



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **146444** (13) **U**
(51) МПК (2021.01)
A61K 31/00
A61P 43/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 04800	(72) Винахідник(и): Гуменюк Микола Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 27.07.2020	(73) Володілець (володільці): ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "М.Т.К.", вул. М. Амосова, буд. 10, м. Київ, 03680 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 25.02.2021	(74) Представник: Якобчук Олена Миколаївна, реєстр. №268
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 24.02.2021, Бюл.№ 8	

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ У ЛЮДИНИ ТА ПОЛІПШЕННЯ СТАНУ ЛЮДИНИ ПРИ СИНДРОМІ АСТЕНІЇ

(57) Реферат:

Спосіб підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини, яка зазнає фізичних навантажень, та поліпшення стану людини при синдромі астенії, що включає введення людині фармацевтичної композиції, що має таку лікарську форму як оральний розчин, фармацевтична композиція містить як активні компоненти аргініну аспартат та левокарнітин, містить такі допоміжні компоненти як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант і воду. Причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для підвищення толерантності до фізичних навантажень, поліпшення стану при синдромі астенії.

UA 146444 U

UA 146444 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до способів підвищення у людини толерантності до фізичних навантажень, та поліпшення стану людини при синдромі астенії.

Астенія (інші назви - астенічний стан, астенічний синдром, астенічна реакція, астенодепресивний синдром, астеноневротичний синдром) - патологічний стан, що проявляється такими симптомами як підвищена стомлюваність і виснаження із вкрай нестійким настроєм, ослаблення самовладання, нетерплячість, непосидючість, порушення сну, неспроможність до тривалого розумового і фізичного напруження, непереносимість гучних звуків, яскравого світла, різких запахів. Астенічний стан може бути конституційно зумовлений (психопатії астенічного типу), але може виникнути при недостатньому харчуванні, вітамінній недостатності, надмірному фізичному і психічному навантаженні, при судинних, органічних, ендокринних захворюваннях, а також у період реконвалесценції перенесених інфекцій, інтоксикацій, травм. Для астенічного стану характерна афективна лабільність, підвищена збудливість, яка змінюється безсиллям (дратівливою слабкістю), гіперестезія - загострена чутливість до звукових, світлових, тактильних подразників. Часто виникають головний біль і порушення сну (підвищена сонливість вдень і безсоння вночі), а також різка зміна самопочуття, що залежить від зміни погоди. Для астенічного стану, який розвинувся внаслідок різних органічних захворювань, характерні легкі порушення пам'яті, переважно погіршується запам'ятовування поточних подій. Астенічні розлади розвиваються поволі, наростаючи у своїй інтенсивності. Іноді першими проявами астенічного стану є підвищена стомлюваність і дратівливість, які поєднуються з нетерпимістю і постійним прагненням до діяльності, навіть в обстановці, сприятливій для відпочинку. У тяжких випадках астенічні розлади можуть супроводжуватися пасивністю, адинамією. Клінічна картина астенічного стану має особливості й залежить від причин, які його викликали: Астенічний стан після соматичних захворювань набуває характеру емоційно-гіперестетичної слабкості, при якій стомлюваність і афективна лабільність поєднуються з непереносимістю емоційного напруження. Після перенесеної черепно-мозкової травми астенічний стан проявляється дратівливою слабкістю, головним болем, ментизмом (наплив думок) і вегетативними порушеннями. При ендокринопатії астенічний стан виражається підвищеною стомлюваністю, виснаженістю, млявістю. Астенічний стан при шизофренії проявляється перевагою психічної виснаженості й невідповідності останньої зі ступенем розумового напруження. При атеросклерозі основними ознаками астенічного стану є різко виражена стомлюваність, дратівлива слабкість, зі зниженням настрою та слізливістю. При артеріальній гіпертензії астенічний стан набуває характеру "втоми, що не знає спокою". При прогресивному паралічі спостерігається поєднання підвищеної стомлюваності з легким ступенем оглушення (обнубіляції). Для корекції астенічних станів залежно від їх походження необхідне лікування, спрямоване на основне захворювання, повноцінне харчування і сон; за показаннями можливе застосування актопротекторів, ноотропних препаратів, психостимуляторів, адаптогенів, полівітамінних препаратів.

У хворих також спостерігають дратівливу слабкість, що виражається підвищеною збудливістю і швидко наступаючим за нею виснаженням, афективну лабільність з переважанням зниження настрою з рисами примхливості і невдоволення, а також слізливістю. Цей синдром є проявом різноманітних порушень.

Астенія виникає в результаті виснаження, захворювань внутрішніх органів, інфекційних хвороб, розладів імунної системи, анемії, ендокринних (гормональних) порушень, інтоксикацій, побічних ефектів лікування деякими медикаментами, емоційних, розумових і фізичних перенапруг, при неправильно організованій праці, відпочинку, харчуванні, а також при нервових і психічних хворобах.

Відомий спосіб лікування астенічного синдрому (патент RU № 2463045 С1, опубл. 10.10.2012), в якому для лікування астенічного синдрому у людини людині призначають лікарський засіб, що є композицією, яка містить цитофлавін 2,0 мл і 5 мл новокаїну шляхом інтерстиціальної ін'єкції в задню область шиї субокципітально. Недоліком відомого способу лікування астенічного синдрому є лікарська форма лікарського засобу - інтерстиціальна ін'єкція, тому для введення лікарського засобу шляхом інтерстиціальної ін'єкції необхідний кваліфікований медичний персонал.

Сучасна спортивна наука вимагає розробки і використання адекватного фармакологічного забезпечення для прискорення процесів адаптації до надінтенсивних фізичних навантажень, стимуляції фізичної працездатності, особливо в спорті вищих досягнень, профілактики перетренованості і спортивного травматизму. При величезному різноманітті існуючих засобів фармакологічної підтримки фізичної працездатності необхідна їх систематизація і знання механізмів впливу і основних точок докладання.

Фармакологія спортивної медицини (або спортивна фармакологія) є відносно новим, але

дуже активно прогресуючим в останні роки напрямком клінічної та експериментальної фармакології. Цілями спортивної фармакології є розробка, вивчення та практичне впровадження лікарських засобів (ЛЗ) і дієтичних добавок (ДД) для підвищення адаптації спортсменів до надінтенсивних фізичних навантажень, а одним з основних завдань цієї дисципліни - виявлення та корекція факторів, що лімітують фізичну працездатність спортсменів.

В даний час система підготовки в спорті, особливо вищих досягнень, характеризується виключно високими тренувальними і змагальними навантаженнями, які супроводжуються високим рівнем емоційного стресу. Цілком природно, що такі високі навантаження є найпотужнішим чинником мобілізації функціональних резервів організму, стимуляції інтенсивних адаптаційних процесів, підвищення витривалості, сили, швидкісних здібностей і, природно, зростання спортивних результатів. При цьому важлива роль в підвищенні фізичної працездатності, запобіганні втоми і прискоренні процесів відновлення після фізичних навантажень належить раціональному харчуванню.

Відомий спосіб підвищення працездатності та фізичної витривалості людини (патент RU № 2642673 C1, опубл. 25.01.2018), який полягає у тому, що людині вводять композицію, яка містить вітамін А, вітамін Е, бурштинову кислоту, сухий екстракт гуарани і шоколадну масу у певному співвідношенні. Недоліком відомого способу підвищення фізичної витривалості людини є низька ефективність зазначеної композиції у випадку значних фізичних навантажень у людини - наприклад, якщо людина зазнає фізичних навантажень у спорті.

Задачею запропонованої корисної моделі є удосконалення способу підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини, яка зазнає фізичних навантажень, та поліпшення стану людини при синдромі астенії, розширення арсеналу і асортименту лікарських засобів для підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини та для поліпшення стану людини при синдромі астенії, збільшення ефективності медикаментозного впливу на людину з метою поліпшення толерантності до фізичних навантажень у людини та поліпшення стану людини при синдромі астенії.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини, яка зазнає фізичних навантажень, та поліпшення стану, згідно з корисною моделлю, вводять фармацевтичну композицію, що має таку лікарську форму як оральний розчин, фармацевтична композиція містить як активні компоненти аргініну аспартат та левокарнітин, містить такі допоміжні компоненти як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант і воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	180-320
левокарнітин	50-150
коригент рН, який є підкислювачем	1,5-6,0
підсолоджувач	0,4-1,2
консервант	0,5-2,0
вода	до 1 мл,

причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для підвищення толерантності до фізичних навантажень, поліпшення стану при синдромі астенії.

Вводять фармацевтичну композицію, що містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	240-300
левокарнітин	80-120
коригент рН, який є підкислювачем	2,5-4,5
підсолоджувач	0,6-1,0
консервант	1,0-1,5
вода	до 1 мл.

Вводять фармацевтичну композицію, що містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	264
левокарнітин	100
коригент рН, який є підкислювачем	3

підсолоджувач 0,8
консервант 1
вода до 1 мл.

Фармацевтична композиція містить як коригент рН, який є підкислювачем, яблучну кислоту. Фармацевтична композиція містить як підсолоджувач сахаринат натрію.

Фармацевтична композиція містить як консервант метилпарагідроксибензоат або пропілпарагідроксибензоат або суміш метилпарагідроксибензоату та пропілпарагідроксибензоату.

Фармацевтична композиція містить як воду - воду для ін'єкцій.

Фармацевтична композиція має щільність 1,1 г/мл, рН розчину 5-6,5, динамічну в'язкість при 20 °С 2,5 сП.

Вводять фармацевтичну композицію людині, що зазнає фізичних навантажень у спорті.

Станом людини при синдромі астенії є стан, який виникає після перенесеного людиною захворювання.

Фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є добовою дозою 20-40 мл.

Такий компонент як підсолоджувач коригує смакові властивості фармацевтичної композиції - завдяки наявності у складі фармацевтичної композиції певного співвідношення яблучної кислоти та підсолоджувача досягається прийнятний для переважної більшості людей смак. Переважним варіантом є застосування як підсолоджувача такої речовини як сахаринат натрію (інша назва - сахарин натрію), який приблизно у 500 разів солодший за цукор.

Такий компонент як консервант надає розчину фармацевтичної композиції стабільності. Як консервант може бути використаний метилпарагідроксибензоат та/або пропілпарагідроксибензоат.

Вміст допоміжних речовин підібраний з урахуванням задачі досягнення великої концентрації активних компонентів та задачі досягнення стабільності розчину.

Аргінін у фармацевтиці часто застосовують у формі такої солі як аргініну аспартат, надалі у тексті під терміном "аргінін" буде розумітись саме така форма аргініну як аргініну аспартат.

Запропонована фармацевтична композиція є прозорим розчином, лікарська форма для застосування - оральний розчин. Спосіб виготовлення фармацевтичної композиції показано далі у прикладах 1-20.

Приклад 1

Фармацевтичну композицію виготовляють шляхом змішування у воді інших компонентів фармацевтичної композиції.

У реактор з нержавіючої сталі наливають 180 літрів нагрітої до 80 °С води для ін'єкцій. У реактор завантажують 0,08 кг метилпарагідроксибензоату і 0,02 кг пропілпарагідроксибензоату, та перемішують до повного розчинення. Потім рідину у реакторі охолоджують до температури 40 °С. Потім у реактор додають 36 кг аргініну аспартату та інтенсивно перемішують протягом певного часу до отримання прозорого розчину. Потім в реактор завантажують 10 кг левокарнітину і інтенсивно перемішують протягом певного часу до отримання прозорого розчину. Потім в реактор завантажують 0,3 кг яблучної кислоти та перемішують до повного розчинення. Потім у реактор завантажують 0,08 кг сахаринату натрію і перемішують до розчинення компонентів та отримання прозорого розчину. Потім у реактор додають воду для ін'єкцій, доводячи об'єм розчину до 200 літрів. Отриманий розчин охолоджують, насичують азотом до залишкової кількості кисню не більше 300 ppm, після чого розчин фільтрують через мембранний фільтр. Після фільтрації розчин розливають в скляні або полімерні контейнери (пляшки).

Приклад 2

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргініну аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучної кислоти у кількості 0,6 кг, сахаринату натрію у кількості 0,13 кг, метилпарагідроксибензоату у кількості 0,1 кг та пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

Приклад 3

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучної кислоти у кількості 0,9 кг, сахаринату натрію у кількості 0,18 кг, пропілпарагідроксибензоату у кількості 0,3 кг.

Приклад 4

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргініну аспартат у кількості 36 кг та

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 58 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучної кислоти у кількості 1,2 кг, сахаринату натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоату у кількості 0,4 кг.

5 Приклад 17

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 10 кг, яблучної кислоти у кількості 0,7 кг, сахаринату натрію у кількості 0,14 кг, пропілпарагідроксибензоату у кількості 0,1 кг.

10 Приклад 18

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучної кислоти у кількості 0,9 кг, сахаринату натрію у кількості 0,18 кг, метилпарагідроксибензоату у кількості 0,2 кг.

15 Приклад 19

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучної кислоти у кількості 1,1 кг, сахаринату натрію у кількості 0,22 кг, пропілпарагідроксибензоату у кількості 0,3 кг.

20 Приклад 20

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучної кислоти у кількості 1,2 кг, сахаринату натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоату у кількості 0,4 кг.

25 Виготовлення фармацевтичної композиції можливо також іншими способами.

Для вивчення фармацевтичної ефекту від застосування запропонованої фармацевтичної композиції за корисною моделлю було проведено низку досліджень.

30 Для вивчення таких властивостей як токсичність та терапевтичний ефект при лікуванні різних захворювань, було проведено низку доклінічних та клінічних досліджень. Далі у тексті надано дизайн проведених досліджень та результати проведених досліджень. Фармацевтична композиція надалі у тексті буде скорочено називатись ФК.

Для вивчення токсичності ФК було проведено наступне дослідження.

Завданням дослідження було вивчення параметрів гострої токсичності ФК, розчину для орального застосування, при внутрішньошлунковому введенні щуром обох статей (самцям, самицям).

У завдання дослідження входило:

- визначення класу гострої токсичності ФК на щурах обох статей при внутрішньошлунковому введенні;

40 - визначення класу гострої токсичності сухої суміші субстанцій ФК на щурах обох статей при внутрішньошлунковому введенні.

При виявленні летальності розрахувати LD₅₀ ФК, сухої суміші субстанцій.

Методи дослідження: токсикологічні, лабораторні, патоморфологічні і статистичні.

Об'єктом дослідження були: ФК, розчин для орального застосування; плацебо (розчинник); суха суміш субстанцій;

45 Дослідження проведене відповідно до Методичних рекомендацій по експериментальному (доклінічному) вивченню нових лікарських засобів (2001 р.), Наказом № 944 Державні Експертні центри МЗ України, і відповідає вимогам Good Laboratory Practice (GLP) - Належної лабораторної практики (НЛП).

Тестовані об'єкти:

50 1. ФК, розчин для орального застосування. Склад: діючі речовини левокарнітин, L - аргініну аспартат. 1 мл розчину містить 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату. Допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

55 2. Плацебо (розчинник). Склад: кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

3. Суха суміш субстанцій ФК, розчину для орального застосування. Склад суміші: на 368,8 г, що відповідає 1000 мл ФК у вигляді розчину для орального застосування: діючі речовини: левокарнітин - 100 г, аргініну аспартату - 264 г; допоміжні речовини: кислота яблучна - 3,0 г, сахаринат натрію - 0,8 г, метилпарагідроксибензоат (E218) - 0,8 г, пропілпарагідроксибензоат (E216) - 0,2 г.

Акліматизація і утримання тварин.

Тривалість акліматизаційного періоду для тварин склала 14 днів. Впродовж цього періоду проводили щоденний огляд кожної тварини (загальний стан, захворюваність). Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в дослідження, були розподілені по групах за допомогою методу рандомізації по масі. Тварин, які не відповідали критеріям включення в дослідження, - були виключені з експерименту.

Тварин містили в окремій кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря +20-24 °С, вологість 45-65 %, світловий режим "12 годин день/ніч", в стандартних пластикових клітинах по 6 голів в кожній. Догляд за тваринами проводився відповідно до Науково-методичних рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. - К.: Авіцена, 2002. - 156 с.

Тварини мали вільний доступ до води. Для питва використали відстояну водопровідну воду із скляних напувалок. Як корми використали гранульований повнораціонний комбікорм ТМ "ГОРА"(відповідає ТУ.У15.7-2123600159-001: 2007).

З тваринами поводитись відповідно до правил "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і наукових цілей".

Спостереження за тваринами.

Впродовж дослідження кожна тварина піддавалася щоденному огляду, який включав оцінку загальної поведінки і стану тварин. Патологічні утворення, що зорозвояються, підлягали пальпації.

Досліди по вивченню гострої токсичності проводили на нелінійних безпородних білих щурах обох статей масою тіла 200±20 г, вік тварин - 13-15 тижнів. Всього в експерименті використані 210 щурів. Усіх тварин поділили на групи по 12 особин (6 самців, 6 самиць). Кожній тварині був присвоєний індивідуальний номер. До початку експерименту тварин нумерували наскрізною нумерацією від 1 до 210. Групи були сформовані методом випадкового відбору з використанням маси тіла як провідної ознаки (розкид по початковій масі між і усередині груп не перевищував 10 %). Дизайн дослідження представлений в таблиці 1.

Таблиця 1

№ з/п	Групи тварин	Доза ТЗ	Кількість робочого розчину, мл/кг	Кількість тварин в групі	
				самці	самиці
Вивчення гострої токсичності ФК					
1	Інтактний контроль	-	-	6	6
2	Негативний контроль(розчинник)	40 мл/кг	-	6	6
3	Тест-зразок (ФК)	40 мл/кг	-	6	6
Вивчення гострої токсичності сухої суміші субстанцій ФК					
4	Тест-зразок (суха суміш субстанцій, які входять до складу ФК), мг/кг	15000	100	6	6
5		20000	100	6	6
6		30000	100	6	6
7		35000	100	-	6
8		40000	100	6	6
9		50000	100	6	6
10		60000	100	6	6
Вивчення гострої токсичності окремих субстанцій діючих речовин ФК					
11	Субстанція левокарнітину, мг/кг	14000	20	6	6
12		18000	20	6	6
13		20000	20	6	6
14		22000	20	6	6
15	Субстанція L-аргініну аспартату, мг/кг	25000	20	6	6
16		30000	20	6	6
17		32500	20	6	6
18		35000	20	6	6

Тваринам дослідних груп зразки вводили в об'ємі по 2 мл / 100 г маси за одно введення і через 2 години між введеннями. Відразу після введення за тваринами спостерігали за проявами інтоксикації (у разі їх виникнення). Реєстрували характер дихання, рухової активності, наявність/відсутність судом, блювоти, діареї, офтальмологічні, серцево-судинні симптоми, саливацію, пилоерекцію, тонус м'язів. До їди тварин допускали через 2 години після останнього введення тестового зразка (далі скорочено ТЗ), до води доступ був вільний.

Спостереження за тваринами вели впродовж 14 діб. Перед початком досліду і на 3, 7 і 14 добу реєстрували масу тіла тварин. На підставі відсотка загибелі тварин в кожній групі залежно від дози, що вводиться, розраховували середні летальні дози LD₅₀ за допомогою методу Кербера (Доклінічні дослідження лікарських засобів(методичні рекомендації) / За ред. Стефанова О.В. - вид. дім "Авіцена", 2001. - 527 с.).

На 14-й день усіх тварин, які вижили, виводили з експерименту під інгаляційним наркозом. При розтині тварин проводили макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів. Визначали абсолютну масу серця, печінки, селезінки, легенів, нирок, надниркових залоз, насінників і

тимуса. Коефіцієнт маси (КМ) - відносну масу органів, розраховували по формулі:

$$KM_{орган} = \frac{M_{орган}}{M_{тварини}} \times 100\%$$

Досліджена гістологічна структура печінки, нирок, легенів, міокарду, тимуса, селезінки, надниркових залоз, підшлункової залози, стравоходу, шлунка, тонкої і прямої кишки, яєчок, яєчників щурів через 14 днів після внутрішньошлункового введення розчину ФК в дозі 40 мл/кг порівняно з гістологічною структурою аналогічних органів щурів, яким вводили плацебо (розчинник) в дозі 40 мл/кг (негативний контроль), і інтактними тваринами.

Отримані при розтині зразки органів фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої фортеці, заливали в парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum. Фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz з по потужністю програми Tour View.

Отримані первинні дані оброблені за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з використанням параметричних критеріїв порівняння кількісних показників (дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) і непараметричних критеріїв (метод Крускала-Волліса, критерій Манна-Уїтні), для порівняння якісних змінних використали критерій χ^2 [4, 5]. Перед використанням параметричних критеріїв проводилася перевірка гіпотези на нормальність розподілу випадкових величин з використанням тесту Левен).

Для множинних порівнянь був прийнятий рівень значущості $p < 0,050$. При застосуванні непараметричних методів порівняння використали поправку Бонферроні, відповідно до якої рівень значущості склав $p < 0,0250$. Для проведення математичних розрахунків використали стандартний пакет статистичних програм "Statistica 6.0".

Вплив ФК на виживаність білих щурів.

ФК, розчин для орального застосування, і плацебо (розчинник) вводили внутрішньошлунково 2-кратно по 2 мл/ 100 г тварини протягом одного дня з інтервалом 2 години. В сумі об'єм ТЗ, що вводяться, склав 40 мл/кг. Через 20-30 хвилин після першого введення ТЗ у тварин спостерігали зниження рухової активності, що, очевидно, пов'язано з великим об'ємом введених розчинів. Ці ознаки зникали через 1 годину, і надалі стан тварин не відрізнявся від стану тварин в групі ІК. Повторне введення розчинів тваринам також викликало аналогічні ознаки, які зникали через 1 годину.

Подальші спостереження впродовж 14 днів свідчили про те, що усі тварини були активними, мали задовільний апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі. Були відсутні ознаки порушення дихання, судом не спостерігали.

За увесь період спостереження ні в одній з експериментальних груп не відмічали загибелі тварин. Результати дослідження летальності після внутрішньошлункового введення ТЗ щурам обох статей (таблиця 2).

Таблиця 2

Групи тварин	Доза, мл/кг ваги	Летальний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин в групі	
		самці	самиці
Інтактний контроль	-	0/6	0/6
Негативний контроль (розчинник)	40	0/6	0/6
Розчин ФК	40	0/6	0/6

Відповідно до методичних рекомендацій, важливим показником є маса тіла тварин, зміна якої характеризує вираженість токсичної дії ЛС. Відповідно до отриманих даних в усіх дослідних групах спостерігалася позитивна динаміка маси тіла та результати впливу ТЗ на динаміку маси

(г) тіла щурів, $n=6(M\pm m)$ наведено в таблиці 3. Приріст маси не відрізнявся від приросту в групі ІК як у самців, так і у самиць щурів.

Таблиця 3

Термін	рапова	Інтактний контроль	Негативний контроль(розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Самці				
рапова		0,0047	0,0007	0,1899
Початковий	0,9770	201±6	199±6	200±6
3 день	0,6916	208±7 $P1N^{-K}=0,4608$	201±5 $P1N^{-K}=0,8108$	202±6 $P1N^{-K}=0,8707$
7 день	0,8723	217±7 $P1N^{-K}=0,1996$	213±4 $P1N^{-K}=0,1532$	213±8 $P1N^{-K}=0,4458$
14 день	0,2314	236±6 $P1N^{-K}=0,0042$	230±5 $P1N^{-K}=0,0013$	220±8 $P1N^{-K}=0,2285$
Самиці				
рапова		0,0506	0,9418	0,0471
Початковий	0,9418	190±5	192±6	193±5
3 день	0,7859	198±6 $p1NK=0,4470$	193±5 $p1N^{-K}=0,9929$	198±6 $p1N^{-K}=0,5916$
7 день	0,1290	203±6 $p1NK=0,3701$	193±4 $p1NK=0,9101$	208±5 $p1N^{-K}=0,2200$
14 день	0,1072	218±10 $p1NK=0,0381$	196±6 $p1NK=0,9392$	218±8 $p1N^{-K}=0,0482$

Примітка:

$pANOVA$ - рівень статистичної значущості між експериментальними групами або в кожній експериментальній групі (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA)

$p1N^{-K}$ - рівень статистичної значущості відносно результату (критерій Ньюмена-Кейлса)

n - кількість тварин в кожній групі.

- 5 Аналіз показників коефіцієнтів маси внутрішніх органів тварин свідчить про відсутність токсичного впливу розчину ФК і плацебо при гострому передозуванні. Коефіцієнти маси внутрішніх органів знаходяться в межах фізіологічної норми і не відрізняються статистично значимо від показників тварин з групи ІК. Результати впливу ТЗ на коефіцієнти маси (%) внутрішніх органів щурів самців та самиць, $n=6$, $M(Mmin+Mmax)$ наведено в таблицях 4, 5.

Таблиця 4

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль(розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Печінка	0,7508	3,57 (3,18^3,84)	3,46 (2,84+3,45)	3,48 (2,97+3,87)
Нирки	0,7508	0,60 (0,53^0,65)	0,61 (0,63+0,70)	0,62 (0,50+0,66)
Серце	0,3722	0,31 (0,27^0,34)	0,31 (0,35+0,37)	0,34(0,33+0,40)
Легені	0,2359	0,55 (0,45^0,63)	0,79 (0,63+1,02)	0,74 (0,57+1,05)
Селезінка	0,7777	0,42 (0,31+0,61)	0,43 (0,35+0,56)	0,43 (0,31^0,55)
Надниркові залози	0,5034	0,022 (0,016+0,027)	0,020 (0,013+0,027)	0,023 (0,016^0,031)
Тимус	0,5225	0,133 (0,069+0,238)	0,103 (0,068+0,167)	0,111 (0,079^0,144)
Насінники	0,1190	1,05 (0,94+1,31)	1,13 (0,92+1,38)	1,17 (1,05^1,32)

Примітка:
pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
n - кількість тварин в кожній групі.

Таблиця 5

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Печінка	0,2501	3,43 (3,08: 3,92)	3,20 (2,84:3,45)	3,48 (2,97-3,87)
Нирки	0,0387	0,62 (0,52:0,67)	0,67 (0,63^0,70) p2M-U=0,0931	0,60 (0,50-0,66) p2M-U=0,4849
Серце	0,1979	0,34 (0,35^0,37)	0,36 (0,35^0,37)	0,36 (0,32-0,40)
Легені	0,6758	0,78 (0,58^0,86)	0,79 (0,63-1,02)	0,74 (0,57-1,05)
Селезінка	0,7378	0,49 (0,37^0,66)	0,46 (0,31-0,55)	0,44 (0,33-0,57)
Надниркові залози	0,9308	0,036 (0,020:0,044)	0,034 (0,021-0,047)	0,036 (0,028^0,046)
Тимус	0,9942	0,137 (0,096^0,195)	0,128 (0,071-0,160)	0,129 (0,053^0,202)

Примітка:
pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
p2M-U - рівень статистичної значущості відносно групи ІК (критерій Крускала-Волліса);
n - кількість тварин в кожній групі.
Результати макроскопічного дослідження.

У тварин дослідних груп (№ 1-3) стан шерстного покриву, слизових оболонок природних

отворів не відрізнялося від таких щурів інтактно́ї групи і групи тварин, яким вводили плацебо.

Фекальні маси сформовані, анус і вхід в піхви не забруднені, яєчка розміщені в мошонці, рухливі. При розтині у всіх щурів розміщення органів середостіння, грудний і черевний порожнини відповідає нормальному. Тимус дещо варіює за розміром, сіро-рожевого кольору.

5 Серце звичайної конфігурації і розміру, з типовим розташуванням коронарних артерій і вен. Поверхня епікарду без особливостей, міокард на розрізі щільний. Легені виконують усю плевральну порожнину, блідо-рожеві, повітряні, без спайок між листками плеври. Загрудинні лімфовузли не збільшені. Очеревина прозора, гладка. У черевній порожнині стороннього вмісту не знайдено. Печінка рівномірного червоно-коричневого кольору, капсула не напружена, краї
10 доль не закруглені. Поверхня органу гладка. Підшлункова залоза без ознак крововиливів, склерозу, жирових некрозів, блідо-рожевувато-жовтуватого кольору, у вигляді рихлого тяжа, що слабо галузиться, розсіяна уподовж шлунково-селезінкової зв'язки. Селезінка повнокровна, червоно-вишневого кольору.

Капсула нирок легко знімається, на розрізі органу чітко видно щільні, зі збереженням
15 малюнком шари. Надниркові залози без особливостей. Зачервні лімфовузли не збільшені. Слизова оболонка залізистого відділу шлунка з характерним рельєфом складок, нормального кольору, без геморагій, набряку, ерозійних ушкоджень. Слизова оболонка тонкого і товстого кишечника звичайна за кольором, вміст відповідає відділам. Яєчка, придатки яєчок, передміхурова залоза, насінні бульбашки у самців щурів, роги матки і яєчники у самиць щурів
20 без патології. Сечовий міхур невеликий, стінка його тонка.

Патоморфологічне дослідження внутрішніх органів щурів.

При гістологічному дослідженні встановлено, що печінка щурів через 14 днів після введення розчину ФК і плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг не відрізнялися по структурі від печінки інтактних тварин.

25 Межа між печінковими часточками змащена, зони порталних трактів (тріад) вузькі, радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів збережена.

Ознак, характерних для функціональної напруги, активації або пригнічення гепатоцитів - змін розмірів і локалізації ядер, чисельності ядерців в ядрі, стану хроматинової субстанції не виявлено. Популяція двоядерних гепатоцитів, стан мікроциркуляторного русла візуально не
30 змінені, не відмічено підвищення апоптозу, мітотичної активності, активації клітин Купфера.

Нирки. За станом ниркових клубочків і системи звитих і прямих каналців у дослідних і контрольних щурів були порівнянні. Ниркові клубочки помірно варіювали за розміром, щільність розташування їх звичайна. Просвіт капсули вільний, ядерна насиченість гломерулярних капілярів, чіткість малюнка капілярної мережі помірна. Епітелій проксимальної і дистальної
35 частини каналців нефронів без змін, рівень розпушеності апікальних відділів клітин порівнянний. Канальці мозкового шару звичайного вигляду.

Міокард зберігав звичайну гістологічну структуру. Серцево-м'язові волокна рівномірно забарвлені, досить щільно розташовані. У кардіоміоцитах поперечна покреслена міофібрил, що займають усю вільну від ядра саркоплазму, виражена помірно. Ядра довгасто-округлої форми,
40 нормохромні. Міжпучкові простори невеликі. Судини венозного типу часто повнокровні, стромальна клітинна реакція невидима.

У респіраторному відділі легень дослідних і контрольних щурів альвеолярний малюнок паренхіми чіткий. Ознак альвеолярного набряку, збільшення клітинної насиченості міжальвеолярних перегородок не відмічено. Лімфоцитарна реакція в стромі альвеолярного
45 дерева у всіх щурів в межах норми. Епітелій бронхів і бронхіол інтактний.

Гістологічна структура тимуса у дослідних щурів практично не відрізнялася від такої у контрольних тварин. Часточки добре сформовані, щільність розташування лімфоцитів в корі і медулі нормальна. Тимічні тільця дрібні і нечисленні. У багатьох щурів в обох групах відмічали помірний малюнок "зоряного неба".

50 У селезінці лімфоїдні вузлики звичайні за розміром і чисельністю, в них чітко видно періартеріальну Т-залежну і маргінальну В-залежну зони, гермінативні центри. У червоній пульпі визначалися численні еритроцити і ядерні форми клітин.

Надниркові залози дослідних щурів зберігали властиву їм гістологічну структуру. Ознак змін гістологічних характеристик, що свідчать про зміну продукції мінерало- і глюкокортикоїдів,
55 порівняно з контрольними мікропрепаратами не відмічено. У мозковому шарі функціональний стан нейроендокриноцитів (хромафінних клітин) помірно варіює у фізіологічно нормальних межах, синуси повнокровні.

У підшлунковій залозі чітко помітні екзо- і ендокринна частини.

60 Екскреторні залізисті клітини ацинусів з характерним двузональним забарвленням цитоплазми, співвідношення якої у дослідних і контрольних щурів співпадає. Острівцевий

апарат представлений панкреатичними острівцями різного розміру, рівномірно і досить щільно заповненими інсуліноцитами.

У стравоході усіх досліджених щурів структура багат шарового ороговілого епітелію не порушена, не виявлені ознаки роздратування в стромі слизової оболонки і в підслизовому шарі.

5 У слизовій оболонці дослідженої області шлунка (зона дна) після введення розчину ФК в дозі 40 мл/кг десквамативні процеси в покривному епітелії відсутні, ямковий епітелій звичайний. Власні залози шлунка прямі, довгі, з типовим розташуванням головних, обкладочних і слизових клітин.

10 У порожній кишці стан ворсинок слизової оболонки звичайний. Епітеліальні клітини, що вистилають ворсинки і кишкові крипти, не змінені, келихоподібні клітини достатні за чисельністю, знаходяться на різній стадії вироблення секрету.

Слизова оболонка прямої кишки в усіх експериментальних щурів вистилає кубічним одношаровим епітелієм з чіткою кутикулярною облямівкою, значним вкращенням келихоподібних клітин. Ядра епітеліальних клітин розташовані на одному рівні, кишкові крипти 15 помірно глибокі, зона митозів в них обмежена областю дна. Лімфоїдна клітинна насиченість стромы слизової оболонки помірна.

Насінники у усіх самців на момент дослідження без патологічних змін. Стрічка сперматогенного епітелію досить широка, містить 3-5 рядів статевих клітин, які розташовані правильними концентричними шарами, відповідно із стадіями статевого циклу. Простежені усі 20 етапи сперміогенезу і сперматогенезу. Клітини Сертолі і клітини Лейдига візуально не змінені.

У яєчниках самоць щурів дослідної і контрольних груп чітко були видимі яєчні фолікули різних етапів розвитку, жовті тіла. Видимих на світлооптичному рівні змін в стані і чисельності яєчних фолікулів і жовтих тіл після введення ФК і його плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг не відмічені.

25 На підставі отриманих макро- і мікроскопічних даних можна зробити висновок, що внутрішньошлункове введення ФК і плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг через 14 днів не призводило до помітних змін в гістологічній структурі вивчених внутрішніх органів щурів у порівнянні з інтактним контролем.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що ФК і плацебо (розчинник) при 30 внутрішньошлунковому введенні в дозі 40 мл/кг лабораторним щурам (самцям і самицям) не викликає загибелі, не впливає на фізіологічні процеси тварин. По класифікації токсичності речовин ФК відноситься до VI класу токсичності відносно безпечні речовини, LD₅₀ яких більше 15 мл/кг.

Оскільки точне значення LD₅₀ готової лікарської форми ФК встановити не вдалося, визначення параметрів середньо смертельної дози проводили за вмістом діючих речовин в препараті. Для цього брали ряд доз сухої суміші субстанцій ФК, які вводили тваринам в однаковому об'ємі (100 мл/кг). У зв'язку з великим об'ємом отримані розчини вводили тваринам 35 дробово 5 разів протягом доби в максимально допустимому об'ємі для щурів - за одне введення по 2 мл/ 100 г тварини з перервами між введеннями по 2 години. Через 10-20 хвилин після 40 першого введення досліджуваних доз у тварин спостерігали зниження рухової активності. Друге і третє введення у тварин викликало переповнювання шлунка, фекальні маси м'які, несформовані, після чого починався пронос і діарея. Четверте і п'яте введення робили посилюючу дію на загальний стан тварин - відкрита форма проносу, діарея, слиз, мокрий і брудний хвіст. Зі збільшенням дози тварини слабшали швидше, спостерігали посилення 45 виражених токсичних ефектів, що у результаті призводило до загибелі тварин. У самців летальність наставала в діапазоні 30 000-60 000 мг/кг, у самоць 40 000-60 000 мг/кг Смертність у тварин спостерігалася на 1-у добу після введення ФК. Дослідження летальних ефектів сухої суміші субстанцій ФК при внутрішньошлунковому введенні щурам представлені в таблиці 6.

50

Таблиця 6

№ з/п	Групи тварин	Доза, мг/кг ваги	Розчин, мл/кг ваги	Кількість загиблених тварин/кількість тварин в групі	
				самці	самиці
4	Суша суміш субстанцій, які входять до складу ФК	15 000	100	0/6	0/6
5		20 000	100	0/6	0/6
6		30 000	100	2/6	0/6
7		35 000	100	-	0/6
8		40 000	100	5/6	5/6
9		50 000	100	6/6	6/6
10		60 000	100	6/6	6/6

5 Подальше спостереження за тваринами, що вижили, виявило поступове відновлення у тварин усіх фізіологічних процесів - на 3-14 добу тварини були активними, мали задовільний апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі, порушення дихання і судом не спостерігали.

Результати впливу сухої суміші субстанцій ФК на динаміку маси (г) тіла самців і самиць щурів, n=6, M±m представлені в таблицях 7 і 8.

10

Таблиця 7

Термін	Суша суміш субстанцій ФК, мг/кг ваги					
	15 000	20 000	30 000	40 000	50 000	60 000
Самці						
рапова	0,2686	0,2326	0,3946	0,2523	-	-
Початковий	196±8	198±7	196±5	193±5	193±7	197±5
3 день	193±4	191±4	185±5	180	-	-
7 день	199±6	194±6	195±10	175	-	-
14 день	214±9	215±13	203±6	210	-	-

Примітка:

pANOVA - рівень статистичної значущості в кожній експериментальній групі (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA)

p1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату(критерій Ньюмена-Кейлса)

n - кількість тварин в кожній групі.

Результати впливу сухої суміші субстанцій ФК на динаміку маси(г) тіла самиць щурів, n=6, M±m представлені в таблиці 8.

Таблиця 8

Термін	Суха суміш субстанцій ФК, мг/кг ваги						
	15 000	20 000	30 000	35 000	40 000	50 000	60 000
anova	0,8629	0,0050	0,3816	0,2465	0,6161	-	-
Початковий	192±4	195±6	196±6	196±8	193±5	193±5	196±6
3 день	188±5	184±5	187±6	191±7	175	-	-
7 день	184±10	196±5	193±6	209±8	190	-	-
14 день	192±9	215±6	203±8	210±8	195	-	-

Примітка:

pANOVA - рівень статистичної значущості в кожній експериментальній групі (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA)

p1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату(критерій Ньюмена-Кейлса)

n - кількість тварин в кожній групі.

Результати дослідження показали, що введення ФК і плацебо (розчинник) в максимальній дозі 40 мл/кг не викликає загибелі тварин, не призводить до статистично значимих змін відносної маси внутрішніх органів щурів обох статей. Гістологічні дослідження підтверджують відсутність токсичної дії ФК і плацебо на внутрішні органи при введенні ФК в токсичних дозах. При введенні максимальних доз як сухої суміші субстанцій ФК, так і окремих складових субстанцій ФК спостерігалася загибель тварин, що дозволило розрахувати середні летальні дози. Середня летальна доза сухої суміші субстанцій ФК для самців склала 33 333 мг/кг, для самиць - 38 750 мг/кг. Середня летальна доза субстанції аргініну аспартату для самців щурів склала 29 792 мг/кг, для самиць - 30 833 мг/кг, субстанції левокарнітину для самців і самиць - 17 833 мг/кг

Введення сухої суміші субстанцій ФК у великих дозах викликало у тварин розлад функції ШКТ, що у свою чергу призводило до обезводнення організму і втрати маси. На третю добу маса тварин знизилася в усіх групах самців і самиць в порівнянні з початковою, через 7 днів маса тварин відновлювалася і до кінця терміну спостереження перевищувала початкові значення.

Отримані результати летальностей дозволили розрахувати середні смертельні дози LD₅₀. Для самців LD₅₀ склала 33 333 мг/кг, LD₅₀ для самиць - 38 750 мг/кг

Таким чином, суміш субстанцій ФК при внутрішньошлунковому введенні лабораторним щурам (самцям і самицям) не викликає загибелі, не впливає на фізіологічні процеси тварин. По класифікації токсичності речовин суміш субстанцій ФК належить до VI класу токсичності - відносно безпечні речовини, LD₅₀ яких більше 15 мг/кг.

Задачею наступних досліджень було вивчення можливих токсичних ефектів лікарського засобу в умовах повторного введення впродовж 28 днів.

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, фізіологічні, біохімічні, патоморфологічні і статистичні.

Об'єктом дослідження була ФК, розчин для орального застосування, 1 мл розчину містить активних речовин: 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату, допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

Це дослідження проведене з метою виявити фізіологічні і структурні зміни, викликані тривалим введенням ФК, розчину для орального застосування, при внутрішньошлунковому введенні (з вивченням впливу на ШКТ) в дослідах на щурах обох статей і визначити залежність цих змін від дози.

У завдання дослідження входило:

1) вивчення токсичних ефектів ФК, розчину для орального застосування, в дозах 2 і 20 мл / кг ваги на щурах (самці, самки);

2) вивчення впливу ФК на стан ШКТ в умовах тривалого введення.

Дослідження проведене відповідно до Методичних рекомендацій по експериментальному (доклінічному) вивченню нових лікарських засобів (2001 р.), Наказу № 944 Державні Експертні центри МЗ України, і відповідає вимогам Good Laboratory Practice (GLP) - Належної

лабораторної практики (НЛП).

Досліди по вивченню підгострої токсичності проводили на 48 нелінійних безпородних білих щурах обох статей масою тіла 170-210 г, вік тварин - 3,5-4 міс. Усіх тварин розділили на 4 групи по 12 особин (6 самців, 6 самиць).

При експериментальному дослідженні на моделі гострої асфіксії у щурів встановлено, що найбільшу і практично однакову за вираженістю активність ФК проявляє в дозах 1 і 2 мл/кг ваги. Для вивчення токсичних ефектів ФК була вибрана доза 2 мл/кг як умовнотерапевтична, визначена в експериментальному дослідженні і близька до дози, перерахованої з дози для людини, і доза 20 мл/кг, яка перевищує умовнотерапевтичну в 10 разів. Згідно з методичними рекомендаціями по вивченню токсичності при повторних введеннях термін введення ФК склав 28 діб (експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів/ В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг// Методичні рекомендації. - Київ, 2000. - 74-97 с.).

Для повнішої оцінки токсичної дії розчину ФК досліди проводили при внутрішньошлунковому введенні. Досліджуваний зразок вводили щурам один раз на добу. Для того, щоб оцінити токсичну дію активних і допоміжних речовин ФК, на окремій групі тварин був вивчений розчинник (плацебо) - група № 2 (6 самців і 6 самиць). Дизайн дослідження та розподіл тварин по групах при токсикологічному дослідженні ФК представлений в таблиці 9.

Таблиця 9

Експериментальні групи		Доза, мл/кг ваги	Номери тварин	
			самці	самиці
1	Інтактний контроль	-	1-6	7-12
2	Плацебо (розчинник)	20	13-18	19-24
3	Тест-зразок	2	25-30	31-36
4	Тест-зразок	20	37-42	43-48

У цьому експерименті вивчали фізіологічні показники, морфологічні і біохімічні параметри крові, сечі тварин.

Фізіологічні методи дослідження включали щоденні спостереження за поведінкою тварин, загальним станом, споживанням їжі і води, реєстрацію маси тіла в динаміці. Стан електрофізіологічної активності міокарда оцінювали методом електрокардіографії, функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) - в тесті "Відкрите поле".

Масу тіла тварин оцінювали в динаміці: початкова і через 7, 14, 21 і 28 днів. Вплив досліджуваного об'єкта на стан ЦНС щурів визначали з використанням тесту "Відкрите поле" у кінці терміну введення (28 днів) по руховій (кількість перетинів квадратів), орієнтовно-дослідницький (кількість заглядань в нірки, кількість стойок) і емоційній активності (кількість уринацій, дефекацій, умивань). За інтегральним показником "Сума активностей" оцінювали в цілому вплив на ЦНС.

Вивчення впливу ФК на стан серцево-судинної системи (ССС) тварин проводили у кінці терміну введення (28 день) за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03 М2.

ЕКГ реєстрували у тварин в II стандартному відведенні. При розшифровці електрокардіограм враховували наступні показники: RR - тривалість повного серцевого циклу; тривалість інтервалу PQ, поширення збудження, що характеризує час, по передсерддю; тривалість шлуночкового комплексу QRS і електричної систоли шлуночків - інтервалу Q-T; вольтаж зубців P, T і R; розраховували частоту серцевих скорочень (60/RR, уд./хв., систолічний показник (СП, QT/RR %), що відображає скорочувальну функцію міокарда.

У периферичній крові визначали концентрацію гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, підраховували процентне співвідношення різних форм лейкоцитів (паличкоядерні і сегментоядерні нейтрофіли, лімфоцити, еозинофіли, моноцити). Кров у щурів брали з хвостової вени у кінці терміну введення (28 день).

Концентрацію гемоглобіну в крові визначали гемоглобінціанідним методом (набір фірми "Филисит-діагностика", Україна), еритроцити визначали колориметричним методом, лейкоцити - в камері Горяєва, лейкоцитарну формулу підраховували за допомогою лічильника формених елементів СЛ- 01 загальноприйнятим методом (Лабораторні дослідження в клініці / під ред. В.В. Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 365 с.).

Вплив досліджуваного засобу на функціональний стан печінки оцінювали по ряду біохімічних показників крові. За допомогою наборів "PLIVA-Lachema Diagnostica sro" (Чехія) вимірювали активність аланін- і аспартатамінотрансферази (АЛТ і АСТ) - ферментативно- фотометричним методом в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином; холестерин, ЛПВЩ і ЛПНЩ - ферментативним методом (Biosystems, Іспанія). За допомогою наборів "Филисит-діагноста" (Україна) визначали рівень глюкози глюкозооксидазним методом, загального білка - біуретовим методом, концентрацію креатиніну - по реакції з пікриною кислотою (метод ґрунтований на реакції Яффі); концентрацію сечовини - уреазним методом (Biosystems, Іспанія), хлоридів - фотометричним методом за допомогою набору фірми "Филисит-діагностика" (Україна).

Здатність згущуватися крові визначали методом Альтгаузена. Відомо, що час згортання крові залежить від зміщень протромбінового часу, вмісту іонів кальцію, фібриногену, коливань фібринолітичної активності, структурно-функціональних особливостей ряду інших чинників про- і антикоагулянтної дії, а також формених елементів крові.

Тому в плазмі крові визначали протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), активний частковий тромбіновий час (АЧТЧ) на коагулограми за допомогою наборів фірми РЕНАМ (Росія). Концентрацію фібриногену визначали методом Рутберга.

Для оцінки секреторної функції каналців нирок використали 2,5 % навантаження водою. Після внутрішньошлункового введення води (2,5 мл/100 г маси) щурів поміщали на 3 години в індивідуальні клітини для збору сечі.

Кількість сечі (мл), що виділилася, розраховували на 100 г маси тварин за 1 годину. Визначали концентрацію сечовини, креатиніну і хлоридів в перерахунку на об'єм зібраної сечі (мкмоль/3 години). Реакцію сечі (рН) визначали за допомогою діагностичних смужок ("PLIVA-Lachema Diagnostica sro", Чехія), щільність сечі - ваговим методом.

Тварин виводили з експерименту під легенею хлороформним наркозом, розтинали і оцінювали макроскопічний стан внутрішніх органів і систем (серце, легені, печінка, нирки, селезінка, надниркові залози, яєчка, тимус, насінники/яєчники, стравохід, шлунок, товста і пряма кишка). Визначали абсолютну масу внутрішніх органів (серце, легені, печінка, нирки, селезінка, надниркові залози, яєчка, тимус, насінники) для обчислення коефіцієнтів маси (КМ) за формулою (1):

$$KM_{\text{органа}} = (m_{\text{органа}} / m_{\text{тварини}}) \times 100 \% (1).$$

Зразки тканин серця, тимуса, легенів, печінки, селезінки, нирок, надниркових залоз, підшлункової залози, насінників/яєчників піддавали гістологічному дослідженню. Також було вивчено вплив ТЗ на слизову оболонку ШКТ (стравохід, шлунок, товста і пряма кишка). Як норму розглядали аналогічні органи тварин з групи інтактного контролю.

Зразки тканин фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і заливали в целоїдин-парафін. Гістологічні препарати забарвлювали гематоксиліном і еозином, огляд проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень проводили за допомогою цифрового фотоапарата Nikon Col Pix 4500. Фотографії обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою Nikon View 5.

Для реєстрованих змінних приводили описову статистику: для кількісних показників - розмір вибірки (n), середнє арифметичне, стандартна помилка (m); для змінних, які не підлягають закону нормального розподілу, - розмір вибірки (n), середнє арифметичне, мінімальне (Min) і максимальне значення (Max); для якісних показників - частоту і частку у відсотках. Для кількісних показників проводили перевірку гіпотези про нормальний розподіл даних в групах за допомогою тесту Левен. Якщо дані в групах за певними показниками були розподілені нормально, то дослідні групи порівнювали з контрольною за цими показниками за допомогою критерію Ньюмена-Кейлса ($p < 0,050$) для незалежних вибірок. У разі ненормального розподілу використали критерій Крускала-Волліса (аналог дисперсійного аналізу для непараметричних даних) і критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонферроні ($p < 0,00167$).

Після введення досліджуваного засобу тварини знаходилися під постійним наглядом експериментатора. У тварин ознак інтоксикації не відмічали. Вони були активними, без ознак агресії, характер і поведінка індивідуальні для кожної тварини. Процеси дефекації і сечовипускання були в нормі. Тварини підходили до їжі, приймали її охоче.

При пальпації у усіх дослідних тварин новоутворень не виявлено. Регіональні лімфовузли не збільшені, яєчка розташовані в мошонці, рухливі, розмір мошонки обмежений розміром яєчок. Загибелі тварин не було відмічено. Виживаність лабораторних щурів після внутрішньошлункового введення ФК представлені в таблиці 10.

Таблиця 10

Експериментальні групи		Доза, мл/кг	Викликаний ефект, загиблі тварини/кількість тварин	
			самці	самиці
1	Інтактний контроль	-	0/6	0/6
2	Плацебо (розчинник)	20	0/6	0/6
3	Розчин ФК	2	0/6	0/6
4	Розчин ФК	20	0/6	0/6

Важливим показником токсичної дії препаратів є маса тіла тварин. Динаміка маси тіла білих щурів під впливом ФК представлена в таблиці 1.3.

Після 28 днів спостереження в групі самців, яким вводили розчин ФК в різних дозах, відмічений приріст маси тіла щурів відносно початковою на 19 %, в інтактній групі - 23 %, в групі ПК - на 24 %. Статистично значимі відмінності з групою ІК відсутні.

У групах самиць, яким вводили розчин ФК в дозах 2 і 20 мл/кг також відмічений приріст маси тіла відносно початковою на 14 % і 12 % відповідно, в інтактній групі - 15 %, в групі ПК - на 12 %.

Статистичний аналіз також не виявив достовірних відмінностей з групою ІК. Вплив ФК при внутрішньошлунковому введенні на масу тіла (г) щурів ($M \pm m$) представлений в таблиці 11.

Таблиця 11

Терміни дослідження	anova	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) р 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
1	2	3	4	5	6
Самці					
р динаміка		0,0004	0,0058	0,0095	0,0063
Початкове стан	anova=0,9942	184±6	185±8	187±7	186±7

Продовження таблиці 11

1	2	3	4	5	6
7 днів	panova=0,9904	193±5 p1NK=0,3582	195±7 P1NK=0,4157	193±7 P1NK=0,5841	193±7 P1NK=0,4806
14 днів	panova=0,6827	200±5 p1NK=0,1972	212±9 P1NK=0,0894	205±8 P1NK=0,2093	202±7 P1NK=0,2246
21 день	panova=0,7732	215±6 p1NK=0,0099	223±9 P1NK=0,0228	217±8 P1NK=0,0401	212±6 P1NK=0,0474
28 днів	panova=0,8867	227±9 p1NK=0,0007	229±10 p1NK=0,0097	223±8 p1NK=0,0173	221±6 p1NK=0,0075
Самиці					
р динаміка		0,0041	0,0027	0,0242	0,0001
Початкове стан	panova=0,9905	193±4	191±4	192±5	191±3
7 днів	panova=0,8487	201±5 p1NK=0,2394	197±4 P1NK=0,3087	198±5 P1NK=0,5058	196±3 P1NK=0,1870
14 днів	panova=0,9797	206±5 p1NK=0,1516	205±4 P1NK=0,0467	204±6 P1NK=0,3330	203±2 P1NK=0,0064
21 день	panova=0,9247	213±6 P1NK=0,0280	211±5 P1NK=0,0078	213±7 P1NK=0,0831	209±2 P1NK=0,0004
28 днів	panova=0,5777	221±5 p1NK=0,0033	213±4 p1NK=0,0059	219±7 p1NK=0,0290	214±2 p1NK=0,0001

Примітка:

panova - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)

р динаміка - рівень статистичної значущості відмінностей усередині експериментальної групи в динаміці (дисперсійний аналіз ANOVA)

p1NK - рівень статистичної значущості відмінностей при порівнянні з початковими показниками (критерій Ньюмана-Кейлса)

n - кількість тварин в групі.

Таким чином, у тварин усіх експериментальних груп спостерігали позитивну динаміку приросту маси тіла. Статистично достовірні відхилення від відповідних показників інтактного і негативного контролю були відсутні як у самців, так і у самиць.

5 У таблиці 12 представлені дані про вплив досліджуваного засобу і його розчинника на функціональний стан ЦНС щурів.

При порівнянні поведінкових реакцій досліджуваних груп самців (таблиця 12) з показниками відповідних груп ІК через 28 діб введення ТЗ в різних дозах відмінності не мали достовірного характеру. Вплив ФК на показники функціонального стану ЦНС щурів самців M(Mmin÷Mmax),
10 n=6 представлений в таблиці 12.

Таблиця 12

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Кількість перетинів	0,9560	11,50 021)	9,17 017)	7,50 012)	8,50 016)
Кількість вертикальних стойок	0,2581	1,17 02)	1,50 04)	1,17 03)	0,33 01)
Кількість обстежених отворів	0,2746	7,33 011)	5,67 09)	4,16 08)	6,67 010)
Кількість дефекації	0,0334	1,33 03)	0,33 (0 [^] 1) p2M-U=0,2403	2,33 (1 [^] 4) p2M-U=0,2403	0,67 02) p2M-U=0,3939
Кількість уринацій	0,0521	0,33 02)	0,17 01)	1,17 03)	0,00 00)
Кількість умивань	0,5538	0,00 00)	0,17 01)	0,17 01)	0,00 00)
Сума показників емоційної активності	0,0069	1,67 03)	0,67 02) p2M-U=0,3095	3,67 06) p2M-U=0,0649	0,67 02) p2M-U=0,2403
Сума активностей усіх	0,7599	21,67 (11 [^] 32)	17,00 030)	16,50 027)	16,17 025)

Примітка:

pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(критерій Крускала-Волліса);

p2M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні $p < 0,00167$);

n - кількість тварин в групі.

5

Результати дії ФК на функціональний стан ЦНС самиць щурів при тривалому введенні приведені в таблиці 13. Відповідно до отриманих даних, у самиць під дією ТЗ впродовж 28 днів в дозі 2 і 20 мл/кг спостерігали статистично значиме зменшення кількості вертикальних стойок і незначне зниження кількості обстежених нірок. Отримані дані свідчать про деяке зниження дослідницької активності ФК. Найбільш виражені зміни були зафіксовані в групі тварин, яким вводили ФК в дозі 20 мг/кг ваги (таблиця 13). Проте, на суму активності виявлені зміни не вплинули, що дозволяє зробити висновок про відсутність токсичної дії ФК на самиць щурів.

Вплив розчину ФК на показники функціонального стану ЦНС щурів самок M(Mmin÷Mmax), n=6 представлений в таблиці 13.

Таблиця 13

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Кількість перетинів	0,4236	18,67 (11-24)	15,50 (6-31)	12,50 (5-23)	12,83 (5-24)
Кількість вертикальних стопок	0,0354	5,50 (2-8)	3,17 (1-7) p2M-i=0,0931	2,67 (0-5) p2M-U 0,0649	1,33 (0-5) p2M-U 0,0152
Кількість обстежених отворів	0,0771	8,33 (2-18)	5,83 (3-8)	6,17 (3-11)	3,17 (0-7)
Кількість дефекацій	0,3184	1,17 (0-3)	2,17 (0-6)	1,33 (0-4)	3,33 (0-6)
Кількість уринацій	0,4224	0,83 (0-2)	0,33 (0-1)	0,17 (0-1)	0,83 (0-2)
Кількість умивань	0,4329	0,00 (0-0)	0,17 (0-1)	0,33 (0-1)	0,50 (0-2)
Сума показників емоціональної активності	0,2608	2,00 (0-4)	2,67 (0-7)	1,83 (0-4)	4,67 (0-7)
Сума активностей усіх	0,2124	34,50 (29-42)	27,17 (15-45)	23,17 (15-37)	22,00 (13-37)

Примітка:

pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);

p2M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ГИК(критерій Манна-Уїтні p<0,00167);

n - кількість тварин в групі.

5 Таким чином, внутрішньошлункове введення ФК і його розчинника впродовж 28 днів не чинило нейротоксичної дії на самців і самок щурів.

Результати вивчення впливу розчину ФК на гематологічні показники представлені в таблицях 14 і 15.

10 З даних, наведених в таблиці 12, видно, що в усіх дослідних групах щурів самців введення розчину ФК в двох дозах і його розчинника викликало помірне тривале збільшення кількості еритроцитів і вміст гемоглобіну в порівнянні з групою ІК, проте показники не виходили за межі фізіологічної норми. Це може свідчити про еритропоетичну дію ФК. Вплив ФК на гематологічні показники у щурів самців (M±m), M(Mmin÷Mmax), n=6 наведено у таблиці 14.

Лейкоцитарна формула у піддослідних тварин не відрізнялася від такої в групі ІК. Патологічних зрушень не відмічено.

Таблиця 14

Показники	раnova/ pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Гемоглобін, г/л	pk-U=0,0020	137,30±3,35	148,52±2,23 p1M-U=0,0260	154,38±1,51 p1M-U=0,0022	145,10±0,88 p1M-U=0,2403
Еритроцити, 1012 /л	pk-u=0,0023	4,96±0,02	5,27±0,04 p1M-U=0,0029	5,22±0,05 p1M-U=0,0078	5,08±0,08 p1M-U=0,1307
Лейкоцити, 109 /л	0,2306	17,50±1,28	15,92±1,34	19,63±1,54	19,29±1,33
Лейкоцитарна формула %					
Нейтрофіли паличкоядерні	pk-u=0,9164	0,33 (0-1)	0,50 (0-1)	0,33 (0-1)	0,33 (0-1)
Нейтрофіли сегментоядерні	pk-u=0,9073	10,83 (8-13)	12,17 (7-21)	13,33 (8-23)	13,00 (8-20)
Еозинофіли	pk-U=0,4854	2,50 (0-6)	2,83(1-5)	3,67 (2-6)	2,83 (0-7)
Лімфоцити	pk-u=0,8119	83,83 (79-89)	82,00 (74-87)	80,50 (69-86)	82,67 (72-89)
Моноцити	pk-u=0,8377	2,50 (1-4)	2,50 (1-5)	2,17 (1-4)	1,67 (0-3)

Примітка:

раNOVA/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

p1M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні $p < 0,00167$);

n - кількість тварин в групі.

Вплив ФК на гематологічні показники у щурів самиць ($M \pm m$), M ($M_{min} \div M_{max}$), n=6 наведено в таблиці 15.

Таблиця 15

Показники	anova/ pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Гемоглобін, г/л	anova= 0,9807	133,54±3,91	133,37±3,64	131,76±2,04	132,81±3,31
Еритроцити, 10 ¹² /л	anova=0,1906	5,11±0,03	5,23±0,03	5,20±0,06	5,24±0,06
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	anova=0,6366	16,83±1,22	17,54±0,85	16,04±2,21	18,63±1,10
Лейкоцитарна формула %					
Нейтрофіли паличкоядерні	pk-u=0,6426	0,17 (0=1)	0,33 (0=1)	0,67 (0=2)	0,50 (0=2)
Нейтрофіли сегментоядерні	pk-u=0,1094	11,00 (7=16)	10,00 (6=12)	10,33 (7=14)	13,67 (10=16)
Еозинофіли	pk-u=0,3408	1,33 (0=4)	3,00(1=6)	3,00 (1=6)	2,00 (0=3)
Лімфоцити	Pk-u=0,4163	85,17 (78=89)	84,50 (80=88)	83,50 (77=91)	81,67 (79=87)
Моноцити	Pk-u=0,9746	2,33 (1=3)	2,17 (0=4)	2,50 (1=4)	2,17 (0=3)

Примітка:

рANOVA/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)

n - кількість тварин в групі.

З даних, наведених в таблиці 15, видно, що у самиць усіх дослідних груп статистично значимих змін кількості еритроцитів, лейкоцитів, а також вміст гемоглобіну по відношенню до контрольних показників не встановлено. Лейкоцитарна формула у піддослідних тварин не відрізнялася від такої в групі ІК. Патологічних зрушень не відмічено.

Визначення потенційної гепатотоксичності досліджуваних об'єктів в дозах 2 і 20 мг/кг впродовж тривалого введення здійснювали по загальноприйнятому спектру показників, які широко застосовуються в лабораторній практиці і дають можливість скласти уявлення про стан відносно обміну білків, ліпідів, вуглеводів, системи гемостазу, синтетичної функції печінки, а також оцінити специфічний ензимологічний спектр.

Результати досліджень, наведені в таблицях 16 і 17 свідчать про відсутність негативного впливу ФК і плацебо на показники функціонального стану печінки. Вплив ФК на біохімічні показники сироватки крові щурів самців (M±m), n=6 наведено в таблиці 16.

Рівень загального білка в сироватці крові впродовж експерименту не змінювався ні у самців, ні у самиць, що свідчить про відсутність негативного впливу ТЗ на білоксинтетичні процеси в печінці. Про збереження на фізіологічному рівні цілісності гепатоцитів свідчать нормальні рівні амінотрансфераз.

Таблиця 16

Показники	раnova/ pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Загальний білок, г/л	pk-u=0,1033	69,14±1,54	69,92±1,59	68,75±3,34	74,74±0,91
АСТ мккат/л	раnova=0,7692	0,64±0,02	0,66±0,02	0,65±0,03	0,63±0,02
АЛТ, мккат/л	раnova=0,2799	0,35±0,02	0,35±0,02	0,42±0,04	0,37±0,02

Примітка:
 раNOVA/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
 n - кількість тварин в групі.

Вплив ФК на біохімічні показники сироватки крові щурів самиць (M±m), n=6 наведено в таблиці 17.

Таблиця 17

Показники	раnova/ pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Загальний білок, г/л	раnova=0,1005	72,72±1,54	70,63±1,36	74,22±0,56	74,67±1,51
АСТ, мккат/л	pk-u=0,8435	0,62±0,02	0,61±0,02	0,60±0,00	0,61±0,02
АЛТ, мккат/л	раnova=0,8495	0,27±0,02	0,29±0,02	0,28±0,03	0,30±0,02

Примітка:
 раNOVA/pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
 n - кількість тварин в кожній групі.

- 5 Для поглибленої характеристики стану загальнотрофічних процесів досліджували показники гемостазу за допомогою загальних (час згортання) і специфічних методів (АЧТЧ), протромбіновий час, тромбіновий час, фібриноген), які дають диференціальну картину можливих змін в системі гемостазу при тривалому застосуванні ФК, що дозволяє припустити тенденцію до гіпер- або гіпокоагуляції в цілому.
- 10 Результати наведені в таблицях 18 і 19.
 Встановлено, що тривале введення розчину ФК в різних дозах не впливає на час згортання і АЧТЧ у самців і самок. Для виявлення порушень активності факторів згортання і для оцінки функції печінки були вивчені протромбіновий і тромбіновий час. Вони залишалися в межах фізіологічної норми як у самців, так і у самиць, що свідчить про відсутність впливу на активність тромбіну. Рівень фібриногену в плазмі крові коливався в рамках фізіологічних значень як у самців, так і у самиць. Вплив лікарського засобу ФК на показники гемостазу у щурів самців, (M±m), n=6 наведено в таблиці 18.
- 15

Таблиця 18

Показники	раnova	Інтактний Контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Час згортання, с	раnova=0,1016	154,67±17,52	96,17±14,69	118,33±18,78	87,83±25,17
АЧТЧ, с	раnova=0,0748	18,20±1,18	20,82±0,56	22,60±1,55	21,20±0,96
Протромбіновий час, с	раnova=0,6034	16,10±0,37	16,53±0,90	17,35±0,62	16,53±0,64
Тромбіновий час, с	раnova=0,0927	23,18±0,71	25,97±1,47	21,75±3,38	29,03±1,67
Фібриноген, г/л	раnova=0,5593	2,26±0,40	2,29±0,57	1,78±0,15	1,67±0,30

Примітка:
 рANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)
 n - кількість тварин в групі.
 Вплив ФК на показники гемостазу у щурів самиць, (M±m), n=6 наведено в таблиці 19.

Таблиця 19

Показники	раnova/ pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Час згортання, з	раnova=0,4256	110,33±12, 75	139,00±8,59	116,00±18,31	112,33±12,36
АЧТВ, з	pk-u=0,1808	21,55±1,27	22,63±1,96	24,12±2,12	25,73±0,33
Протромбіновий час, з	раnova=0,0109	14,15±0,41	15,23±0,70 p2nk=0,2808	12,18±0,90 p2NK=0,0579	15,54±0,67 p2nk=0,3479
Тромбіновий час, з	раnova=0,1848	25,88±1,63	29,02±2,79	33,50±4,39	33,76±1,65
Фібриноген, г/л	раnova=0,5601	2,11±0,22	1,67±0,20	1,74±0,27	1,74±0,25

Примітка:
 рANOVA/pk-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)
 p2NK - рівень статистичної значущості відмінностей при порівнянні з групою ІК (критерій Ньюмана-Кейлса)
 n - кількість тварин в групі.

Згідно з отриманими результатами (таблиці 18 і 19), у тварин, яким внутрішньошлунково вводили розчин ФК в дозах 2 і 20 мл/кг і плацебо впродовж 28 днів, змін з боку показників

гемостазу не виявлено. Усі вивчені показники (час згортання, АЧТЧ, протромбіновий і тромбіновий час, фібриноген) у самців і самиць знаходилися в інтервалі значень груп інтактного контролю.

Таким чином, можна зробити висновок, що щоденне внутрішньошлункове введення ФК і плацебо не викликає порушень в системі згортання.

У таблицях 20 і 21 наведені результати аналізу показників вуглеводного і ліпідного обмінів, які також характеризують функціональний стан печінки. За вмістом глюкози в крові робили орієнтовний висновок про стан процесів, задіяних в метаболізмі вуглеводів, стан ліпідного обміну оцінювали за вмістом загального холестерину, ЛПВЩ і ЛПНЩ. Вплив ФК на біохімічні показники ліпідного і вуглеводного обмінів щурів самців в сироватці крові, $n=6(M \pm m)$ наведено у таблиці 20.

Таблиця 20

Показники	рanova/ рk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Глюкоза, ммоль/л	рanova=0,1'761	4,34±0,32	4,32±0,08	4,74±0,19	4,01±0,23
Холестерин, ммоль/л	рanova=0,6958	2,69±0,12	2,54±0,14	2,72±0,11	2,84±0,29
ЛПВЩ, ммоль/л	рk-u=0,4295	1,29±0,02	1,18±0,06	1,28±0,10	1,24±0,14
ЛПНЩ, ммоль/л	рanova=0,8046	0,63±0,17	0,55±0,15	0,56±0,05	0,75±0,21

Примітка:

рANOVA/рK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)

n - кількість тварин в групі.

Аналіз даних (таблиці 20 і 21) свідчить, що у щурів самців і самиць тривале введення розчину ФК в обох дозах і плацебо не викликає змін вказаних показників ліпідного і вуглеводного обмінів. Значення знаходилися у рамках меж показників групи ІК.

Вплив ФК на біохімічні показники ліпідного і вуглеводного обмінів щурів самиць в сироватці крові ($M \pm m$), $n=6$ наведено в таблиці 21.

Таблиця 21

Показники	p _{anova}	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Глюкоза, ммоль/л	p _{anova} =0,2861	5,69±0,26	5,68±0,22	5,93±0,29	5,14±0,37
Холестерин, ммоль/л	p _{anova} =0,5209	2,87±0,28	2,46±0,29	2,81±0,18	2,42±0,30
ЛПВЩ, ммоль/л	p _{anova} =0,7233	1,42±0,09	1,28±0,12	1,38±0,02	1,31±0,12
ЛПНЩ, ммоль/л	p _{anova} =0,2761	0,83±0,25	0,51±0,14	0,60±0,13	0,35±0,13

Примітка:

pANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)

n - кількість тварин в групі.

10 Таким чином, досліджуваний ФК і плацебо при внутрішньошлунковому застосуванні не робить токсичного впливу на обмін речовин у щурів.

Результати вивчення функціональної активності нирок на тлі введення досліджуваних об'єктів, представлені в таблицях 22 і 23.

15 Згідно з отриманими результатами, внутрішньошлункове введення розчину ФК і плацебо щурам (самцям і самицям) впродовж 28 днів не робило істотного впливу на видільну функцію нирок. Усі вивчені показники не відрізнялися достовірно від таких відповідних контрольних груп.

Вплив ФК на показники функціонального стану нирок у щурів самців ($M \pm m$), $n=6$ наведено в таблиці 22.

Таблиця 22

Показники	panova/ pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Діурез, мл/100 г	panova=0,6175	2,21±0,16	2,42±0,42	2,12±0,23	2,60±0,25
pH сечі	panova=0,0678	6,33±0,21	7,00±0,25	7,33±0,21	6,67±0,33
Щільність сечі, мг/мл	panova=0,2615	1,012±0,002	1,014±0,001	1,010±0,002	1,010±0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/3 години	pK-U=0,8414	5,42±1,02	4,95±0,37	4,39±0,73	4,58±0,42
Креатинін сироватці, ммоль/л ^В	panova=0,1172	0,124±0,007	0,127±0,004	0,134±0,002	0,117±0,003
Екскреція сечовини, мкмоль/3 години	panova=0,3605	154,18±19,64	210,33±20,95	215,26±40,74	170,27±26,42
Сечовина сироватці, ммоль/л ^В	pK-U=0,2145	6,10±0,32	6,90±0,44	7,45±0,70	7,49±0,47
Екскреція хлоридів, мкмоль/3 години	panova=0,4777	10,33±2,48	9,18±2,72	10,37±1,93	14,13±2,09
Хлориди сироватці, ммоль/л ^В	panova=0,6489	100,4±2,13	103,9±2,68	100,6±2,12	101,6±1,57

Примітка:

panova/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
n - кількість тварин в групі.

Вплив ФК на показники функціонального стану нирок у щурів самиць (M±m), n=6 наведено в таблиці 23.

Таблиця 23

Показники	panova/ Pк-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин "Тиворель" 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Діурез, мл/100г	panova=0,8514	1,40±0,19	1,60±0,17	1,48±0,26	1,62±0,19
pH сечі	panova=0,5139	6,67±0,33	7,17±0,31	6,67±0,21	7,00±0,26
Щільність сечі, мг/мл	pK-U=0,3267	1,021±0,003	1,016±0,004	1,017±0,001	1,015±0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/3 години	panova=0,5677	3,02±0,44	2,27±0,61	3,09±0,89	2,03±0,50
Креатинін сироватці, ммоль/л ^В	panova=0,1507	0,125±0,007	0,125±0,003	0,136±0,007	0,114±0,007
Екскреція сечовини, мкмоль/3 години	panova=0,0628	276,51±49,37	135,03±21,09	220,85 ± 32,14	186,33 ± 32,17
Сечовина сироватці, ммоль/л ^В	panova=0,0594	5,09±0,345	5,26±0,37	6,40±0,47	6,42±0,47
Екскреція хлоридів, мкмоль/3 години	panova=0,9762	9,13±1,97	8,34±2,68	7,39±2,80	8,66±2,44
Хлориди сироватці, ммоль/л ^В	panova=0,1740	96,90±0,88	99,01±1,15	96,67±1,15	99,06±0,56

Примітка:
 pANOVA/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
 n - кількість тварин в групі.

Таким чином, наведені в таблицях 22 і 23 дані свідчать, що лікарський засіб ФК і плацебо при тривалому введенні (28 днів) не роблять нефротоксичної дії.

Дані про вплив розчину ФК на ЧСС і параметри ЕКГ представлені в таблицях 24 і 25. У усіх тварин зберігався правильний синусовий ритм - в II стандартному відведенні постійно був присутнім позитивний зубець Р перед характерним шлуночковим комплексом QRS.

Введення ФК і плацебо впродовж 28 днів самцям щурів не призводило до значних зрушень показників, що характеризують електрофізіологічну активність міокардо (таблиця 24).

Вплив ФК на показники ЕКГ у щурів самців, (M±m), n=6 наведено в таблиці 24.

Таблиця 24

Показники	Panova / pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЧСС, уд./хв.	Panova=0,3261	383,17± 17,24	426,17±14,01	422,00± 26,71	397,67± 12,22
СП %	pk-u=0,8291	42,83±1,94	44,83±1,38	47,17±4,02	44,33±2,12
PQ, с	Panova=0,5516	0,045±0,001	0,044±0,001	0,043±0,001	0,044±0,001
QRS, с	Panova=0,4343	0,013±0,001	0,013±0,001	0,014±0,001	0,014±0,001
QT, с	Panova=0,3680	0,07±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00
R, мВ	Panova=0,7239	0,47±0,06	0,50±0,05	0,43±0,07	0,53±0,08
P, мВ	pk-u=0,3817	0,08±0,01	0,08±0,01	0,06±0,00	0,08±0,01
T, мВ	Panova=0,5128	0,16±0,02	0,16±0,02	0,13±0,02	0,13±0,01

Примітка:
pANOVA/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
n - кількість тварин в групі.

Внутрішньошлункове введення розчину ФК і плацебо впродовж 28 днів самицям щурів також не призводило до зрушень показників, що характеризують електрофізіологічну активність міокарда. Вплив ФК на показники ЕКГ у щурів самиць, (M±m), n=6 наведено в таблиці 25.

Таблиця 25

Показники	Panova / pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЧСС, уд./хв.	Panova=0,2134	453,33± 16,80	458,83±16,08	452,50± 13,95	413,67±18,01
СП %	Panova=0,3048	45,33±1,67	45,83±1,6	46,50±2,03	42,33±1,02
PQ, с	Panova=0,6972	0,043±0,001	0,043±0,001	0,044±0,001	0,044±0,001
QRS, с	Panova=0,8937	0,015±0,001	0,015±0,001	0,015±0,000	0,014±0,001
QT, с	pk-u=0,4774	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00
R, мВ	Panova=0,2486	0,63±0,03	0,54±0,08	0,54±0,06	0,67±0,03

Продовження таблиці 25

P, мВ	Panova=0,7458	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,07±0,01
T, мВ	Panova=0,6476	0,13±0,02	0,15±0,02	0,14±0,02	0,17±0,02

Примітка:
 рANOVA/pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)
 n - кількість тварин в групі.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна зробити висновок, що розчин ФК при внутрішньошлунковому введенні впродовж 28 днів не викликає істотних змін ЕКГ ні у самців, ні у самиць.

5 Розтин тварин показав, що розміщення органів в черевній і грудній порожнині анатомічно правильне. Зовнішній вигляд шерстного покриву, слизової оболонки природних отворів щурів усіх дослідних груп (інтактний контроль, негативний контроль (плацебо) 20 мл/кг, ФК 2 мл/кг і 20 мл/кг) були однакові.

10 Регіональні лімфовузли не збільшені. При ревізії порожнин тіла не виявлено патологічного вмісту, спайок. Колір, консистенція органів і тканин, стан серозних оболонок відповідає нормальному, не знайдено ознак гіпо- або гіпертрофії органів, порушень кровообігу, запалення, пухлинного зростання.

15 Для розрахунку коефіцієнтів маси визначали абсолютну масу внутрішніх органів. Результати та вплив розчину ФК на коефіцієнти маси внутрішніх органів у щурів самців і самиць M(Mmin÷Mmax), n=6 представлені в таблиці 26.

Таблиця 26

Показники	pk-u	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Самці					
Печінка	pk-u=0,0644	2,83(2,70^2,93)	2,67(2,51^2,91)	2,58(2,38^2,77)	2,64(2,40^2,92)
Нирки	pk-u=0,5492	0,68(0,60^0,74)	0,68(0,64^0,73)	0,67(0,62^0,74)	0,66(0,62^0,74)
Серце	pk-u=0,0294	0,35(0,32^0,39)	0,35(0,33^0,39) p2M-U=1,0628	0,31(0,30^0,32) p2M-U=0,0694	0,33(0,30^0,37) p2M-U=0,4849
Легені	pk-u=0,4961	0,60(0,55^0,65)	0,62(0,57^0,65)	0,67(0,57^0,89)	0,60(0,50^0,70)
Селезінка	pk-u=0,4974	0,44(0,34^0,55)	0,37(0,30^0,42)	0,40(0,30^0,50)	0,38(0,34^0,44)
Надниркові залози	pk-u=0,9006	0,024(0,02^0,03)	0,03(0,02^0,03)	0,02(0,02^0,03)	0,03(0,02^0,04)
Тимус	pk-u=0,2909	0,12(0,06^0,14)	0,09(0,06^0,12)	0,09(0,05^0,11)	0,10(0,09^0,14)
Насінники	pk-u=0,7418	1,21(1,06^1,40)	1,16(1,07^1,30)	1,23(1,12^1,33)	1,23(1,09^1,40)
Самиці					
Печінка	pk-u=0,0342	2,91(2,74^3,19)	3,40(2,82^4,46) P2=0,0649	3,06(2,88^3,31) P2=0,1797	3,30(3,16^3,56) P2=0,0043
Нирки	pk-u=0,0049	0,66(0,65^0,67)	0,70(0,68^0,73) p2=0,0022	0,65(0,62^0,71) P2=0,3939	0,71(0,66^0,78) P2=0,0043

Серце	pk-u=0,1427	0,34(0,32^0,38)	0,33(0,31^0,37)	0,36(0,32^0,40)	0,36(0,33^0,38)
Легені	pk-u=0,2427	0,88(0,77^1,22)	0,73(0,66^0,86)	0,81(0,62^1,36)	0,82(0,63^0,99)
Селезінка	pk-u=0,8431	0,44(0,28^0,60)	0,44(0,32^0,53)	0,43(0,33^0,57)	0,40(0,29^0,49)
Надниркові залози	pk-u=0,3568	0,04(0,04^0,05)	0,04(^0,03)0,05	0,04(0,03^0,05)	0,04(0,04^0,04)
Тимус	pk-u=0,9361	0,13(0,07^0,17)	0,13(0,09^0,18)	0,14(0,08^0,24)	0,13(0,10^0,20)

Примітка:

pk-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);

p2M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні);

3. n - кількість тварин в групі.

Встановлено, що внутрішньошлункове введення досліджуваних об'єктів впродовж 28 днів шурам самцям не викликало статистично значимих змін КМ в порівнянні з показниками групи ІК у щурів самців.

Проте у самиць спостерігали підвищення КМ печінки і нирок в групах ІК і тваринах, яким вводили ФК в дозі 20 мг/кг

Мікроскопічне дослідження внутрішніх органів усіх щурів, що отримували ФК в різних дозах, показало, що вони мали звичайну будову і не відрізнялися від таких у тварин груп негативного і інтактного контролю.

У міокарді лівого і правого шлуночків серця не відмічено явищ набряку або гіперемії. І у контрольних, і в експериментальних групах у окремих щурів зустрічалися одиничні дрібні осередкові лімфомакрофагальні інфільтрати, розташовані між кардіоміоцитами. Кардіоміоцити мали звичайні розміри і забарвлення цитоплазми і ядер, в них добре простежувалася поперечна покреслена міофібрил.

У легенях контрольних щурів спостерігалися помірна гіперемія судин і капілярів, осередковий дистелектаз (частковий спад стінок альвеол при розтині грудної порожнини) і вогнища емфізеподібного розтягування альвеол (агонального походження). Відзначалася помірна активність лімфоїдної тканини, що асоціюється з бронхами. Просвіти альвеол легенів вільні. Введення ФК в дозах 2 мл/кг і 20 мл/кг не робили істотного впливу на структуру органу: були відсутні ознаки посилення гіперемії, дистрофічні зміни пневмоцитів 1-го і 2-го порядків, некробіотичні зміни в клітинах, запальна реакція стромі, посилення активності перибронхіальної лімфоїдної тканини.

У нирках щурів групи негативного контролю і груп, що отримували ФК в різних дозах, як і у щурів групи ІК, були відсутні ознаки порушень в системі кровообігу, дистрофічні і некробіотичні зміни нефротелію канальцевого відділу нефрону, ознаки проміжного запалення. Клубочки нефрону мають звичайну будову і клітковість, капіляри помірно повнокровні. У частини щурів в усіх групах в просвіті канальців деяких ділянок мозкового шару відмічені дрібні мікроліти солей кальцію і злокалізовані поруч дрібновогнищеві круглоклітинні інфільтрати в стромі, що, можливо, пов'язано з характером живлення тварин.

У печінці дольчатість органу виражена, балочна будова збережена, печінкові балки розташовуються на невеликій відстані одна від одної.

Строма печінки в усіх групах представлена тонкими прошарками портальної сполучної тканини з судинами, що проходять в них, і жовчними протоками. Гепатоцити звичайної форми, з рівномірно забарвленою цитоплазмою; межі між клітинами добре виражені. Ядра гепатоцитів чітко видимі, розташовуються переважно в центрі клітин. Синусоїдальні капіляри вузькі, слабо наповнені кров'ю як в центральних ділянках, так і на периферії часточок. У частини щурів обох статей різних груп зустрічаються невеликих розмірів лімфоїдно-клітинні скупчення перипортально, дрібні вогнища некрозу гепатоцитів. За даними літератури можливою причиною подібних відхилень може бути місцеве ушкодження, що викликається токсичними речовинами, які надходять з кишечника. Окрім цього, у самиць щурів, що отримували ФК в дозах 2 мл/кг (60 %) і 20 мл/кг (40 %), в перипортальних гепатоцитах виявлена помірна (2 мл/кг) і слабка (20 мл/кг) дрібнокрапельна вакуолізація цитоплазми без порушення цілісності клітини.

У тканині підшлункової залози усіх щурів будова ацинусів звичайна, в цитоплазмі панкреатоцитів добре забарвлюється зимогенна зона, ядра клітин великі, чіткі, розташовані у базальній мембрані. Явищ злушчування епітелію вивідних проток не відмічено. Острівці Лангерганса різних розмірів, капіляри в них помірно розширені, секреторні клітини без ознак дистрофії.

Часточки тимуса і у щурів контрольних груп, і після введення ФК в різних дозах помірно великі, прошарки сполучної тканини між ними відносно тонкі, в часточках добре простежується розділення на кіркову і мозкову зони, клітинність зон звичайна. Досить часто у тварин, що отримували плацебо і лікарський ФК, відмічена картина "зоряного неба", розширення мозкового шару і кістозне розширення з ороговінням тимічних тілець. Ці зміни нагадують 1-2 стадію акцидентальної інволюції тимуса, яка розвивається через низку обставин, у тому числі внаслідок стресу. В даному випадку багаторазне введення досить великого об'єму розчинника або ФК є для тварин стресовим чинником, у відповідь на яке у них формується комплекс у відповідь адаптаційних реакцій.

У селезінці в усіх щурів розміри і кількість фолікулів білої пульпи звичайні, структура їх після введення розчинника або ФК не міняється відносно інтактних, червона пульпа помірно повнокровна, містить макрофаги, мегакаріотицити і лімфоцити.

У надниркових залозах усіх щурів розміри і співвідношення поперечних розтинів зон кіркової речовини звичайні. Гістоархітектоніка кожної із зон кори збережена. Ознаки зміни морфологічних характеристик адренокортикоцитів, що свідчать про порушення продукції мінерало- і глюкокортикоїдів, не помічено, рівень ліпоїдизації клітин клубочкового і сітчастого шарів співвідносно у контрольних і дослідних тварин. Хромафінні клітини мозкової кулі без особливостей.

У яєчках в усіх щурів самців були відсутні явища набряку, гіперемії або інфільтрації, атрофії. У звитих насінних каналцях представлені усі шари сперматогенного епітелію. Злушчування епітелію немає. Кількість і розташування клітин Лейдига звичайне.

У яєчниках щурів також не виявлено гемодинамічних порушень. В усіх щурів зустрічаються фолікули і жовті тіла на всіх стадіях розвитку, атретичні фолікули.

Таким чином, результати гістологічних досліджень свідчать про те, що ФК при тривалому внутрішньошлунковому введенні в дозах 2 мл/кг і 20 мл/кг, як і плацебо не викликає у щурів яких-небудь морфологічних проявів токсичної дії в серцевому м'язі, печінці, нирках, легенях, надниркових залозах, підшлунковій залозі, селезінці, органах репродуктивної системи.

Відмічений в тимусі - органі, який виділяється з усіх органів лімфоїдної системи надмірною лабільністю своєї морфологічної структури, легко і швидко виникаючими реактивними морфологічними змінами у відповідь на дії найрізноманітніших чинників, комплекс у відповідь адаптаційних реакцій відповідає 1-2 стадіям акцидентальної трансформації. За даними літератури, ці стадії оборотні і зникають після припинення стресового впливу. Також у частини самиць щурів, що отримували розчинник або ФК, помірно/слабка вакуолізація гепатоцитів не носить дозозалежного характеру і, очевидно, пов'язана з характером корму, що отримується тваринами, і більшою чутливістю їх в порівнянні з самцями.

Результати дослідження показали, що досліджуваний ФК при тривалому введенні в дозах 2 і 20 мл/кг не викликає у тварин ознак інтоксикації, не робить впливу на загальнотрофічні процеси, на гематологічні показники, на біохімічні показники крові і сечі. Не впливає на центральну нервову систему і серцево-судинну систему лабораторних тварин.

Гістологічні дослідження підтверджують відсутність токсичної дії ФК на внутрішні органи і системи лабораторних тварин. Окремі випадки в тимусі і печінці не носять дозозалежного ефекту і вказують на оборотні процеси.

Тривале введення ФК не чинить місцевоподразнювальної дії на слизову оболонку ШКТ лабораторних тварин.

В результаті дослідження токсичності ФК можна зробити висновок про те, що тривале введення ФК в дозах 2 і 20 мл/кг не викликає у тварин ознак інтоксикації, не робить впливу на загальнотрофічні процеси, на гематологічні показники, на біохімічні показники крові і сечі, фізіологічний стан ЦНС і ССС. Окремі коливання, відмічені впродовж усього періоду дослідження, знаходилися в межах фізіологічної норми і носили адаптивний характер.

Гістологічне вивчення внутрішніх органів в умовах підгострої токсичності (28 днів) свідчать про відсутність у щурів ознак кардіотоксичної, нефротоксичної і гепатотоксичної дії, не порушується морфофункціональний стан легеневої тканини, периферичного органу імунної системи - селезінки.

Внутрішньошлункове введення ФК і плацебо лабораторним щурам не викликає подразливої дії на стравохід і шлунок тварин, що підтверджено гістологічними дослідженнями.

Наступні дослідження стосуються визначення ефективної дози ФК у вигляді розчину для орального застосування на моделі гострої асфіксії у щурів

Гіпоксія є універсальним патологічним процесом, що супроводжує і визначає розвиток різноманітної патології: ішемічну хворобу серця, інфаркт міокарда, хронічну серцеву недостатність, міокардіопатії, порушення мозкового кровообігу, хронічні обструктивні захворювання легень, астеничний стан та інше.

У загальному вигляді гіпоксію можна визначити як дисбаланс у клітині між потребою та продукцією енергії в системі мітохондріального окисного фосфорилування. Причини порушення продукції енергії в клітині за гіпоксичних умов різноманітні: розлади зовнішнього дихання, кровообігу в легенях, транспортної функції кисню крові, порушення системного, регіонарного кровообігу і мікроциркуляції, зниження надходження кисню в мітохондрії при переважній більшості патологічних станів. В результаті розвивається пригнічення мітохондріального окиснення. В першу чергу пригнічується активність NAD-залежних оксидаз (дегідрогеназ) циклу Кребса при початковому збереженні активності FAD-залежної сукцинатоксидази, що інгібується при більш вираженій гіпоксії. Порушення мітохондріального окиснення призводить до пригнічення сполученого з ним фосфорилування та викликає прогресуючий дефіцит АТФ - універсального джерела енергії в клітині.

Дефіцит енергії становить суть будь-якої форми гіпоксії і обумовлює якісно однотипні метаболічні і структурні порушення в різних органах і тканинах. Зниження концентрації АТФ у клітині призводить до послаблення її інгібуючого впливу на один з ключових ферментів гліколізу - фосфофруктокіназу. Гліколіз, який активується при гіпоксії, частково компенсує дефіцит АТФ, однак швидко викликає накопичення лактату і розвиток ацидозу з подальшим автоінгібуванням гліколізу.

Гіпоксія призводить до комплексної модифікації функцій біологічних мембран, що зачіпає як ліпідний бішар, так і мембранні ферменти. Пошкоджуються або модифікуються головні функції мембран: бар'єрна, рецепторна, каталітична.

Метою даного доклінічного дослідження було визначення впливу ФК на біоелектричну активність серця (БЕАС) у щурів на моделі гострої асфіксії. Це важливо для оцінки виразності органотропного антигіпоксичного впливу на серце за умов застосування всередину, для встановлення ефективних доз.

Доклінічне дослідження ФК у вигляді розчину для орального застосування проведено з дотриманням вимог Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice (GLP)), відповідно до методичних рекомендацій (Стефанов, 2001) і Наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та № 95 від 16.02.2009 р.

Дизайн дослідження

Перед проведенням експерименту тварини пройшли акліматизацію протягом 14 діб у кімнаті для випробувань. Групи були сформовані методом рандомізації з використанням маси тіла як головної ознаки. Тварин утримували в пластикових клітках у кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря 20-24 °С, вологість 55±10 %, світловий режим "12 годин день/ніч". Провітрювання кімнати та стерилізацію повітря за допомогою кварцової лампи здійснювали щоденно. Тварини мали вільний доступ до води. Для пиття використовували відстояну водопіную воду. Для годування тварин використовували гранульовані збалансовані комбікорми (ТУ.У15.7-2123600159-001:2007). Догляд за тваринами проводили відповідно до стандартних операційних процедур.

Досліди проводили на статевозрілих щурах самцях масою 180-220 г.

Дослідження проведено на 5-ти групах тварин:

1 група (позитивний контроль) - кількість тварин - 6

2 група (перший тест-зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 100/264 мг/кг ваги.

3 група (другий тест-зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 200/528 мг/кг ваги.

4 група (третій тест-зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 300/792 мг/кг ваги.

5 група (четвертий тест зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 400/1056 мг/кг ваги.

Розчин вводили внутрішньошлунково протягом 3 діб у дозах 1, 2, 3 та 4 мл/кг. Дози для

тварин перераховували з добової дози для людини (30 мл/добу за інструкцією до застосування в клініці) за допомогою коефіцієнтів перерахунку доз з урахуванням поверхні тіла за методом Уланової І.П. (Уланова І.П., Сидоров К.К., Халепко А.И. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании. Под ред. А.А. Летавета и И.В. Саноцкого. - Л. Изд. "Медицина", 1968, вып. 10. - стр. 18-25.). Зважаючи на те, що ФК призначений для орального застосування у клініці, лабораторним тваринам препарат вводили внутрішньошлунково за допомогою шприца через металевий зонд.

Гостру асфікцію моделювали за методом (Степанюк Н.Г. Порівняльна оцінка антигіпоксичних властивостей кордарону, бензофуорокаїну, вінборону та емоксипіну в експерименті / Н.Г. Степанюк, В.В. Юшкова, В.Б. Мудрицький [та ін.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. - 2007. - № 11 (2/1). - С. 576-579., та Степанюк Г.І., Пошук ефективних антигіпоксиків серед похідних бурштинової кислоти/ Г.І Степанюк, О.П. Драчук, С.А. Олійник, О.Г. Юшковська // Спортивна медицина. - 2010. - № 4(17). - С. 56-59.). На 4-ту добу введення препарату наркотизованих тварин іммобілізували на препаратувальному столі. Препарували шкіру, фасції та м'язи ший за допомогою ножиців та пінцетів. Накладали електроди електрокардіографа, трахею перетискали хірургічним затискачем та реєстрували тривалість БЕАС по ЕКГ до останньої систолі.

Кількісний матеріал оброблено методами варіаційної статистики (середнє значення, його стандартна помилка, медіана, верхній та нижній квартилі) з використанням параметричних (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) та непараметричних методів аналізу (критерій Крускала-Волліса, Манна-Уїтні). Прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм Statistica (версія 6).

Результати визначення впливу ФК, розчину для орального застосування, на БЕАС щурів за умови гострої асфіксії та вплив ФК, розчину для орального застосування, на тривалість біоелектричної активності серця (БЕАС) щурів за умови гострої асфіксії наведено в таблиці 27.

Таблиця 27

Групи тварин	Доза, мл/кг	Тривалість життя (Me (Q25; Q75))	P
Позитивний контроль	—	11,1 (10,4; 11,4)	
Тест-зразок	1	14,5 (12,1; 17,4)	0,0259
	2	13,8 (13,2; 15,0)	0,0411
	3	11,9 (10,3; 12,5)	0,6991
	4	12,2 (11,1; 12,5)	0,3939

Примітки:

p - рівень статистичної значущості при порівнянні з групою позитивного контролю, критерій Манна-Уїтні;

n - кількість тварин у групі.

Відповідно до отриманих даних, введення досліджуваного засобу у дозах 1 та 2 мл/кг ваги статистично значуще підвищувало тривалість життя тварин на 31 % та 24 % відповідно (табл. 27). Збільшення дози тест-зразка не приводило до підвищення ефективності засобу: тривалість БЕАС, яким вводили ФК у дозах 3 і 4 мг/кг ваги, залишалася на рівні позитивного контролю. Отже, отримані дані свідчать, що профілактичне введення ФК, розчину для орального застосування позитивно впливає на БЕАС щурів.

Таким чином, за умови гострої асфіксії, викликаній перетисканням трахеї щурів, встановлено, що ФК підтримує БЕАС щурів, що віддзеркалюється підвищенням тривалості життя тварин за асфіксії. Імовірно, цей кардіопротекторний ефект пояснюється антигіпоксичною дією ФК в міокарді та провідній системі серця. Незважаючи на те, що у кількісному вираженні ефективність препарату в дозі 2 мл/кг ваги була дещо нижчою, ніж у дозі 1 мл/кг ваги, статистично значущих відмінностей між групами не було. На підставі отриманих даних можна констатувати, що найбільшу, майже однакову активність ФК виявляє у дозах 1 і 2 мл/кг ваги, які доцільно використати для подальших досліджень.

На підставі результатів дослідження можна зробити висновок, що ФК у моделі гострої асфіксії позитивно впливає на біоелектричну активність серця щурів, подовжуючи її на 24-31 %, найбільшу ефективність ФК виявляє у дозах 1 і 2 мл/кг ваги.

Для вивчення застосування ФК для підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини, яка зазнає фізичних навантажень, було проведено наступне дослідження.

Дослідження комбінованого застосування аргініну аспартату і левокарнітину у вигляді розчину для перорального застосування в порівнянні із застосуванням аргініну аспартату у вигляді розчину для перорального застосування, для вивчення стимуляції фізичної працездатності у здорових спортсменів в спорті вищих досягнень.

Задачею дослідження було вивчення впливу комбінованого застосування левокарнітину і аргініну аспартату у вигляді розчинів для перорального застосування в порівнянні із застосуванням аргініну аспартату у вигляді розчину для перорального застосування, на фізичну працездатність і психологічний стан кваліфікованих спортсменів - представників силових і циклічних видів спорту в ході стандартного тренувального процесу.

Завдання дослідження:

вивчити вплив комбінованого застосування левокарнітину і аргініну аспартату у вигляді розчинів для перорального застосування в порівнянні із застосуванням аргініну аспартату у вигляді розчину для перорального застосування на працездатність і психологічний статус спортсменів;

оцінити переносимість і можливі побічні ефекти досліджуваних розчинів;
порівняти результати застосування досліджуваних розчинів, отримані в двох основних і контрольній групах здорових спортсменів, за параметрами впливу на фізичну працездатність і психологічний стан спортсменів.

Дизайн дослідження

Дослідження було виконане відповідно до вимог, ГП, що пред'являються, "Державний експертний центр МЗ України" до клінічних випробувань лікарських засобів. Дослідження проводилося як відкрите, рандомізоване, порівняльне, паралельне в трьох групах.

У дослідження було включено 69 спортсменів. В період набору спортсменів було проведено клініко-лабораторне, психофізіологічне і педагогічне обстеження кожного суб'єкта дослідження. Після обстеження у випробування були включені спортсмени, що дали письмову Інформовану Згоду на участь в дослідженні і що відповідали критеріям включення/виключення.

Досліджувані лікарські засоби

Аргініну аспартат у формі розчину для перорального застосування. Склад: 5 мл розчину містять 1 г аргініну аспартату (аргініну - 0,57 г, кислоти аспарагінової - 0,43 г), допоміжні речовини = сорбіт (Е 420), сахарин натрію (Е 954), метилпарагідроксибензоат (Е 218), пропілпарагідроксибензоат(Е 216), ароматизатор харчовий "Карамель", вода очищена.

Левокарнітин у формі розчину для перорального застосування. Склад: 5 мл розчину містять 1 г левокарнітину, допоміжні речовини - метилпарабен (Е 218), пропілпарабен (Е 216), сахароза, сорбіт (Е 420), ароматизатор "банан", вода очищена.

Рандомізований розподіл спортсменів обох груп (1 група - 36 легкоатлетів і 2 група - 33 важкоатлети) на підгрупи робили відповідно до схеми рандомізації, представленій у вигляді таблиці, основу якої складали випадкові числа, згенеровані за допомогою процедури генерації рівномірно розподілених випадкових чисел вбудованого Пакета аналізу додатка Microsoft Excel.

У дослідженні брали участь 69 здорових спортсменів, що знаходяться на загальнопідготовчому етапі підготовчого періоду річного макроциклу при стандартному режимі тренувань і що відповідають критеріям включення/неувімкнення, описаним в цьому протоколі. Усі спортсмени, що відповідали критеріям включення, методом простої рандомізації розподілялися в основні (46 спортсменів) і контрольні (23 спортсменів) підгрупи.

Спортсмени були рандомізовані після того, як від них було отримано інформовану згоду. Для розподілу випробовуваного в яку-небудь підгрупу спостереження/дослідження відповідальний дослідник повідомляв по телефону ідентифікуючу інформацію про спортсмена (ініціали і вік/рік народження) монітора дослідження.

У відповідь дослідник отримував повідомлення про підгрупу спостереження/дослідження для цього спортсмена. Дослідник вносив рандомізаційний номер і ідентифікуючу інформацію, включеного в дослідження спортсмена в Журнал рандомізації.

Спортсмени (практично здорові особи, усі чоловіки), включені в дослідження, були розподілені для вивчення ефективності застосованих фармакологічних препаратів на основні (1А, 1Б, 2А, 2Б) і контрольні(1К і 2К) підгрупи в співвідношенні 1:1:1.

Спортсмени основних підгруп 1А і 1Б в динаміці процесу тренувань отримували досліджуваний лікарський засіб аргініну аспартат, розчин для перорального застосування,

впродовж 21 дня.

Спортсмени основних підгруп 2А і 2Б в динаміці процесу тренувань отримували одночасно досліджувані лікарські засоби аргініну аспартат, розчин для перорального застосування, і левокарнітин впродовж 21 дня.

5 Спортсмени контрольних підгруп 1К і 2К не отримували в динаміці тренувального процесу ніяких лікарських засобів.

10 Спортсменам основних підгруп 1А і 2А призначали досліджуваний лікарський засіб аргініну аспартат, розчин для перорального застосування, в добовій дозі 40 мл, розділених на 2 прийоми по 20 мл відразу після їжі, впродовж 21 дня дослідження в динаміці тренувального процесу.

15 Спортсменам основних підгруп 1Б і 2Б поєднано призначали досліджуваний лікарський засіб аргініну аспартат, розчин для перорального застосування, і досліджуваний лікарський засіб левокарнітин, розчин для перорального застосування, в добовій дозі 15 мл, розділених на 2 прийоми по 7,5 мл 2 рази в добу відразу після їжі, впродовж 21 дня дослідження в динаміці тренувального процесу.

В процесі проведення дослідження не дозволялося призначати нейрометаболічні, ноотропні, адаптогенні, анаболічні і кардіопротекторні препарати. В ході проведення дослідження спортсмени продовжували тренуватися в звичайному режимі при дотриманні традиційного живлення і здорового способу життя (повна відмова від алкоголю і паління).

20 В період скринінгу було проведено клінічне обстеження:
вимір ЧСС, АТ; пальпація і перкусія органів черевної порожнини через передню черевну стінку, аускультация серця і легенів, огляд шкіри і видимих слизових оболонок;
оцінка стану опорно- рухового апарату; сечовидільної системи.

25 3 лабораторних параметрів визначали показники гематологічного гомеостазу; біохімічного гомеостазу.

Для оцінки початкового стану параметрів працездатності спортсменам проводили психофізіологічні і педагогічні дослідження параметрів спеціальної фізичної працездатності.

30 У динаміці дослідження в 1-ий і 2-ий візити спортсменам проводили об'єктивне обстеження:
вимір ЧСС, АТ, аускультацию серця і легенів, огляд шкіри і видимих слизових оболонок; оцінка стану опорно-рухового апарату; сечовидільної системи.

Після закінчення курсу прийому досліджуваних лікарських засобів (3-й, завершальний, візит), окрім об'єктивного обстеження, спортсменам повторно проводили дослідження показників гематологічного гомеостазу; біохімічного гомеостазу, психофізіологічні і педагогічні дослідження параметрів спеціальної фізичної працездатності.

35 Усі дані, що стосуються призначення лікарських засобів, опитування і обстеження спортсменів, були внесені в Індивідуальну реєстраційну форму спортсмена.

Дослідження включало наступні етапи: скринінг і період застосування досліджуваних лікарських засобів (21 день). Реєстрацію даних спостереження робили за схемою, що наведена у таблиці 28.

40

Таблиця 28

	Скринінг	Рандомізація	Прийом препарату	Завершальний візит
Дні дослідження	-1-0	1	1-21	22±1 день
Візити (точки спостереження)	0	1	2	3
Демографічні дані і спортивний анамнез	X	—	—	—
Отримання письмової інформованої згоди	X	—	—	—
Роз'яснення схеми прийому досліджуваних препаратів*		X	X	—
Клінічне обстеження	X	—	—	X
Реєстрація суб'єктивних скарг	X	—	X	X
Лабораторне обстеження: > гематологічний аналіз > дослідження стандартних біохімічних показників крові > дослідження прооксидантно-антиоксидантного балансу	X	—	—	X
Психодіагностика	X	—	—	X
Видача препарату	—	X	X	—
Педагогічні дослідження спеціальної фізичної працездатності	X	—	—	X
Виявлення і реєстрація побічних реакцій			X	X
Оцінка переносимості		—	X	X

Критерії включення спортсменів в дослідження:

- 5 - кваліфіковані спортсмени-чоловіки у віці від 18 до 26 років, представники різних груп видів спорту - циклічні види (легкоатлети - бігуни на середні дистанції, 36 спортсменів) і силові види (важкоатлети, 33 спортсмени), в динаміці загальнопідготовчого етапу підготовчого періоду річного макроциклу при стандартному тренувальному процесі, що не мають на момент дослідження проявів яких-небудь гострих респіраторних вірусних інфекцій, а також, що не мають в анамнезі захворювань кардіореспіраторної, травної, видільної систем з клінічними проявами, окрім функціональних порушень, обумовлених професійною діяльністю;
- 10 - інформована письмова згода спортсмена на участь в дослідженні;

- здатність учасника до адекватної співпраці в процесі дослідження.

Критерії неувімкнення спортсменів в дослідження:

- ГРВІ на момент початку дослідження;

- гіперчутливість до компонент досліджуваних лікарських засобів;

5 - алергічні захворювання або гострі стани, пов'язані з прийомом лікарських засобів в анамнезі;

- одночасна участь у будь-кому іншому клінічному випробуванні (чи подібному по механізму ергогенної дії) речовини або будь-якого досліджуваного препарату впродовж передуючих 30 днів до включення в це дослідження (будь-який препарат, здатний вплинути на оцінку терапевтичного ефекту; прийом до включення в дослідження будь-якого препарату, застосування якого неприпустимо впродовж 2-х місяців перед участю в дослідженні);

- участь в змаганнях на момент обстеження;

- травма;

- хронічні захворювання, в т. ч. цукровий діабет II типу;

15 - значимі зміни в загальноклінічному і біохімічному аналізі крові.

Умови вибування спортсменів з дослідження - для кожного конкретного спортсмена умовами припинення прийому лікарського засобу і вибування з дослідження могли бути:

- індивідуальна непереносимість досліджуваного препарату;

- виникнення у спортсмена в ході дослідження важких і/або несподіваних побічних явищ;

20 - значне погіршення загального стану в період дослідження;

- недотримання досліджуваним режиму застосування препарату(ів);

- відмова спортсмена від участі в дослідженні.

У разі передчасного вибування спортсмена з дослідження, дослідник не робить заміну.

Причини передчасного виходу з дослідження вказуються в індивідуальній реєстраційній формі.

25 Використовувані методи дослідження

Для обстеження спортсменів були використані наступні методи:

реєстрація демографічних даних;

збір спортивного анамнезу (вид спорту, дисципліна, етап (період) підготовки;

фізикальне обстеження;

30 лабораторна діагностика (стандартні гематологічні і біохімічні показники;

дослідження прооксидантно-антиоксидантного балансу в мембранах еритроцитів), психодіагностика;

дослідження показників спеціальної фізичної працездатності відповідно до виду спорту.

35 Демографічні дані і спортивний анамнез: - вік, маса тіла, зростання; - спеціалізація і спортивна кваліфікація; - етап (період) підготовки: - наявність (відсутність) тренування напередодні.

Клінічне обстеження:

- вимір t тіла;

- вимір АТ, ЧСС;

40 - фізикальне обстеження (перкусія передньої грудної стінки і аускультация серця і аорти; пальпація органів черевної порожнини; огляд шкіри і видимих слизових оболонок; візуальна оцінка стану опорно-рухового апарату).

Реєстрація суб'єктивних скарг: - кашель, нежить; - головний біль: - загальна слабкість.

Міра вираженості ознак оцінюється у балах за шкалою:

45 - 0 - відсутній

- 1 - незначна вираженість

- 2 - помірна вираженість

- 3 - значна вираженість.

Лабораторні дослідження крові:

50 - гематологічний аналіз (кількість лейкоцитів, тромбоцитів і еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокрит, еритроцитарні характеристики, включаючи середній абсолютний вміст і середню концентрацію гемоглобіну в еритроцитах, середній об'єм еритроцитів, анізоцитоз еритроцитів);

55 - біохімічний аналіз крові: вміст загального білка, білірубину, сечовини, креатиніну, глюкози, калію, натрію, кальцію іонізованого, активності маркерних ферментів АЛТ, АСТ, ГГТ, лужної фосфатази; АЧТЧ оцінка прооксидантно-антиоксидантного рівноваги на мембранному рівні ("тіні еритроцитів") з дослідженням вмісту малонового діальдегіду і відновленого глутатіону.

Психодіагностика: оцінка психологічного статусу спортсменів (тип темпераменту і вираженість психофізіологічного стресу у балах).

60 Загальноприйняті показники спеціальної фізичної працездатності залежно від специфіки м'язової діяльності:

- у легкоатлетів (бігунів на середні дистанції)
- аеробна працездатність, оцінена по тесту PWC170; час проходження змодельованих дистанцій змагань 800 і 1500 м;
- у важкоатлетів - оцінка висоти стрибка з місця і висоти підняття штанги в ривку, а також часу виконання вправ.

Як головний критерій ефекту від застосування лікарських засобів виступало збільшення показників спеціальної фізичної працездатності і поліпшення психофізіологічного статусу (вираженість психофізіологічного стресу) спортсмена.

Оцінка ефективності досліджуваних лікарських засобів та опис категорій змінної загальної ефективності лікарських засобів робилася дослідником на підставі вищезгаданого параметра за наступною шкалою, наведеною у таблиці 29.

Таблица 29

Препарат ефективний	Позитивні зміни кількісних значень педагогічних показників працездатності спортсменів основних підгруп: > > у важкоатлетів: збільшення висоти стрибка з місця з штангою і висоти підйому штанги в ривку, зменшення часу виконання вправ; > > у легкоатлетів - збільшення аеробної працездатності по тесту PWC170 і зменшення часу проходження змодельованих дистанцій змагань 800 і 1500 м; > > у усіх представників обох видів спорту - зниження вираженості проявів психофізіологічного стресу за бальною шкалою; > > зниження вираженості проявів оксидативного стресу.
Препарат неефективний	Відсутність позитивних змін кількісних значень педагогічних показників фізичної працездатності, відсутність динаміки вираженості психофізіологічного стресу і оксидативного стресу.

Оцінку ефективності лікарських засобів проводили за фактом позитивної динаміки досліджених показників в порівнянні з аналогічними параметрами в контрольних підгрупах спортсменів (без застосування лікарських засобів).

Переносимість лікарського засобу оцінювали на підставі суб'єктивних симптомів і відчуттів, що повідомляються спортсменом, і об'єктивних даних, отриманих дослідником в процесі застосування досліджуваних препаратів в динаміці тренувального процесу спортсменів. Враховувалася динаміка лабораторних показників, а також частота виникнення і характер побічних реакцій.

Формування оцінки переносимості робилося на основі:

1. Об'єктивних даних, отриманих дослідником в ході проведення дослідження. З цією метою під час кожного візиту робився об'єктивний огляд спортсменів. При цьому будь-хто, клінічно значимий, негативний прояв слід розглядати як побічне явище, якщо воно не викликане природною течією тренувального процесу (чи гостро виниклого захворювання спортсмена в ході дослідження) або очікуваним ефектом від застосування ЛЗ.

2. Даних лабораторного обстеження, вироблюваного до початку і після закінчення курсу прийому досліджуваних препаратів:

- гематологічний аналіз (кількість лейкоцитів, тромбоцитів і еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокрит, еритроцитарні характеристики, включаючи середній абсолютний вміст і середню концентрацію гемоглобіну в еритроцитах, середній об'єм еритроцитів, анізоцитоз еритроцитів);

- біохімічний аналіз крові: вміст загального білка, білірубину, сечовини, креатиніну, глюкози, калію, натрію, кальцію іонізованого, активності маркерних ферментів печінки АЛТ, АСТ, ГГТ, а також лужної фосфатази, α -амілази), АЧТЧ; оцінка прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (ПАРА) на мембранному рівні ("тіні еритроцитів") з дослідженням вмісту малонового діальдегіду і відновленого глутатіону і підрахунком прооксидантно-антиоксидантного коефіцієнта (Кпа).

При цьому будь-яке клінічно значиме негативне відхилення лабораторних показників

розглядали як побічну реакцію, якщо воно не викликане природним перебігом захворювання або очікуваним ефектом від застосування супутньої терапії.

3. Суб'єктивних відчуттів спортсмена. Під час кожного візиту дослідником робили опитування спортсмена, при якому враховували наявність і міру вираженості як прогнозованих, так і несподіваних побічних реакцій.

Переносимість ЛЗ оцінювалася дослідником за шкалою, наведеною у таблиці 30.

Таблиця 30

Хороша	При об'єктивному огляді в динаміці не виявляються ніякі або патологічні зміни або клінічно значимі відхилення, дані лабораторного обстеження достовірно не змінюються і не виходять за межі норми, спортсмен не відмічає виникнення побічних явищ
Задовільна	При об'єктивному огляді в динаміці виявляються незначні зміни, які носять скороминущий характер і не вимагають зміни схеми лікування і проведення додаткових медичних заходів > > і/або дані лабораторного обстеження трохи відхиляються від меж норми > > і/або спостерігаються незначні побічні явища, що не заподіюють серйозних проблем спортсменові і не вимагають відміни препарату
Незадовільна	При об'єктивному огляді в динаміці виявляються патологічні зміни, що вимагають відміни препарату і проведення додаткових медичних заходів - і/або дані лабораторного обстеження зазнають клінічно значимі негативні зміни, що спричиняє необхідність додаткового обстеження і інтерпретації даних - і/або має місце небажана побічна реакція, що робить значний негативний вплив на стан спортсмена, що вимагає відміни препарату і застосування додаткових медичних заходів

- 10 Статистичний аналіз проводився статистиком, призначеним спонсором, і самостійно дослідником. Аналіз включає:

- опис спортсменів, включених в дослідження;
- число випробовуваних, вибулих з дослідження;
- число небажаних/побічних явищ;
- аналіз початкової однорідності основних і контрольних підгруп;
- 15 - аналіз ефективності в кожній групі;
- порівняння ефективності між основними і контрольними підгрупами;
- оцінку переносимості в кожній групі;
- оцінку ефективності, що перевищує.
- 20 - статистичні виведення.

Дані були оброблені за допомогою програмних пакетів Statistica 8.0 і MedStat з використанням параметричних і непараметричних методів статистичного аналізу.

Різниця вважалася статистично достовірною при $p < 0,05$, застосовувалася двостороння критична область для оцінки результатів. Відповідність нормальному розподілу перевіряли за допомогою тестів Шапіро-Уїлки. Порівняння вибірок проводилося з використанням критерію Стьюдента для параметричних даних і критерію Уїлкоксона - для непараметричних даних. Для множинних порівнянь використали дисперсійний аналіз ANOVA і критерій Крускала-Волліса, для якісних показників - тест Мараскуїло-Лях-Гурианова. Для проведення кореляційного аналізу застосовували рангову кореляцію і показник кореляції Спирмена.

На момент початку дослідження були проведені дослідження встановлення величин показників спеціальної фізичної працездатності і вираженості проявів психофізіологічного стресу. Аналогічний алгоритм дослідження був реалізований після закінчення прийому досліджуваних ЛЗ, в контрольних підгрупа - після закінчення періоду дослідження без прийому

яких-небудь ЛЗ, у тому числі, ергогенного характеру. Методи дослідження спеціальної працездатності були застосовані залежно від специфіки м'язової діяльності: у важкоатлетів це оцінка висоти стрибка з місця і висоти підйому штанги в ривку, а також часу виконання вправ; у легкоатлетів (бігунів на середні дистанції) - аеробна працездатність, оцінена по тесту PWC170, і час проходження змодельованих дистанцій змагань 800 і 1500 м.

Дослідження аеробної працездатності легкоатлетів проводили по тесту аеробної потужності PWC170 (від англ. Physical Working Capacity, при пульсі 170 уд./хв.) з використанням велоергометра "Kettler E-3" ("KETTLER", Німеччина). Для визначення величини PWC170 використали два навантаження різної помірної потужності (W1 і W2). На останній хвилині цих навантажень визначали ЧСС (відповідно f1 і f2). Аеробна потужність в кгм/хв. розраховувалася таким чином: $PWC170 = W1 + (W2 - W1) \cdot (170 - f1) / (f2 - f1)$, де: PWC170 - потужність фізичного навантаження, при якому досягається ЧСС, рівна 170 уд./хв.; W і W2 - потужність першого і другого навантажень відповідно, кгм/хв.; f1 і f2 - ЧСС у кінці першого і другого навантажень.

Після першого навантаження невеликої потужності спортсмен, сидячи на велоергометрі, відпочивав впродовж 3 хв., потім йому пропонували виконати друге, інтенсивніше, навантаження. Тривалість першого і другого навантажень складала 5 хв. Уся процедура дослідження займала близько 13 хв. Час проходження легкоатлетами змодельованих дистанцій змагань 800 і 1500 м реєструвався електронним хронометром.

Дослідження показників спеціальної фізичної працездатності важкоатлетів здійснювалося за допомогою модифікованого облаштування В.М. Абалакова, що є штангою, сполученою з рухливою вертикальною лінійкою, з виміром висоти (см) і часу (с) виконання спортсменами контрольних вправ (висота стрибка з місця з штангою, висота підйому штанги у ривковій тязі). Виміри проводилися перед тренуванням без виконання розминки в стандартних умовах.

Психологічні дослідження включали оцінку типу темпераменту з використанням особового опитувача Г. Айзенка і модифіковану нами оцінку вираженості психофізіологічного стресу на основі стандартного теста В. Іванченко [9]. Крім того, розраховували коефіцієнт психофізіологічного стресу ($K_{пф.}$). Розрахунок цього коефіцієнта застосовують при проходженні спортсменом поточних досліджень і визначають міру його готовності до змагань. $K_{пф.}$ визначають по формулі як відношення суми балів вираженості психологічного стресу до суми балів вираженості фізіологічного стресу.

$$K_{пф.} = \frac{\sum \Phi_{пф.}}{\sum \Phi_{ф.}}, \text{ де:}$$

$K_{пф.}$ - коефіцієнт психофізіологічного стресу; $\sum \Phi_{пф.}$ - сума балів з питань психологічного стресу; $\sum \Phi_{ф.}$ - сума балів з питань фізіологічного стресу.

Аналіз динаміки показників спеціальної фізичної працездатності спортсменів, що спеціалізуються в циклічних (легка атлетика) і силових (важка атлетика) видах спорту в підгрупах спостереження методами описової статистики представлений в таблицях 31 і 32. У таблиці 31 наведений аналіз динаміки спеціальної фізичної працездатності в підгрупах легкоатлетів методами описової статистики.

Таблиця 31

Показник	Точка спостереження	Статистичні показники					
		n	M	m	Медіана	Хв.	Макс.
підгрупа 1А основна							
PWC170, кгм-хв. ¹	Візит 1	12	1289	55,03	1308,15	1120,4	1318,4
	Візит 3	12	1314	55,86	1333,35	1142,5	1351,5
Час проходження дистанції 800 м	Візит 1	12	116,4	1,243	116,00	114,6	118,6
	Візит 3	12	114,7*	1,434	114,20	113,1	117,2
Час проходження дистанції 1500 м, сек.	Візит 1	12	242,3	2,929	243,01	234,23	245
	Візит 3	12	240,9*	2,136	240,75	237,1	244,83
підгрупа 1Б основна							
PWC170, кгм-хв. ¹	Візит 1	12	1322	7,946	1322,78	1298,4	1331,6
	Візит 3	12	1342*	7,856	1343,2	1321,5	1351,6
Час проходження дистанції 800 м	Візит 1	12	116,3	0,799	116,2	115,3	117,8
	Візит 3	12	114,0*	1,101	114,1	112,1	115,6
Час проходження дистанції 1500 м, сек.	Візит 1	12	243,1	1,71	243,345	238,62	244,62
	Візит 3	12	237,8*	8,522	240,41	211,16	241,8
підгрупа 1К контрольна							
PWC170, кгм-хв. ¹	Візит 1	12	1332	7,687	1334,35	1316,5	1341,5
	Візит 3	12	1338*	8,149	1340,85	1321,8	1349,8
Час проходження дистанції 800 м	Візит 1	12	115,3	0,744	115,35	114,3	116,5
	Візит 3	12	114,5	0,951	114,10	112,9	116
Час проходження дистанції 1500 м, сек.	Візит 1	12	240,6	1,472	240,28	238,56	243,2
	Візит 3	12	239,9*	1,424	239,42	238,11	242,6

*Висновок про достовірність відмінностей, зроблений при рівні значущості $p < 0,05$

У таблиці 32 наведений аналіз динаміки спеціальної фізичної працездатності в підгрупах важкоатлетів методами описової статистики.

Таблиця 32

Показник	Точка спостереження	Статистичні показники					
		п	М	м	Медіана	Хв.	Макс.
підгрупа 2А основна							
Висота стрибка вгору з місця, см	Візит 1	11	62,89	1,711	62,67	60,21	66,21
	Візит 3	11	72,08*	2,457	71,45	68,42	78,34
Час виконання вправи, мс	Візит 1	11	0,47	0,0127	0,47	0,45	0,49
	Візит 3	11	0,43*	0,0117	0,43	0,42	0,45
Висота підйому штанги в ривку, см	Візит 1	11	79,32	2,127	79,62	75,27	82,3
	Візит 3	11	83,15*	1,237	83,2	80,68	85,4
Час виконання вправи, мс	Візит 1	11	0,63	0,0135	0,63	0,62	0,66
	Візит 3	11	0,53*	0,0261	0,52	0,5	0,6
підгрупа 2Б основна							
Висота стрибка вгору з місця, см	Візит 1	11	63,76	2,011	63,24	61,66	68,32
	Візит 3	11	71,32*	3,699	71,72	61,66	74,68
Час виконання вправи, мс	Візит 1	11	0,45	0,02115	0,46	0,42	0,49
	Візит 3	11	0,41*	0,0225	0,4	0,39	0,46
Висота підйому штанги в ривку, см	Візит 1	11	79,21	1,595	79,64	76,54	81,45
	Візит 3	11	83,46*	2,608	84,38	78,34	86,63
Час виконання вправи, мс	Візит 1	11	0,64	0,027	0,64	0,6	0,69
	Візит 3	11	0,57*	0,0441	0,58	0,51	0,64
підгрупа 2К контрольна							
Висота стрибка вгору з місця, см	Візит 1	11	65,64	1,654	65,38	62,81	67,86
	Візит 3	11	67,17	2,487	67,06	63,17	72,21
Час виконання вправи, мс	Візит 1	11	0,49	0,007	0,49	0,48	0,50
	Візит 3	11	0,47*	0,016	0,47	0,44	0,49
Висота підйому штанги в ривку, см	Візит 1	11	71,7	4,112	72,43	66,25	78,32
	Візит 3	11	73,71*	4,854	74,1	68,14	83,56
Час виконання вправи, мс	Візит 1	11	0,69	0,016	0,69	0,66	0,72
	Візит 3	11	0,66*	0,0258	0,67	0,60	0,70

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що групи 1Б і 1К найзначніше розрізняються між собою. Група 1А є найбільш близькою до групи 1Б, проте не так значно відносно змін досліджуваних показників. Група 1К характеризується динамікою протилежного напрямку змін (або відсутністю таких) параметрів працездатності відносно груп 1А і 1Б.

З цих таблиць 31 і 32 очевидно, що аргініну аспартат приводить до підвищення параметрів спеціальної працездатності у представників обох видів спорту після закінчення курсового прийому препарату, чого практично не спостерігається в контрольних групах в умовах

тренувань. Ще більшою мірою ця спрямованість змін працездатності виражена при поєднаному застосуванні аргініну аспартату і левокарнітину. Треба відмітити, що досить коротка тривалість вибраного часу спостережень (21 день), обумовлена термінами прийому препарату відповідно до інструкції виробника, дозволяє відкинути гіпотезу про вираженість змін показників фізичної працездатності, що вивчаються, під власне спрямованим впливом тренувального процесу.

Для оцінки ефективності впливу не лише безпосередньо на параметри спеціальної фізичної працездатності, але і на змінні показників гомеостазу, які її опосередковують, проведений аналіз змін параметрів прооксидантно-антиоксидантної рівноваги на рівні мембранних зрушень при використанні "тіней" еритроцитів. Результати аналізу в групах і усередині підгруп в динаміці спостереження представлені в таблицях 33 і 34.

Аналіз динаміки показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги(ПАРА) в підгрупах легкоатлетів методами описової статистики наведений таблиці 33.

Таблиця 33

Показник	Точка спостереження	Статистичні показники					
		n	M	m	Медіана	Хв.	Макс.
підгрупа 1А основна							
МДА, нмоль-10 ⁶	Візит 1	12	3,380	0,2815	3,350	3,00	3,89
	Візит 3	12	2,962	0,0380	2,970	2,90	3,00
GSH, 10-12-1 ммоль-ер. ¹	Візит 1	12	1,948	0,1814	1,965	1,45	2,14
	Візит 3	12	2,033	0,0873	2,005	1,93	2,2
Кпа	Візит 1	12	1,743	0,2857	1,655	1,51	2,51
	Візит 3	12	1,455*	0,0593	1,475	1,33	1,53
підгрупа 1Б основна							
МДА, нмоль-10 ⁶	Візит 1	12	3,399	0,2856	3,405	2,99	3,88
	Візит 3	12	3,104*	0,2063	3,055	2,9	3,52
GSH, 10-12 ммоль-ер.-1	Візит 1	12	1,956	0,1090	1,915	1,85	2,14
	Візит 3	12	2,171	0,1691	2,175	1,95	2,5
Кпа	Візит 1	12	1,749	0,2183	1,71	1,48	2,35
	Візит 3	12	1,438*	0,121	1,45	1,28	1,6
підгрупа 1К контрольна							
МДА, нмоль-10 ⁶	Візит 1	12	3,027	0,0706	3,015	2,92	3,12
	Візит 3	12	3,433*	0,3895	3,3	3,1	4,32
GSH, 10-12 ммоль-ер.-1	Візит 1	12	1,973	0,0648	1,955	1,85	2,1
	Візит 3	12	1,811	0,1666	1,84	1,44	2,02
Кпа	Візит 1	12	1,579	0,1137	1,55	1,45	1,86
	Візит 3	11	1,812*	0,3149	1,7	1,49	2,68

* Висновок про достовірність відмінностей зроблений при рівні значущості $p < 0,05$

Аналіз динаміки показників ПАР в підгрупах важкоатлетів методами описової статистики наведено у таблиці 34.

Таблиця 34

Показник	Точка спостереження	Статистичні показники					
		n	M	m	Медіана	Хв.	Макс.
підгрупа 2А основна							
МДА, нмоль-10 ⁶	Візит 1	11	3,144	0,0754	3,11	2,95	3,76
	Візит 3	11	3,345*	0,0815	3,35	3,06	3,89
GSH, 10 ⁻¹² -1 ммоль-ер. ¹	Візит 1	11	1,804	0,0513	1,87	1,34	1,91
	Візит 3	11	2,265*	0,0753	2,31	1,76	2,57
Кпа	Візит 1	11	1,744	0,0481	1,70	1,57	2,01
	Візит 3	11	1,483*	0,0319	1,48	1,33	1,74
підгрупа 2Б основна							
МДА, нмоль-10 ⁶	Візит 1	11	3,401	0,0856	3,35	2,98	3,85
	Візит 3	11	3,715*	0,0810	3,66	3,35	4,26
GSH, 10 ⁻¹² ммоль-ер.-1	Візит 1	11	1,649	0,05853	1,56	1,35	1,92
	Візит 3	11	2,364*	0,08213	2,35	2,01	2,89
Кпа	Візит 1	11	2,079	0,07074	1,99	1,8	2,47
	Візит 3	11	1,573*	0,04881	1,61	1,21	1,81
підгрупа 2К контрольна							
МДА, нмоль-10 ⁶	Візит 1	11	3,331	0,07312	3,32	3,1	3,86
	Візит 3	11	3,578*	0,09271	3,58	2,97	3,92
GSH, 10 ⁻¹² 1 ммоль-ер. ¹	Візит 1	11	1,791	0,0539	1,76	1,51	2,12
	Візит 3	11	1,673*	0,0877	1,56	1,36	2,17
Кпа	Візит 1	11	1,855	0,0534	0,05	1,50	2,13
	Візит 3	11	2,181*	0,1133	0,11	1,41	2,68

* Висновок про достовірність відмінностей зроблений при рівні значущості $p < 0,05$

Таким чином, одна з найважливіших змінних, які визначають міру впливу на працездатність спортсменів, - вираженість окислювального стресу, що відповідає мірі порушень/поліпшень параметрів ПАР, прямо вказує на високу ефективність досліджуваних ЛЗ в групах представників різних видів спорту - легкої і важкої атлетики, оскільки знижується результуючий параметр вираженості порушень ПАР в організмі, в першу чергу, на мембранному рівні - Кпа. Зниження величини цього прооксидантно-антиоксидантного коефіцієнта чітко вказує на нормалізацію балансу окислювальних, пов'язаних з накопиченням активних радикалів кисню, і антиоксидантних, в першу чергу, неферментативних, чинників в організмі спортсмена при використанні аргініну аспартату і, особливо, комбінації аргініну аспартату з левокарнітином, на

тлі інтенсивних і регулярних фізичних навантажень.

Окрім параметрів спеціальної фізичної працездатності, додатковими критеріями ефективності застосування досліджуваних ЛЗ служили дані відносно змін вираженості оксидативного стресу. Оскільки різниці переважно були розподілені нормально, то порівняння значень параметрів, що вивчаються, в кожній групі і усередині підгруп для Т візит 3 і Т візит 1 виконувалося за допомогою парного критерію Стьюдента. Результати порівняння за допомогою парного критерію Стьюдента параметрів ПАР для кожної підгрупи легкоатлетів і важкоатлетів наведено у таблиці 35.

В результаті проведеного статистичного аналізу отриманих даних, показані значимі позитивні зміни показників ПАР в основних підгрупах 1А, 1Б і 2А, 2Б на відміну від контрольних значень у відповідних підгрупах легкоатлетів і важкоатлетів.

Таблиця 35

Параметр	Підгрупа	df	t- статистика	p значення (двостор.)	Статистично значимі відмінності*
легкоатлети					
МДА, нмоль-10 ⁶	Основна 1А	11	5,24 (t-Стьюдента)	p<0,001	*
	Основна 1Б	11	2,39 (t-Стьюдента)	p=0,036	*
	Контрольна 1К	11	3,65 (t-Стьюдента)	p=0,004	*
GSH 10 ⁻¹² ммоль-ер. 1	Основна 1А	11	20 (t-W)	p=0,278	
	Основна 1Б	11	5 (t-W)	p=0,005	*
	Контрольна 1К	11	3,41 (t-Стьюдента)	p=0,006	*
Кпа	Основна 1А	11	78 (t-W)	p<0,001	*
	Основна 1Б	11	78 (t-W)	p<0,001	*
	Контрольна 1К	10	1 (t-W)	p=0,002	*
важкоатлети					
МДА, нмоль-10 ⁶	Основна 2А	10	1 (t-W)	p=0,002	*
	Основна 2Б	10	5,38 (t-Стьюдента)	p<0,001	*
	Контрольна 2К	10	1,89 (t-Стьюдента)	p=0,088	
GSH 10 ⁻¹² ммоль-ер. 1	Основна 2А	10	1 (t-W)	p=0,002	*
	Основна 2Б	10	7,02 (t-Стьюдента)	p<0,001	*
	Контрольна 2К	10	1,78 (t-Стьюдента)	p=0,105	
Кпа	Основна 2А	10	4,54 (t-Стьюдента)	p=0,001	*
	Основна 2Б	10	5,25 (t-Стьюдента)	p<0,001	*
	Контрольна 2К	10	3,14 (t-Стьюдента)	p=0,011	*

*Висновок про достовірність відмінностей зроблений при рівні значущості p<0,05

Що стосується відсутності достовірного приросту вмісту в мембранах природного антиоксиданту GSH в основній підгрупі 1А у легкоатлетів, то слід зазначити, що визначальним параметром впливу на ПАРУ є зниження вмісту МДА, оскільки досліджувані ЛЗ виступають як

антиоксиданти, тобто субстанції, що в першу чергу, обмежують вираженість прооксидантних реакцій. Ці дані підтверджують ефективність впливу аргініну аспартату (окремо) і особливо у поєднанні з левокарнітином на параметри окислювального стресу, що обмежує формування ергогенних властивостей організму і, отже, спеціальної і загальної фізичної працездатності.

5 Аналіз вираженості впливу досліджуваних ЛЗ на психофізіологічний стрес в цілому і його складові у представників різних видів спорту - легкоатлетів і важкоатлетів - представлений в таблицях 36 і 37. У таблиці 36 наведений аналіз динаміки значень вираженості психофізіологічного стресу і його складових в підгрупах легкоатлетів методами описової статистики.

10

Таблиця 36

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Хвил.	Макс	P
основна підгрупа 1А								
Психологічний стрес, бали	Візит 1	12	21,36	0,6643	21	17	24	p<0,001
	Візит 3	12	19,82	0,5849	20	17	23	
Фізіологічний стрес, бали	Візит 1	12	20,64	0,5920	20	18	24	p=0,109
	Візит 3	12	19,73	0,4066	20	18	21	
Психофізіологічний стрес, бали	Візит 1	12	42,00	1,136	43	35	47	p<0,001
	Візит 3	12	39,55	0,9474	40	35	44	
основна підгрупа 1Б								
Психологічний стрес, бали	Візит 1	12	25,00	0,4606	131	22	28	p<0,001
	Візит 3	12	20,08	0,5568	122	16	23	
Фізіологічний стрес, бали	Візит 1	12	23,67	0,466	23,5	21	26	p<0,001
	Візит 3	12	19,08	0,6332	19,0	16	23	
Психофізіологічний стрес, бали	Візит 1	12	48,67	0,6999	49,0	45	52	p<0,001
	Візит 3	12	39,17	1,0650	40,5	33	44	
контрольна підгрупа 1К								
Психологічний стрес, бали	Візит 1	12	19,33	0,8558	19,0	15	26	p<0,001
	Візит 3	12	21,00	0,9455	20,5	17	28	
Фізіологічний стрес, бали	Візит 1	12	18,75	0,7295	19,0	14	23	p<0,007
	Візит 3	12	20,67	0,8646	20,5	16	25	
Психофізіологічний стрес, бали	Візит 1	12	38,08	1,379	39,0	37	44	p<0,001
	Візит 3	12	41,67	1,707	42,5	36	48	

*Висновок про достовірність відмінностей зроблений при рівні значущості p<0,05

Як видно з даних, представлених у таблиці 36, у легкоатлетів основних підгруп 1А і 1Б

спостерігаються достовірні зміни вираженості психофізіологічного стресу і його складових у бік зменшення. У контрольній підгрупі 1К, у спортсменів, що не мали ніякої фармакологічної підтримки в динаміці тренувального процесу, навпаки, відзначається збільшення проявів психофізіологічного стресу і його складових, що цілком з'ясовно з точки зору наростання психофізіологічної напруженості до кінця вивченого мезоциклу підготовки.

Ці таблиці 37 свідчать, що в цілому в підгрупах 2А і 2Б відзначається хоча і не дуже значне, але достовірне зниження вираженості психофізіологічного стресу і обох його складових.

Аналіз динаміки значень вираженості психофізіологічного стресу і його складових в підгрупах важкоатлетів методами описової статистики наведено у таблиці 37.

Таблиця 37

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Хвил.	Макс	P
основна підгрупа 2А								
Психологічний стрес, бали	Візит 1	11	21,27	0,7873	22	17	25	p<0,001
	Візит 3	11	19,55	0,7551	20	16	23	
Фізіологічний стрес, бали	Візит 1	11	21,36	0,9271	21	16	26	p=0,002
	Візит 3	11	20,09	0,9672	20	15	25	
Психофізіологічний стрес, бали	Візит 1	11	42,64	1,620	42	34	51	p<0,001
	Візит 3	11	39,64	1,686	39	31	48	
основна підгрупа 2Б								
Психологічний стрес, бали	Візит 1	11	22,18	0,6851	22	19	26	p<0,001
	Візит 3	11	17,55	0,5934	17	15	22	
Фізіологічний стрес, бали	Візит 1	11	22,64	0,6643	23	18	25	p<0,001
	Візит 3	11	17,73	0,4283	18	15	20	
Психофізіологічний стрес, бали	Візит 1	11	44,82	0,9421	44	40	50	p<0,001
	Візит 3	11	35,27	0,9448	35	31	42	
контрольна підгрупа 2К								
Психологічний стрес, бали	Візит 1	11	19,55	0,4545	19	18	23	p=0,053
	Візит 3	11	21,00	0,7261	21	18	25	
Фізіологічний стрес, бали	Візит 1	11	20,18	0,4635	20	18	24	p=0,016
	Візит 3	11	21,91	0,8889	22	17	28	
Психофізіологічний стрес, бали	Візит 1	11	39,73	39,73	39	37	44	p=0,014
	Візит 3	11	42,91	42,91	44	36	48	

*Висновок про достовірність відмінностей зроблений при рівні значущості p<0,05

Треба відмітити, що зниження вираженості проявів психофізіологічного стресу значно

помітніше в основних підгрупах спортсменів - і легкоатлетів, і важкоатлетів, що отримували комбінацію аргініну аспартату і левокарнітину. Якщо аргініну аспартат є потужним ангіопротектором і антиоксидантом, то левокарнітин приєднує до цього свою нейропротекторну і енерготропну дію, що і обумовлює переважаючий ефект поєднання двох ЛЗ відносно зниження вираженості психофізіологічного стресу.

У спортсменів підгрупи 2К, не отримуючих ЛЗ, вираженість психофізіологічного стресу в динаміці досліджуваного мезоциклу підготовки тривалістю 21 день збільшується, що надалі може стати чинником зниження не лише фізичної працездатності, але і результату самого змагання.

Важливим і у легкоатлетів, і у важкоатлетів є не лише абсолютне зниження проявів вираженості психофізіологічного стресу, але і перехід стресу із стадії "високий" в стадію "середній", що збільшує рівень психологічної стабільності спортсмена, підготовлюваного до змагань. Таким чином, зниження вираженості психофізіологічного стресу під впливом і аргініну аспартату окремо, і у поєднанні з левокарнітином, проявляє виражений нейропротекторний ефект у кваліфікованих спортсменів в умовах реального тренувального процесу.

Отримані ці зниження вираженості психофізіологічного стресу створюють передумови для обґрунтованого застосування спільно аргініну аспартату і левокарнітину у спортсменів як дозволених засобів стимуляції працездатності.

Що ж до типу темпераменту, а також мотиваційних складових, то вони практично не роблять впливу на фізичну працездатність і вираженість психофізіологічного стресу, не міняються достовірно в динаміці дослідження, тому і не аналізуються як визначальний ергогенний чинник.

Оцінка ефективності застосування досліджуваних лікарських засобів базувалася на положенні відносно приросту параметрів фізичної працездатності (і, відповідно, а подальшому - результатів змагань).

Оскільки змінна не носить дихотомічного характеру, оцінка ефективності поєданого застосування препарату, що перевищує, Оцінка ефективності застосування досліджуваних лікарських засобів базувалася на положенні відносно приросту параметрів фізичної працездатності (і, відповідно, в подальшому - результатів змагань).

Оскільки змінна не носить дихотомічного характеру, оцінка ефективності поєданого застосування аргініну аспартату і левокарнітину, що перевищує, проводилася порівняно з результатами, отриманими у спортсменів, що отримували впродовж 21-денного мезоциклу спостереження тільки аргініну аспартат, і над спортсменами контрольної групи, що не отримували фармакологічних засобів в динаміці тренувального процесу.

Виходячи з результатів аналізу даних, отриманих при використанні досліджуваних ЛЗ у легкоатлетів, можна зробити висновок про те, що загальний показник аеробної працездатності PWC170 за період дослідження при прийомі аргініну аспартату окремо і у поєднанні з левокарнітином практично однаковий. Проте, в обох випадках значення показника PWC170 перевищують приріст значень в контрольній групі спортсменів. Час проходження змодельованої дистанції змагання 800 м достовірно зменшується у спортсменів при прийомі аргініну аспартату відносно контрольних даних.

Ще більше виражене зменшення часу проходження цієї дистанції відмічене при курсовому застосуванні комбінації аргініну аспартату і левокарнітину.

Аналогічна динаміка зменшення відносно часу проходження дистанції змагання відзначається на 1500 м. Отримані дані дозволяють зробити висновок про ефективність поєданого курсового застосування аргініну аспартату і левокарнітину, що перевищує, над окремим застосуванням аргініну аспартату. В цілому ж треба відмітити, що, згідно з канонами спортивної науки, зменшення часу проходження дистанцій 800 і 1550 м на 1,5-2,0 сек. при реєстрації часу електронним хронометром дозволяє спортсменові-бігунові істотно підвищити свій результат змагання в цілому.

Що ж до результатів оцінки ефективності досліджуваних ЛЗ у важкоатлетів, то можна відмітити, що абсолютна достовірна зміна параметрів працездатності, що вивчаються, у важкоатлетів при використанні поєднання аргініну аспартату і левокарнітину порівняно з даними у спортсменів при прийомі аргініну аспартату відзначається тільки відносно приросту висоти стрибка з штангою в ривку. Інші значення зміни показників фізичної працездатності в групах спортсменів 2А і 2Б були рівнозначні, що вказує на відсутність ефективності одночасного курсового застосування комбінації, що перевищує, двох ЛЗ над прийомом тільки аргініну аспартату. По відношенню ж до параметрів фізичної працездатності важкоатлетів контрольної групи показаний чіткий достовірний приріст параметрів висоти стрибка з місця з штангою і висоти підйому штанги в ривку у спортсменів основних підгруп при одночасному зниженні часу виконання вправ, що вказує на поліпшення спеціальної фізичної працездатності представників

силових видів спорту за наявності використаного фармакологічного супроводу.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про більшу доцільність окремого курсового застосування аргініну аспартату у легкоатлетів і поєднаного аргініну аспартату і левокарнітину у представників силових видів спорту.

5 Оцінка безпеки і переносимості досліджуваних ЛЗ проводилась упродовж усього дослідження, на підставі динамічного клінічного спостереження за суб'єктивними і об'єктивними даними стану спортсменів незалежно від їх зв'язку з досліджуваним(и) ЛЗ. Оцінка переносимості застосування ЛЗ зроблена на підставі суб'єктивних відчуттів спортсменів, результатів фізикального огляду спортивним лікарем з фіксацією ЧСС і АТ і лабораторних даних.

10 Спортсмени добре переносили пероральне введення ЛЗ, ця форма є найбільш зручною для застосування в умовах тренувальних зборів і змагань. Застосування досліджуваних ЛЗ в курсовому режимі в динаміці стандартного тренувального процесу не зробило негативного впливу на кількісний рівень основних констант гомеостазу, включаючи дані загальноклінічного аналізу крові, і показників, що характеризують стан печінки, вуглеводного, ліпідного і азотистого обміну. Дані лабораторних досліджень представлені в таблицях 38 і 39.

15 Результати динамічної оцінки показників загального аналізу крові в підгрупах легкоатлетів методами описової статистики наведено у таблиці 38.

Таблиця 38

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Хвил.	Макс.	P
основна підгрупа 1А								
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Візит 1	12	5,55	0,12	5,45	5,0	6,4	p=0,142
	Візит 3	12	5,79	0,1067	5,9	5,0	6,2	
Еритроцити, 10 ¹² /л	Візит 1	12	4,72	0,08	4,7	4,3	5,1	p=0,504
	Візит 3	12	4,75	0,06	4,8	4,3	5,1	
Гемоглобін, г/л	Візит 1	12	147,7	2,4	145,0	136,0	167,0	p=0,481
	Візит 3	12	148,4	2,1	148,5	138,0	163,0	
основна підгрупа 1Б								
Лейкоцити, - 10 ⁹ /л	Візит 1	12	5,82	0,10	5,8	5,3	6,4	p=0,121
	Візит 3	12	5,55	0,13	5,6	4,7	6	
Еритроцити, - 10 ¹² /л	Візит 1	12	4,92	0,07	5,025	4,41	5,12	p=0,077
	Візит 3	12	4,87	0,06	4,87	4,48	5,12	
Гемоглобін, г/л	Візит 1	12	151,4	2,75	154,0	138,0	165,2	p=0,548
	Візит 3	12	150,0	1,92	148,5	138,0	161,0	

Продовження таблиці 38

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Хвил.	Макс.	P
контрольна підгрупа 1К								
Еритроцити, 10^{12} /л	Візит 1	12	4,88	0,10	4,38	5,74	4,83	p=0,777
	Візит 3	12	4,918	0,05	4,5	5,05	5,02	
Лейкоцити, 10^9 /л	Візит 1	12	4,88	0,13	5,65	5	6,4	p=0,4701
	Візит 3	12	4,91	0,17	5,5	4,6	6,6	
Гемоглобін, г/л	Візит 1	12	149,6	3,14	130	167	147	p=0,15
	Візит 3	12	153,5	2,46	134	160	157	

* Висновок про достовірність змін може бути зроблений при $p < 0,05$

Таблиця 39

Результати динамічної оцінки показників загального аналізу крові в підгрупах важкоатлетів методами описової статистики

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Хвил.	Макс.	P
основна підгрупа 2А								
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Візит 1	11	5,86	0,21	6,1	4,3	6,5	p=0,100
	Візит 3	11	6,05	0,15	6,0	5,3	6,8	
Еритроцити, 10 ¹² /л	Візит 1	11	4,89	0,069	5,0	4,36	5,04	p=0,170
	Візит 3	11	4,979	0,079	4,98	4,44	5,3	
Гемоглобін, г/л	Візит 1	11	154,6	154,6	155	142	164	p=0,078
	Візит 3	11	154,5	154,5	157	148	160	
основна підгрупа 2Б								
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Візит 1	11	5,51	0,21	5,6	4,5	6,4	p=0,655
	Візит 3	11	5,54	0,17	5,6	4,7	6,2	
Еритроцити, 10 ¹² /л	Візит 1	11	4,76	0,07	4,84	4,43	5,03	p=0,023
	Візит 3	11	4,90	0,06	4,92	4,50	5,11	
Гемоглобін, г/л	Візит 1	11	144,4	1,6	144	139	158	p=0,004
	Візит 3	11	147,4	1,5	148	142	158	
контрольна підгрупа 2К								
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Візит 1	11	5,42	0,21	5,5	4,3	6,4	p=0,102
	Візит 3	11	5,54	0,19	5,7	4,6	6,6	
Еритроцити, 10 ¹² /л	Візит 1	11	4,57	0,09	4,52	4,13	5,02	p=0,170
	Візит 3	11	4,65	0,07	4,74	4,22	4,96	
Гемоглобін, г/л	Візит 1	11	141,9	3,26	138	131	161	p=0,078
	Візит 3	11	145,8	2,38	146	135	158	

*Висновок про достовірність відмінностей може бути зроблений при $p < 0,05$

Таким чином, результати статистичного аналізу свідчать, що у представників обох видів спорту - легкоатлетів і важкоатлетів - курсовий прийом досліджуваних ЛЗ, як окремо аргініну аспартату, так і в поєднанні аргініну аспартату і левокарнітину, не робить достовірного

негативного впливу на основні параметри гомеостазу, що вивчаються. Це вказує на високий профіль безпеки препаратів при використанні в динаміці реальних інтенсивних тренувальних навантажень.

Відповідь організму на будь-яку фармакологічну дію зазвичай відбивається також в результатах дослідження біохімічних показників крові, що відбивають стан білкового, ліпідного, вуглеводного обміну, функціональний стан печінки і підшлункової залози, нирок і жовчовивідних шляхів. Результати динамічних досліджень біохімічних параметрів в сироватці крові легкоатлетів і важкоатлетів під впливом досліджуваних ЛЗ представлені в таблицях 40 і 41. У таблиці 40 наведено результати динамічної оцінки основних показників біохімічного аналізу крові в підгрупах легкоатлетів методами описової статистики.

Таблиця 40

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Мін.	Макс.	P
основна підгрупа 1А								
Загальний білок, г/л	Візит 1	12	69,88	0,587	70,0	66,8	73	p=0,312
	Візит 3	12	70,41	0,2737	70,6	68,5	71,8	
Білірубін загал., мкмоль/л	Візит 1	12	14,2	0,8959	14,4	8,6	18,4	p=0,822
	Візит 3	12	13,97	0,8535	14,6	7,9	18,3	
Сечовина, ммоль/л	Візит 1	12	7,025	0,1045	7,1	6,4	7,6	p=0,922
	Візит 3	12	7,012	0,1044	7,0	6,5	7,6	
Креатинін, ммоль/л	Візит 1	12	96,04	1,412	95,9	89,6	109,1	p=0,012
	Візит 3	12	101,6*	1,529	100,7	90,5	109,7	
Глюкоза, ммоль/л	Візит 1	12	4,967	0,07945	4,9	4,55	5,4	p=0,435
	Візит 3	12	5,014	0,06275	5,0	4,6	5,34	
Калій, ммоль/л	Візит 1	12	4,876	0,0698	4,9	4,3	5,1	p=0,012
	Візит 3	12	4,577*	0,09908	4,5	4,0	5,1	
Натрій, ммоль/л	Візит 1	12	139,4	0,4994	140	135	142	p=0,465
	Візит 3	12	140,8	0,716	140,5	138	145	
α-амілаза, У/л	Візит 1	12	177,8	7,551	174,7	141,5	211,3	p=0,408
	Візит 3	12	181,6	5,027	178,4	160	212,5	
Аланінаміно трансфераза, У/л	Візит 1	12	30,83	2,08	30,8	17,3	40	p<0,001
	Візит 3	12	27,00	1,662	26,2	16,4	37,5	
Аспартатаміно трансфераза, У/л	Візит 1	12	33,28	1,179	34,6	23,1	37	p<0,001
	Візит 3	12	25,97*	0,9724	25,5	20,9	32,1	
Холестерин, ммоль/л	Візит 1	12	3,544	0,07492	3,5	3,11	4,02	p=0,110
	Візит 3	12	3,616	0,06169	3,6	3,26	4	
Залізо сироватки, мкмоль/л	Візит 1	12	18,99	1,008	19,2	13,5	25,1	p=0,683
	Візит 3	12	19,15	1,017	19,1	13,2	25,1	
АЧТЧ сек.	Візит 1	12	29,63	0,5059	29,95	26,6	32,1	p<0,001
	Візит 3	12	26,25*	0,1867	26,15	24,9	27,5	
основна підгрупа 1Б								
Загальний білок, г/л	Візит 1	12	69,71	0,8445	69,7	65,9	76,5	p=0,661
	Візит 3	12	70,17	0,6377	69,85	67,1	75,3	
Білірубін загал., мкмоль/л	Візит 1	12	13,34	1,042	1,04	8,1	18,2	p=0,593

Продовження таблиці 39

	Візит 3	12	14,14	0,8561	0,86	10,2	19,2	
Сечовина, ммоль/л	Візит 1	12	7,05	0,0691	7,05	6,7	7,4	p=0,363
	Візит 3	12	6,88	0,1553	6,90	6,1	8,1	
Креатинін, ммоль/л	Візит 1	12	98,78	1,777	1,78	89,7	112	p<0,001
	Візит 3	12	106,7*	0,5662	0,57	102,9	110,1	
Глюкоза, ммоль/л	Візит 1	12	5,018	0,08173	5,01	4,59	5,35	p=0,876
	Візит 3	12	4,999	0,1029	4,93	4,53	5,67	
Калій, ммоль/л	Візит 1	12	4,93	0,05407	0,05407	4,5	5,2	p<0,001
	Візит 3	12	4,25*	0,1443	0,1443	3,6	5,1	
Натрій, ммоль/л	Візит 1	12	139,8	0,6835	139	137	145	p=0,028
	Візит 3	12	142,2	0,5882	142	138	145	
α-амілаза, U/l	Візит 1	12	187,1	13,01	187,6	124,6	288,6	p=0,131
	Візит 3	12	169,0	10,04	178,5	108,9	231,4	
Аланінаміно трансфераза, U/l	Візит 1	12	28,02	1,086	29,1	20,6	32,1	p=0,038
	Візит 3	12	23,82*	1,201	23,35	16,6	29,9	

Продовження таблиці 40

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Мін.	Макс.	P
Аспартатаміно трансфераза, U/l	Візит 1	12	33,7	33,7	35,5	24,8	37	p=0,021
	Візит 3	12	29,29*	29,29	29,4	21,4	35,9	
Холестерин ммоль/л	Візит 1	12	3,703	0,127	3,675	3,11	4,85	p=0,382
	Візит 3	12	3,588	0,083	3,585	3,00	4,00	
Залізо сироватки, мкмоль/л	Візит 1	12	19,27	1,44	17,1	14,2	30,7	p=0,432
	Візит 3	12	18,17	0,979	17,2	15,0	25,4	
АЧТЧ сек.	Візит 1	12	30,93	0,804	28,00	23,7	26,9	p<0,001
	Візит 3	12	25,90*	0,371	25,25	22,7	27,6	
контрольна підгрупа 1K								
Загальний білок г/л	Візит 1	12	69,67	0,5556	69,25	66,3	73	p=0,641
	Візит 3	12	69,34	0,6199	69,00	66,1	74,2	
Білірубін загал., мкмоль/л	Візит 1	12	14,67	0,8499	14,5	8,10	18,3	p=0,762
	Візит 3	12	14,33	0,6596	14,5	10,2	18,6	
Сечовина ммоль/л	Візит 1	12	6,892	0,1288	6,9	6,2	7,6	p=0,316
	Візит 3	12	7,075	0,0872	7,0	6,7	7,6	
Креатинін ммоль/л	Візит 1	12	98,59	2,193	96,5	87,9	109,3	p=0,569
	Візит 3	12	99,43	2,927	102,25	78	109,1	
Глюкоза, ммоль/л	Візит 1	12	5,139	0,1127	5,31	4,55	5,70	p=0,045
	Візит 3	12	4,776	0,1344	4,795	4,22	5,88	
Калій, ммоль/л	Візит 1	12	5,003	0,05169	4,92	4,8	5,4	p=0,005
	Візит 3	12	4,703*	0,06545	4,75	4,3	5,1	
Натрій, ммоль/л	Візит 1	12	140,4	0,7432	140,0	137,0	144	p=0,01

Продовження таблиці 40

	Візит 3	12	142,6	0,2289	143,0	141,0	144	
α-амілаза, U/l	Візит 1	12	185,9	6,999	192,1	144,6	215,6	p=0,255
	Візит 3	12	174,8	10,100	185,85	110,9	217,5	
Аланінаміно трансфераза, U/l	Візит 1	12	27,56	1,953	28,65	17,8	37,5	p=0,186
	Візит 3	12	22,82	2,698	22,10	22,3	36,4	
Аспартатаміно трансфераза, U/l	Візит 1	12	32,78	0,969	33,05	27,2	37,0	p=0,043
	Візит 3	12	29,25*	1,398	29,25	21,4	35,4	
Холестерин ммоль/л	Візит 1	12	3,832	0,1233	3,8	3,15	4,60	p=0,519
	Візит 3	12	3,634	0,1337	3,55	3,20	4,60	
Залізо сироватки, мкмоль/л	Візит 1	12	19,32	1,179	19,15	12,3	28,2	p=0,969
	Візит 3	12	19,26	1,148	18,4	14,0	28,0	
АЧТЧ, сек.	Візит 1	12	28,77	0,4171	28,45	27,0	31,7	p=0,207
	Візит 3	12	30,05	0,8000	30,00	26,4	35,4	

*Висновок про достовірність відмінностей може бути зроблений при $p < 0,05$

Оцінюючи вплив на усі вивчені параметри біохімічного гомеостазу легкоатлетів, слід зазначити, що негативних змін, обумовлених курсовим прийомом ЛЗ, що вивчаються, не відмічено. Треба відмітити, що, навпаки, в основних групах зареєстровано зменшення активності маркерних печінкових фермент Аст і Алт, що вказує на поліпшення функціонального стану печінки. Показана також практично відсутність впливу на рівні вмісту креатиніну і сечовини, що свідчить про сприятливий профіль безпеки вказаних лікарських засобів, що важливо при виборі препаратів фармакологічної підтримки у спортсменів. Важливим є встановлене в цьому КИ зменшення АЧТВ, що відбиває сприятливий вплив на агрегатний стан крові і, опосередковано, на швидкість перенесення кисню.

Аргініну аспартат, і особливо, його поєднане застосування з левокарнітином. Дуже важливе значення для прояву ергогенної дії аргініну аспартату має його виражений антиоксидантний ефект, який базується на зменшенні проявів оксидативного стресу за рахунок активізації функції антиоксидантних мембраноасоційованих ферментів, що показано в самих останніх дослідженнях.

Крім того, нещодавно було встановлено, що фармакологічні засоби, що містять аргінін, знижують ушкодження постнавантажень сарколеми більш ніж в 2 рази, що супроводжується зменшенням втрати вмісту десміну в м'язах на 25 % і зниженням регуляції мРНК μ -калпаїну, що кінець кінцем призводить до прискорення протікання процесів відновлення після тренувального заняття.

Не встановлено ніяких значимих зрушень в вмісті не лише основних електролітів калію і натрію, але і магнію і неорганічного фосфору, інших, окрім холестерину, показників обміну ліпідів (тригліцериди), параметрів обміну заліза (насичення трансферину залізом, загальна залізосполучна здатність сироватки). Результати динамічної оцінки основних показників біохімічного аналізу крові в підгрупах важкоатлетів методами описової статистики наведено у таблиці 41.

Таблиця 41

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Мін.	Макс.	P
основна підгрупа 2А								
Загальний білок, г/л	Візит 1	11	69,55	0,6159	70	65,6	73	p=0,39
	Візит 3	11	71,00	0,4262	70,9	69,4	74	
Білірубін загал., мкмоль/л	Візит 1	11	11,67	0,7424	10,9	9,3	16,8	p=0,002
	Візит 3	11	13,05	0,7497	12,3	10,8	18,4	
Сечовина, ммоль/л	Візит 1	11	6,736	0,1193	6,8	6,2	7,2	p=0,004
	Візит 3	11	7,418	0,1119	7,3	7	8,2	
Креатинін, ммоль/л	Візит 1	11	102,1	1,888	100,7	91,1	110	p=0,023
	Візит 3	11	107,4	1,641	108,5	99,4	115	
Глюкоза, ммоль/л	Візит 1	11	5,089	0,08975	5	4,5	5,53	p=0,24
	Візит 3	11	5,164	0,08359	5,2	4,7	5,7	
Калій, ммоль/л	Візит 1	11	4,345	0,1201	4,2	3,9	5,0	p=0,394
	Візит 3	11	4,418	0,07112	4,4	4,0	4,8	
Натрій, ммоль/л	Візит 1	11	141,6	0,5604	141	139	144	p=0,465
	Візит 3	11	140,6	0,9271	140	138	145	
α-амілаза, U/l	Візит 1	11	162,2	13,06	169,7	97,3	217,5	p=0,008
	Візит 3	11	175,5	11,84	189,6	116,8	220	
Аланінаміно-трансфераза, U/l	Візит 1	11	22,79	1,61	22,1	15	33,4	p=0,52
	Візит 3	11	22,11	1,122	20,4	18,2	28,2	
Аспартатаміно-трансфераза, U/l	Візит 1	11	29,62	1,684	31	18,3	36,2	p<0,001
	Візит 3	11	24,65*	1,362	24,8	17,4	30,8	
Холестерин, ммоль/л	Візит 1	11	3,843	0,09653	4,00	3,2	4,2	p=0,114
	Візит 3	11	3,778	0,09401	3,88	3,3	4,4	
Залізо сироватки, мкмоль/л	Візит 1	11	19,79	1,467	19	13,8	30,7	p>1,0
	Візит 3	11	19,79	1,467	19	13,8	30,7	
АЧТЧ, сек.	Візит 1	11	28,41	0,3976	28,5	26	30,2	p<0,001
	Візит 3	11	25,25*	0,2217	25,3	24,1	26,7	
основна підгрупа 2Б								
Загальний білок, г/л	Візит 1	11	72,4	0,8931	72,2	66,8	77	p=0,898
	Візит 3	11	72,33	0,4964	71,9	70,2	75,6	
Білірубін общ., мкмоль/л	Візит 1	11	14,08	1,11	14,4	8,5	19,5	p=0,601
	Візит 3	11	13,72	0,49	14,6	11,6	16,3	
Сечовина, ммоль/л	Візит 1	11	7,045	0,1461	7,1	6,0	7,6	p<0,001
	Візит 3	11	7,573	0,1096	7,4	7,1	8,1	
Креатинін	Візит 1	11	102,3	2,444	105,3	89,2	114,4	p=0,162

Продовження таблиці 41

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Мін.	Макс.	P
ммоль/л	Візит 3	11	107,2	1,577	108,2	98,6	112,6	
Глюкоза, ммоль/л	Візит 1	11	5,005	0,121	5,0	4,54	5,9	p=0,273
	Візит 3	11	5,104	0,053	5,1	4,80	5,4	
Калій, ммоль/л	Візит 1	11	4,573	0,09253	4,5	4,2	5,2	p=0,061
	Візит 3	11	4,391	0,07562	4,4	4,0	4,8	
Натрій, ммоль/л	Візит 1	11	141,5	0,4545	142	138	143	p=0,7
	Візит 3	11	140,9	1,163	140	134	146	
α-амілаза, U/l	Візит 1	11	156,6	7,501	174,6	124	213,7	p=0,001
	Візит 3	11	174,7	7,132	174,6	138,6	208,6	
Аланінаміно-трансфераза, U/l	Візит 1	11	17,3	1,465	27,3	17,3	34,5	p<0,001
	Візит 3	11	16,2	1,022	20,2	16,2	25,6	
Аспартатаміно-трансфераза, U/l	Візит 1	11	24,1	1,073	34	24,1	37	p<0,001
	Візит 3	11	19,6	0,8443	25,4	19,6	28,1	
Холестерин, ммоль/л	Візит 1	11	4,018	0,1506	3,9	3,4	4,8	p=0,269
	Візит 3	11	4,091	0,1171	4	3,5	4,6	
Залізо сироватки, мкмоль/л	Візит 1	11	15,02	0,6054	0,6054	11,6	18,3	P>1,0
	Візит 3	11	15,02	0,6054	0,6054	11,6	18,3	
АЧТЧ, сек.	Візит 1	11	30,74	0,6584	30,8	27,1	34,3	p<0,001
	Візит 3	11	26,25	0,3312	25,8	25,1	28,7	
контрольна підгрупа 2К								
Загальний білок, г/л	Візит 1	11	69,75	0,9366	69,3	65,3	76,3	p=0,432
	Візит 3	11	68,36	3,035	71	38,6	75,3	
Білірубін загаль., мкмоль/л	Візит 1	11	13,74	0,9837	13,1	9,2	19,8	p=0,262
	Візит 3	11	14,95	0,5912	15,2	11,3	17,4	
Сечовина, ммоль/л	Візит 1	11	6,764	0,1138	6,8	6	7,4	p<0,001
	Візит 3	11	8,345	0,1275	8,3	7,4	8,9	
Креатинін, ммоль/л	Візит 1	11	101,9	1,827	102,3	91	109,1	p<0,001
	Візит 3	11	112,8	0,9413	114,1	105,6	115,7	
Глюкоза, ммоль/л	Візит 1	11	5,34	0,1184	5,31	4,61	5,98	p=0,278
	Візит 3	11	5,25	0,0919	5,26	4,46	5,58	
Калій, ммоль/л	Візит 1	11	4,682	0,1256	4,6	4,1	5,4	p=0,077
	Візит 3	11	4,545	0,08242	4,4	4,2	5	
Натрій, ммоль/л	Візит 1	11	141,5	0,7181	142	137	144	p=0,899
	Візит 3	11	141,4	0,9842	140	136	146	
α-амілаза, U/l	Візит 1	11	175,1	11,09	189,5	97,6	208	p=0,022
	Візит 3	11	188,8	9,736	196,6	112,3	226,8	
Аланінаміно-трансфераза, U/l	Візит 1	11	25,05	2,002	25,1	10,8	35,0	p<0,001
	Візит 3	11	33,27	1,458	33,2	23,6	38,3	
Аспартатаміно-трансфераза, U/l	Візит 1	11	31,01	1,617	32,4	22,7	37,1	p=0,04

Продовження таблиці 41

	Візит 3	11	35,27	1,347	36,3	24,2	40,2	
Холестерин, ммоль/л	Візит 1	11	3,868	0,1814	3,7	3	4,85	p=0,808
	Візит 3	11	3,836	0,1503	3,8	3,2	4,8	
Залізо сироватки, мкмоль/л	Візит 1	11	15,76	0,6788	15,3	13,3	20,4	P>1,0
	Візит 3	11	16,22	1,043	15,3	13,3	25,4	
АЧТЧ, сек.	Візит 1	11	33,57	0,7786	33,5	29,6	37,0	p=0,02
	Візит 3	11	27,45	0,5884	27,0	25,8	32,6	

*Висновок про достовірність відмінностей може бути зроблений при $p < 0,05$

Отримані дані відносно безпеки застосування досліджуваних ЛЗ у важкоатлетів свідчать, що не виявлено негативних зрушень показників біохімічного гомеостазу в умовах напруженої м'язової діяльності.

5 Встановлені у край незначні підвищення активності маркерних ферментів підшлункової залози і печінки - α -амілази і АЛТ - знаходяться в межах помилки визначення і не є значимими.

Таким чином, отримані за допомогою методів описової статистики дані вказують на відсутність достовірних відмінностей найважливіших показників загального аналізу крові в основних і контрольних підгрупах як у легкоатлетів, так у важкоатлетів. Така ж відсутність якої-небудь негативної динаміки відзначається відносно значень гематокриту, середнього об'єму еритроцитів, їх відносній і абсолютній насиченості гемоглобіном і міри анізоцитозу, а також і тромбоцитів. Це чітко вказує на відсутність негативної реакції з боку системи крові спортсменів при курсовому використанні як окремо аргініну аспартату, так і при поєднаному прийомі аргініну аспартату і левокарнітину.

15 Об'єктивне дослідження спортсменів робилося при ергогенному огляді спортсменів з виміром фізіологічних показників. При лікарському контролі оцінювалася частота серцевих скорочень, артеріальний тиск, стан шкіри і видимих слизових та ін. За час дослідження найважливіші показники гемодинаміки в основних і контрольних підгрупах у представників обох видів спорту залишалися стабільними (таблиця. 42, 43). Динамічна оцінка результатів основних показників гемодинаміки в підгрупах легкоатлетів методами описової статистики наведена у таблиці 42.

Таблиця 42

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Мін.	Макс.	P
основна підгрупа 1А								
ЧСС, уд./хв.	Візит 1	12	58,67	1,84	59	47	73	p=0,74
	Візит 3	12	58,33	1,30	59	49	68	
АТ сист., мм рт.ст.	Візит 1	12	124,4	2,35	2,35	108	141	p=0,026
	Візит 3	12	122,1	1,84	1,84	112	135	
АТ діаст., мм рт.ст.	Візит 1	12	76,75	3,048	75,5	56	95	p=0,542
	Візит 3	12	75,58	2,065	77	62	86	
основна підгрупа 1Б								
ЧСС, уд./хв.	Візит 1	12	57,83	2,774	58	45,0	78,0	p=0,377
	Візит 3	12	56,25	1,244	57	49,0	66,0	
АТ сист., мм рт.ст.	Візит 1	12	129,1	7,982	131	111	138	p=0,325
	Візит 3	12	121,7	6,541	122	112	130	
АТ діаст., мм рт.ст.	Візит 1	12	78,83	3,01	3,01	63,0	100,0	p=0,009
	Візит 3	12	70,00	1,74	1,73	60,0	80	
контрольна підгрупа 1К								
ЧСС, уд./хв.	Візит 1	12	55,67	1,499	56,5	47,0	62	p=0,822
	Візит 3	12	55,92	0,9249	56,0	51,0	62	
АТ сист., мм рт.ст.	Візит 1	12	123	2,437	124	108	138	p=0,178
	Візит 3	12	124,7	2,203	125,5	110	135	
АТ діаст., мм рт.ст.	Візит 1	12	73,00	3,42	77,5	51,0	90	p=0,627
	Візит 3	12	73,67	2,545	75,0	54,0	84	

*Висновок про достовірність відмінностей може бути зроблений при $p < 0,05$

Динамічна оцінка результатів основних показників гемодинаміки в підгрупах важкоатлетів методами описової статистики наведена у таблиці 43.

5

Таблиця 43

Параметр	День дослідження	n	M	m	Медіана	Мін.	Макс.	P
основна підгрупа 2А								
ЧСС, уд./хв.	Візит 1	11	57,18	1,92	57	48	70	p=0,305
	Візит 3	11	58,55	0,78	59	54	62	
АТ сист., мм рт.ст.	Візит 1	11	125,9	1,194	125	120	132	p=0,037
	Візит 3	11	123,4	1,337	122	118	132	
АТ діаст., мм рт.ст.	Візит 1	11	83,36	1,41	85	74	90	p=0,023
	Візит 3	11	79,73	0,79	80	74	84	
основна підгрупа 2Б								
ЧСС, уд./хв.	Візит 1	11	58,73	1,61	60	45	65	p=0,813
	Візит 3	11	59,27	0,86	60	54	64	
АТ сист., мм рт.ст.	Візит 1	11	126,4	2,54	128	105	137	p=0,365
	Візит 3	11	123,8	2,55	128	111	132	
АТ діаст., мм рт.ст.	Візит 1	11	82,91	2,40	80	70	100	p=0,21
	Візит 3	11	79,45	1,40	80	72	84	
контрольна підгрупа 2К								
ЧСС, уд./хв.	Візит 1	11	60,82	0,59	62	58	64	p=0,138
	Візит 3	11	61,73	0,43	62	60	64	
АТ сист., мм рт.ст.	Візит 1	11	129,6	0,92	130	124	134	p=1,0
	Візит 3	11	129,6	0,80	128	126	134	
АТ діаст., мм рт.ст.	Візит 1	11	79,64	1,96	82	64	90	p=0,876
	Візит 3	11	80,00	0,7135	80	76	84	

*Висновок про достовірність відмінностей може бути зроблений при $p < 0,05$

Треба відмітити, що цифри ЧСС є референтними для спортсменів, у яких брадикардія належить до пристосовних реакцій тренувального процесу і вказує на економізацію роботи серця. Як видно з таблиці. 42, 43 частота серцевих скорочень, систолічний і діастолічний артеріальний тиск спортсменів основних і контрольних підгруп достовірний в динаміці дослідження не відрізнялися. Таким чином, не встановлено негативних порушень основних параметрів функціонального стану серцево-судинної системи у представників обох видів спорту - легкоатлетів і важкоатлетів - при курсовому застосуванні аргініну аспартату, і аргініну аспартату і левокарнітину, що підтверджує високий профіль безпеки досліджувані ЛЗ.

На підставі результатів проведеного дослідження можна зробити наступні висновки

1. Досліджувані ЛЗ є зручною формою для застосування спортсменами в умовах тренувальних зборів і змагань на етапах підготовки спортсменів, оскільки не вимагають розведення або іншого дозування, окрім вказаного виробником.

2. Застосування досліджуваного ЛЗ не призводить до негативних порушень загального стану спортсменів за результатами фізикального обстеження, не викликає порушень функціонального стану серцево-судинної системи, основних лабораторних показників.

3. Застосування досліджуваного ЛЗ призводить до стимуляції фізичної працездатності у представників різних видів спорту, незалежно від специфіки переважаючого механізму енергозабезпечення (аеробний, анаеробний гліколітичний), що виражається в зростанні параметрів загальної і спеціальної фізичної працездатності.

4. Застосування досліджуваного ЛЗ супроводжується істотною тенденцією до поліпшення вираженості психофізіологічного стресу, який належить до найважливіших чинників погіршення результатів тренувальної діяльності і змагань.

5. Застосування досліджуваного ЛЗ призводить до істотного зниження проявів оксидативного стресу, в першу чергу, на рівні клітинних мембран, що допомагає уникнути

розвитку подальших патобіохімічних порушень, властивих завершальному етапу підготовки кваліфікованих спортсменів.

6. Досліджуване ЛЗ добре переносяться спортсменами, практично не викликають побічних реакцій і можуть бути рекомендовані як дозволені ергогенні засоби на етапах підготовки спортсменів - представників циклічних і силових видів в любительському спорті і в спорті вищих досягнень.

Наведене вище свідчить про те, що фармацевтична композиція у запропонованому способі є високоефективною і перспективною для впровадження в медичну практику як засіб для підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини, яка зазнає фізичних навантажень, та поліпшення стану людини при синдромі астенії, дозволяє розширити арсенал і асортимент лікарських засобів для підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини та для поліпшення стану людини при синдромі астенії. Спосіб призводить до збільшення ефективності медикаментозного впливу на людину для поліпшення толерантності до фізичних навантажень у людини та поліпшення стану людини при синдромі астенії.

Наведені приклади здійснення способу лише ілюструють його і ніяк не обмежують.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб підвищення толерантності до фізичних навантажень у людини, яка зазнає фізичних навантажень, та поліпшення стану людини при синдромі астенії, що включає введення людині фармацевтичної композиції, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, що має таку лікарську форму як оральний розчин, фармацевтична композиція містить як активні компоненти аргініну аспартат та левокарнітин, містить такі допоміжні компоненти як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант і воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	180-320
левокарнітин	50-150
коригент рН, який є підкислювачем	1,5-6,0
підсолоджувач	0,4-1,2
консервант	0,5-2,0
вода	до 1 мл,

причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для підвищення толерантності до фізичних навантажень, поліпшення стану при синдромі астенії.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, що містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	240-300
левокарнітин	80-120
коригент рН, який є підкислювачем	2,5-4,5
підсолоджувач	0,6-1,0
консервант	1,0-1,5
вода	до 1 мл.

3. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, що містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	264
левокарнітин	100
коригент рН, який є підкислювачем	3
підсолоджувач	0,8
консервант	1
вода	до 1 мл.

4. Спосіб за будь-яким із пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як коригент рН, який є підкислювачем, яблучну кислоту.
5. Спосіб за будь-яким із пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як підсолоджувач сахаринат натрію.
- 5 6. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як консервант метилпарагідроксибензоат або пропілпарагідроксибензоат або суміш метилпарагідроксибензоату та пропілпарагідроксибензоату.
7. Спосіб за будь-яким із пп. 1-6, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як воду - воду для ін'єкцій.
- 10 8. Спосіб за будь-яким із пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція має щільність 1,1 г/мл, рН розчину 5-6,5, динамічну в'язкість при 20 °С 2,5 сП.
9. Спосіб за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що людина зазнає фізичних навантажень у спорті.
10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що станом людини при синдромі
- 15 астенії є стан, який виникає після перенесеного людиною захворювання.
11. Спосіб за будь-яким із пп. 1-10, який **відрізняється** тим, що фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є добовою дозою 20-40 мл.

20