Министерство спорта Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ, СПОРТА И ЗДОРОВЬЯ ИМЕНИ П.Ф. ЛЕСГАФТА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ»

(НГУ им. П.Ф. ЛЕСГАФТА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ)

УДК

Рег. № НИОКТР

Рег. № ИКРБС

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской

работе

НГУ им. П.Ф. Лесгафта,

Санкт-Петербург

д-р пед. наук, проф.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_С.М. Ашкинази

«\_\_\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2020 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ РАБОТОСПОСОБНОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ ОРГАНОВ У СПОРТСМЕНОВ ВЫСОКОГО КЛАССА НА ОСНОВЕ ИННОВАЦИОННЫХ ЛАБОРАТОРНО-БИОХИМИЧЕСКИХ АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ МЕТОДОВ

(заключительный)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Руководитель НИР:  д-р мед.наук, профессор | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | В.В. Дорофейков |
|  |  |  |

Санкт-Петербург 2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Руководитель темы  Заведующий кафедрой биохимии, д.м.н., профессор | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | В.В. Дорофейков |
| Ответственный исполнитель |  |  |
| Заведующий кафедрой биохимии, д.м.н., профессор | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | В.В. Дорофейков (раздел 1, 2) |
|  |  |  |
| Исполнители темы |  |  |
| Доцент кафедры биохимии, к.б.н. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | Е.В. Шапот (введение, раздел 1) |
| Доцент кафедры биохимии, к.б.н., доцент | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | Н.Д. Гольберг (введение, реферат) |
| Доцент кафедры биохимии, к.м.н. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | Т.Г. Невзорова (радел 1, заключение) |
|  |  |  |
| Ст. преподаватель кафедры биохимии | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | И.Ю. Анненко (раздел 2, заключение) |
| Нормоконтролер | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | И.В. Зырянова |

РЕФЕРАТ

Отчет 66 с., 10 рис., 14 табл., 15 источников.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. БИАТЛОН, ТРОПОНИН I, КРЕАТИНФОСФОКИНАЗА, КРЕАТИНФОСФОКИНАЗА (МВ), ВИТАМИН D(ОН), КРОВЬ.

Объектом исследования является изучение биомаркеров сердца, кальцидиол, в организме спортсменов-биатлонистов и гандболистов (кровь).

Цель работы – разработать новый подход к объективной оценке состояния здоровья в целом и сердечно-сосудистой системы спортсменов и метаболизма активной формы витамина D на основе инновационных автоматизированных лабораторно-биохимических методов.

Метод или методология проведения работ: использование биохимических и иммунохимических анализаторов для определения биомаркеров метаболизма до и после физической нагрузки у спортсменов высокого уровня.

Результаты работы: научные публикации, учебное пособие «Биомаркеры повреждения миокарда» (2017 г.), Патент на Изобретение «Клинико-лабораторный способ определения тяжести депрессии у молодых лиц» RUS2660576 и «Клинико-лабораторный способ оценки степени тяжести депрессии у молодых лиц», Патент на изобретение RU 2660576.

Научной новизной настоящей научно-исследовательской работы является:

использование высокочувствительного тропонина и креатинкиназы (МВ по массе) для оценки состояния метаболизма спортсменов, выявление резкого снижения витамина D(OH) в сыворотке крови к весеннему отрезку тренировочного периода, а также при депрессивных расстройствах у молодых лиц, что требует коррекции для поддержания формы спортсменов, разработка нового способа определения макроформ креатинфосфокиназы и ее изофермента МВ.

Степень внедрения: результаты доложены на международных конгрессах, в том числе на Конгрессе в Афинах 2017 (Евромедлаб), в 2019 г. Барселона (Евромедлаб), в Минске (2017, 2020), на Всероссийских конференциях и форумах в Москве, Санкт-Петербурге, внедрены в работе НГУ им. П.Ф. Лесгафта, кафедра биатлона, в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга, внедрение результатов по Патенту РФ RUS2660576 в Ассоциации организаций здравоохранения «Центр Бехтерев» с 10.02.2019 г.

Рекомендации по внедрению или итоги внедрения результатов НИР: на всероссийском уровне в течение года по завершении работы.

Область применения: спорт высших достижений, спортивная медицина, клиническая лабораторная диагностика.

Основные потребители полученных результатов научных исследований кафедры биохимии могут выступать: федерация биатлона, лыжных видов спорта, других зимних видов спорта, медицинских учреждений РФ.

Эффективность НИР: применение разработанных методов позволит повысить объективность оценки состояния здоровья и работоспособности спортсмена и вносить коррективы в тренировочный процесс.

Значимость работы: впервые в спортивной науке применены современные лабораторно-биохимические методы оценки здоровья спортсменов с использованием высокочувствительного тропонина I, КФК (МВ) по массе, уровня активной формы витамина D в организме, что будет способствовать совершенствованию тренировочного процесса и, следовательно, повышению результатов спортсменов.

СОДЕРЖАНИЕ

[ВВЕДЕНИЕ 3](#_Toc59712407)

[1. Основная часть 3](#_Toc59712408)

[1.1. Организация эксперимента 3](#_Toc59712409)

[1.2 Методы исследований 3](#_Toc59712410)

[1.3 Информированное согласие 3](#_Toc59712411)

[2. Результаты 3](#_Toc59712412)

[2.1 Маркеры повреждения сердца, мышц и другие биохимические показатели крови 3](#_Toc59712413)

[2.2 Изучение метаболизма витамина D в осенний и весенний периоды тренировок у спортсменов 3](#_Toc59712414)

[3. Обсуждение результатов 3](#_Toc59712415)

[ЗАКЛЮЧЕНИЕ 3](#_Toc59712416)

[СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ 3](#_Toc59712417)

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторные анализы давно и прочно заняли важное место в работе врачей спортивной медицины и тренеров, особенно в спорте высших достижений. В последние годы лабораторно-биохимические анализы быстро усложняются, расширяется их спектр, модернизируются и автоматизируются используемые методы исследований. Также за последние годы произошли такие важные события как появление инновационных методов изучения липидного обмена как у пациентов кардиологичнеских стационаров, так и в спортивной медицине, настоящим прорывом стало изучение биомаркеров повреждения сердца и мозга после физических нагрузках [1, 2, 3].

Повреждение сердца не возникает изолированно и всегда сопровождается возникновением системной воспалительной реакции организма, оценить которую можно с помощью количественных методов определения острофазных реактантов и некоторых цитокинов. Для оценки системных воспалительных изменений, например, после спортивных травм информативно использовать тест на определение С-реактивного белка плазмы крови или сыворотки высокочувствительным методом (значения показателя выше 3.0 мг/л можно рассматривать как требующие углубленного медицинского обследования на предмет выявления системной воспалительной реакции, наличия очагов инфекции) [4]. Полезным анализом является и определение такого показателя острой фазы как фибриноген плазмы крови. Концентрацию фибриногена более 4,0 г/л в плазме крови спортсмена необходимо рассматривать как свидетельство повышенного риска возникновения тромботических осложнений и прогрессирования осложненных форм атеросклероза (аналогично в период пандемии новой коронавирусной инфекции у зараженных пациентов).Многие ферменты поступают в системный кровоток из органов, в которых они вырабатываются и выполняют свои функции. Исследование активности таких энзимов (ферментов) является очень чувствительным показателем состояния организма. Наибольшее значение для диагностики повреждения мышечной ткани и миокарда придаётся изменениям уровня креатинкиназы (СК), ее сердечной изофракции СК(МВ), в меньшей степени лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и аспартатаминотрансферазы (АсАт). Определение изофермента СК(МВ) позволяет оценить объём поражения сердечной мышцы и характер восстановительных процессов у спортсменов, т.к. активность фермента возвращается к исходным значениям обычно через двое суток после повреждения. В условиях современной, оснащенной клинико-диагностической лаборатории в последние годы появилась возможность определять не активность, а СК(МВ) по массе [5, 6]. Определение показателя проводят с использованием автоматических иммунохимических анализаторов, исследование занимает 15-20 минут до получения ответа.

В соответствии с Российскими и Международными рекомендациями (2012-2019 гг.), для диагностики повреждения сердечной мышцы нужно использовать определение в крови кардиоспецифичных тропонинов [7].Тропониновый комплекс был обнаружен на тонких филаментах всех типов мускулатуры, где он регулирует кальций-опосредованное мышечное сокращение. У взрослого человека в здоровом миокарде желудочков содержится около 10-12 мг тропонина T в 1 грамме сырого веса ткани сердца, а тропонина I содержится около 4-6 мг/г, 1-2 мг/г креатининкиназы. Некоторые авторы считают, что вследствие гипертрофии миокарда у профессиональных спортсменов эти значения необходимо умножать на коэффициент 2. Тропонины I и T являются абсолютно специфичными маркерами повреждения миокарда. Длительное повышение концентрации тропонинов после инфаркта миокада связано не с медленным выведением, а постоянным выделением тропонина, связанного с миофибриллами, так как происходит некроз поврежденных клеток и их сократительного аппарата [8].

Технологии определения маркеров повреждения миокарда совершенствуются постоянно ведущими иностранными производителями лабораторного оборудования и реактивов. Внедрение в лабораторную практику высокочувствительных автоматизированных методик определения кардиоспецифичных тропонинов в последние 2-4 года позволило отказаться от качественных тестов на тропонин и определить уровень тропонина у каждого индивидуума в динамике при развитии болезней сердца или повреждения кардиомиоцитов [9, 10]. Новое поколение тестов позволяет определять практически следовые концентрации протеина в плазме крови, что привело к необходимости пересматривать показатели «нормы». Повышенным уровнем сердечных тропонинов считают значения, превышающее 99-й процентиль нормальной популяции [7, 9]. Высокочувствительным тест на тропонин может считаться при соблюдении следующих условий: во-первых, концентрация белка должна быть ниже верхней границы нормального уровня (99-ой процентили), а также должна определяться не менее чем у 75% здоровых лиц, кроме того, коэффициент вариации теста при 99 процентиле не должен превышать 15-20%. Третье поколение высокочувствительных тестов, каким, например, является «ARCHITECT High Sensitive Troponin I» (США), обнаруживают тропонин у 98% здоровых лиц, а коэффициент вариации при уровне белка, соответствующему 99 процентилю, не превышает 5-6 %. Серьезные научные исследования последнего времени показывают, что использование высокочувствительного тропонина позволяет отказаться для диагностики острого инфаркта от таких маркеров как трансаминазы, миоглобина и лактатдегидрогеназы.

Особое значение приобретает количественное определение маркеров некроза миокарда в спортивной медицине. В пионерской работе [Mingels](http://www.clinchem.org/search?author1=Alma+Mingels&sortspec=date&submit=Submit) A. и соавт. (2009 г.) изучена динамика тропонинов у большой группы спортсменов-марафонцев. Среди группы бегунов-стайеров проводили лабораторное исследование крови до, после окончания бега и через сутки после соревнований [11, 14]. Уровень сердечного тропонина до соревнований не отличался у исследуемых спортсменов от показателей здоровой популяции. В пробах крови сразу по окончании бега значения обоих кардиоспецифических тропонинов были повышенными по сравнению со значениями до физической нагрузки. Серьезное повышение концентрации маркера обнаружено почти у 50 % спортсменов. Вопрос о безопасном уровне повышения кардиотропонинов в крови до сих пор остается открытым [7, 12]. Только масштабные длительные исследования смогут подсказать врачам и тренерам, какой уровень показателя является безопасным для спортсмена, в какие временные рамки необходимо забирать кровь у испытуемых. В многоцентровых кардиологических исследованиях продемонстрировано, что возрастание уровня кардиотропонина не наблюда­ется в первые 1-2 часа после болевого приступа ишемии, а отмечается в период, когда и увеличение изофермента СК-МВ. Диагно­стическая чувствительность теста на тропонин I в период до 6 ч колеб­лется от 40% до 60%, а затем резко возрастает и достигает 98% [3, 6, 7, 11]. Максимум повышения кардиоспецифичных тропонинов приходится на 12-16 часов, а кратность возрастания доходит до 500. Эти проверенные в многочисленных клинических исследованиях данные можно использовать спортивным врачам при планировании забора крови у спортсменов с подозрением на повреждение сердца. Введение в спортивную медицину тестов на высокочувствительный тропонин I в скором времени позволит выявлять с высокой достоверностью некрозы миокарда минимального размера, а также планировать допустимые нагрузки на сердце профессиональным спортсменам.

Перспективным для спортивной медицины биомаркером перегрузки миокарда, являются натрийуретические пептиды В-типа. В течение последних лет очень активно стали проводиться исследования таких биомаркеров у пациентов с одышкой и подозрением на хроническую сердечную недостаточность (ХСН). В настоящее время золотым стандартом, используемым в клинической практике кардиологов, стало определение концентрации натрийуретического пептида В-типа (BNP) и его неактивного фрагмента (NTproBNP). История изучения натрийуретических пептидов началась с середины 50-х годов ХХ века, когда в кардиомиоцитах были обнаружены гранулы, похожие на аналогичные гранулы желез внутренней секреции. В 1980-81 годах было показано увеличение экскреции натрия и воды и снижение артериального давления после инъекций гомогенизированной ткани предсердий крысам, в 1984 г. была идентифицирована структура предсердного натрийуретического пептида. В последующие годы удалось расшифровать также структуру гена, кодирующего пептид и пути его синтеза. Затем из мозга свиньи был выделен пептид, вызывавший натрийуретический и диуретический эффекты, сходный с ANP. Несмотря на то, что этот пептид был назван мозговым (МНП или BNP), достоверно известно, что основным местом синтеза МНП является миокард желудочков сердца. Таким образом, к семейству натрийуретических пептидов относят группу структурно сходных (17 аминокислотных остатков), но генетически обособленных пептидов, которые оказывают влияние на сердечно-сосудистую, эндокринную и мочевую системы, являются антагонистами ренин-ангиотензиновой и симпатико-адреналовой систем, альдостерона. ANP и BNP синтезируются в виде предшественников, которые в дальнейшем расщепляются на активный пептид и биологически совсем неактивный N-терминальный пептидный фрагмент. Регуляция выброса ANP происходит за счет высвобождения из накопительных гранул клеток. МНП синтезируется в кардиомиоцитах желудочков сердца, преимущественно в левом желудочке, в виде N-терминального фрагмента, состоящего из 76 аминокислот, и активного гормона, содержащего 32 аминокислоты (МНП или BNP). Также BNP освобождается из предсердий и накапливаться в накопительных гранулах. Стимулом для освобождения ANP и BNP является растяжение миоцита и объемная перегрузка сердца (миокарда). Главным сигналом для выброса BNP в кровь является повышение напряжения миокарда [2, 8, 12]. Стресс пропорционален внутриполостному давлению и радиусу левого желудочка и обратно пропорционален толщине стенки сердца. Это важно для понимания физиологических причин повышения уровня МНП, основным пусковым механизмом которого является увеличение конечного диастолического давления. Регуляция секреции МНП происходит на уровне экспрессии гена, которая в ответ на соответствующие стимулы может возрастать достаточно быстро. Важно заметить, что синтез и выброс натрийуретических пептидов (МНП и АНП) могут стимулировать избыток натрия или кальция, эндотелины разных типов, вазопрессин, провоспалительные цитокины, тахикардия.

МНП выводятся из организма сразу после активации рецепторов этих молекул, приводящий к эндоцитозу и посредством ограничеснного протеолиза энзимом подкласса нейтральных эндопептидаз, заметное количество которого определяется в эпителиальных клетках проксимальных канальцев нефронов. Время полужизни циркулирующего ANP составляет от трех до пяти минут, тогда как для BNP - около 20 минут. Неактивный терминальный фрагмент NT-proBNP имеет еще большее время жизни, чем BNP (от 1 часа до 2-х часов по разным оценкам), что необходимо учитывать при использовании в качестве диагностического теста в медицине. Т.о., роль натрийуретических пептидов заключается в увеличении диуреза, блокаде ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и ослаблении эффекта эндотелина I. Таким образом достигается снижение давления в полостях сердца и увеличение ударного объема, снижение тонуса сосудов, а также общего периферического сопротивления.

Результатами зарубежных исследований в последнее десятилетие показано, что определение натрийуретических пептидов в плазме крови позволяет оценить тяжесть и прогнозировать дальнейшее течение таких патологических состояний, как острая и хроническая сердечная недостаточность, острый коронарный синдром, кардиомиопатия, артериальная гипертензии и др. [2, 5, 7, 12]. По мнению большинства исследователей, измерение концентрации в плазме BNP дает точную прогностическую информацию; также имеются данные, что BNP более точно отражает напряжение в стенке левого желудочка. Уровень МНП или его N-фрагмента у людей с хронической сердечной недостаточностью как правило коррелирует с функциональным классом и фракцией выброса левого желудочка. Концентрации в плазме BNP выше 100 пг/мл свидетельствует о диагнозе хронической или острой сердечной недостаточности, особенно при наличии кардиологического анамнеза. Необходимо отметить снижение концентрации этого пептидного гормона ниже 100 пг/мл коррелирует (для NT-фрагмента ниже 200 пг/мл) с функциональным улучшением у пациентов и тенденцией к снижению частоты неблагоприятных исходов заболеваний. Считается доказаным, что повышение уровня МНП у пациентов с нормальной систолической функцией левого желудочка может говорить о наличии диастолической дисфункции, что очень важно для спортивной медицины. Поскольку пептид секретируется кардиомиоцитами в ответ на увеличение внутрижелудочкового давления, определение его уровня позволяет провести дифференциальную диагностику между одышкой сердечного и легочного происхождения.

До настоящего времени отсутствует стандартизация используемых аналитических методов, и в разных биохимических методах используются разные антитела и их фрагменты к различным аминокислотным последовательностям BNP. В этой связи в клинической практике врачи ориентируются на значения нормальных величин, приводимых производителями лабораторного оборудования или набирать свои контрольные группы здоровых лиц и пациентов, что является крайне дорогим мероприятием. Несмотря на важное клиническое значение для оценки риска развития сердечных нарушений и дифференциального диагноза, МНП отражают только один из патологических механизмов развития патофизиологического состояния перегрузки сердца. Процесс определения уровней биомаркеров в крови не должен требовать существенных трудовых затрат, измерение должно проводиться с высокой аналитической точностью; уровень биомаркеров должен отражать важные патофизиологические механизмы развития и прогрессирования патологического состояния; полученные данные не должны дублировать результаты других имеющихся клинических исследований (включая уровни других биомаркеров). В настоящее время только тропонин и натрийуретические пептиды обладают указанными свойствами. В биохимическом плане необходимо отметить высокую лабильность молекул МНП, включая быстрое разрушение при хранении проб и в результате процедур замораживания/оттаивания крови. Молекула NT-proBNP более стабильна при хранении, что дает ей преимущество как биомаркера перегрузки сердца.

В спортивной медицине применение описанных выше тестов – дело ближайшего будущего. Наиболее перспективным мы считаем применение указанных биохимических тестов у высококвалифицированных спортсменов, для которых характерны физические нагрузки большой интенсивности, выполняемые в течение 60 минут и более, а также нагрузки максимальной мощности, связанные с напряжением больших групп мышц. Перспективным мы считаем проведение таких биохимических исследований у спортсменов, связанными с травматизацией грудной клетки (падения, ушибы, удары), например у боксеров, хоккеистов и т.д.

Дефицит **витамина D** для организма человека является проблемой всемирного масштаба, осознание которой пришло в последнее десятилетие [13, 15]. Это связано с новыми возможностями лабораторной диагностики, которых раньше просто не было. В России тестирование на уровень витамина D в крови появилось в последние 2-5 лет в крупных городах с использованием импортной аппаратуры и реагентов, а стоимость такого анализа к сожалению является недоступной для системы обязательного медицинского страхования населения. Осознания значимости этой проблемы для сохранения здоровья населения и в спортивной медицине нет ни у организаторов здравоохранения, ни у большинства спортивных врачей и тренеров. По традиции, витамин D относят к жирорастворимым витаминам. В организме человека он синтезируется из провитамина под влиянием ультрафиолетовых лучей солнечного света при облучении кожи. Витамин D (холекальциферол), поступающий из продуктов питания и пищевых добавок, а также образующийся в коже при нахождении на солнце, биологически инертен. Для его превращения в активные метаболиты, которые затем связываются со специфическими рецепторами в тканях, необходимы две реакции гидроксилирования: первая реакция происходит в печени под влиянием 25-ОН-гидроксилазы и холекальциферол превращается в 25-гидроксивитамин D [25(OH)D] (кальцидиол). Образовавщийся метаболит длительное время циркулирует в крови (до 21 дня) и очень удобен для биохимического анализа. Затем в тканях (преимущественно в почках) кальцидиол снова гидроксилируется под действием фермента 1-альфа-гидроксилазы с образованием физиологически активного 1,25-дигидроксивитамина D (кальцитриол), время полужизни которого в крови не превышает 30 минут. Кальцитриол часто называют D-гормоном или гормоном солнца, для него характерны свойства гормонов как следующие: воздействие кальцитриола на все клетки-мишени осуществляется через белковые рецепторы и внутриклеточные вторичные мессенджеры, эффекты кальцитриола на уровне клеток реализуются путем изменения скорости энзиматического катализа метаболических реакций либо синтеза внутриклеточных энзимов, хотя сам гормон не является ферментом или коферментом.

Концентрация D-гормона или кальцитриола в крови определяется активностью альфа-гидроксилазы. Синтез этого энзима контролируется парат-гормоном и самим кальцитриолом по принципу отрицательной обратной связи. Классическими мишенями действия D-гормона являются внутренние органы, такие как кишечник, почки, паращитовидные железы и костная ткань. Витамин D играет важную роль в поступлении кальция и фосфора в кишечнике, в поддержании их уровня в крови. Согласно научным данным, полученным за последние годы функции витамина не ограничиваются только регуляцией кальций-фосфорного обмена. Он также определяет такие физиологические процессы в организме, как иммунитет, клеточный рост, нервно-мышечную проводимость, и воспаление. Витамин регулирует экспрессию большого количества генов, кодирующих протеины, участвующие в размножении, дифференцировке и апоптозе клеток. В ядрах многих клеток имеются специальные рецепторы к витамину, в некоторых клетках и тканях находится 1-альфа-гидроксилаза, которая поддерживает необходимую внутриклеточную концентрацию кальцитриола для «нужд» клетки.

Дефицит холекальциферола, как будет сказано ниже, является распространенным состоянием и может способствовать развитию слабости в мышцах проксимальных отделов конечностей, замедлению скорости ходьбы, создает трудности при вставании из положений сидя, а также подъеме тяжелых предметов. Типичными клиническими особенностями витаминD-зависимой миопатии являются «утиная» походка и уменьшение мышечной массы и силы с сохранением сухожильных рефлексов. При исследовании больных на электромиографе с дефицитом витамина характерно укорочение полифазных двигательных потенциалов, снижение амплитуды, соответствующее картине миопатии. Скорость проводимости нервных импульсов тоже снижается. Симптомы заболевания поддаются лечению препаратами холекальциферола, что подтверждает его важную этиологическую роль в развитии заболевания. Данные исследований показывают наличие связи между обеспеченностью витамином и физическими возможностями человека. Среди мужчин и женщин старше 60 лет, участвовавших в независимом исследовании NHANES, лица с высоким уровнем 25(OH)-витамина D в крови быстрее проходили расстояние в 8 футов и поднимались с кресла, чем индивидуумы с более низким уровнем витамина D, независимо от уровня повседневной физической активности. В проспективном исследовании «Study of Aging Amsterdam» низкий уровень витамина 25(OH)D в крови являлся предиктором снижения силы сжатия кисти и уменьшения мышечной массы конечностей у мужчин и женщин в течение последующих трех лет. 8-недельный комбинированный прием витамина D и кальция у наблюдавшихся амбулаторно пожилых женщин с уровнем 25(OH)D менее 50 нмоль/л (нижняя граница нормы от 75 нмоль/л или 30 нг/мл) уменьшал раскачивание тела при ходьбе на 9% по сравнению с пациентами, принимавшими только препараты кальция. Биопсия мышц у взрослых с выраженным дефицитом витамина D показала атрофию мышечных волокон («волокон быстрой реакции»), которые активируются первыми при необходимости предотвращения падения. Этот факт объясняет склонность к падениям у пожилых людей с дефицитом витамина D. Гистологическое исследование мышц у таких пациентов показало увеличение межволоконных пространств, жировую инфильтрацию, фиброз и накопление гранул гликогена. Предметом нескольких исследований было влияние восполнения дефицита витамина D на состав мышечных волокон. В небольшом европейском исследовании биопсийного материала, полученного у пожилых женщин после лечения витамином и препаратами кальция в течение 3-6 месяцев было показано увеличение количества и объема мышечных волокон IIа типа. В рандомизированном контролируемом исследовании у пожилых пациентов, перенесших инсульт, было выявлено, что в течение 2-летнего периода лечение витамином в суточной дозе 1000 МЕ значительно увеличивало долю и средний диаметр мышечных волокон II типа; при этом отмечалась корреляция между уровнем 25(OH)D в крови и диаметром мышечных волокон. Эффекты витамина D в отношении мышц представлены на рис. 1. Таким образом, исследования последнего десятилетия подтверждают значимость витамина D для нормального функционирования мышечной и костной ткани.



Рисунок 1 – Эффекты витамина D на скелетные мышцы

Географическая широта проживания является важным фактором, определяющим интенсивность ультрафиолетового излучения солнца. Показано, что у лиц европеоидной расы удаление на каждый градус широты севернее или южнее от экватора уровень 25(ОН)D в крови снижается на 0,7 нмоль/л. Таким образом, географическое расположение всей территории Российской Федерации является предпосылкой для высокой распространенности дефицита гормона солнца. Однако в настоящее время крупных эпидемиологических исследований в РФ содержания витамина D не проводилось. Систематические обзоры и большие мета-анализы зарубежных авторов подтверждают факт наличия ассоциации дефицита витамина D с повышением риска остеопороза, падений, мышечной слабости, общей и сердечно-сосудистой смертности и низкой физической активностью людей старшего возраста, а также с наличием депрессии [15]. Одной из важнейших, но малоизученных функций витамина D является регулирование развития и функционирования нервной системы. Он обладает защитным эффектом на нервные клетки, который связан с влиянием витамина на синтез нейротрофинов (общее название секретируемых протеинов, поддерживающих жизнеспособность нейронов, стимулирующих развитие и активность клеток), медиаторов, участвует во внутриклеточной регуляции кальция и предотвращении стресс-окислительного повреждения нейронов. Витамин D рассматривают как нейростероид, его метаболиты могут проникать через гематоэнцефалический барьер. Рецепторы витамина D находятся в областях головного мозга, которые участвуют в развитии депрессивных расстройств. Высказаны обоснованные предположения о взаимосвязи между низким уровнем витамина и наличием депрессии. Отмечена положительная терапевтическая динамика при применении витамина D в лечении депрессии. Описано положительное влияние стабилизации уровня холекальцифкрола на отдельные проявления депрессии: уменьшение подавленности, раздражительности и усталости, слабости, нормализация сна, улучшение концентрации внимания.

В то же время необходимо отметить, что витамин D является жирорастворимым соединением, депонируется в печени, и при передозировке (концентрация в крови более 120-150 нг/мл) возможно развитие опасных осложнений, описанных в медицинской литературе. Особую опасность представляет неконтролируемое лечение витамином D детей и подростков в период роста организма.

Другой важной проблемой является недостаточное потребление кальция с продуктами питания большинством населения планеты. Самым низким в Европе было потребление кальция у женщин в странах Центральной и Восточной Европы, среди женщин и мужчин - в Эстонии, Венгрии и Литве. Для контроля за потреблением и метаболизмом кальция в организме мы рекомендуем определять концентрацию кальция в суточной моче и ионизированный кальций в сыворотке крови. Рекомендации по адекватному приему кальция с пищей были разработаны в последние годы различными общественными и государственными организациями. Институт Медицины США (2010) и Национальный фонд остеопороза США (2014) рекомендовал всем взрослым людям принимать с пищей 1000 мг кальция в сутки; женщинам старше 50 лет и мужчинам старше 70 лет - 1200 мг/сут. Европейские рекомендации по остеопорозу (2012) также включают ежедневный прием 1000 мг кальция всем людям старше 50 лет. В то же время потребление кальция более 2500 мг в сутки приводит к частому развитию осложнений и побочным эффектам. Поступление кальция в организм можно рассчитывать с помощью таблиц по используемым пациентом продуктам питания, однако всасывание и выведение из организма возможно оценить только с помощью биохимических анализов определения уровня ионизированного кальция в крови и суточной моче.

Таким образом, по нашему мнению выполнение трех лабораторных анализов – *определение витамина D(ОН) в крови, кальция в суточной моче и в крови,* позволит достоверно определить у спортсменов, других лиц из групп риска состояние кальциевого обмена и дефицит витамина D на ранней стадии с целью восполнения и профилактики таких состояний и улучшения работы скелетно-мышечного аппарата, поддержания спортивной формы на протяжении всего года и особенно при недостатке солнечного света в зимне-весенний период. Бесконтрольное употребление витаминных препаратов и минералов представляет реальную опасность и не рекомендуется экспертами.

Таким образом, у врачей спортивной медицины появляются новые возможности для оценки степени повреждения сердечно-сосудистой системы и прогнозирования возможных осложнений, которые им дает внедрение новых высокотехнологичных лабораторных методов. Достоинством таких технологий является быстрота выполнения анализа (до 1 часа), высокая степень точности и воспроизводимости, наличие разрешений для использования Министерством Здравоохранения РФ. Важным достоинством указанных методов является возможность изучения маркеров в динамике. Недостатком методик является необходимость наличия в клинико-диагностической лаборатории высокотехнологичного оборудования и достаточно высокая стоимость расходных материалов для выполнения указанных анализов.

1. **Основная часть**
   1. **Организация эксперимента**

В исследовании приняли участие 20 спортсменов - биатлонистов мужского пола в возрасте 18-24 лет, квалификация – КМС и МС РФ. Испытуемые занимаются данным видом спорта 8-14 лет.

Высокие требования к уровню специальной и скоростно-силовой выносливости биатлонистов предопределяет схему построения тренировочного процесса с поэтапным решением частных задач. В годичном цикле подготовке предусматривается четыре этапа: базовый, накопления потенциала, этап реализации потенциала и этап восстановления.

Основной задачей базового этапа (июнь-июль) является разносторонняя подготовка с акцентом на развитие силовой и общей выносливости, совершенствование технических приемов стрельбы, создание общей базы подготовленности для выполнения последующих интенсивных тренировок.

Второй этап - накопление потенциала (август-октябрь). Основной задачей этапа является дальнейшее развитие специальной и общей выносливости, в стрелковой подготовке - воспитание навыков ведения быстрой и точной стрельбы после выполнения объемных и интенсивных нагрузок циклического характера. 3 этап - снежный, накопление потенциала (ноябрь-декабрь).Основными задачами этапа являются: дальнейшее совершенствование общей и специальной выносливости в передвижении на лыжах, совершенствование техники передвижения, закрепление высокого качества стрельбы и скорострельности после интенсивных физических нагрузок. Тренировочные нагрузки увеличиваются постепенно в основном за счет увеличения объема циклической работы. Объем нагрузки за это время достигает величин 45-50 км в одноразовом тренировочном занятии. После 15 тренировочных дней, проводимых на снегу, постепенно включаются тренировки повторного и интервального метода. Увеличение тренировочных нагрузок происходит путем увеличения скорости передвижения и увеличения доли тренировочных занятий, проводимых попеременным, повторным и интервальным методами.

Вторые тренировки на этом этапе носят восстановительный характер и проводятся в спокойном передвижении на лыжах до 2-8 раз в недельном цикле и 2-8 тренировочных занятий, направленных на поддержание общефизической подготовленности. Соревновательный период - этап реализации потенциала (декабрь-апрель).Основными задачами являются: дальнейшее совершенствование скоростной и силовой выносливости, стабилизации навыка ведения быстрой и точной стрельбы, повышение тактической, психологической подготовленности, морально-волевых качеств. Планирование тренировки проводится индивидуально для каждого спортсмена в зависимости от его текущего состояния тренированности, необходимости устранения недостатков в подготовке, выявляемых во время соревнований и на этапах комплексных обследований.

Микроциклы тренировочных нагрузок строятся по принципу от одного соревнования к другому. Вследствие этого они могут быть двух-‚ трех- и четырехдневными. Учитываются также варианты переезда из одного города в другой, условия среднегорной и временной акклиматизации, возможность проведения двухразовых тренировочных занятий. Особое значение приобретает чередование больших нагрузок с малыми паузами относительного отдыха. Динамика объема и интенсивности нагрузок имеет ярко выраженный волнообразный характер.

Основная направленность подготовки – это подведение спортсмена в состояние наивысшей спортивной формы к основным стартам сезона и в зависимости от состояния и индивидуальных особенностей проводится по принципу "маятника" или "контраста".

Оценка эффективности системы подготовки проводится в течение сезона по данным соревновательной деятельности, а также этапных и текущих обследований.

В недельном цикле в зависимости от задач, решаемых в отдельном тренировочном занятии, целесообразно следующая последовательность распределения нагрузок по средствам и методам.

Соревновательный период - этап реализации потенциала (декабрь- апрель).

Основными задачами являются: дальнейшее совершенствование скоростной и силовой выносливости, стабилизации навыка ведения быстрой и точной стрельбы, повышения тактической, психологической подготовленности, морально-волевых качеств. Планирование тренировки индивидуально для каждого спортсмена в зависимости от его текущего состояния тренированности, необходимости устранения недостатков в подготовке, выявляемых во время соревнований и на этапах комплексных обследований.

Микроциклы тренировочных нагрузок строятся по принципу от одного соревнования к другому. Вследствие этого они могут быть двух-‚ трех- и четырехдневными. Учитываются также варианты переезда из одного города в другой, условия среднегорной и временной акклиматизации, возможность проведения двухразовых тренировочных занятий.

Особое значение приобретает чередование больших нагрузок смалыми паузами относительного отдыха. Динамика объема и интенсивности нагрузок имеет ярко выраженный волнообразный характер.

Основная направленность подготовки - подведение спортсменов в состояние наивысшей спортивной формы к основным стартам сезона в зависимости от состояния и индивидуальных особенностей проводится по принципу "маятника" или "контраста".

Опробование системы подготовки проводится в течение сезона по данным соревновательной деятельности, а также этапных и текущих обследований.

**1.2** **Методы исследований**

Для решения поставленных задач использовались следующие методы исследования:

- анализ литературных источников

- педагогические наблюдения

- опрос в виде анкетирования

- тестирование

- педагогический эксперимент

- метод математической статистики

- лабораторные исследования

- биохимические анализы крови.

1.Теоретический анализ и обобщение.

Анализу подвергнуты научно-методические данные раскрывающие сущность методики контроля функциональной подготовленности высококвалифицированных биатлонистов, а также сущность применения маркеров как одного из этих методов. Всего изучено 51 работа.

Анализ научно-методической литературы применялся нами с целью выявления актуальности проблемы и состояния вопроса исследования в доступной нам литературе. В ходе анализа научно-методической литературы было проанализировано 51 источник. Данный метод позволил нам проанализировать особенности функциональной подготовки квалифицированных биатлонистов методики её контроля, и применения биомаркеров миокарда как инновационной методики, а также мнения ученых о возможности ее использования в подготовке квалифицированных биатлонистов.

2. Педагогическое наблюдение.

Педагогическое наблюдение проводилось в реальных условиях учебно-тренировочного процесса квалифицированных биатлонистов с целью анализа организации и методики проведения занятий у квалифицированных спортсменов. В процессе эксперимента осуществлялось открытое наблюдение за действиями испытуемых, что позволило вносить необходимые коррективы в организацию и методику.

3. Опрос в виде анкетирования

Для того чтобы выявить уровень BNP и высокочувствительного тропонина, а также проследить динамику их роста после физической нагрузки, была проведена гонка в беге с имитацией на 10 км и два забора крови до, через час и через 12 часов после нагрузки.

Функциональную подготовленность мы определяли ступенчатым тестом из которого было выявлено на наш взгляд два самых информативных показателя: время достижения уровня ПАНО и объем выполненной работы в ВТ·мин/кг. Тест проводился на тредбане, испытуемые выполняли ступенчато-возрастающую нагрузку на беговой дорожке (каждые две минуты, нагрузка возрастала) с фиксацией показателей выполненной работы и времени достижения ПАНО. Данный тест был проведен нами два раза, до и после педагогического эксперимента.

5. Педагогический эксперимент был использован в работе как основной метод научного исследования, доказывающего эффективность использования биомаркеров миокарда в корректировке тренировочного плана и повышение качества подготовки квалифицированных биатлонистов. Эксперимент был проведен с соблюдением общепринятых принципов. К проведению эксперимента были привлечены 20 квалифицированных биатлонистов, разделенных на две неравноценные группы, одна из них выступала в качестве ЭГ, другая в качестве КГ( контрольной группы).

6. Статистическая обработка результатов исследования.

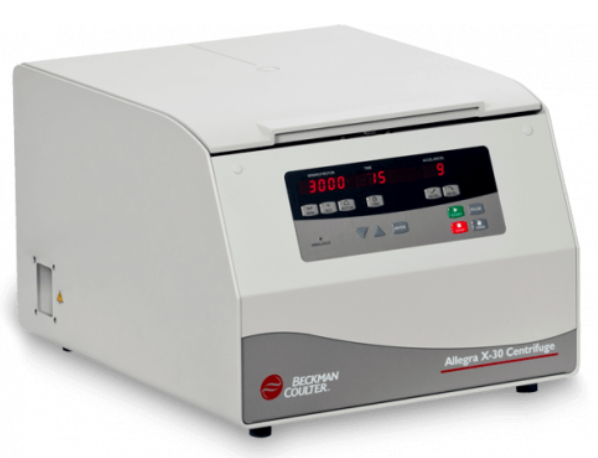
В процессе исследования велся учет и анализ всех, интересующих нас, параметров как в экспериментальной, так и в контрольной группах.

Для оценки результатов педагогического воздействия использовался математический метод анализа. Количественные изменения выразились в процентном соотношении, достоверность различий независимых результатов определялась по t-критерию Стьюдента.

Экспериментальная часть исследования проводилась на базе НГУ им. П.Ф. Лесгафта «Медицинский центр» и УТЦ «Кавголово» во время тренировочного процесса биатлонистов. Группа состояла из 10 квалифицированных биатлонистов (4-МС, 4-КМС, 2 спортсмена-1 разряда) мужского пола в возрасте 18-23 лет, которые в сезоне 2018-2019 года тренировались и активно принимали участие в соревнованиях по биатлону регионального и всероссийского уровня. Антропометрические показатели биатлонистов: рост 176,5±2,1 см, масса тела 69,4±1,8 кг, индикт массы тела 22,3±0,3. В группу сравнения входили 10 квалифицированных гандболистов мужского пола в возрасте 18-21 лет.

Экспериментальная часть состояла из последовательных 2 этапов исследования. 1 этап был поведён ноябре в подготовительный период подготовки и заключался в диагностики состояния здоровья до начала соревновательного периода. 8 ноября утром с 9:15 до 9:40 проводился опрос в форме интервью. После подписания информированного согласия осуществлялся забор крови из вены натощак в вакуумные системы специализированным персоналом медицинского центра НГУ им. П.Ф. Лесгафта. В течение часа кровь была доставлена в биохимическую лабораторию НМИЦ им. В.А. Алмазова для проведения клинико-лабораторных исследований. Перед проведением анализов было выполнено центрифугирование на оборудовании компании «Beckman Coulter» (США). Центрифугированная кровь поступила в анализатор «Architect i2000SR» на иммунохимию и анализатор «Architect c8000SR» на биохимические анализы компании «Abbott» (США), с использованием реактивов и контрольных материалов производителя (рисунок 2).

а)б)



в)



Рисунок 2 – Высокоскоростная центрифуга «Beckman Coulter» (а), иммунохимический анализатор «Architect i2000SR» (б), биохимический анализатор «Architect c8000SR» (в)

Вечером того же дня группа испытуемых выполняла физическую нагрузку на лыжах равномерным методом тренировки в лыжном туннеле с 16:30 до 18:30. Испытуемые передвигались равномерным темпом в течение одного часа 30 минут свободным стилем. Частота сердечных сокрушений у испытуемых находилась в диапазоне 140-160 ударов в минуту.

9 ноября после 12-14 часов от завершения нагрузки выполнялся повторный забор крови натощак у биатлонистов. Процедура проведения анализов в лаборатории выполнялась повторно.

2 этап исследования проводился в конце января (28-29.01.2019), в период между основными стартами. 28 января с 16:30 до 18:30 спортсмены выполняли тренировку на лыжах, длительность, темп и ЧСС соответствовала тренировочной нагрузки ноября, единственное различие состояло в месте проведения тренировки, в январе она проходила на открытом воздухе.

На следующий день после 12-15 часов завершения тренировочной нагрузки, проводился забор крови из вены натощак. Процедура проведения анализов в лаборатории полностью соответствовала ноябрьскому этапу. Дополнительно было исследовано гематологические параметры крови. Клинический анализ крови выполнялся на многопараметровом автоматическом анализаторе «CELL-DYN Ruby» компании «Abbott» (США) (рисунок 3).

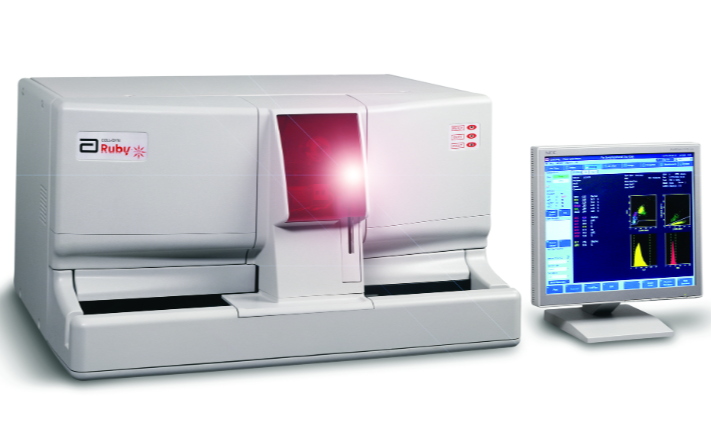


Рисунок 3 – Гематологический анализатор «CELL-DYN Ruby»

Полученные данные анализировали и делался вывод об эффективности использования биомаркеров в оценке состояния здоровья спортсменов.

**Целью** настоящих экспериментов явилось изучение изменений специфических кардиомаркеров до и спустя 60 минут, а также 12-14 часов после физической нагрузки аэробного характера у профессиональных биатлонистов высокого класса в крови.

После получения письменного согласия были обследованы 20 спортсменов-биатлонистов мужского пола (мастера спорта и кандидаты в мастера спорта) в возрасте 19-24 лет. Использовали венозную кровь, взятую утром до выполнения физической нагрузки через 2-3 часа после легкого завтрака и после повторного забора крови через 60 минут после завершения имитации бега на лыжах с палками, дистанция составила 13 км. Нами определены такие показатели, как С-реактивный протеин количественным методом (CRP), высокочувствительный тропонин I, CK (MB)-mass с использованием реактивов, калибровочных и контрольных материалов и анализаторов «Architect i1000, c4000» (Abbott, США), см. выше.

**1.3 Информированное согласие**

Все спортсмены подписывали после ознакомления информированное согласие по разработанной форме (образец).

**НГУ физической культуры, спорта и здоровья им. П.Ф Лесгафта, Санкт-Петербург.**

**Информированное добровольное согласие на медицинское**

**вмешательство**

Вы приглашены для участия в исследовании «Изучение влияния физической нагрузки на биомаркеры сердечно-сосудистой системы» целью которого является оценка влияния физической нагрузки на биохимические показатели крови спортсменов. Для определения тех или иных показателей венозной крови и её составных частей (плазма, сыворотка и прочее) кровь с помощью венепункции забирается в специальную пробирку, содержащую компоненты для обеспечения сохранности крови и содержащихся в ней веществ, которые будут определяться в лаборатории. При условии, что Вы согласитесь на участие в этом исследовании, Вам будет **выполнен забор венозной крови в количестве 8 мл *с использованием стандартных одноразовых разрешенных игл и переходников для забора венозной крови, имеющие необходимые разрешения Росздравнадзора.*** В Вашей крови будут проведены определения гемоглобина, глюкозы, витамина D, холестерина, тропонина, мозгового натрийуретического пептида, креатинкиназы, лактата. Образцы крови будут пронумерованы и обезличены. После выполнения анализов в тот же день образцы крови будут обеззаражены и утилизированы в стандартном порядке.

Участие в исследовании не будет сопровождаться какими-либо дополнительными рисками для Вашего здоровья, а результаты исследования помогут определить значимость влияния физической нагрузки на сердечно-сосудистую систему.

Работы будут проведены под руководством доктора медицинских наук, врача клинической лабораторной диагностики высшей категории Дорофейкова Владимира Владимировича. Телефон для связи 911 2112612.

Я \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(фамилия, имя, отчество - полностью)

добровольно даю свое согласие на проведение испытаний моего образца крови в рамках научно-исследовательской работы «Изучение влияния физической нагрузки на биомаркеры сердечно-сосудистой системы»

Подпись\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

ФИО врача, получившего согласие испытуемого

Подпись\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1. **Результаты**

**2.1 Маркеры повреждения сердца, мышц и другие биохимические показатели крови**

Концентрация CRP в сыворотке крови находилась в пределах нормальных значений (0,5-2,2 мг/л) у биатлонистов до физической нагрузки позволил судить об отсутствии системного воспаления в организме обследованных спортсменов (таблица 1). Дальнейшее определение концентрации данного маркёра не проводилось.

Таблица 1 – Средние значения биохимических показателей плазмы крови у биатлонистов высокого класса до и после физической нагрузки

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **этап исследования** | **Llac**  **Мммоль/л** | **Glu**  **ммоль/л** | **CСRP**  **Мг/л** | **CK**  **Ед/л** | **CK-MB**  **Ед/л** | **Липидный спектр (моль/л)** | | | |
| **ХС** | **HDL** | **LDL** | **TG** |
| До | 2,52±0,4 | 5,12±0,2 | 0,41 | 551,5±1,2 | 20,9±0,6 | 3,8±0,2 | 1,4±0,3 | 1,85±0,2 | 0,98±0,1 |
| Через 60 минут после нагрузки | 1,78±0,2 | 4,9±0,1 | **-** | 667,7±1,2 | 25,5±0,3 | **-** | **-** | **-** | **-** |

Общая креатинкиназа сердечной мышцы состоит из двух изоферментов: СК-ММ (около 60% общей активности) и СК(MB) (менее 40%). СК(MB) является димером, состоящим из следующих субъединиц: М (мышечная) и В (мозговая). Считается, что СК(MB) является кардио-специфичной. В скелетных мышцах обнаруживается не более 3% данного белка. Следовательно, повышение концентрации СК(MB) является более специфичным при повреждениях сердечной мышцы. Уровень повышения концентрации СК(MB) обычно соответствует степени повреждения миокарда при ишемическом повреждении. Наибольшая активность СК(MB) объясняется наиболее быстрым выходом фермента из поврежденного участка. Повреждение же скелетной мускулатуры сопровождается увеличением концентрации СК-ММ.

При исследовании концентраций тропонина I и СК(MB) у биатлонистов было выявлено, что данные показатели соответствовали величинам, характерным для здоровых лиц и составили соответственно 2,8 нг/л и 20,9 ЕД/л. Динамические изменения уровня лактата в крови биатлонистов до и после физической нагрузки аэробного характера незначительны, особенно у хорошо тренированных спортсменов, что объясняется наличием перерывов в гонке для стрельбы (таблица 1). Исходные значения лактата составили 2,52 моль/л, с последующим понижением данного показателя до уровня 1,78 моль/л. Как известно, уровень лактата на финише напрямую зависит от тактики гонки (количества ускорений). Уровень глюкозы в крови биатлонистов несколько понижается, что обусловлено эмоциональным фактором (5,12 ммоль/л до физической нагрузки и 4,9 ммоль/л после физической нагрузки). В понятие липидного спектра сыворотки крови входят следующие показатели: общий холестерин (в норме 3,0 – 5,0ммоль/л), липопротеины высокой плотности (ЛПВП) (нормальные значения составляют более 1,0 ммоль/л), липопротеины низкой плотности (ЛПНП) с показателями нормальных значений 3,36 – 4,14 ммоль/л, триглицериды (< 1,8 ммоль/л).

Понижение уровня холестерина, как и его повышение, свидетельствует о развитии различной патологии в организме. Снижение концентрации общего холестерина свидетельствует о значимом повреждении синтетической функции печени и плохом прогнозе для жизни, повышенный уровень холестерина – о прогрессировании атеросклероза. Анализ липидного спектра крови биатлонистов, проведенный до начала физической нагрузки, свидетельствует об отсутствии нарушений липидного обмена у всех обследованных спортсменов. Динамический контроль липидного спектра не проводился в связи отсутствием целесообразности повторных исследований. Концентрация тропонина I и СК(MB) у биатлонистов высокого класса находились в пределах нормальных величин, характерных для здоровых лиц и составили соответственно 2,8 нг/л и 20,9 ЕД/л. Через 60 минут после завершения физической нагрузки аэробного характера в крови у всех спортсменов уровень кардиомаркеров достоверно увеличился, СК в среднем на 40%, концентрация тропонина I увеличилась в 2.1 раза. Эти данные говорят о существенно более высокой чувствительности определения тропонина I по сравнению с сердечной изоформой креатинкиназы. В дальнейших исследованиях необходимо изучить время, которое необходимо для возвращения уровней кардиомаркеров к исходным значениям.

В таблице 2 представлены результаты анализов на BNP и hsTnl, а так же выведены дельты возрастания данных показателей после нагрузки. Эти результаты повлияли на формированиея контрольной и экспериментальной групп.

Таблица 2 – Результаты анализов на BNP и hsTnl

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | BNP (до) | BNP (после) | ∆hsTnl | hsTnl (до) | hsTnl (после) | ∆hsTnl |
| А.С. | 13,2 | 11,1 | -2,1 | 2,4 | 8,4 | 6 |
| И.И. | 19,4 | 17,2 | -2,2 | 1,4 | 8,2 | 6,8 |
| В.А. | <10,0 | 11,1 | 1,1 | 0,9 | 8,2 | 7,1 |
| Н.Д. | 14,6 | 12,4 | -2,2 | 2,1 | 3,1 | 1 |
| Е.П. | 18,9 | 15,7 | -3,2 | 4,9 | 5,3 | 0,4 |
| А.А. | <10,0 | <10,0 | 0 | 1 | 1,1 | 0,1 |
| Я.Г. | 48,8 | 41,5 | -7,3 | 34,7 | 32,8 | -1,9 |
| А.Н. | <10,0 | <10,0 | 0 | 4,2 | 4,5 | 0,3 |
| К.К. | 11,1 | <10,0 | -1,1 | 7,8 | 10,7 | 2,9 |
| Д.А. | 14,2 | 10,9 | -3,3 | 0,7 | 3,6 | 2,9 |

Помимо тестов на биомаркеры миокарда, нами были сделаны и другие биохимические анализы организма, которые в свою очередь указывали на то, что все спортсмены здоровы. Показатели уровня гемоглобина, тестостерона, а также витамина D, который напрямую влияет на физическую работоспособность, у всех спортсменов были в норме.

По результатам показателей биомаркеров в ЭГ вошли 4 спортсмена, чьи показатели натрийуретического пептида (BNP) и высокочувствительного тропонина (hsTnl) превышали допустимые нормы.

В Контрольную группу (КГ) вошли спортсмены, с исходно нормальными показателями биомаркеров миокарда.

Таблица 3 – Разделение спортсменов на ЭГ и КГ по BNP и hsTnl

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа | | BNP (до нагрузки) | BNP (после нагрузки) | hsTnl (до нагрузки) | hsTnl (после нагрузки) |
| ЭГ | 1 | 19,4 | 17,2 | 1,4 | 8,2 |
| 2 | 18,9 | 15,7 | 4,9 | 5,3 |
| 3 | 48,8 | 41,5 | 34,7 | 32,8 |
| 4 | 13,2 | 11,1 | 2,4 | 8,4 |
| КГ | 1 | 11,1 | <10,0 | 7,8 | 10,7 |
| 2 | <10,0 | 11,1 | 0,9 | 8,2 |
| 3 | 14,6 | 12,4 | 2,1 | 3,1 |
| 4 | <10,0 | <10,0 | 1 | 1,1 |
| 5 | <10,0 | <10,0 | 4,2 | 4,5 |
| 6 | 14,2 | 10,9 | 0,7 | 3,6 |

С целью определения исходных показателей уровня функциональной подготовленности участников эксперимента был проведен ступенчатый тест (Таблица 4) в котором мы получили показатели по выполненной работе (Вт·мин/кг) и время достижения ПАНО (мин).

Таблица 4 – Результаты первого тестирования работоспособности

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группа | | Выполненная работа (Вт·мин/кг) | Время достижения ПАНО (мин) |
| ЭГ | 1 | 325,6 | 11,3 |
| 2 | 297,98 | 12,5 |
| 3 | 312,86 | 10,5 |
| 4 | 281,88 | 9,9 |
| Х±m |  | 304,6±5,1 | 11,5±1,3 |
| КГ | 1 | 387,92 | 15,6 |
| 2 | 376,4 | 15,2 |
| 3 | 383,65 | 14,2 |
| 4 | 365,3 | 14,7 |
| 5 | 370,6 | 13,9 |
| 6 | 340,24 | 13,4 |
| Х±m | | 370,7±3,3 | 14,5±0,2 |

Взяв результаты первого тестирования и сравнив их с результатами второго, мы обнаружили, что спортсмены с повышенными показателями биомаркеров миокарда так же имеют низкие показатели в функциональном тесте.

Оценка состояния здоровья спортсменов до начала соревновательного периода. Лабораторные исследования в спортивной биохимии направлены на оценку состояния здоровья, адекватности воздействия физических нагрузок на организм спортсмена по изменению активности и концентрации значимых метаболитов. При этом следует учитывать особенности тренировочного процесса и вид спорта занимающегося.

Соревновательный период любого спортсмена является важнейшим звеном тренировочного года. Именно в это период проявляются все свои наработки подготовительного периода и функциональные резервы организма спортсмена. Поэтому оценку состояния здоровья спортсмена перед соревновательным периодом необходимо проводить с использованием клинико-лабораторной диагностики, которая позволяет определить уровень адаптации к физическим нагрузкам, а также состояние спортивной готовности к выступлениям на соревнованиях.

В ноябре перед соревновательным периодом нами были проведены клинико-лабораторные исследования с целью оценки состояния здоровья квалифицированных биатлонистов мужского пола. Перед забором венозной крови все спортсмены были опрошены, для выявления особенностей состояния здоровья, мышечных болей и применяемых биологически активных добавок (рисунок 4).

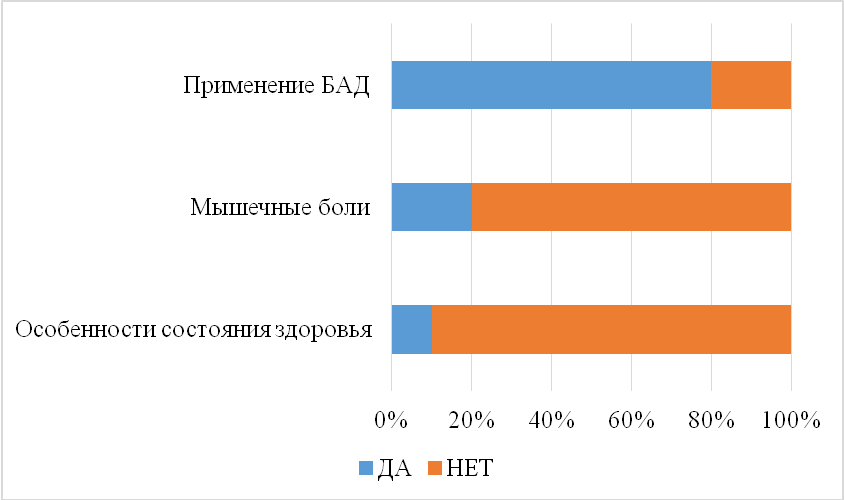


Рисунок 4 – Результаты опроса биатлонистов перед первым забором крови (n=10)

Таким образом, мы видим, что 80 % испытуемых применяют БАД, в основном витаминно-минеральные комплексы и изотонические напитки. Двое исследуемых спортсменов имеют жалобы на мышечные боли в ногах, возможно вызванные высокоинтенсивными тренировками перед исследованием. У одного биатлониста имеется синдром Жильбера – это наследственное заболевание характеризующийся умеренным интермиттирующим повышением содержания общего билирубина в сыворотке крови с признаками желтухи. В диагностических целях нами было проведено индивидуальное исследование концентрации общего билирубина в сыворотке крови у данного спортсмена. В норме концентрация общего билирубина в крови не должна превышать 20,5 мкмоль/л. По результатам клинико-лабораторной диагностики показатель общего билирубина испытуемого в ноябре составил 38,6 мкмоль/л, что подтверждает синдром Жильбера.

Результаты биохимических исследований крови в ноябре месяце после дня отдыха отображены в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели клинико-лабораторных исследований венозной крови перед соревновательным периодом квалифицированных биатлонистов мужского пола в состояние покоя

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | ФИО | Тестостерон, нмоль/л | Мочевина, ммоль/л | Общий холестерин,  ммоль/л | Креатинин, мкмоль/л |
| 1 | Г.И. | 32,4 | 3,7 | 3,63 | 69,1 |
| 2 | К.А. | 34,3 | 4,6 | 4,77 | 75,0 |
| 3 | Ф.А. | 25,4 | 6,9 | 3,58 | 82,6 |
| 4 | К.Г. | 32,7 | 4,5 | 4,99 | 68,7 |
| 5 | З.К. | 19,9 | 5,8 | 3,99 | 76,3 |
| 6 | А.А. | 33,3 | 5,2 | 3,89 | 102,8 |
| 7 | Х.Д. | 35 | 6 | 4,29 | 77,0 |
| 8 | Р.Д. | 33,9 | **7,6** | 4,61 | 85,2 |
| 9 | К.Я. | 35 | 3,8 | 4,77 | 89,5 |
| 10 | П.К. | 24,1 | 5 | 2,96 | 68,0 |

Оценивая состояние здоровья испытуемых до начала соревновательного периода после дня отдыха, состояние перетренированности не было выявлено ни у одного спортсмена. Средний уровень мочевины, характеризующий состояние белкового обмена, составил 5,3±0,4 ммоль/л при норме от 2,1-7,1 ммоль/л. У одного атлета было незначительное превышение верхней границы нормы на 0,6 ммоль/л. По нашему мнению, основной причиной повышения явились особенности питания, обильное поступление белковой пиши в организм накануне забора крови и никак не связано с переутомлением.

Концентрация тестостерона в сыворотки крови спортсменов составляла около 30,6±1,7 нмоль/л. Данный показатель превышает средний популяционный уровень тестостерона для мужчин. Анаболические процессы в организме испытуемых не нарушены.

Креатинин – конечный продукт распада креатининфосфата в энергетическом обмене мышечной ткани. Значительное повышение уровня в крови, говорит о мышечных повреждениях, вызванных тренировочными перегрузками. Средняя концентрация креатинина биатлонистов составила 79,4±3,5 мкмоль/л, при норме у мужчин 64-111 мкмоль/л.

Общий холестерин, один из показателей развития сердечно-сосудистых заболеваний. У группы испытуемых риск развития холестериновых бляшек минимальный. Концентрация общего холестерина составила 4,1±0,2 ммоль/л, при норме для мужчин от 2,93 до 5 ммоль/л.

Двигательная активность вызывает значительные биохимические и морфологические изменения в мышечной ткани не всегда адаптивного характера, иногда приводящие к повреждениям. Порог повреждения тренированных мышц при высокоинтенсивных и длительных нагрузках выше по сравнению с нетренированными. Повреждение мышечной ткани, а именно клетки, способствует высвобождению внутриклеточных метаболитов в кровеносное русло, что при нормальных условия происходить не должно.

Основными метаболитами мышечной ткани, исследуемыми в ходе эксперимента, являлись высокочувствительный тропонин I (hsTn I), общая креатинфосфокиназа (КФК) и её сердечная изоформа по массе (КФК (MB) mass). Результаты клинико-лабораторной диагностики представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Биомаркеры повреждения мышечной ткани перед соревновательным периодом квалифицированных биатлонистов мужского пола в состояние покоя

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | ФИО | hsTn I, нг/л | КФК (MB) mass, нг/мл | КФК, Ед/л |
| 1 | Г.И. | 2,6 | 3,8 | 251,8 |
| 2 | К.А. | 2,4 | 5,4 | 243,7 |
| 3 | Ф.А. | 1,4 | 2,5 | 189,2 |
| 4 | К.Г. | 3,7 | 3,5 | 250,3 |
| 5 | З.К. | **42** | 2,3 | 234,9 |
| 6 | А.А. | 2 | 1,3 | 137 |
| 7 | Х.Д. | 4,4 | 3 | 239,7 |
| 8 | Р.Д. | 1,9 | 4,8 | 320,9 |
| 9 | К.Я. | 4,3 | 2,2 | 287 |
| 10 | П.К. | 8,7 | 4,8 | 566,8 |

В связи с интенсивными тренировками, что характеризует подготовительный период, почти у всех биатлонистов (n=9) активность в крови общей КФК превышена на 82,1±36,3 Ед/л порог для обычного здорового человека (до 190 Ед/л для мужчин). Превышение верхней границы популяционной нормы активности КФК свидетельствует о значительном повышении проницаемости клеточной мембраны. Разрушение мышечной клетки при такой активности КФК (272,1±36,3 Ед/л) не происходит. Данное повышение является адекватной реакцией организма на физическую нагрузку. В нашем исследовании забор крови происходил после дня отдыха биатлонистов. Таким образом, повышенная активность в крови является результатом высокоинтенсивной тренировки за 2 дня до начала исследования, так как метаболит может быть повышен в крови до 48 часов и более (Рыбина И.Л. [Физиологические значения активности креатинфосфокиназы у высококвалифицированных спортсменов циклических видов спорта](https://elibrary.ru/item.asp?id=26644452) // [Вестник спортивной науки](https://elibrary.ru/contents.asp?id=34262256). 2015. [№ 6](https://elibrary.ru/contents.asp?id=34262256&selid=26644452). С. 36-41).

Кардиоспецифичные маркеры до нагрузки находились в норме. Средняя концентрация тропонина I составляла 7,3±3,9 нг/л. У одного испытуемого данный показатель превысил верхний референсный уровень (ВРУ составлял для мужчин теста hsTn I Abbott ARCHITECT – 34 нг/л;) и составил 42 нг/л. Спортсмен не испытывал болей и не жаловался на своё состояние здоровья. Сердечная фракция КФК (MB) mass не превышала допустимые нормы. Средняя концентрация КФК (МВ) mass в крови испытуемых находилась в пределах нормы и составила 3,4±0,4 нг/мл. Норма КФК (MB) по массе для мужчин до 5,2 нг/мл.

Педагогический эксперимент состоял в оценке степени изменения биомаркеров мышечной ткани после выполнения стандартизованной тренировочной нагрузки. Тренировка проходила в снежной трубе УТЦ «Кавголово» на лыжах. Метод тренировки был выбран равномерный, но из-за изменяющегося рельефа трассы использование данного метода было невозможно. В связи с эти спортсмены передвигались на лыжах по трассе переменным методом тренировки с учётом рельефа трассы. Основное требование выполнение нагрузки – длительность тренировки не менее одного часа тридцати минут. Во время тренировки фиксировались средняя и максимальная ЧСС, длительность и объём (км) физической нагрузки. Субъективная оценка самочувствия тренировочной нагрузки на организм атлета применялась с использованием 7 бальной шкалы (1-очень плохое самочувствие. 7- отлично самочувствие) (таблица 7).

Таблица 7 – Индивидуальные показатели тренировки в ноябре 2018 года

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | ФИО | Длительность выполнения, время (м) | Объём тренировки, (км) | ЧСС сред., уд/мин | ЧСС мак., уд/мин | Самочувствие, баллы (1-7) |
| 1 | Г.И. | 125 | 25 | 143 | 172 | 5 |
| 2 | К.А. | 135 | 25 | 130 | 174 | 5 |
| 3 | Ф.А. | 120 | 25 | 133 | 160 | 5 |
| 4 | К.Г. | 105 | 20 | 136 | 152 | 6 |
| 5 | З.К. | 110 | 22 | - | - | 5 |
| 6 | А.А. | 120 | 20 | 144 | 167 | 6 |
| 7 | Х.Д. | 120 | 25 | - | - | 5 |
| 8 | Р.Д. | 105 | 20 | 136 | 165 | 5 |
| 9 | К.Я. | 105 | 22,5 | 153 | 177 | 5 |
| 10 | П.К. | 95 | 22,5 | 141 | 170 | 6 |

Полученные результаты помогли определить модельные характеристики тренировочной нагрузки, применяемой чаще всего в тренировочном процессе квалифицированных биатлонистов. Длительность выполнения тренировки составила 114,0±3,8 минут, объём тренировки 22,7±0,7 км. ЧСС определялась с использованием специализированных спортивных часов с датчиком пульсометром. Пульс фиксировался на протяжении всей тренировки. Двое испытуемых в нашем исследовании не имели данных часов. Средняя ЧСС составила 139,5±2,6 уд/мин, максимальная ЧСС 167,1±2,9 уд/мин. По результатам пульсометрии тренировка носила поддерживающий аэробный характер спортивной формы и не способствовала развитию физических качеств. Субъективная оценка самочувствия показа, что все испытуемые чувствовали себя хорошо.

На следующий день после выполнения вечерней тренировки у спортсменов повторно брали кровь из вены для лабораторных и биохимических исследований. Особенностью данного забора крови являлся временной интервал после выполнения физической нагрузки, который составил 12-14 часов. По нашему мнению, именно данный временной промежуток поможет определить наивысшую концентрацию и активность биомаркеров мышечной ткани после выполнения физической нагрузки. Основанием для выбора такого временного промежутка являлись результаты, полученные в клинической практике. Так после перенесённого инфаркта миокарда у пациентов наблюдается рост концентрации тропонина I до 12 часов. С 12-14 часов после повреждений миокарда регистрируется наивысшая концентрация тропонина в крови. Далее уровень тропонина в течение 7 дней нормализуется (Mair J., Jaffe A., Apple F., Lindahl B. Cardiac biomarkers // Disease markers. 2015. V. 2015. P. 1-3). Проведённые клинико-лабораторные исследования биомаркеров мышечной ткани после нагрузки представлены в таблице 8.

Таблица 8. Изменение биомаркеров повреждения мышечной ткани через 14 часов после завершения тренировочной нагрузки квалифицированными биатлонистами мужского пола

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | ФИО | hsTn I, нг/л | КФК (MB) mass, нг/мл | КФК, Ед/л |
| 1 | Г.И. | 2,1 | 4,1 | 264,9 |
| 2 | К.А. | 3 | 4 | 170,5 |
| 3 | Ф.А. | 2,4 | 3,2 | 205,7 |
| 4 | К.Г. | 6,4 | 5,8 | 300,3 |
| 5 | З.К. | **54,9** | 2,8 | 310,3 |
| 6 | А.А. | 30,9 | 2,5 | 166,2 |
| 7 | Х.Д. | 7,8 | 2,7 | 188,3 |
| 8 | Р.Д. | 3,7 | 4,4 | 293 |
| 9 | К.Я. | **35,7** | 2,4 | 322,4 |
| 10 | П.К. | 4,6 | 5,7 | 624,8 |

Изменения, произошедшие после выполнения тренировочной нагрузки, отражают влияние поддерживающей тренировки на гомеостаз организма спортсмена. Средняя концентрация тропонина I 15,1±5,9 нг/л. У двух испытуемых концентрация тропонина I в крови превысила ВРУ при нормальной концентрации КФК (MB) по массе. Особое внимание уделялось атлету № 5, концентрация до нагрузки превышала ВРУ, а после тренировки ещё увеличилась. Жалоб от данного испытуемого не поступало. Такой результат свидетельствует о повышении проницаемости клеточной мембраны миокарда и выходе тропонина I в кровь под действием физической нагрузки. Однако гибель клеток при таких значениях не наблюдается. Считается, что гибель клеток происходит при повышении концентрации тропонина I в 10 раз ВРУ (Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A., White H.D. et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018) // European Heart Journal. 2019. V. 40, № 3. P. 237-269). Концентрация КФК (MB) mass по группе составляла 3,8±0,4 нг/мл и не превышала нормы.

Активность общей КФК у большинства биатлонистов (n=7) так же, как и до тренировки превышала норму. Среднее значение активности КФК в группе составило 284,6±42,3 Ед/л. Из полученных данных можно наблюдать различную реакцию активности КФК на физическую нагрузку у атлетов. Так у испытуемых под № 2, 7 и 8 регистрируется незначительное снижение активности. Мы считаем, что данная нагрузка для этих спортсменов не наносила повреждения скелетной мускулатуре, а наоборот активизировала процессы регенерации и ее восстановления.

Установление достоверного различия полученных результатов до и после выполнения тренировки в ноябре, способствовали обобщению реакции биомаркеров мышечной ткани на работу квалифицированных биатлонистов мужского пола. Полученные результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Изменение биомаркеров повреждения мышечной ткани в группе биатлонистов до и после тренировки в ноябре 2018 года (n=10)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | До нагрузки | | | После нагрузки | | |
| X±SD | min | max | X±SD | Min | max |
| hsTn I, нг/л | 7,3±3,9\* | 1,4 | 42,0 | 15,1±5,9\* | 2,1 | 54,9 |
| КФК (MB) mass, нг/мл | 3,4±0,4 | 1,3 | 5,4 | 3,8±0,4 | 2,4 | 5,8 |
| КФК, Ед/л | 272,1±36,3 | 137,0 | 566,8 | 284,6±42,3 | 166,2 | 624,8 |

\* – P ≤ 0,05

По результатам исследования все показатели в группе выросли. Наиболее сильное изменение тропонина наблюдалось после тренировочной нагрузки. Таким образом, достоверное различие было выявлено только в изменение концентрации тропонина.

При оценке повреждения сердечной мышцы на тренировочную нагрузку биатлониста тропонин I наиболее чувствительный. Изменения произошедшие в миокарде сердца сильнее отражаются по концентрации тропонина по сравнению с концентрацией КФК (MB) по массе (рисунок 5).



Рисунок 5 – Специфичность изменения концентрации КФК (MB) по массе (слева) и тропонина I (справа) на физическую нагрузку у спортсмена № 9

Дальнейшее исследование КФК (MB) по массе не имело смысла, и нами было принято решение исключить данный маркер из исследования. КФК (MB) mass показал низкую чувствительность к физической работе. Маркер не отображает метаболические изменения, происходящие в сердце спортсмена.

Таким образом, оценивая состояние здоровья квалифицированных биатлонистов перед соревновательным периодом, можно утверждать, что все испытуемые готовы к предстоявшему сезону. Уровень здоровья спортсменов можно оценить, как высокий. Биатлонисты имеют адекватную реакцию на тренировочную нагрузку. Незначительное повышение отдельных биомаркеров мышечной ткани не характеризует состояние перетренированности, а является адекватным ответом на физическую нагрузку в подготовительном периоде.

Биохимические показатели квалифицированных биатлонистов в соревновательный период. Соревновательный период квалифицированных биатлонистов начинается в начале декабря и длится до конца марта. В течение периода биатлонисты принимают участие в различных соревнованиях. Основные старты проходят в конце января, начале февраля и носят статут отборочных. Главные старты сезона выпадают на конец февраля, начало марта.

Использование клинико-лабораторной диагностики в соревновательный период помогает оценить степень готовности к стартам, а также скорректировать тренировочный процесс. Определение основных биохимических показателей крови должно коррелировать со спортивным результатом.

После трёхмесячного тренировочного процесса нами был проведён второй этап исследования. За это время биатлонисты тренировались и участвовали на соревнованиях межрегионального и всероссийского уровня. Один из атлетов (№ 4) заболел мононуклеозом, и было принято решение исключить испытуемого из исследования. Данное решение принято для предотвращения ухудшения состояния здоровья атлета.

Инфекционный мононуклеоз является острым вирусным заболеванием, сопровождающие лихорадочным состоянием, поражением зева, лимфатических узлов, печени и селезёнки. Диагноз подтвердили клинико-лабораторные исследования антител класса иммуноглобулинов G (IgG) и M (IgM) к вирусу мононуклеоза (таблица 9).

Таблица 9 – Клинико-лабораторное исследование антител класса иммуноглобулинов G и M к вирусу мононуклеоза испытуемого № 4.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Результат | Референсные значения |
| IgG (ранн. бел.), Ед/мл | <5 | < 10 – отрицательно  10-40 – сомнительно  > 40 – положительно |
| IgG (яд. бел.), Ед/мл | 284 | < 5 – отрицательно  5-20 – сомнительно  > 20 – положительно |
| IgM (капс. бел.), Ед/мл | <10 | < 20 – отрицательно  20-40 – сомнительно  > 40 – положительно |

Активность зрелых клеток иммуноглобулинов класса G в 14 раз превышает допустимую норму. Испытуемый был направлен к лечащему врачу. Тренировочный процесс во время болезни был приостановлен.

Испытуемые выполняли физическую нагрузку на лыжах свободным стилем. Тренировка проходила на свежем воздухе в вечернее время с 16:00 до 18:00. Для стандартизации физической нагрузки эксперимента, модельные характеристики тренировки сравнивались с ноябрьскими показателями (таблица 10).

Таблица 10 – Характеристика тренировочной нагрузки биатлонистов в ноябре 2018 и январе 2019 года (n=10)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Месяц | Длительность выполнения, время (м) | Объём тренировки, (км) | ЧСС сред., уд/мин | ЧСС мак., уд/мин | Самочувствие, баллы (1-7) |
| Ноябрь 2018 | 114,0±3,8 | 22,7±0,7 | 139,5±2,6 | 167,1±2,9 | 5,3±0,2 |
| Январь 2019 | 94,4±1,3 | 18,8±0,2 | 138,0±1,7 | 165,1±1,2 | 5,4±0,2 |
| P-value | ≤0,001 | ≤0,001 | ≥0,05 | ≥0,05 | ≥0,05 |

Тренировочная нагрузка в январе месяце существенно изменилась по сравнению с ноябрём. Основное требование эксперимента испытуемыми было выполнено. Длительность составила не менее одного часа тридцати минут с равномерным темпом движения.

Анализируя тренировку в ноябре и январе, можно увидеть уменьшение длительности выполнения и объёма тренировки, подтверждённое статистическим различием. Снижение тренировочной нагрузки соответствует соревновательному периоду подготовки. Функциональная нагрузка на организм биатлониста по результатам ЧСС соответствовала ноябрю. Мы предполагаем, что полученный тренировочный эффект одинаковый в обоих случаях. Субъективная оценка самочувствия во время тренировки также не отличалась с данными, полученными перед соревновательным периодом.

По результатам опроса у испытуемого № 5 после тренировки поднялась незначительно температура. Незначительно повышение температуры тела, является результатом тренировки. Также биатлонист оценил тренировку, как тяжёлую и своё самочувствие во время тренировки удовлетворительное. Остальные атлеты не имели жалоб на своё состояние.

Через 14 часов после тренировки у биатлонистов натощак брали венозную кровь для клинико-лабораторных исследований. Количественный состав биохимических показателей изменился. Были убраны тестостерон и общий холестерин, так как показатели наиболее стабильные в течение длительного времени. Дальнейшее изучение их выходит за рамки исследования.

В период между соревнованиями перенапряжения у биатлонистов выявлено не было (таблица 11).

Таблица 11 – Показатели клинико-лабораторных исследований венозной крови квалифицированных биатлонистов в январе 2019

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | № | ФИО | Мочевина, ммоль/л | Креатинин, ммоль/л | | 1 | Г.И. | 4,0 | 61,9 | | 2 | К.А. | 5,0 | 73,1 | | 3 | Ф.А. | 5,7 | 66,2 | | 5 | З.К. | 4,3 | 67,7 | | 6 | А.А. | 6,8 | 79,2 | | 7 | Х.Д. | 6,1 | 68,4 | | 8 | Р.Д. | 6,8 | 78,5 | | 9 | К.Я. | 5,4 | 76,7 | | 10 | П.К. | 5,0 | 61,2 | |  |  |  |

Уровень мочевины не превышал допустимые нормы 5,5±0,3 ммоль/л. Белковый обмен не нарушен. Количество белков, поступающих с пищей, отвечает требованиям физической нагрузки.

Средняя концентрация креатинина составила 70,3±2,3 мкмоль/л. По уровню креатинина можно косвенно оценить процентный состав тела. При повышении концентрации креатинина в крови и моче увеличивается процентный состав мышечной массы тела. Так по результатам исследования креатинина в крови квалифицированных биатлонистов, не наблюдается значительного изменения мышечной массы в результате тренировочного процесса. Специализация биатлона не способствует набору мышечной массы.

Индивидуальное исследование уровня общего билирубина было проведено у атлета под № 7. В январе месяце концентрация общего билирубина составила 52,3 мкмоль/л, это в 2 раза выше нормы. По сравнению с ноябрём уровень вырос на 14 мкмоль/л. Такая тенденция может сказаться на спортивном результате. Спортсмену необходимо постоянно контролировать концентрацию билирубина в крови для предотвращения развития тяжёлой формы желтухи.

Для оценки состояния готовности нами был выполнен клинический анализ крови. Основные показатели отражены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты клинического анализа крови квалифицированных биатлонистов в январе 2019

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | ФИО | Лейкоциты,  × 109/л | Эритроциты,  × 1012/л | Гемоглобин, г/л | Гематокрит, % | Ср. объем эритроцитов, фл | Ср. содержание Hb в эритроците, пг | Тромбоциты,  × 109/л |
| 1 | Г.И. | 5,13 | 5,12 | 144 | 43,2 | 84,2 | 28,2 | 184 |
| 2 | К.А. | 5,39 | 5,3 | 156 | 44,3 | 83,6 | 29,5 | 239 |
| 3 | Ф.А. | 6,24 | 5,37 | 158 | 46 | 85,7 | 29,4 | 233 |
| 5 | З.К. | 8,45 | 5,06 | 151 | 44,4 | 87,7 | 29,9 | 276 |
| 6 | А.А. | 4,36 | 4,89 | 138 | 41,1 | 84,2 | 28,3 | 222 |
| 7 | Х.Д. | 3,68 | 5,08 | 148 | 43,3 | 85,2 | 29,2 | 184 |
| 8 | Р.Д. | 6,05 | 5,27 | 155 | 44,6 | 84,7 | 29,5 | 250 |
| 9 | К.Я. | 6,65 | 5,42 | 156 | 45,6 | 84,2 | 28,8 | 168 |
| 10 | П.К. | 6,96 | 5,02 | 139 | 41,8 | 83,3 | 27,8 | 235 |
| Значения нормы для мужчин | | 4,5-11 | 4,3-5,7 | 132-173 | 39-49 | 80-99 | 27-34 | 150-400 |

Результаты свидетельствуют об отсутствии инфекционных заболеваний у биатлонистов. Лейкоциты находятся в допустимых нормах. Уровень эритроцитов в норме, анемии не выявлено.

Концентрация гемоглобина в крови является одним из определяющих показателей успешности в циклических видах спорта. Повышенное содержание гемоглобина увеличивает кислородную емкость крови, тем самым повышает аэробные возможности спортсмена. Существует взаимосвязь между уровнем гемоглобина и спортивным результатом в лыжных гонках и биатлоне. Однако в антидопинговых правилах ВАДА существуют ограничения для допуска к соревнованиям, уровень гемоглобина до 165 г/л – для женщин и 175 – для мужчин.

У 5 испытуемых уровень гемоглобина больше 150 г/л, гематокрит больше 44%, данные спортсмены имеют более высокую готовность к соревнованиям по сравнению с остальными. Двое биатлонистов под № 6 и 10 имеют недостаточно высокий уровень гемоглобина для успешного выступления на соревнованиях. Возможно, следует дополнительно повышать гемоглобин с помощью диеты и железосодержащих препаратов.

Уровень тромбоцитов находится в референсных значениях. Образование тромбов биатлонистам не грозит. В результате проведенного клинического анализа крови 5 биатлонистов имеют более высокую аэробную готовность к соревнованиям. При оценке аэробных возможностей кроме уровня гемоглобина необходимо учитывать гематокрит, среднее объем эритроцитов и среднее содержание гемоглобина в эритроцитах.

Исследование биомаркеров повреждения мышечной ткани в январе после нагрузки характеризует состояние мышц и сердца во время соревновательного периода. Вместо сердечной КФК (MB) по массе было проведено исследование аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и рассчитан коэффициент де Ритиса (таблица 12).

Таблица 12 – Биомаркеры повреждения мышечной ткани через 14 часов после завершения тренировочной нагрузки квалифицированными биатлонистами мужского пола в январе 2019

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | ФИО | hsTn I, нг/л | КФК, Ед/л | АЛТ, Ед/л | АСТ, Ед/л | Коэффициент де Ритиса |
| 1 | Г.И. | 2 | 155,9 | 25 | 19 | 0,76 |
| 2 | К.А. | 2,7 | 73,4 | 11 | 19 | 1,73 |
| 3 | Ф.А. | 0,5 | 80,1 | 13 | 20 | 1,54 |
| 5 | З.К. | **76,6** | 204,5 | 16 | 20 | 1,25 |
| 6 | А.А. | 2,4 | 210 | 11 | 20 | 1,82 |
| 7 | Х.Д. | 4,7 | 226,1 | 14 | 23 | 1,64 |
| 8 | Р.Д. | 3,4 | 310,7 | 24 | 44 | 1,83 |
| 9 | К.Я. | 3,8 | 163,7 | 13 | 21 | 1,62 |
| 10 | П.К. | 3,1 | 167,5 | 13 | 19 | 1,46 |

Концентрация тропонина I в крови составляла 11±8,2 нг/л. У испытуемый под № 5 концентрация тропонина превышает ВРУ в 2 раза, у остальных не выше 5 нг/л. По нашему мнению, такое уровень тропонина вызван нарушением работы миокарда в результате тренировки проведённой за 14 часов до забора крови. Испытуемый чувствовал себя плохо, и у него поднялась температура после тренировки. КФК незначительно завышена, но не информативна, так как такое повышение является адекватным ответом на тренировку.

Средняя активность общей КФК у биатлонистов составила 176,9±24,4 Ед/л. Регистрируется незначительное превышение нормы у 4 атлетов. Активность АЛТ 15,6±1,8 Ед/л (норма до 41 Ед/л для мужчины). Средняя активность АСТ у биатлонистов 22,8±2,7 Ед/л (норма менее 37 Ед/л для мужчин) Коэффициент де Ритиса при нормальных значениях активности АЛТ и АСТ не информативен.

Ферменты АЛТ и АСТ имеют низкую специфичность на физическую нагрузку и не диагностируют микроповреждения мышечной ткани. Превышение нормы наблюдается только при патологиях и при перетренированности спортсменов.

Для оценки влияния концентрации и активности биомаркеров мышечной ткани на спортивный результат был проведён коррекционный анализ с использованием критерия Пирсона. Взаимосвязь устанавливалась между уровнями биомаркеров и чистым временем биатлонистов на 10 км спринтерской гонке. Время высчитывалось из результатов испытуемых на биатлонных соревнованиях, проведённых в городе Санкт-Петербурге (рисунок 6).

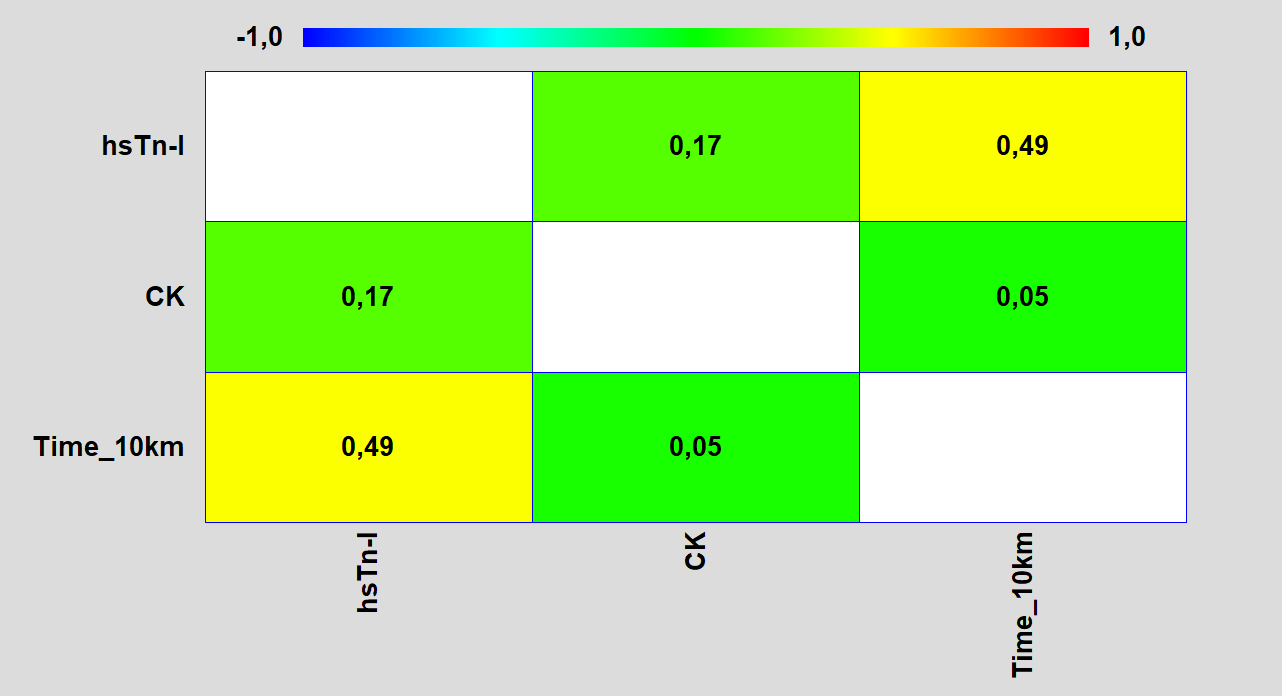


Рисунок 6 – Взаимосвязь между биомаркерами мышечной ткани и чистым временем квалифицированных биатлонистов в 10 км спринте

Достоверность взаимосвязи не установлено в обоих случаях (P> 0,05). Однако, наблюдается тенденция к слабой положительной взаимосвязь между концентрацией тропонина I в крови и результатом в спринте. Можно предположить, что повышение тропонина I приводит к уменьшению скорости биатлониста на дистанции. Между КФК и чистым временем в 10 км спринте взаимосвязи не обнаружено. Для установления достоверности требуется увеличить выборку.

Таким образом, половина биатлонистов по результатам биохимических показателей крови находились в хорошей форме. Перенапряжения и перетренированности у биатлонистов в результате большого количества соревнований в январе месяце не наблюдалось. Исключением является биатлонист с высокой концентрацией тропонина (76,6 нг/л), имеющий жалобы на самочувствие. Другие показатели данного атлета находились в норме.

Установлена взаимосвязь между концентрацией тропонина I и спортивным результатом квалифицированных биатлонистов.

Периодизация спортивной тренировки квалифицированного биатлониста состоит из 3 периодов: подготовительного, соревновательного и переходного (восстановительного). Каждый период соответствует своим целям и задачам тренировочного процесса. В тренировочные периоды биатлонисты выполняют разную тренировочную нагрузку, тренировки имеют свою направленность и интенсивность. Изменения тренировочного процесса в макроцикле не могут не отражаться на уровне биохимических показателей.

Произошедшие изменения биохимических показателей биатлонистов могут демонстрировать степень адаптации организма к предлагаемой нагрузке. Характеризовать тренировочный процесс и его влияние на организм (таблица 13).

Таблица 13 – Изменение биомаркеров повреждения мышечной ткани на следующий день после тренировки в подготовительный и соревновательный период (n=10)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Подготовительный период | | | Соревновательный период | | | ∆ |
| X±SD | min | max | X±SD | min | max |
| hsTn I, нг/л | 15,1±5,9 | 2,1 | 54,9 | 11,0±8,2 | 0,5 | 76,6 | -4,1 |
| КФК, Ед/л | 284,6±42,3\* | 166,2 | 624,8 | 176,9±24,4\* | 73,4 | 310,7 | -107,7 |

\* – P ≤ 0,05

В соревновательный период концентрация тропонина I и активность КФК уменьшилась по сравнению с результатами, полученными в ноябре после тренировки. Наблюдаются достоверное понижение активности общей КФК. Такое изменение вызвано сменой тренировочного процесса и переходом спортсменов от объёмных нагрузок к соревновательной деятельности.

В ноябре концентрация тропонина I после физической нагрузки у нескольких атлетов многократно увеличилась по сравнению с состоянием покоя. К концу января у всех спортсменов кроме испытуемого № 5 произошла нормализация тропонина. Таким образом, мы можем утверждать, что тренировочный процесс с ноября по февраль был адекватным для данных биатлонистов, и они улучшили своё функциональное состояние.

Результат концентрации тропонина I для спортсмена под № 5 является нетипичным по сравнению с остальными биатлонистами. Исключив испытуемого № 5, мы можем наблюдать адаптационные изменения биатлонистов, произошедшие за данный период (рисунок 7).

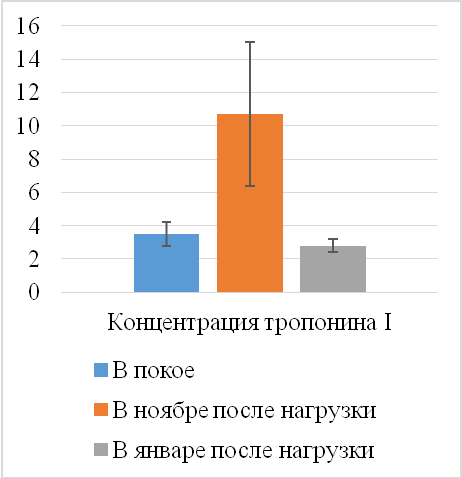
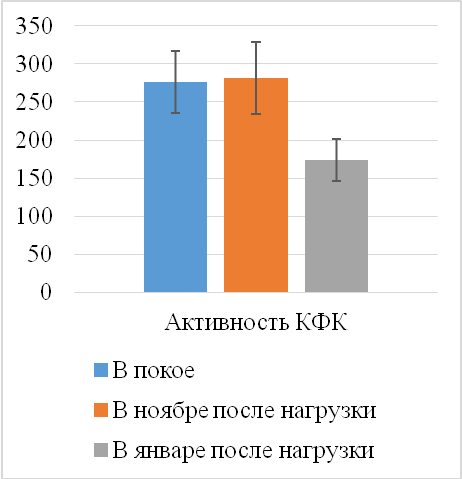
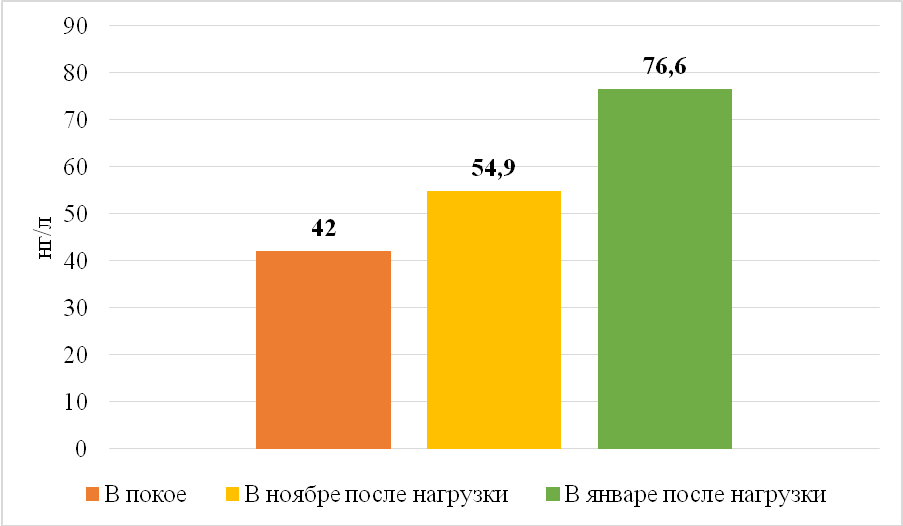
а)б)

Рисунок 7 – Адаптация биатлонистов, произошедшая с ноября по январь, по результатам изменения концентрации тропонина I (а) и активности КФК (б), без учёта атлета № 5

Под влиянием одной и той же физической нагрузки происходят разные изменения концентрации тропонина I и активности КФК в зависимости от периода подготовки биатлонистов.

Нами выявлена тенденция к укреплению и адекватному ответу миокарда на физическую нагрузку биатлонистов в соревновательный период. Снижение активности общей КФК от подготовительного к соревновательному периоду, демонстрирует адаптацию скелетной мускулатуры. Данное изменение подтверждено И.Л. Рыбиной в диссертационной работе (Рыбина И.Л. Биохимические аспекты оценки адаптации организма высококвалифицированных спортсменов циклических видов спорта к напряженным физическим нагрузкам : автореф. дис. ... д-ра. биол. наук. М., 2016. 48 с).

Атипичный результат атлета № 5 при индивидуально анализе показывает, что в ноябре до нагрузки концентрация тропонина I превысила ВРУ (34 нг/л) и составила 42 нг/л. Активность КФК (МВ) и других традиционных биохимических показателей в крови находилась в пределах нормы. После нагрузки на следующий день концентрация тропонина в крови выросла до 54,6 нг/л. Во время соревновательного периода в январе концентрация тропонина у атлета после аналогичной физической нагрузки снова увеличилась (рисунок 8).



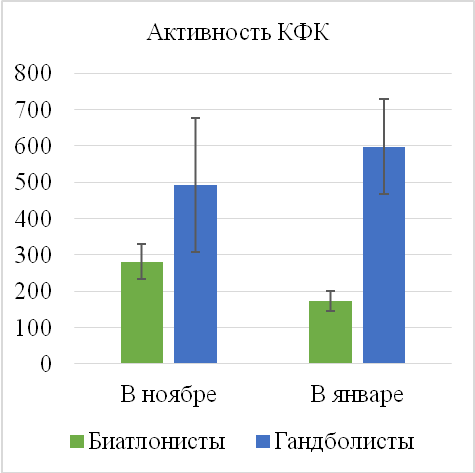
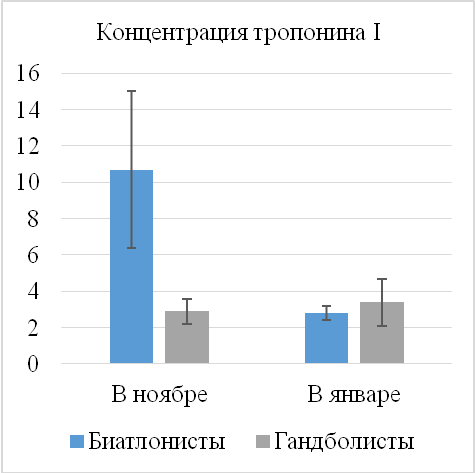
**ВРУ для мужчин, 34 нг/л**

Рисунок 8 – Изменение концентрации высокочувствительного тропонина I у биатлониста № 5

На протяжении всего периода исследования концентрация тропонина росла. Анализируя спортивные результаты спортсмена (худшее чистое время в 10 км спринте среди испытуемых на соревнованиях по биатлону) можно утверждать, что его сердечная мышца имеет недостаточную степень адаптации к физической нагрузке, хотя остальные биохимические показатели (креатинкиназа, трансаминазы, мочевина, креатинин) у данного атлета были в пределах нормы. Мы рекомендовали выполнить стресс-тест в медицинском учреждении для выявления причин нарушения в работе сердца при физической нагрузке.

Изменение маркеров повреждения мышечной ткани наблюдается не только в зависимости от периода подготовки спортсмена. Концентрация тропонина и активность КФК по-разному реагирует в ответ на тренировочную нагрузку, её характер, длительность, интенсивность. Смена характера тренировочной деятельности может существенно отразиться на биомаркерах мышечной ткани.

В качестве сравнения влияния характера тренировочной нагрузки нами были исследованы маркеры повреждения мышечной ткани у группы гандболистов. Исследование гандболистов проходило в те же сроки, что и у биатлонистов. Группа состояла из 10 квалифицированных гандболистов мужского пола в возрасте 18-21 лет. Методика забора крови соответствовала исследованию в биатлоне. Тренировочная нагрузка по интенсивности и длительность не отличалась от тренировки биатлонистов (рисунок 9).

а)б)

P<0,01

Рисунок 9 – Влияние характера тренировочной нагрузки на концентрацию тропонина I (а) и активности КФК (б)

В результате установлено, что изменение биомаркеров зависит от характера вида спорта. Достоверное различие наблюдается в активности КФК в январе. В циклических видах спорта сильно подвержена влиянию концентрация тропонина I. Сердечно-сосудистая система биатлонистов в подготовительный период работает на предельном уровне. Такая работа сердца являет результатом направленного тренировочного процесса. Повышение адаптационных возможностей организма в целом. К моменту начала основных стартов происходит нормализация и реализация тренировочного воздействия подготовительного периода.

Гандболисты характеризуются высоким содержанием уровня КФК после физической нагрузки. Тренировочные воздействия ситуационного вида спорта никак не отражаются на изменении концентрации тропонина. Мы можем предположить, что работа сердца в таких видах спорта менее значима для спортивного результата. Поэтому количество тренировок, направленных на развитие адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы меньше, чем в группе биатлонистов.

Во время исследования маркеров повреждения мышечной ткани, было выявлено аномальное повышение активности общей КФК у атлета из группы гандболистов. Рекордная цифра составила в 21009 Ед/л. По нашему мнению, такой уровень КФК связан, в первую очередь с его игровым амплуа, а именно вратарской позицией в команде. В результате многочисленных мышечных повреждений игровым мячом концентрация КФК в крови повысилась. Это повышение не может быть диагностировано как инфаркт миокарда, это следует учитывать при использовании данного маркера на практике.

В обеих группах наблюдается высокая ошибка среднего арифметического. Высокая погрешность результатов исследования является следствием неодинакового изменения биомаркеров в крови испытуемых под влиянием физической нагрузки. Во многих случаях фиксируются индивидуальные ответы организма, вследствие генетических особенностей спортсменов.

Из полученных данных, мы можем предположить, что изменение тренировочного процесса (например, смена средства тренировки) повлияет на биохимические показатели. По мнению биатлонистов, применение игровых тренировок не всегда способствует восстановлению. На следующий день после футбола биатлонисты испытывают мышечные боли. При обычных тренировках, характерных биатлону, большой интенсивности и длительности, таких болевых ощущений они не испытывают. Мы считаем, что болевые ощущения вызваны повреждениями мышечной ткани, и как результат, происходит повышение активности КФК. Использование на практике биохимического контроля активности КФК поможет скорректировать тренировочный процесс и отслеживать динамику восстановления квалифицированных биатлонистов.

По результатам исследования нами было смоделировано изменение активности КФК в течении микроцикла подготовительного периода. Классическое построение микроцикла включает в себя 6 тренировочных дней и один выходной день. На 3 или 4 день микроцикла проводят разгрузочную тренировку. Основным средством биатлонистов, применяемым в разгрузочный день, является игровая тренировка – футбол. На следующий день после разгрузочного дня следует высокоинтенсивная тренировка. Мы можем предположить, что перед высокоинтенсивной тренировкой активность общей КФК будет в разы превышать верхнюю границу нормы (190 Ед/л для мужчин), по аналогии с результатами в группе гандболистов (рисунок 10).

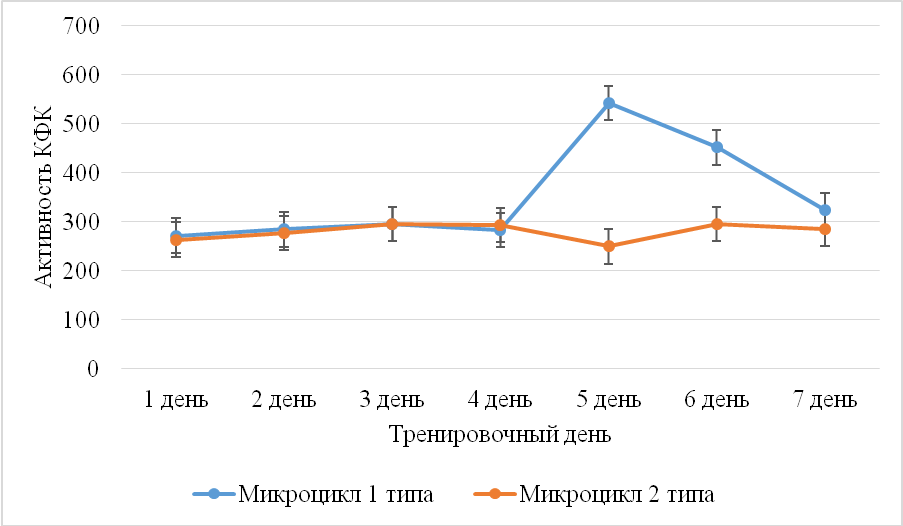


Рисунок 10 – Предполагаемое изменение активность КФК у биатлонистов в течении микроцикла подготовительного периода (микроцикл 1 типа – разгрузочный день (футбол), микроцикл 2 типа – разгрузочный день (волейбол)

На реализацию микроцикла 1 типа спортсмен будет затрачивать больше сил, чем 2 типа. Биохимические изменения активности КФК будут глубже, что в конечном счёте приведет к неполному восстановлению перед следующей тренировкой. Спортсмен не сможет максимально проявить свои физиологические возможности на следующий день после футбола. Тренировочный эффект будет ниже чем при применении микроцикла 2 типа.

Перед тренером должна стоять задача реализации физиологического потенциала спортсмена в основной тренировочной деятельности. Так как зачастую игровые виды спорта, применяемые в биатлоне, решают психологическую задачу подготовки (переключение с одного вида деятельности на другую, психологическая разгрузка от монотонного циклического тренировочного процесса). Однако, те биохимические изменения, происходящие в таких игровых тренировках как футбол, приносят больше негативного влияния, тем самым усугубляет проявление максимальных возможностей спортсмена.

В спорте высших достижении необходимо меньше прибегать к использованию спортивных игр, которые связаны с быстрыми перемещениями и ударами по мячу. Стоит использовать более сложно координационные спортивные игры, для снижения повреждения скелетной мускулатуры. При построении тренировочного процесса квалифицированных биатлонистов необходимо помнить про влияние каждой тренировки на организм, даже в разгрузочные дни.

Таким образом, результаты исследования подтверждают гипотезу о том, что использование биохимического контроля за биомаркерами мышечной ткани поможет определить влияние тренировочной нагрузки на организм квалифицированных биатлонистов, скорректировать тренировочный процесс, определить адаптированность организма к тренировочным нагрузкам и выявить нарушения работы сердца и мышц.

В рамках НИР был разработан новый биохимический способ определения макроформ креатинкиназы и ее изофермента МВ.

Формула Изобретения. Способ определения макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента в сыворотке крови человека, включающий определение активности креатинкиназы и МВ-изофермента энзиматическим методом, отличающийся тем, что макроформы креатинкиназы, в том числе МВ-изофермента, осаждают добавлением к сыворотке равного объема полиэтиленгликоля 6000 в конечной концентрации 12-14 % с последующим центрифугированием в течение 20-25 минут при 2000-2200 g, в надосадочной жидкости повторно определяют активность креатинкиназы и МВ-изофермента и рассчитывают активности макроформ в процентах от исходной активности креатинкиназы и ее МВ-изофермента.

Изобретение относится к медицине, биохимии, а именно к способам лабораторного определения макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента.

Креатинкиназа (или креатинфосфокиназа, КФ 2.7.3.2) является важнейшим ферментом человека и животных, обеспечивающим синтез аденозинтрифосфата (АТФ) в клетках, для которых характерен быстрый переход от состояния покоя к выполнению той или иной работы, требующей затраты АТФ. Наибольшая активность креатинкиназы характерна для скелетных мышц, сердечной мышцы (миокарда) и головного мозга.

Диагностическая роль определения креатинкиназы не подвергается сомнению, а анализ входит в десятку самых распространенных анализов биохимических лабораторий вследствие широкого применения теста в современной терапии таких препаратов, как статины, используемых для снижения уровня холестерола крови. Одним из наиболее опасных осложнений применения статинов является развитие специфической (лекарственной) миопатии/рабдомиолиза с разрушением мышечных клеток и выходом в кровь креатинкиназы. Для ранней диагностики этого грозного осложнения лекарственной терапии врачи проводят контроль активности креатинкиназы.

Биохимикам и специалистам в области лабораторной медицины хорошо известно, что помимо молекул фермента, состоящего из двух субъединиц М и В, например ММ, ВВ или МВ, в крови у некоторых людей обнаруживаются макроформы креатинкиназы (макро-КК). Макро-КК представляют собой комплексы фермента с иммуноглобулинами классов G и A, размером более 200 kDa. Механизм и причины образования таких комплексов до конца не изучены. Макро-КК являются достаточно стабильными в крови, обладают ферментативной активностью, т.е. способны ускорять реакцию взаимодействия креатина и АТФ. Из литературных данных известно, что макро-КК обнаруживаются у 6% госпитализированных пациентов, в том числе у пациентов с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, печени, у мужчин с патологией предстательной железы, часто у пожилых женщин (Долгов В.В., Козлов А.В., Раков С.С. Лабораторная энзимология. Москва, 2002 г., с.90). Наличие в крови макро-КК связано с аутоиммунными реакциями организма человека, но не с повреждением сердца и мышечной ткани. Таким образом, выявление макро-КК является важной клинической и диагностической задачей для правильной диагностики и исключения повреждения мышечной ткани у пациентов с повышенной активностью креатинкиназы сыворотки крови, в том числе при мышечной дистрофии, передозировке барбитуратами, этиловым спиртом и т.д.

Известен способ определения макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента в сыворотке крови человека с использованием электрофореза в агарозном геле. Электрофоретический способ определения макроформ подробно описан в инструкции к коммерческим наборам реактивов «Hydragel ISO-CK» фирмы «Sebia», Франция (доступна на сайте [www.sebia.com](http://www.sebia.com)) Согласно этому способу сыворотку крови пациента разделяют на две пробы, в первой пробе определяют активность креатинкиназы пациента энзиматическим методом на биохимическом анализаторе с использованием стандартизованного метода. Вторую пробу сыворотки крови подвергают электрофорезу на агарозном геле (система «HYDRASYS», Франция) с последующим окрашиванием и промывкой от несвязавшегося красителя изоферментов и макроформ креатинкиназы специфическим красителем, входящим в состав набора, и сканируют результаты разделения на денситометре. Расчет активности изоферментов (ММ, МВ и ВВ) и макроформ креатинкиназы производят в процентах от активности креатинкиназы, определенной на биохимическом анализаторе энзиматическим способом. Результаты и анализ определения макроформ представлены в научной статье авторов Chun-Yu Liu, Yi-Chun Lai, Yi-Chi Wu, Cheng-Hwai Tzeng, Shou-Dong Lee. Macroenzyme Creatine Kinase in the Era of Modern Laboratory Medicine. J Chin Med Assoc. 2010, Vol.73, №1, p.35-38. Описанный способ является ближайшим аналогом заявленного изобретения.

Однако использование электрофоретического способа выявления макро-КК является малодоступным для клинико-диагностических лабораторий, так как способ требует наличия дорогостоящей аппаратуры для электрофореза в агарозном геле, особо чистых реактивов, а также специально подготовленного высококвалифицированного персонала, помещений и т. д. Кроме того, в последние годы в РФ возникли проблемы с необходимостью использования для выполнения электрофореза специальных буферных растворов (вероналовый буфер) для разделения ферментов крови, т.к. их компоненты являются прекурсорами наркотических веществ, что требует специальных разрешений и делает эти способы труднодоступными для клинико-диагностических лабораторий. Сама процедура определения макроформ креатинкиназы занимает несколько часов времени высококвалифицированного персонала и покупки дорогостоящих импортных реактивов.

Технический результат заявленного изобретения заключается в создании лабораторного способа определения макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента, не требующего дорогостоящей аппаратуры, особо чистых реактивов, а также специально подготовленного высококвалифицированного персонала, помещений и т. д., доступного для клинико-диагностических лабораторий.

Заявленный технический результат достигается в способе определения макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента в сыворотке крови человека, включающем определение активности креатинкиназы и МВ-изофермента энзиматическим методом, в котором макроформы креатинкиназы, в том числе МВ-изофермента, осаждают добавлением к сыворотке равного объема полиэтиленгликоля 6000 в конечной концентрации 12-14 % с последующим центрифугированием в течение 20-25 минут при 2000-2200 g, в надосадочной жидкости повторно определяют активность креатинкиназы и МВ-изофермента и рассчитывают активности макроформ в процентах от исходной активности креатинкиназы и ее МВ-изофермента.

Указанные концентрации полиэтиленгликоля 6000, время инкубации и условия центрифугирования, подобранные экспериментально, обеспечивают полное осаждение макроформ креатинкиназы, при этом не макроформы фермента не осаждаются, а остаются в надосадочной жидкости. Используемые реактивы и оборудование входят в оснащение клинико-диагностических лабораторий. Способ не требует специально подготовленного высококвалифицированного персонала и может быть осуществлен средним персоналом. Время проведения исследования составляет менее 60 минут.

Способ осуществляют следующим образом. Полученную сыворотку крови пациента разделяют на две пробы. Первую пробу помещают в биохимический анализатор для энзиматического определения активности креатинкиназы (А1) и ее МВ-изофермента (А1-МВ). Вторую пробу сыворотки в объеме 0,2 мл помещают в пробирку типа «эпендорф», добавляют 0,2 мл 24-28 % водного раствора полиэтиленгликоля 6000 (производство «Sigma»), перемешивают встряхиванием и через 10 минут центрифугируют при 2000-2200 g в течение 20-25 мин. для осаждения макроформ креатинкиназы.

После центрифугирования пробирку помещают в биохимический анализатор и в надосадочной жидкости определяют активность креатинкиназы и ее МВ-изофермента энзиматическим способом. Результаты определения необходимо умножить на коэффициент 2 для учета фактора разведения пробы (А2). Количество макроформ креатинкиназы выражают в процентах от общей активности креатинкиназы, аналогично определяют макроформы МВ-изофермента креатинкиназы.

Способ иллюстрируется следующим клиническим примером.

Пациентка Г., 72 года, наблюдалась в кардиологической клинике последние 5 лет по поводу ишемической болезни сердца, атеросклероза, в 2016 г. проведена операция стентирования коронарных артерий. В июне 2016 г. при плановом лабораторном обследовании впервые обнаружена повышенная активность креатинкиназы до 600 МЕ/л (верхняя граница нормы для женщин составляет 175 Ед/л). В дальнейшем существенной динамики показателя не наблюдалось, однако при углубленном обследовании выявлена повышенная активность МВ-изофермента креатинкиназы - 520 Ед/л, т.е. более чем в 20 раз по отношению к верхней границе нормы. Сердечный тропонин I не был существенно повышен и не имел динамики, характерной для повреждения миокарда. Поскольку пациентка принимала на протяжении последних 24 месяцев препараты группы статинов (розувастатин в дозе 10 мг в сутки), то встал вопрос о необходимости отмены препарата вследствие высокой опасности развития лекарственной миопатии/рабдомиолиза.

В июне 2017 г. пациентке в рамках углубленного клинико-лабораторного обследования было проведено определение макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента по заявленному способу. В первой пробе полученной сыворотки крови была определена активность креатинкиназы (А1) и активность МВ-изофермента креатинкиназы (А1-МВ). При лабораторном исследовании использовали биохимический анализатор «Architect c4000» (Abbott, США), реактивы, контрольные и калибровочные материалы производителя указанного оборудования. Получили следующие значения активности креатинкиназы и ее МВ-изофермента:

А1=555 Ед/л, А1-МВ=620 Ед/л.

Во вторую пробу сыворотки крови пациентки с целью осаждения макроформ креатинкиназы и ее МВ-изофермента был добавлен раствор полиэтиленгликоля 6000 (производства «Sigma - Aldrich», Япония) в конечной концентрации 12%, после инкубации и центрифугирования пробирка была помещена в тот же биохимический анализатор для определения активности креатинкиназы в надосадочной жидкости.

Результаты определения в надосадочной жидкости с учетом разведения сыворотки составили: А2=200 Ед/л, А2-МВ=25 Ед/л.

Таким образом, в результате проведения анализа выявлено, что у пациентки количество макроформ креатинкиназы составило (555-200):555=64 % от активности креатинкиназы, а количество макроформ МВ-изофермента составило (620-25):620=96% от активности МВ-изофермента креатинкиназы.

Полученные данные о содержании макроформ креатинкиназы были подтверждены проведением электрофореза сыворотки с использованием наборов реактивов (согласно прототипу) с использованием коммерческих реактивов «Hydragel ISO-CK» (Sebia, Франция). После разделения изоферментов креатинкиназы осуществляли их визуализацию с использованием специфического хромогенного субстрата согласно инструкции к наборам. После осаждения макроформ креатинкиназы электрофорез проводили повторно, что позволило подтвердить полноту осаждения макроформ полиэтиленгликолем заявляемым способом.

Таким образом, проведенное определение макроформ креатинкиназы в сыворотке крови позволило исключить у пациентки наличие повреждения миокарда и отказаться от ложного диагноза «лекарственная миопатия». Проведение определения макроформ креатинкиназы и МВ-изофермента согласно заявляемому способу составило менее 60 минут времени и не требовало наличия дополнительного лабораторного или биохимического оборудования.

По заявленному способу было обследовано 10 пациентов мужского пола в первые сутки после установления диагноза «острый инфаркт миокарда», проходивших лечение в отделении неотложной кардиологии НМИЦ им. В.А. Алмазова. Диагноз острого инфаркта миокарда у всех пациентов подтвержден результатами электрокардиографии и коронарографии, а также лабораторными исследованиями, в том числе количественным определением высокочувствительного тропонина I на анализаторе «Architect i2000» (США) в динамике наблюдения за больными. Активность креатинкиназы в сыворотке крови в момент обследования у указанной группы пациентов была существенно повышена и составила от 510 до 1200 Ед/л. Во всех образцах сыворотки крови определили активность макроформ креатинкиназы. Во всех случаях определения макроформ креатинкиназы согласно заявляемому способу процент макроформ от общей активности креатинкиназы в сыворотке крови больных не превысил 10 %, а процент макроформ МВ-изофермента составил менее 5% от активности МВ-изофермента, определенной на биохимическом анализаторе «Architect c4000» (США). Эти результаты подтверждают соответствие результатов определения макроформ креатинкиназы заявляемым способом литературным данным об отсутствии значимого количества макроформ креатинкиназы, в том числе МВ-изофермента у больных при остром инфаркте миокарда.

Использование заявленного позволяет проводить определение макроформ креатинкиназы и макроформ МВ-изофермента в клинико-диагностических лабораториях, не требует дорогостоящей аппаратуры, особо чистых реактивов, а также специально подготовленного высококвалифицированного персонала, помещений и т. д., сокращает время исследования.

* 1. **Изучение метаболизма витамина D в осенний и весенний периоды тренировок у спортсменов**

Результатыпроведенных исследований продемонстрировали достаточное содержание витамина D(OH) в сыворотке крови у 100% спортсменов в осенний тренировочный период. В весенний тренировочный период (март-апрель) наблюдается у 90% спортсменов отмечается недостаточное содержание витамина D в крови, у 10% – авитаминоз (табл. 14).

Таблица 14 – Уровень витамина D(ОН) в крови спортсменов осенью и весной

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № спортсмена | Содержание витамина D осенью, нг/мл | Содержание витамина D весной, нг/мл |
| 1 | 69,2 | 9,6 |
| 2 | 32,1 | 13,7 |
| 3 | 64,9 | 17,6 |
| 4 | 39,2 | 21,4 |
| 5 | 95,1 | 10,6 |
| 6 | 40,0 | 16,3 |
| 7 | 51,4 | 12,6 |
| 8 | 50,9 | 17,8 |
| 9 | 59,6 | 14,2 |
| 10 | 35,2 | 18,1 |

Эти данные являются приоритетными, свидетельствуют о повышенном потреблении кальцидиола у спортсменов, необходимости дополнительного введения витамина для сохранения физической формы. Данные исследования будут продолжены.

В рамках работы по теме НИР было проведено исследование и подана заявка на Изобретение РФ «Клинико-лабораторный способ оценки степени тяжести депрессии у молодых лиц». Изобретение относится к области медицины, в частности, к психиатрии, и может быть использовано для оценки тяжести депрессивного состояния у молодых лиц, было создано совместно с сотрудниками Медеицинского факультета СПбГУ под руководством профессора Н.Н. Петровой. В последние годы все большее внимание психиатров, психологов, криминалистов и социологов привлекает социально-медицинская сторона проблемы депрессий, суицидальное поведение. Прогнозируется, что к 2020 году суицид, как причина смерти, будет занимать второе место в мире после сердечно-сосудистых заболеваний. Во многих странах суицидальные попытки служат одной из основных причин неотложной госпитализации в психиатрические стационары, являясь тяжелым бременем для системы здравоохранения. В России за период с 1990 по 2010 год 800 тысяч человек совершили завершенный суицид. Оценивая показатели суицидального поведения, ВОЗ признала, что Россия находится в чрезвычайной ситуации, поскольку в течение длительного периода показатель самоубийств значительно превышает установленный критический уровень — 20 случаев на 100 тысяч населения в год. В 2010 году на 100 тысяч российского населения приходилось 23,5 случая суицида, в то время как в мире данный показатель составил 14 случаев.

За последние годы быстро накапливаются новые данные о кроли активного производного витамина D (25-ОН холекальциферол), синтезируемого в печени, в работе центральной нервной системы. Рецепторы витамина D(ОН) (VDR) функционируют, по крайней мере, в 38 органах и тканях организма. В мозгу такие рецепторы были обнаружены в глиальных клетках и нейронах nucleus basalis of Meynert (NBM), substantia innominata, в клетках Пуркинье в мозжечке, в большом количестве в гипокампе. В настоящее время витамин D(ОН) рассматривают как «нейростероид», его метаболиты могут проникать через гематоэнцефалический барьер. Рецепторы активной формы витамина D находятся в областях мозга, которые участвуют в развитии депрессии. Зарубежные исследования последних лет демонстрируют взаимосвязь между низким уровнем витамина D(ОН) в крови и развитием депрессии. Однако, способов использования определения 25-ОН холекальциферола для определения степени тяжести депрессивных расстройств и риска попыток суицида у молодых лиц не известно.

Для оценки тяжести депрессии в России и других странах используют шкалу Гамильтона - один из наиболее широко используемых инструментов клинической оценки депрессивного состояния, предназначенный для измерения тяжести депрессии в клинических и экспериментальных целях. Данный способ оценки состояния больных депрессией является наиболее близким к заявляемому и выбран в качестве прототипа.

Главными недостатками клинического метода, а также клинико-шкального метода оценки тяжести депрессии служит субъективность оценки состояния пациента врачом, зависимость результата от опыта исследователя, его внимательности, умения найти контакт с пациентом. Признанные и широко применяемые шкалы для оценки депрессии не оценивают риск совершения суицидных попыток.

Задачей изобретения является расширение функциональных возможностей способа за счет расширенияарсенала методов диагностики, а также повышение объективности и точности диагностики. Указанная задача достигается за счет того, что в известном способе оценки степени тяжести депрессии у молодых лиц, включающем оценку тяжести депрессии с помощью клинической шкалы Гамильтона, дополнительно в сыворотке крови пациента, взятой натощак, определяют 25-ОН холекальциферол и при сочетании показателя по шкале депрессии Гамильтона более 18 баллов и уровня 25-ОН холекальциферола ниже 12 нг/мл делают вывод о наличии тяжелой депрессии с высоким риском суицида.

Это позволяет расширитьарсенал методов диагностики депрессий у молодых лиц, повысить объективность и точность диагностики, за счет использования современного лабораторного оборудования и реагентов, имеющих разрешения для диагностического использования в РФ РосЗдравнадзора. Кроме того, поскольку, по мнению авторов и зарубежных исследователей, дефицит 25-ОН холекальциферола может утяжелять состояние пациента, определение данного биомаркера может стать в дальнейшем мишенью для лекарственной терапии депрессий. Это подтверждает, что в настоящее время отсутствует способ оценки тяжести депрессии у молодых лиц, позволяющий учитывать как клинические данные, так и *лабораторную* оценку тяжести текущей депрессии. Это позволяет сделать вывод о новизне заявленного способа.

Нами в рамках НИР обследованы 100 лиц молодого возраста, проживающих в Санкт-Петербурге, (из них 36% больных мужского и 64% – женского пола), получавших специализированную психиатрическую помощь по поводу депрессивных расстройств.

Обследование пациентов с депрессивными расстройствами проводили в динамике на базе отделения интенсивного оказания психиатрической помощи Городского Психоневрологического диспансера со стационаром №7 г. Санкт-Петербурга.

Средний возраст пациентов составил 22,5±2,8 лет (от 18 до 30 лет). Обследование включало забор крови натощак и получение сыворотки, а затем определение до начала лекарственной терапии уровня 25-ОН холекальциферола автоматизированным методом на иммуноанализаторе «Architect i1000» (Abbott, США) с использованием реагентов, контрольных и калибровочных материалов производителя. Данный метод является наиболее современным в клинической лабораторной диагностике и медицинской биохимии, имеет необходимые разрешения для использования в качестве диагностического теста, является одним из наиболее широко используемых лабораторных методов в развитых странах определения 25-ОН холекальциферола. Точность метода лежит в пределах 3-5% от абсолютного значения во всем диапазоне измерений на приборе (от 4 до 120 нг/мл), исследование занимает не более 30 минут, исключает ошибки, связанные с «человеческим фактором» (использование ручного дозирования, разведения реактивов и т.д.). Обследование пациентов проводили с октября по апрель, т.е. в осеннее-зимне-весенний период, когда, по мнению экспертов, солнце в Северо-Западном регионе России находится так низко, что синтез витамина D в коже (предшественника 25-ОН холекальциферола) практически не происходит. В статистической обработке данных использовали расчет коэффициента корреляции Спирмена, регрессионный анализ.

Для оценки состояния пациентов использовали клинический метод (в работе принимали участие два опытных врача-психиатра), а также шкалу Гамильтона, шкалу Монтгомери-Асберг-Асберг и Колумбийскую шкалу тяжести суицида. В структуре депрессий молодого возраста у обследованных пациентов преобладали депрессивные расстройства средней степени тяжести (40%) при несколько меньшей частоте расстройств лёгкой степени (35%) и заметно более редкими случаями тяжёлых депрессий (15%). Крайне тяжёлые депрессивные расстройства среди пациентов встречались в 10% случаев.

Наличие суицидных попыток в анамнезе было выявлено у 44% пациентов, после которых они были госпитализированы в психиатрический стационар. В процессе обследования наличие суицидных идей различной степени выраженности было обнаружено у 67% пациентов. При оценке интенсивности суицидный идей по первому модулю Колумбийской шкалы тяжести суицида 25% больных подтверждали, что их посещают мысли о желании умереть или «перестать жить», или же о «желании заснуть и не просыпаться». 18% больных имели общие неспецифические мысли о желании покончить с собой при отсутствии размышлений о способах самоубийства, сопутствующих средствах. В 12 % случаев пациенты подтверждали, что их посещают мысли о самоубийстве, размышления о хотя бы одном из способов его совершить, но без построения конкретного плана о том, где, когда и как это сделать. Активные суицидные мысли при заявлении о некотором намерении действовать в соответствии с этими мыслями, но при отсутствии конкретного плана были выявлены у 10 % больных, а мысли о самоубийстве, включая план с полностью или частично проработанными деталями и некоторое намерение его осуществить, были у 15% больных.

При оценке интенсивности суицидных идей в зависимости от уровня 25-ОН холекальциферола в плазме крови было выявлено, что актуальные суицидные идеи с конкретным планом и намерением его осуществить встречались только в группе пациентов с уровнем 25(ОН) витамина D ниже 12 нг/мл, т.е., с тяжелым дефицитом биомаркера, согласно Рекомендациям Российского Общества по остеопорозу 2016 г. [5]. У пациентов с более высоким уровнем 25-ОН холекальциферола отмечались другие варианты суицидных идей с преобладанием неспецифического желания умереть. В группе пациентов с нормальным уровнем 25-ОН холекальциферола (более 30 нг/мл) был только один случай наличия суицидных идей без отсутствия плана действий.

Таким образом, снижение уровня 25-ОН холекальциферола при депрессиях не только связан с утяжелением течения заболевания, но и сопряжен с более тщательной проработкой плана самоубийства и интенсификацией намерения его совершить (коэффициент корреляции Спирмена -0,76; р<0,0001).

Уравнение линейной регрессии для обследованных пациентов выглядит следующим образом:

Y = 3.8101 - 0.0892•Х

В котором Y – интенсивность суицидных идей (от 0 до 5)

Х – уровень 25-OH холекальциферола в сыворотке крови (в нг/мл).

Согласно общепринятой версии оценки тяжести депрессии по шкале Гамильтона уровень выше 18 баллов есчитается соответствующим тяжелому состоянию, а более 22- крайне тяжелому. Однако данная оценка не предполагает оценку риска попыток суицида как в рамках актуальной депрессии, так и в случае рецидива заболевания.

В соответствии нашими данными у пациентов с уровнем 25-ОН холекальциферола ниже 12 нг/мл риск суицидального поведения был крайне высоким, что отражает корреляция в уравнении, представленным выше. Во всех клинических случаях уровень биомаркера ниже указанной величины был связан с попытками совершения суицида, в том числе неоднократными, а при уровне 25-ОН холекальциферола у молодых лиц выше указанной величины, таких попыток не отмечалось как до момента госпитализации, так и в процессе наблюдения за пациентами в течение трех месяцев.

Таким образом, предложен способ оценки тяжести депрессии у молодых лиц с помощью клинической шкалы Гамильтона, отличающийся тем, что в сыворотке крови пациента, взятой натощак, дополнительно определяют 25-ОН холекальциферол и при сочетании показателя по шкале более 18 баллов и уровня 25-ОН холекальциферола ниже 12 нг/мл делают вывод о наличии тяжелой депрессии с высоким риском суицида.

Примеры применения способа.

1. Пациентка О. 18 лет.

Анамнез: наследственность: дядя по материнской линии алкоголизируется. Единственный ребёнок в неполной семье (родного отца никогда не знала). Перинатальный анамнез и раннее развитие без особенностей. ДДУ посещала, адаптировалась в коллективе плохо: со слов мамы, ходила только с воспитателем, с другими детьми общалась неохотно. В школу пошла с 7 лет, училась «средне», нравились гуманитарные науки, естественные и точные – «не давались». После 9 класса поступила в колледж Технологии и моды на специальность «дизайн интерьеров». Специальность выбрала сама, стесняется рисовать, потому что «все могут делать это лучше меня». Травмы, в том числе ЧМТ, оперативные вмешательства, другую хроническую соматическую патологию, судорожные припадки, нейроинфекции отрицает. Не курит, алкогольные интоксикации и наркотизацию отрицает. Приблизительно за год до обращения стали появляться необъективные «страхи», что не справится с учёбой, что «хуже всех в группе рисует», не хотела сдавать проекты, хотя делала их в срок – «боялась критики преподавателя». Со слов матери в это время стала «нервозной», раздражительной. Сама пациентка отмечает, что перед этим стала замечать, что перестала чувствовать вкус еды, ухудшился аппетит. Стало ухудшаться настроение. Появилась быстрая утомляемость, ухудшилась память – заметила, что стала делать много орфографических ошибок при письме – «путаю и пропускаю буквы». Стала сильно расстраиваться из-за пустяков и мелких неудач. Заметила, что постоянно «думает о плохом», «со временем стало делать это автоматически». Тяготилась размышлениями о неудачах, но «не всегда получалось их контролировать» - «иногда я даже сама не понимаю, о чём я думаю»; «например, мне захотелось мороженного, я его купила и съела, и сразу мысли о плохом, что я бесполезна, только и могу, что тратить деньги». Еле смогла окончить учебный год. Летом произошла инверсия ночного сна – «днём спала, ночью много думала». Один раз ночью «охватило чувство паники, поняла, что если я умру, то все проблемы закончатся, захотелось быстро всё прекратить». Приняла большое количество различных лекарств, которые нашла дома, была доставлена в НИИ им. Джанелидзе, после дезинтоксикационной терапии выписана домой. После выписки психическое состояние ухудшилось, появились новые «страхи» - «страх плавать в больших водоёмах – боюсь, что в них что-то есть, оно меня схватит и утащит на дно»; «страшно, что не смогу снять одежду»; «иногда, закутавшись в одеяло, становиться страшно, что не смогу из-под него выбраться». Через несколько недель внезапно возникло желание «порезать вены», была замечена матерью, по её настоянию обратилась в Психотерапевтический центр, откуда была направлена в отделение интенсивного оказания психиатрической помощи ГПНДС №7 г. Санкт-Петербурга. При поступлении жаловалась на «плохое настроение», отсутствие желания и интереса чем-либо заниматься, тревогу, на тягостные размышления о собственной «бездарности и никчёмности», на «страхи», жаловалась на отсутствие аппетита и чувства вкуса еды, на нарушения сна, ухудшение внимания и памяти.

При поступлении мимика пациентки была угрюмой, отмечалась медлительность движений, брадифрения, сверхценные идеи самообвинения. До начала терапии у больной был взят натощак анализ крови на уровень 25-ОН холекальциферола в плазме крови. Показатель составил **9,7 нг/мл**. В этот период показатель по Клинической шкале депрессии Гамильтона (HDRS) составил 22 балла (соответствует тяжёлому депрессивному расстройству). По клинической оценке состояния пациентки в стационаре – высокий риск суицида; по первому модулю Колумбийской шкалы оценки тяжести суицида (C-SSRS) - актуальные суицидные идеи при конкретном плане и намерении их совершить.

После обследования больной был установлен окончательный диагноз «Шизотипическое расстройство неврозоподобный тип F21.3».

Заключение. Тяжелый дефицит 25-ОН холекальциферола крови, тяжелая депрессия с высоким риском суицида.

1. Пациентка В., 25 лет. Анамнез: наследственность: у деда по отцовской линии старческое слабоумие, у матери был период алкоголизации. Родилась в Комсомольске-на-Амуре. Перинатальный анамнез без особенностей. Сменила несколько детских садов, - «протестовала, не хотела идти». Сколько себя помнит, всегда были сложности в вербализации, "притормаживала, составляя предложение", не любила выступать перед людьми. Закончила Петровский колледж в Санкт-Петербурге. Затем поступила на археологический факультет СПбГУ, дважды отчислялась за неуспеваемость, восстанавливалась, сейчас на 4 курсе. Проживает с молодым человеком. Травмы, нейроинфекции, оперативные вмешательства, хроническую соматическую патологию, судорожные припадки отрицает. Не курит, наркотизацию отрицает. Ранее за психиатрической помощью не обращалась. Состояние ухудшилось около полугода назад: «в университете не нравилось, что я старше сокурсников..., думала, что я гениальная, но так и не смогла найти себя...», начала прогуливать учебу, врала отцу, испытывала чувство вины, «все время что-то накручивала, что-то додумывала..., все сама испортила, запуталась», временами испытывала «злость на весь мир», в такие периоды пробовала алкоголь, но улучшения самочувствия не отмечала, дома скандалила с молодым человеком «без особых причин», изменила ему с преподавателем – «не понимала, зачем это сделала», после сдачи последней сессии переживала «иррациональное ощущение безысходности», «маялась, ревела», чувствовала собственную «непродуктивность», не могла ни на чём сосредоточиться, всё стало безынтересно. Осознала, что «ничего не добилась в жизни», казалось, что «все бесполезно, бесперспективно». Размышляла о самоубийстве, искала в Интернете информацию "как резать вены", «дважды пыталась, но не смогла довести до конца…, испытала отчаяние». Ухудшился сон, пропал аппетит, притупилось ощущение вкуса пищи, за последние месяцы похудела на 6 кг. Самостоятельно обратилась за психиатрической помощью.

До начала терапии у больной был взят анализ крови натощак и определен в сыворотке уровень 25-ОН холекальциферола. Показатель составил **4,6 нг/мл.** В этот период показатель по Клинической шкале депрессии Гамильтона составил 24 балла (соответствует крайне тяжёлому депрессивному расстройству), по шкале Монтгомери – Асберга (MADRS) состояние пациентки соответствовало большому депрессивному эпизоду. После клинического обследования больной был установлен окончательный диагноз «Депрессивный эпизод тяжелой степени без психотических симптомов F32.2».

Заключение. Тяжелый дефицит 25-ОН холекальциферола в крови, тяжелая депрессия с высоким риском суицида.

1. Пациентка Ф., 20 лет. Анамнез: уроженка Челябинской обл. Данных за отягощенную наследственность нет. Единственный ребенок в семье. Со слов, беременность и роды без особенностей. Росла и развивалась нормально, посещала детский сад. В школу пошла с 6 лет, в начальной школе училась хорошо, а средних классах отлично. Любила химию, английский язык, биологию, но все предметы давались одинаково хорошо. Была общительной, отношения со сверстниками складывались ровно. После школы училась в Уральском Федеральном Университете. Успешно защитила диплом, но решила продолжить учебу в другом ВУЗе. Летом поступила в СПб ГТИ, нравилось заниматься научной работой, активно занималась спортом. Живет в общежитии университета. Травмы, в том числе ЧМТ, оперативные вмешательства, судорожные припадки, хроническую соматическую патологию, нейроинфекции отрицает. Не курит, алко- и наркотизацию отрицает. Ранее к психиатрам никогда не обращалась. Состояние ухудшилось само собой: после того как вернулась с каникул из дома, перестала ходить на лекции в Университет, неохотно безрезультатно занималась научной работой, все стало казаться «бессмысленным», настроение снизилось, стала плаксивой, подолгу лежала, чувствовала разочарование и «душевную боль», но вечерами чувствовала себя лучше, приняла решение расстаться с молодым человеком, который «не понимал её», ухудшился ночной сон, пропал аппетит. Самостоятельно обратилась за помощью в Дневной стационар №4 г. Санкт-Петербурга.

До начала терапии у больной был взят натощак анализ крови на уровень 25-ОН холекальциферола. Уровень биомаркера составил **25,6 нг/мл**. В этот период показатель по Клинической шкале депрессии Гамильтона составил 12 баллов (соответствует лёгкому депрессивному расстройству), по Шкале Монтгомери – Асберга (MADRS) соответствовал малому депрессивному эпизоду. По клинической оценке у пациентки имелся низкий риск суицида на момент обследования, в течение трех месяцев наблюдения в дальнейшем суицидальных попыток не зарегистрировано.

После клинического обследования больной был установлен окончательный диагноз «Депрессивный эпизод лёгкой степени F32.0».

Заключение. Депрессия легкой степени, уровень 25-ОН холекальциферола незначительно снижен, не достигая уровня дефицита, риск суицида низкий.

Технический результат изобретения заключается в возможности до начала терапии более объективно оценить тяжесть текущего депрессивного состояния с учетом риска суицидального поведения у пациентов. Это позволяет сделать более точный прогноз и дальнейшие комплексные лечебно-реабилитационные и профилактические программы в конкретных случаях лечения пациентов, что является подтверждением расширения возможностей диагностики и повышения ее объективности и точности.

1. **Обсуждение результатов**

Технологии определения маркеров сердца совершенствуются ведущими производителями лабораторного оборудования. Внедрение в лабораторную практику высокочувствительных автоматизированных методик определения кардиоспецифичных тропонинов в последние 2-3 года позволило отказаться от качественных тестов на тропонин и определить уровень тропонина у каждого индивидуума в динамике при развитии болезней сердца или повреждения кардиомиоцитов [1, 4]. Новое поколение тестов позволяет определять следовые концентрации белка в сыворотке крови, что приводит к необходимости пересматривать показатели «нормы». Третье поколение высокочувствительных тестов, каким, например, является «ARCHITECT High Sensitive Troponin I» (США), обнаруживают тропонин у 95% здоровых лиц, а коэффициент вариации при уровне белка, соответствующему 99 процентилю, не превышает 6 %.

Особое значение приобретает количественное определение маркеров некроза миокарда в спортивной медицине. В исследовании [Mingels](http://www.clinchem.org/search?author1=Alma+Mingels&sortspec=date&submit=Submit) A. (2009 г.) изучена динамика тропонина у большой группы спортсменов-марафонцев. Среди группы бегунов-стайеров проводили лабораторное исследование крови до, после окончания бега и через сутки после соревнований [11, 13]. Уровень сердечного тропонина до соревнований не отличался у спортсменов от показателей здоровой популяции. В пробах крови сразу по окончании бега значения обоих кардиоспецифических тропонинов были повышенными по сравнению со значениями до физической нагрузки. Серьезное повышение концентрации биомаркера обнаружено почти у 50 % спортсменов. Вопрос о безопасном уровне повышения тропонинов в крови пока остается открытым [11].

Масштабные длительные исследования смогут подсказать врачам и тренерам, какой уровень маркера является безопасным для спортсмена и в какие сроки необходимо забирать кровь у испытуемых. В многоцентровых кардиологических исследованиях продемонстрировано, что возрастание уровня тропонинов не наблюда­ется в первые 2 часа после приступа ишемии, а отмечается в тот же период, что и увеличение изофермента СК-МВ. Максимум концентрации кардиоспецифичных тропонинов приходится на 12-16 часов, а кратность возрастания доходит до 500. Эти проверенные в многочисленных клинических исследованиях данные можно использовать спортивным врачам при планировании забора крови у спортсменов с подозрением на повреждение сердца. Введение в спортивную медицину определения концентрации высокочувствительных тропонинов в скором времени позволит выявлять с высокой достоверностью некрозы миокарда минимального размера, а также планировать допустимые нагрузки на сердце профессиональным спортсменам.

Процесс измерения уровней биомаркеров не должен требовать существенных трудовых затрат, измерение должно проводиться с высокой аналитической точностью; уровень биомаркеров должен отражать важные патофизиологические механизмы развития и прогрессирования патологического состояния; полученные данные не должны дублировать результаты имеющихся клинических исследований (включая уровни других биомаркеров).

Полученные данные говорят о том, что имеются существенные отличия поступления кардиомаркеров в кровь при инфаркте миокарда, кардиохирургических вмешательствах и предельных физических нагрузках, характерных для спорта высоких достижений по срокам выхода белков в системный кровоток и по степени повышения их уровня в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексная биохимическая и лабораторная оценка реакции спортсменов на физическую нагрузку, позволила выявить значительные сдвиги в организме испытуемых исследованных биомаркеров.

1. Результаты включенных в программу комплексной оценки специальных тестов количественно отразили эти изменения. Полученные характеристики непосредственно описывают последствия выполненной нагрузки. Анализ научной литературы показал, что биатлон является функционально тяжелым видом спорта, с высокой физической нагрузкой на организм занимающихся, требующий тщательного контроля функционального состояния спортсменов, в том числе уровней витамина D(OH) крови.
2. Использованные методы биохимического контроля функционального состояния имеют некоторые недостатки. Они требуют от спортсменов готовности сдавать повторно кровь из вены, в том числе неоднократно в процессе выполнения максимального напряжения. Высокая стоимость анализов ограничивает их широкое применение. В тоже время метод определения биомаркеров перегрузки и повреждения миокарда позволяет диагностировать ухудшение состояния организма на ранних стадиях.
3. Внесенные в учебно-тренировочный процесс коррективы на основании определения биомаркеров миокарда, позволяют повысить показатели функциональной подготовленности спортсменов.

Результаты исследования представлены тренерам сборной команды Санкт-Петербурга по биатлону и тренерам сборной России по биатлону на специальном семинаре в 2019 г.

По теме НИР опубликовано 3 главы в монографиях и Руководствах для врачей, 24 научных статьи, получено 2 Патента на Изобретение РФ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Воробьева А.В., Бондаренко Б.Б., Барт В.А., Дорофейков В.В., Машек О.Н., Есипович И.Д., Зверев Д.А., Кулешова Э.В.// О факторах повреждения миокарда при плановом чрескожном коронарном вмешательстве.- Вестник Санкт-Петербургского университета.- Серия 11: Медицина.- 2014.- № 1.- С.168-179.

2. Дорофейков В.В., Ситникова М.Ю., Лелявина Т.А., Паскарь Н.С., Сухова И.В., Федотов П.А., Иванов В.И., Кунина О.И., Шабанова Г.Р.// Мозговой натрийуретический пептид в кардиологии и кардиохирургии. -Медицинский алфавит.- 2014. -Т.1.- № 3. -С.49-56.

3. Дорофейков В.В., Курьянович Е.Н. Ранняя диагностика повреждений миокарда у спортсменов.// Актуальные проблемы физической и специальной подготовки силовых структур.- 2013.- № 1.- С.48-52.

4. Дорофейков В.В., Кулешова Э.В., Воробьева А.В., Машек О.Н., Зверев Д.А., Иванов В.И. Лабораторная диагностика микроповреждений миокарда во время коронарной баллонной ангиопластики со стентированием.// Клиническая лабораторная диагностика.- 2011.- № 2.- С. 15-18.

5. Дорофейков В.В. // ST2 - новый маркер сердечной недостаточности и прогноза пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. -Лаборатория. - 2014 .- №4.- С.18-22

6. Дорофейков В.В., Шешурина Т.А., Курапеев Д.И., Кабанов В.О., Паскарь Н.С., Сухова И.В., Воробьева А.В., Вавилова Т.В., Кулешова Э.В.// [Динамика тропонина I при различных видах кардиохирургических вмешательств и применение рекомендаций ESC/ACCF/ AHA/WHF 2012 года в диагностике послеоперационного повреждения миокарда.](http://elibrary.ru/item.asp?id=23498652) -[Новости хирургии](http://elibrary.ru/contents.asp?issueid=1393350).- 2015. -Т. 23.- [№ 2](http://elibrary.ru/contents.asp?issueid=1393350&selid=23498652). -С.165-170.

7. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). Kristian Thygesen, Joseph S. Alpert, Allan S. Jaffe, at all// European Heart Journal.- 2018.- 00, 1–33 EXPERT CONSENSUS DOCUMENT.- doi:10.1093/eurheartj/ehy462

8. Ситникова М.Ю., Лелявина Т.А., Федотов П.А., Трукшина М.А., Дорофейков В.В., Шляхто Е.В.// Влияние прогностических маркеров, оцениваемых в рутинной клинической практике на 5-летнюю выживаемость больных хронической сердечной недостаточностью и сопутствующей хронической обструктивной болезнью легких.- Артериальная гипертензия. -2009. -Т.15.- № 2.- С.132-137

9. Цветков С.А., Соколова Ф.М., Олисов Д.Г., Дорофейков В.В. Лабораторный мониторинг состояния организма у спортсменов.// Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. -2013.- № 6 (100).- С.159-163

10. Giannitis E., Roth HJ, Leithäuser R.M et al.// New highly sensitive assay used to measure cardiac troponin T concentration changes during a continuous 216-km marathon. - Clin Chem 2009.-55.- 590-592.

12. [Mingels](http://www.clinchem.org/search?author1=Alma+Mingels&sortspec=date&submit=Submit) A., Jacobs L., [Michielsen](http://www.clinchem.org/search?author1=Etienne+Michielsen&sortspec=date&submit=Submit) E. et al.// Reference Population and Marathon Runner Sera Assessed by Highly Sensitive Cardiac Troponin T and Commercial Cardiac Troponin T and I Assays. -*Clin. Chem. –* 2009. -vol. 55.- №.1.- 101-108.

13. Дорофейков В.В., Зазерская И.Е., Хазова Е.Л., Спиричева Е.В., Беляева Е.Н. В книге: Витамин D и репродуктивное здоровье женщины. Зазерская И.Е., Дорофейков В.В., Хазова Е.Л., и др. // Современные представления о строении метаболизме и биологических эффектах витамина D. - Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Санкт-Петербург, 2017. С. 7-22.

14. V.L. Aengevaeren, Maria T.E. Hopman, Paul D. Thompson, Esmée A. Bakker, K.P. George, D.H. Thijssen, Thijs M.H. Eijsvogels.// Exercise-Induced Cardiac Troponin I Increase and Incident Mortality and Cardiovascular Events.- Circulation.- 2019.-140.- 804–814. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.041627

15. Иванов В.И., Дорофейков В.В., Кайстря И.В., Эмануэль В.Л.// Витамин D и лабораторные показатели сердечно-сосудистого риска у пожилых.- Клиническая лабораторная диагностика.- 2020.- Т. 65. № 1.- С. 11-15.