

Министерство здравоохранения РФ
Федеральное государственное образовательное учреждение высшего
образования

Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет

На правах рукописи

РАДЬКО СТЕПАН ВЛАДИМИРОВИЧ

**ОЦЕНКА АКТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ БИС{2-[(2E)-4-
ГИДРОКСИ-4-ОКСОБУТ-2-ЕНОИЛОКСИ]-N,N-
ДИЭТИЛЭТАНАМИНИЯ} БУТАНДИОАТА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Оковитый Сергей Владимирович

Санкт-Петербург

2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Коррекция физической работоспособности как биомедицинская проблема.....	12
1.2. Основные физиологические закономерности обеспечения физической работоспособности.....	12
1.3. Основные биохимические закономерности обеспечения физической работоспособности.....	16
1.4. Факторы, влияющие на физическую работоспособность.....	17
1.5. Фармакологические средства, повышающие работоспособность.....	20
1.5.1. Актопротекторы.....	21
1.5.2. Адаптогены.....	24
1.5.3. Аминоэтаноламы как адаптогены и актопротекторы.....	25
1.5.4. Антигипоксантаы.....	28
1.5.5. Ноотропы.....	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
2.1. Объекты исследования.....	37
2.2. Экспериментальные животные.....	40
2.3. Тесты для оценки работоспособности животных.....	40
2.3.1. Тест «Вынужденное плавание».....	40
2.3.2. Тест «Челночное плавание».....	45
2.3.3. Тренирующие аэробные нагрузки.....	46
2.3.4. Тренирующие аэробно-анаэробные нагрузки.....	51
2.3.5. Силовая модель.....	52
2.3.6. Т-лабиринт.....	55
2.4. Биохимическое исследование крови.....	57
2.5. Клиническое исследование крови.....	57
2.6. Организация отдельных экспериментов.....	57

2.6.1. Оценка эффективности исследуемого соединения при однократном введении.....	57
2.6.2. Оценка эффективности исследуемого соединения при курсовом введении.....	58
2.6.3. Оценка эффективности исследуемого соединения при аэробно-анаэробных нагрузках в тренировочном режиме.....	58
2.6.4. Оценка эффективности исследуемого соединения при аэробных нагрузках в тренировочном режиме.....	59
2.6.5. Оценка влияния исследуемого соединения на скоростные показатели.....	60
2.6.7. Оценка влияния исследуемого соединения на силу хвата.....	61
2.6.8. Оценка влияния исследуемого соединения на мнестические функции.....	61
2.7. Статистическая обработка.....	61
2.8. Прогнозирование спектров биологической активности.....	62
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	
3.1. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при однократном введении.....	65
3.2. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при курсовом введении.....	65
3.3. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при тренировочных аэробных нагрузках.....	68
3.4. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при тренировочных аэробно-анаэробных нагрузках.....	76
3.5. Влияние ФДЭС на силу хвата.....	82
3.6. Влияние ФДЭС на скоростные показатели.....	83
3.7. Влияние ФДЭС на мнестические функции.....	86
3.8. Прогнозирование биологической активности с использованием различных версий программы PASS.....	89
ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	94

4.1. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при однократном введении.....	94
4.2. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при курсовом введении на фоне тренирующих нагрузок различной направленности.....	95
4.3. Влияние ФДЭС на концентрацию лактата и глюкозы в крови при курсовом введении на фоне тренирующих аэробных и аэробно-анаэробных нагрузок.....	101
4.4. Влияние ФДЭС на мнестические функции.....	102
4.5. Прогнозирование механизма действия ФДЭС.....	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	107
ВЫВОДЫ.....	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	112
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема расширения границ адаптации человека имеет большое значение для медицины, поскольку увеличение потенциала адаптации, в т.ч. с использованием фармакологических средств, ускорение процессов реабилитации, профилактика переутомления при выполнении интенсивных и длительных нагрузок, как и идея фармакопрофилактики в целом, является важной задачей здравоохранения [Виноградов В. М. 1994].

Для здоровых людей в повседневной жизни характерны, в основном, нагрузки малой мощности и лишь эпизодически – умеренной и большой. Однако, под влиянием длительной гипокинезии, заболеваний нервной, сердечно-сосудистой и дыхательной систем индивидуальные величины работоспособности снижаются пропорционально влиянию выраженности этих факторов [Сыркин А.Л. 2005]. Соответственно, предъявляемые организму обычные производственные или (при выраженном патологическом состоянии) даже бытовые нагрузки низкой мощности переходят по энерготратам в более высокие категории и становятся трудновыполнимыми или невыполнимыми. Подобный же сдвиг может иметь место и у здоровых людей, выполняющих работу в осложненных условиях (снижение PO_2 , высокая температура среды, например, работа шахтеров, сталеваров и др.), когда функция кардиореспираторного аппарата предельно мобилизована при нагрузках значительно меньшей интенсивности. Подобный сдвиг характерен и для видов деятельности человека, где имеются предельные физические и психические перегрузки т.е. стресс (интенсивные занятия спортом, операторская деятельность в режиме максимальной скорости реакций, работа в условиях гипоксии, комплексное воздействие неблагоприятных факторов полета и др.).

Интенсивная или длительная работа ведет к развитию утомления, характеризующемуся ухудшением количественных и качественных показателей работы и дискоординации физиологических функций, повышающих физиологическую стоимость работы. Одной из причин

утомления является недостаточность процессов восстановления физиологических затрат, вызванных работой или ее сочетанием с неблагоприятным влиянием производственных или экстремальных факторов среды [Навакатикян А.О. 1993]. Воздействуя на факторы, лимитирующие общую и специальную работоспособность с помощью лекарственных средств можно значительно ускорить адаптацию к неблагоприятным воздействиям, повысить скорость, силу, выносливость, координацию и внимание, облегчить и ускорить формирование новых навыков в процессе профессиональной деятельности и сохранить здоровье [Каркищенко Н.Н. 2013].

Степень разработанности

Изучаемое соединение - бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоат (ФДЭС) является новым фармакологическим средством представляющим собой продукт взаимодействия диэтиламиноэтанола (ДЭАЭ) с бутандиовой (янтарной) и транс-бутендиовой (фумаровой) кислотами. Отдельные компоненты соединения уже становились объектами исследований и обладают широким спектром фармакологических эффектов, опосредуемых через различные механизмы. В литературе описано дозозависимое влияние диметиламиноэтанола (ДМАЭ) на время и скорость плавания лабораторных мышей: в низких дозах (10-80 мг/кг) он недостоверно уменьшал время, необходимое животным для прохождения бассейна, а в высоких (640-1280 мг/кг) - значимо увеличивал время плавания [Latz A. 1966]. Эти данные были подтверждены на здоровых добровольцах, принимавших ДМАЭ в дозе 100-300 мг в течении 2-х недель. У них наблюдалось увеличение мышечной силы, увеличение скоростных показателей физической работоспособности и улучшение обучаемости [Danysz A. 1967]. Диметиламиноэтанол обладает антирадикальной активностью [Malanga G. 2012, Ливанов Г.А. 2002], а также является прекурсором холина, обеспечивая, в том числе, синтез ацетилхолина и фосфатидилхолина нейрональных мембран [Akesson B. 1977]. Янтарная кислота, является не только классическим антигипоксантом, но также может

оказывать плейотропные эффекты, будучи паракринным стимулом для сукцинатных рецепторов [Aguiar С.Ј. 2014, Лукьянова Л.Д. 2001]. Фумаровая кислота способна оказывать антигипоксическое действие в условиях «жесткой» гипоксии [Маевский Е.И. 2017]. Кроме того, эти интермедиаты цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) ускоряют процессы восстановления после физических нагрузок [Кондрашова М.Н. 1971].

Однако, подобного рода сочетание диэтиламиноэтанола и субстратов цикла трикарбоновых кислот до настоящего времени не изучалось.

Соответствие исследований государственным и ведомственным программам:

Разработка новых, более эффективных средств с актопротекторной активностью рассматривается как одна из приоритетных задач отечественной медицинской науки (Распоряжение Правительства РФ от 28.12.2012 №2580-р «Об утверждении стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года», п.2.9. Научная платформа «Неврология и нейронауки», п. 2.7. Научная платформа «Фармакология»).

Работа выполнялась в рамках Государственного контракта № 14.N08.12.0120 ДИ «Лекарственное средство на основе солей органических кислот с диэтиламиноэтанолом, обладающего нейропротекторным действием (2016-2018).

Исследование также было поддержано грантом №0011898 Фонда содействия развития малых форм предприятий в научно-технической сфере на работу «Изыскание фармакологического средства с нейропротекторной и актопротекторной активностями среди продуктов взаимодействия диэтиламиноэтанола с дикарбоновыми кислотами».

Цель исследования

Целью исследования стала оценка влияния бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата на физическую и некоторые параметры умственной работоспособности.

Задачи исследования

Для решения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить влияние бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата на физическую работоспособность при однократном и курсовом введении;
2. Определить воздействие бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата на устойчивость к аэробным и аэробно-анаэробным физическим нагрузкам;
3. Оценить влияние бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата на скоростные показатели при выполнении физической нагрузки;
4. Оценить влияние (бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата на силовые показатели;
5. Изучить действие бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата на некоторые показатели умственной работоспособности.
6. Спрогнозировать спектр биологической активности изучаемого соединения и проанализировать взаимосвязи между различными видами активности.

Научная новизна

Впервые осуществлена оценка эффективности применения бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата для повышения физической работоспособности при различных схемах применения в сравнении с эталонным актопротектором этилтиобензимидазола гидрохлоридом. Установлена способность изучаемого фармакологического средства повышать работоспособность при аэробных и аэробно-анаэробных тренировках, а так же увеличивать скоростные и силовые показатели.

В тесте Т-лабиринт выявлено влияние препарата на мнестические функции: повышение эффективности усвоения и воспроизведения навыка в сравнении с эталонным ноотропным препаратом пирацетамом.

В ходе исследования разработано устройство для крепления грузов к мелким лабораторным животным [Радько С.В. 2017]. Впервые предложена и валидирована модель силовых нагрузок у мышей, позволяющая имитировать тренировочный процесс, направленный на развитие силовых характеристик: [Радько С.В. Модель силовых нагрузок у мышей / С.В. Радько, С.В. Оковитый, М.В. Краснова // Биомедицина.- 2017.- № 1.- С. 24-27.]. Показано, что использование подобной методики достоверно увеличивает силу хвата лабораторных животных.

Модифицирована и валидирована экспериментальная методика оценки влияния фармакологических средств на динамику адаптации к физической нагрузке [Радько С.В. Модель оценки влияния фармакологических средств на динамику адаптации к физической нагрузке / С.В. Радько, С.В. Оковитый // Биомедицина.- 2016.- № 3.- С. 32-45.]. Показано, что использование подобной методики позволяет имитировать аэробный тренировочный процесс, направленный на развитие выносливости у лабораторных животных. В результате установлено достоверное увеличение работоспособности, проявлявшейся в увеличении объема выполняемой работы с заданной мощностью. Инструментальными методами было подтверждено развитие рефлекторной брадикардии – характерной для аэробных тренировок компенсаторной реакции сердечно-сосудистой системы.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическое значение работы состоит в получении сведений о наличии актопротекторной активности у бис {2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата. Определена его способность повышать выносливость при различных видах нагрузки, а так же повышать скоростные и силовые показатели.

Практическое значение работы состоит в апробации и валидации новой модели оценки влияния препаратов на динамику адаптации к физической нагрузке, создании устройства крепления для грузов к мелким лабораторным животным, позволяющем повысить воспроизводимость экспериментов, разработке; апробации и валидации модели, позволяющей имитировать силовые нагрузки. Предложенные в работе методики расширяют ряд тестов для оценки актопротекторной активности фармакологических средств.

Материалы диссертации вошли в учебные программы и методические пособия ФГБОУ ВО Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Минздрава России.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоат повышает аэробную и аэробно-анаэробную выносливость при курсовом введении;
2. Бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоат повышает скоростные показатели при курсовом введении;
3. Бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата повышает силовые показатели при курсовом введении.

Внедрение результатов в практику

Полученные в работе данные вошли в качестве самостоятельного раздела в отчет «Материалы доклинического изучения фармакологических свойств бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата», по выполнению государственного контракта Минобрнауки РФ №14.N08.12.0120.

Материалы исследования используются в учебном процессе на кафедре фармакологии и клинической фармакологии СПХФУ при изучении тем: «Актигипоксанты и антиоксиданты» и «Средства, возбуждающие ЦНС. Психостимуляторы, антидепрессанты, ноотропы, аналептики» для студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Степень достоверности и апробация

Экспериментальные данные получены с использованием 528 мышей, применением современных методов рандомизации, включением в исследование интактной, контрольной групп и групп сравнения, выбором референсных препаратов и адекватных моделей оценки физической и умственной работоспособности, в т.ч. новых моделей, методов физиологического и биохимического исследования, использованием современных методов статистики.

Достоверность полученных результатов обусловлена однородностью выборки объектов эксперимента, использованием валидированных методов количественного анализа, согласованностью с результатами опубликованных ранее исследований, теоретическим обоснованием полученных экспериментальных данных.

Основные положения диссертационной работы представлялись и обсуждались на следующих конференциях: II, III, IV Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Инновации в здоровье нации» (Санкт-Петербург, 2014, 2015, 2016); V, VI, VII, VIII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием "Молодая фармация - потенциал будущего" (Санкт-Петербург, 2015, 2016, 2017, 2018); Российская научная конференция «Фармакология экстремальных состояний» (Санкт-Петербург, 2015); XII, XIII Научно-практическая конференция «Биомедицина и биомоделирование» (Светлые горы, 2016; Санкт-Петербург, 2017); III Russian-Finnish symposium «Academy-Industry collaboration in drug development» (Турку, Финляндия, 2016); «Открытая итоговая научная конференция профессорско-преподавательского состава НГУ им. П.Ф. Лесгафта» (Санкт-Петербург, 2017); Заседание Санкт-Петербургского научного общества фармакологов, (Санкт-Петербург, 2016); IV российско-финский Симпозиум «Опыт сотрудничества ВУЗов и фармацевтических компаний: от исследований к практике» (Санкт-Петербург, 2017).

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов

Автор лично участвовал в планировании и постановке экспериментов, статистической обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по результатам выполненной работы.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 7 в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, получен патент на изобретение.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, перечня сокращения и условных обозначений и списка литературы. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 28 таблицами. Библиографический указатель включает 219 источников, из них 91 отечественных и 128 иностранных.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

1.1. Коррекция физической работоспособности как биомедицинская проблема

С биологической точки зрения работоспособность можно определить как структурно-функциональный потенциал организма, позволяющий выполнять нагрузки определенной мощности [Михайлов С.С. 2004]. Физическая работоспособность (ФРС) является интегральным показателем состояния организма, отображающим его функциональные резервы и качество их регулирования [Артамонов В.А. 1989]. Это делает тесты по оценке физической работоспособности важными в мониторинге многих заболеваний. Кроме того, изучение изменений ФРС позволяет оценивать действие различных фармакологических соединений, обладающих актопротекторными, адаптогенными и антигипоксическими эффектами.

Коррекция ФРС актуальна для тех людей, чья работа проходит в осложненных условиях (высокогорье, высокие и низкие температуры, подводные работы и т.д.), например, для работников МЧС, которых на данный момент насчитывается более 288 тыс. человек [<https://www.mchs.gov.ru>]. Так же это актуально военнослужащих и сотрудников некоторых видов производств, выполняющих высокоинтенсивные виды работ. Кроме того, повышение ФРС в рамках реабилитационных мероприятий требуется при влиянии длительной гипокинезии, патологии сердечно-сосудистой и дыхательной систем, различных нарушениях функционирования ЦНС.

1.2. Основные физиологические закономерности обеспечения физической работоспособности

Скелетные мышцы состоят из миофибрилл с различными сократительными свойствами (сила сокращения, выносливость, продолжительность, скорость сокращения) и различным метаболизмом. Миофибриллы подразделяются на быстрые или медленные, основываясь на максимальной скорости сокращения [Schiaffino S. 2010]. Вариабельность физиологических свойств миофибрилл сильно зависит от изоформы тяжелой

цепи миозина (MyHC). Активность АТФазы миозина определяет скорость скольжения между актином и миозином, тем самым определяя скорость сокращения мышечного волокна [Barany M. 1967]. Гистохимическое окрашивание миозиновой АТФазы I-го типа идентифицирует медленные мышечные волокна, в то время как миозиновая АТФаза II-го типа (которая обладает самой высокой активностью АТФазы) придает окраску быстроподвижным миофибрилам. Основываясь на экспрессии преобладающих изоформ белка в MyHC, миофибриллы в основном классифицируются как волокна типа I, волокна типа IIx/d и волокна типа IIa [Schiaffino S. 2010, Schiaffino S. 1996] (Табл.1).

Табл. 1. Характеристика типов мышечных волокон млекопитающих.

Тип изоформы тяжелой цепи миозина	Тип I	Тип IIa	Тип IIx/d	Тип IIb
Тип метаболизма	Окислительный	Смешанный	Гликолитический	Гликолитический
Плотность митохондрий, содержание ЦС, СДГ, энергоэффективность, скорость высшего напряжения, выносливость	Высокая	Средняя	Низкая	Низкая
Уровень ЛДГ	Низкий	Средний	Высокий	Высокий
Скорость сокращения	Медленные волокна	Быстрые волокна	Быстрые волокна	Быстрые волокна
Устойчивость к утомлению	Устойчивы	Устойчивы	Утомляемы	Утомляемы

Тип изоформы тяжелой цепи миозина	Тип I	Тип IIa	Тип IIx/d	Тип IIb
Цвет / миоглобин	Красные / высокий	Светло-красный / умеренный	Белый / низкий	Белый / низкий
Площадь поперечного сечения	Маленькая	Большая	Большая	Большая
Сила сокращения	Слабая	Умеренная	Сильная	Сильная

Примечание: ЦС – цитратсинтаза, СДГ – сукцинатдегидрогеназа, ЛДГ – лактатдегидрогеназа.

Волокна I-го типа (медленные волокна) содержат медленную изоформу $MuHC$ и медленные изоформы других сократительных белков. Они обладают преимущественно окислительным метаболизмом и характеризуются высоким содержанием митохондрий, высокой плотностью капиллярной сети и продуцируют ферменты расщепляющие главным образом глюкозу и жирные кислоты. Эти волокна богаты миоглобином и за счет этого имеют красный цвет. Сила их сокращения не велика. Они участвуют в непрерывной тонической активности и устойчивы к усталости [Bottinelli R. 2001]

Волокна типа IIx/d (быстрые волокна) экспрессируют быструю изоформу $MuHC$ и быстрые изоформы других сократительных белков и, следовательно, быстро сокращаются. Типичные волокна IIx/d, в основном, метаболизируют глюкозу и характеризуются небольшим содержанием митохондрий и невысокой плотностью капилляров. Содержание миоглобина в них низкое, поэтому они имеют белый цвет. Волокна IIx/d типа экспрессируют небольшое количество транспортера глюкозы 4 (GLUT4) и имеют более низкую чувствительность к инсулину, чем волокна I-го типа. [Lira V.A. 2010].

Волокна типа IIa (быстрые волокна) имеют промежуточные характеристики. Они обладают смешанным окислительным/гликолитическим метаболизмом. Они являются быстрыми волокнами с высокой скоростью сокращения, но в основном экспрессируют окислительные ферменты. Волокна типа IIa быстрые, но они более устойчивы к усталости, чем волокна типа IIx / d, поскольку они в большей мере используют окислительный метаболизм [Gundersen K. 2011, Pette D. 2001].

У грызунов имеются волокна типа IIb, которые являются более быстрыми и гликолитическими, чем волокна IIx/d. В отдельных изоформах могут встречаться другие сократительные и структурные белки, а их экспрессия более или менее тесно связана с типом волокна. Например, скорость сокращения может зависеть от изоформы легкой цепи миозина. Таким образом, она может варьировать даже в волокнах с тем же типом МyHC. Кроме того, мышцы также содержат гибридные волокна с комбинацией миозиновых транскриптов (I-IIa-IIx/d-IIb) [Gundersen K. 2011].

Скорость и продолжительность сокращения мышечного волокна зависят не только от состава миозина, но и от скорости выделения и обратного захвата Ca^{2+} в волокне. Это, в свою очередь, зависит от развития саркоплазматического ретикулума и секвестрирующих АТФаз (SERCA), изоформы которых дифференциально экспрессируются в разных типах волокон [Gundersen K. 2011, Periasamy M. 2007].

Высвобождение ацетилхолина вблизи двигательной концевой пластинки скелетной мышцы ведет к возникновению тока концевой пластинки, который распространяется электротонически и активирует быстрые потенциал-зависимые Na^{+} -каналы в сарколемме. Это ведет к возникновению потенциала действия, который проводится со скоростью 2 м/с вдоль сарколеммы всего мышечного волокна и быстро проникает в глубь волокна по Т-системе. Каждое отдельное мышечное волокно подчиняется закону «все или ничего», т. е. при силе раздражения выше порогового уровня происходит полное сокращение с максимальной для данного волокна силой, а

ступенчатое повышение силы сокращения по мере увеличения силы раздражения невозможно. Поскольку смешанная мышца состоит из множества волокон с различным уровнем чувствительности к возбуждению, сокращение всей мышцы может быть ступенчатым в зависимости от силы раздражения, при этом при сильных раздражениях происходит активация лежащих глубже мышечных волокон [Покровский В.М. 2003].

1.3. Основные биохимические закономерности обеспечения физической работоспособности

Чтобы обеспечить сокращение скелетная мышца нуждается в большом количестве АТФ, который гидролизуется АТФазой миозина и необходим для обмена ионов во время сокращения [Gaitanos G.C. 1993]. Синтез АТФ обеспечивается различными метаболическими путями. Для получения энергии, необходимой во время тренировки, увеличивается поглощение глюкозы из кровотока, в то время как в состоянии покоя глюкоза может запасаться в виде гликогена. Скелетные мышцы являются одним из мест хранения гликогена в организме млекопитающих, а внутри миофибрилл гликоген имеет различную локализацию [Ortenblad N. 2013]. Липиды также могут храниться в миофибриллах, преимущественно в виде триглицеридов, хотя их чрезмерное накопление может стать причиной воспаления. Во время физической нагрузки происходит активация липолиза с высвобождением свободных жирных кислот (СЖК) и катаболизм гликогена до глюкозо-1-фосфата для получения АТФ [Ferraro 2014].

Исходя из мощности работы и механизмов энергообеспечения, все виды нагрузок разделяют на четыре зоны: максимальную, субмаксимальную, большую и умеренную [Давиденко Д.Н. 1996.]. Работа в зоне максимальной мощности обеспечивается энергией, в основном, за счет АТФ и креатинфосфата (КрФ), частично – за счет гликолиза. Однако скорость гликолиза в этой зоне не достигает максимальных значений, поэтому содержание молочной кислоты в крови у человека обычно не превышает 1-1,5г/л [Волков Н.И. 2013].

Энергетическое обеспечение работы в зоне субмаксимальной мощности осуществляется в основном за счет анаэробного гликолиза, что приводит к большому накоплению молочной кислоты в крови. Основными источниками энергии в этом случае являются КрФ, гликоген мышц и печени, липиды.

При работе в зоне большой мощности основную роль играют аэробные источники энергии при достаточно высоком уровне гликолиза. Доля анаэробных процессов в энергообеспечении работы быстро уменьшается по мере увеличения ее продолжительности.

Наименее интенсивные упражнения в зоне умеренной мощности выполняются при максимуме аэробного производства энергии. Источниками энергии при работе большой и умеренной мощности являются гликоген печени и мышц, а также липиды [Волков Н.И. 2013].

Ведущие факторы утомления при выполнении упражнений различной мощности так же различаются. Так, при работе максимальной мощности лимитирующими факторами являются неадекватная скорость ресинтеза АТФ и исчерпание внутримышечных запасов КрФ. При работе субмаксимальной мощности, к вышеперечисленным факторам, добавляется ацидоз. Ключевыми факторами утомления при работе большой мощности являются исчерпание внутримышечных запасов гликогена, накопление молочной кислоты и ацидоз. В случае с работой умеренной мощности, помимо исчерпания внутримышечных запасов гликогена, утомление наступает вследствие гипокалиемии, гипертермии, дегидратации и кетоза [Волков Н.И. 2013].

1.4. Факторы, влияющие на физическую работоспособность

Физическая работоспособность не является постоянной величиной и может варьировать в зависимости от ряда факторов.

Возраст. С возрастом обычно происходит постепенное снижение ФРС, а также линейное снижение других показателей: ЧСС, анаэробного порога и т.д. При этом среди людей с одинаковым возрастом, ФРС может колебаться в значительной мере – это связано с образом жизни, уровнем физической подготовки и индивидуальными особенностями [Makizako H. 2017].

Питание. Адекватное питание может значительно (до 7%) улучшать физическую работоспособность спортсменов за счет повышения выносливости [Янсен П. 2006].

Высота. С повышением высоты над уровнем моря атмосферное давление падает вместе с парциальным давлением кислорода в воздушной смеси, что быстро сказывается на работоспособности организма. Механизм этого воздействия объясняется тем, что насыщение крови кислородом и его доставка к тканям и органам осуществляется за счёт разности парциального давления в крови и альвеолах лёгких, а на высоте эта разница уменьшается [Чинкин А.С. 2016].

Нарушение суточного ритма. Когда человек переезжает из одной временной зоны в другую, происходит нарушение биоритмов, может неблагоприятно сказываться на работоспособности в течение нескольких дней [Янсен П. 2006].

Инфекционные заболевания. Даже легкая простуда снижает спортивную работоспособность на 20%, в том числе из-за того, что с каждым градусом, превышающим норму, ЧСС увеличивается на 10-15 уд/мин [Ament W. 2009].

Температура и влажность окружающей среды. Любая физическая деятельность зависит от сложных химических реакций, протекающих в мышечных и нервных тканях. Эти химические реакции очень чувствительны к колебаниям температуры. По этой причине любое изменение внутренней температуры тела сказывается на физической работоспособности. [Коц Я.М. 1998].

Перетренированность. Это физическое, поведенческое и эмоциональное состояние, которое возникает, когда объем и интенсивность тренировочной программы превышает восстановительные способности. Если возникает дисбаланс между объемом тренинга и временем восстановления, то человек входит в состояние тренировочного плато, а затем происходит и снижение всех спортивных показателей [Ament W. 2009].

Возникновению перетренированности способствуют нарушения суточного ритма, заболевания, утомление на работе, микротравмирования, превалирующие над скоростью их восстановления, дефицит аминокислот и питательных веществ. При недостаточном восстановлении, стрессах и заболеваниях повышается уровень кортизола, который усиливает катаболизм в мышцах [Adams J. 1998, Petibois C. 2002].

Состояние центральной нервной системы. При различных нарушениях функционирования ЦНС зачастую происходит не только снижение ФРС, но и нарушение двигательной активности в целом [Агеева В.Г. 2007].

Двигательная гипоксия (энергодефицит). Важным компонентом снижения физической и умственной работоспособности является развитие в процессе работы энергодефицита с последующим формированием неблагоприятных сдвигов в энергетическом обмене. Тренировки модифицируют метаболический потенциал, морфологию и физиологию скелетных мышц, стимулируют митохондриальный биогенез и усиливают бета-окисление жирных кислот, тем самым опосредуя фенотипическую адаптацию в сторону аэробного окисления [Ferraro E. 2014]. Переход от состояния покоя к интенсивной мышечной деятельности и резкое усиление расходования энергии мышечными клетками может сопровождаться гипоксией, возникающей вследствие несоответствия между возможностями энергопродуцирующих систем энергопотребностям клетки, а также несоразмерности потребности кислорода и возможностями его доставки системами кровоснабжения и внешнего дыхания. При этом дыхательная цепь митохондрий не успевает освободиться от избытка ионов водорода и электронов, что приводит к увеличению восстановленности дыхательных переносчиков и ограничению окисления субстратов [Шустов Е.Б., Оковитый С.В. 2003].

Нарушение митохондриального окисления приводит к угнетению сопряженного с ним фосфорилирования и, следовательно, вызывает прогрессирующий дефицит АТФ. Дефицит энергии составляет суть любой

формы гипоксии и обуславливает качественно однотипные метаболические и структурные сдвиги в различных органах и тканях. Уменьшение концентрации АТФ в клетке приводит к ослаблению ее ингибирующего влияния на один из ключевых ферментов гликолиза – фосфофруктокиназу. Активирующийся при гипоксии гликолиз частично компенсирует недостаток АТФ, однако быстро вызывает накопление лактата и развитие ацидоза с результирующим аутоингибированием гликолиза [Оковитый С.В. 2012].

1.5. Фармакологические средства, повышающие работоспособность

Основными направлениями фармакологической коррекции физической работоспособности являются [Каркищенко Н.Н. 2013]:

- дополнительная стимуляция организма;
- устранение «слабых мест» функциональных систем организма, повышение его неспецифической резистентности (коррекция переносимости воздействия экстремальных нагрузок на организм);
- устранение причин снижения ФРС (коррекция процессов утомления и механизмов снижения работоспособности);
- ускорение процессов постнагрузочного восстановления;
- адаптация организма к возрастающим физическим нагрузкам (фармакология адаптивных процессов).

Направлениями, которые представляются наиболее актуальными являются устранение двигательной гипоксии, слабых мест функциональных систем, устранение причин снижения работоспособности, активизацию адаптивных процессов и ускорение процессов восстановления в процессе физической активности.

А.В. Смирнов предлагает следующую классификацию фармакологических средств для повышения работоспособности [Смирнов А.В. 1989]:

- Средства истощающего типа действия: психомоторные стимуляторы, антидепрессанты (ингибиторы моноаминооксидазы), аналептики.

- Средства неистощающего типа действия: естественные для организма соединения и их аналоги (витамины, исходные и промежуточные продукты их обмена, анаболические средства, нестероидные анаболики, стероидные анаболики), адаптогены, ноотропы и психоэнергизаторы, актопротекторы.
- Средства смешанного типа действия: глюкокортикоиды, глюкагон, соматотропный гормон.
- Средства с вторичным положительным влиянием на работоспособность.

1.5.1. Актопротекторы

Среди средств, повышающих работоспособность, особое внимание привлекают актопротекторы, рассматривающиеся как препараты, повышающие преимущественно физическую работоспособность. Основы концепции были заложены в начале 1960-х гг. В.М. Виноградовым и в последствии развиты его учениками (Ю.Г. Бобков, А.В. Смирнов, Е.Б. Шустов и др.). В соответствии с этими представлениями для актопротекторов характерны следующие свойства [Бобков Ю.Г. и др., 1984]:

- 1) повышение резистентность организма к острому кислородному голоданию;
- 2) снижение потребления кислорода и температуры тела;
- 3) облегчение приобретения навыков и консолидации следов памяти;
- 4) повышение резистентности организма к воздействию высоких температур и физических нагрузок;
- 5) повышение умственной работоспособности;
- 6) проявление специфического эффекта при однократном введении препаратов;
- 7) низкая токсичность (более 1,5-2 г/кг).

Олейник С.А. предлагает схожие требования к актопротекторам [Oliynyk S. 2012]:

1. Эти агенты должны обладать минимальной фармакологической активностью, что объясняет, почему механизм их действия трудно

коррелировать с их влиянием на некоторые конкретные типы фармакологических рецепторов;

2. Эффективность этих препаратов для быстрого восстановления максимальна только тогда, когда их вводят сразу после воздействия экстремальных состояний;

3. Наиболее сильный эффект актопротекторов наблюдается у лиц с низкой или средней устойчивостью к экстремальным условиям, и они практически отсутствуют у лиц с высокой устойчивостью;

4. Явления устойчивости к экстремальным условиям определяется не одним конкретным биохимическим процессом, а их совокупностью, в первую очередь скоростью их изменений в организме в ответ на экстремальные условия;

5. Наиболее оптимальными средствами для повышения устойчивости являются препараты, снижающие энтропию путем снижения потребления кислорода, температуры тела, частоты сердечных сокращений;

6. Основная эффективность актопротекторов не зависит от экстремальных состояний (физическая нагрузка, стресс, гипоксия, ишемия, гиперемия, гравитационная перегрузка и т.д.), что свидетельствует об их влиянии на основные механизмы адаптации.

Учитывая, что актопротекторное действие присуще многим препаратам, ряд авторов предлагает рассматривать такое действие не как класс-специфическое, а только в рамках отдельного фармакологического эффекта. Так, первоначально, на экспериментальном этапе изучения антигипоксантов проверяли не только их антигипоксический эффект, но и их способность сохранять физическую выносливость в осложненных условиях, а так же способность восстанавливать работоспособность после них. Поскольку такая способность имела и была отчетливо выраженной, В.М. Виноградов предложил назвать эти препараты «актопротекторами» [Виноградов В.М. 1984]. Впоследствии В.М. Виноградов считал, что выделение концепции актопротекторов в отдельное теоретическое представление не совсем

удачным, так как оно было сформировано под залог стоявших в то время задач кафедры фармакологии Военно-медицинской академии по разработке средств для нужд военной медицины [Виноградов В.М., Шабанов П.Д. 2003].

С другой стороны, учитывая, что препараты бемитил и этомерзол (томерзол), относящиеся к классу актопротекторов, по спектру фармакологической активности практически полностью идентичны синтетическому адаптогену дибазолу (бендазолу), предлагается рассматривать их в качестве синтетических адаптогенов. Актопротекторное действие данных препаратов может быть включено как компонент их более широкого адаптогенного эффекта. Кроме того, адаптогенное действие препаратов этой группы проявляется не только при патологических состояниях, но и в здоровом организме при самых различных процессах адаптации/дезадаптации. [Оковитый С.В. 2003].

В концепции адаптогенов, сформулированной Лазаревым Н.В. и Брехманом И.И., многие положения прямо перекликаются с требованиями к актопротекторам [Брехман И.И. 1968]:

1) адаптоген должен быть совершенно безвредным для организма, обладать большой широтой терапевтического действия, вызывать минимальные сдвиги в нормальных функциях организма или вовсе их не вызывать и проявлять свое адаптогенное действие только на соответствующем фоне;

2) действие адаптогена должно быть неспецифично в том смысле, что должна повышаться сопротивляемость к вредному влиянию весьма широкого набора факторов физической, химической и биологической природы;

3) действие адаптогена должно быть тем более выражено, чем более глубоки неблагоприятные сдвиги в организме;

4) адаптоген должен обладать нормализующим действием независимо от направленности предшествующих сдвигов.

Видно, что характеристики 1, 2, 4 и 5 актопротекторов прямо вытекают из положения 2 концепции адаптогенов, положение 7 идентично положению

1 концепции адаптогенов, а положения 3 и 6 являются уточнением или расшифровкой положения 4 концепции адаптогенов.

1.5.2. Адаптогены

В качестве эффективных средств повышения работоспособности традиционно рассматриваются адаптогены животного, растительного и синтетического происхождения [Каркищенко Н.Н. 2014].

Адаптогены животного происхождения представлены очень разноплановыми по своему происхождению средствами:

- Экстракты из неокостенелых рогов марала, изюбра или пятнистого оленя – пантокрин;
- Продукты пчеловодства (перга, цветочная пыльца, маточное молочко), сотовый мед из рамок многолетней экспозиции.

К веществам растительного происхождения относятся извлечения из женьшеня (*Panax ginseng*), аралии высокой (*Aralia elata*), аралии сердцевидной (*Aralia cordata*), заманихи высокой (*Oplopanax elatus*), элеутерококка колючего (*Eleuterococcus senticosus*), акантопанакса сидячецветного (*Acantopanax sesseliflorus*), колопанакса семилопастного (*Kolopanax septemlobus*), полисциаса папоротниколистного (*Poliscias filicifolia*) левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum cartaimoides*) родиолы розовой (*Rhodiola rosea*) и лимонника китайского (*Schizandra sinensis*) [Брехман 1957, Брехман И.И. 1968., Брехман И.И. 1976, Саратиков А.С., 1987, Яременко К.В. 1990]. Наряду с ними в исследованиях на животных, а так же в клинических исследованиях на атлетах, выявлено увеличение под влиянием извлечений из листьев моринды цитрусолистной (*Morinda citrifolia*) ангиогенеза, биогенеза митохондрий, развитие антиоксидантного и антистрессового действия [Mohamad Shalan N.A. 2016].

Синтетические адаптогены (этилбензимидазола гидрохлорид, сальбутиамин) характеризуются наличием регуляторного эффекта с оптимизацией биоэнергетики клеток и сильной стимуляцией синтеза

нуклеиновых кислот и белков в тех органах, тканях и клетках, где происходят приспособительные процессы при адаптации к воздействующим факторам. В некоторой степени такие свойства присущи ноотропам и психоэнергизаторам (пирацетаму, этимизолу, мефексамиду, ацефену, актебралу и их аналогам), низкомолекулярным пептидам, фрагментам и аналогам эндорфинов и энкефалинов (даларгин), суммарным тканевым экстрактам с поливалентным регуляторным действием (цитомединам, комплексам РНК и (или) белков, полученным из тканей животных, проходящих адаптацию к воздействию экстремального фактора [Каркищенко Н.Н. 2014].

Адаптогены улучшают процессы обучения, памяти, стимулируют условнорефлекторную деятельность, улучшают синаптическую передачу в симпатических и парасимпатических волокнах периферической нервной системы, а также формируют фазу резистентности к широкому спектру стресс-факторов, замедляют наступление фазы истощения стресс-реакции организма. [Люблинский С.Л. 2014]. В реализации адаптогенного действия основную роль играют повышение синтеза РНК и белка, активация ферментов энергетического обмена и процессов регенерации, усиление окислительно-восстановительных реакций [Каркищенко 2014].

1.5.3. Аминоэтанола как адаптогены и актопротекторы

Традиционно фармакологический профиль производных аминоэтанола рассматривается как нейропротекторный и ноотропный [Akesson B. 1977, Naidar N.E. 1994].

Так, в экспериментах на крысах ДМАЭ-пироглутамат (п-Глу) увеличивал внеклеточные уровни холина и ацетилхолина в медиальной префронтальной коре, определяемые внутримозговым микродиализом, улучшал результаты в тесте пространственной памяти, и сокращал скополамин-индуцированный дефицит памяти в тесте пассивного избегания. Было обнаружено, что спустя 4 часа после введения ДМАЭ п-Глу в дозе 10 мг/кг в префронтальной коре головного мозга уровень ацетилхолина снижался на 20% по сравнению со значениями контрольной группы. Однако в дозах 40

мг/кг и 160 мг/кг уровень медиатора оставался неизменным по сравнению с контролем, а дозы 640 мг/кг и 1280 мг/кг давали достоверно значимое его увеличение на 68% и 91%, соответственно. Интересно, что уровень холина повышался у всех групп, получавших производное ДМАЭ, причем это увеличение было дозозависимым [Blin O. 2009].

Результаты клинических исследований показывают, что при скополамин-индуцированной амнезии, применение ДМАЭ п-Глу оказывает существенное положительное влияние на результаты теста Бушке на селективное запоминание, а также небольшое, но существенное влияние на время реакции выбора. Эти результаты указывают на то, что ДМАЭ п-Глу уменьшает пагубное влияние скополамина на долговременную память у здоровых добровольцев и позволяет предположить, что он может быть эффективным в уменьшении нарушения памяти у больных с когнитивными нарушениями [Malanga G. 2012].

В одном из исследований на крысах Левин Е.Д. с соавт. (1995) провел сравнительное изучение 3-х препаратов, содержащих ДМАЭ (диметиламиноэтанола циклогексил, карбоксилат и фумарат) в разных дозах (10, 20 и 40 мг/кг). В ходе исследований была установлена эффективная доза ДМАЭ - 20 мг/кг, которая значительно улучшает память. При повторном пероральном введении ДМАЭ крысам той же группы значительные улучшения наблюдались в дозе 40 мг/кг [Levin E.D. 1995].

Так же было установлено, что ДМАЭ, при введении крысам ингибирует образование липофусцина и способствует его выведению из организма. Липофусцин, как полагают, образуется в результате свободнорадикальных реакций при неэффективном метаболизме жирных кислот и накапливается с возрастом во всех тканях организма. Обладая антиоксидантными свойствами со способностью связывать свободные радикалы, ДМАЭ подавляет перекисное окисление липидов и образование активных форм кислорода, уменьшал признаки старения мозга и сердечной мышцы. [Malanga G. 2012].

Деанола ацеглумат повышал устойчивость организма к недостатку кислорода. При исследовании влияния деанола ацеглумата на устойчивость животных к дефициту кислорода при циркуляторной гипоксии отмечалось выраженное противогипоксическое действие в дозах 10 и 50 мг/кг: деанола ацеглумат увеличивал данный показатель до 83 и 50% соответственно [Макарова Т.И.2007].

Для производного яблочной кислоты и моно - [(2-диметиламино) этилового эфира] янтарной кислоты, с помощью компьютерного анализа описан предположительный спектр фармакологической активности, включающий стимуляцию обмена веществ, антигипоксическое, антиоксидантное и радиозащитное действие [Drachuk O. 2011].

Применение диметиламиноэтанола тартрата в рамках двойного слепого исследования у 35 здоровых добровольцев мужского пола в дозировке 10-30 мг приводило к увеличению мышечного тонуса, улучшению ментальной концентрации, уменьшению потребности во сне и «ясному» пробуждению. При этом не происходило статистически значимого изменения артериального давления, частоты сердечных сокращений, изменения массы тела, уровня холестерина в крови, и увеличения кислотности желудочного сока (однако, объем желудочного сока увеличивался) [Murphree H.V. 1960].

В исследовании со 120 здоровыми добровольцами 20-ти лет, получавшими ДМАЭ в дозе 100-200 мг или 150-300 мг ежедневно в течение 2-х недель, было установлено, что препарат увеличивает способность запоминания в тестах Векслера, Киршнера и Баброка. Кроме того, происходило увеличение концентрации внимания, логического понимания, а также улучшение способности ассоциации, математического вычисления и рассуждения. Наблюдалось повышение мышечной силы, физической работоспособности и скоростных показателей, улучшение обучаемости и хорошее общее самочувствие. С увеличением дозы эффект препарата возрастал. [Danysz A. 2014].

Комбинация ДМАЭ битартрата с извлечением из женьшеня, витаминами и микроэлементами повышала физическую работоспособность и утилизацию кислорода мышцами [Pieralisi G. 1991].

Таким образом, производные аминоэтанола могут представлять интерес как препараты с адаптогенным действием.

1.5.4. Антигипоксанты

К антигипоксантам относят вещества различного химического строения, с общеклеточным (не медиаторным, тканеспецифическим или системным) действием, способные корригировать нарушения энергетического обмена и их последствия и повышать таким образом устойчивость клеток, органов и организма в целом к недостатку кислорода и другим воздействиям нарушающим энергопродукцию [Виноградов В.М. 1984]. Антигипоксанты представляют большой интерес благодаря способности устранять двигательную гипоксию как один из основных механизмов снижения работоспособности при физических нагрузках.

Двигательная гипоксия развивается при напряженной мышечной деятельности, в результате которой организм не способен полностью обеспечить кислородом участвующие и не участвующие в этой деятельности тканевые структуры, что приводит к снижению работоспособности и необходимости восстановления, целью которого является покрытие кислородного долга [Шустов Е.Б. 2014].

Классификация антигипоксантов включает следующие группы препаратов [Оковитый С.В. 2012]:

1. Ингибиторы окисления жирных кислот:

1.1. Парциальные ингибиторы окисления жирных кислот (p-FOX-ингибиторы): (триметазидин, ранолазин, мельдоний);

1.2. Непрямые ингибиторы окисления жирных кислот: (карнитин);

2. Сукцинатсодержащие (реамберин, оксиметилэтилпиридина сукцинат) и сукцинатобразующие средства (оксибутират натрия, полиоксифумарин, конфумин);

3. Естественные и полусинтетические компоненты дыхательной цепи: (цитохром С, убихинон, идебенон);

4. Искусственные редокс-системы (олифен);

5. Макроэргические соединения (креатинфосфат, АТФ).

Основные механизмы реализации актопротекторного действия антигипоксантов направлены на [С. В. Оковитый, А. В. Смирнов 2001]:

- повышение эффективности использования митохондриями дефицитного кислорода вследствие предупреждения разобщения окисления и фосфорилирования, стабилизации мембран митохондрий;
- ослабление ингибирования реакций цикла Кребса, особенно поддержание активности сукцинатаксидазного звена;
- возмещение утраченных компонентов дыхательной цепи;
- формирование искусственных редокс-систем, шунтирующих перегруженную электронами дыхательную цепь;
- увеличение образования АТФ в ходе гликолиза без увеличения продукции лактата;
- введение извне высокоэнергетических соединений.

Соли янтарной и фумаровой кислот непосредственно влияют на митохондриальный метаболизм при гипоксии, поэтому их производные можно рассматривать в качестве средств, обладающих не только антигипоксической, но и актопротекторной активностью, что обуславливает традиционно большой интерес к этим интермедиатам цикла трикарбоновых кислот.

Их действие направлено на покрытие энергодефицита в мышечной ткани в условиях гипоксии путем восстановительного синтеза янтарной кислоты (ЯК), сопровождающегося образованием АТФ. Кроме того, экзогенно вводимый сукцинат может реализовывать свои эффекты как интермедиат цикла трикарбоновых кислот и агонист специфических (SUCNR1, GPR91) рецепторов [Оковитый С.В., Радько С.В. 2015, Оковитый С.В., Шустов Е.Б. 2015].

В условиях гипоксии сукцинат «монополизирует» дыхательную цепь и активно в ней окисляется, что позволяет определенное время поддерживать образование АТФ. Однако в условиях прогрессирующей гипоксии дефицит кислорода, лимитирующий скорость окисления всех субстратов, снижает ценность сукцината и ставит его в один ряд с другими субстратами окисления. Поэтому применение сукцината в качестве антигипоксанта эффективно в комплексе с мерами, улучшающими кислородообеспечение организма [Шилов В.В. 2013, Васильев С.А. 2013].

Пополнение фонда субстрата может происходить за счет реакций цикла Кребса, идущих как в прямом, так и в обратном направлениях – «малат-фумарат-сукцинат». Прямая реакция «сукцинат→фумарат→малат» сопровождается синтезом АТФ. При обратном течении реакций имеющийся запас малата по мере необходимости превращается в фумарат, который восстанавливается в сукцинат. Восстановление фумарата также сопровождается выработкой АТФ, и поэтому реакции обращения в системе «малат-фумарат-сукцинат» способны поддерживать окислительное фосфорилирование даже при аноксии. В условиях же гипоксии инверсивные превращения фумарата выполняют роль триггера, который в зависимости от концентрации кислорода регулирует течение конечных реакций цикла Кребса в прямом либо в обратном направлениях, причём и прямые, и обратные сопровождаются синтезом АТФ [Хочачка П. 1988].

Собственно антигипоксическая активность янтарной кислоты и ее солей хорошо изучена [Лукьянова Л.Д. 2001, Маевский 2010]. Однако, в качестве средства коррекции двигательной гипоксии она исследовалась в меньшей степени. Так, в экспериментах по оценке эффективности фенотропила сукцината в условиях информационно-физического стресса (чередование двух видов нагрузок: физической – плавание с грузом 10 % от массы тела, время «до предела» и информационной – формирование пищедобывательного поведения в многоальтернативном лабиринте) была показана способность янтарнокислой соли ноотропа устранять нарушения поведения в условиях

информационно-физического стресса, что может быть критически важным при повреждении определенных отделов ЦНС [Сережникова Т.К. 2010].

В серии опытов, где искусственным путем вызывались изменения, связанные с уменьшением числа митохондрий, уменьшением концентрации комплексов дыхательной цепи, а так же уменьшением и/или содержания энергетических субстратов было показано, что избыточное содержание сукцината оказывает стимулирующее действие на интенсивность клеточного дыхания [Огнева И.В. 2011].

Интересной в терапевтическом плане представляется потенциальная буферная активность натриевых солей янтарной кислоты. Именно способность сукцината к внутриклеточному окислению с заменой одной молекулы водорода на натрий с образованием бикарбоната может быть уникальной с точки зрения возможностей купирования внутриклеточного метаболического ацидоза - одного из серьезнейших последствий перенесенной гипоксии практически любой этиологии [Лукьянова Л.Д. 2001, Шах Б.Н. 2011, Афанасьев В.В. 2005, Davenport A. 1991, Oh M.S. 1985, Zander R. 1993].

Интересно то, что антигипоксический эффект сукцината может быть связан не только с активацией сукцинатдегидрогеназного окисления, но и с восстановлением активного ключевого фермента окислительно-восстановительной цепи митохондрий – цитохромоксидазы [Сыренский А.В. 2008].

Учитывая, что одним из препятствий для применения сукцинатов при двигательной гипоксии может быть их недостаточное проникновение через биологические мембраны, предложен ряд способов по повышению их биодоступности. Так, увеличение биодоступности сукцината достигают за счет комбинирования с некоторыми метаболитами (фумаровая, яблочная, изолимонная кислота) и представление его в виде органических солей [Макарова Г.А. 2013, Маевский Е.И. 2006, Каркищенко Н.Н., Оковитый С.В.

2014]. При этом после поступления вещества в клетку происходит его диссоциация или отщепление молекулы янтарной кислоты.

Во время окислительного стресса (ОС), который может возникнуть при недостаточном снабжении кислородом в условиях двигательной гипоксии, в мембранах эритроцитов наблюдается конформация белкового-липидного бислоя с его уплотнением, что приводит к снижению трансмембранной функции и формированию так называемой «жесткости» мембраны [Гунина М.Л. 2009, Bordbar A. 2001, Mastaloudis A. 2004]. Одновременно происходит изменение формы и размера эритроцитов, что связано с накоплением в мембране токсичных продуктов обмена [Miller M.W. 2003, Satoshi 2009]. Изменение реологического состояния крови, ухудшение микроциркуляции и замедление тканевого кровообращения приводит к снижению оксигенации тканей [Гунина М.Л. 2009, 2007, Новиков, Шустов 1998].

В исследованиях на спортсменах было установлено, что применение ЯК приводит к положительным изменениям как клеточного состава крови, так и эритроцитарных индексов по сравнению с контролем. Выявленные изменения были расценены как особенно важные для процессов микроциркуляции [Гунина М.Л. 2011].

В экспериментах на животных было установлено, что применение ЯК оказывает стимулирующее влияние на гемопоэз: через 20-30 дней после начала применения ЯК количество эритроцитов и содержание гемоглобина возрастали соответственно на 3,96 и 15,8%. Количество лейкоцитов увеличивалось на 6,6% [Шабиев Л.Ф. 2012].

Наиболее изучено влияние на восстановительные процессы после физических нагрузок сукцината аммония. Он может оказывать двоякий эффект. В большинстве случаев (примерно в 70%) проявляется активирующее действие в виде повышения бодрости и работоспособности. Но до 30 % людей реагируют на сукцинат аммония как на успокаивающее средство, снимающее стрессовое напряжение, иногда вплоть до легкой заторможенности и даже засыпания. Клинические испытания позволили установить, что прием

сукцината аммония способствует ликвидации избыточной тревожности, успокаивает и повышает активность [Песков А.Б. 2005]. Независимо от того, каким был первоначальный эффект сукцината аммония, он во всех случаях способствует ускорению восстановления после интенсивной нагрузки. При этом принятый внутрь сукцинат аммония, полностью подвергается окислительным превращениям до углекислого газа в 6-8 раз быстрее, чем глюкоза [Маевский Е.И. 2001]. Начиная с дозы 50мг/кг он оказывает дозозависимое противосудорожное действие [Глушков Р.Г. 2011].

Установлены адаптогенные и стресспротективные свойства (2-диметиламино) этилового эфира ЯК. Так, при помещении животных на 6 ч в холодовую камеру ($-15/-17$ °С), применение сукцинатсодержащего препарата увеличивало их выживаемость. На модели двигательного стресса с использованием методики лишения животных сна, пищи и воды в медленно вращающемся барабане, препарат показал выраженное защитное действие в отношении как показателей функциональной активности ЦНС, так и развития целого ряда патофизиологических проявлений стресс-синдрома [Лозинский М.О. 1988].

Адаптогенное действие малата моно (2-диметиламино) этилового эфира ЯК также было подтверждено на крысах на модели экстремальной ситуации, обусловленной статическим мышечным напряжением и в плавательном тесте [Семенов С.В. 2008].

Активное окисление ЯК способно поддерживать высокую степень восстановленности коэнзима Q10, предупреждая накопление его семихинонной (полувостановленной) формы, которая является генератором супероксид-аниона [Василев С.Ц. 2000, Розенфельд А.С. 2007].

В одном из исследований был проведен скрининг собственной восстановительной силы сукцината и ряда его солей, которая отражает способность веществ, отдавать электроны, проявляя антиоксидантные свойства. Анализ восстановительной силы заключался в определении способности исследуемых веществ, переводить Fe^{3+} в Fe^{2+} . В результате было

установлено, что собственно янтарная кислота независимо от концентрации проявляет низкую антирадикальную активность. В 2-3 раза большую активность проявляют ее соли - особенно активной оказалась калиевая соль в концентрации 0,001 % [Никитина Е.В. 2010].

Сукцинаты опосредованно снижают активность перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует уменьшение содержания малонового диальдегида (МДА) с одновременным накоплением восстановленного глутатиона (GSH) в мембранах эритроцитов в модельных экспериментах [Гунина М.Л. 2014].

С учетом выраженного антиоксидантного и мембранопротективного действия предполагается также участие сукцината в процессах программируемой клеточной гибели [Ascensão, A. 2011], что также является дополнительным фактором регуляции работоспособности [Гунина М.Л. 2014].

Суцинат является важным эндо- и паракринным стимулятором. Воздействие на рецептор SUCNR1 оказывает активирующее влияние на лимфоцитопоз и, следовательно, на гуморальный и клеточный иммунитет, так как происходит одновременное повышение количества В- и Т-лимфоцитов, возрастает фагоцитарная, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови. Это приводит к повышению сопротивляемости к неблагоприятным воздействиям, в том числе и к возбудителям инфекционных заболеваний. Это чрезвычайно важно для спортсменов в циклических видах спорта с преодолением больших дистанций (бег, плавание, велоспорт, гребля, лыжных спорт), т.к. в результате длительного ацидоза, может происходить снижение иммунитета [Шабиев Л.Ф. 2012, Deen P.M.T. 2011].

1.5.5. Ноотропы

Тренировки - это вид физической активности, который специальным образом спланирован, структурирован и представляет собой повторяющиеся движения тела, цель которых - улучшение или поддержание одного или нескольких компонентов способности к движению [Caspersen C. 1985]. Способ

организации деятельности человека, его способность адекватно реагировать на различные стимулы определяется уровнем его интеллекта и свойствами нервной системы. Чем лучше развиты интеллектуальные качества, тем доступнее и понятнее программа тренировочной деятельности, ее цели, задачи и прогнозируемый результат, тем активнее проявляется единство мыслительной и двигательной деятельности. Следовательно, развитие и оптимизация различных когнитивных функций является важной составляющей тренировочного процесса и оказывает значимое влияние на результат [Назаренко А.С. 2013].

Активная и регулярная физическая активность высокой интенсивности требует большого функционального запаса ЦНС. Кроме того, головной мозг является наиболее чувствительным к гипоксии, часто возникающей во время нагрузок. С целью коррекции и поддержания оптимальной умственной работоспособности применяются ноотропные средства [Каркищенко Н.Н. 2014].

К ноотропным средствам относятся препараты, фармакологическое действие которых проявляется в облегчении передачи информации между полушариями головного мозга, улучшающих процессы памяти и обучения, стимуляции возбуждения в центральных нейронах, улучшении кровоснабжения и энергетических процессов мозга, повышении его устойчивости к гипоксии, а также к повреждающему действию различных факторов биологической (инфекция), химической (интоксикация) и физической (травма, шок) природы [Кулиненков О.С. 2015, Шабанов П.Д. 2003].

Из-за неоднородности группы механизм действия различных препаратов неодинаков, хотя имеется ряд общих черт [Шабанов П.Д. 2003]:

- препараты не оказывают прямого синаптотропного действия (за исключением производных ГАМК). В то же время они улучшают синаптическую эффективность для многих нейромедиаторов (ацетилхолина,

дофамина, норадреналина, серотонина, ГАМК), влияя на разные звенья передачи нервного импульса;

- улучшают энергетический и пластический обмен в разных тканях, включая центральную нервную систему и периферические органы, стимулируют утилизацию глюкозы мозгом, синтез макроэргов, РНК, белков, фосфолипидов мембран;

- могут улучшать кровообращение и микроциркуляцию в центральной нервной системе и внутренних органах (миокард, печень, почки).

Таким образом, поиск новых препаратов, повышающих физическую работоспособность среди средств неистощающего типа действия обусловлен, высокой потребностью в них людей, чья деятельность связана с физическими нагрузками высокой интенсивности, а также пациентов с органическими и функциональными заболеваниями, для которых характерно снижение работоспособности, либо ее частичная утрата.

Комплексные препараты, представляющие собой соединения аминокислот с субстратами трикарбоновых кислот могут в этом плане представлять большой интерес, так как они обладают способностью действовать на различные одновременные звенья патогенеза утомления и восстановления при физических нагрузках и снижении ФРС.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Объекты исследования

Объектом исследования являлось новое производное диэтиламиноэтанола и дикарбоновых кислот - (бис {2-[2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандионат). Соединение синтезировано на кафедре органической химии СПХФА. Препарат использовали в виде фарм. субстанции, приготавливая раствор для внутрижелудочного введения.

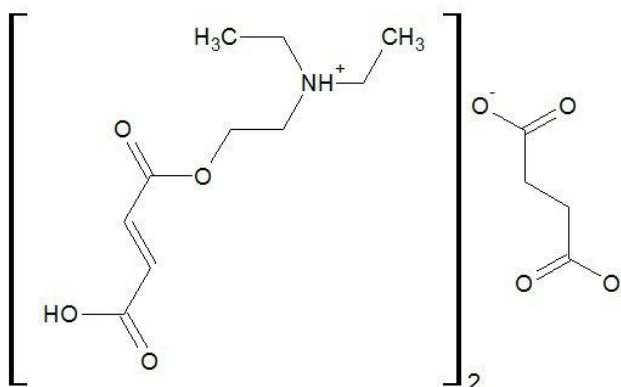


Рис. 1. Структурная формула исследуемого соединения.

Выбор дозы ФДЭС осуществляли с помощью методики вынужденного плавления с грузом 10% от массы тела [Каркищенко Н.Н. 2013]. Дополнительно была проведена оценка влияния различных доз исследуемого соединения и эквимольных доз янтарной кислоты для дифференцирования действия нового фармакологического агента от эффектов возможных продуктов диссоциации.

Наиболее выраженное повышение времени плавления было в группе, получавшей ФДЭС в дозе 75 мг/кг: исследуемый показатель был в 1,29 раза выше исходных значений и в 1,15 раза значений контрольной группы (табл.2).

Доза ФДЭС 75 мг/кг дала наибольший прирост времени плавления и, несмотря на то, что он не достиг статистической значимости различий по сравнению с исходными показателями (что может быть обусловлено особенностями актопротекторного профиля действия соединения), эта доза была выбрана для дальнейших исследований, так как в исследованиях других авторов она показала высокую нейротропную активность [Титович И.А. 2017].

Влияние различных доз ФДЭС на время плавания экспериментальных животных

Группа	Время плавания, сек	
	Исходно	Итог
Контроль	282,33 ± 19,73	302,04 ± 38,70
10 мг/кг	283,5 ± 22,33	308,37 ± 15,53
25 мг/кг	280,5 ± 23,71	310,81 ± 24,74
50 мг/кг	286,5 ± 19,34	331,46 ± 26,67
75 мг/кг	285,5 ± 14,45	369,66 ± 79,47
100 мг/кг	286,5 ± 20,99	314,12 ± 47,46
300 мг/кг	278,66 ± 25,85	320,0 ± 29,93
ЯК 16 мг/кг	281,83 ± 22,92	337,13 ± 31,19
ЯК 100 мг/кг	282,33 ± 26,94	322,5 ± 35,38

Примечание: ЯК – янтарная кислота.

Янтарная кислота не дала значимого увеличения физической работоспособности, что позволяет говорить о том, что именно целая молекула ФДЭС, а не продукты его диссоциации оказывают влияние на физическую работоспособность.

Препараты сравнения

Этилтиобензмидазола гидрохлорид (ЭТБИ г/х). Рассматривается в качестве «эталонного» препарата с актопротекторным действием [Смирнов А.В. 1989]. В клинической практике используется для повышения физической работоспособности в обычных и осложненных условиях, а также в качестве противоастенического средства. Основным механизмом действия этилтиобензмидазола считается активация и усиление синтеза РНК, естественно протекающего в данный момент в различных тканях. Среди активно образуемых под его влиянием белков наибольшее значение имеют короткоживущие белки, играющие ключевую роль в процессах адаптации-

дезадаптации. [Смирнов А.В. 1989]. Его влияние на физическую работоспособность доказано как у животных, так и у людей [Смирнов А.В., 1998; Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., 2014, Оковитый С.В. 2003, 2014] ЭТБИ г/хл синтезирован на кафедре органической химии СПХФА. Доза для исследований (25 мг/кг) выбрана на основании литературных данных [Смирнов А.В. 1991].

Пирацетам. Согласно экспериментально-фармакологической характеристике ноотропного действия «эталонного» ноотропа пирацетама, его особенностью является улучшение процессов обучения и памяти у животных как в норме, так и при патологии [Giurgea C. 1976, Scandia V., 1979]. Доза для исследования (900 мг/кг) выбрана на основании литературных данных [Колясникова К.Н. 2012, Giurgea C. 1976.]

Инозин (Рибоксин), рассматриваемый как нестероидный анаболик, стимулирует энергетический обмен за счет усиления ресинтеза АТФ и повышения АТФ-азной активности миозина, уменьшает ацидоз посредством стимуляции окисления молочной кислоты [Кононова В.А. 1984], усиливает синтез белка при интенсивных нагрузках [Дунаев В.В. 1989], ускоряет диссоциацию оксигемоглобина [Кукес В.Г. 1983], подавляет процессы перекисного окисления липидов [Герасимец И.М. 1990]. Доза для исследования 50 мг/кг выбрана на основании литературных данных [Каркищенко Н.Н. 2014].

Калия оротат - один из предшественников пиримидиновых нуклеотидов, входящих в состав нуклеиновых кислот, которые участвуют в синтезе белковых молекул. В связи с этим оротат калия применяется как нестероидный анаболик при нарушениях белкового обмена, в первую очередь при нарушении альбуминообразующей функции печени, дистрофических изменениях в мышцах, так и в результате физического перенапряжения в спорте, как стимулятор обменных процессов [Mironov Iu.V. 1985]. Доза для исследования 50 мг/кг выбрана на основании литературных данных [Каркищенко Н.Н. 2014].

Янтарная кислота – интермедиат цикла трикарбоновых кислот, способна окисляться с образованием большого количества энергии, запасаемой в виде АТФ, а также непосредственно влиять на энергетический обмен в митохондриях. Способна усиливать утилизацию молочной кислоты. Дозировка выбрана на основании литературных данных [Гунина Л.М. 2014].

2.2. Экспериментальные животные

Опыты выполнены на 528 аутбредных мышах-самцах массой 24 ± 2 г. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Приказом Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н "Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики" и Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область), прошли необходимый карантин и содержались в стандартных условиях сертифицированного вивария на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде. Использование животных в экспериментах одобрены решением Биоэтической комиссии СПХФА (протокол № 18 от 14.11.14).

2.3. Тесты для оценки работоспособности животных

2.3.1. Тест «вынужденное плавание»

Тест вынужденного плавания используется как для предварительной оценки работоспособности животных, так и для динамических исследований, предполагающих повторное тестирование работоспособности лабораторных животных [Каркищенко Н.Н. 2013].

В зависимости от того, какой режим физических нагрузок (низкий, умеренный, средней интенсивности, высокой интенсивности) планируется к изучению, выбирается соответствующая масса груза (2,5-3% от массы тела - низкий уровень нагрузок большой длительности, 5% - умеренный уровень нагрузок средней длительности, 7,5% - средний уровень интенсивности

нагрузок, 10% - высокий уровень нагрузок, выполнение которых возможно только короткое время) [Каркищенко Н.Н. 2013].

Тест предельного плавания с грузом 2,5 - 3% обычно используется для оценки аэробного порога работы животных, 10% - анаэробного порога, 7,5% - для изучения смешанной (аэробно-анаэробной) физической работоспособности. Груз 10% от массы тела обычно используется также при тестировании препаратов в интересах спорта высших достижений [Каркищенко Н.Н. 2013].

Как показала практика работы с существующими методами фиксации утяжеляющих грузов, все приспособления для их крепления обладают рядом недостатков. Так, фиксация булавкой вызывает сильный стресс у животных, что влияет на результаты и достоверность эксперимента, исключая возможность изучения ряда препаратов. Кроме того, при таком способе крепления нагрузка распределяется неравномерно и животное, зачастую, начинает совершать вращательные движения в воде из-за смещения центра тяжести. Более того, требуется навык прокалывания в области крестца для снижения травматичности. Также возможно инфицирование места прокола.

В случае использования для крепления грузов резинки, возможно сдавливание и смещение внутренних органов, а также нарушение кровообращения в области крепления. При длительных экспериментах возможно повреждение кожных покровов и некроз тканей из-за локальной ишемии. В то же время, если резинку не затянуть сильно, вероятно ее спадание вместе с грузом во время проведения эксперимента.

Таким образом, существующие приспособления увеличивают вероятность получения недостоверных результатов вследствие снижения работоспособности животных из-за скрытых травм, неравномерного распределения груза и сильного стресса. Явно травмированные животные не могут далее принимать участие в эксперименте и требуют замены, что увеличивает материальные затраты на исследования. Кроме того,

эксперименты могут рассматриваться как исследования с неоправданной жестокостью в отношении животных.

Предлагаемое устройство (рис. 2, 3) позволяет надежно закреплять и равномерно распределить нагрузку на теле животного, исключить возможность инерционного вращения, уменьшить травматичность процедуры крепления груза, снизить стресс для животного, сократить материальные затраты на эксперимент за счет уменьшения необходимого количества животных и расходов, связанных с их содержанием. Это позволяет получать адекватные показатели работоспособности животных.

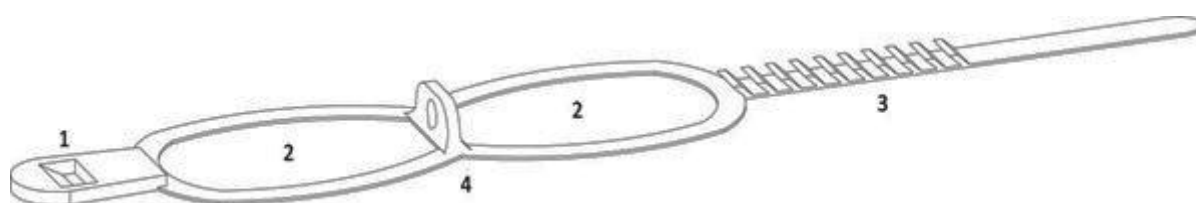


Рис. 2. Устройство для крепления грузов на мелких лабораторных животных. Обозначения: 1 – крепёжный замок, 2 – петли для лап животного, 3 – крепёжный язычок с поперечными выступами, 4 – универсальное ушко для груза.

Крепёж используется следующим образом. Изначально плоское изделие берётся удобно в руку, в другой рукой захватывается лабораторное животное, затем передние лапы животного продеваются в петли 2, изделие оборачивается вокруг животного и фиксируется через отверстие замка 1 язычком 3, которые должны быть расположены на спине животного. Далее возможно подтянуть язычок 3, чтобы обеспечить надёжную фиксацию крепежа на животном. К ушку 4 через отверстие крепится груз (рис. 2).



Рис. 3. Крепление груза на лабораторных мышах.

Перед исследованием осуществляли предварительное определение физической работоспособности животных. В том случае, если полученные результаты животного более чем на 2σ отклонялись от средних значений, при рандомизации они исключались из исследования.

Исследования проводили в плавательной установке, представляющей собой 200-литровый бассейн высотой 40 см, шириной 35 см и длиной 80 см, заполняемый водой до половины. Внутри него располагался внутренний контур из оргстекла высотой 30 см, шириной 30 см и длиной 75 см, разделенный на 10 отсеков (15x15 см каждый) (рис 4).



Рис. 4. Плавательная установка для животных (общий вид)

Воду в установку для плавания животных заливали заблаговременно, не менее чем за 24 часа до исследования, тонкой струйкой по стенке для избегания дополнительной ее газации. За период отстаивания из воды происходит высвобождение растворенного в ней воздуха, что исключает впоследствии его сорбцию на мехе животного и оказания влияния на плавучесть.

Температуру воды определяли термометром за 30 минут до начала исследования (целевое значение 22-24°C).

Для проведения теста лабораторным животным прикрепляли груз, пропорциональный весу животного, после чего их без резких движений погружали в воду бассейна, секундомер включали при первых плавательных движениях животного. Критерием окончания теста являлось погружение животного с носом под воду при неудачной попытке всплыть более трех секунд, после чего его извлекали из бассейна, обсушивали мягкой тканью и помещали в стандартную клетку.

2.3.2. Тест «Челночное плавание»

Тест «челночное плавание» позволяет оценивать влияние исследуемых соединений на выносливость, оцениваемую как количество проплытых бассейнов, и процессы утомления [Каркищенко Н.Н. 2013]. Для оценки выносливости, в опытах использовали бассейн длиной 180 см, высотой 30 см и шириной 15 см, который за 24 часа до начала эксперимента наполовину заполняли десатурированной водой (рис.5). При проведении эксперимента в один конец бассейна помещали мышь, которая в течении предыдущих 3-х дней обучалась плаванию в бассейне из одного конца в другой и проводили измерение времени преодоления дистанции и числа проплытых бассейнов. Отсчет времени осуществляли с момента начала плавательных движений в нужном направлении. Эксперимент прекращали, если животное преодолеvalo один бассейн более чем за 60 секунд.



Рис. 5. Бассейн для челночного плавания

2.3.3. Тренирующие аэробные нагрузки

Для создания модели, имитирующей аэробный тренировочный процесс, была модифицирована методика морфологической адаптации сердца к аэробным нагрузкам, предложенная Evangelista F.S. и соавт. [Evangelista F.S. 2003].

В оригинальной методике плавание начиналось с 10-минутных заплывов два раза в день с постепенным увеличением до 90 минут. Мы использовали более высокий темп наращивания нагрузки, начиная с одного часа в течение трех дней и в дальнейшем по 90 мин два раза в день, рассчитывая на более быстрое формирование компенсаторных изменений сердечно-сосудистой системы у мышей при повышенной нагрузке.

Во избежание утопления в оригинальной методике животным снизу подавался воздух. Если животное прекращало плавательные движения из-за образования «воздушной подушки» под шерстью, ему в нос подавалась струя воды.

В отличие от оригинальной методики мы отказались от подачи воздуха в плавательную камеру для предотвращения утопления экспериментальных животных, так как использовали аутбредных мышей, у которых шерсть более плотная и густая, чем у мышей линии CBL, использованных в оригинальной методике. В этом случае также отпала необходимость постоянно контролировать плавательную деятельность животных т.к. она фактически непрерывна. Внесение данной модификации повысило воспроизводимость методики, т.к. мыши получали более равномерную и, главное, непрерывную нагрузку без отдыха, не снижающуюся за счет удержания животного на поверхности воды с помощью пузырьков воздуха, число и размеры которых могут зависеть от объема шерсти животных.

Тренировки проводили в плавательной установке, описанной выше. Плавательные тренировки проходили два раза в день, с перерывом в один час, пять дней в неделю на протяжении 4-х недель в одно и то же время. Длительность одной тренировки – полтора часа (табл. 3).

Таблица 3.

Схема тренировочного процесса

Показатель		Количество и время тренировок	
		1-я тренировка	2-я тренировка
Первичный тест	0 день		
1-я неделя	1-3 дни	1 ч	-
	4-5 дни	1,5 ч	1,5 ч
	6-7 дни	Отдых	
2-я неделя	8-12 дни	1,5 ч	1,5 ч
	13-14 дни	Отдых	
3-я неделя	15-19 дни	1,5 ч	1,5 ч
	20-21 дни	Отдых	
4-я неделя	22-26 дни	1,5 ч	1,5 ч
	27-28 дни	Отдых	
Итоговый тест	29-й день		

Продолжительность первых трех тренировок составляла один час один раз в день, для адаптации животных к нагрузке. Во время тренировки мышцы каждый раз размещались в отсеках установки произвольным образом. Животные получали суточную норму еды после окончания второй тренировки, что позволяло избежать перекармливания перед тренировкой, негативно сказывающегося на тренировочном процессе.

В качестве итогового теста использовали методику челночного плавания, оценивая такие показатели, как количество пройденных бассейнов, общее время плавания у тренировавшихся и не тренировавшихся животных.

В результате было установлено, что после 4-х недель тренировок 2 раза в день 5 дней в неделю у тренировавшихся животных происходили значимые изменения в количестве проплытых бассейнов. Данный показатель был в 1,5 раза выше по сравнению с интактными животными.

Также через 4 недели тренировок произошло некоторое увеличение общего времени плавания (в 1,67 раза) и времени, затрачиваемого на преодоление одного бассейна (в 1,18 раза) по сравнению с интактными животными. Наблюдаемая тенденция к росту данных показателей может быть обусловлена изменением соотношения быстрых и медленных мышечных

волокон в сторону последних с сопутствующим изменением метаболизма в них, наблюдающимся при подобного рода нагрузках [Ferraro E. 2014].

Для оценки влияния тренировочного процесса на морфо-функциональные изменения в миокарде после финального тестирования у животных измеряли массу сердца (Мм) и левого желудочка (Мж), а также их соотношение. Для неинвазивной оценки морфологии и функции левого желудочка применяли ультразвуковой метод (эхокардиография, ЭхоКГ). Исследование выполняли с использованием ультразвуковой системы высокого разрешения MyLabTouch SL 3116 (Esaote, Италия). ЭхоКГ проводили в В-режиме (двумерное сканирование), с целью качественной оценки структурно-функциональных изменений сердца и определения оптимального среза для количественных измерений, последние выполняли в М-режиме (одномерное сканирование) по короткой оси левого желудочка на уровне папиллярных мышц (рис.6.).

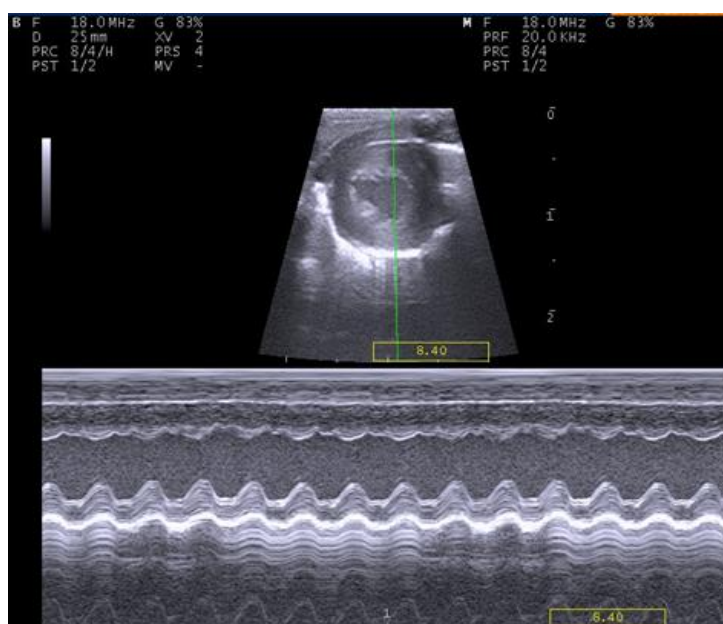


Рис. 6. Эхокардиограмма сердца экспериментального животного в В-режиме

Оценивали толщину межжелудочковой перегородки в систолу (МЖПс) и диастолу (МЖПд), толщину задней стенки левого желудочка в систолу (ЗСЛЖс) и диастолу (ЗСЛЖд), конечный диастолический (КДР) и

систолический (КСР) размеры левого желудочка, фракцию выброса (ФВ) и укорочения (ФУ), частоту сердечных сокращений (ЧСС).

Манипуляции с животными проводили под наркозом, используя внутримышечно смесь золазепам и тилетамина (Золетил, Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 37,5 мг/кг (100 мг/мл) в комбинации с ксилазином (Ксила, Interchemie, Нидерланды) в дозе 10 мг/кг (20 мг/мл).

В случае оценки ЧСС без использования наркотика, исследование проводили с помощью компьютерного электрокардиографа «Поли-Спектр-8/В» (ООО Нейрософт, Россия).

Анализ влияния тренировочного процесса на функционально-морфологические изменения в миокарде позволил установить, что показатели геометрии и сократительной функции миокарда в результате тренировок достоверно не изменились (табл.4). Однако, при этом под влиянием физических нагрузок произошло уменьшение ЧСС в опытной группе в 1,42 раза по сравнению с контролем, что может рассматриваться как развитие функциональной брадикардии под воздействием физической нагрузки [Савка В.Г. 1996].

Таблица 4.

Влияние тренировочных нагрузок на ЭхоКГ-показатели миокарда экспериментальных животных

Показатель	Контрольная группа		Опытная группа	
	Исходно	Через 4 недели	Исходно	Через 4 недели
Масса, г	22,0±1,82	23,5±2,08	19,5±0,84	22,16±1,48
Толщина межжелудочковой перегородки в систолу, мм	1,01±0,07	1,26±0,06	1,08±0,10	1,14±0,12

Показатель	Контрольная группа		Опытная группа	
	Исходно	Через 4 недели	Исходно	Через 4 недели
Толщина межжелудочковой перегородки в диастолу, мм	0,47±0,03	0,55±0,05	0,56±0,06	0,56±0,05
Толщина задней стенки левого желудочка в систолу, мм	1,05±0,08	1,26±0,63	0,57±0,03	0,56±0,02
Толщина задней стенки левого желудочка в диастолу, мм	0,62±0,04	0,55±0,06	0,88±0,05	0,77±0,18
Конечный диастолический размер левого желудочка, мм	3,96±0,28	4,23±0,14	3,97±0,33	3,81±0,17
Конечный систолический размер левого желудочка, мм	2,43±0,43	2,30±0,14	2,75±0,21	2,38±0,24
Фракция выброса, %	74,21±7,40	85,99±0,86	64,39±2,89	78,61±2,81
Фракция укорочения, %	40,01±7,72	49,48±1,08	30,35±2,01	41,74±2,41
ЧСС, уд/мин	189,73 ± 4,02	191,5 ± 23,79	194,92 ± 27,0	136,0 ± 22,57 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,05$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя интактной группы ($p < 0,05$);

По окончании эксперимента животных забивали методом быстрой декапитации, извлекали сердце и определяли массу миокарда и левого желудочка. Морфологическое исследование сердца подтвердило данные,

полученные при эхокардиографии – достоверных изменений в массе миокарда и левого желудочка не произошло. Однако в исследованиях, проводившихся Evangelista F.S. и соавт. (2003), тренировочная модель которых была взята нами за основу, к концу эксперимента было зафиксировано некоторое увеличение массы миокарда и левого желудочка [Evangelista F.S. 2003]. Учитывая, что масса мышей была сопоставима и тренировочный режим максимально воспроизведен, очевидно, решающим фактором, оказавшим влияние на результат, является использование в наших экспериментах аутбредных животных, а не мышей линии CBL, как в оригинальной работе.

Таким образом, в результате модификации экспериментальной модели, имитирующей аэробный тренировочный режим:

а) определен оптимальный тренировочный режим - две полуторачасовых тренировки с интервалом в один час 5 дней в неделю на протяжении 4-х недель;

б) выбрана подходящая тест-система – аутбредные мыши самцы массой 22-24 г;

в) сформирован перечень наиболее информативных показателей, характеризующих данную экспериментальную модель с точки зрения дальнейшей оценки эффективности лекарственных средств (общее количество пройденных бассейнов, общее время плавания, время преодоления одного бассейна).

Модифицированная экспериментальная модель была валидирована по показателям правильность (точность) и сходимость. Модель воспроизводима вне зависимости от времени года по основным показателям.

2.3.4. Тренирующие аэробно-анаэробные нагрузки

Тренировки осуществляли по методике вынужденного плавания с грузом [Каркищенко Н.Н. 2013]. Перед тренировкой фиксировали утяжеляющий груз, составлявший 10% от массы тела, затем животных помещали в соответствующий отсек бассейна и сразу включали секундомер. Критерием окончания тренировки являлось погружение животного с носом

под воду при неудачной попытке всплыть более трех секунд, после чего его извлекали из бассейна, обсушивали мягкой тканью и помещали в стандартную клетку. Тренировки проводились три раза в неделю через день в течении 6 недель.

Схема тренировочного процесса представлена в табл.5.

Таблица 5.

Схема тренировочного процесса

Показатель		Тренировки с утяжеляющим грузом (% от массы тела)		Препараты
		7,5%	10%	
Первичный тест	0 день	+		
	1-я неделя	1-3 дни	+	+
1-я неделя	4-5 дни		+	+
	6-7 дни	Отдых		
	2-я неделя	8-12 дни		+
2-я неделя	13-14 дни	Отдых		
	3-я неделя	15-19 дни		+
3-я неделя	20-21 дни	Отдых		
	4-я неделя	22-26 дни		+
4-я неделя	27-28 дни	Отдых		
	5-я неделя	29-33 дни		+
5-я неделя	34-35 дни	Отдых		
	6-я неделя	36-40 дни		+
6-я неделя	41-42 дни	Отдых		
	Оценка последствий	43-49 дни	Отдых	
Оценка последствий	50-56 дни	Отдых		

2.3.5. Силовая модель

Для создания модели, имитирующей тренировочный процесс, направленный на развитие силовых показателей был использован принцип негативных повторений. Силу хвата передних конечностей животных измеряли с помощью динамометра (BIO-GS3, Bioseb grip strength meter, Франция).

Животному давали ухватиться за участок закрепленной проволоки динамометра и плавно, в сопротивлении естественному движению (желанию подтянуть себя к проволоке), оттягивали до выпрямления лап, но так, чтобы животное не разжимало лап. Затем усилие уменьшали (но не бросали резко и не снижали совсем), давая животному подтянуть себя обратно. Повторы делали до тех пор, пока экспериментатор не ощущал отсутствия у животного силы притягивать себя к проволоке, после чего мыши давалась 1 минута отдыха и подход повторялся. Всего выполнялось 3 подхода один раз в день; группа 1 тренировалась по описанной методике 3 раза в неделю, а группа 2 – 5 раз в неделю в течение 4-х недель. Контрольная группа не выполняла упражнений.

В ходе определения оптимального режима тренировок было установлено, что в отличие от контрольной группы, где какая-либо динамика отсутствовала, в группах 1 и 2, выполнявших негативные повторения, сила хвата достоверно выросла в 1,15 раза и в 1,14 раза по сравнению с исходным уровнем и в 1,2 раза и 1,18 раза по сравнению с контролем (табл.6, рис.7).

Таблица 6.

Влияние различных тренировочных режимов на силу хвата мышей

Группа	Количество тренировок в неделю	Сила хвата, ньютон (Н)	
		Исходно	После тренировок
Контроль	-	32,0 ± 0,70	31,6 ± 1,14
Группа 1	3	33,13 ± 2,99	38,0 ± 4,43 ^{1,2}
Группа 2	5	32,75 ± 3,37	37,38 ± 4,37 ^{1,2}

Таблица 1. Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,05$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,005$).

Измерение общего количества «негативных повторений» для 1-й и 2-й групп показало их достоверное увеличение относительно исходного показателя: в первой в 2,28 раза, во второй в 2,13 раза (рис.8). В контрольной группе показатель достоверно не изменился, оставшись практически на прежнем уровне.

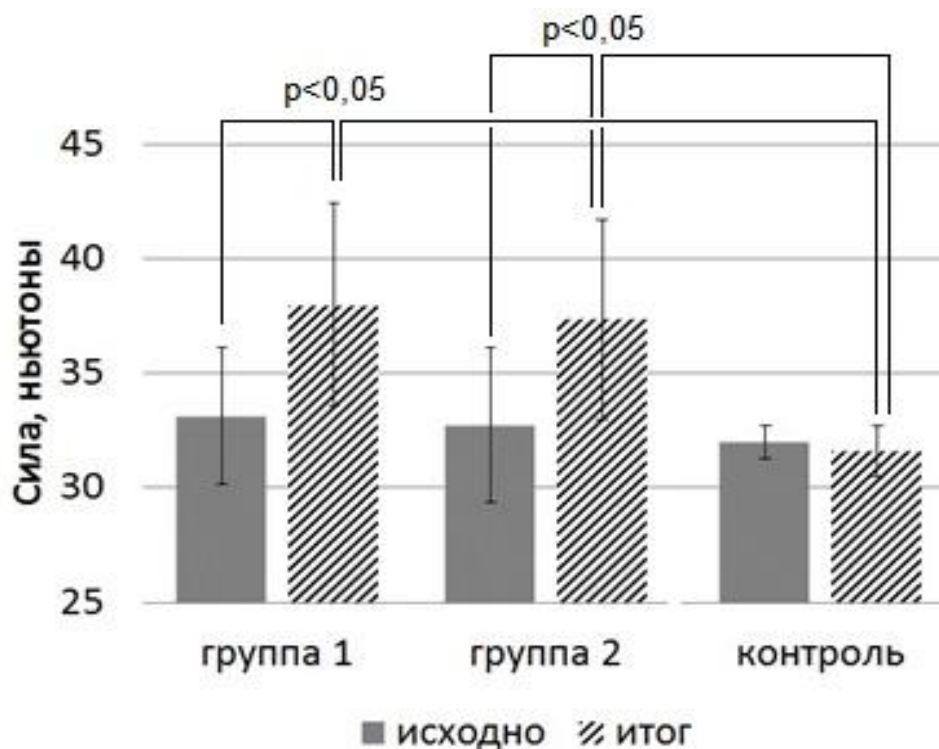


Рис. 7. Влияние различных тренировочных режимов на силу хвата.

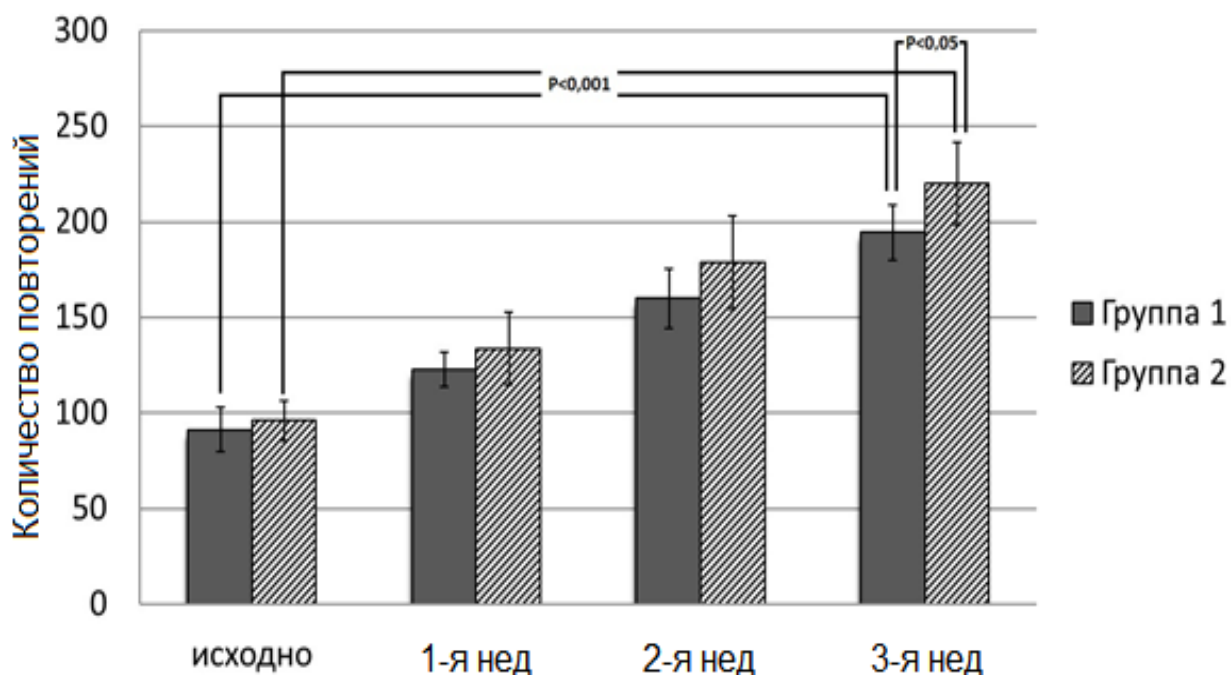


Рис 8. Суммарное количество повторений в группах 1 и 2.

Очевидно, отсутствие различий между режимами 1 и 2 обусловлены тем, что животные не могут выполнять работу «до отказа», преодолевая болевые ощущения. Таким образом, нагрузка не была критичной и модель имитирует тренировочный процесс работы с собственным весом, которые у людей также дает прирост как в случае тренировок 5 раз в неделю, так и при занятиях через день [Антонов А.В. 2015].

Другим объяснением может быть то, что в подтягиваниях (взяты в качестве примера как наиболее сходный по биофизике движения и работы с собственным весом) у людей одним из лимитирующих факторов является сила хвата [Власенко П.С. 2013, Watts P.B. 2004]. После достижения определенного предела, для её увеличения требуются специальные тренировки. Возможно, обе группы достигли своего предела в этом показателе и его дальнейшее увеличение с помощью использованной методики является затруднительным.

В результате разработки экспериментальной модели, имитирующей силовой тренировочный режим:

а) определен оптимальный тренировочный режим: 3 подхода до отказа 3 раза в неделю на протяжении 4-х недель;

б) выбрана подходящая тест-система – аутбредные мышцы самцы массой 22-24 г;

в) сформирован перечень наиболее информативных показателей, характеризующих данную экспериментальную модель с точки зрения дальнейшей оценки эффективности лекарственных средств, влияющих на силовую выносливость, силовые показатели (количество повторений, сила хвата).

Экспериментальная модель была валидирована по показателям правильность (точность) и сходимость. Модель воспроизводима вне зависимости от времени года по основным показателям.

2.3.6. Т-лабиринт

Модели обучения животных в лабиринтах являются наиболее адекватными для изучения процессов памяти, так как создаваемые условия

соответствуют естественной среде обитания. Хорошо развитая пространственная память мелких грызунов позволяет исследовать их поведение в лабиринтах различной степени сложности. Модель обучения мышей в Т-образном лабиринте с пищевым подкреплением является одной из распространенных моделей лабиринтного обучения [Deacon R.M.J. 2006]

Животных помещали в Т-лабиринт (рис.9.), где в конце обоих рукавов находилось вознаграждение в виде корма, животному давалось время выбрать рукав и съесть корм.



Рис. 9. Т-лабиринт (ООО НПК Открытая Наука, Россия).

Выбранный рукав в последствие обозначался как «неправильный» и закрывался перегородкой на время обучения. Обучение происходило на протяжении пяти дней, в конце открытого «правильного» рукава находилось вознаграждение, каждое животное осуществляло 10 заходов.

Тесты по оценке памяти проводились на 1-й, 5-й и 10-й день после окончания обучения. В оценочном тесте оба рукава были открыты, с

вознаграждением в «правильном». Фиксировалось количество посещений «правильного» и «неправильного» рукава в серии из 10 попыток.

Критерием оценки обучаемости было осуществление более 8 заходов в правильный рукав в ходе 10 попыток.

2.4. Биохимическое исследование крови

Содержание лактата (ммоль/л) определяли с помощью портативного биохимического анализатора Accutrend Plus (Roche Diagnostics, Германия). Содержание глюкозы (ммоль/л) определяли с помощью глюкометра Асси-Chek Active (Roche Diagnostics, Германия). Кровь брали из хвоста животного, который предварительно обрабатывали лидокаином для обезболивания, отрезая 1-2 мм и забирая кровь с помощью капилляра. Затем кровь наносили на специальную тест-полоску и помещали в анализатор.

2.5. Клиническое исследование крови

Для анализа у мышей брали 0,2 мл крови из хвостовой вены и проводили анализ с помощью гематологического анализатора Mindray BC-2800 VET (Mindray, Китай). Оценивали количество эритроцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), гематокрит, содержание гемоглобина, средний объем эритроцитов, средний эритроцитный гемоглобин, количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, среднюю концентрацию корпускулярного гемоглобина, ширину распределения эритроцитов по объему, количество тромбоцитов, средний объем тромбофита, относительную ширину распределения эритроцитов по объему, тромбоцит.

2.6. Организация отдельных экспериментов

2.6.1. Оценка эффективности исследуемого соединения при однократном введении

Перед рандомизацией проводили оценку максимального времени вынужденного плавания животных с грузом 10% от массы тела.

После проведения теста все животные были разделены на 3 группы по 8 животных в каждой: первая (контрольная), получала 0,9% раствор NaCl, вторая - производное аминокетанола (ФДЭС) в дозе 75 мг/кг, третья -

референтный препарат – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИ г/хл) в дозе 25мг/кг. Для оценки способности исследуемых соединений повышать физическую работоспособность при однократном введении, их вводили внутрижелудочно с помощью зонда за 30 минут до оценочного теста вынужденного плавания с грузом 10% от массы тела.

2.6.2. Оценка эффективности исследуемого соединения при курсовом введении

Перед рандомизацией проводили оценку максимального времени вынужденного плавания животных с грузом 10% от массы тела.

После проведения теста все животные были разделены на 3 группы по 8 животных в каждой: первая (контрольная), получала 0,9% раствор NaCl, вторая - производное аминокетанола (ФДЭС) в дозе 75 мг/кг, третья - референтный препарат – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИ г/хл) в дозе 25мг/кг. Все препараты вводились в течение 5-ти дней в неделю в течении 4-х недель без тренировок. Введение препаратов осуществляли внутрижелудочно с помощью зонда.

Оценочный тест вынужденного плавания с грузом проводили каждую неделю и через неделю после окончания введения соединений для оценки последствий.

2.6.3. Оценка эффективности исследуемого соединения при аэробно-анаэробных нагрузках в тренировочном режиме

После проведения рандомизационного теста по методике вынужденного плавания с грузом 10% от массы тела, все животные были разделены на 4 группы по 8 животных в каждой: первая (интактная) получала 0,9% раствор NaCl и не тренировалась, вторая (контрольная) получала 0,9% раствор NaCl (после тренировки), третья – препарат сравнения этилтиобензимидазола гидрохлорид в дозе 25мг/кг (сразу после окончания тренировки), четвертая ФДЭС в дозе 75 мг/кг за 30 минут до начала тренировки. Введение препаратов осуществляли внутрижелудочно с помощью зонда.

Измерение уровня лактата и глюкозы в крови и клинический анализ крови проводили после рандомизационного плавания (исходно) и после плавания через 7 дней по окончании тренировок (итог).

2.6.4. Оценка эффективности исследуемого соединения при аэробных нагрузках в тренировочном режиме

Предварительный отбор животных осуществляли с помощью методики челночного плавания, что позволило оценить начальную ФР и сделать выборку максимально однородной перед рандомизацией по экспериментальным группам. Повторное исследование проводили через 4 недели тренировок. Оценивали время, необходимое животному для совершения отдельных заплывов, их количество и время плавания в целом.

После предварительной рандомизации животных случайным образом делили на пять групп по 10 животных в каждой. Группы 1-3 тренировались (опытные группы), четвертая группа не подвергалась никаким воздействиям (интактная группа), пятая группа не тренировалась, но получала исследуемый препарат. Одна из трех тренировавшихся групп получала производное аминокетанола – ФДЭС в дозировке 75 мг/кг за 30 минут до начала каждой тренировки, вторая – референтный препарат - этилтиобензимидазола гидрохлорид в дозе 25 мг/кг сразу после каждой тренировки, третья (контрольная) – физ.раствор сразу после окончания каждой тренировки (табл. 7). Введение препаратов осуществляли внутривентрикулярно с помощью зонда.

Таблица 7.

Распределение тренировочных нагрузок и исследуемых соединений по группам.

Группа	Тренировки	Препарат
Интактная группа	-	-
Контрольная группа	+	-
ФДЭС на фоне тренировок	+	+
ФДЭС без тренировок	-	+

Группа	Тренировки	Препарат
ЭТБИ г/хл	+	+

Плавательные тренировки проходили два раза в день с перерывом в один час, пять дней в неделю на протяжении четырех недель в одно и то же время.

2.6.5. Оценка влияния исследуемого соединения на скоростные показатели

Плавание осуществляли в бассейне длиной 180 см, шириной 15 см и высотой 30 см, заполненном наполовину своей глубины десатурированной водой (температура 20-24°C).

Каждое животное осуществляло 5 заплывов по методике челночного плавания. После оценки средней скорости прохождения одного бассейна, животные были разделены на четыре группы по 8 животных в каждой. 1-я группа получала внутривенно ФДЭС в дозе 75 мг/кг за 30 мин до начала тренировки, вторая – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИ г/хл) в дозе 25 мг/кг сразу после тренировки, третья – физ. р-р в объеме 10 мл/кг сразу после тренировки. Четвертая группа получала физ. р-р и не тренировалась (интактная).

В ходе тренировок, не менее чем за 2 часа животных лишали корма и воды, взвешивали и к хвосту, в области крестца с помощью канцелярской резинки привязывали утяжеляющий груз т.к. крепление для грузов не подходит для данных тренировок. Начальная величина груза составляла 5% от массы тела, в течение первой недели нагрузку увеличивали до 8%, в последующем - на 2% в неделю до 12%. Каждое животное в группе осуществляло по 8 заплывов с перерывом 40 секунд между ними. Тренировки проводили в течение 4-х недель, 3 раза в неделю, 1 раз в день. Затем выполняли итоговый тест для оценки среднего времени прохождения одного бассейна (аналогично исходному).

2.6.6. Оценка влияния исследуемого соединения на силу хвата

В ходе определения влияния исследуемых препаратов на силовые показатели, оцениваемые как сила хвата, мыши были разделены на 4 группы. Группы тренировались по описанной ранее методике 3 раза в неделю в течение 4-х недель. Препараты вводились 5 дней в неделю, в дни, совпадающие с тренировками. Первая группа получала внутрижелудочно ФДЭС в дозе 75 мг/кг за 30 мин до начала тренировки. Вторая – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИ г/хл) в дозе 25 мг/кг сразу после тренировки, третья – физ. р-р в объеме 10 мл/кг сразу после тренировки, четвертая – комбинацию калия оротата и рибоксина в дозах 50 мг/кг сразу после тренировки.

До и после начала тренировочного цикла измерялась сила хвата передних конечностей с помощью динамометра (Bioseb grip strength meter, model: BIO-GS3, Франция).

2.6.7. Оценка влияния исследуемого соединения на мнестические функции

Исследование проводилось на мышах самцах линии СВА, ранее не участвующих в исследованиях. Животные были разделены на четыре группы. Первая группа получала производное диэтиламиноэтанола (ФДЭС) в дозе 75 мг/кг, вторая - референтный препарат пирацетам (900 мг/кг), третья - контрольная группа эквивалентное количество 0,9% раствора NaCl. Препараты вводились внутрижелудочно с помощью зонда в течение пяти дней за 30 минут до начала обучения.

2.7. Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ «Statistica 6.0». Осуществляли проверку нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений с использованием W-критерия Шапиро-Уилка, оценивали значимость различий при нормальном распределении количественных признаков с помощью t-критерия Стьюдента (для независимых выборок), а при ненормальном распределении - с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (для

сравнения двух попарно не связанных между собой вариационных рядов). Статистическую значимость изменений показателей в динамике у животных одной и той же группы оценивали применяя критерий Вилкоксона для связанных выборок. Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: M (среднее значение) $\pm m$ (ошибка среднего). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

2.8. Прогноз спектров биологической активности

Для прогнозирования спектров биологической активности исходного соединения была использована компьютерная программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances – свидетельства Роспатента № 2006613275 от 15.09.2006 г. и № 2016610846 от 20.01.2016 г.). Прогнозирование осуществлялось на основе структурной формулы изучаемого вещества, представленной в виде MOL-файла.

Анализ взаимосвязей между различными видами активности выполнялся с помощью программы PharmaExpert (свидетельство Роспатента № 2006613590 от 16.10.2006 г.), которая также позволяла анализировать функциональную роль различных молекулярных мишеней в регуляторных сигнальных сетях. С использованием компьютерной программы Net2Target (свидетельство Роспатента № 2014660877 от 17.10.2014 г.) проводилось моделирование поведения регуляторных сигнальных сетей при условии блокады определенных фармакологических мишеней и их комбинаций.

Для моделирования пространственной структур белков были выбраны белки, у которых гомология аминокислотных последовательностей с белками с известными пространственными структурами превышает 70%. Построение модели пространственных структур белков-мишеней осуществлялось методом гомологии. Моделирование проводилось программами Modeller и SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) с проверкой корректности полученных моделей стандартными методами. Оптимизация моделей осуществлялась с использованием метода моделирования молекулярной

динамики в водном окружении с использованием программ AMBER 10 и Gromacs 5.1.

Докирование проводилось программами Dock 6.5 и AutoDock 4.0. Ранжирование полученных комплексов осуществлялось по величинам оценочных функций. Для наиболее перспективных комплексов проводилась оптимизация структуры и оценка стабильности комплексов методом молекулярной динамики. Для ряда комплексов, отобранных по величинам RMSD, количеству и устойчивости водородных связей и др., оценивалась энергия связывания методом ММ-РBSA.

Для корректного прогнозирования биологической активности представление структурной формулы вещества, для которого выполняется прогноз, должно соответствовать представлению структурных формул соединений обучающей выборки. Поэтому структурная формула (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты бутандиоата (2:1) была нормализована в соответствии с принятыми в настоящее время «лучшими практиками» проведения анализа взаимосвязей «структура-активность» [Sugawara T. et al., 2002; Lee W.H. et al., 2014;]:

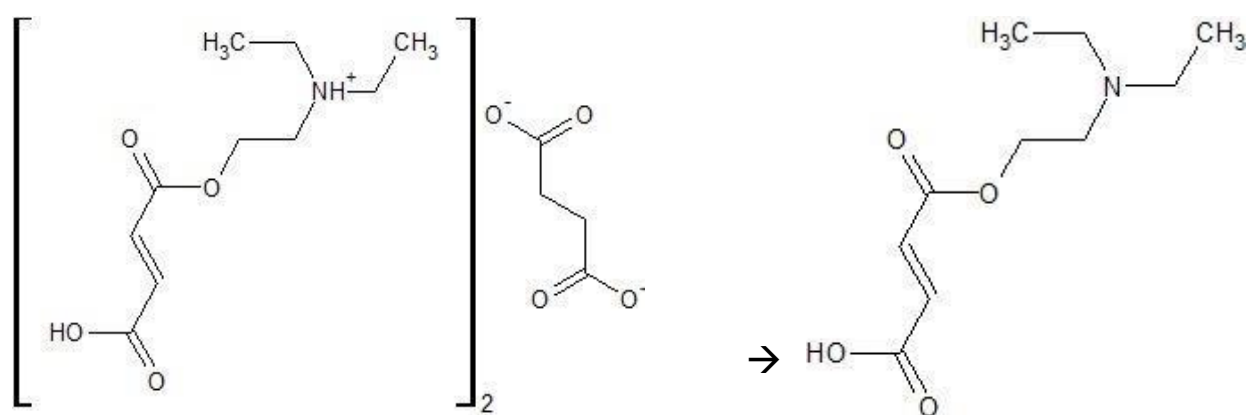


Рис. 10 Исходная и нормализованная в соответствии с «лучшими практиками» структуры исследуемого соединения.

Таким образом, все компьютерные расчеты в дальнейшем выполняли для активной субстанции изучаемого фармакологического вещества: (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты.

Выражаем благодарность старшему научному сотруднику к.б.н. А.В. Дмитриеву и заведующему отделом биоинформатики Научно-исследовательского Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН профессору В.В. Поройкову. за помощь при проведении этого этапа исследований.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при однократном введении

Оценивалась способность исследуемых препаратов экстренно повышать работоспособность путем оценки времени плавания экспериментальных животных при введении ФДЭС и референтного соединения за 30 минут до нагрузки в тесте вынужденное плавание с грузом 10% от массы тела.

В результате исследования было установлено, что исследуемые вещества хотя несколько повышают работоспособность, но это изменения носят недостоверный характер по сравнению с исходными данными (табл.8). Различий между эффектом ФДЭС и препаратом сравнения обнаружено не было.

Таблица 8.

Влияние изучаемых соединений на время плавания экспериментальных животных при однократном введении

Группа	Время плавания исходно, сек	Время плавания после однократного введения, сек
Контрольная	270 ± 16,12	267 ± 16,97
ЭТБИ г/хл	269 ± 15,90	301 ± 28,63
ФДЭС	271 ± 15,20	296 ± 17,32

3.2. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при курсовом введении

Для выявления способности препарата повышать работоспособность при курсовом использовании, он вводился 5 раз в неделю в течение 4-х недель с последующей оценкой в тесте вынужденное плавание с грузом 10% от массы тела.

В ходе проведенного исследования было установлено, что при отсутствии тренировок в контрольной группе не произошло прироста физической работоспособности, в то время как исследуемые препараты повышали физическую работоспособность (ФР) экспериментальных животных. Так, в группе, получавшей ФДЭС, после первых 3-х недель введения, произошло увеличение времени плавания животных в 1,37 раза по сравнению с начальным показателем ($p < 0,05$), превзойдя таковой показатель в контрольной группе в 1,49 раза (табл.9, рис.11).

Таблица 9.

Влияние изучаемых соединений при курсовом введении на время плавания экспериментальных животных

Общее время плавания, сек	Контроль	ЭТБИ г/хл	ФДЭС
Исходно	261,4± 25,67	262,7± 18,34	264,7 ±19,04
1-я неделя	196 ± 26,0	300,25 ± 34,18	386 ± 23,71 ^{1,2}
2-я неделя	206 ± 33,86	344,25 ± 14,55 ¹	411,16 ± 42 ^{1,2}
3-я неделя	241 ± 28,57	452,62 ± 26,41 ¹	454,28 ± 48 ^{1,2}
4-я неделя	215,2 ± 29,42	463,25 ± 35,78 ^{1,2}	467,83 ± 54 ^{1,2}
5-я неделя (оценка последствий)	219 ± 27,90	346 ± 35,27 ^{1,2}	435 ± 37,67 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,05$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$).

После 4-х недель введения ФДЭС, произошло увеличение времени плавания в 1,76 раза по сравнению с начальным показателем, превзойдя таковое в контрольной группе в 2,17 раза. По сравнению с референтным препаратом достоверных отличий получено не было.

Этилтиобензимидазола гидрохлорид достоверно повышал время плавания в 1,76 раза по сравнению с начальным показателем и превзошел контрольную группу в 1,53 раза после 4-недельного введения ($p < 0,05$).

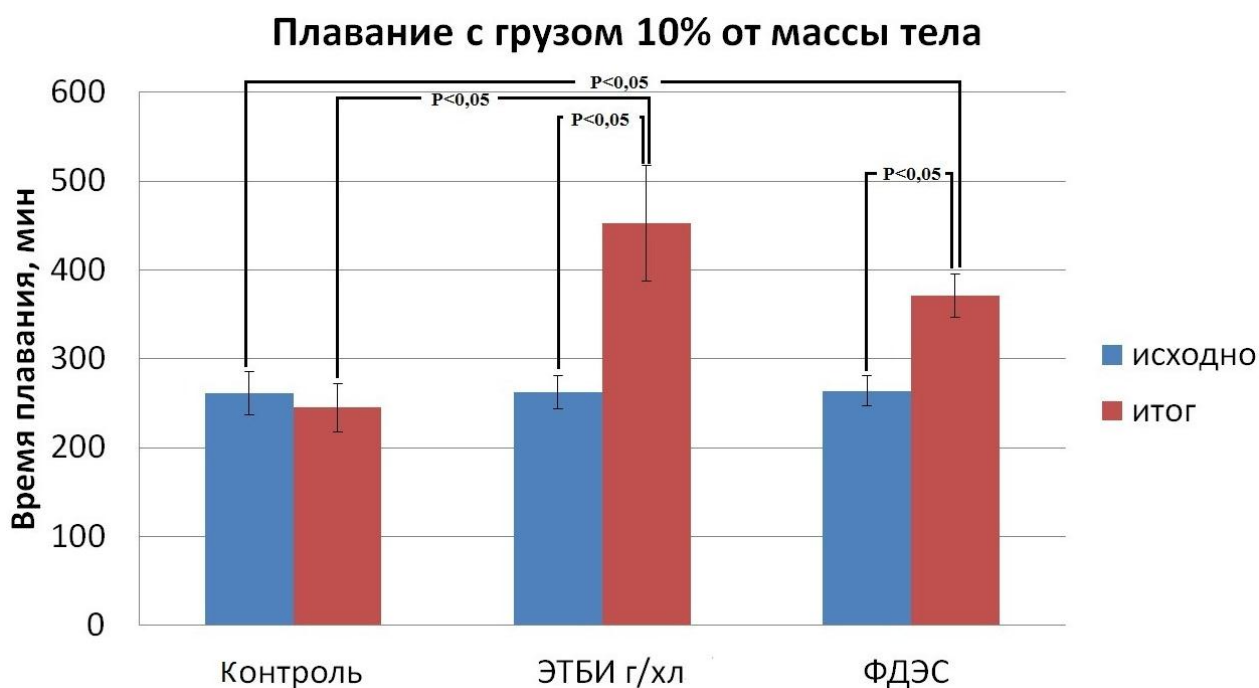


Рисунок 11. Влияние фармакологических средств на работоспособность при курсовом введении.

При оценке последствий было установлено, что в группе, получавшей ФДЭС, работоспособность через неделю после окончания введения оставалась на уровне 4-й недели. В группе, получавшей препарат сравнения ЭТБИ работоспособность имела тенденцию к снижению.

Дополнительно была проведена оценка влияния курсового применения янтарной кислоты (ЯК) в дозе 100 мг/кг (табл.10). После 4-х недель введения в контрольной группе и группе, получавшей ЯК достоверных отличий получено не было. В группе, получавшей ФДЭС, произошло увеличение времени плавания в 1,66 раза по сравнению с начальным показателем, превзойдя таковое в контрольной группе в 1,55 раза.

Таблица 10.

Влияние изучаемых препаратов на время плавания экспериментальных животных при курсовом введении

Общее время плавания, сек	Контроль	ЯК	ФДЭС
Исходно	283,462± 18,04	279,125± 18,07	280,62 ±16,00
4-я неделя	300,85± 50,63	245,5± 28,41	467,75 ± 58,84

3.3. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при тренировочных аэробных нагрузках

Для выявления способности исследуемых фармакологических агентов повышать выносливость при курсовом введении на фоне аэробных тренировок, оценивали их влияние на время плавания экспериментальных животных при введении 5 раз в неделю в течение 4-х недель в тесте челночное плавание.

В результате проведенного исследования установлено, что регулярная аэробная физическая нагрузка вызывает повышение выносливости относительно нетренированных животных (рис.12-13, табл. 11.). Так, в итоговом тесте мыши из контрольной группы проплыли в 1,36 раза большее количество бассейнов по сравнению с исходным уровнем, а длительность их плавания увеличилась в 1,66 раза.

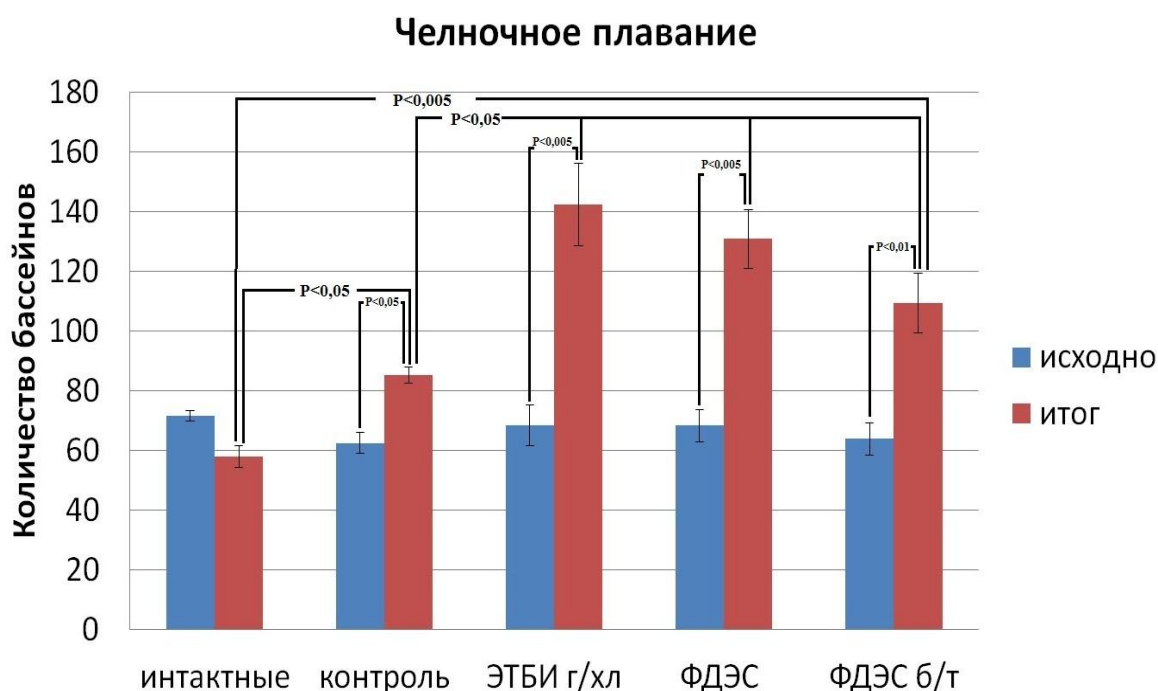


Рис. 12. Влияние исследуемых соединений на выносливость экспериментальных животных (количество проплытых бассейнов)

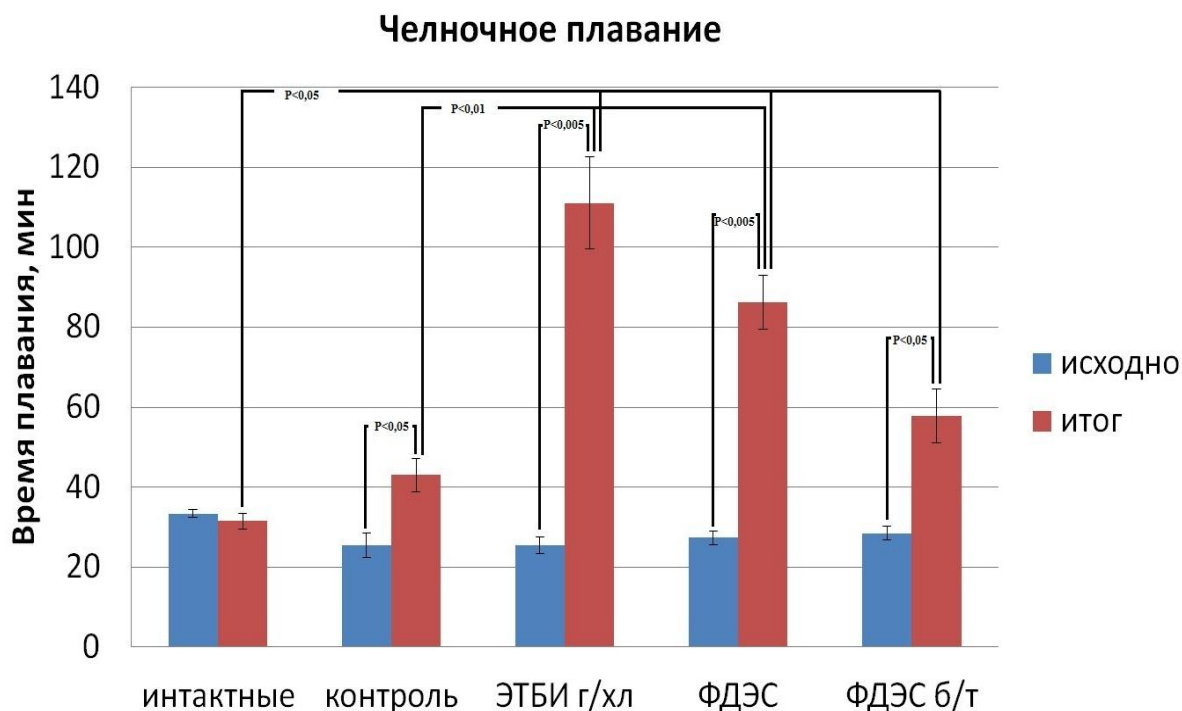


Рис. 13. Влияние исследуемых препаратов на выносливость экспериментальных животных (время плавания)

Таблица 11.

Влияние тренировочных нагрузок на показатели теста «челночное плавание» у экспериментальных животных

Показатель	Группа	Исходно	Через 4 недели
Количество проплытых бассейнов	Интактная	71,0±2,25	58,0±6,26
	Контрольная	63,42 ± 4,82	87,28±3,47 ^{1,5}
	ФДЭС без тренировок	86±3,53	147,62±15,33 ^{1,2,5}
	ФДЭС	60,55±4,27	122,22±10,82 ^{2,3,4}
	ЭТБИ г/хл	68±8,22	147,22±17,71 ^{2,3,4}
Общее время плавания, мин	Интактная	33,46±1,50	31,51±2,95
	Контрольная	25,53±3,03	42,66±4,12 ¹
	ФДЭС без тренировок	32,26±1,47	65,21±7,11 ^{1,5}

Показатель	Группа	Исходно	Через 4 недели
	ФДЭС	27,64±1,96	88,14±7,32 ^{2,3,4}
	ЭТБИ г/хл	25,61 ± 2,41	111,13 ± 13,11 ^{2,3,4}
Время прохождения 1-го бассейна, сек	Интактная	28,48 ± 1,35	33,12 ± 1,29
	Контрольная	24,88 ± 2,52	29,52 ± 3,13
	ФДЭС без тренировок	22,6 ± 0,70	26,18 ± 0,65
	ФДЭС	27,95 ± 1,46	43,76 ± 2,02 ^{1,4}
	ЭТБИ г/хл	24,93 ± 1,46	43,09 ± 3,14 ^{1,4}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,01$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$); 3 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,005$); 4 – достоверные отличия от соответствующего показателя интактной группы ($p < 0,005$); 5 – достоверные отличия от соответствующего показателя интактной группы ($p < 0,05$).

Фармакологические средства значимо повышали физическую выносливость животных, увеличивая количество пройденных бассейнов в 1,91 раза на фоне ФДЭС и в 2,07 раза в группе препарата сравнения. Продолжительность плавания также выросла соответственно в 3,42 и 4,11 раза. Это повышение выносливости достоверно отличалось от такового как в контроле, так и по сравнению с не тренировавшимися животными.

На фоне применения ФДЭС без тренировок произошло увеличение количества проплытых бассейнов в 1,71 раза ($p < 0,05$) и времени плавания в 2,03 раза ($p < 0,05$) относительно исходных значений.

Среднее время прохождения одного бассейна незначительно возросло в нетренировавшихся группах и не достигло достоверных изменений в контрольной. В группе, получавшей ФДЭС и ЭТБИ, среднее время прохождения одного бассейна возросло в 1,56 и 1,72 раза соответственно

относительно исходных значений ($p < 0,05$), и в 1,45 и 1,48 раза относительно значений контрольной группы ($p > 0,05$).

Время прохождения 10, 20, 30 и 40 бассейнов (табл. 12) в тренировавшихся группах имело выраженную тенденцию к возрастанию, в отличие от не тренировавшихся (интактных животных и группы ФДЭС б/т), однако ни один из исследованных фармакологических агентов не оказывал дополнительного влияния на скоростные показатели.

Таблица 12.

Время прохождения экспериментальными животными 10, 20, 30 и 40 бассейнов (мин)

Группа	10 бассейнов	20 бассейнов	30 бассейнов	40 бассейнов
Интактные (исходно)	02,65±0,09	06,23±0,13	10,63±0,31	15,63±02,01
Интактные (через 4 недели)	02,31±0,09	05,76±0,22	10,04±0,45	16,56±02,18
Контроль (исходно)	01,95 ±0,05	05,03±0,13	08,88±00,26	09,66 ±0,73
Контроль (через 4 недели)	02,23±0,10	05,66±0,27	10,41±00,79	11,33±01,01
ФДЭС (исходно)	2,27 ± 7,24	5,68 ± 28,17	8,31 ± 27,93	11,38±29,59
ФДЭС (через 4 недели без тренировок)	2,45 ± 14,99	5,56 ± 32,02	8,83 ± 54,58	11,50±48,11
ФДЭС (исходно)	02,55±0,07	05,66±0,14	10,0±0,31	15,00±0,93
ФДЭС (через 4 недели)	02,63±0,05	06,40±0,16	11,26±0,27	18,26±0,68
ЭТБИ г/хл (исходно)	02,43±0,08	05,21±0,27	09,13±0,31	14,00±0,95
ЭТБИ г/хл (через 4 недели)	02,88±0,14	06,43±01,91	10,71±0,75	16,26±1,77

Морфологическое исследование сердца подтвердило данные, полученные при эхокардиографическом исследовании – достоверных изменений по массе миокарда и левого желудочка не произошло (табл.13, 14).

Соотношение массы левого желудочка и массы миокарда у животных контрольной группы составило 70,84%, у животных, получавших ФДЭС, этот показатель был равен 74,88% и в группе препарата сравнения 70,18% (рис 14, табл. 13, 14.). Между этими значениями не было обнаружено значимых различий, однако, у животных, которым вводился ФДЭС, этот показатель достоверно отличался от такового в интактной группе (67,25%).

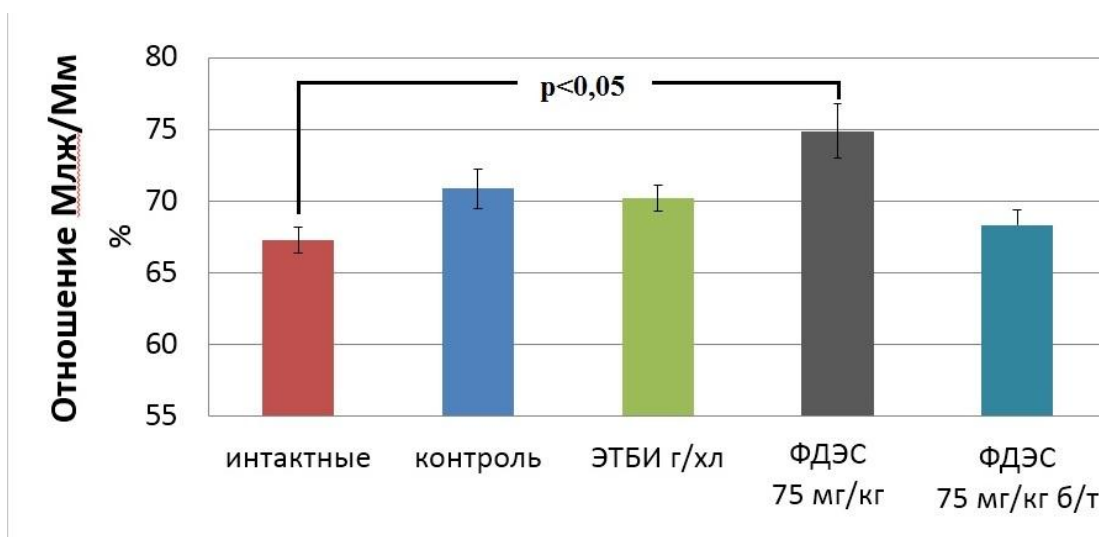


Рис. 14. Влияние исследуемых препаратов на соотношение массы левого желудочка и массы миокарда (Млж/Мм).

Под влиянием физических нагрузок произошло развитие функциональной брадикардии – ЧСС в опытных группах животных снизилась в 1,42 раза по сравнению с контролем (табл. 15, 16, рис.15). В не тренировавшихся группах изменений в ЧСС отмечено не было. Препараты не оказывали влияния на данный показатель.

Таблица 13.

Влияние тренировочных нагрузок на морфологические параметры миокарда экспериментальных животных

Группа	Мо, г	Мм, мг	Млж, мг	Мм/Мо, %	Млж/Мо, %	Млж/Мм, %
Интактная	26,73±1,14	133,25±5,65	89,50±4,06	5,01±0,20	3,36±0,12	67,25±1,11
Контрольная	23,37±1,17	112,87±3,55	79,37±2,90	4,88±0,15	3,44±0,14	70,84±1,65
ЭТБИ г/хл	23,4 ± 1,57	117,0 ± 2,32	82,2 ± 2,29	5,17 ± 0,34	3,61 ± 0,19	70,18 ± 1,04
ФДЭС	25,4 ± 0,75	120,4 ± 4,08	88,93 ± 2,63	4,75 ± 0,09	3,53 ± 0,07	74,39 ± 1,65 ¹
ФДЭС б/т	25,93±1,19	128,20±5,34	87,50±3,99	4,94±0,24	3,37±0,14	68,25±1,21

Примечание: Мо – масса животного, Мм – масса миокарда, Млж – масса левого желудочка; 1 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$).

Таблица 14.

Влияние тренировочных нагрузок на морфологические параметры миокарда не тренировавшихся экспериментальных животных

Группа	Мо, г	Мм, мг	Млж, мг	Мм/Мо	Млж/Мо	Млж/Мм, %
Контрольная	32,37 ± 0,55	138,0 ± 3,88	96,12±4,12	4,26 ± 0,11	2,96 ± 0,16	69,44±1,36
ФДЭС	31,75 ± 0,90	137,37 ± 3,49	95,75 ± 2,65	4,32 ± 0,18	3,01 ± 0,09	69,66 ± 0,47

Примечание: Мо – масса животного, Мм – масса миокарда, Млж – масса левого желудочка.

Таблица 15.

Влияние исследуемых препаратов на частоту сердечных сокращений
экспериментальных животных

Группа	ЧСС (исходно), уд/мин	ЧСС (через 4 недели), уд/мин
Интактная	189,73 ± 4,02	191,5 ± 23,79
Контрольная	194,92 ± 27,0	136,0 ± 22,57 ^{1,2}
ЭТБИ г/хл	212,86 ± 28,07	137,5 ± 6,65 ^{1,2}
ФДЭС	187,30 ± 12,42	130,0 ± 3,14 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,05$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя интактной группы ($p < 0,05$); * - ЧСС оценивалась под влиянием наркоза.

Таблица 16.

Влияние исследуемых препаратов на частоту сердечных сокращений
экспериментальных животных без тренировок

Группа	ЧСС (исходно), уд/мин	ЧСС (через 4 недели), уд/мин
Контрольная группа	683,5 ± 24,35	686,75 ± 24,85
Янтарная кислота	712 ± 10,69	702,37 ± 36,54
ФДЭС	657,87 ± 30,98	704,5 ± 18,34

Примечание: Оценка ЧСС проводилась без использования наркоза.

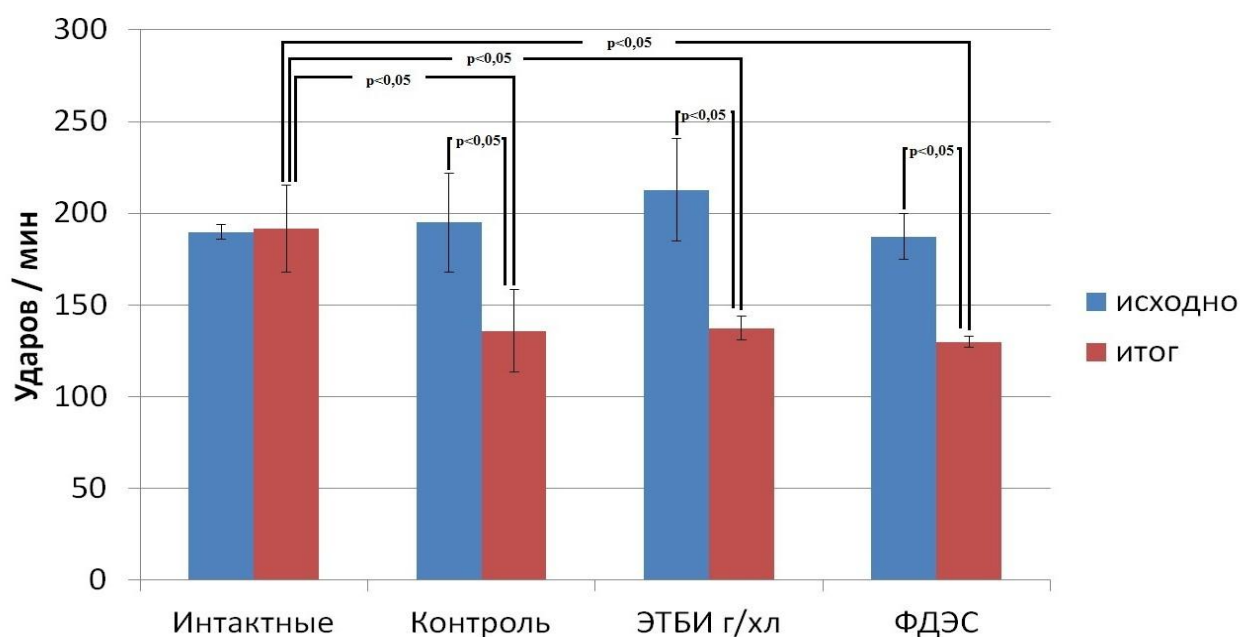


Рис. 15. Влияние исследуемых препаратов на ЧСС

В ходе исследования было установлено, что исследуемые препараты не оказывают значимого влияния на показатели глюкозы и лактата крови как при предъявленных нагрузках, так и в их отсутствие (табл.17, 18).

Таблица 17.

Влияние исследуемых соединений на уровень лактата и глюкозы в крови тренировавшихся экспериментальных животных

Группа	Глюкоза (исходно), ммоль/л	Глюкоза (через 4 недели), ммоль/л	Лактат (исходно), ммоль/л	Лактат (через 4 недели), ммоль/л
Интактные	6,26±0,46	5,42±0,99	4,3±0,16	3,48±0,3
Контроль	6,55±0,5	8,15±0,51	4,55±0,23	4,4±0,08
ЭТБИ г/хл	6,9±0,47	8,4±1,23	4,7±0,14	4,24±0,15
ФДЭС	6,5±0,94	5,9±0,54	4,25±0,37	4,04±0,22

Влияние исследуемых соединений на уровень лактата и глюкозы в крови не тренировавшихся экспериментальных животных

Группа	Глюкоза (исходно), ммоль/л	Глюкоза (через 4 недели), ммоль/л	Лактат (исходно), ммоль/л	Лактат (через 4 недели), ммоль/л
Интактные	6,4±0,70	6,03±0,33	2,86±0,24	2,54±0,39
ФДЭС	5,26±0,57	4,16±0,49	2,82±0,22	2,49±0,36

3.4. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при тренировочных аэробно-анаэробных нагрузках

Для выявления способности исследуемых фармакологических агентов повышать выносливость при курсовом введении на фоне тренирующих аэробно-анаэробных тренировок с грузом 10% от массы тела, оценивали их влияние на время плавания экспериментальных животных при введении 3 раза в неделю в течении 4-х недель в тесте вынужденное плавание с грузом 7,5% от массы тела.

В результате проведенного исследования установлено, через 4 недели тренировок во всех группах животных, кроме интактной, произошли изменения в физической работоспособности (табл. 19). Так, в контрольной группе время плавания изменилось незначительно, увеличившись к 4-й неделе всего в 1,06 раза. При проведении оценочных тестов на 5-й и 6-й неделях этот показатель был больше начального в 1,14 и 1,17 раза соответственно. При оценке последствий по окончании тренировок на 7-й и 8-й неделях было установлено, что тренированность животных остается примерно на одном уровне - выше исходного в 1,19 и 1,15 раза соответственно, не достигая достоверных различий.

В группе животных, получавших ФДЭС, к 4-й неделе исследуемый показатель увеличился в 1,51 раза относительно исходного и в 1,41 раза относительно соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$). При этом он, он был недостоверно ниже (в 1,05 раза) такового в группе препарата сравнения (рис. 16). Во время оценочных тестов на 5-й и 6-й неделях, время плавания мышей было достоверно выше исходного в 1,55 и 1,58 раза соответственно, превышая таковое в контрольной группе в 1,34 и 1,33 раза ($p < 0,05$).

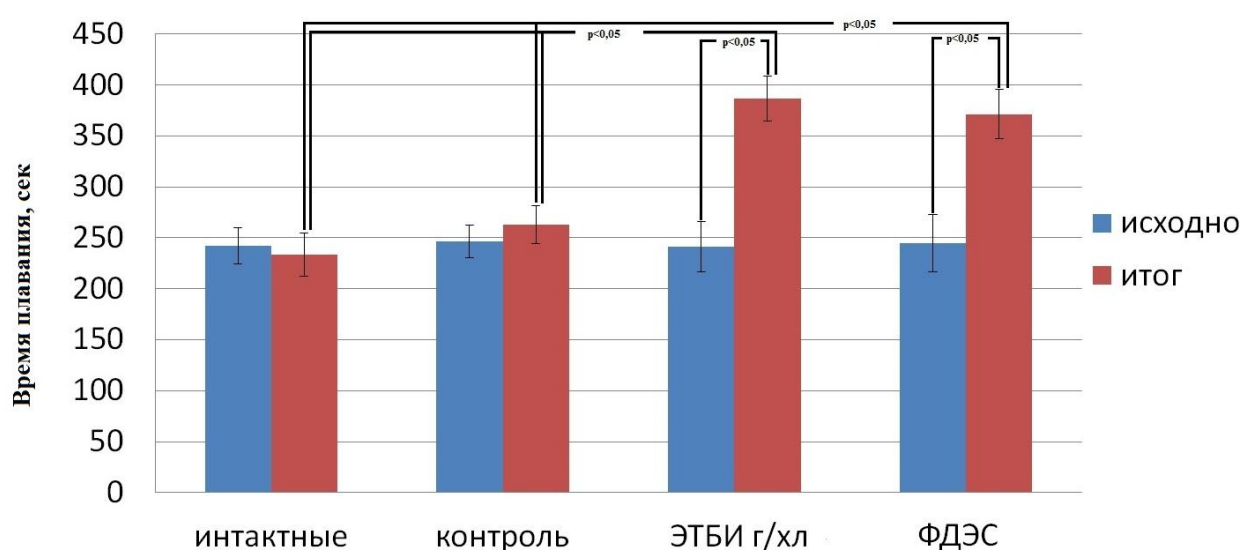


Рис. 16. Влияние исследуемых препаратов на время плавания при анаэробных тренирующих нагрузках на 4-й неделе

Через одну и две недели после окончания тренировок, показатель работоспособности остался практически на прежнем уровне, достоверно превышая исходный в 1,63 и 1,47 раза соответственно ($p < 0,05$) и в 1,35 и 1,26 раза показатель контрольной группы ($p < 0,05$). По сравнению с препаратом сравнения, этот показатель на 7-й и 8-й неделях был в 1,13 и 1,33 раза ниже, но эта разница была статистически недостоверна (табл. 19).

Таблица 19.

Длительность плавания мышей в тесте вынужденного плавания

Время плавания, сек	Интактные	Контроль	ЭТБИ г/хл	ФДЭС
Исходно	207,5±24,95	246,5±19,43	241,25±30,12	244,5±34,73
4-я неделя	126,25±13,75	263,125±22,79	386,875±27,33 ^{1,2}	371,25±29,84 ^{1,2}
5-я неделя	159±22,0±34,73	282,5±20,85	426,875±28,17 ^{1,2}	379,37±24,53 ^{1,2}
6-я неделя	138±13,18	289,375±22,32	431,875±22,91 ^{1,2}	386,87±28,33 ^{1,2}
Оценка последствий (7-я неделя)	101,25±13,9	295,625±22,44	451,875±24,87 ^{1,2}	399,37±27,47 ^{1,2}
Оценка последствий (8-я неделя)	129±18,57	284,7±33,34	482,6±75,82 ^{1,2}	361,3±30,33 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,02$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,02$).

У животных, получавших этилтиобензимидазола гидрохлорид, после 4-х недель тренировок физическая работоспособность достоверно увеличилась в 1,6 раза, превосходя таковой показатель в контроле в 1,63 раза. К 5-й и 6-й неделям увеличение относительно исходных значений составило 1,76 и 1,78 раза соответственно ($p < 0,05$), и было в 1,51 и 1,49 раза выше, чем в контрольной группе. При оценке последствий было установлено, что даже после прекращения тренировок и введения препарата время плавания оставалось повышенным к 7-й и 8-й неделям в 1,87 и 2,0 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходными значениями и в 1,52 и 1,69 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (табл. 19).

При оценке биохимических показателей ни в одной из групп не было обнаружено достоверных изменений концентрации глюкозы в крови (рис.18).

В контрольной группе было выявлено недостоверное повышение лактата в 1,13 раза (рис. 17). В группе, получавшей ФДЭС, лактат снизился в 1,93 раза ($p < 0,01$) относительно исходных данных и в 2,19 раза по сравнению с контролем ($p < 0,01$). У мышей, получавших препарат сравнения, снижение составило 1,33 раза ($p > 0,05$) относительно исходных значений и 1,74 раза относительно значений контрольной группы ($p < 0,05$). В группах, получавших ФДЭС, снижение уровня лактата составило 2,23 раза по сравнению с животными, получавшими препарат сравнения, однако, эти изменения не достигли статистической значимости (табл. 20).

Таблица 20.

Влияние исследуемых соединений на уровень лактата и глюкозы в крови экспериментальных животных

Группа	Глюкоза (исходно), ммоль/л	Глюкоза (через 4 недели), ммоль/л	Лактат (исходно), ммоль/л	Лактат (через 4 недели), ммоль/л
Контроль	8,5±0,41	7,1±0,63	6,0±0,20	6,8±0,12

Группа	Глюкоза (исходно), ммоль/л	Глюкоза (через 4 недели), ммоль/л	Лактат (исходно), ммоль/л	Лактат (через 4 недели), ммоль/л
ЭТБИ г/хл	8,4±0,46	9,6±0,78	5,2±0,21	3,9±0,25 ³
ФДЭС	9,1±0,53	9,1±0,46	6,0±0,15	3,1±0,24 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,01$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,01$); 3 - достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$).

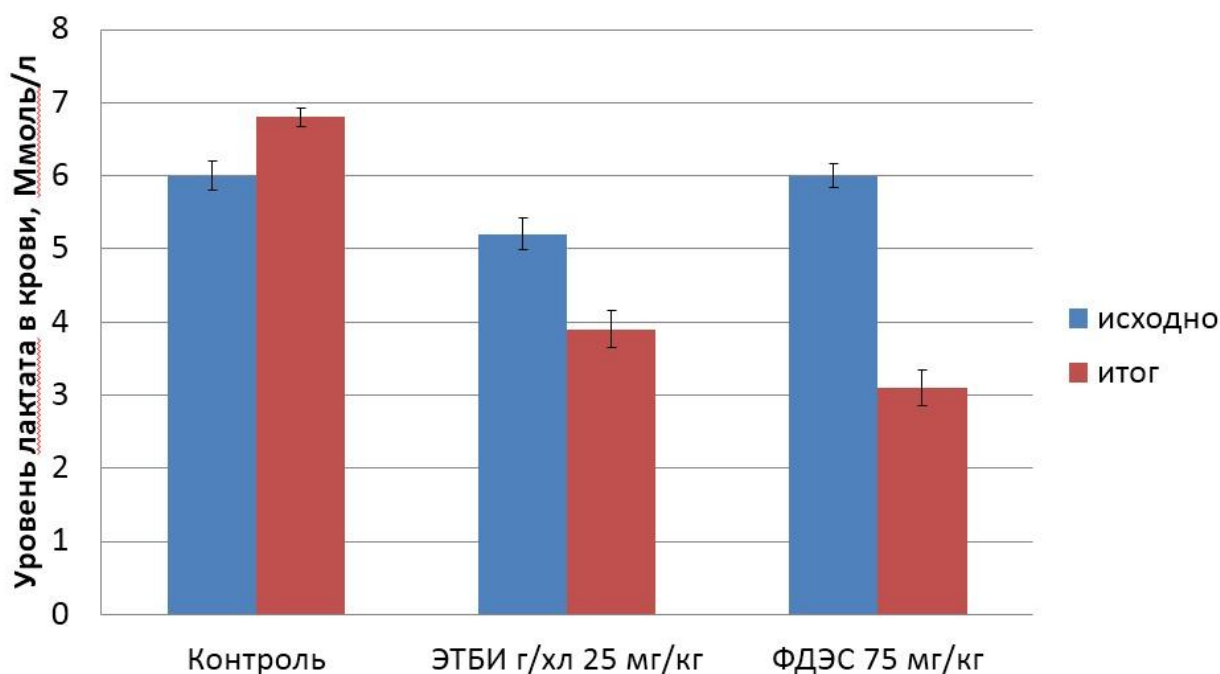


Рис. 17. Влияние исследуемых препаратов на уровень лактата в крови

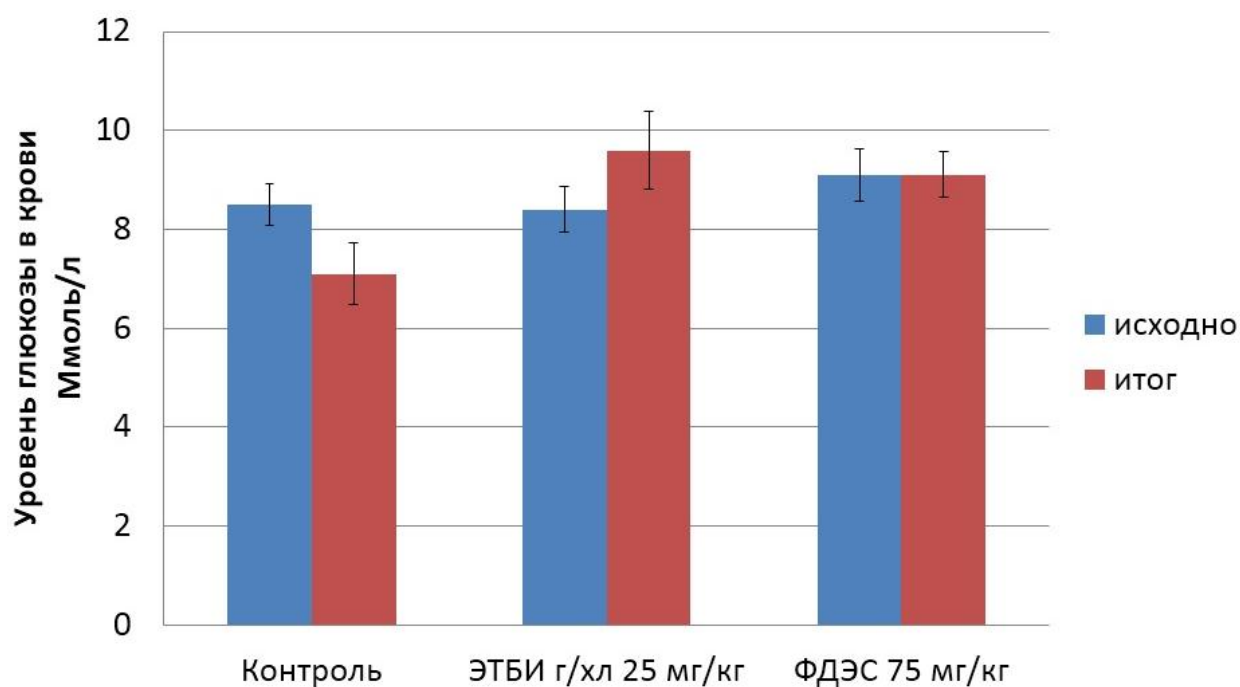


Рис. 18. Влияние исследуемых препаратов на уровень глюкозы в крови

Согласно данным клинического анализа крови, среди групп не было достоверных различий ни по одному из показателей (табл. 21).

Таблица 21.

Влияние исследуемых соединений на количественный состав форменных элементов крови у экспериментальных животных

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа	ФДЭС	ЭТБИ г/хл
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$12,23 \pm 1,10$	$12,36 \pm 1,04$	$12,96 \pm 1,03$	$13,35 \pm 0,92$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$7,76 \pm 0,74$	$9,44 \pm 0,64$	$8,98 \pm 0,79$	$9,37 \pm 0,67$
Моноциты, $10^9/\text{л}$	$0,56 \pm 0,05$	$0,56 \pm 0,02$	$0,59 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,04$
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	$3,92 \pm 0,46$	$3,47 \pm 0,13$	$3,39 \pm 0,32$	$5,43 \pm 1,06$
Лимфоциты, %	$62,07 \pm 2,17$	$69,34 \pm 1,30$	$67,36 \pm 3,44$	$70,6 \pm 1,13$
Моноциты, %	$4,77 \pm 0,24$	$4,22 \pm 0,23$	$4,89 \pm 0,49$	$3,91 \pm 0,14$
Гранулоциты, %	$33,17 \pm 2,08$	$26,43 \pm 1,13$	$27,76 \pm 2,95$	$25,49 \pm 1,01$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$9,72 \pm 0,24$	$9,75 \pm 0,37$	$8,23 \pm 0,99$	$9,674 \pm 0,20$

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа	ФДЭС	ЭТБИ г/хл
Гемаглобин, г/л	155,56 ± 3,49	154,00 ± 2,66	135,88 ± 4,44	159,5 ± 1,17
Гематокрит, %	44,39 ± 1,04	46,88 ± 1,72	36,64 ± 2,03	45,13 ± 0,42
Средний объем эритроцита, фл	45,76 ± 0,40	48,18 ± 0,78	50,00 ± 0,66	46,93 ± 1,00
Средний эритроцитный гемоглобин, пг	15,97 ± 0,17	16,08 ± 0,37	17,04 ± 0,20	16,51 ± 0,25
Средняя концентрация корпускулярного гемоглобина, г/л	349,89 ± 2,36	334,22 ± 9,21	342,11 ± 3,52	353,3 ± 2,73
Ширина распределения эритроцитов по объему, %	14,72 ± 0,33	14,24 ± 0,28	15,83 ± 0,33	15,13 ± 0,40
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	818,78 ± 69,68	1042,13 ± 66,79	1234,89 ± 74,63	1159,8 ± 60,85
Средний объем тромбоцита, фл	5,36 ± 0,19	5,01 ± 0,11	4,76 ± 0,10	4,85 ± 0,12
Относительная ширина распределения эритроцитов по объему	16,27 ± 0,16	15,95 ± 0,05	15,92 ± 0,06	15,96 ± 0,10
Тромбокрит, %	0,39 ± 0,02	0,47 ± 0,02	0,55 ± 0,03	0,5583 ± 0,03

3.5. Влияние ФДЭС на силу хвата

В проведенной серии экспериментов было установлено, что на фоне тренировки сила хвата экспериментальных животных достоверно увеличилась в 1,25 раза относительно исходных значений (табл. 22).

Влияние исследуемых препаратов на силу хвата.

Группа	Сила хвата, ньютон (Н)	
	исходно	после тренировок
Контроль	28,5 ± 1,72	35,87 ± 1,07 ¹
ФДЭС	28,58 ± 1,14	40,25 ± 1,11 ²
ЭТБИ г/хл	29,45 ± 1,28	40,0 ± 1,26 ¹
Калия оротат+Рибоксин	28,66 ± 1,58	40,0 ± 1,27 ¹

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,02$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$).

У животных, получавших ФДЭС, сила хвата достоверно возросла в 1,4 раза относительно исходных значений и в 1,12 раза по сравнению со значениями контрольной группы.

В группе, получавшей ЭТБИ, исследуемый показатель достоверно увеличился в 1,39 раза относительно исходных значений и недостоверно относительно значений контрольной группы.

У животных, получавших комбинацию калия оротата и рибоксина, сила хвата повысилась в 1,35 раза относительно исходных значений ($p < 0,05$) и в 1,11 раза относительно показателя контрольной группы ($p > 0,05$).

3.6. Влияние ФДЭС на скоростные показатели

Для выявления способности исследуемых фармакологических агентов улучшать скоростные показатели при курсовом введении 3 раза в неделю в течение 4-х недель при тренировках, имитирующих нагрузки, направленные на развитие скоростных характеристик (челночное плавание), оценивали среднее время прохождения одного бассейна.

В контрольной группе через две недели снижение времени прохождения одного бассейна составило 1,11 раза, на третьей неделе - 1,13 раза, после 4-х недель тренировок - 1,12 раза по сравнению с исходным значением ($p > 0,05$).

Через одну и две недели после окончания тренировок, исследуемый показатель был в 1,13 раза ниже исходных значений ($p > 0,05$) (табл.23, рис.19).

Таблица 23.

Влияние исследуемых соединений на скоростные показатели
экспериментальных животных

Среднее время прохождения одного бассейна, сек	Интактные	Контроль	ЭТБИ г/хл	ФДЭС
Исходно	5,68±0,20	5,68±0,19	5,68±0,23	5,69±0,26
1-я неделя	5,74±0,21	5,22±0,19	4,77±0,10 ¹	4,94±0,12
2-я неделя	5,69±0,22	5,09±0,20	4,79±0,07 ¹	4,8±0,06 ¹
3-я неделя	5,83±0,18	5,01±0,16 ¹	4,57±0,08 ¹	4,76±0,08 ¹
4-я неделя	5,96±0,25	5,08±0,19	4,6±0,08 ¹	4,53±0,03 ^{1,2}
5-я неделя (оценка последствий)	7,41±0,53	5,00±0,17	4,75±0,09 ¹	4,62±0,09 ¹
6-я неделя (оценка последствий)	5,73±0,22	4,98±0,18	4,56±0,09 ¹	4,97±0,18

Примечание: 1 – достоверные отличия от соответствующего исходного показателя ($p < 0,05$); 2 – достоверные отличия от соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$);

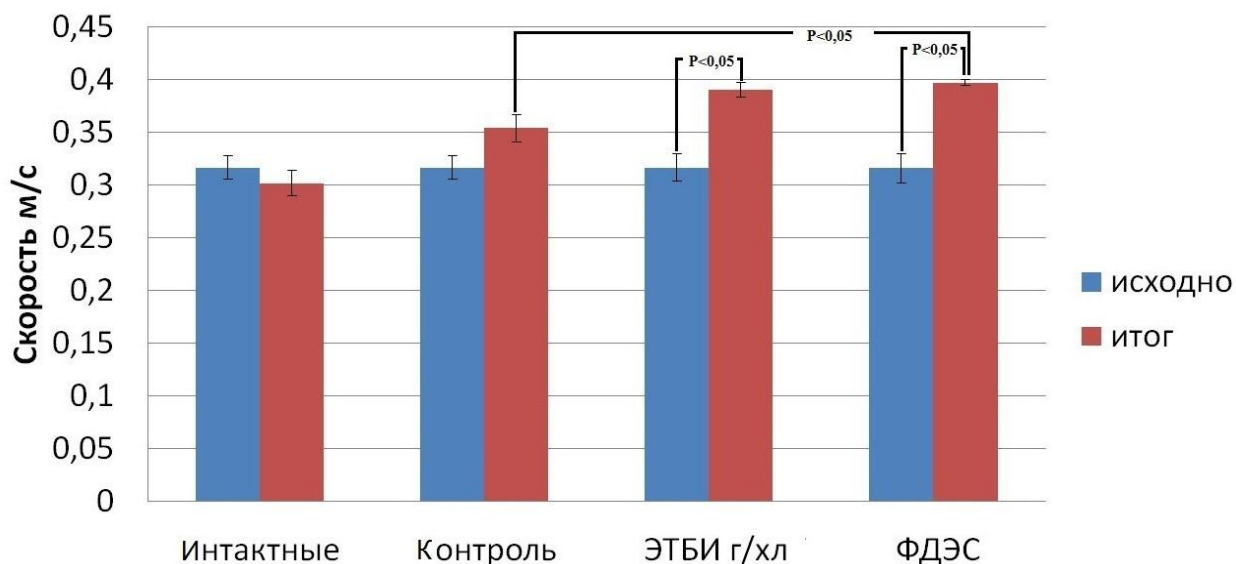


Рис.19. Влияние исследуемых препаратов на скорость прохождения одного бассейна.

В группе, получающей препарат сравнения ЭТБИ г/хл, скорость плавания достоверное возросла в 1,19 уже через одну неделю тренировок и продолжала возрастать, достигнув к 4-й неделе разницы в 1,23 раза по сравнению с исходными значениями. Через неделю после окончания тренировок средняя скорость была достоверно выше исходного показателя в 1,19 раза. По сравнению с группой контроля достоверных отличий получено не было.

Животные, получавшие ФДЭС, продемонстрировали достоверное сокращение времени прохождения одного бассейна в 1,18 раза начиная со второй недели. Эта тенденция сохранялась к 4-й неделе, где было зафиксировано значимое уменьшение времени прохождения одного бассейна в 1,26 раза по сравнению с исходным уровнем и в 1,12 раза по сравнению с контролем. Достоверных различий между группой ФДЭС и ЭТБИ не было обнаружено.

Через одну неделю после окончания тренировок средняя скорость в группе ФДЭС осталось практически на прежнем уровне, достоверно превышая исходный показатель в 1,23 раза и показатель контрольной группы в 1,08 раза

($p > 0,05$). По сравнению с препаратом сравнения достоверных отличий получено не было (табл. 23).

Через две недели после окончания тренировок, скорость плавания в группе ФДЭС была в 1,14 раза выше исходного уровня ($p > 0,05$), но фактически не отличалась от таковой в контрольной группе (рис. 19, 20).

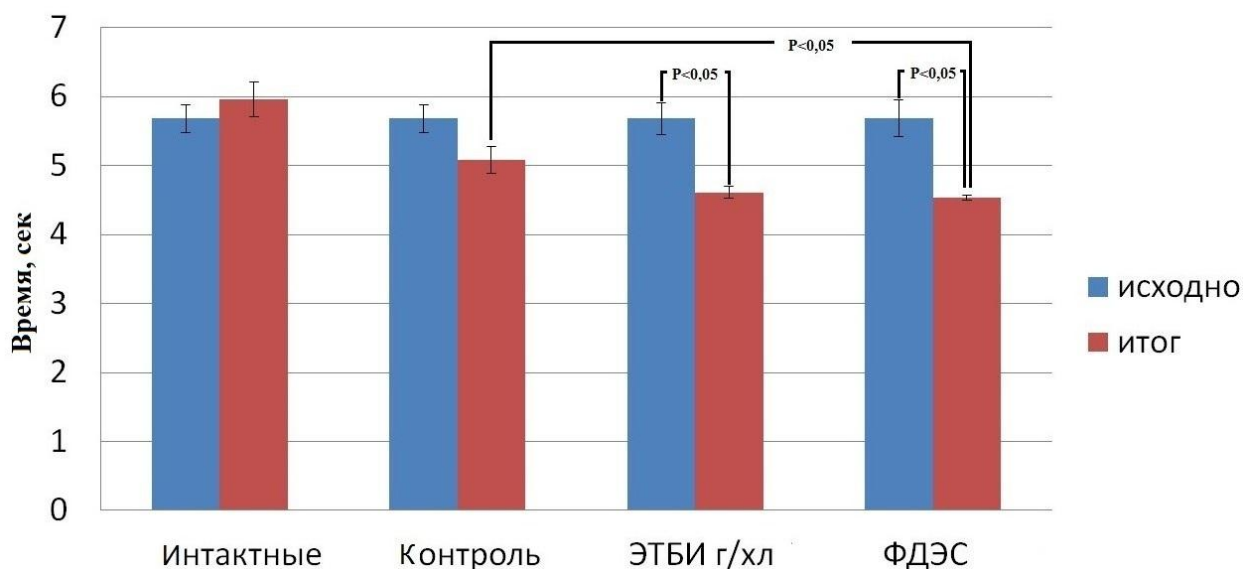


Рис. 20. Влияние исследуемых препаратов на среднее время прохождения одного бассейна

В группе, получавшей ЭТБИ г/кг, этот показатель был в 1,24 ($p < 0,05$) и в 1,09 выше исходных значений, не отличаясь достоверно от значений контрольной группы.

В интактной группе не было достоверных изменений времени плавания.

3.7. Влияние ФДЭС на мнестические функции

Для оценки влияния исследуемого соединения на некоторые мнестические функции, была изучена его эффективность в тесте Т-лабиринт. В результате было установлено, что в контрольной группе животные не обучились заходить в правильный рукав, в то время как, при введении ФДЭС в 75 мг/кг в первый день количество обученных животных составило 87,5%, а в группе пираретама – 25% (таблица 24, рис 21.).

Таблица 24.

Влияние исследуемого препарата на мнестические функции
экспериментальных животных

Группа	Количество посещений правильного рукава, раз		
	1-й день	5-й день	10-й день
Контроль	5,71±0,28	5,85±0,25	5,48±0,17
Пирацетам	7,14±0,27 ¹	6,71±0,31 ¹	6,42±0,23 ¹
ФДЭС	8,75±0,35 ^{1,2}	8,5±0,26 ^{1,2}	7,87±0,23 ^{1,2}

Примечание: 1 – достоверные отличия от контрольной группы ($p < 0,05$);
2 – достоверные отличия от группы пирацетама ($p < 0,05$).

На 5-й день после окончания обучения, число животных, сохранивших навык, в группе получавших ФДЭС составило 87,5%, а у получавших пирацетам – 25% (рис. 22). На 10-й день животные, совершавшие 8 и более заходов в правильный рукав, в группе получавших ФДЭС составили 50%, в то время как в группе пирацетама навык выбора верного рукава утратился (рис. 23).

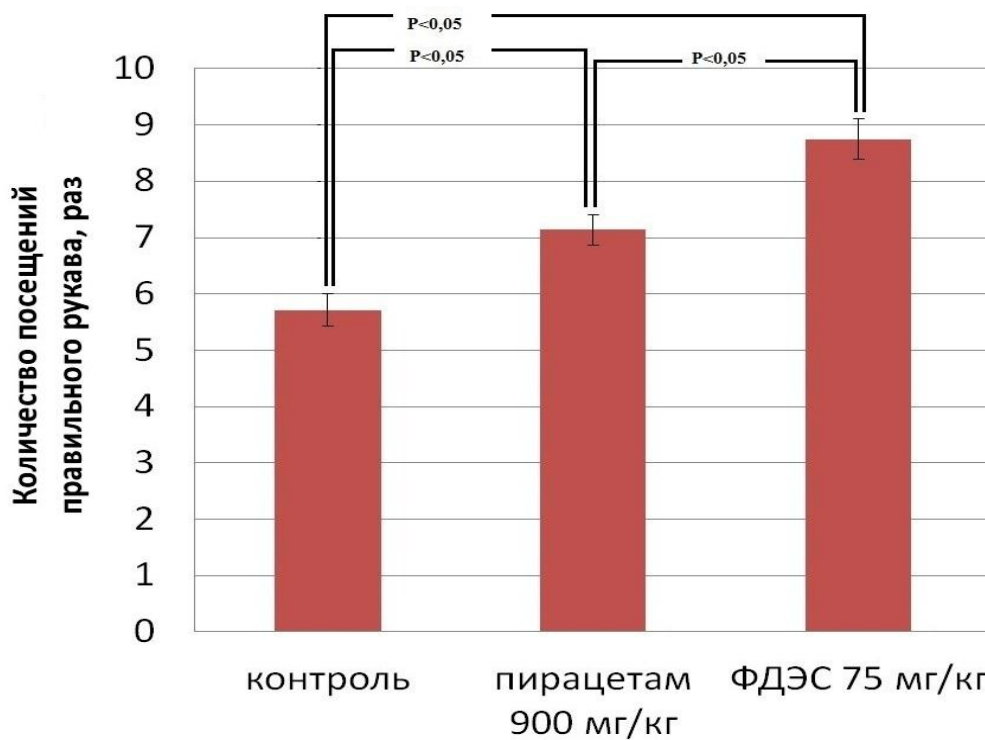


Рис. 21. Количество посещений правильного рукава сразу после обучения

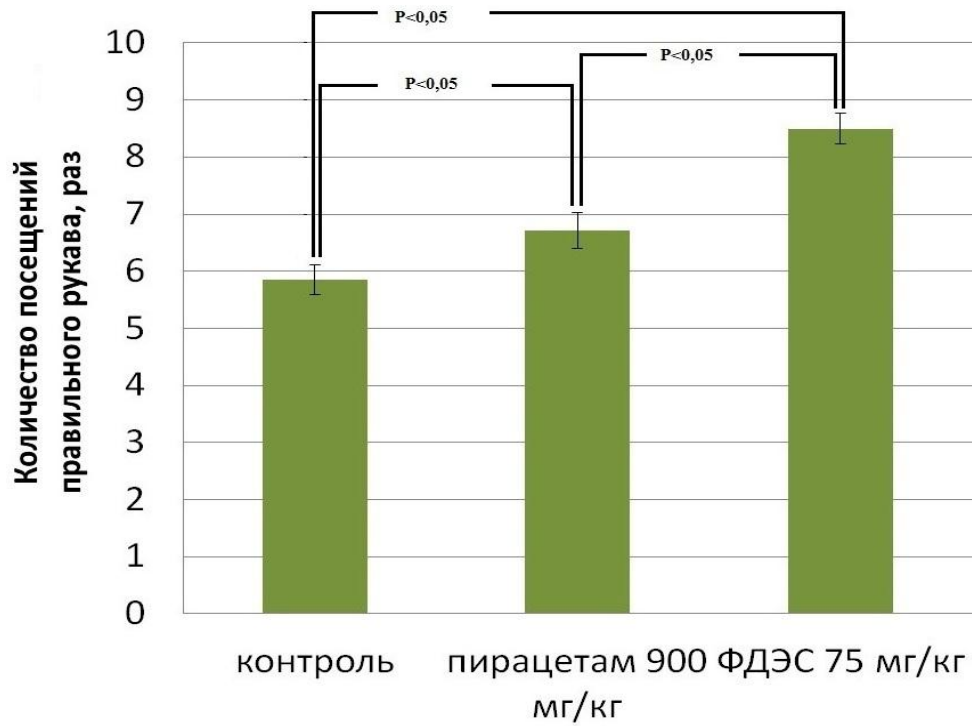


Рис. 22. Количество посещений правильного рукава на 5-й день после окончания обучения

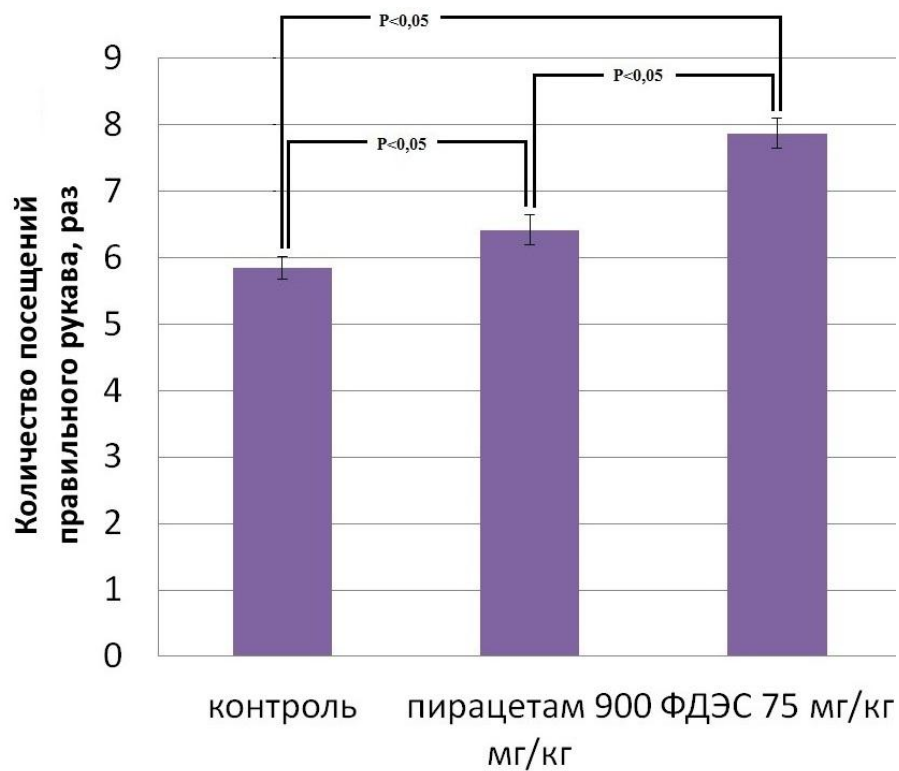


Рис. 23. Количество посещений правильного рукава на 10-й день после окончания обучения

3.8. Прогнозирование биологической активности с использованием различных версий программы PASS

Прогноз, выполненный с использованием компьютерной программы PASS 2014 [Nurmi A. et al., 2004; Rolova T. et al., 2015], при пороге $P_a > P_i$, где P_a – вероятность наличия, а P_i – вероятность отсутствия активности, указывает на возможное наличие у анализируемой молекулы 4780 видов биологической активности.

Значительное число этих видов активности прогнозируется с низкой вероятностью и, кроме того, необходимо учесть, что используемый при прогнозе набор структурных дескрипторов (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты не обладает существенной спецификой, что может привести к значительному числу ложно-положительных предсказаний.

Поэтому, для отбора наиболее вероятных мишеней, были проанализированы известные из литературы ассоциации предсказанных механизмов действия с наблюдаемыми в эксперименте эффектами.

Результаты этого анализа приведены ниже.

Молекулярные мишени (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты, связанные с исследуемыми эффектами:

- Антигипоксическая/антиишемическая активность;
- Ноотропное действие;
- Актопротекторное действие;

Результаты прогноза молекулярных механизмов действия при помощи PASS 2014 IAP – Invariant Accuracy of Prediction – характеристика средней точности прогноза, полученная при скользящем контроле с исключением по одному для соединений обучающей выборки (табл. 25.).

Также был выполнен прогноз взаимодействия (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты с молекулярными мишенями с использованием новой версии программы PASS Targets 21 [Lehmann M.L. et al., 2010; Rawanduzy A. et al., 1997], обучающая выборка

которой составлена на основе информации, извлеченной из базы данных ChEMBL, версия 21 [Miller B.F. et al., 2014].

Таблица 25.

Результаты прогноза молекулярных механизмов действия при помощи
PASS 2014 IAP

Pa	Pi	Молекулярный механизм действия	Ген	Потенциальные эффекты	Источник	IAP
0.755	0.015	Transcription factor NF kappa B1 inhibitor	NFKB1	ИШ ↓, КГ ↑	Nurmi A. et al., 2004; Rolova T. et al., 2015; Lehmann M.L. et al., 2010	83.5
0.725	0.02	Membrane permeability inhibitor	-	ИШ ↓	Rawanduzy A. et al., 1997; Miller B.F. et al., 2014; Shenaq M. et al., 2012	85.4
0.722	0.022	Atrial natriuretic peptide agonist	NPPA	ИШ ↓, КГ ↑	Cao L.H., Yang X.L., 2008; Bidzseranova A. et al., 1992;	87.7
0.621	0.008	Fibrinogen receptor antagonist	ITGA2B, ITGB3	ИШ ↓	Levi M.S., Brimble M.A., 2004	90.9
0.562	0.023	Oxygen scavenger	-	ИШ ↓, КГ ↑	Lei C. et al., 2011; Li Y., Zhang Z., 2015	86.2

Pa	Pi	Молекулярный механизм действия	Ген	Потенциальные эффекты	Источник	IAP
0.539	0.046	Insulin and insulin analogs*	INSR	ИШ ↓, КГ ↑	16-17 Yu L.Y., Pei Y., 2015; Barhwal K. et al., 2015	81.9

* – согласно прогнозу ((2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты является агонистом инсулиновых рецепторов. ИШ – снижение или усиление негативных последствий ишемии, КГ – снижение или усиление когнитивных способностей.

Обучающая выборка построена на основе данных о непосредственном взаимодействии соединений с белками-мишенями, поэтому результат прогноза можно интерпретировать как физическое связывание (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты с мишенью. Потенциальные эффекты в таблице даны для случая ингибирования мишени (табл. 26).

Таблица 26.

Ассоциации прогнозируемых PASS Targets молекулярных мишеней (прямое влияние) с наблюдаемыми эффектами

Pa	Pi	Молекулярный механизм действия	Ген	Потенциальные эффекты	Источник	IAP
0.53	0.065	Dual serine/threonine and tyrosine protein kinase	DST YK	КГ ↓	Li K. et al. 2014	79.4
0.517	0.005	Endothelin receptor ET-A	EDN RA	ИШ ↓, КГ ↑	Reynolds C.A. et al., 2011;	92.0

Pa	Pi	Молекулярный механизм действия	Ген	Потенциальные эффекты	Источник	IAP
					Briyal S. et al. 2011	
0.517	0.039	Glutathione reductase	GSR	ИШ ↑, КГ ↓	Patki G. et al., 2013; Hoffmann C. et al., 2017	92.7

АКС – нарушение роста аксонов, АТ – нейротоксичность с развитием мозжечковой атаксии, ИШ – снижение или усиление негативных последствий ишемии головного мозга, КГ – снижение или усиление когнитивных способностей.

Аналогичный прогноз был выполнен с использованием PASS Targets 21, обучающая выборка была построена на основе данных о влиянии лекарственных соединений на функцию белков-мишеней, однако при этом соединения могут связываться с белком непосредственно или оказывать влияние через другие белки. Поэтому результат прогноза можно интерпретировать как влияние (прямое или косвенное, неизвестно) (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты на функцию белка. Потенциальные эффекты в табл. 27 даны для случая ингибирования функции белка.

Ассоциации прогнозируемых PASS Targets молекулярных мишеней (прямое или не прямое влияние) с наблюдаемыми эффектами

Pa	Pi	Молекулярный механизм действия	Ген	Потенциальные эффекты	Источник	IAP
0.881	0.004	Tyrosine-protein kinase FYN	FYN	ИШ ↓, КГ ↓	Du C.P. et al., 2012; Trepanier C.H. et al., 2012; Yamada K., Nabeshima T., 2004	84.2
0.696	0.007	Sphingomyelin phosphodiesterase	SM PD1	ИШ ↓, КГ ↓	Yu Z.F. et al., 2000; Arroyo A.I. et al., 2014	94.0

ИШ – снижение или усиление негативных последствий ишемии головного мозга, КГ – снижение или усиление когнитивных способностей.

ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования позволили оценить актопротекторную активность нового продукта взаимодействия диэтиламиноэтанола и субстратов цикла трикарбонных кислот с использованием модифицированных и новых экспериментальных моделей оценки физической работоспособности. Помимо этого было определено его влияние на мнестические функции.

В качестве препаратов сравнения были выбраны фармакологические средства с эталонным актопротекторным (этилтиобензимидазол) и ноотропным (пирацетам) действиями.

4.1. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при однократном введении

В ходе проведенных экспериментов было установлено, что однократное применение за 30 минут до нагрузки как ФДЭС (75 мг/кг), так и ЭТБИ г/хл (25 мг/кг) достоверно не увеличивают работоспособность, что позволяет отнести их к препаратам «немобилизующего» типа действия.

Это согласуется с данными, полученным Трошиной М.В. и соавт., где ЭТБИ гидробромид (Бемитил) в дозах 10 и 25 мг/кг не оказывал существенного влияния на физическую работоспособность животных, однако при увеличении дозы до 50 мг/кг повышал продолжительность бега мышей на 46% по сравнению с контролем [Трошина М.В. 2015]. Этилтиобензимидазола гидробромид в дозе 100 мг/кг у грызунов в условиях гипотермии (+6⁰ С без груза) и гипертермии (+40⁰С с грузом 5 % от массы тела) повышал время плавания мышей на 17% по сравнению с контролем [Цублова Е.Г. 2013].

У людей положительное влияние на работоспособность при однократном применении бемитил оказывал также только при использовании повышенных доз (500-750 мг) [Смирнов А.В. 1990].

Сходная картина описана и при использовании производных аминоэтанола – их способность экстренно повышать работоспособность проявляется только при использовании высоких доз. Так, исследования малата

моно[(2-диметиламино)этилового эфира] янтарной кислоты и сукцината моно[(2-диметиламино)этилового эфира] янтарной кислоты в дозах 400 мг/кг и 300 мг/кг соответственно продемонстрировали увеличение времени плавания экспериментальных животных с грузом 10% от массы тела на 80% и 73,6% соответственно [Лозинский М.О. 1988, Семенов С.В. 2008].

В исследовании максимальной продолжительности бега крыс на тредбане, было установлено, что янтарная соль диметиламиноэтанола сукцината в дозе 140 мг/кг повышает исследуемый показатель в 1,76 раза [Красиков С.И. 1988].

Полученные данные свидетельствуют о наличии у бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата актопротекторного действия, отличающегося по своему характеру от действия быстрых стимуляторов работоспособности, например, психостимуляторов, обладающих мобилизующим действием. Для экстренного повышения работоспособности, как при применении аминоэтанола, так и этилтиобензимидазола, очевидно требуются дозы, превышающие стандартные в 2-3 раза. Однако, в проведенном исследовании даже на дозе 300 мг/кг значимого прироста работоспособности получить не удалось, что сближает полученные данные с работой Latz A. и соавт, показавших, что диметиламиноэтанол при однократном введении мышам в низких дозах (10-80 мг/кг) недостоверно увеличивает скорость плавания, а в высоких дозах (640-1280 мг/кг) - значимо ее снижает [Latz A. 1966].

4.2. Влияние ФДЭС на физическую работоспособность при курсовом введении на фоне тренирующих нагрузок различной направленности

В ходе проведенного исследования было установлено, что курсовое введение препарата 5 дней в неделю в течении 4-х недель увеличивало работоспособность в 1,31 раза по сравнению с начальным показателем, превосходя таковой в контрольной группе в 1,61 раза. Однако, по сравнению с референтным препаратом достоверных отличий получено не было.

Полученные нами данные согласуются с данными литературы: при курсовом введении мышам бемитила (50 мг/кг) у них увеличивалась на 34,2% продолжительность плавания с грузом (5% от массы тела) до полного утомления. У крыс регулярная физическая нагрузка (плавание по 30 минут через день без груза) на фоне препарата через 14 дней приводила к повышению работоспособности на 11,4% по отношению к контролю, через 28 дней – на 18,4%, а через 42 дня – на 16,6% [Сыров В.Н. 2008].

Аналогичное повышение работоспособности было при введении исследуемого препарата на фоне аэробных нагрузок: ФДЭС в ходе тренировок достоверно повышал выносливость экспериментальных животных, увеличивая количество проплытых бассейнов и повышая общее время плавания в 1,91 и 3,42 раза соответственно. При использовании ФДЭС вне тренировочного процесса также происходило повышение данных показателей в 1,71 и 2,03 раза соответственно.

На фоне аэробно-анаэробных нагрузок применение ФДЭС к 4-й неделе позволило увеличить физическую работоспособность, оцениваемую как максимальное время плавания, в 1,51 раза относительно исходного и в 1,41 раза относительно соответствующего показателя контрольной группы ($p < 0,05$). При этом он, он не отличался от такового в группе препарата сравнения.

Следует отметить, что повышение выносливости, оцениваемое как максимальное время плавания, произошло как у тренировавшихся животных, так и у не тренировавшихся. Возросло максимальное время плавания как при нагрузках аэробной, так и аэробно-анаэробной мощности.

Проведенными экспериментами установлено, что ФДЭС достоверно повышает скоростные показатели при курсовом введении на фоне тренирующих нагрузок. Кроме того, исследуемое соединение достоверно повышает силу хвата животных, как относительно исходных значений, так и относительно контрольной группы.

Отсюда можно сделать вывод, что действие препарата способствует изменениям адаптационного характера, независимо от типа нагрузки.

Предположительно, повышение работоспособности может быть обусловлено рядом следующих факторов. Учитывая, что сукцинат является лигандом сукцинатного рецептора SUCNR1, можно предположить, что рецептор действует как датчик для сукцината в качестве «стресс-сигнализирующего метаболита», концентрация которого изменяется обратно пропорционально концентрации кислорода, увеличиваясь при гипоксии и во время физических нагрузок или при различных болезненных состояниях [Ariza A.C. 2012]. Рецепторные управляющие системы организма оценивают появление в кровотоке сукцината как сигнал о том, что в каком-то участке не хватает энергетических ресурсов или имеется кислородное голодание. Соответственно, организм реагирует на этот сигнал сдвигами в нейро-эндокринной, гормональной регуляции, улучшением периферического кровотока, повышением силы сердечных сокращений, облегчением отдачи кислорода оксигемоглобином и рядом других физиологических и биохимических компенсаторных реакций [Голец В.А. 2008]. Накопление сукцината вызывает снижение активности пролилгидроксилазы, приводящее к стабилизации фактора, индуцируемого гипоксией-1 (HIF-1) [Selak M.A., 2005, Briere J.J. 2006].

Накопление структурно схожей молекулы фумарата, также вызывает ингибирование реакции пролилгидроксилазы [Pollard P.J. 2005]. При стабилизации HIF1 α регулирует ряд генов, обеспечивающих устойчивость клеток к низким уровням кислорода. Таким образом можно предположить, что даже при нормоксических условиях накопление сукцината и фумарата регулирует аналогичный набор генов, особенно тех, которые участвуют в васкуляризации и облегчают распределение кислорода в тканях при гипоксии, как, например, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) [Gimenez-Roqueplo A.P. 2001].

Кроме того, взаимодействие сукцината с SUCNR1 проявляется в активации мышечной гипертрофии [Gilissen J. 2016], повышении синтеза белка [He W. 2004] и регуляции обмена веществ [Littlewood-Evans A. 2016]. После активации рецептора сукцинатом через $G\alpha_i$ происходит ингибирование цАМФ и увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [Sundström L. 2013]. Увеличение содержания белка в скелетных мышцах регулируется несколькими сигнальными путями [Ato S. 2016, Agergaard J. 2017]. В частности, внеклеточный сигнал к повышению синтеза белка [Osterweil E.K. 2010, Quan-Jun Y. 2017] опосредуется через сигнальный путь ERK1/2, который чувствителен к повышению содержания Ca^{2+} [Hegedűs L. 2017].

В литературе описано, что использование ЯК оказывает стимулирующее влияние на гемопоэз - через 20-30 дней после начала применения препарата возрастало количество эритроцитов и содержание гемоглобина. Эти изменения являются особенно важными для процессов микроциркуляции и обеспечения кислородом работающих мышц [Гунина М.Л. 2007, 2009]. Также происходило увеличение количества лейкоцитов [Шабиев Л.Ф. 2012].

Это может быть связано с тем, что эффект сукцинатов дополнительно опосредуется через SUCNR1-рецепторы, которые экспрессируются в гемопоэтических клетках-предшественниках, нескольких типах клеток крови, включая иммунные клетки. В гемопоэтических клетках-предшественниках, активированные введением сукцината SUCNR1 рецепторы индуцируют пролиферацию клеток и предотвращают их апоптоз, что приводит к повышению уровня гемоглобина, тромбоцитов и нейтрофилов [Deen P.M.T., 2011]. В наших экспериментах мы не получили подтверждения этих данных, что может быть связано с тем, что в литературе указан более длительный срок применения янтарной кислоты, а дозы (в пересчете на сукцинат) в проведенном нами исследовании были достаточно низкими.

Анализируя полученные данные по влиянию ФДЭС на выносливость у мышей, можно прийти к выводу, что они согласуются с данными, полученными при исследовании влияния производных аминокислоты на

выносливость у спортсменов. Так, в плацебо-контролируемом исследовании было показано положительное действие деанола ацеглумата на физическую работоспособность и ее восстановление у спортсменов (легкоатлеты-мужчины в возрасте от 19 до 26 лет: средние и длинные дистанции), тренирующихся в циклических видах спорта на развитие выносливости (плавание на длинные дистанции, гребля, лыжный спорт, конькобежный спорт, велосипедный спорт, спортивные игры, единоборств и др.) [Медведев В.Э. 2014].

В двойном слепом, рандомизированном, перекрестном исследовании, проведенном на 50 здоровых мужчинах 21-47 лет были изучены эффекты препарата, содержащего экстракт женьшеня, диметиламиноэтанола битартрат, витамины, минералы и микроэлементы. Испытуемые получали по 2 капсулы препарата в сутки, бегая на беговой дорожке с увеличивающейся нагрузкой. В результате было отмечено увеличение работоспособности, понижение потребления кислорода, вентиляции, образования углекислого газа, уменьшение частоты сердечных сокращений, а также уровня лактата в плазме крови при одном и том же уровне нагрузки по сравнению с плацебо [Pieralisi G. 1991].

Обнаруженный у исследуемого соединения эффект последствия может служить подтверждением того, что оно обладает адаптогенным эффектом. В результате его курсового применения произошло стойкое повышение работоспособности за счет вышеописанных механизмов. Это повышение сохранялось в течение нескольких недель после отмены препарата. Эти свойства вполне укладываются в концепцию действия адаптогенов, сформулированную ранее различными исследователями [Брехман И.И. 1968, Каркищенко Н.Н. 2014].

Время прохождения 10, 20, 30 и 40 бассейнов в тренировавшихся группах имело тенденцию к возрастанию, в отличие от не тренировавшихся (интактных животных и группы ФДЭС б/т). Однако, ни одна из фармакологических субстанций не оказывала влияния на данный показатель. Это, возможно, может быть объяснено изменением соотношения быстрых и

медленных мышечных волокон в сторону последних с сопутствующим изменением метаболизма в них, наблюдавшимся при подобного рода нагрузках [Ferraro E. 2014]. Кроме того, для адаптогенных препаратов не характерно влияние на скоростные показатели, но преимущественное действие на выносливость и процессы восстановления [Каркищенко Н.Н. 2014].

Под влиянием физических нагрузок во всех тренировавшихся группах произошло развитие функциональной брадикардии – ЧСС достоверно снизилась в 1,42 в контрольной группе, в 1,43 в группе ФДЭС и в 1,54 раза у животных, получавших ЭТБИ г/хл по сравнению с не тренировавшимися мышцами. Это говорит о том, что все они достигли одинакового предела адаптационных изменений в ССС. Изменение данного показателя говорит об адаптационных изменениях, проявляющихся в компенсаторной брадикардии покоя у тренированных животных [Савка В.Г. 1996].

Увеличение соотношения массы левого желудочка/массы миокарда традиционно расценивается как компенсаторный процесс гипертрофии левого желудочка на фоне физических нагрузок [Савка В.Г. 2005]. В проведенном эксперименте отмечена тенденция к увеличению данного показателя, однако только в группе, получавшей ФДЭС на фоне тренирующих нагрузок она достигла статистической разницы с интактными животными. Возможным объяснением может быть способность сукцината (в частности, эндогенно образующегося при гипоксии в миокарде) через специфические рецепторы (SUCNR1) запускать фосфорилирование внеклеточного домена сигнал-регулирующей киназы (ERK1/2), повышать внутриклеточное содержание кальция и цАМФ, увеличивать экспрессию гена кальций-кальмодулин-зависимой протеинкиназы IIδ (CaMKIIδ), стимулировать перемещение гистондеацетилазы 5 (HDAC5) в цитоплазму, что является внутриклеточным сигналом для запуска процессов гипертрофии миокарда [Aguilar C.J. 2014, Tonack S. 2012, Yang L. 2014].

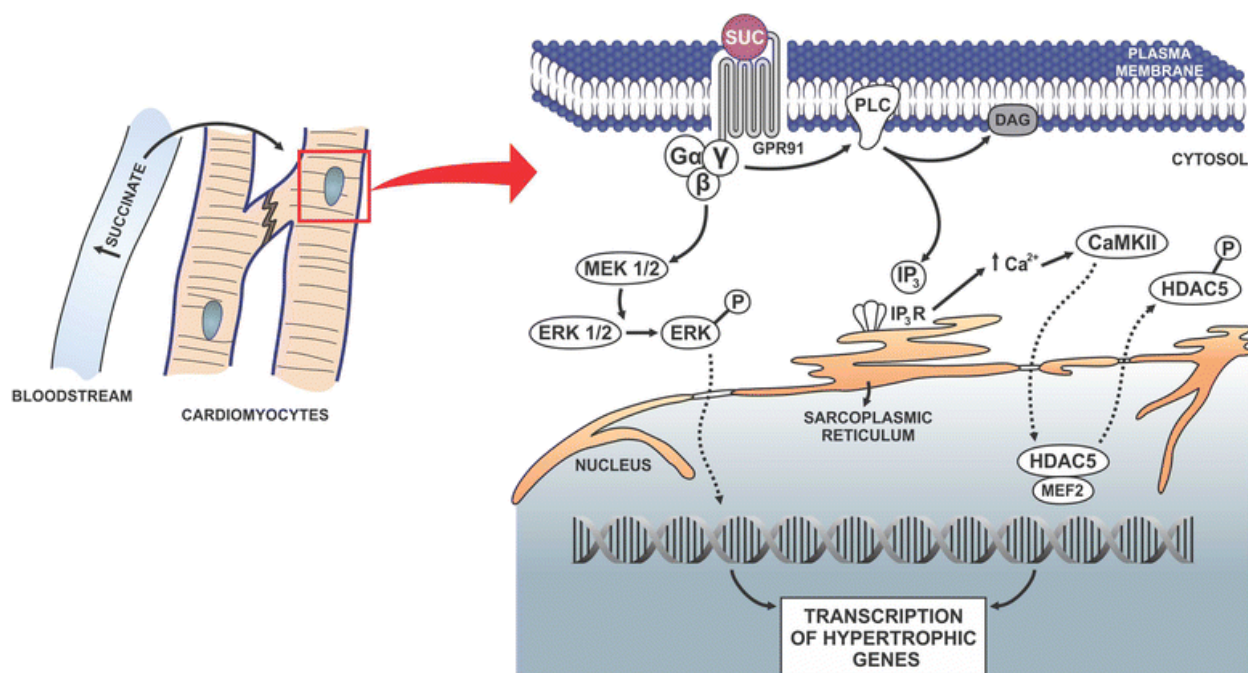


Рис. 24. Регуляция сукцинатом процессов гипертрофии в кардиомиоцитах [de Castro Fonseca M 2016].

4.3. Влияние ФДЭС на концентрацию лактата и глюкозы в крови при курсовом введении на фоне тренирующих аэробных и аэробно-анаэробных нагрузок

В контрольной группе было выявлено недостоверное повышение лактата в 1,13 раза. В группе, получавшей ФДЭС, лактат снизился в 1,93 раза ($p < 0,01$) относительно исходных данных и в 2,19 раза по сравнению с контролем ($p < 0,01$). У мышей, получавших препарат сравнения, снижение составило 1,33 раза ($p > 0,05$) относительно исходных значений и 1,74 раза относительно значений контрольной группы ($p < 0,05$). В группах, получавших ФДЭС, снижение уровня лактата составило 2,23 раза по сравнению с животными, получавшими препарат сравнения, однако, эти изменения не достигли статистической значимости.

В отличие от аэробно-анаэробных нагрузок, в случае с аэробными нагрузками не было зафиксировано достоверного снижения лактата ни в одной из групп.

Это может быть объяснено тем, что причины утомления различаются в зависимости от интенсивности и продолжительности нагрузки. Если в случае

с нагрузками субмаксимальной и большой мощности (предельное время ($T_{пр}$) = 2,5–10 мин) лимитирующими факторами является неадекватная скорость ресинтеза АТФ, истощение запасов Крф и гликогена наряду с ацидозом и накоплением лактата, то в случае нагрузок умеренной и низкой мощности ($T_{пр}$ =10 и более мин) достигается определенный лактатный порог, позволяющий выполнять работу длительно с заданной мощностью, а утомление наступает из-за истощения внутримышечных запасов гликогена, гипокалемии, гипертермии, дегидратации и кетоза [Волков Н.И., Несен Э.Н. 2013].

За счет способности исследуемого соединения снижать лактат удалось увеличить время выполняемой работы аэробно-анаэробной мощности и, очевидно, отказ наступал из-за истощения пула энергетических субстратов. В случае же аэробной нагрузки, возможно, снижение лактата происходило на ранних этапах, но после достижения лактатного порога и дальнейшей работы до отказа из-за истощения запасов гликогена в мышцах его снижение не удалось зафиксировать.

В имеющихся литературных данных по влиянию производных аминоэтанола описывается способность соединений уменьшать лактат в крови при нагрузках аэробной мощности, однако они выполнялись не до отказа [Pieralisi G. 1991].

При оценке уровня глюкозы в крови ни в одной из групп не было обнаружено достоверных изменений концентрации этого показателя. Однако, в контроле произошло небольшое снижение уровня глюкозы, в то время как при применении ЭТБИ г/х наблюдалась тенденция к увеличению этого показателя, что может быть объяснено стимуляцией глюконеогенеза под влиянием препарата [Сосин Д.В. 2015].

4.4. Влияние ФДЭС на мнестические функции

Во время оценки влияния на мнестические функции было установлено, что производное аминоэтанола повышает обучаемость животных в неосложненных условиях.

Продолжительно, это действие ФДЭС может быть связано с тем, что входящий в состав препарата диэтиламиноэтанол обеспечивает синтез ацетилхолина и фосфатидилхолина нейрональных мембран [Akesson B. 1977, Кароог V.К. 2009], хотя некоторые специалисты считают, что производные аминоэтанола не являются предшественниками ацетилхолина [Zahniser N.R. 1977].

Однако, достаточна низкая, не субстратная доза препарата, в которой он оказывает свой эффект, не позволяет рассматривать этот механизм как ведущий. Возможно, в такой низкой дозе ФДЭС, как и другие производные аминоэтанола, может непосредственно взаимодействовать с холинергическими рецепторами или же стимулировать выброс ацетилхолина [Kostopoulos G.K. 1974, Pomeroy A.R. 1972]. Кроме того, вклад в фармакологический эффект препарата вносит входящий в его состав сукцинат, реализующий свои эффекты в данном случае не столько через субстратные, сколько через специфические рецепторные (SUCNR1) механизмы [Оковитый С.В. 2015].

Также в литературе имеются сведения, что производные аминоэтанола могут уменьшать переутомление в результате интенсивных физических нагрузок, усталость, депрессию, способствуют усвоению запоминания новых навыков в учебно-тренировочном процессе [Медведев В.Э. 2014].

4.5. Прогнозирование механизма действия ФДЭС

Анализ прогнозируемых видов активности с учетом известных из литературы предсказанных механизмов действия с наблюдаемыми в эксперименте эффектами позволил идентифицировать следующие возможные молекулярные мишени изучаемого вещества, помимо взаимодействия с SUNCNR1, описанного выше:

1. Инсулин и аналоги инсулина (Insulin and insulin analogs). Система регуляции метаболизма глюкозы является одним из факторов, определяющих физическую работоспособность организма. Важную роль в процессе обмена глюкозы играет его регуляция с помощью регуляторных пептидов: инсулина,

глюкагона и лептина. Действие инсулина и его аналогов препятствует катаболическому эффекту глюкагона, проявляя анаболическое действие, усиливая репликацию ДНК и биосинтез белков, активируя поглощение клетками аминокислот, ионов калия магния и фосфата, препятствует деградации белков [Jornayvaz F.R. 2011], что способствует ускорению восстановления после нагрузок [Володин Р.Н. 2016].

2. Уменьшение проницаемости мембраны, нейтрализация высокоактивных форм и соединений кислорода (Membrane permeability inhibitor, Oxygen scavenger). У комбинированных соединений аминоэтанола и янтарной кислоты, после попадания в организм, основная часть молекулы может встраиваться в фосфолипидный слой мембраны, влияя на ее физико-химические свойства [Gunduz F. 2004], а янтарная кислота используется непосредственно дыхательной цепью как энергетический субстрат [Гунина М.Л. 2014]. Кроме того, показано, что этаноламин является важным регулятором биогенеза митохондриальной дыхательной цепи (МДЦ), способным устранять митохондриальную дисфункцию путем участия в синтезе кардиолипина и фосфатидилэтаноламина *in situ* [Writoban Basu Ball 2018]. Данные эффекты могут обуславливать повышение выносливости и устойчивости к физическим нагрузкам различной направленности, а также ускорять процесс восстановления после них.

Фосфатидилэтаноламин позволяет сохранять каталитическую активность комплексов митохондриальной дыхательной цепи [Baker, C.D. 2016, Bottinger, L. 2012, Tasseva, G. 2013], в то время как кардиолипин играет важную роль в реакции переноса электронов и преобразовании энергии [Horvath, S.E. 2013, Raja, V. 2014]. В экспериментах *in vivo* и *in vitro* было установлено, что кардиолипин оказывает влияние на МДЦ путем облегчения суперкомплексного образования [Zhang, M. 2002, Pfeiffer, K. 2003, Bazán, S.2013]. Респираторные суперкомплексы осуществляют стабилизацию отдельных комплексов МДЦ, минимизируя образование реакционноспособных форм кислорода и повышая каталитическую

эффективность путем субстратного фосфорилирования [Genova, M.L. 2014 , Acin-Perez, R. 2014]. Кроме того, кардиолипин необходим для экспрессии как субъединиц МДХ с митохондриальной, так и ядерной ДНК [Ostrander, D.B 2001, Su, X 2006]. Снижение содержания кардиолипина также приводит к снижению потенциала митохондриальной мембраны и белка [Jiang, F. 2008], нарушает транспорт электронов и синтез АТФ [Koshkin, V 2002, Koshkin, V 2000].

Схожая по строению молекула диметиламиноэтанола (ДМАЭ) после фосфорилирования может встраиваться в мембранные структуры в форме фосфатидил-диметиламиноэтанола [Miyazaki S. 1976]. По данным некоторых исследователей, кратковременное применение ДМАЭ оказывает влияние на текучесть мембраны, в то время как долговременное - приводило к накоплению в ней фосфатидил-диметиламиноэтанола, который ведет себя как скавенжер гидроксильных радикалов [Zs-Nagy I. 1986]. Соответственно, применение ДМАЭ может устранять пагубное действие свободных радикалов на плазматические мембраны клеток и уменьшать процесс ПОЛ [Bruch R.S. 1983] (рис.25).

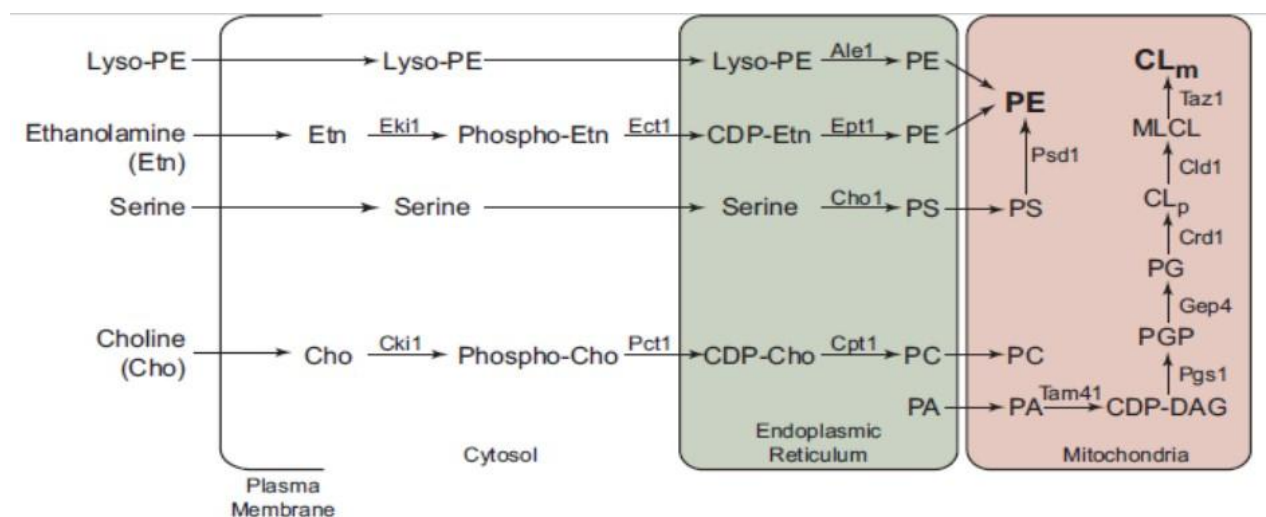


Рис. 25. Биохимические пути биосинтеза фосфатидилэтаноламина и кардиолипина [Writoban Basu Ball 2018].

Взаимодействие продуктов ПОЛ с ферментами приводит к инактивации глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы,

сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы, РНКазы и др. [Каркищенко Н.Н. 2014]. Для аминоктанолов и янтарной кислоты описана их способность снижать перекисное окисление липидов (ПОЛ). При исследовании комплексообразовательных свойств производных аминоктанолола (янтарной соли диметиламиноктанолола сукцината) было установлено, что данное соединение имеет низкое сродство к органическим соединениям за исключением NADH. Можно предположить, что комплексообразование с NADH может играть определенную роль в торможении препаратом ферментативного NADH-зависимого ПОЛ, возникающего при активных физических нагрузках [Зоценко Д.М. 1993].

Соответственно, ингибирование чрезмерного ПОЛ оказывает не только положительное влияние на метаболические процессы при нагрузках высокой интенсивности, но и ускоряет процессы восстановления.

Таким образом, очевидно, для (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты характерно плеiotропное фармакологическое действие благодаря взаимодействию с несколькими молекулярными мишенями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальность поиска новых актопротекторных средств обусловлена, с одной стороны, высокой потребностью в них людей, чья деятельность связана с физическими нагрузками высокой интенсивности. С другой стороны препараты этой группы находят свое применение в реабилитации после ряда заболеваний, для которых характерно снижение работоспособности, либо ее частичная утрата.

В связи с этим, представляется очевидной потребность в новых эффективных актопротекторных средствах, которые могли бы повышать физическую работоспособность не истощая и не перегружая организм, т.е. быть безопасными для человека при длительном применении.

Отличительной особенностью строения нового производного аминокэтанола является наличие фармакофорной группировки диэтиламинокэтанола, образующего связь с бутандиовой (янтарной) и транс-бутендиовой кислотами. Как аминокэтанолевая часть, так и интермедиаты цикла Кребса являются естественными метаболитами для организма, которые участвуют в ряде обменных процессов.

В результате ряда тестов, имитирующих различные виды физических нагрузок, установлено, что курсовое применение бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанамина} бутандиоата в дозе 75мг/кг приводит к достоверному увеличению физической работоспособности, сопоставимым с таковым у препаратов сравнения. Кроме того, для исследуемого соединения характерен выраженный эффект последействия.

В экспериментальном исследовании при изучении актопротекторной активности нового производного аминокэтанола была установлена его способность повышать выносливость при аэробный и аэробно анаэробных видах нагрузок. Кроме того, на фоне применения ФДЭС, адаптация сердечно-сосудистой системы, в виде компенсаторной гипертрофии левого желудочка

на фоне нагрузок, имела более выраженный характер. При этом, применение препарата без тренировок не оказывало влияние на морфологию миокарда.

В ряде методик, имитирующих тренировочные процессы, направленные на развитие скоростных характеристик, была выявлена способность бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата повышать скорость плавания. Кроме того, установлено его влияние на увеличение силы хвата.

При оценке биохимических показателей, была установлена способность ФДЭС снижать лактоацидоз при аэробной-анаэробных нагрузках, не влияя на концентрацию глюкозы в крови.

ФДЭС оказывает положительное действие способность сохранять и воспроизводить полученную информацию. Выраженность данного действия достоверно выше таковой у эталонного ноотропа пирацетама.

Выявленный актопротекторный эффект может быть следствием наличия у ФДЭС адаптогенного действия, которое реализуется не только за счет аминоэтанольного фрагмента, но и благодаря присутствию в молекуле интермедиатов цикла трикарбоновых кислот. Так, янтарная кислота, входящая в состав молекулы, взаимодействия с эндогенным сукцинатным рецептором SUCNR1, вызывает его активацию, на которую организм реагирует сдвигами в нейро-эндокринной, гормональной регуляции, улучшением периферического кровотока, повышением силы сердечных сокращений, облегчением отдачи кислорода оксигемоглобином и рядом других физиологических и биохимических компенсаторных реакций [Голец В.А. 2008]. Более того, накопление сукцината вызывает снижение активности пролилгидроксилазы, приводящее к стабилизации фактора, индуцируемого гипоксией-1 (HIF-1), способствуя адаптации организма к нехватке кислорода [Selak M.A., 2005, Briere J.J. 2006]. Как аминоэтанольная часть так и субстраты ЦТК обладают антиоксидантным действием и антирадикальной активностью.

Кроме того, аминоктанольная часть может служить предшественником ацетилхолина в ЦНС [Levin E.D. 1995], что может объяснять положительное влияние ФДЭС на изученные в данной работе мнестические функции.

Таким образом, бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоат (ФДЭС) является оригинальным фармакологически активным веществом, оказывающим актопротекторный эффект при курсовом введении как на фоне разнообразных нагрузок (таблица 25), так и без них и является перспективным новым соединением синтетического происхождения для дальнейшего изучения.

Таблица 28.

Фармакологическая активность ФДЭС

Экспериментальная модель	Тест	Влияние на регистрируемый показатель
Экстренное повышение работоспособности	Плавание с грузом 10% от массы тела	Не оказывает выраженного влияния
Курсовое введение без тренировок	Плавание с грузом 10% от массы тела	Повышает выносливость
Курсовое введение на фоне аэробных нагрузок	Челночное плавание	Повышает выносливость, способствуя развитию более выраженной компенсаторной гипертрофии левого желудочка
Курсовое введение на фоне аэробно-анаэробных нагрузок	Плавание с грузом 7,5% от массы тела	Повышает выносливость, способствует снижению уровня лактата в крови
Курсовое введение на фоне тренировок, направленных на	Челночное плавание	Увеличивает скорость прохождения одного бассейна

Экспериментальная модель	Тест	Влияние на регистрируемый показатель
развитие скоростных показателей		
Силовая модель	Оценка силы хвата	Увеличивает силу хвата
Оценка способности сохранять и воспроизводить полученную информацию	Т-лабиринт	Увеличивает способность сохранять и воспроизводить навык на 1-й, 5-й и 10-й день после окончания обучения.

Для (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты прогнозируется влияние на несколько фармакологических мишеней, что может обуславливать наличие у изучаемого средства одновременно нескольких видов фармакологической активности.

ВЫВОДЫ

1. Актопротекторный эффект бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата развивается только после курсового введения препарата в течение 4-х недель.
2. Бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N- диэтилэтанаминия} бутандиоат (75 мг/кг) по своей способности увеличивать физическую работоспособность как при аэробных, так и при смешанных анаэробно-анаэробных нагрузках сопоставим с эталонным представителем класса синтетических адаптогенов – этилтиобензимидазола гидрохлоридом (25 мг/кг).
3. Исследуемое соединение оказывает преимущественное влияние на показатели физической выносливости, в меньшей степени влияя на скоростные показатели.
4. Повышение силы хвата под влиянием бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N- диэтилэтанаминия} бутандиоата сопоставимо с комбинацией нестероидных анаболиков – инозина и калия оротата.
5. Исследуемое соединение в дозе 75 мг/кг оказывает достоверно более выраженный эффект на процессы запоминания и воспроизведения навыка, чем пирацетам в дозе 900 мг/кг.
6. Набор структурных дескрипторов бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N- диэтилэтанаминия} бутандиоата не обладает существенной спецификой, что приводит к нескольким прогнозируемым видам биологической активности, которые могут обуславливать актопротекторный эффект изучаемого соединения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Предложенное крепление для грузов на мелких лабораторных животных (патент № RU172475U1 от 2017-07-11) может быть использовано в доклинических исследованиях при оценке физической работоспособности в тесте вынужденного плавания с грузом.

Методика, разработанная в ходе выполнения работы, имитирующая силовые нагрузки может быть использованы для исследования влияния различных фармакологических субстанций на силовые показатели в т.ч. силу хвата и силовую выносливость.

Модифицированная методика, имитирующая аэробные нагрузки может быть использована для оценки влияния различных соединений на аэробную выносливость и адаптируемость сердечно-сосудистой системы к ним.

Исследуемое соединение может быть рекомендовано для дальнейших доклинических исследований в качестве препарата с актопротекторным действием.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфат;

АХ – ацетилхолин;

Г6ФДГ – глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа;

ДМАЭ – диметиламиноэтанол;

ЗСЛЖд – толщина задней стенки левого желудочка в диастолу;

ЗСЛЖс – толщина задней стенки левого желудочка в систолу;

КДР – конечный диастолический размер левого желудочка;

КСР – конечный систолический размер левого желудочка;

КрФ – креатинфосфат;

ЛДГ – лактатденидрогеназа;

ЛЖ – левый желудочек;

МДА – малоновый диальдегид;

МДЦ – митохондриальная дыхательная цепь;

МЖПд – толщина межжелудочковой перегородки в диастолу;

МЖПс – толщина межжелудочковой перегородки в систолу;

Мо – масса животного;

Мм – масса миокарда;

Млж – масса левого желудочка;

ПОЛ – перекисное окисление липидов;

ОС – окислительный стресс;

СДГ – сукцинат дегидрогеназа;

СЖК – свободные жирные кислоты;

ССС – сердечно-сосудистая система;

Т пр – предельное время;

ФВ – фракция выбора;

ФРС – физическая работоспособность;

ФУ – фракция укорочения;

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат;

ЦС – цитрат синтаза;
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот;
ЧСС – частоту сердечных сокращений;
ЯК – янтарная кислота;
CaMKII δ – кальций-кальмодулин-зависимая протеинкиназа II δ ;
ERK1/2 – сигнал-регулирующей киназы;
GLUT4 – транспортер глюкозы 4;
GSH – глутатион;
HDAC5 – гистондеацетилазы 5;
HIF-1 – фактор, индуцируемый гипоксией – 1;
MyHC – тяжелые цепи миозина;
SERCA – кальциевая АТФ-аза саркоплазматического ретикулума;
SUCNR1 – сукцинатный рецептор;
VDAC – потенциалзависимые ионные каналы;
VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агеева, В. Г. Восстановительное лечение больных, перенесших мозговой инсульт, в амбулаторных условиях / В. Г. Агеева, Е. М. Лондон, С. В. Ходарев // Материалы первого всероссийского съезда врачей восстановительной медицины РеаСпоМед. – 2007. – С. 356.
2. Андреева, Н. Н. Экспериментальные и клинические аспекты применения мексидола при гипоксии / Н. Н. Андреева // Медицинский альманах. – 2009. – Т 9, № 4. – С. 193-197.
3. Анисимов, В. Н. Средства профилактики преждевременного старения / В. Н. Анисимов // Успехи геронтологии. – 2000. – № 4. – С. 55-74.
4. Анисимова, Л. Н. Современный подход к ранней реабилитации больных, перенесших инсульт. Россия, г. С-Петербург, Военно-медицинская академия, клиника нервных болезней / Л.Н. Анисимова // Материалы первого всероссийского съезда врачей восстановительной медицины РеаСпоМед – 2007. – С. 356.
5. Антонов, А. В. Основы силового тренинга. Сборник статей и интервью / А. В. Антонов – М.: Ironworld. – 2015. – С. 169.
6. Артамонов, В. А. Физиологические факторы, определяющие физическую работоспособность: метод. разработ. / В. А. Артамонов. – М.: Б.И., 1989. – 40 с.
7. Афанасьев, В. В. / Клиническая фармакология реамберина (очерк) – 2005. – 44 с.
8. Белоусов, Ю. Б. Современный подход к цитопротекторной терапии. Методическое пособие для врачей. / Ю. Б. Белоусов – М.: Б.И., 2010. – 34 с.
9. Бобков, Ю. Г. Фармакологическая коррекция утомления / Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, В. Ф. Катков, С. С. Лосев, А. В. Смирнов. – Л.: Медицина, 1984. – 208 с.
10. Брехман, И. И. Женшень / И.И. Брехман. – Л.: Наука, 1957. – 180 с.

11. Брехман, И. И. Человек и биологические активные вещества / И.И. Брехман. – М: Наука, 1976. – 180 с.
12. Брехман, И. И. Элеутерококк/ И.И. Брехман. – Л.: Наука, 1968. – 168 с.
13. Василев, С. Ц. Роль янтарной кислоты в терапии митохондриальных болезней у детей/ С. Ц. Василев, А. Б. Сафонов // Педиатрия. – 2000. – №2. – С. 88-91.
14. Васильев, С. А. Особенности интенсивной терапии тяжелых форм острых отравлений на госпитальном этапе / С. А Васильев, Д. В Баранов, А. Ю Андрианов., Б. В Батоцыренов // Тез.конф. «Скорая медицинская помощь – 2013». СПб. – 2013. – С. 125-131.
15. Виноградов, В. М. Антигипоксантами важный шаг на пути разработки фармакологии энергетического обмена / В. М. Виноградов, А. В. Смирнов // Антигипоксантами и актопротекторы : итоги и перспективы. – СПб., 1994. – Вып. 1. – С. 23.
16. Виноградов, В. М. Фармакологическая защита мозга от гипоксии / В. М. Виноградов, Б. И. Криворучко // Психофармакология и биол. наркология. – 2001. – Т. 1, № 1 – С. 27-37.
17. Власенко, П. С. Количественное определение специфической изометрической силы мышц сгибателей пальцев, и ее взаимосвязь с проявлением силовых способностей при занятии скалолазанием / П. С. Власенко, Ю. В. Байковский // Спортивная физиология. Теория и практика. – 2013. – № 3. С. 46-49.
18. Володин, Р.Н. Изучение роли пептидергической системы в регуляции метаболизма глюкозы при физической работе / Р.Н. Володин ,В.Б. Соловьев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 4. С. 95-96.
19. Воробьев, А. Н. Скрининговые исследования фармакологического действия смеси циннаризина с кислотой янтарной / А.Н. Воробьев // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16, № 2. – С. 94-95.
20. Герасимец, И. М. Влияние рибоксина и коринфара на течение синдрома пероксидации при ОИМ / И. М Герасимец, Б. И Рудык, Н. Г Блинова //

- Гипертон. болезнь, атеросклероз и коронар. недостаточность. – 1990. – № 22. – С. 63-68.
21. Глушков, Р. Г. Потенциальный лекарственный препарат, содержащий винцепотин и янтарную кислоту / Р. Г. Глушков // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – Т. 45, № 4. – С. 9-11.
22. Голец, В. А. Оптимизация метаболизма спортсменов как фактор, предупреждающий развитие патологических состояний / В. А. Голец, Е. И. Евдокимов // Физическое воспитание студентов творческих специальностей – 2008. – № 5. – С. 12-20.
23. Голиков, А. П. Свободно-радикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антигипоксантами / А. П. Голиков // Лечащий врач. - 2003. – №4. - С. 35-37.
24. Государственный сайт МЧС России [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.mchs.gov.ru/dop/info/smi/news/item/32834193> (дата обращения 01.08.2016).
25. Губа, В. П. Спортивная диагностика / В. П. Губа. – М.: Советский спорт, 2016. – 234 с.
26. Гунина, М. Л. Влияние коррекции гематологических показателей на физическую работоспособность спортсменов / М. Л. Гунина // Спорт. медицина. – 2009. – № 1-2. – С. 11-16.
27. Гунина, М. Л. Роль профилактики и коррекции функциональной анемии в повышении физической работоспособности спортсменов / М. Л. Гунина // Физиол. журнал – 2007. – Т.57, № 4. – С. 91-97.
28. Давиденко Д.Н. Физиологические основы культуры и спорта: Учебное пособие / Д.Н. Давиденко – Спб.: СПбГУ, 1996. – 134 с.
29. Дунаев, В. В. К механизму действия рибоксина / В. В. Дунаев, В. С. Тишкин, Е. И. Евдокимов, И. М. Белай // Фарм. и токс. – 1989. – № 6. – С. 56-58.
30. Евтушенко, С. К. Цераксон как эффективный нейропротектор в лечении и реабилитации детей первого года жизни с органическими поражениями ЦНС

- / С. К. Евтушенко, Н. В. Яновская, О. С. Евтушенко, Е. В. Лисовский // Международный неврологический журнал. – 2007. – Т.13, № 3. – С. 21-25.
31. Каркищенко, Н. Н. Очерки спортивной фармакологии. Том 1. Векторы экстраполяции / Н. Н. Каркищенко, В. В. Уйба, В. Н. Каркищенко, Е. Б. Шустов; под редакцией Н. Н. Каркищенко и В. В. Уйба. – М., СПб.: Айсинг, 2013. – 288 с.
32. Каркищенко, Н. Н., Очерки спортивной фармакологии. Том 2. Векторы фармакопротекции / Н. Н. Каркищенко, В. В. Уйба, В. Н. Каркищенко, Е. Б. Шустов, К. В. Котенко, С. В. Оковитый / под редакцией Н. Н. Каркищенко и В. В. Уйба. – М., СПб.: Айсинг, 2014. – 488 с.
33. Каркищенко, Н. Н., Очерки спортивной фармакологии. Том 3. Векторы фармакорегулирования // Н. Н. Каркищенко, В. В. Уйба, В. Н. Каркищенко, Е. Б. Шустов, К. В. Котенко, С. Л. Люблинский / под редакцией Н. Н. Каркищенко и В. В. Уйба. – М., СПб.: Айсинг, 2014. – 356 с.
34. Кондрашова, М. Н. Янтарная кислота в скелетных мышцах при интенсивной деятельности и в период отдыха // М. Н. Кондрашова, Н.Р. Чаговец // Докл. АН СССР. 1971. – Т.198, №1. – С. 243-46.
35. Кононова, В. А. Влияние рибоксина на метаболизм миокарда в условиях высотной гипоксии / В. А. Кононова, Г. М. Попова. // Бюлл. эксп. биологии и медицины. – 1984. – Т.47, № 4. – С. 484-486.
36. Коц, Я. М. Спортивная физиология: Учебник для институтов физической культуры. - М.: Физкультура и спорт, 1998. – 200 с.
37. Кукес, В. Г. О механизме действия рибоксина / В. Г. Кукес, Н. М. Форова, Э. Ф. Буриан, Е. Т. Гнетушев, Т. Д. Сапрыкина. // Сов. медицина. – 1983. – № 2. – С. 84-86
38. Кулиненков, О. С. Фармакология спорта в таблицах и схемах. / О.С. Кулиненков. – М.: Спорт, 2015. – 176с.
39. Ливанов, Г. А. Роль нарушений системы антиоксидантной защиты в формировании критических состояний у пациентов с острыми отравлениями веществами с угнетающим действием на ЦНС и возможности их коррекции

препаратов реамберина / Г. А. Ливанов // Реамберин: реальность и перспективы: сб. научн. статей. – 2002. – С. 34-44.

40. Лозинский, М. О., Бобков А. Г., Шиванюк А.Ф. и др. Сукцинат моно [(2-диметиламино)-этилового эфира)] янтарной кислоты, обладающий адаптогенным и стресспро-тективным действием: пат. 1433957 СССР, МПК C07 с69/40, 87/127, А61К 31/22/; патентообладатель – Институт органической химии АН УССР, Институт фармакологии АМН СССР. опуб. 30.10.1988.

41. Лукьянова, Л. Д. Гипоксия при патологиях. Молекулярные механизмы и принципы коррекции / Л.Д. Лукьянова // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. Пущино; 2001. – С.56-69.

42. Маевский, Е.И. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий / Е. И. Маевский. – Пущино, ИТЭБ РАН, 2001. – С. 155.

43. Маевский, Е. И. Биохимические основы механизма действия фумарат-содержащих препаратов / Е. И. Маевский, Е. В. Гришина // Medline.ru Биомедицинский журнал. – 2017. – Т. 18, № 2. – С.50-80.

44. Маевский, Е. И. Сукцинат аммония - “альтернатива” антиоксидантам? / Е. И. Маевский, М. Л. Учитель, Е. В. Гришина // Биофизика. – 2010. – №11. – С. 78-92.

45. Макарова, Г. Н. Фармакологическое сопровождение спортивной деятельности. / Г. Н. Макарова. – М.: Советский спорт, 2013. – 232 с.

46. Макарова, Т. И. Экспериментальное изучение нейропротекторной активности Нооклерина. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Купавна, 2007. – 136 с.

47. Михайлов, С. С. Спортивная биохимия / С. С. Михайлов. – М.: Советский спорт, 2004. – 220 с.

48. Медведев, В.Э. Новые возможности лечения астенических расстройств в психиатрической, неврологической и соматической практике / В. Э. Медведев // Неврология. Психиатрия. – 2014. – Т. 15, № 4. – С. 39-46.

49. Навакатилян, А. О. Физиологические механизмы утомления // Физиология трудовой деятельности / А. О. Навакатилян. – СПб.: Наука, 1993. – С. 83-106.
50. Назаренко, Л. Д. Роль интеллекта в спортивной деятельности / Л. Д. Назаренко // Теория и практика физической культуры. – 2013. – № 10. – С. 9-12.
51. Никитина, Е. В. Янтарная кислота и её соли как индивидуальные антиоксиданты и генопротекторы / Е. В. Никитина, Н. К. Романова // Вестник Казанского Технологического Университета. – 2010. – №10. – С.375-381.
52. Николаева, И. Г. Разработка средства, обладающего ноотропной активностью / И. Г. Николаева, Л. Д. Дымшеева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – Т. 72, № 2 – С. 201-204.
53. Новиков, В. С. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях. / В. С. Новиков, Е. Б. Шустов, В. В. Горанчук.- СПб: Наука, 1998. – 544 с.
54. Огнева, И. В. Изменения клеточного дыхания волокон постуральных мышц крысы в условиях длительной гравитационной загрузки при добавлении в рацион сукцината / И. В. Огнева, О. М. Веселова // Биофизика. – 2011. – Т. 56. № 1. – С. 122-128.
55. Оковитый, С. В. Актопротекторы как синтетические адаптогены нового поколения / С.В. Оковитый // Психофармакология и биологическая наркология. – 2003. – Т.3, №1-2. – С. 510-516.
56. Оковитый, С. В. Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов / С. В. Оковитый, С. Н. Шуленин, А. В. Смирнов. – СПб.: ФАРМиндекс, 2005. – 72 с.
57. Оковитый, С. В. Применение сукцинатов в спорте / С. В. Оковитый, С.В. Радько // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2015. – Т.92, №6. – С.59-65.

58. Оковитый, С.В. Сукцинатные рецепторы (SUCNR1) как перспективная мишень фармакотерапии / С. В. Оковитый, С. В. Радько, Е. Б. Шустов // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т. 49, № 9. – С.24-28.
59. Оковитый, С.В. Антигипоксанты в современной клинической практике/ С. В. Оковитый, Д. С. Суханов, В. А. Заплутанов, А. Н. Смагина // Клиническая медицина. – 2012. – № 9. – С.63-68
60. Олейник, С. А. Антигипоксанты в спортивной медицине и практике спортивной подготовки / С. А. Олейник, Н. А. Горчакова, Л. М. Гунина // Спортивная медицина. – 2008. № 1. – С.66-73.
61. Песков, А. Б. Оценка эффективности «малых воздействий» в клинике внутренних болезней. / А. Б. Песков, Е. И Маевский, М. Л Учитель. – Ульяновск: Изд-во Ульяновского гос. университета, 2005. – 197 с.
62. Погодин П.В., Лагунин А.А., Филимонов Д.А., Поройков В.В. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ PASS Targets № 2016610846. Москва: Федеральная служба по интеллектуальной собственности, 20.01.2016 г.
63. Покровский, В М., Коротько Г. Ф. Физиология человека. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: «Академия» , 2003. – 656 с.
64. Радько, С. В. Модель оценки влияния фармакологических средств на динамику адаптации к физической нагрузке / С. В. Радько, С. В Оковитый, А. Н. Куликов, Е. Ю. Чистякова // Биомедицина. – 2016. – №3. – С.35-42.
65. Радько С.В., Гусев К.А., Краснова М.В., Оковитый С.В.; Устройство для крепления груза к мелким лабораторным животным: пат. 172475 Российская Федерация: МПК51 А61D 3/00 (2006.01). / заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава России. - № 2017111119; заявл. 03.04.17; опубл. 11.07.17, Бюл. № 20.].
66. Родичкин, П. В. Фармакологическая коррекция деятельности системы управления движениями у спортсменов высокого класса с помощью адаптогенов / П. В. Родичкин, С. В. Оковитый // Психофармакология и биологическая наркология. – 2003. – Т. 3, № 1-2. – С.526-531.

67. Розенфельд, А. С. Теоретико-методологические аспекты действия сукцината при физических нагрузках и гипоксии. / А. С. Розенфельд, Е. И. Маевский.- Екатеринбург: Б.И., 2007. – 173 с.
68. Рямова, К. А. Поддержание работоспособности и относительного постоянства рН среды средствами субстратной поддержки митохондриального аппарата / К. А. Рямова, А. С. Розенфельд // Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». - 2014. - Т.14, №4. - С.14-19.
69. Савка, В.Г., Радько М.М., Воробьев А.А., Марценяк И.В., Бабюк А.В. Спортивная морфология. - Черновцы: Книги XXI, 2005. – 196 с.
70. Саратиков А.С., Краснов Е.А. Родиола розовая – ценное лекарственное растение: Золотой корень. - Томск: Изд-во Томск. университета, 1987.- 254 с.
71. Семенов С.В., Олійник С.А., Шевченко В.Е. Малат моно[(2 диметиламіно)етилового ефіру] бурштинової кислоти, який має адаптогенні та стреспротекторні властивості: пат. 84789 Украина, МПК С07с 69/40, А61К 31/194, А61Р 37/04/ ; заявл. 25.11.2008.
72. Сержникова, Т. К. Психомодулирующее действие сукцината фенотропила в условиях информационно-физического стресса / Т. К. Сержникова, М. А. Самотруева, И. Н. Тюренков и др. // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 9 – С. 212-212.
73. Смирнов, А. В. Влияние бемитила на перекрестную адаптацию к гипобарической гипоксии и физической нагрузке Фармакологическая коррекция гипоксических состояний (материалы второй всесоюзной конференции) / А.В. Смирнов. – Гордно, 1991. – С. 49-50.
74. Смирнов, А. В. Фармакологические средства повышения физической работоспособности. Лекция. / А. В. Смирнов. – Ленинград.: Тип. ВМедА им. С.М. Кирова, 1989. – 43 с.
75. Смирнов, А. В. Повышение работоспособности и устойчивости к экстремальным воздействиям с помощью актопротекторов и фармакологических рецептур / А. В. Смирнов, Е. Б. Шустов // Экстремальная

физиология, гигиена и средства индивидуальной защиты человека. – Москва. – 1990. – 165 с.

76. Сыренский, А. В. Влияние изменения метаболического и антиоксидантного статуса миокарда на выраженность его ишемического поражения / А. В. Сыренский, М. М. Галагудза, Е. И. Егорова // Рос физиол. журнал им. Сеченова. – 2008 – Т. 94 – № 10. – С. 1171-1180.

77. Сыркин, А. Л. Роль периферических нарушений в снижении физической работоспособности при хронической сердечной недостаточности / А. Л. Сыркин, М. Г. Полтавская, И. В. Молчанова // Врач. – 2005. – № 5 - С.31-32

78. Сыров, В. Н. Влияние фитостероидов и бемитила на функциональные, метаболические и иммунобиологические показатели работоспособности в эксперименте / В. Н. Сыров, Г. А. Шахмурова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 5. – С.40-43.

79. Титович, И. А. Изучение влияния производного аминокетанола на когнитивные функции лабораторных животных / И. А. Титович, С. В. Радько, Д. С. Лисицкий, С. В. Оковитый, В. Ц. Болотова, А. В. Бельская, М. В. Михайлова, Ю. И. Сысоев // Биомедицина. – 2017. – № 3. – С. 102-110.

80. Трошина, М. В., Исследование влияния новых производных гетероциклических соединений и аминокислот на физическую работоспособность животных в обычных условиях / М. В. Трошина, Т. Г. Иванова, Р. Ю. Лютый // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2015. – Т. 201, № 4. – С. 176-179.

81. Хочачка, П. Биохимия адаптации. / П. Хочачка, Д. Сомеро. – М.: Мир. 1988. – 278 с.

82. Цублова, Е. Г. Экспериментальная оценка актопротекторной активности производных азотсодержащих гетероциклических соединений в экстремальных условиях / Е. Г. Цублова, Т. Г. Иванова, Т. Н. Иванова, В. В. Яснецов // Военно-медицинский журнал. – 2013. – №7. – С.17-19.

83. Чинкин, А. С. Физиология спорта: учебное пособие / А.С. Чинкин, А.С. Назаренко. – Москва: Спорт, 2016. – 120 с.
84. Шабанов, П. Д. Адаптогены и антигипоксантаы / П. Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2003. – Т.2, № 3. – С. 50-81.
85. Филимонов Д.А., Поройков В.В., Глориозова Т.А., Лагунин А.А. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ PASS № 2006613275 от 15 сентября 2006 г., Москва, Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.
86. Шабиев, Л. Ф. Влияние препаратов «янтарная кислота», «янтарос» и «янтарос плюс» на морфологический состав крови норок / Л. Ф. Шабиев, Т. В. Гарипов, А. С. Гасанов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 209. – С. 349-352.
87. Шах, Б.Н. Механизмы развития полиорганной недостаточности при шокогенной травме: клинический подход к проблеме / Б.Н. Шах, В. Н. Лапшин, В. М. Теплов, Д. Б. Смирнов, А. Г. Кырнышев // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. - 2011. – Т. 170, № 6. – С.93-97.
88. Шилов, В. В. Интенсивная терапия тяжелых отравлений угарным газом на раннем госпитальном этапе / В. В. Шилов, С. А. Васильев, О. А. Кузнецов, Б. В. Батоцыренов // Тез. Конф «Скорая медицинская помощь – 2013». – СПб., 2013. – С. 122-125.
89. Шустов, Е. Б. Гипоксия физической нагрузки: изучение у человека и лабораторных животных / Е. Б. Шустов, Н. Н. Каркищенко, В. Н. Каркищенко и др. // Биомедицина. – 2014. – Т.1, № 4 – С. 4-16.
90. Янсен, П. ЧСС, лактат и тренировки на выносливость: Пер. с англ. / П. Янсен. – Мурманск: Тулома, 2006. – 160 с.
91. Яременко К.В. Адаптогены как средства профилактической медицины. – Томск: Изд-во Томского университета, 1990. – 96 с.

92. Acin-Perez, R. The function of the respiratory supercomplexes: the plasticity model / R. Acin-Perez, J.A. // *Enriquez Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1837, № 4 – P. 444-450.
93. Adams, J. Exercise dependence: A review of its manifestation, theory and measurement / J. Adams, R. J. Kirkby // *Research in Sports Medicine.* – 1997. Vol.8. – №. 3. – P. 265-276.
94. Agergaard, J. Light-load resistance exercise increases muscle protein synthesis and hypertrophy signaling in elderly men / J. Agergaard, J. Bülow, J.K. Jensen // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2017. – Vol.312, № 4. – P. 326-338.
95. Aguiar, C. J. Succinate causes pathological cardiomyocyte hypertrophy through GPR91 activation / C. J. Aguiar, J. A. Rocha-Franco, P. A. Sousa, A. K. Santos, M. Ladeira, et al. // *Cell Communication and Signaling.* – 2014. – Vol.78, № 12. – P. 1-17.
96. Akesson, B. Effects of analogues of ethanolamine and choline on phospholipid metabolism in rat hepatocytes / B. Akesson // *Biochem J.* – 1977. – Vol.168, № 3. – P. 401-408.
97. Ament, W. Exercise and Fatigue / W. Ament, G. J. Verkerke // *Sports Med.* – 2009. – Vol.39, №5. – P. 389-422.
98. Arroyo, A.I. Pharmacological reversion of sphingomyelin-induced dendritic spine anomalies in a Niemann Pick disease type A mouse model / A.I. Arroyo, P. G. Camoletto, L. Morando // *EMBO Mol. Med.* – 2014. – Vol.6, № 3. – P. 398-413.
99. Ato, S. Contraction mode itself does not determine the level of mTORC1 activity in rat skeletal muscle / S. Ato. Y. Makanae, K. Kido, S. Fujita // *Physiol Rep.* – 2016. – Vol.4, №19. – P. 12976.
100. Baker, C.D. Specific requirements of nonbilayer phospholipids in mitochondrial respiratory chain function and formation. / C.D. Baker, B. Basu Ball., E.N. Pryce // *Mol. Biol. Cell.* – 2016. – Vol.27, №14. – P. 2161-2171.
101. Barany, M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening / M. Barany // *J Gen Physiol.* – 1967. – Vol.50, №6. – P. 197-218.

102. Barhwal, K. Insulin receptor A and Sirtuin 1 synergistically improve learning and spatial memory following chronic salidroside treatment during hypoxia / K. Barhwal, K.S. Das, A. Kumar // *J. Neurochem.* – 2015. – Vol.135, №2. – P. 332-346.
103. Bazán, S. Cardiolipin-dependent reconstitution of respiratory supercomplexes from purified *Saccharomyces cerevisiae* complexes III and IV. / S. Bazán, E. Mileykovskaya, V.K. Heacock // *J. Biol. Chem.* – 2013. – Vol.288, №4 – P. 401-411.
104. Bidzseranova, A. Behavioral effects of atrial and brain natriuretic peptides in rats / A. Bidzseranova, J. Gueron, G. Troth // *Neuroreport.* – 1992. – Vol.3, №3. – P. 283-285.
105. Blin, O. Effects of dimethylaminoethanol pyroglutamate (DMAE p-Glu) against memory deficits induced by scopolamine: evidence from preclinical and clinical studies / O. Blin, C. Audebert, S. Pitel // *Psychopharmacology (Berl).* – 2009. – Vol.207, №2. – P. 201-212.
106. Bordbar, A. A proteomically delivered knowledge-base of erythrocyte metabolism that can be used to stimulate its physiological and pathological states / A. Bordbar, N. Jamshidi, B. O. Pallson // *BMC Syst. Biol.* – 2001. – Vol.5, №1. – P. 108-110.
107. Bottinelli, R. Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story? / R. Botinelli // *Pflugers Arch.* – 2001. – Vol.443, № 1. – P. 6-17.
108. Bottinger, L. Phosphatidylethanolamine and cardiolipin differentially affect the stability of mitochondrial respiratory chain supercomplexes. // L. Bottinger, S.E. Horvath, T. Kleinschroth, / *J. Mol. Biol.* – 2012. – Vol.423, № 5. – P. 677–686.
109. Bourne, J. N. Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines / J.N. Bourne, K.M. Harris // *Annu Rev Neurosci.* – 2008. – Vol.31. – P. 47-67.
110. Bourne, J., Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? / J. Bourne, K.M. Harris // *Curr Opin Neurobiol.* – 2007. – Vol.17., №. 3. – P. 381-386.

111. Briyal, S. Endothelin-A receptor antagonists prevent amyloid- β -induced increase in ETA receptor expression, oxidative stress, and cognitive impairment / S. Briyal, P.K. Tan // *J. Alzheimers Dis.* – 2011. – Vol.23, № 3. – P. 491-503.
112. Bruch, R. C. Differential effect of lipid peroxidation on membrane fluidity as determined by electron spin resonance probes / R. C. Bruch, W. S. Thayer // *Biochim Biophys Acta.* – 1983. – Vol.733, № 2. – P.216-22.
113. Cao, L.H., Yang X.L. Natriuretic peptides and their receptors in the central nervous system. / L.H. Cao, X.L. Yang // *Prog. Neurobiol.* – 2008. – Vol.84, № 3. - P. 234-248.
114. Caspersen, C. Physical activity, exercise and physical fitness. Definitions and distinctions for health related research / C. Caspersen, K. E. Powell, G. M. Christensson // *Public Health Rep.* – 1985. – Vol.10, №2. – P. 126-131.
115. ChEMBL: database of bioactive drug-like small molecules [Электронный ресурс]. - URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/> (дата обращения 16.06.2017).
116. Danysz, A. The influence of 2-dimethylaminethanol (DMAE) on the mental and physical efficiency in man / A. Danysz, J. Smietanski, W. Panek // *Act Nerv Super.* – 1967. – Vol.9, №4. – P. 417.
117. Davenport, A. Hyperlactatemia and metabolic acidosis during hemofiltration using lactatebuffered fluids. / A. Davenport, E. J. Will, A. M. Davison // *Nephron.* - 1991. – Vol.59, № 3. – P. 461-465.
118. de Castro Fonseca, M. GPR91: expanding the frontiers of Krebs cycle intermediates / M. de Castro Fonseca, C.J. Aguiar, J.A. da Rocha Franco et al. // *Cell Commun Signal.* – 2016. – Vol.12, № 14. – P. 3.
119. De Kosky, S.T. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity / S.T. De Kosky, S.W. Scheff // *Ann Neurol.* 1990. – Vol.27, № 5. – P. 457-64.
120. Deacon, R.M.J. Appetitive position discrimination in the T-maze / R.M.J. Deacon // *Nature Protocols.* – 2006. – Vol.1, № 1. – P. 13-15.

121. Deen, P. M. T. Succinate receptors in the kidney / P. M. T. Deen, J. H. Robben // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2011. – Vol.22, № 8. – P.1416-1422.
122. Drachuk, O. Synthesis, structure analysis and biological activity spectrum prediction of antilactate / O. Drachuk, S. Semenov, S. Oliynyk // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2011. – Vol.1, № 2. – P. 120-124.
123. Du, C.P. Fyn kinases play a critical role in neuronal apoptosis induced by oxygen and glucose deprivation or amyloid- β peptide treatment / C.P. Du, R. Tan // *CNS Neurosci. Ther.* – 2012. – Vol.18, № 9. – P. 754-761.
124. Duan, J. Chikusetsu Saponin IVa Ameliorates Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Diabetic Mice via Adiponectin-Mediated AMPK/GSK-3 β Pathway In Vivo and In Vitro / J. Duan, Y. Jin, J. Cui // *Mol. Neurobiol.* – 2016. – Vol.53. №1. – P. 728-743.
125. Evangelista, F. S. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice / F. S. Evangelista, P. C. Brum, J. E. Krieger // *Braz J Med Biol Res.* – 2003. – Vol.36, № 12. – P. 1751-1759.
126. Ferraro, E., Exercise-induced skeletal muscle remodeling and metabolic adaptation: redox signaling and role of autophagy / E. Ferraro, A. M. Giammarioli, S. Chiandotto, I. Spoletini, G. Rosano // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2014. – Vol.21, № 1. – P. 154-171.
127. Filimonov, D.A., Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource / A.A. Lagunin, T.A. Glorizova, A.V. Rudik, D.S. Druzhilovskii, P.V. Pogodin, V.V. Poroikov // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2014. – Vol.50, № 3. – P.444-457.
128. Fourches, D. Curation of chemogenomics data / D. Fourches, E. Muratov, A. Tropsha // *Nat Chem Biol.* – 2015. – Vol.11 № 8. – P. 535.
129. Fourches, D. Trust, but Verify II: A practical guide to chemogenomics data curation. / D. Fourches, E. Muratov, A. Tropsha // *J. Chem. Inf. Model.* – 2016. – Vol. 56 № 7. – P. 1243-1252.

130. Gaitanos, G. C. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. / G. C. Gaitanos, C. Williams, L. H. Boobis, S. Brooks // *J Appl Physiol.* – 1993. – Vol. 75, № 2. – P. 712-719.
131. Genova, M.L. Functional role of mitochondrial respiratory supercomplexes / M.L. Genova, G. Lenaz // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol.1837, № 4. – P. 427-443.
132. Gilissen, J. Insight into SUCNR1 (GPR91) structure and function / J. Gilissen, F. Jouret, B. Pirotte // *Pharmacol Ther.* – 2016. – Vol.159. – P. 56-65.
133. Giurgea, C. Clinical significance of Nootropil / C. Giurgea // *Symposium UCB.* – Belgium. – 1976. – P.1-10.
134. Gundersen, K. Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: the molecular pathways of exercise / K. Gundersen // *Biol Rev Camb Philos Soc.* – 2011. – Vol.86, № 3. – P. 564-600.
135. Haidar N. E. Incorporation of [3H]ethanolamine into acetylcholine by a human cholinergic neuroblastoma clone / N. E. Haidar, M. Carrara, C. Andriamampandry // *Neurochem Res.* – 1994. – Vol.19, № 1. – P.9-13.
136. Hardy, J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics / J. Hardy, D.J. Selkoe // *Science.* – 2002. Vol.297, № 5580. – P. 353-356.
137. He, W. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors / W. He, F.J. Miao, D.C. Lin, // *Nature.* – 2004. – Vol.429, № 6988. – P. 188-193.
138. Hegedüs, L. The plasma membrane Ca^{2+} pump PMCA4b inhibits the migratory and metastatic activity of BRAF mutant melanoma cells / L. Hegedüs, T. Garay, E. Molnár // *Int J Cancer.* – 2017. – Vol.140, № 12. – P. 2758-2770.
139. Hoffmann, C. Dimethyl Fumarate Induces Glutathione Recycling by Upregulation of Glutathione Reductase / C. Hoffmann // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2017. – P. 1-8.
140. Horvath, S.E. Lipids of mitochondria / S.E. Horvath, G. Daum // *Prog. Lipid Res.* – 2013. – Vol.52, № 4. – P. 590-614.

141. Hua Zhang, L.W., Neuronal Store-Operated Calcium Entry and Mushroom Spine Loss in Amyloid Precursor Protein Knock-In Mouse Model of Alzheimer's Disease / L.W. Hua Zhang, E. Pchitskaya, O. Zaharova // *J Neurosci.* – 2015. – Vol.35, № 39. – P.13275-13286.
142. Jiang F. Absence of cardiolipin in the *crd1* null mutant results in decreased mitochondrial membrane potential and reduced mitochondrial function / F. Jiang, M.T. Ryan, M. Schlame, // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol.275, № 29. – P. 22387-22394.
143. Jornayvaz, F.R. Hepatic insulin resistance in mice with hepatic overexpression of diacylglycerol acyltransferase 2 / F.R. Jornayvaz // *PNAS.* – 2011. – Vol 3, № 14. – P. 1-5.
144. Knobloch, M. Dendritic spine loss and synaptic alterations in Alzheimer's disease / M. Knobloch, I.M. Mansuy // *Mol Neurobiol.* – 2008. – Vol.37, № 1. – P. 73-82.
145. Kostnikova, I. V. The effect of succinate combined with cytochrome C on postischemic disorders in the skeletal muscle of the extremities / I. V. Kostnikova, I. V. Ovchinnikov // *Eksp Klin Farmakol.* – 1995. – Vol.58, № 2. – P. 42-43.
146. Koffie, R.M. Alzheimer's disease: synapses gone cold / R.M. Koffie, B.T. Hyman, T.L. Spires-Jones // *Mol Neurodegener.* – 2011. – Vol.6, № 1. – P. 63.
147. Koshkin, V. Oxidative phosphorylation in cardiolipin-lacking yeast mitochondria / V. Koshkin, M.L. Greenberg, // *Biochem. J.* – 2000. – Vol.347, Pt.3. – P. 687-691.
148. Koshkin, V. Cardiolipin prevents rate-dependent uncoupling and provides osmotic stability in yeast mitochondria / V. Koshkin, M.L. Greenberg // *Biochem. J.* – 2002. – Vol.364, Pt.3. – P. 317-322.
149. Luebke, J.I. Dendritic vulnerability in neurodegenerative disease: insights from analyses of cortical pyramidal neurons in transgenic mouse models / J.I. Luebke, C.M. Weaver, A.B. Rocher, A. Rodriguez // *Brain Struct Funct.* – 2010. – Vol.214, №2-3. – P. 181-199.

150. Lang, K. S. Enhanced erythrocyte apoptosis in sickle cell anemia, thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency / K. S. Lang, B. Roll, S. Myssina, M. Schittenhelm // *Cell Physiol Biochem.* – 2002. – Vol.12, №5-6. – P. 365-372.
151. Latz, A. Swimming performance of mice as affected by antidepressant drugs and baseline levels / A. Latz, C. Kornetsky, G. Bain, M. Goldman // *Psychopharmacologia (Berl.)*. – 1966. – Vol.10, № 1. – P. 67-88.
152. Levin, E. D. Effects of nicotinic dimethylaminoethyl esters on working memory performance of rats in the radial-arm maze / E.D. Levin, J. E. Rose, L. Abood // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1995. – V. 51, № 2-3. – P. 369-373.
153. Littlewood-Evans, A. GPR91 senses extracellular succinate released from inflammatory macrophages and exacerbates rheumatoid arthritis / A. Littlewood-Evans, S. Sarret, Apfel, V. Sarret // *J Exp Med.* – 2016. – Vol.213, № 9. – P. 1655-1662.
154. Lira, V. A. PGC-1 α regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity / V. A. Lira, C. R. Benton, Z. Yan, A. Bonen // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2010. – Vol.299, № 2. – P. 145–161.
155. Lee, W.H. Role of antioxidant enzymes in redox regulation of N-methyl-D-aspartate receptor function and memory in middle-aged rats. / W. H. Lee, A. Kumar, A. Rani // *Neurobiol. Aging.* – 2014. – Vol.35, № 6. – P. 1459-1468.
156. Lehmann, M.L. NF- κ B activity affects learning in aversive tasks: possible actions via modulation of the stress axis / M. L. Lehmann, R. A. Brachman // *Brain Behav. Immun.* – 2010. – Vol.24, № 6 – P. 1008-1017.
157. Lei, C. Reactive oxygen species scavenger inhibits STAT3 activation after transient focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats / C. Lei, J. Deng, B. Wang // *Anesth. Analg.* – 2011. – Vol.113, № 1 – P. 153-159.
158. Levi, M.S. Brimble M.A. A review of neuroprotective agents / M. S. Levi, M. A. Brimble M.A. // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – Vol.11, № 11 – P. 2383-2397.

159. Li K. DSTYK kinase domain ablation impaired the mice capabilities of learning and memory in water maze test *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013. – Vol.7, № 10. – P. 6486-6492.
160. Li Y. Gastrodin improves cognitive dysfunction and decreases oxidative stress in vascular dementia rats induced by chronic ischemia / Y. Li, Z. Zhang // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. – Vol.8, № 11 – P. 14099-14109.
161. Makizako, H. Age-dependent changes in physical performance and body composition in community-dwelling Japanese older adults / H. Makizako, Shimada H., T. Doi, K. Tsutsumimoto // *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* – 2017. – Vol.8, №4. – P. 607-614.
162. Malanga, G. New insights on dimethylaminoethanol (DMAE) features as a free radical scavenger / G. Malagna // *Drug Metabolism Letters.* – 2012. – Vol.6, №1. – P. 54-59.
163. Mastaloudis, A. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but no inflammation, in ultramarathon runners / A. Mastaloudis // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2004. – Vol.36, №10. – P. 1329-1341.
164. Miller, M.W. Biological and environmental factors affecting ultrasound-induced hemolysis in vitro: 3. Antioxidant (Trolox) inclusion. 2003 / Miller M.W., Battaglia L.F. // *Ultrasound Med Biol.* – 2003. – Vol.29, №1. – P. 103-112.
165. Miller B.F. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of Kollidon VA64 dissociate its protective effects from membrane resealing after controlled cortical impact in mice / B. F. Miller, E. Keles// *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2014. – Vol.34, № 8 – P. 1347-1353.
166. Mironov, Iu. V. Effect of pyridoxine, riboflavin, potassium orotate, folic and glutamic acids on the recovery of work capacity in sexually immature rats / Iu. V. Mironov, V.S. Iasnetsov // *Farmakol Toksikol.* – 1985. – Vol.48, № 4. – P.110-112.
167. Miyazaki, S. Action potentials in the rat chromaffin cell and effects of acetylcholine / S. Miyazaki , B. L. Brandt, S. Hagiwara, Y. Kidokoro // *J Physiol.* – 1976. – Vol.263, №3. – P.417-439.

168. Mohamad, N. A. Morinda citrifolia leaf enhanced performance by improving angiogenesis, mitochondrial biogenesis, antioxidant, anti-inflammatory & stress responses / N.A. Mohamad, N.M. Mustapha, S. Mohamed // Food Chem. – 2016. – Vol.212, № 1. – P. 443-452.
169. Murphree, H. B. The stimulant effect of 2-diethylaminoethanol (DMAE) in human volunteer subjects / H. B. Murphree // Clinical Pharmacology and Therapeutics. – 1960. – Vol.103, № 1. – P. 303-310.
170. Nurmi A. Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits translocation of nuclear factor kappa-B in neurons and protects against brain ischaemia with a wide therapeutic time window // J. Neurochem. – 2004. – Vol. 91, № 3. – P. 755-765.
171. Oh, M. S. A mechanism of hypoxemia during hemodialysis Consumption of CO₂ in metabolism of acetate / M.S. Oh, J. Uribarri, M.L. Del Monte, et al. // Am. J. Nephrol. – 1985. –Vol.5, № 5. – P. 366-371.
172. Oliynyk, S. The Pharmacology of Actoprotectors: Practical Application for Improvement of Mental and Physical Performance / S. Oliynyk, S. Oh // Biomol Ther. – 2012. – Vol.20, №5. – P. 446-456.
173. Ortenblad, N. Muscle glycogen stores and fatigue / N. Ortenblad, H. Westerblad, J. Nielsen. // J Physiol. 2013. – Vol.591, Pt.18. – P. 4405-4413.
174. Periasamy, M. SERCA pump isoforms: their role in calcium transport and disease / M. Periasamy, A. Kalyanasundaram // Muscle Nerve. – 2007. – Vol.35, №4. – P. 430-442.
175. Ostrander, D.B. Lack of mitochondrial anionic phospholipids causes an inhibition of translation of protein components of the electron transport chain. A yeast genetic model system for the study of anionic phospholipid function in mitochondria / D.B. Ostrander, M. Zhang, E. Mileykovskaya, M. Rho, W. Dowhan // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol.276, № 27. – P. 25262-25272.
176. Osterweil, E. K. Hypersensitivity to mGluR5 and ERK1/2 leads to excessive protein synthesis in the hippocampus of a mouse model of fragile X syndrome / D. D. Krueger, K. Reinhold, M. F. // J Neurosci. – 2010. – Vol.30, № 46. – P. 15616-15627.

177. Patki, G. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress // *Brain Res.* – Vol.1539. – P. 73-86.
178. Penzes, P. Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders / P. Penzes, M. E. Cahill, K. A. Jones, J. E. Van Leeuwen // *Nat Neurosci.* – 2011. – Vol.14, №3. – P. 285-93.
179. Petibois, C. Biochemical aspects of overtraining in endurance sports / C. Petibois, G. Cazorla, J. R. Poortmans, G. Deleris // *Sports Med.* – 2002. – Vol.32, № 13. – P. 867-878.
180. Pette, D. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles / D. Pette, R. S. Staron // *Histochem Cell Biol.* – 2001. – Vol.115, № 5. – P. 359-372.
181. Pfeiffer, K. Cardiolipin stabilizes respiratory chain supercomplexes / K. Pfeiffer, V.M. Gohil, R.A. Stuart, C. Hunte, U. Brandt, M.L. Greenberg, H. Schagger // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol.278, № 52. – P. 52873–52880.
182. Pieralisi, G. Effects of a standardized ginseng extract combined with dimethylaminoethanolbitartrate, vitamins, minerals, and trace elements on physical performance during exercise / G. Pieralisi, P. Ripari, L. Vecchiet // *Clin Ther.* - 1991. – Vol.13, № 3. – P. 373-382.
183. Pogodin, P. V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Poroikov V.V. PASS Targets: ligand-based multi-target computational system based on public data and naïve Bayes approach / P. V. Pogodin, A. A. Lagunin, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov // *SAR and QSAR in Environmental Research.* – 2015. – Vol.26, № 10. – P. 783-793.
184. Protein Data Bank. [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.rcsb.org/pdb/> (дата обращения 01.06.2017).
185. Popugaeva, E. STIM2 protects hippocampal mushroom spines from amyloid synaptotoxicity / E. Popugaeva, E. Pchitskaya, A. Speshilova, S. Alexandrov // *Mol Neurodegener.* – 2015. – Vol.10. – P. 37.
186. Popugaeva, E. Presenilins, deranged calcium homeostasis, synaptic loss and dysfunction in Alzheimer's disease / E. Popugaeva, C. Supnet, I. Bezprozvanny //

Messenger. – 2012. – Vol.1. – P. 53-62.

187. Quan-Jun, Y. Selumetinib attenuate skeletal muscle wasting in murine cachexia model through ERK inhibition and AKT activation / Y. Quan-Jun, H. Yan, H. Yong-Long // *Mol Cancer Ther.* – 2017. – Vol.16, № 2. – P. 334-343.

188. Raja, V. The functions of cardiolipin in cellular metabolism potential modifiers of the Barth syndrome phenotype / V. Raja, M. L. Greenberg // *Chem. Phys. Lipids.* – 2014. – Vol.179. – P. 49-56.

189. Rawanduzy, A. Effective reduction of infarct volume by gap junction blockade in a rodent model of stroke // *Journal of Neurosurgery.* – 1997. – Vol.87, № 6. – P. 916-920.

190. Rehberg, K. The Serine/Threonine Kinase Ndr2 Controls Integrin Trafficking and Integrin-Dependent Neurite Growth // *J. Neurosci.* – 2014. – Vol.34, № 15 – P. 5342-5354.

191. Reynolds, C. A. Endothelin receptor A antagonism reduces the extent of diffuse axonal injury in a rodent model of traumatic brain injury // *Neurol. Res.* – 2011. – Vol.33, № 2. – P. 192-196.

192. Rolova, T. Deletion of Nuclear Factor kappa B p50 Subunit Decreases Inflammatory Response and Mildly Protects Neurons from Transient Forebrain Ischemia-induced Damage // *Aging Dis.* – 2015. – Vol.7, №4. – P. 450-465.

193. Schiaffino, S. Fibre types in skeletal muscle: a personal account / S. Schiaffino // *Acta Physiol (Oxf).* – 2010. – Vol.199, № 4. – P. 451-463.

194. Schiaffino, S. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance / S. Schiaffino, C. Reggiani // *Physiol Rev.* – 1996. – Vol.76, № 2. – P. 371-423.

195. Scondia, V. Nootropic drugs / V. Scondia // 21 Ann. Chechoslovak Psychopharmacological Meeting. – Iesenik Spa, 1979. – P. 40-54.

196. Selkoe, D. J. Alzheimer's disease is a synaptic failure // *Science.* - 2002. – Vol.298, № 5594. – P. 789-791.

197. Shenaq, M. Neuronal damage and functional deficits re ameliorated by inhibition of aquaporin and HIF1a after traumatic brain injury (TBI) // *J. Neurol.*

Sci. – 2012. – Vol.323, № 1-2. – P. 134-140.

198. Su, X. Translational regulation of nuclear gene COX4 expression by mitochondrial content of phosphatidylglycerol and cardiolipin in *Saccharomyces cerevisiae* / X. Su, W. Dowhan // *Mol. Cell Biol.* – 2006. – Vol.26, № 3. – P. 743-753.

199. Sun, G. RIP2-mediated LKB1 deletion causes axon degeneration in the spinal cord and hind-limb paralysis // *Dis. Model Mech.* – 2011. – Vol.4, № 3. – P. 193-202.

200. Sun, S. Reduced synaptic STIM2 expression and impaired store-operated calcium entry cause destabilization of mature spines in mutant presenilin mice/ S. Sun, H. Zhang, J. Liu, E. Popugaeva // *Neuron.* 2014. – Vol.82, № 1. – P. 79-93.

201. Sugawara, T. Overexpression of Copper/Zinc Superoxide Dismutase in Transgenic Rats Protects Vulnerable Neurons against Ischemic Damage by Blocking the Mitochondrial Pathway of Caspase Activation / // *J. Neurosci.* – 2002. – Vol.22, № 1. – P. 209-217.

202. Sundström, L. Succinate receptor GPR91, a G α (i) coupled receptor that increases intracellular calcium concentrations through PLC β / L. Sundström, P.J. Greasley, S. Engberg, M. Wallander, E. Ryberg // *FEBS Lett.* – 2013. - Vol. 587, №15. – P. 2399-2404.

203. Sumida, S. Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation / S. Sumida / *Int J Biochem.* – 1989. – Vol.21, № 8. – P.835-838.

204. Taber, M. T. Neurochemical, pharmacokinetic, and behavioral effects of the novel selective serotonin reuptake inhibitor BMS-505130 / M. T. Taber, R. N. Wright, T. F. Molski, W. J. Clarke // *Pharmacol Biochem Behav.* – 2005. – Vol.80, № 3. – P. 521-528.

205. Tackenberg, C. Thin, stubby or mushroom: spine pathology in Alzheimer's disease / C. Tackenberg, A. Ghori, R. Brandt // *Curr Alzheimer Res.* – 2009. – Vol.6, №3. - P. 261-268.

206. Tasseva, G. Bai. Phosphatidylethanolamine deficiency in Mammalian mitochondria impairs oxidative phosphorylation and alters mitochondrial morphology / H. D. Bai, M. Davidescu, A. Haromy, E. Michelakis // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol.288, № 6. – P. 4158-4173.
207. Tonack, S. Endogenous metabolites as ligands for G protein-coupled receptors modulating risk factors for metabolic and cardiovascular disease / S. Tonack, C. Tang, S. Offermanns // *Heart and Circulatory Physiology - American Journal of Physiology.* – 2012. – Vol.304, № 4. – P. 501-513.
208. Trepanier, C. H. Regulation of NMDA receptors by the tyrosine kinase Fyn / C. H. Trepanier, M. F. Jackson // *FEBS J.* – 2012. – Vol.279, № 1. – P. 12-19.
209. Watts, P.B. Physiology of difficult rock climbing / P.B. Watts // *European Journal of Applied Physiology.* – 2004. – Vol.91, № 4. – P. 361-372.
210. Writoban, B. B. Ethanolamine ameliorates mitochondrial dysfunction in cardiolipin-deficient yeast cells / B. B. Writoban, C. D. Baker, J. K. Neff // *The Journal of Biological Chemistry.* – 2018. – Vol.293, № 28. – P. 10870-10883.
211. Yang, L. Triggering the succinate receptor GPR91 enhances pressure overload-induced right ventricular hypertrophy / L. Yang, D. Yu, H. H. Fan // *International Journal of Clinical and Experimental Pathology.* – 2014. – Vol.7, № 9. – P. 5414-5428.
212. Yamada, K. Neuroprotective and anti-amnesic effects of NMDA antagonists / K. Yamada, T. Nabeshima // *Drug News Perspect.* – 2004. – Vol.17, № 7. – P. 435-438.
213. Younkin, S. G. Evidence that A beta 42 is the real culprit in Alzheimer's disease / S. G. Younkin // *Ann Neurol.* – 1995. – Vol.37, № 3. – P. 287-288.
214. Yu, L. Y. Insulin neuroprotection and the mechanism / L. Y. Yu, Y. Pei // *Chin. Med. J. (Engl).* – 2015. – Vol.128, № 7. – P. 976-981.
215. Yu, Z. F. Pivotal role of acid sphingomyelinase in cerebral ischemia-induced ceramide and cytokine production and neuronal apoptosis // *J. Mol. Neurosci.* – 2000. – Vol.15, № 2. – P. 85-97.

216. Zander, R. Physiology and clinical aspects of the extracellular bicarbonate pool: plea for cognizant use of HCO₃ Infusionsther // *Transfusionsmed.* – 1993. – Vol.20, № 5. – P. 217-235.
217. Zahniser, N. R., Is 2-dimethylaminoethanol (deanol) indeed a precursor of brain acetylcholine? A gas chromatographic evaluation / N. R. Zahniser, D. Chou, I. Hanin // *J Pharmacol Exp Ther.* – 1977. – Vol.200, № 3. – P. 545-59.
218. Zs-Nagy, I. Age-dependent decrease of the lateral diffusion constant of proteins in the plasma membrane of hepatocytes as revealed by fluorescence recovery after photobleaching in tissue smears / I. Zs-Nagy, K. Kitani, M. Ohta, V. Zs-Nagy, K. Imahori // *Arch Gerontol Geriatr.* – 1986. – Vol.5, № 2. – P. 131-46.
219. Zhang, M. Gluing the respiratory chain together. Cardiolipin is required for supercomplex formation in the inner mitochondrial membrane / M. Zhang, E. Mileykovskaya, W. Dowhan // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol.277, № 46. – P. 43553–43556.