

DOI: 10.17238/ISSN2223-2524.2019.1.55

УДК: 615.216.5

Разработка и доклинические исследования продукта «Фит Тонус» для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи у высококвалифицированных спортсменов

Э.С. Токаев¹, Т.А. Пушкина², Е.А. Некрасов¹, А.А. Хасанов¹, А.В. Коромыслов³

¹ООО «АКАДЕМИЯ-Т», г. Москва, Россия

²ФГБУ ГНЦ РФ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, ФМБА России, г. Москва, Россия

³ФГБОУ ВО Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, Министерство образования и науки РФ, г. Ярославль, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: разработка и испытания специализированного продукта питания для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи у высококвалифицированных спортсменов. **Материалы и методы:** объектами исследований являлись: 2 рецептуры разработанного специализированного продукта спортивного питания для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи у высококвалифицированных спортсменов в двух дозировках 30 мкг/г и 60 мкг/г; 200 крыс самцов линии Wistar. Исследования проводили в соответствии с официальными и общепринятыми методиками. В ходе работы использовались методы измерения физиологических параметров: артериальное давление, частота сердечных сокращений, температура тела, частота дыхания, ЭКГ; специализированные тесты: «подвешивание за хвост», беговая дорожка «Тредмил», оценка работоспособности и выносливости по показателям вынужденного (предельного) плавания, регистрация координации с помощью прибора Rota-ROD, тесты по оценке высшей нервной деятельности: навигационная память, лабиринт Барнс, тестирование формирования условного рефлекса пассивного избегания, тест «Открытое поле», измерение мышечной силы с помощью прибора Grip-strength meter (тест на силу хватки). **Результаты:** наилучший результат показала группа животных, получавших продукт в рецептуре 2 в дозе 60 мкг/г (содержавший супероксиддисмутазу). У этой группы животных снижалось время иммобилизации при подвешивании за хвост с увеличением длительности преодолеваемой дистанции на тредмиле, повышалось время вынужденного (предельного) плавания, а также увеличивалась локомоторная активность и сила хватки, что свидетельствовало о повышении физической выносливости, работоспособности и нейромышечной передачи. **Выводы:** выявлено, что «Фит Тонус» умеренно снижает уровень ситуативной тревожности мышей и способствует повышению работоспособности и скорости нейромышечной передачи.

Ключевые слова: доклинические исследования, стресс, антистресс, адаптогенные свойства, нейромышечная передача, спортивное питание

Для цитирования: Токаев Э.С., Пушкина Т.А., Некрасов Е.А., Хасанов А.А., Коромыслов А.В. Разработка и доклинические исследования продукта «Фит Тонус» для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи у высококвалифицированных спортсменов // Спортивная медицина: наука и практика. 2019. Т.9, №1. С. 55-64. DOI: 10.17238/ISSN2223-2524.2019.1.55.

Development and preclinical research of a product «Fit Tonus» for correction of a psychophysiological state and neuromuscular transfer in highly skilled athletes

Enver S. Tokaev¹, Tatiana A. Pushkina², Evgeniy A. Nekrasov¹, Adam A. Khasanov¹, Aleksandr V. Koromyslov³

¹«ACADEMY-T» LLC, Moscow, Russia

²State Research Center Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

³Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky, Yaroslavl, Russia

ABSTRACT

Objective: development and tests of a specialized food stuff for correction of a psychophysiological state and neuromuscular transfer in highly skilled athletes. **Materials and methods:** objects of researches were: 2 prescriptions (in two dosages of 30 mkg/g and 60 mkg/g) of the developed specialized product of sports food for correction of a psychophysiological state and neuromuscular transfer in highly skilled athletes; 200 male rats of males of the Wistar line. Researches were conducted according to the official and standard techniques. Following physiological parameters were measured used during the study: arterial blood pressure, heart rate, body temperature, respiration rate, ECG; specialized tests: «suspension for a tail», the Tredmil racetrack, assessment of working capacity and endurance on indicators of the forced (limit) swimming, registration of coordination by means of the Rota-ROD device, tests according to higher nervous activity: navigation memory, a labyrinth Barnes, testing of forming of a conditioned

reflex of passive avoiding, the Open field test, measurement of an animal force by means of the Grip-strength meter device (the test for grasp force). **Results:** the best result was shown by group of the animals receiving the product in a prescription №2 in a dose of 60 mg/kg (containing a superoxide scavenger). In this group of animals immobilization time at suspension for a tail with increase in duration of the overcome distance on the treadmill decreased, time of the forced (limit) swimming raised and also the locomotory activity and force of a grasp increased that demonstrated increase in physical endurance, working capacity and neuromuscular transfer. **Conclusions:** it is revealed that «Fit Tonus» moderately reduces the level of situational uneasiness of mice and promotes increase in working capacity and speed of neuromuscular transfer.

Key words: preclinical research, stress, antistress, adaptogeny properties, neuromuscular broadcast, sports food

For citation: Tokaev ES, Pushkina TA, Nekrasov EA, Khasanov AA., Koromyslov AV. Development and preclinical research of a product «Fit Tonus» for correction of a psychophysiological state and neuromuscular transfer in highly skilled athletes. Sportivnaya meditsina: nauka i praktika (Sports medicine: research and practice). 2019;9(1):55-64. Russian. DOI: 10.17238/ISSN2223-2524.2019.1.55.

1.1 Введение

Спорт высоких достижений, как правило, сопряжен с экстремальными физическими и эмоциональными нагрузками, предъявляющими повышенные требования к состоянию здоровья, работоспособности и выносливости спортсменов. Согласно современной концепции развития спорта, огромное значение в расширении адаптации организма к предельной мобилизации душевных и физических сил в преодолении боли и усталости, направленной на получение высоких результатов имеет персонификация фармакологической и фармаконутриентной поддержки спортсменов [1–3].

Работами зарубежных и отечественных специалистов доказано, что успешное применение высококачественными спортсменами фармакологических препаратов, специализированных продуктов спортивного питания при экстремальных тренировочных и соревновательных нагрузках способствует достижению рекордных результатов на спортивных мероприятиях самого высокого уровня [2, 4].

Однако, несмотря на достигнутые успехи, поиск средств, позволяющих расширить возможности приспособления организма к чрезвычайно большим требованиям спорта высших достижений, продолжаются.

Большое внимание уделяется научному обоснованию использования в составе вновь создаваемых препаратов средств, повышающих не только работоспособность и выносливость, но и корригирующих психофизиологическое состояние и нейромышечную передачу при интенсивных нагрузках у высококвалифицированных спортсменов [4–7].

Первым этапом изучения эффективности разрабатываемых новых препаратов являются доклинические исследования. Так как в настоящее время нет единой регламентированной методики для доклинической оценки выносливости, работоспособности, психофизиологического и эмоционального состояния животных в настоящее время используется вся батарея стандартных тестов для определения исследуемых параметров [8–12].

Комплексное экспериментальное исследование с использованием современных методов оценки физической выносливости, работоспособности, параметров сердечно-сосудистой и дыхательной систем при интенсивной нагрузке у лабораторных животных, а также психоэмоционального состояния и нейромышечной передачи позволяет оценить безопасность и эффективность разработанного продукта для спортивного питания, а также обосновать оптимальную рецептуру и дозы [3, 4, 8, 10, 13].

1.2 Материалы и методы

Объектами исследований в работе явились: две рецептуры специализированного продукта для питания спортсменов «Фит Тонус» представленные в таблице 1.

Таблица 1

Рецептуры разработанного продукта

Table 1

Compoundings of the developed product

Наименование ингредиента/ The name of the ingredient	Рецептура 1/ Prescription 1 (%)	Рецептура 2/ Prescription 2 (%)
Экстракт красного апельсина «Серенцо»/Extract of red orange «Serenzo»	6,39	6,08
Экстракт пихты «Пренолит»/Fir Extract «Prenolit»	61,09	60,79
Экстракт сока дыни/ Melon juice extract	–	1,22
Экстракт виноградных выжимок и кожуры яблок «Винитрокс»/Grape Marc and Apple Peel Extract «Vinitrox»	1,82	1,51
Холин битартрат/ Choline bitartrate	30,7	30,4

Исследование проводили в ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». Использовали лабораторных крыс вида *Rattus sp.* (самцы) линии Wistar возрастом 15 недель. Животные были получены из лицензированного источника, имеющего действующую AAALAC аккредитацию – НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН (МО, г. Пущино). В конце периода введения вещества возраст животных составлял 21 неделю. Количество самцов составило 200. Программа эксперимента была разработана при участии и одобрении биоэтической комиссии НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Животные проходили адаптацию в карантине в течение 5 дней до начала введения препарата. В течение карантинного периода животных подвергали ежедневно внешнему осмотру с целью выявления возможных отклонений в состоянии их здоровья. Условия содержания соответствовали стандарту «ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Экспериментальные группы животных отбирали таким образом, чтобы среднее значение массы тела животных статистически не варьировало между группами.

Животных содержали в контролируемых условиях окружающей среды (20-24°C и 45-65% относительная влажность). В комнатах содержания животных поддерживали режим освещения «день-ночь» (12 часовой цикл). В микроизоляторах обеспечивали 45-ти кратную смену объема воздуха в час. Кормили животных стандартным гранулированным кормом «Чара» (Ассортимент Агро, Россия), который давали *ad libitum*. Контроль работы автоклава при стерилизации кормов проводили с помощью термо-тест-полосок при каждом цикле автоклавирования. Поили животных автоклавированной водопроводной водой, прошедшей цикл дополнительной очистки от избыточных солей жесткости и ионов железа. Вода *ad libitum* в стандартных автоклавированных питьевых бутылочках со стальными крышками-носиками.

Животных идентифицировали цветными метками. Каждому животному присваивали индивидуальный идентификационный номер, фиксируемый на карточке клетки. Также указывали номер исследования, ф.и.о. руководителя исследования, номер группы, пол животных.

Исследования проводили в соответствии с официальными и общепринятыми методиками. В ходе работы использовали методы измерения физиологических параметров: артериальное давление; частота сердечных сокращений неинвазивным методом при помощи хвостовой манжетки на компьютерной установке (КС) «PowerLab 8/35» (ADInstruments Pty Ltd., Австралия); температура тела; частота дыхания и ЭКГ с помощью прибора Biopac MP36; специализированные тесты для оценки нейромышечной передачи: измерение мышечной силы с помощью прибора Grip-strength meter (тест на силу хватки), регистрация координации с помощью прибора Rota-ROD; Для оценки психофизиологического состояния: лабиринт Барнс (оценка навигационной памяти и ориентации), тест «Открытое поле» (тест для изучения локомоторной активности, поведенческих паттернов, уровня тревожности), черно-белый испытательный бокс (тест для определения уровня тревожности животных), проблемная клетка (тест для изучения долговременной и кратковременной памяти), оценка поведения и двигательной активности (ИК, телеметрия); для оценки выносливости и работоспособности: водный лабиринт (тест на вынужденное (предельное) плавание), подвешивание за хвост (тест на выносливость), тредбан (тест на выносливость).

Исследования проводились в 3 этапа:

Этап I. Обоснование состава и исследование безопасности нового продукта «Фит Тонус» при интенсивных нагрузках.

Для оценки безопасности нового продукта проводятся два общепринятых теста:

– фармакологическая безопасность оценивалась по изменению температуры, артериального давления, ча-

стоты сердечных сокращений во всех сериях экспериментов по изучению эффективности нового продукта.

– острая токсичность оценена по способности продукта вызывать гибель животных при однократном введении исследуемого продукта в дозе не менее 2 мг/г.

Этап II. Исследование эффективности разработанного продукта спортивного питания на нейромышечную передачу и психофизиологическое состояние.

Для оценки эффективности нового продукта проведены серии экспериментальных исследований: контрольная серия – крысы в течение 21 дня получали воду и стандартный рацион без добавки тестируемого продукта; опытные серии – крысы в течение 21 дня получали воду и стандартный рацион с добавкой тестируемого продукта в двух рецептурах и двух дозах (Д1 – 60 мкг/г; Д2 – 30 мкг/г) (табл. 2).

Таблица 2

Группы и дозировки

Table 2

Groups and dosages

№ п/п	Группа/Group	Препарат/ Preparation	Доза/Dose
1	Контроль/Control	Вода/Water	–
2	1 группа/Group 1	Рецептура 1/ Prescription 1	60 мкг/г
3	2 группа/Group 2	Рецептура 1/ Prescription 1	30 мкг/г
4	3 группа/Group 3	Рецептура 2/ Prescription 2	60 мкг/г
5	4 группа/Group 4	Рецептура 2/ Prescription 2	30 мкг/г

Этап III. Исследование эффективности разработанного продукта спортивного питания на выносливость и работоспособность.

Серии исследований: контрольная серия – крысы в течение 21 дня получали воду и стандартный рацион без добавки тестируемого продукта; опытные серии – крысы в течение 21 дня получали воду и стандартный рацион с добавкой тестируемого продукта в двух рецептурах и двух дозах.

На данном этапе исследования использовано 50 самцов крыс линии Wistar. Животные были разделены на 5 групп, согласно таблице 2.

Тестируемый препарат вводили перорально (зондом в желудок) ежедневно в течение 21 дня в одно и то же время в первой половине дня.

Использовали кратковременную фиксацию животных продолжительностью не более 10 сек., т.е. времени, которое достаточно для введения *per os* испытуемого препарата. Все животные проходили процедуру адаптации, которая заключалась в неоднократной фиксации животного в течение 10-15 сек.

Контрольным животным давали дистиллированную воду из расчета 0,1 мл на 10 г. веса. В течение всего ис-

следования у животных осуществляли клинический осмотр, регистрировали вес тела, потребление корма и воды.

Клинический осмотр каждого животного проводили перед первым введением и в последующем 1 раз в неделю в течение всего исследования. Он включал подробный осмотр животных в руках и на площадке. Регистрируемые признаки: изменения в коже, мехе, глазах, слизистых оболочках, появление секретов и экскретов, изменения походки, позы и реакции на взятие в руки. Также отмечали проявление и выраженность автономной активности (лакримация, пилоэрекция, размер зрачка, необычный характер дыхания), общую подвижность, исследовательскую активность, уринацию, дефекацию.

Масса тела регистрировалась перед первым введением и еженедельно в последующем (1, 10, 20, 21 дни).

Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (М) и стандартная квадратичная ошибка (SEM). Статистический анализ проводили при помощи программы Statistic Base for Windows on Russian, 6.4 version. Анализ выполняли для каждой группы отдельно. Различия выявлялись при $p < 0,05$ уровне значимости, тенденции при уровне значимости $p < 0,1$ с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок, непараметрического U- критерия Манна-Уитни.

1.3 Результаты и их обсуждение

Обоснован состав специализированного продукта для питания спортсменов «Фит Тонус» из смеси экстрактов винограда и яблока Винитрокс, экстракта цитрусовых Серенцо, экстракта сока дыни, холина битартрата, полипенолов из экстракта пихты. Экстракт сока дыни содержит супероксиддисмутазу, которая является ключевым ферментом, лимитирующим процессы превращения супероксидного радикала в другие активные формы кислорода (прооксиданты), т.к. катализирует реакцию образования перекиси водорода из супероксидного анион-радикала. Экстракт пихты оказывает адаптогенное действие, т.е. повышает неспецифические защитные силы организма к различным неблагоприятным факторам биологической, физической и химической природы. Для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи высококвалифицированных спортсменов в состав продуктов следует включать различные природные антиоксиданты, например, олигомерные проантоцианидины (ОП). Они содержатся в больших количествах в таких растениях как яблоки, виноград, какао и др. и известны достаточно высокой антиоксидантной активностью. За последние годы проведено большое количество исследований, показывающих, что ОП обладают высокой стресс-протекторной, антиатерогенной и гепатопротекторной активностью. Экстракты виноградной косточки и яблока защищают клетки от окислительного повреждения стресса, снижают массовую долю креатинфосфокиназы в клетках и увеличивают в плазме крови уровень гемоглобина, образовавшийся усиленный кровоток улучшает передачу

нервного импульса. Холин – ещё один важный компонент, влияющий на передачу нервного импульса в организме. Холин образуется в организме из метионина. При его недостатке нарушается синтез фосфолипидов и возникает жировая инфильтрация печени. Он входит в состав лецитина, необходимого для построения клеточных мембран и плазмы крови, обладает липотропным действием. Наиболее популярным источником холина является пищевая добавка – фосфатидилхолин. Это вещество улучшает проводимость мембран клеток.

В результате проведения 1 этапа исследования на 30 крысах показано, что при введении животным продукта в двух рецептурах в дозе 2 мг/г не наблюдалось смертности животных, что позволяет отнести разработанный продукт в двух предложенных рецептурах к нетоксичным препаратам (5 класс токсичности согласно классификации OECD Series on Testing and Assessment. No. 33. Harmonised Integrated Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures. ENV/JM/MONO (2001)6).

На 2 этапе в соответствии с дизайном исследования для усиления интенсивности нагрузки животным всех групп давалась сочетанная нагрузка в виде теста подвешивания за хвост с последующим бегом на тредмиле.

Результаты исследования дистанции, которую пробежали животные на тредмиле в 1-й, 10-й и 20-й день тестирования, представлены в таблице 3.

Таблица 3

Дистанция, которую пробежали животные разных групп в различные сроки тестирования (дистанция, м, ME (25; 75%))

Table 3

Race distance of animals of different groups in various terms of testing (distance, m, ME (25;75%))

Группа/ Group	1-й день/ 1 st day	10-ый день/ 10 th day	20-ый день/ 20 th day
Контроль/ Control	142 (107,25;222,25)	183,5 # (131,25;238,5)	158 (97,75;203,75)
1 группа/ Group 1	231,5 (176,25;286,5)	250,5 (218,25;258,75)	221,5 (198;258,25)
2 группа/ Group 2	128 (77,5;193,5)	167,5 (126;226,5)	162 (118,75;98)
3 группа/ Group 3	98 (71,25;163,25)	137 (36;160,75)	126 (85;152,5)
4 группа/ Group 4	138,5 (40,5;167,75)	127 (54,25;178,75)	123,5 (100,25;146)

* – $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контролем

– $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении 1-10 дня, 1-20 дня, внутри групп

* – $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of skilled groups with control

– $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison between groups 1-10 days and 1-20 days

Как видно из таблицы 3, внутри групп в различные сроки тестирования наблюдалась тенденция к увеличению расстояния, которое пробежали животные в 1-й и 20-й дни в трех группах – контрольной, 2, 3 с приростом в 11%, 27% и 29%, соответственно. В группах 1 и 4 напротив, наблюдалась тенденция к снижению расстояния, которое пробежали животные.

Таким образом, при сравнении 1-го и 20-го дня тестирования наилучший результат после сочетанной нагрузки в виде теста подвешивания за хвост с последующим бегом на тредмиле, показала группа 3 (снижение общего времени иммобилизации на 5% в сочетании с увеличением расстояния, которое пробежали животные на 29%), что свидетельствует о повышении физической выносливости (снижение времени иммобилизации) и работоспособности (увеличении расстояния, которое преодолели животные).

В таблице 4 представлены изменения частоты дыхания (разница до- и после нагрузки в 1-й, 10-й и 20-й день эксперимента).

Как видно из таблицы 4, прирост частоты дыхания на нагрузку с 1-го по 20-й день эксперимента статистически значимо увеличился только в группе 3.

Таким образом, при сравнении 1-го и 20-го дня тестирования наилучший результат после сочетанной нагрузки в виде теста подвешивания за хвост с последующим бегом на тредмиле, показала группа 3 (снижение фоновой

частоты дыхания на 8% и статистически значимое увеличение прироста частоты дыхания на нагрузку), что свидетельствует о повышении тренированности этой группы животных по сравнению с остальными группами.

Результаты исследования ЧСС перед нагрузкой в 1-й, 10-й и 20-й день тестирования, представлены в таблице 5.

Как видно из таблицы 5, статистически значимых различий ЧСС между контрольной и опытными группами на 1-й день тестирования не наблюдалось. На 20-й день тестирования ЧСС в группе 1 статистически значимо не отличалось от контрольной группы, в то время как ЧСС в группах 2, 3 и 4 была статистически значимо ниже ЧСС в контрольной группе.

Статистически значимых различий ЧСС в ответ на нагрузку между контрольной и опытными группами на всех сроках тестирования не наблюдалось.

Таким образом, при сравнении 1-го и 20-го дня тестирования наилучший результат после сочетанной нагрузки в виде теста подвешивания за хвост с последующим бегом на тредмиле, показала группа 3 (статистически значимое снижение фоновой ЧСС на 20-й день тестирования и статистически значимое увеличение ЧСС на нагрузку по сравнению с 1-ым днем), что свидетельствует о развитии в этой группе животных физиологической брадикардии при физических нагрузках и увеличении компенсаторных возможностей сердечно-сосудистой системы.

На 22 день экспериментов выполнено вскрытие всех животных. При некропии не выявлено каких-либо отклонений в состоянии внутренних органов, полостей и тканей организма животных. При сравнении относительной массы печени, селезенки, почек, легких слепой кишки и семенников между группами каких-либо зако-

Таблица 4

Изменение частоты дыхания в ответ на нагрузку в различные дни эксперимента (вдох/мин, ME (25;75%))

Table 4

Respiratory rate changing in response to loading in different days of an experiment (breaths/min, ME (25;75%))

Группа/Group	1д/1 st D	10д/10 th D	20д/20 th D
Контроль/ Control	8,5 (-8,1;20,8)	1,0 (-5,45;24,25)	25,5 (18,5;38,85)
1 группа/Group 1	5,3 (-3,8;38,7)	33,0 * (5,85;59,15)	31,8 (27,9;50,4)
2 группа/Group 2	12,2 (5,3;49,25)	-3,2 # (-17,45;13,25)	35,1 (18,9;61,7)
3 группа/Group 3	18,4 (7,6;40,85)	16,2 (-1,35;27,6)	43,8 # (19,1;65,45)
4 группа/Group 4	0,6 (-17,8;16,7)	19,3 (-0,15;35,1)	27,0 (3,65;46,35)

* – $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контролем

– $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении 1-10 дня, 1-20 дня, внутри групп

* – $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of skilled groups with control

– $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison between groups 1-10 days and 1-20 days

Таблица 5

ЧСС (фоновые значения – до нагрузки) в различные дни эксперимента (ударов/мин, ME (25;75%))

Table 5

Heart rate (background values – before loading) in different days of an experiment (beats/min, ME (25;75%))

Группа/ Group	1д/1 st D	10д/10 th D	20д/20 th D
Вода/ Water	432,8 (423,48;479,39)	445,5 (423,53;484,71)	446,6 (419,62;463,29)
Контроль/ Control	457,4 (420,7;492,2)	471,4 (418,8;487,9)	431,1 (410,1;470,4)
1 группа	433,7 (412,2;480,9)	441,4 (426,8;464,5)	388,99 * (385,08;395,32)
2 группа	430,4 (411,7;480,7)	450,6 (413,7;468,8)	399,4 * (381,1;431,9)
3 группа	417,0 (413,6;444,1)	441,0 (424,6;461,6)	413,3 * (399,7;436,4)

* – $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контролем

* – $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of skilled groups with control

номерностей не выявлено. Результаты исследования относительной массы сердца представлены на рисунке 1.

Как видно из графика относительная масса сердца во всех исследуемых группах возрастает относительно нормы, что свидетельствует о развитии рабочей гипертрофии миокарда в ответ на интенсивные физические нагрузки. Таким образом, можно полагать, что выбранные экспериментальные модели адекватно отражают уровень интенсивных физических нагрузок.

Как видно из рисунка 2, относительная масса надпочечников статистически значимо снижена во всех опыт-



Рис. 1. Относительная масса сердца

Pic. 1. Relative mass of heart

* – $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контролем

– $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении всех групп с нормой

* – $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of skilled groups with control

– $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of all groups with norm



Рис. 2. Относительная масса надпочечников

Pic. 2. Relative mass of adrenal glands

* – $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контролем

– $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении всех групп с нормой

* – $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of skilled groups with control

– $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of all groups with norm

ных группах относительно контрольной (Вода). При этом значения в опытных группах не отличаются от нормы, что свидетельствует о развитии стрессовой гипертрофии надпочечников в контрольной группе. Таким образом, можно полагать, что разработанный продукт в обеих рецептурах и дозах обладает защитным эффектом в отношении стрессовой гипертрофии надпочечников.

На III этапе у всех животных проводили нагрузочное тестирование в виде плавания. Результаты общего времени плавания представлены в таблице 6.

Как видно из таблицы 6 во всех группах наблюдалась тенденция к увеличению времени плавания. Так, прирост времени плавания в контрольной группе на 20-й день тестирования составил 8%, в группе 1 – 7%, группе 2 – 22%, группе 3 – 28%, группе 4 – 5%.

Результаты общего времени пребывания животного на валу в тесте RotaRod представлены в таблице 7.

Как видно из таблицы 7, в группах 1, 3 и 4 наблюдалась тенденция к снижению времени пребывания на валу. В контрольной группе и в 2, напротив, время пребывания на валу возрастало на 12% и 26% соответственно.

В качестве показателя нейромышечной передачи оценивалась мышечная сила хватания.

Результаты мышечной силы хватания представлены в таблице 8.

В контрольной группе, получавшей воду, не наблюдали увеличения силы хватания ни в один из дней тестирования, в то время как во всех опытных группах наблюдали статистически значимое увеличение силы хватания на 20-й день тестирования относительно исходных значений.

Таким образом, наилучшую работоспособность и выносливость (прирост времени вынужденного плавания на 28 %) показали животные из группы 3. В то время как улучшение координации отмечено в группе 2. Повышение нейромышечной передачи (измерение силы хватания) наблюдалось во всех опытных группах по сравнению с контрольной.

У животных всех групп в 1-й, 10-й и 20-й день эксперимента были измерены показатели функции внешнего дыхания (частота дыхания, максимальный поток выдоха), функциональные показатели сердечно-сосудистой системы (артериальное давление и частота сердечных сокращений (ЧСС)) до и после сочетанной нагрузки в виде теста вынужденного плавания и бега на RotaRod с последующим измерением мышечной силы.

Результаты исследования частоты дыхания до и после нагрузки в 1-й, 10-й и 20-й день тестирования, представлены в таблице 9.

Как видно из таблицы 9 внутри групп в различные сроки тестирования наблюдалась тенденция к снижению частоты дыхания до нагрузки от 1-го к 20-му дню во всех группах. Так в контрольной группе снижение ЧД составляло 10%, в группе 1 – 25%, группе 2 – 16%, группе 3 – 8%, группе 4 – 19%.

Во всех исследуемых группах после нагрузки максимальный объем выдоха имел тенденцию к снижению. В

Таблица 6

Общее время плавания в различные сроки эксперимента (время, сек, Me (25;75%))

Table 6

The general time of swimming in various terms of an experiment (time, sec., Me (25;75%))

День исследования/Day of experiment	Контроль/Control	Группа 1/Group 1	Группа 2/Group 2	Группа 3/Group 3	Группа 4/Group 4
1-й день/1 st day	314,5 (268,0;406,0)	341,5 (271,0;417,0)	324,0 (250,0;374,0)	300,0 (255,0;508,0)	359,0 (281,0;415,0)
10-й день/10 th day	324,0 (270,0;398,0)	413,5* (360,0;505,0)	349,5 (330,0;430,0)	403,0 (284,0;500,0)	342,0 (310,0;483,0)
20-й день/20 th day	340,5 (285,0;400,0)	367,0 (325,0;506,0)	394,0 (336,0;459,0)	382,5 (353,0;428,0)	375,5 (341,0;413,0)

* – $p \leq 0,05$ согласно тесту ANOVA для повторных измерений относительно значения в 1-й день для данной группы, post hoc Duncan

* – $p \leq 0,05$ according to the ANOVA test for repeated measurements concerning value in the 1st day for this group, post hoc Duncan

Таблица 7

Общее время пребывания животного на валу в различные сроки эксперимента (время, сек, Me (25;75%))

Table 7

The general time of stay of an animal on a shaft in various terms of an experiment (time, sec., Me (25;75%))

День исследования/Day of experiment	Контроль/Control	Группа 1/Group 1	Группа 2/Group 2	Группа 3/Group 3	Группа 4/Group 4
1-й день/1 st day	34 (31;40)	36 (33;40)	34 (30;42)	45 (39;51)	40 (37;47)
10-й день/10 th day	38 (30;47)	31 (29;52)	43 (28;48)	35 (28;44)	39 (33;43)

* – $p \leq 0,05$ согласно тесту ANOVA для повторных измерений относительно значения в 1-й день для данной группы, post hoc Duncan

* – $p \leq 0,05$ according to the ANOVA test for repeated measurements concerning value in the 1st day for this group, post hoc Duncan

Таблица 8

Мышечная сила хватания в различные сроки эксперимента (сила, кг, $M \pm STD$)

Table 8

The muscular force of a hvataniye in various terms of an experiment (force, kg, $M \pm STD$)

День исследования/Day of experiment	Контроль/Control	Группа 1/Group 1	Группа 2/Group 2	Группа 3/Group 3	Группа 4/Group 4
1-й день/1 st day	1,37 $\pm$ 0,48	1,20 $\pm$ 0,48	1,47 $\pm$ 0,67	1,18 $\pm$ 0,34	1,07 $\pm$ 0,33
10-й день/10 th day	1,42 $\pm$ 0,17	1,44 $\pm$ 0,27	1,54 $\pm$ 0,40	1,45 $\pm$ 0,39	1,47 $\pm$ 0,36*
20-й день/20 th day	1,65 $\pm$ 0,33	1,83 $\pm$ 0,26*	1,77 $\pm$ 0,29*	1,66 $\pm$ 0,26*	1,83 $\pm$ 0,36*

* – $p \leq 0,05$ согласно тесту ANOVA для повторных измерений относительно значения в 1-й день для данной группы, post hoc Duncan

* – $p \leq 0,05$ according to the ANOVA test for repeated measurements concerning value in the 1st day for this group, post hoc Duncan

20-й день тестирования та же тенденция наблюдалась в группах 1 и 2, в то время как в контрольной, 3 и 4 группах максимальный объем выдоха после нагрузки, напротив, возрастал, что может свидетельствовать о лучшей тренированности животных этих групп.

В результате исследования определено, что в 1-й день тестирования во всех исследуемых группах после нагрузки ЧСС имела тенденцию к возрастанию. В 20-й день тестирования та же тенденция наблюдалась в группах 1 (+5%), 3 (+7%) и 4 (+3%), что может свидетельствовать об адекватной реакции на нагрузку. В то время как в

контрольной, так и в Р1Д2 группах ЧСС после нагрузки, напротив, снижалась, что может свидетельствовать о снижении компенсаторных возможностей сердечно-сосудистой системы у животных этих групп.

Результаты исследования локомоторной активности (тест «Открытое поле») представлены в таблице 10.

Как видно из таблицы 10, имела ярко выраженная тенденция к увеличению локомоторной активности в группе 3 по сравнению с другими группами (увеличение времени перемещения, увеличение пройденной дистанции, уменьшение времени неподвижности).

Долговременную память животных оценивали в тесте на формирование условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) болевого стимула. Статистически значимых различий между группами не наблюдалось. Однако, в группе 2 имелась ярко выраженная тенденция к уменьшению процента животных, зашедших в темную камеру, где их ожидает болевой стимул (только у 11% животных в группе 2 не сформировался УРПИ, в то время как в контрольной группе таких 25%).

Результаты исследования навигационной памяти (тест «Лабиринт Барнс») представлены в таблице 11.

Статистически значимых различий между группами не наблюдалось. Однако, во всех опытных группах имелась тенденция к увеличению времени захода в норку по сравнению с контрольной, что может косвенно указывать на снижение уровня тревожности и повышения уровня навигационной памяти у животных опытных групп.

Таблица 9

Частота дыхания в различные дни эксперимента (вдох/мин, ME (25;75%))

Table 9

Breath frequency in different days of an experiment (breath/minute, ME (25;75%))

День исследования/Day of experiment	Контроль/Control		Группа 1/Group 1		Группа 2/Group 2		Группа 3/Group 3		Группа 4/Group 4	
	До/before	После/after	До/before	После/after	До/before	После/after	До/before	После/after	До/before	После/after
1-й/1 st	169 (162;176)	163 (154;176)	197 (176;205)	159 (143;192)	160 (150;173)	143 (129;169)	168 (146;184)	148 (132;161)	182 (168;194)	165 (155;170)
10-й/10 th	161 (141;176)	157 (145;163)	154 (135;166)	162 (145;192)	138 (126;150)	148 (132;175)	159 (144;166)	154 (132;168)	156 (127;171)	148 (129;158)
20-й/20 th	153 (143;171)	158 (135;164)	148 (128;162)	136 (122;154)	136 (125;156)	134 (119;153)	153 (134;161)	155 (127;157)	148 (127;152)	143 (124;153)

* – $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контролем

– $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении 1-10 дня, 1-20 дня, внутри группы

* – $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison of skilled groups with control

– $p < 0,05$ differences are statistically significant in comparison between groups of 1-10 days, 1-20 days, in group

Таблица 10

Тест «Открытое поле», ME (25;75,%)

Table 10

«Open field» test, ME (25;75, %)

21-й день исследования/ 21 st day of research	Контроль/Control	Группа 1/Group 1	Группа 2/Group 2	Группа 3/Group 3	Группа 4/Group 4
Время перемещения, сек/ Handling time, sec	61,5 (34,0;86,0)	85,0 (47,0;112,0)	64,0 (55,5;100,0)	92,0 (58,0;99,0)	59,0 (48,0;75,0)
Время неподвижности, сек/ Time of immobility, sec	118,5 (94,0;146,0)	95,0 (68,0;133,0)	116,0 (80,0;125,0)	88,0 (81,0;122,0)	121,0 (104,0;132,0)
Пройденная дистанция, м/ Cover a distance, m	14,5 (8,2;20,7)	21,5 (12,2;30,9)	16,9 (12,8;27,9)	23,6 (13,1;29,5)	14,7 (11,4;21,6)
Дистанция в центре, м/ Center distance, m	0,35 (0,2;1,4)	0,6 (0,10;1,1)	0,65 (0,2;1,2)	0,85 (0,50;1,1)	0,75 (0,2;1,2)

Таблица 11

Исследование навигационной памяти (тест «Лабиринт Барнс»), ME (25;75,%)

Table 11

Research of navigation memory (Labyrinth Barnes test), ME (25;75, %)

21-й день исследования/ 21 st day of research	Контроль/ Control	Группа 1/Group 1	Группа 2/Group 2	Группа 3/Group 3	Группа 4/Group 4
Латентное время захода в норку, сек/ Latent time to mink, sec	29,5 (14,0;66,0)	92,0 (24,0;180,0)	65,0 (33,0;180,0)	50,5 (40,0;90,0)	39,0 (15,0;180,0)

В результате 21-дневного внутрижелудочного введения самцам крыс Wistar спортивного питания в двух рецептурах в дозах 1 и 2 отклонений показателей гемограммы и данных биохимических исследований от контрольного уровня не выявлено. Достоверных отличий в показателях гемограммы и биохимии крови между группами не зарегистрировано.

1.4 Выводы

Проведенные доклинические испытания продукта спортивного питания для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи у высококвалифицированных спортсменов «Фит Тонус» при интенсивных нагрузках на лабораторных животных позволили оценить безопасность и эффективность двух предложенных рецептур продукта в двух дозах.

Оценка безопасности разработанного продукта была выполнена с использованием метода изучения острой токсичности с определением максимальной переносимой дозы. Установлено, что при введении животным продукта в двух рецептурах в дозе 2 мг/г не наблюдалось смертности животных, что позволяет отнести разработанный продукт в двух предложенных рецептурах к нетоксичным препаратам (5 класс токсичности).

Выбранные экспериментальные тесты выносливости и работоспособности позволили оценить адекватный уровень физических нагрузок для тестирования продукта. На протяжении эксперимента в ответ на нагрузку у животных всех групп развивалась гипертермия. К окончанию эксперимента во всех исследуемых группах относительная масса сердца возрасла относительно нормы, что свидетельствовало о развитии рабочей гипертрофии миокарда в ответ на интенсивные физические нагрузки.

Результаты исследований показали, что разработанный продукт в обеих рецептурах и тестируемых дозах обладает защитным эффектом в отношении стрессовой гипертрофии надпочечников. Так, в контрольной группе (вода) развивалась стрессовая гипертрофия надпо-

чечников, в то время как в опытных группах (продукт) относительная масса надпочечников не отличалась от нормы. Разработанный продукт в обеих рецептурах и тестируемых дозах для коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи продемонстрировал эффективность по большинству исследуемых параметров в опытных группах по сравнению с контрольной.

Наилучший результат показала группа животных, получавших продукт в рецептуре 2 в дозе 60 мкг/г (содержавший супероксиддисмутазу). У этой группы животных снижалось время иммобилизации при подвешивании за хвост с увеличением длительности преодолеваемой дистанции на тредмиле, повышалось время вынужденного (предельного) плавания, а также увеличивалась локомоторная активность и сила хватки, что свидетельствовало о повышении физической выносливости, работоспособности и нейромышечной передачи. По данным показателей функции внешнего дыхания в данной группе происходило снижение частоты дыхания до нагрузки (переход на экономичное дыхание) с одновременным увеличением прироста частоты дыхания и максимального объема выдоха после нагрузки, что свидетельствовало о повышении тренированности этой группы животных по сравнению с остальными группами. По показателям сердечно-сосудистой системы в данной группе наблюдалось снижение ЧСС до нагрузки с увеличением ЧСС после нагрузки, что свидетельствовало о развитии в этой группе животных физиологической брадикардии покоя и увеличении компенсаторных возможностей сердечно-сосудистой системы.

В целом, полученные данные свидетельствуют о безопасности и эффективности разработанного продукта в обеих рецептурах в отношении коррекции психофизиологического состояния и нейромышечной передачи при интенсивных физических нагрузках. Наилучший результат показала группа животных, получавших продукт в рецептуре 2 в дозе 60 мкг/г.

Список литературы

1. Кукес В.Г., Городецкий В.В. Спортивная фармакология: достижения, проблемы, перспективы // Спортивная медицина: наука и практика. 2010. №1. С. 12-5.
2. Михайлов С.С. Спортивная биохимия. М.: Советский спорт, 2004. 220 с.
3. Ivo Van Hilvoorde. Biotechnology. Berkshire encyclopedia of world sport. VU: University Amsterdam. 2013. P. 135-40.
4. Токаев Э.С., Кинзирский А.С., Некрасов Е.А., Хасанов А.А., Краснова И.С. Доклинические исследования препарата «Антистресс» для повышения противотревожного действия // Спортивная медицина: наука и практика. 2014. №2. С. 56-62.
5. Thierry B, Steru L, Chermat R, Simon P. Searching-waiting strategy: a candidate for an evolutionary model of depression // Behav. Neural. Biol. 1984. Vol.41. P. 180-9.

References

1. Kukes VG, Gorodetsky VV. Sports pharmacology: achievements, problems, prospects. Sportivnaya meditsina: nauka i praktika (Sports medicine: research and practice). 2010;(1):12-5. Russian.
2. Mikhaylov SS. Sports biochemistry. Moscow, Sovetskiy Sport, 2004. 220 p. Russian.
3. Ivo Van Hilvoorde. Biotechnology. Berkshire encyclopedia of world sport. VU, University Amsterdam. 2013:135-40.
4. Tokaev ES, Kinzirsky AS, Nekrasov EA, Khasanov AA, Krasnova IS. Preclinical researches of the medicine «Antistress» for increase in antidisturbing action. Sportivnaya meditsina: nauka i praktika (Sports medicine: research and practice). 2014;(2):56-62. Russian.
5. Thierry B, Steru L, Chermat R, Simon P. Searching-waiting strategy: a candidate for an evolutionary model of depression. Behav. Neural. Biol. 1984;41:180-9.

6. **Lalle's J-P, Lacan D, David J-C.** A melon pulp concentrate rich in superoxide dismutase reduces stress proteins along the gastrointestinal tract of pigs // *Nutrition*. 2010. P. 1-6.

7. **Tan A, Rajadas J, Seifalian AM.** Biochemical engineering nerve conduits using peptide amphiphiles // *J. Control. Release*. 2012. Vol.163. P. 342-52.

8. **Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н.** Методы доклинических исследований в спортивной фармакологии // *Спортивная медицина: наука и практика*. 2013. №1. С. 7-17.

9. **Shepherd JK, Grewal SS, Fletcher A Bill DJ, Dourish CT.** Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated «zero_maze» as an animal model of anxiety // *Neuroscience*. 2007. Vol.149. P. 477-86.

10. **Хабриев Р.У.** Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: «Медицина», 2005. 832 с.

11. **Costal B, Jones BJ, Kelly ME.** Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989. Vol.32. P. 777-85.

12. **D'Alessio PA, Ostan R, Bisson JF, Schulzke JD, Ursini MV, Béné MC.** Oral administration of d-Limonene controls inflammation in rat colitis and displays antiinflammatory properties as diet supplementation in humans // *Life Sciences* 2013. Vol.92. P. 1151-6.

13. **D'Alessio PA, Bisson J-F, Béné MC.** Anti-Stress Effects of d-Limonene and Its Metabolite Perillyl Alcohol // *Rejuvenation Research*. 2014. Vol.17, №2. P. 145-9.

6. **Lalle's J-P, Lacan D, David J-C.** A melon pulp concentrate rich in superoxide dismutase reduces stress proteins along the gastrointestinal tract of pigs. *Nutrition*. 2010:1-6.

7. **Tan A, Rajadas J, Seifalian AM.** Biochemical engineering nerve conduits using peptide amphiphiles. *J. Control. Release*. 2012;163:342-52.

8. **Karkishchenko VN, Karkishchenko NN.** Methods of pre-clinical researches in sports pharmacology. *Sportivnaya meditsina: nauka i praktika (Sports medicine: research and practice)*. 2013;(1):7-17. Russian.

9. **Shepherd JK, Grewal SS, Fletcher A, Bill DJ, Dourish CT.** Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated «zero_maze» as an animal model of anxiety. *Neuroscience*. 2007;149:477-86.

10. **Habriyev RU.** The guide to experimental (preclinical) studying of new pharmacological substances. Moscow, «Medicine», 2005. 832 p. Russian.

11. **Costal B, Jones BJ, Kelly ME.** Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989;32:777-85.

12. **D'Alessio PA, Ostan R, Bisson JF, Schulzke JD, Ursini MV, Béné MC.** Oral administration of d-Limonene controls inflammation in rat colitis and displays antiinflammatory properties as diet supplementation in humans. *Life Sciences*. 2013;92:1151-6.

13. **D'Alessio PA, Bisson J-F, Béné MC.** Anti-Stress Effects of d-Limonene and Its Metabolite Perillyl Alcohol. *Rejuvenation Research*. 2014;17(2):145-9.

Информация об авторах:

Токаев Энвер Саидович, генеральный директор ООО «АКАДЕМИЯ-Т», д.т.н., проф. ORCID ID: 0000-0002-8701-5621

Пушкина Татьяна Анатольевна, ассистент кафедры восстановительной медицины, спортивной медицины, курортологии и физиотерапии ФГБУ ГНЦ РФ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России. ORCID ID: 0000-0003-2910-3137

Некрасов Евгений Александрович, заместитель генерального директора ООО «АКАДЕМИЯ-Т», к.т.н. ORCID ID: 0000-0003-4071-5089

Хасанов Адам Алиевич, научный сотрудник ООО «АКАДЕМИЯ-Т», к.т.н. ORCID ID: 0000-0003-0953-0334 (+7 (926) 264-48-25, hasanov@ac-t.ru)

Коромыслов Александр Владимирович, доцент кафедры медико-биологических основ спорта ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского Минобрнауки России, к.м.н. ORCID ID: 0000-0003-4096-7075

Information about the authors:

Enver S. Tokaev, D.Sc. (Technics), Prof., CEO of the «ACADEMY-T» LLC. ORCID ID: 0000-0002-8701-5621

Tatiana A. Pushkina, Assistant of the Department of Restorative Medicine, Sports Medicine, Balneology and Physical Therapy of the State Research Center Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia. ORCID ID: 0000-0003-2910-3137

Evgeniy A. Nekrasov, Ph.D. (Technics), Deputy Director General of the «ACADEMY-T» LLC. ORCID ID: 0000-0003-4071-5089

Adam A. Khasanov, Ph.D. (Technics), Scientist of the «ACADEMY-T» LLC. ORCID ID: 0000-0003-0953-0334 (+7 (926) 264-48-25, hasanov@ac-t.ru)

Aleksandr V. Koromyslov, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor of the Department of Medical and Biological Basis of Sport of the Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky. ORCID ID: 0000-0003-4096-7075

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interest

Поступила в редакцию: 11.02.2019

Принята к публикации: 13.03.2019

Received: 11 February 2019

Accepted: 13 March 2019