

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛАДАСТЕНА НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК В РАЗНОЙ СТЕПЕНИ УТОМЛЕНИЯ И В УСЛОВИЯХ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Калтыгин М.В.¹, Бегашвили Э.Н.¹, Ветряков О.В.², Фатеев И.В.¹, Ивченко Е.В.¹,
Пивоваров М.А.¹, Малахова И.С.¹

1) Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, улица Лесопарковая дом 4, o.v.vetryakov@mail.ru; 8-812-527-77-15

State Scientific-Research Test Institute of Military Medicine of Department of Defense of the Russian Federation, 195043, St. Petersburg, Lesoparkovaya st., 4, 8-812-527-77-15

2) Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования "Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова". 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6.

Резюме: Исследовано влияние ладастена в диапазоне доз (от 12,5 до 80 мг/кг) на физическую работоспособность лабораторных животных (белых крыс) в тесте «плавание с грузом» и «бег на тредбане». Показано, что однократное внутрижелудочное введение ладастена в дозах от 25 до 80 мг/кг приводит к повышению продолжительности плавания крыс при выполнении многократных физических нагрузок и в условиях воздействия гипобарической гипоксии. Наибольшее положительное влияние на физическую работоспособность получено после введения ладастена в дозах от 42 до 58 мг/кг при выполнении многократных физических нагрузок (в тесте «плавание с грузом») и в дозах от 42 до 68 мг/кг в условиях гипобарической гипоксии (в тесте «бег на тредбане»).

Ключевые слова: ладастен, физическая работоспособность, плавание с грузом, тредбан, актопротекторное действие.

**THE RESEARCH OF LADASTEN EFFECT ON LABORATORY ANIMALS
PHYSICAL WORKING CAPACITY WHILE PERFORMING MULTIPLE PHYSICAL
ACTIVITIES IN VARIOUS LEVELS OF FATIGUE UNDER HYPOBARIC ANOXIA**

Kaltygin M.V.¹, Begashvili A.N.¹, Vetryakov O.V.², Fateev I.V.¹, Ivchenko E.V.¹,
Pivovarov M.A.¹, Malachova I.S.¹

The federal state budget military educational institution of higher education «Military medical academy n. a. S.M. Kirov». Russia, 194044, St. Petersburg, Academician Lebedev st., 6

Abstract: The effect of ladasten in various dosages on physical working capacity of laboratory animals (white rats) was studied in “swimming with a load” test and “treadmill running” test. It was shown that single endogastric administration of ladasten in 12,5–80 mg/kg leads to an increase of duration of rats’ swimming ability while performing multiple physical activities. The most positive effect on physical working capacity was observed following ladasten administration in doses 42–58 mg/kg and in doses 42–68 mg/kg under hypobaric anoxia (in “treadmill running” test).

Key words: ladasten, physical working capacity, “swimming with a load” test, treadmill, actoprotective action.

Введение. Ладастен – N-2-(пара-бромфенил)-N-2-(аминоадамантан) производное адамантана, обладающий актопротективным типом действия с анксиолитическим, психо- и иммуностимулирующим эффектами [2, 3, 4].

Активирующее психотропное действие после однократного применения отмечено не только у классических психостимуляторов. Такой эффект выявлен и у некоторых соединений других фармакологических групп, таких как актопротекторы, в частности, у производных 2-аминоадамантана, к которым относится ладастен [1, 2, 3]. Данный эффект особенно выражен при применении этого препарата в сложных условиях среды обитания и профессиональной деятельности, так как он обладает антиоксидантной, мембраностабилизирующей активностью и оказывает энергосберегающее влияние на расходование фонда макроэргов при интенсивных нагрузках [2, 4, 5]. Ранее ладастен

успешно применялся как средство для повышения физической и умственной работоспособности в спортивной медицине [6, 7].

В ряде работ на животных (мыши, крысы) было показано, что ладастен в широком диапазоне доз (10–50 мг/кг внутривнутрибрюшинно) оказывает стимулирующее влияние на спонтанную двигательную активность животных, сопоставимое с эффектом сиднокарба в аналогичных дозах, но несколько более слабое по сравнению с фенамином, введенным в дозах 1–10 мг/кг. По положительному влиянию на физическую работоспособность крыс и скорость ее восстановления ладастен в оптимальных дозах (10 мг/кг внутривнутрибрюшинно или 50 мг/кг внутривнутрижелудочно) превосходит фенамин (6–12 мг/кг). При этом действие соединения начинается через 60 мин, а максимальный эффект фиксируется через 6 ч после перорального введения [8]. По некоторым наблюдениям, стимулирующее влияние ладастена на физическую работоспособность лабораторных животных в диапазоне доз 10–50 мг/кг изменяется дозозависимо [9, 10]. Ряд исследователей отмечают, что стимулирующее действие ладастена на работоспособность мышей в тестах «бег на тредбане» и «плавание с грузом» проявляется только после его введения в дозе 50 мг/кг, а введение препарата в более низких дозах (10 мг/кг, 25 мг/кг) неэффективно [11, 12]. Противоречивые данные об эффективных дозах по показателям работоспособности, а также особенности влияния ладастена на физическую работоспособность животных при разной степени их утомления и в условиях гипоксии предопределили актуальность проведения настоящего исследования.

Цель. Экспериментально исследовать дозовые диапазоны ладастена в которых проявляется его стимулирующее влияние на физическую работоспособность крыс, при выполнении ими многократных истощающих физических нагрузок – плавании с грузом, а также при беге на тредбане в условиях воздействия на них гипобарической гипоксии.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на беспородных белых крысах-самцах (130 крыс-самцов) массой 180–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде. Всех подопытных и контрольных животных отбирали из одного привоза и содержали на карантине в течение 14 дней. Исследования проводили в осенне-зимний период с постановкой опытов в первой половине дня.

Использовали субстанции адамантилбромфениламина («Эррегиере С.п.А»., Италия, ЛСР-009264/08 от 21.11.2008). При изучении влияния ладастена на физическую работоспособность лабораторных животных введение препаратов осуществляли в

следующих дозах: 12,5; 20,0; 25,0; 37,5; 40,0; 50,0; 60,0; 62,5; 75,0; 80,0 мг/кг. Препараты перед введением растворяли в Tween 80 с добавлением небольшого количества воды и вводили внутривенно через зонд. Животным контрольной группы аналогичным образом вводили растворитель.

Исследование влияния ладастена на физическую работоспособность лабораторных животных (белых крыс) проводили в тесте «плавание с грузом» (груз составляет 8 % от массы животного) и «бег на тредбане» в условиях гипобарической гипоксии (моделирование высоты над уровнем моря 5000 м). Экспериментальные исследования проводились на базе ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ.

Эксперименты по исследованию влияния фармакологических средств на физическую работоспособность крыс в тесте «плавание с грузом» проводили в лабораторных условиях при температуре воздуха 20–24°C, относительной влажности 50-80 %. Нагрузку плаванием осуществляли в бассейнах из оргстекла размером 20×20×60 см (Д×Ш×В) с глубиной слоя воды 50 см. Крысы плавали отдельно, каждая в отдельном сосуде. Тестирование выполняли с 9:00 до 13:00 часов дня. Температуру воды при проведении теста «плавание с грузом» поддерживали постоянной, на уровне 24–26°C. Отягощение грузом было постоянным и составляло 8 % от массы тела животного. В качестве груза использовали свинцовые шарики, крепление груза осуществляли при помощи резинок, которые фиксировали в области корня хвоста. В качестве критериев утомления (отказа) принимали: погружение на дно цилиндра и прекращение двигательной активности на срок более 10 с; невозможность достичь поверхности воды при попытках всплыть в течение 60 с; нарушение координации движения и потеря пространственного ориентирования (вращение вокруг своей оси, «заваливание на бок», пускание пузырей). Оценку эффективности исследуемых препаратов проводили при многократном выполнении теста «плавание с грузом» по следующей схеме: фоновое тестирование (Т0) – введение вещества – перерыв 60 минут – заплыв 1 (Т1) – заплыв 2 (Т2) – заплыв 3 (Т3). Анализ данных полученных в 1-м заплыве позволяет оценить влияния веществ в условиях лёгкой степени утомления животных, во 2-м заплыве – в условиях выраженного утомления; в 3-м заплыве – в условиях умеренного утомления. Сравнение проводили с данными фонового тестирования (Т0) и результатами контрольной группы. Перед проведением исходного тестирования в течение 3-х дней проводили обучение животных плаванию с грузом 8 % от массы тела до утомления. Выбраковку животных проводили по следующим критериям: отказ животного от выполнения плавательной нагрузки; длительность плавания менее 180 с, либо более 420 с в период обучения.

Сущность теста «бег на тредбане» состоит в количественной оценке эффекта положительного влияния исследуемых препаратов на физическую работоспособность белых крыс с использованием экспериментальной модели «бег на тредбане» в условиях действия гипобарической гипоксии. Тредбан помещали в гипобарическую барокамеру, в которой моделировали условия подъема на высоту 5000 м, затем проводили тест «бег на тредбане». Исследование выполнено на тредбане Exer-3/6 OpenTreadmill («Columbus Instruments»). При исследовании эффективности веществ была использована следующая схема проведения эксперимента: с 1-го по 4-й дни эксперимента проводили ознакомительную тренировку животных на тредбане: в течение 10-ти мин при угле наклона ленты беговой дорожки 20° и ее скорости 23 м/мин. Стимулом для бега являлась реакция избегания удара электрическим током при замедлении бега или остановке животного. Животные, у которых в течение 4-х суток не удавалось выработать устойчивого навыка бега на тредбане, выбраковывались. На 5-ый день проводили фоновое тестирование в условиях гипобарической гипоксии – однократный бег на тредбане, в ходе которого для каждого животного рассчитывали «работу», выполненную в ходе тестирования. Далее проводили рандомизацию животных по показателю активности в тесте «бег на тредбане» (основной критерий) и массы тела (вспомогательный критерий). После выполнения фонового тестирования и рандомизации им давали отдохнуть в течение 2-х суток. На 8-ые сутки эксперимента крысам вводили исследуемые вещества, через 60 минут помещали их на тредбан и моделировали в барокамере условия подъема на высоту 5000 м. Проводили контрольное тестирование – однократный бег при скорости ленты 27 м/мин и угле подъема 20° в условиях воздействия гипоксии с расчётом работы в ходе тестирования.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 10.0. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий с помощью критерия Барлетта. В случае соответствия распределения данных нормальному закону и гомогенности дисперсий статистическую значимость различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Стьюденту–Ньюмену–Кейлсу. В остальных случаях использовали анализ по Крускалу–Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Стьюденту–Ньюмену–Кейлсу или Даннета [13, 14]. Описание данных для случаев нормального распределения произведено с помощью средних арифметических и стандартного

отклонения, в остальных – приведены медианы, 25 и 75 квартили. Критический уровень значимости $p \leq 0,05$.

Результаты. После выполнения белыми лабораторными крысами многократных предельных нагрузок строили полиномиальную модель регрессионного анализа. Результаты исследования представлены в таблице 1 и на рисунках 2–4.

Таблица 1 – Влияние однократного введения ладастена на продолжительность плавания (с) крыс в тесте «плавание с грузом», ($M \pm \sigma$, $n=10$)

Группа – доза мг/кг	Фоновый заплыв (до приёма)	1-ый заплыв	2-ой заплыв	3-ий заплыв	Сумма 3-х заплывов
Контроль	294±45	230±49#	95±7#◇	190±32#◇^	515±68
Л–12,5	301±84	265±82	107±22#◇	257±51#^	629±159
Л–25	311±45	303±43	116±13#◇	255±47#◇^	678±60*
Л–37,5	312±53	321±68*	120±27#◇	265±59*#◇^	706±121*
Л–50	312±54	342±79*	123±24#◇	288±64*◇^	752±148*
Л–62,5	305±54	321±57*	115±17#◇	273±51*◇^	708±97*
Л–75	309±58	302±61	127±27#◇	266±81^	694±90*

Примечания:
 1. – Л – ладастен;
 2. – * – различия с контрольной группой значимы, $p < 0,05$;
 3. – # – различия с фоном значимы, $p < 0,05$;
 4. – ◇ – различия с данными 1-го заплыва значимы, $p < 0,05$;
 5. – ^ – различия с данными 2-го заплыва значимы, $p < 0,05$.

Введение ладастена в диапазоне доз от 12,5 до 75,0 мг/кг осуществляли после проведения фонового тестирования. Продолжительность плавания животных во всех группах варьировала от 4-х до 7-ми минут. У животных контрольной группы отмечали снижение времени плавания после введения растворителя на 21,0 % (1 заплыв), 67,0 % (2 заплыв) и 33,0 % (3 заплыв) по сравнению с фоном. Суммарная продолжительность плавания превышала фон на 80,0 %. Введение ладастена не оказывало значимого влияния на изучаемый показатель по сравнению с контролем. Однако при введении в дозах 25,0 и 75,0 мг/кг регистрировали увеличение времени плавания суммарно в 3-х заплывах. В группах животных, которым вводили ладастен в дозах 37,5; 50,0 или 62,5 мг/кг, регистрировали увеличение времени плавания в первом, третьем и суммарно в 3-х заплывах по сравнению с контролем. Наибольшее увеличение отмечали при введении ладастена в дозах 50,0 или 62,5 мг/кг. Общее время плавания животных превышало значения контрольной группы после введения ладастена в дозах 37,5 мг/кг в 1,37 раза, 50,0 мг/кг в 1,46 раза, 62,5 мг/кг в 1,37 раза в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

Проведён регрессионный анализ по абсолютным и относительным (процент от фонового заплыва) данным каждого заплыва. Рассчитаны уравнения и построены графики полиномиальных моделей регрессионного анализа, которые позволили изучить влияние ладастена на физическую работоспособность животных и спрогнозировать его эффект по повышению работоспособности в диапазоне доз (рисунки 1–2). Показано, что введение ладастена в дозах от 27 до 73 мг/кг позволяет восстановить физическую работоспособность животных в 1-м заплыве до исходного уровня (рисунок 2). Наибольшую эффективность (рисунок 4) отмечали после введения препарата в дозах от 42 до 58 мг/кг при утомлении животных в лёгкой степени тяжести (заплыв 1) и на фоне утомления умеренной степени (3 заплыв) в диапазоне от 44 до 56 мг/кг. Следует отметить, что на фоне выраженного утомления введение ладастена в исследуемом диапазоне доз не оказывало значимого действия на физическую работоспособность животных.

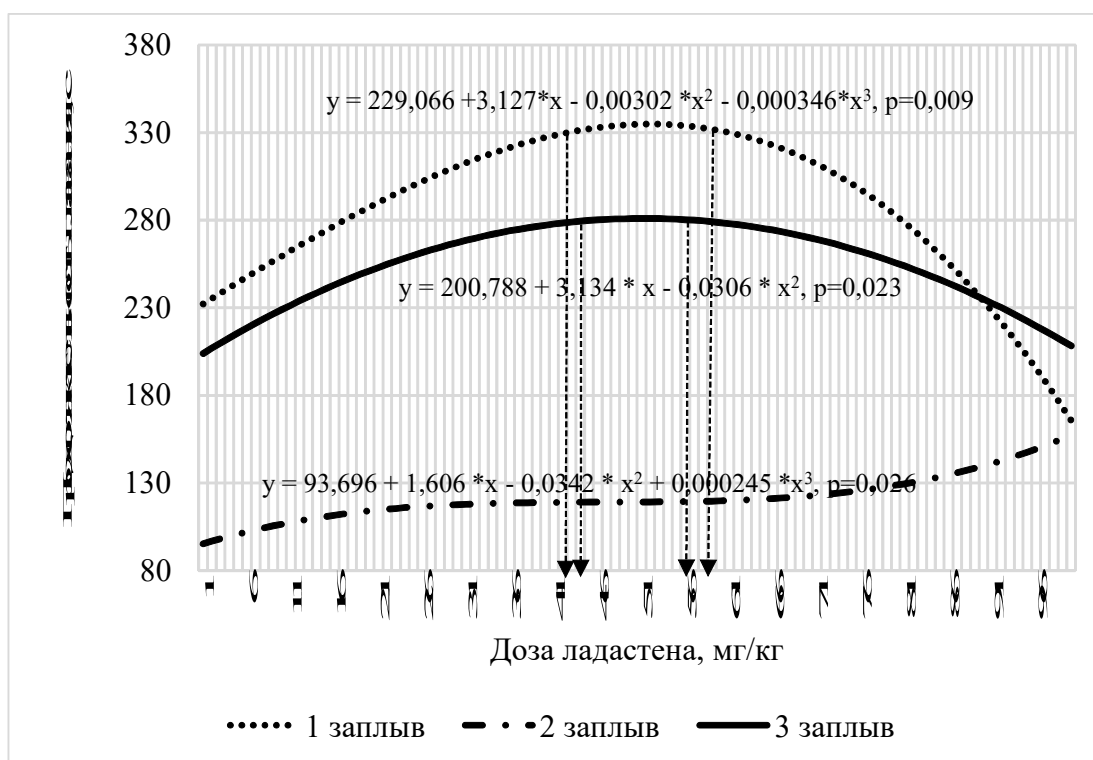


Рисунок 1 – Линии полиномиальных моделей второго и третьего порядков регрессионного анализа по данным продолжительности плавания в первом, втором и третьем заплывах после введения ладастена

Примечание – \uparrow – граница диапазона доз с наибольшей эффективностью ладастена.

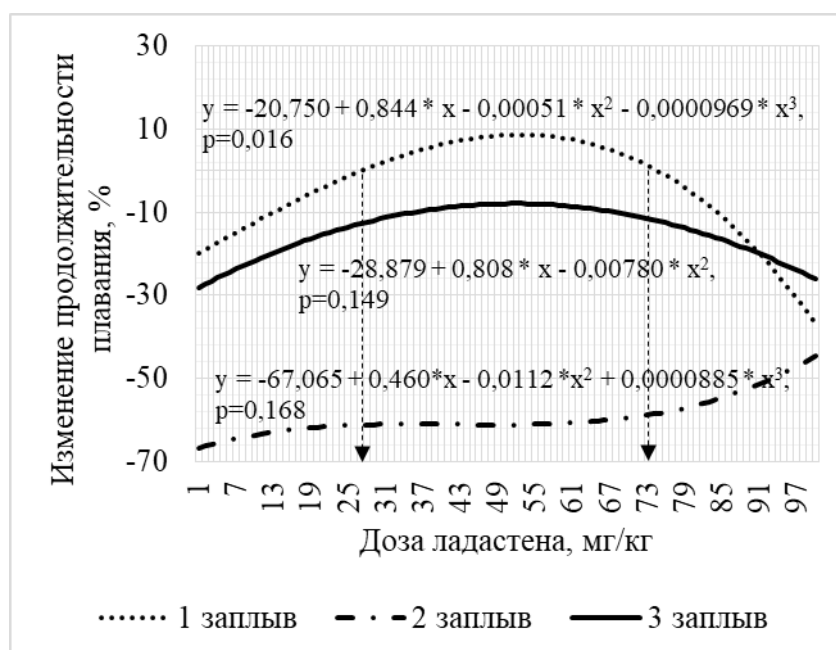


Рисунок 2 – Линии полиномиальных моделей второго и третьего порядков регрессионного анализа по данным разницы (в % от фонового заплыва) в продолжительности плавания животных в первом, втором и третьем заплывах после введения ладастена

Примечание – \uparrow – граница диапазона доз с наибольшей эффективностью ладастена.

Результаты изучения влияния однократного внутрижелудочного введения ладастена на физическую работоспособность крыс в тесте «бег на тредбане» в условиях действия гипобарической гипоксии представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние однократного внутрижелудочного введения ладастена на физическую работоспособность крыс в тесте «бег на тредбане» в условиях действия гипобарической гипоксии (высота 5000 м), n=12, M±σ

Группа, доза мг/кг	Работа, Дж		Прирост по сравнению с контролем, %
	Фон	После приема	
Интактная	150±31#	160±25#	–
Контроль	52±10	51±8	–
Ладастен 20,0	54±7	63±14*	23,3
Ладастен 40,0	55±11	82±30*#	59,6
Ладастен 60,0	53±14	89±28*#	72,6
Ладастен 80,0	54±10	74±12*#	45,1

Примечания:
 1 – * – различия с фоновыми данными значимы, $p < 0,05$;
 2 – # – различия с контрольной группой значимы, $p < 0,05$.

При изучении влияния ладастена на показатель выполненной лабораторными животными работы в условиях умеренно выраженной гипобарической гипоксии было показано, что препарат во всех изученных дозировках способствовал росту изучаемого показателя по сравнению с данными, полученными при фоновом тестировании ($p < 0,05$).

При этом следует отметить, что увеличение дозы ладастена с 20 до 40 и 60 мг/кг повышает показатель, характеризующий выполненную работу, по сравнению с группой контроля на 59,6 и 72,6% соответственно ($p < 0,05$).

Проведён регрессионный анализ по абсолютным и относительным (процент от фонового тестирования) показателя «работы». Рассчитаны уравнения и построены графики полиномиальных моделей регрессионного анализа, которые позволили изучить влияние ладастена на физическую работоспособность животных и спрогнозировать его положительный эффект в диапазоне доз 38–73 мг/кг и 42–68 мг/кг (рисунки 3А и 3Б). Показано, что введение ладастена в дозах от 38 до 73 мг/кг позволяет восстановить физическую работоспособность животных по сравнению с фоновыми данными более чем на 80 % (рисунок 3А). Наибольшая эффективность после введения ладастена прогнозируется в диапазоне доз от 42 до 68 мг/кг (рисунок 3Б).

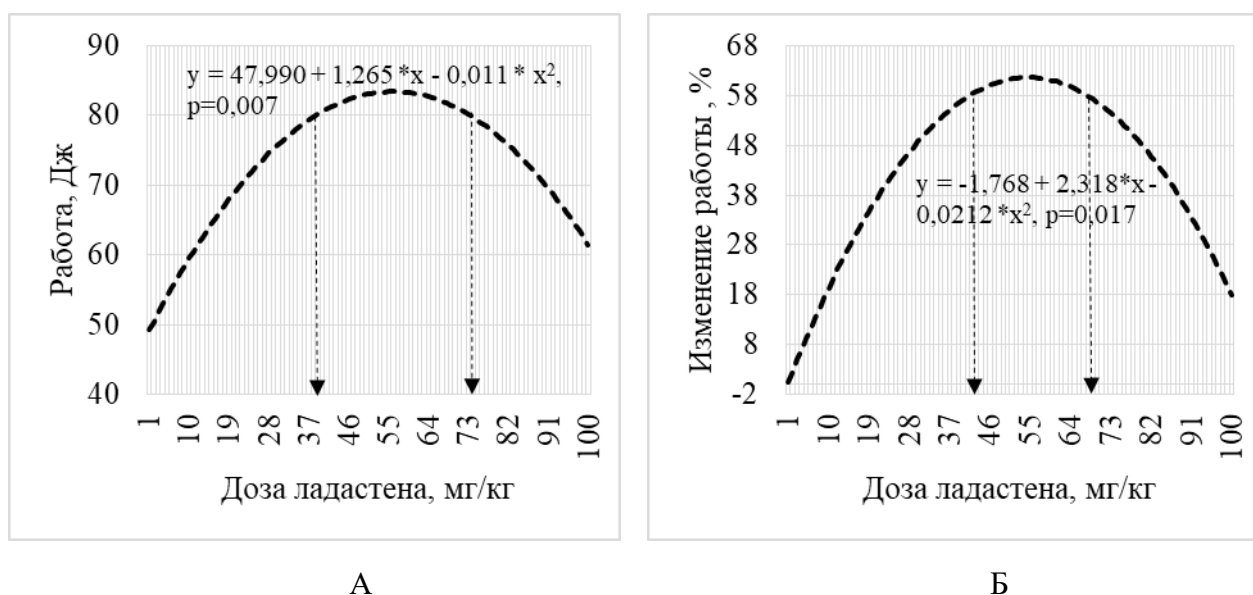


Рисунок 3 – Линии полиномиальных моделей второго порядка регрессионного анализа по данным показателя «работа» (А) и разницы (в % от фонового тестирования) в выполненной работе животными (Б) в тесте «бег на тредбане» в условиях гипобарической гипоксии (5000 м) после введения Ладастена

Выводы.

1. В условиях лёгкой степени утомления животных после однократного внутрижелудочного введения ладастена наибольший эффект повышения физической работоспособности прогнозируется в диапазоне доз от 42 до 58 мг/кг.

2. В условиях умеренной степени утомления животных после однократного внутрижелудочного введения ладастена наибольший эффект повышения физической работоспособности прогнозируется в диапазоне доз от 44 до 56 мг/кг.

3. В условиях выраженной степени утомления животных внутрижелудочное введение ладастена в исследуемом диапазоне доз не способствует повышению физической работоспособности.

4. В условиях моделирования гипобарической гипоксии (5000 м) внутрижелудочное введение ладастена животным приводит к повышению физической работоспособности с максимальным проявлением в диапазоне доз от 42 до 68 мг/кг.

Литература

1. Авторское свидетельство СССР №860446 "Замещенные N-адамантаны, проявляющие психостимулирующую активность", Вальдман А.В., Зайцева Н.М., Климова Н.В. и др. Бюллетень изобретений, 1993. – № 43–44.
2. Морозов И.С., Климова Н.В., Сергеева С.А. и др. Производные адамантана, повышающие устойчивость организма к экстремальным воздействиям // Вестник РАМН. – 1999. – № 3. – С. 28–32.
3. Морозов И.С., Петров В.И., Сергеева С.А. Фармакология адамантанов. – Волгоград, 2001. – 221 с.
4. Морозов И.С., Пухова Г.С., Авдулов Н.А. Механизмы нейротропного действия бромантана // Эксп. клин. фармакол. – 1999. – Т. 62, № 1. – С. 11–14.
5. Васильев П.В. Фармакология в авиационной медицине / П.В. Васильев, Г.Д. Глод, С.И. Сытник // Справочник авиационного врача. – М.: Воздушный транспорт, 1993. – С. 148.
6. Burnat P., Payen A., Le Brumant-Payen C. [et al.]. Bromontan, a new doping agent // Lancet. – 1997. – Vol. 350, № 9082. – p. 963–964.
7. [Oliyynyk S.](#), [Oh S.](#) The pharmacology of actoprotectors: practical application for improvement of mental and physical performance // [Biomol. Ther. \(Seoul\)](#). – 2012. – Vol. 20, № 5. – P. 446–456.
8. Морозов И.С., Клейменова Н.Н. Влияние бромантана на физическую работоспособность лабораторных животных // Эксп. и клин. фармакол. – 1998. – Т. 61, № 6. – С. 51–53.
9. Цублова Е.Г. Изучение актопротекторной активности новых гетероароматических соединений / Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Купавна, 2001. – 23 с.
10. Цублова Е.Г., Иванова Т.Н., Яснецов В.В. [и др.]. Синтез и влияние на физическую работоспособность новых производных 2-амино-6-этоксibenзотиазола // Хим.-фарм. журнал. – 2015. – Т. 49, № 10. – С. 30–33.

11. Катунина Н.П., Бабаниязова З.Х., Аверьянова С.А. [и др.]. Влияние металлокомплексных производных имидазола на физическую работоспособность мышечной по тесту плавания в бассейне // Вестн. МАНЭБ. – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 187–188.
12. Катунина Н.П., Тарасова О.А., Бабаниязова О.А. [и др.]. Влияние металлокомплексных производных имидазола на продолжительность бега мышечной в третбане // Вестн. МАНЭБ. – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 184–185.
13. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л.: Медгиз, 1963. – 152 с.;
14. Гланс С. Медико-биологическая статистика / С. Гланс. – М.: «Практика», 1998. – 459 с.