенко. Изд. Олимпийская литература. 2000. 503.
9. Розенфельд А.С., Рямова К.А. Ацидоз-доминирующий фактор в ограничении мышечной активности. Ученые записки университета им. ПФ Лесгафта. 2015. 10. 162-167.
10. Клиническая фармакология Метапрота: методические рекомендации для врачей / П.Д. Шабанов. СПб.: ВМедА. 2010. 96.
11. Оганов Р.Г., Погосова Г.В. Стресс: что мы знаем сегодня об этом факторе риска? РФК. 2007. 3.
12. Методические рекомендации по доклиническому изучению активности лекарственных средств, повышающих физическую работоспособность / С.В. Чепур с соавт. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: ГрифиК,- 2013. 790-799.
13. Тулесонова А.С., Елбаева П.Ц., Шантанова Л.Н., Банзаракшеев В.Г., Григорьева Т.П., Болдогуев В.М. Актопротекторное действие комплексного растительного средства. Acta Biomedica Scientifica. 2010 (3). 264-266.

References:

1. Kalinin S.A., Shulgina S.M., Antropova E.N., Rykova M.P., Sadova A.A., Orlova K.D., Yazdovsky V.V., Kofiadi I.A. The state of the immune system of humans and animals under physical stress of various origins. Immunologiya.2019. 40 (3). 72-82.in Russian.
2. Tyurenkov I.N. Methodical approach to the evaluation of endothelial dysfunction in the experiment. Ehsperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2008. 71 (1). 49-51. in Russian.
3. Dzugkoev S.G., Mozhaeva I.V., Takoeva E.A., Dzugkoeva F.S., Margieva O.I. Mechanisms of development of endothelial dysfunction and prospects for correction. Fundamental'nye issledovaniya. 2014. 1 (4). 198-204. in Russian.
4. Ferguson A., Penney R., Solo-Gabriele H. A review of the field on children's exposure to environmental contaminants: a risk assessment approach. Tchounwou PB, ed. International

- journal of environmental research and public health. 2017. 14 (3).265. DOI:10.3390/ijerph14030265.
5. Duerschmidt N., Stielow C., Muller G., Pagano P.J., Morawietz H. NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells. *The Journal of Physiology*. 2006. 557-567. DOI: 10.1113/jphysiol.2006.111070
 6. Voronkov A.V., Gerashenko A.D. The effect of pumpkin extract on the level of endurance and some biochemical parameters of the blood of mice during exercise. *Meditinskij vestnik Severnogo Kavkaza*. 2019.14(1-2). 270-272. in Russian.
 7. Tangier C., Abel T., Zeller S., Quittmann O.J., Perret C., Strüder H.K. Comparison of Different Blood Lactate Threshold Concepts for Constant Load Performance Prediction in Spinal Cord Injured Handcyclists. *FrontPhysiol*. 2019 Sep 27.1054. DOI 10.3389/fphys.2019.01054
 8. Biochemistry of muscle activity /pod.red. N. I. Volkova, EH. N. Nesena, A.A. Osipenko. Izd. Olimpijskaya literatura. 2000. 503.inRussian.
 9. Rozenfel'd A.S., Ryamova K.A. Acidosis is the dominant factor in limiting muscle activity. *Uchenye zapiski universitetaim. PF Lesgafta*. 2015. 10. 162-167.in Russian.
 10. Clinical pharmacology of Metaprot: guidelines for physicians / P.D. Shabanov. - SPb.: VMedA. 2010. 96.in Russian.
 11. Oganov R.G., Pogosova G.V. Stress: what do we know today about this risk factor?RFK. 2007. 3.in Russian.
 12. Guidelines for preclinical study of the activity of drugs that increase physical performance/ S.V. Chepur s soavt. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv*. Ch. 1. M.: GrifiK. 2013. 790-799.inRussian.
 13. Tulesonova A.S., Elbaeva P.TS., Shantanova L.N., Banzaraksheev V.G., Grigor'eva T.P., Boldogoev V.M. Actoprotective action of a complex herbal remedy *Acta Biomedica Scientifica*. 2010 (3). 264-266.in Russia