

ДЕЙСТВИЕ СИСТЕМНОЙ ЭНЗИМОТЕРАПИИ НА ЗДОРОВЫХ АКТИВНЫХ ВЗРОСЛЫХ ЛЮДЕЙ ПОСЛЕ ЭКСЦЕНТРИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ: ДВОЙНОЕ СЛЕПОЕ, ПЛАЦЕБО-КОНТРОЛИРУЕМОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДВА ЭТАПА МЕТОДОМ СЛУЧАЙНОЙ ВЫБОРКИ

ТОБИАС МАРЦИН¹, ГЕРХАРД ЛОРКОВСКИ², КЛАУДИА РУЛЕ³, СТЕФАНИИ РАУ⁴, ЭЛИЗАБЕТ ПАБСТ⁵, ЙОГАННЕС Ц. ВЕСТЕР⁶, ГЕЛЬМУТ ПАБСТ⁵

¹Zentrum für Leistungsdiagnostik, Sportschule Fuerstenfeldbruck-Puch GmbH, Фюрстенфельдбрук, Германия

²GL Pharma Consulting Research & Development, Гаутинг, Германия

³BioTeSys GmbH, Эсслинген, Германия

⁴Mucos Pharma GmbH & Co. KG, Унтерхахинг, Германия

⁵Sportmedizin, Гилхинг, Германия

⁶IDV Data Analysis and Study Planning, Крайлинг, Германия

Предпосылки: системная энзимотерапия может улучшить симптомы после эксцентрических упражнений высокой интенсивности благодаря противовоспалительным свойствам.

Метод: участники плацебо-контролируемого клинического исследования в два этапа методом случайной выборки принимали исследуемый препарат (вобэнзим*) в течение 72 часов до и 72 часов после дня проведения эксцентрических упражнений высокой интенсивности (изокинетическая нагрузка на четырехглавые мышцы). Критерии эффективности (максимальная сила и боль) и временные отметки выбирались с учетом многомерного характера симптомов повреждения мышечной ткани, вызванного физическими упражнениями. Участники исследования были разделены методом случайной выборки на группы перекрестного исследования (первый этап, 28 человек) и группы параллельного исследования (второй этап, 44 человека).

Результаты: анализ данных первого этапа исследования показал превосходство энзимотерапии по сравнению с плацебо (критерий Манна-Уитни = 0,6153; $p=0,0332$; односторонний). Второй этап исследования был запланирован как контролируемое сравнение результатов двух параллельных групп, набранных методом случайной выборки. Неоднородность ($I^2>0,5$) между результатами двух этапов исследования привела к отдельному анализу этапа 1 (тренировка участников исследования на выносливость) и этапа 2 (тренировка участников на силу). Комбинированный анализ не дал никаких подтверждений действия соответствующего лечения. Анализ объединенных данных биомаркеров, тем не менее, продемонстрировал существенный благоприятный эффект системной энзимотерапии в двух этапах исследования.

Вывод: системная энзимотерапия до и после проведения эксцентрических упражнений высокой интенсивности дала в результате более высокую максимальную концентрическую силу у менее тренированных участников исследования (этап 1) и оказала значительное благоприятное воздействие на биомаркеры (воспаление, метаболизм и иммунитет) всех участников исследования. Для применения данных результатов требуется проведение дополнительного анализа.

Повреждения мышечной ткани, вызванные физической нагрузкой (ПМТВФН), и их наиболее распространенные симптомы, отсроченное наступление мышечной боли (ОНМБ), влияют на частоту и качество тренировок спортсменов. Интенсивные физические нагрузки, острые послеоперационные травмы и определенные заболевания могут быть причиной травм скелетной мускулатуры. Вне зависимости от вида травмы, механизм травмирования и восстановления идентичен [1, 2] и хорошо изучен в ПМТВФН [3, 11].

Новые результаты

• Данное исследование подтверждает существенное и значительное влияние системной энзимотерапии (СЭТ) на уровень утомленности, боль в мышцах и их повреждение, а также иммунологические и метаболические биомаркеры мужчин-спортсменов со средними показателями (в основном, бегуны и физкультурники). Уровень боли в мышцах и максимальная сила не улучшились у участников исследования с более высоким уровнем силы на начальном этапе.

• Использование СЭТ привело к значительному умень-

шению воспалительных биомаркеров у спортсменов всех уровней тренированности, что говорит о положительном влиянии СЭТ на нормальные воспалительные процессы при восстановлении мышц.

• Врачи могут рекомендовать использование системной энзимотерапии для лечения усталости мышц, снижения уровня боли и повреждения мышц у спортсменов, выполняющих физические упражнения на выносливость

Воспаление способствует фиброзу [12] и вызывает боль, которая может ухудшить функции скелетных мышц [11]. Соответственно, была широко распространена практика снижения уровня воспаления за счет приема лекарственных средств, таких как ингибиторы ЦОГ-2. Проблема с данным подходом заключается в том, что хотя воспаление вызывает дальнейшее травмирование мышечной ткани [1, 2, 13, 14], купирование воспаления может препятствовать процессу восстановления [1, 15-17]. В результате, имеющиеся на данный момент варианты лечения воспаления не обязательно эффективны и, в некоторых случаях, могут быть и небезопасными.

*Препарат зарегистрирован в Республике Казахстан под названием Вобэнзим плюс

Применение системной энзимотерапии (СЭТ) способствует естественному протеканию воспалительных процессов и, таким образом, решению проблемы с предотвращением воспалительного процесса, препятствующим восстановлению. Антиоксидант рутин уменьшает окислительный стресс во время воспаления [18, 19]. После перорального приема, протеолитические ферменты, также именуемые как протеазы, в основном всасываются в тонком кишечнике и действуют в жидкостях и тканях тела как свободные и связанные протеиназы, несмотря на низкий уровень концентрации (пмоль-нмоль) [20]. Трипсин и бромелаин оказывают два вида основного биологического действия, как и другие протеиназы: 1) они расщепляют протеины благодаря своей протеолитической активности, разрушающей пептидные связи в определенных местах, как в пищеварении, так и в качестве маркеров клеточного разрушения и воспаления и 2) формируют связи со специфическими (например: α 2-антиотрипсин) или неспецифическими (например: α 2-макроглобулин) антипротеиназами для предотвращения неконтролируемого разрушения белка.

Накопленные данные указывают на роль активируемого протеиназой рецептора 2, выраженного в Т-клетках, эозинофильных клетках, нейтрофильных лейкоцитах и тучных клетках, в регулировании воспаления и иммунитета [20-23]. Так же, как трипсин, так и бромелин, формируют комплексы с α 2-макроглобулином, что приводит к конформационным изменениям, влияющим на участки распознавания рецептора в каждой из его четырех субъединиц [20, 24].

Данные комплексы распознаются рецепторами липопротеинов низкой плотности и рецепторами регулируемого глюкозой белка клеточной поверхности (GRP78) [24]. на поверхности клеток крови и иммунных клеток, что приводит к изменению клеточной активности [25] и быстрому удалению гепатоцитами [20, 26].

Во время воспаления, комплекс протеазы и антипротеазы претерпевает дальнейшие изменения [20]. Окисление комплекса протеазы-антипротеазы может служить механизмом переключения, который приводит к деактивации развития острого воспаления за счет изоляции фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкина (IL)2 и IL-6 с одновременной активацией процесса восстановления ткани за счет высвобождения основного фактора роста фибробластов (bFGF), основного фактора роста нервной ткани (b-NGF), фактора роста тромбоцитов (PDGF) и трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) [20]. Таким образом, системная энзимотерапия может влиять на повреждения мышечной ткани и отсроченное наступление мышечной боли, вызванные физической нагрузкой, за счет балансировки воспалительной реакции на повреждение.

Влияние протеиназ перорального приема на повреждение мышечной ткани, вызванное физической нагрузкой, было исследовано в нескольких клинических исследованиях, в которых основное внимание уделялось боли в мышцах и/или функции и силе мышц [27, 28, 29]. Бромелин и другие протеиназы могут уменьшить воспаление мышечной ткани после повреждения, вызванного физической нагрузкой [1], но противоречия остаются [27, 28]. Цель данного исследования заключается в исследовании влияния системной энзимотерапии до и после проведения эксцентрических

физических упражнений высокой интенсивности на функциональные и биохимические параметры повреждения мышечной ткани и на отсроченное наступление мышечной боли у спортсменов-мужчин со средними показателями.

МЕТОДЫ

План исследования

Данное исследование является проспективным, двойным слепым, плацебо-контролируемым исследованием в два этапа методом случайной выборки. На первом этапе проводилось перекрестное исследование, после чего 21 день выделялся на выведение исследуемого вещества из организма перед началом второго этапа исследования. Второй этап исследования заключался в проведении исследования методом сравнения двух параллельных групп. Участники были разделены на две группы (группа системной энзимотерапии и группа плацебо) методом случайной выборки (этап 1: $n=2 \times 14$, перекрестное исследование; этап 2: $n=2 \times 22$, параллельные группы), при этом участники исследования не имели данных по исследованию, за исключением лица, ответственного за промежуточный (этап 1) и окончательный подтверждающий анализ. Прием препаратов начался за 72 часа до дня проведения тренировки высокой интенсивности и продолжался в течение 72 часов после завершения упражнений, повреждающих мышечную ткань. Каждый участник исследования вел дневник физической активности и заполнял анкету-опросник о частоте приема пищи. Клиническое исследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации и было утверждено местными компетентными органами здравоохранения и комитетом по этике. Исследование было зарегистрировано в ClinicalTrials.gov (NCT01845558).

Участники исследования

Участники исследования были в возрасте от 20 до 50 лет с индексом массы тела в пределах $>20 \text{ кг/м}^2$ и $<32 \text{ кг/м}^2$, со средней физической формой и силой, определенной средним уровнем концентрической силы в 150-300 Нм (ньютон-метр) максимального крутящего момента (МКМ). Оценка антропометрических данных производилась с использованием опросника на момент отбора участников. Участников попросили не изменять свое привычное питание. На протяжении дня физической нагрузки участникам предлагались стандартные блюда. На протяжении срока исследования участники не должны были заниматься физическими упражнениями (включая поездки на работу на велосипеде). Вся физическая нагрузка документировалась. Участники были проинструктированы воздерживаться от таких действий, как сеанс массажа, прием горячей ванны или душа, после физических упражнений. Критерии исключения из исследования включали в себя наличие в прошлом или в настоящем заболевания, прием противовоспалительных препаратов, пищевых добавок или использование других процедур, непосредственно влияющих на мышечную функцию или физическую форму в течение 4 недель до или во время исследования. Прием анальгетиков или потребление алкоголя не разрешалось за 24 часа до и до истечения 72 часов после физической нагрузки.

Размер выборки

Расчет непараметрического размера выборки в рамках

подхода с множественными результатами [30-33] проводился с применением одобренного программного обеспечения Nnpag V.1.0 (IDV, Гаутинг, Германия). При размере выборки в 30 человек расчет для первого этапа исследования показал 64% вероятность (90%) определения различий в группе среднего размера в многомерном исследовании. В случае, если в результате проведения 1-го этапа испытания не определен ни успех, ни неудача, возможно планирование последующего 2-го этапа на основании результатов 1-го этапа (переоценка размера выборки с соответствующей корректировкой плана исследования) [34, 35]. Пересчитанный общий размер выборки для 2-го этапа составил 2x22 участника (один этап, без перекрестного исследования).

Интервенции

Участники привлекались посредством опроса по телефону и приглашались на отборочный тур за 2-4 недели до проведения физических упражнений для того, чтобы получить информированное согласие от каждого участника и убедиться в соответствии кандидата требованиям, предъявляемым к участнику исследования. У потенциальных участников исследования были получены демографические данные, анамнез, данные физической активности (опросник физической активности Фрайбургера), данные по питанию,

показатели жизненно важных функций и образцы крови.

После разминки на динамометре в течение 5 минут, максимальная концентрическая сила четырехглавой мышцы более сильной ноги, определенной во время отборочного тура, измерялась на десмодроме (Фа. Шнелл). Было проведено три повторения 20 максимальных концентрических сокращения (20 колебаний в минуту в течение 60 секунд) с последующим пассивным восстановлением в течение 1 минуты. Для анализа использовалось самое высокое полученное значение. Для каждого измерения были определены и задокументированы пиковое значение вращающего момента и угол пикового значения вращающего момента. На 4-й день исследования (визит №1) повреждения мышечной ткани были вызваны физическими упражнениями высокой интенсивности в соответствии с параметром МакЛея [36]. Максимальная эксцентрическая изокинетическая нагрузка на четырехглавую мышцу левой и правой ноги определялась с использованием десмодрома (Фа. Шнелл), как указано выше, но с той лишь разницей, что использовались эксцентрические, а не концентрические упражнения. Один и тот же наблюдатель мотивировал всех участников в соответствии со стандартизированным протоколом во избежание расхождения между результатами наблюдений разных наблюдателей.

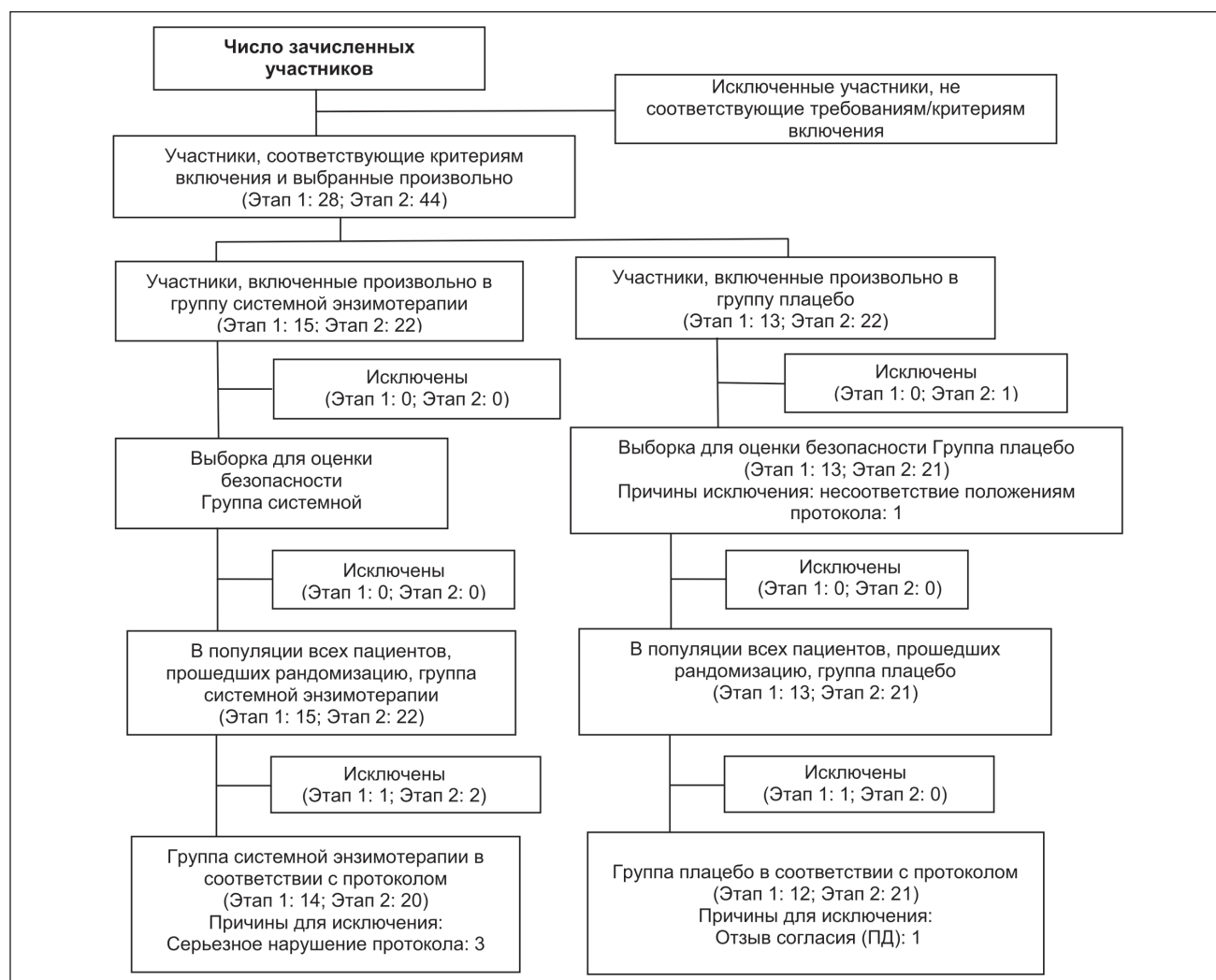


Рисунок 1 – Распределение участников по этапам 1 и 2 исследований и разным группам анализа. ПД – побочное действие.

Исследуемый препарат

Все участники исследования принимали по четыре таблетки препарата СЭТ или плацебо идентичной формы и цвета три раза в день, начиная с 72 часов до проведения эксцентрических физических упражнений высокой интенсивности и в течение 72 часов после упражнений. Такие

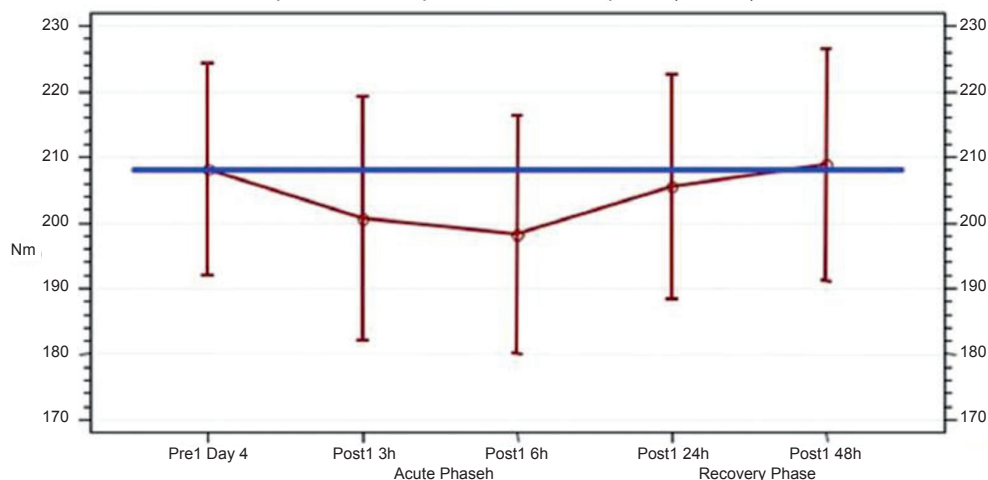
таблетки участники исследования принимали на пустой желудок за 30 минут до приема пищи и запивали 250 мл воды. Дата и время приема препаратов и время последующего приема пищи заносились в дневник. Оставшееся количество таблеток подсчитывалось для обеспечения соответствия установленным правилам.

А МАКСИМАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПИКОВОГО КРУТЯЩЕГО МОМЕНТА [Нм]

Абсолютные значения: имеющиеся данные

Для всех групп

Средний доверительный интервал (95,0%)



Nm – Нм

Pre 1 Day 4 – до нагрузок 1 день 4

Post1 3h – после нагрузок 1 3ч

Post1 6h – после нагрузок 1 6ч

Post1 24h – после нагрузок 1 24ч

Post1 48h – после нагрузок 1 48ч

Acute phase – острая фаза

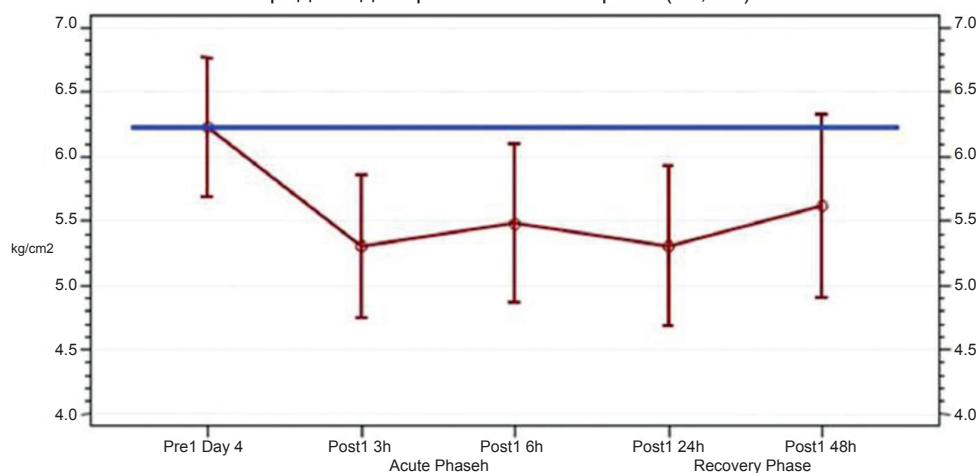
Recovery phase – фаза восстановления

В**БОЛЬ, ВЫЗВАННАЯ ДАВЛЕНИЕМ [кг/см²]**

Абсолютные значения: имеющиеся данные

Для всех групп

Средний доверительный интервал (95,0%)

kg/cm² – кг/см²

Pre 1 Day 4 – до нагрузок 1 день 4

Post1 3h – после нагрузок 1 3ч

Post1 6h – после нагрузок 1 6ч

Post1 24h – после нагрузок 1 24ч

Post1 48h – после нагрузок 1 48ч

Acute phase – острая фаза

Recovery phase – фаза восстановления

Рисунок 2 – Результаты первого этапа по максимальному значению крутящего момента и уровню боли, вызванному давлением, в результате эксцентрических физических нагрузок высокой интенсивности у всех пациентов. Средние значения максимального крутящего момента (Нм) (А) и уровня боли, вызванного давлением (кг/см²) (В) и 95% доверительный интервал для всех участников первого этапа слепого исследования (красные круги и линии) сравнивались со средними значениями базисного уровня пикового крутящего момента всех участников (синяя линия).

Измерение результатов

Максимальная концентрическая сила четырехглавой мышцы бедра обеих ног определялась во время отборочного периода (за 2-4 недели до первого визита), перед первым визитом (день 0, до начала приема исследуемого препарата), во время первого визита (день 4 приема исследуемого препарата), непосредственно перед и сразу же после проведения эксцентрических физических упражнений высокой интенсивности (0 час), а также через 3 часа и 6 часов после физических нагрузок, на пятый день (24 часа), шестой день (48 часов) и седьмой день (72 часа). Пиковый крутящий момент и угол пикового крутящего момента измерялись как параметры максимальной концентрической силы. Боль, вызванная давлением, у всех участников исследования оценивалась одним и тем же наблюдателем с использованием металлического диска площадью 1 см² в средней части мышечного брюшка. Давление постепенно повышалось до момента, когда оно начинало вызывать неприятные ощущения. Боль, вызванная давлением, оценивалась в установленное время. Для анализа использовалось среднее значение трех измерений.

Биомаркеры

Были определены биомаркеры мышечного метаболизма и повреждения, воспалительной и иммунной реакции, а также окислительно-восстановительного потенциала. Образцы брались в определенное установленное время, хранились замороженными при температуре -80°C, за исключением эфира молочной кислоты и естественных клеток-киллеров (ЕКК). Анализ проводился партиями для каждого участника

исследования после завершения исследования в соответствии с инструкциями производителя, если не было указано иное. В медицинском центре Лайнфельдена (Medizinisches Versorgungszentrum Leinfelden) были определены значения для креатинкиназы и лактатдегидрогеназы как маркеров повреждения мышечной ткани с использованием образцов, полученных через 0, 3, 6, 24, 48 и 72 часа после проведения физических упражнений. Значение для соли молочной кислоты было определено до физической нагрузки и через 10 и 30 минут после нее путем забора образцов капиллярной крови на месте проведения исследования. Воспалительная реакция исследовалась как интерлейкин-6 (IL-6) (до проведения физических упражнений, и через 0, 3 и 24 часов после упражнения) (иммуно-ферментный анализ высокой чувствительности; научно-исследовательские системы) и простагландин Е, полученный из циклооксигеназы 2 (до физической нагрузки и через 3, 6 и 24 часа после нее) (простагландин Е метаболит; Cayman Chemical) в BioTeSys, Эссинген. Иммунная функция исследовалась на основании анализа активности ЕКК, индуцируемой интерлейкином-2 (до физической нагрузки, через 3 и 24 часа после нагрузки) в институте медицинской диагностики в Берлине [37, 38]. Общая антиокислительная активность (ОАА) и общая окислительная активность (ООА) (до физической нагрузки и через 3, 6 и 24 часа после нагрузки) была определена с использованием фотометрических измерений (комплект ImAnOx [TAS/TAC], комплект perOS [TOS/TOC]; Immundiagnostik AG, Беншайм, Германия).

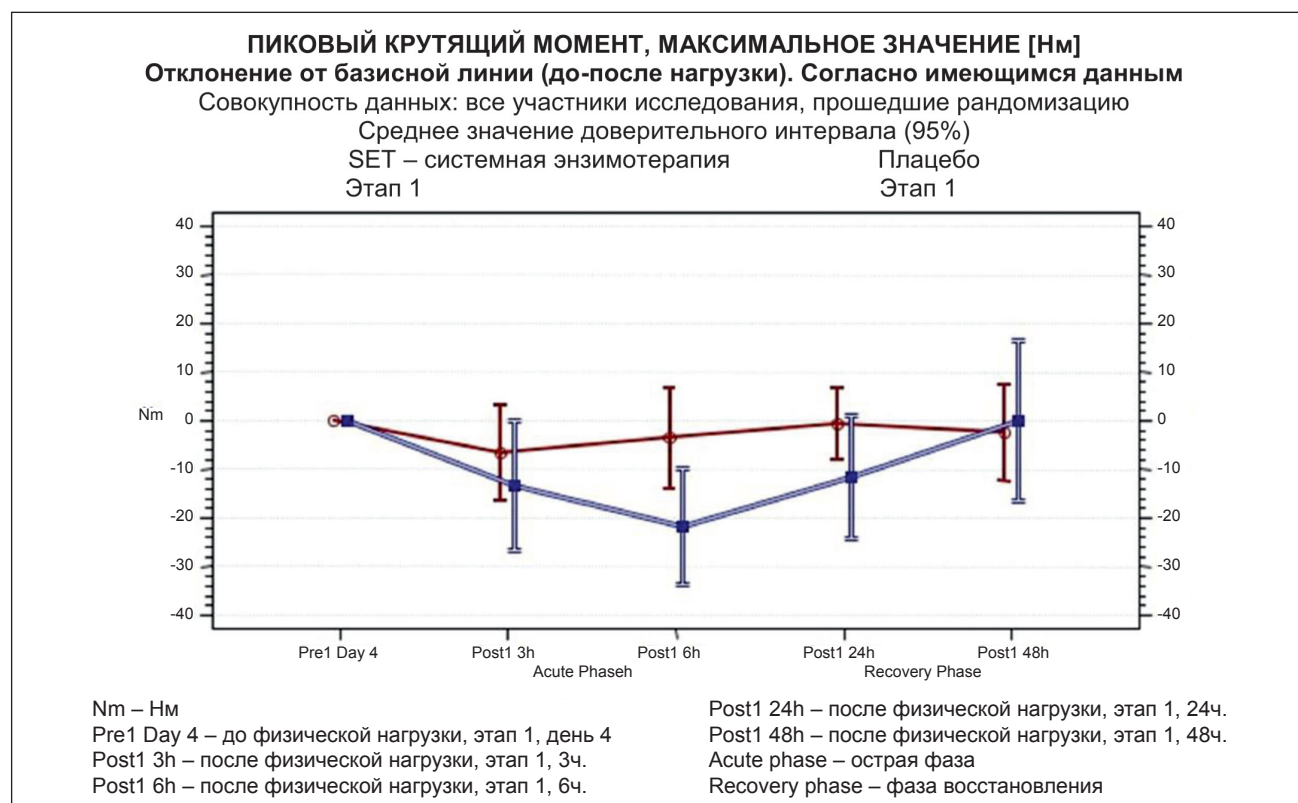


Рисунок 3 – Максимальное значение пикового крутящего момента в ответ на эксцентрические физические нагрузки высокой интенсивности участников исследования, принимавших препарат системной ферментотерапии или плацебо. Средние отклонения пикового крутящего момента [Нм] от базисной линии и 95% ДИ для всей группы участников исследования, прошедших рандомизацию, приводятся для группы системной энзимотерапии (красные круги и линии) и для группы плацебо (синие круги и линии).

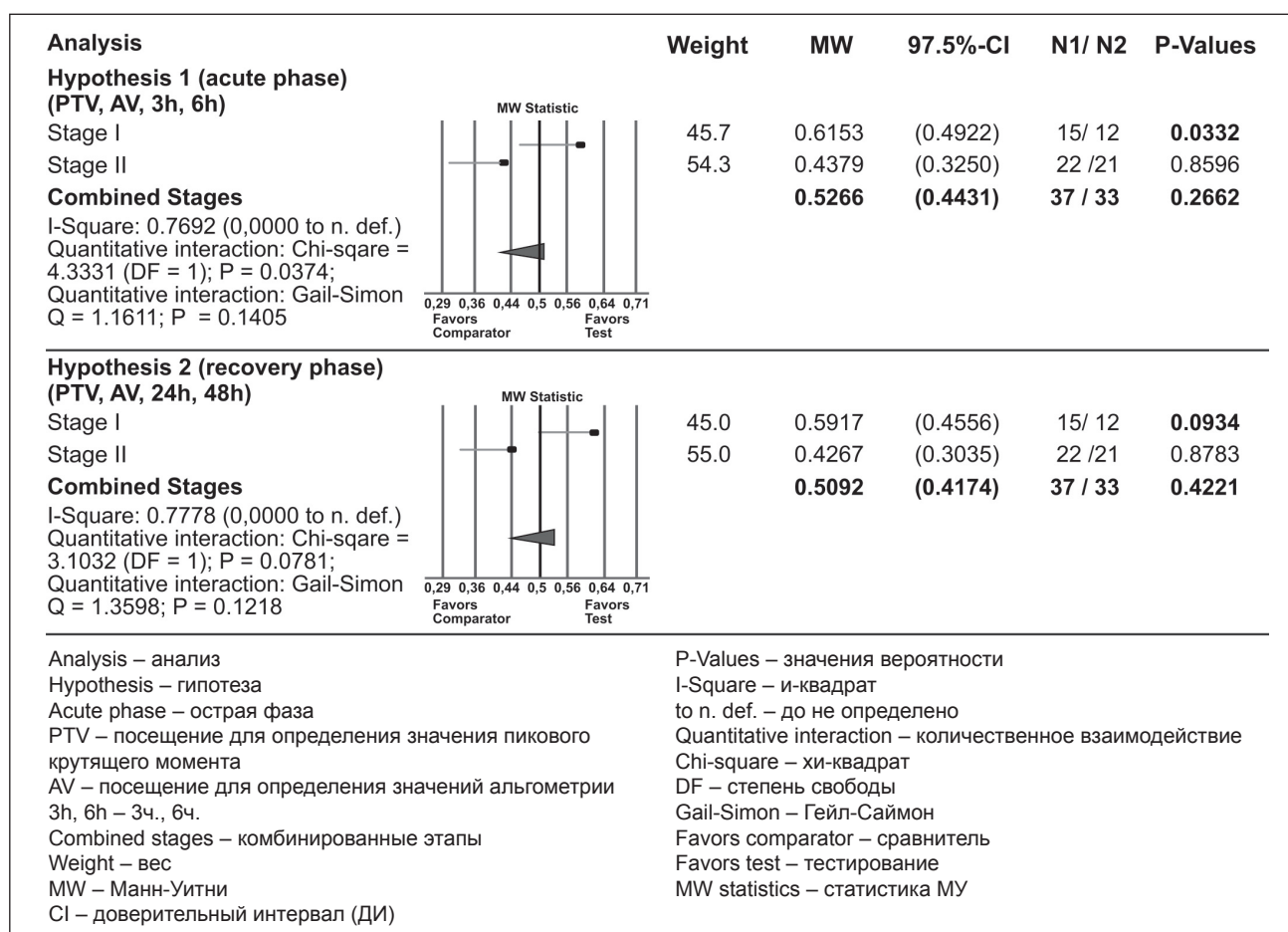


Рисунок 4 – Статистический анализ совокупности значений пикового крутящего момента и уровня боли, вызванного давлением, через 3 ч и 6 ч (гипотеза 1) и через 24 ч и 48 ч (гипотеза 2) после завершения физических упражнений

Оценка безопасности

Образцы крови для проведения плановых лабораторных испытаний, включая гемограмму, ферменты печени, липиды, глюкозу, мочевую кислоту и креатинин, были взяты до и через 24 и 72 часа после физической нагрузки и проанализированы в медицинском центре Ляйнфельдена. Показатели жизненно важных функций определялись во время всех визитов. Данные по одновременно принимаемым препаратам и случаям возникновения побочного действия документировались.

Статистический анализ

Так как никакой один измеряемый параметр не отражает многомерный характер восстановления после повреждения мышечной ткани, вызванного физическими нагрузками, комбинация отдельных показателей эффективности, таких как уменьшение максимальной силы (ПКМ) и боль, вызванная давлением, была выбрана для оценки путем многомерного направленного тестирования на 1-м этапе исследования [39].

Многоуровневая альфа исследования (многоуровневая значимость) была определена как $\alpha=0,025$ (одностороннее значение). Был проведен подтверждающий анализ группы участников исследования, прошедших рандомизацию. Недостающие значения были заменены за счет переноса данных последнего наблюдения. Полученные результаты приводятся как значения «р», а величина эффекта приводится в связи

с соответствующим ДИ (значение Манна-Уитни (МУ) как соответствующее значение величины эффекта, определенного с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни). Традиционные значения определения размера эффекта с использованием критерия МУ следующие: 0,29 = значительная неэффективность; 0,36 = средняя неэффективность; 0,50 = равнозначность; 0,56 = незначительная неэффективность; 0,64 = среднее превосходство и 0,71 = серьезное превосходство.

Было проведено несколько предварительных испытаний гипотез в виде двухэтапной процедуры [30, 40, 41] включая возможность прекращения исследования после проведения первого этапа по причине его успеха (доказательства эффективности) ($p1 < \alpha1 = 0,0102$) или неудачи ($p1 > \alpha1 = 0,5$) или планирования второго этапа исследования на основании результатов первого этапа, включая переоценку размера выборки и окончательное оформление плана проведения исследования. Данная процедура, основанная на комбинированном критерии Фишера, показала только незначительную потерю в параметрах испытания при фиксированном размере выборки [42]. В ней использовалось регулируемое значение $\alpha1 = 0,0102$ в качестве критического значения для первого этапа исследования [34]. Пересчитанный общий размер выборки для этапа 2 исследования составил 2х22 участника без проведения перекрестного исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Группа исследования

Для участия в первом этапе исследования было привлечено 30 участников в период с 20 апреля по 1 августа 2013 г., и 28 участников (выборка для оценки безопасности) прошли перекрестное исследование. В анализе, проведенном в соответствии с протоколом, принимало участие 26 участников (рис. 1).

Во втором этапе исследования приняли участие всего 44 участника, которые были набраны с 15 мая по 27 июля 2014 г. Группа для оценки безопасности состояла из всех набранных участников (количество = 44). Группа исследования в соответствии с протоколом (41 участник; системная энзимотерапия: 20; плацебо: 21) сложилась после исключения двух участников из-за нарушения протокола (время ПКМ > 20% и серьезное нарушение параметров отбора по ПКМ) (рис. 1).

Этап 1

Результаты по пиковому крутящему моменту (ПКМ) и боли, вызванной давлением (БВД) для обеих групп исследования (все участники исследования), были подвергнуты сравнению с базисными значениями и указаны на рисунке 2.

Как и ожидалось, ПКМ уменьшился в «острой» фазе через 3 часа (3,4%, 201Нм) и 6 часов (4,8%, 198Нм) после эксцентрической физической нагрузки высокой интенсивности по сравнению с базисной линией (100%, 208Нм) (рис. 2А). Тем не менее, во время этапа «восстановления» (24–48 часов), среднее значение ПКМ вернулось к 205Нм через 24 ч и 209Нм через 48 часов, т.е. к уровню, наблюдавшемуся до проведения физического упражнения. Таким образом, потенциал определения различий между двумя группами исследования существенно сокращался через 24 часа и далее. Боль, вызванная давлением (БВД), измерялась посредством алгометрии (участники обеих групп исследования). Результаты измерения показали уменьшение болевого порога после проведения физических упражнений высокой интенсивности в обеих фазах (рис. 2В).

Результаты ПКМ на 1-м этапе (фаза 1) группы системной энзимотерапии (СЭТ) или группы плацебо показаны на рисунке 3. Физические упражнения высокой интенсивности и нагрузки привели к уменьшению ПКМ в группе СЭТ на 2,8% через 3 часа и 1,5% через 6 часов по сравнению с 6,2%, 10% и 5,7% через 3 часа, 6 часов и 24 часа, соответственно. Физические параметры вернулись к базисным значениям через 24 часа в группе СЭТ, но в группе плацебо такой возврат не произошел до 48 часов. Связанный размер действия МУ показал более чем незначительное превосходство группы СЭТ ($MU = 0,6153$, $p = 0,0332$) по сравнению с группой плацебо.

Этап 2

В отличие от первого этапа, подтверждающий анализ обеих гипотез, проведенный на втором этапе исследования, не дал подтверждения соответствующего действия (гипотеза 1: $p=0,8596$, гипотеза 2: $p=0,8783$, оба значения односторонние). Как показано на рисунке 4, существует «серьезная» неоднородность между обоими этапами для обеих гипотез (гипотеза 1: $MU=0,6153$ по сравнению с $MU=0,4379$; $I2=0,7692$, $p=0,0374$; гипотеза 2: $MU=0,5917$ по сравнению с $MU=0,4267$; $I2=0,6778$, $p=0,0781$). Так как

оба значения $I2$ превышают 0,5, что означает неоднородность, результаты должны интерпретироваться отдельно для каждого этапа исследования.

Биомаркеры

Анализ биомаркеров через 3 часа после завершения физических упражнений продемонстрировал значительные преимущества СЭТ по сравнению с плацебо (этап 1: $p=0,0011$; этап 2: $p=0,0114$) (рис. 5) без неоднородности ($I2=0,0$) между этапами 1 и 2. Размер воздействия объединенных биомаркеров этапов 1 и 2 показывает значительное и «более чем небольшое» превосходство группы СЭТ ($MU=0,5847$, $p=0,0001$) по сравнению с группой плацебо (рис. 5).

Безопасность

На первом этапе только один из 16 зафиксированных случаев побочного действия был охарактеризован как «возможно» связанный (диарея, СЭТ). На втором этапе произошло два случая побочного действия, одно было возможно связано с СЭТ (сыпь, подобная угревой, в районе подбородка и умеренный зуд). Ни один из случаев побочного действия не был серьезным. Оба случая, отнесенные к СЭТ, характеризовались как умеренные и разрешились. На обоих этапах ни в одной из групп исследования не было получено никаких клинически значимых данных. СЭТ хорошо переносится при дозировке в 3х4 таблетки в день.

Рассмотрение результатов исследования

Мы продемонстрировали превосходство СЭТ над плацебо в поддержании силы и уменьшении боли, вызванной изнуряющей эксцентрической тренировкой (острая фаза, этап 1). Данные второго этапа оценивались отдельно из-за существенной неоднородности ($I2>0,5$) и, в противовес первому этапу, не показали существенной разницы между СЭТ и плацебо в отношении повреждения мышечной ткани, вызванного физическими упражнениями. Биомаркеры соответственно реагировали на СЭТ на всех этапах исследования.

Сильные стороны и ограничения

Исследование было тщательно спланировано с использованием многомерного подхода для оценки результатов и классификации с учетом многомерного аспекта восстановления после повреждения мышечной ткани в результате физической нагрузки. Помимо этого, двухэтапный подход с промежуточным анализом и продолжением с уточненными гипотезами и откорректированным размером выборки дает все возможности для успешного завершения исследования.

На удивление, предварительно запланированный тест для определения влияния предшествующей терапии дал достаточно значимые результаты на определенном уровне α_1 ($p=0,0092$, одностороннее значение, процедура Вей-Лахина, Бауэр-Кёне $\alpha_1=0,0102$) на первом этапе. Таким образом, в соответствии со статистическим планом, только данные, полученные по первому этапу исследования, могут использоваться для непараметрического подтверждающего анализа и перекрестный подход не должен использоваться на втором этапе, а должен применяться подход сравнения параллельных групп. Одним возможным объяснением эффекта переноса является то, что ухудшение мышечной функции может быть вызвано недавней, т.е. в течение не-

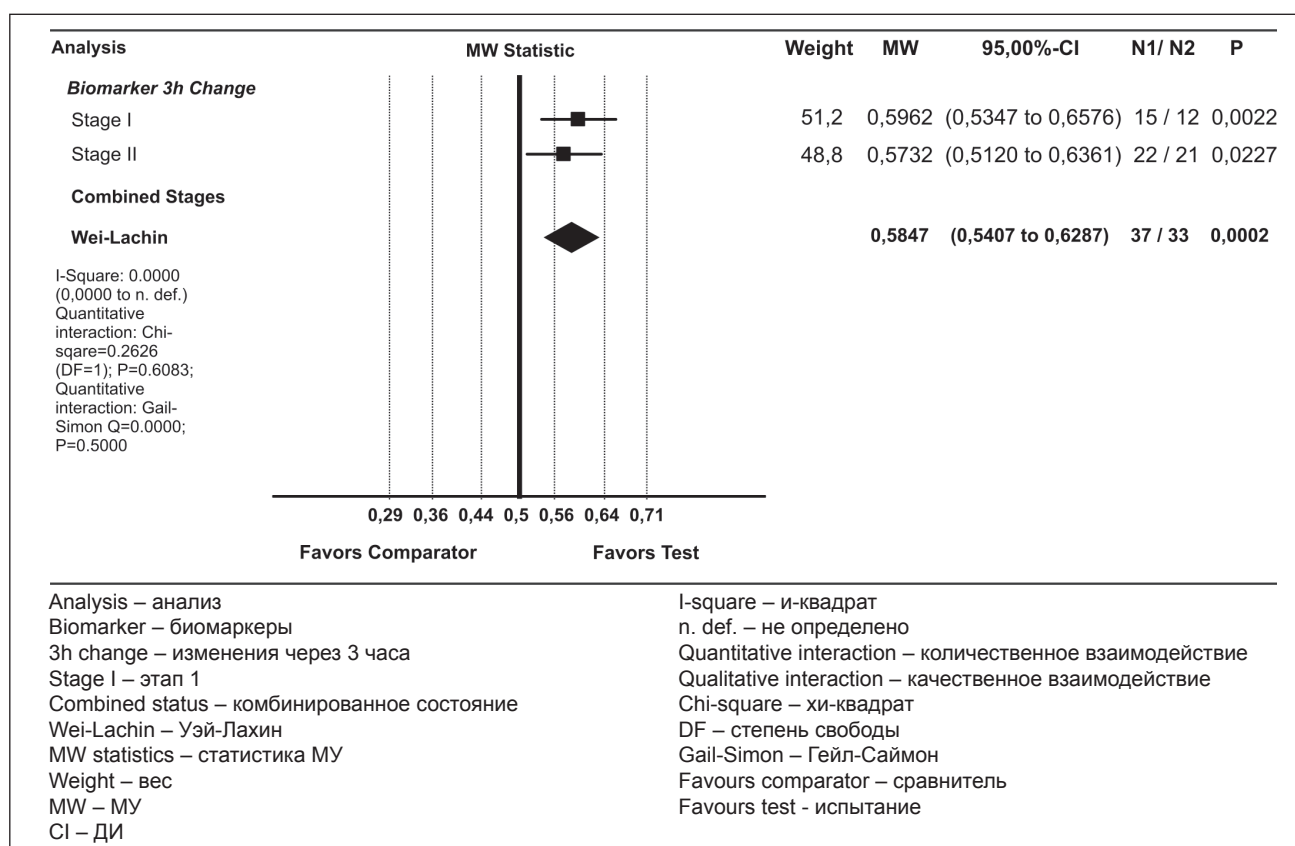


Рисунок 5 – Превосходство СЭТ по сравнению с плацебо в улучшении воспалительных, иммунных и метаболических биомаркеров в ответ на эксцентрические упражнения высокой интенсивности. Размер действия (изменения по сравнению с базисной линией) через 3 часа после изнуряющих эксцентрических упражнений был определен для этапа 1, этапа 2 и двух этапов совместно. Обобщенные данные по биомаркерам, включающие в себя данные по креатинкиназе, лактатдегидрогеназе, молочной кислоте, интерлейкину 6, простагландину E2, общему состоянию окисления, общему антиокислительному состоянию и естественным клеткам-киллерам, были проанализированы на предмет превосходства. ДФ – степень свободы, МУ – Манн-Уитни, N – количество, n. def. – не определено, p – вероятность, СЭТ – системная энзимотерапия.

скольких месяцев [43], эксцентричной нагрузкой высокой интенсивности той же мышцы (тех же мышц). Действие широко описывается как «эффект рецидива» [44]. Тем не менее, так как повреждение мышечной ткани от физической нагрузки во время текущего исследования было только умеренным, фаза вымывания во время сеанса эксцентричных упражнений должна была быть достаточной для избежания эффекта рецидива. Эффект переноса от СЭТ к плацебо не может быть исключен, так как имели место сообщения о необратимых изменениях рецепторов поверхности клетки крови и иммунных клеток [20, 21, 23].

Этапы 1 и 2 показали серьезную неоднородность даже несмотря на то, что критерии включения оставались неизменными на стадии отбора данных двух этапов при ПКМ в 150-300Нм и изменчивости в 20%. Имела место существенная разница в реакции участников исследования на эксцентрические упражнения [45]. Повреждение мышечной ткани должно было быть даже больше в данном возрастном диапазоне, так как степень повреждения мышечной ткани повышается от детей к подросткам и взрослым мужчинам [46]. Гибкость [47, 48], эксцентрический пиковый крутящий момент и крутящий момент конечного диапазона [49], а также угол пикового крутящего момента (взаимоотношение угла сустава к крутящему моменту) также являются фактора-

ми, влияющими на разнообразную реакцию на повреждение мышечной ткани.50 Помимо этого, расширенная тренировка тех же мышц по сравнению с изнуряющей эксцентрической тренировкой может повлиять на механизм восстановления и на индивидуальный автономный болевой порог.

Серьезные вариации реакции на эксцентрические физические упражнения отдельных участников исследования также указывались в специальной литературе, а серьезного повреждения мышечной ткани не было отмечено ни у одного участника исследования [45, 51-54].

Модель исследования может быть ограничена по способности наблюдать за функциональной реакцией у более тренированных спортсменов.

Более пристальное изучение данных участников на базисном уровне показало разницу между этапами по количеству основных дисциплин и длительности тренировки в неделю (табл. 1).

Участники первого этапа исследования были, в основном, бегунами (тренировка на выносливость), в то время как участники второго этапа в основном работали над тренировкой силы (устойчивости). Длительность еженедельной тренировки на развитие силы на втором этапе превышала длительность тренировки первого этапа практически втрое (179 по сравнению с 61 минутой). Также

Таблица 1 – Сводные антропометрические данные и базовые характеристики

Параметр	Первый этап			Второй этап		
	всего (n=27)	СЭТ (n=15)	плацебо (n=12)	всего (n=42)	СЭТ (n=21)	плацебо (n=21)
Возраст (лет) ± СО	31,6±9,3	29,2±8,8	34,6±9,3	29,7±8,7	30,7±7,6	28,7±9,8
Рост (м) ± СО	1,81±0,06	1,79±0,06	1,83±0,07	1,83±0,05	1,84±0,06	1,82±0,04
Вес (кг) ± СО	80,0±10,0	76,5±10,2	84,3±8,0	81,2±7,4	81,0±8,6	81,3±61
ИМТ (кг/м ²) ± СО	24,4±2,1	23,8±2,0	25,2±1,9	24,3±1,8	24,0±1,8	24,6±1,8
Занятия спортом (минут в неделю) ± СО	369±206	415±197	312±211	482±433	483±502	481±363
Креатинкиназа (ед./л.) ± СО	214±157	227±148	199±122	244±165	225±160	264±172
ПКМ/МТ (Нм/кг) ± СО	2,76±0,44	2,76±0,51	2,75±0,34	2,82±0,51	2,75±0,53	2,89±0,48

Антропометрические данные, занятия спортом и креатинкиназа оценивались на этапе отбора; отношение максимального значения пикового крутящего момента к весу тела измерялось за день до начала приема препарата.

ИМТ - индекс массы тела; КК – креатинкиназа, Нм – ньютон-метр, ПКМ/МТ – пиковый крутящий момент / масса тела, СЭТ – системная энзимотерапия

общая длительность тренировки по всем дисциплинам была больше на втором этапе (482 по сравнению с 369 минутами). Следовательно, участники второго этапа были более хорошо тренированы, чем участники первого этапа, в частности, в том, что касается упражнений на развитие силы (устойчивости).

Это может повысить ПКМ за счет более высокой физической нагрузки и за счет повышения болевого порога или способности повышать ПКМ, несмотря на боль.

Нечувствительность модели исследования для определения преимуществ СЭТ могла быть вызвана такими различиями в базисной тренировке с сопротивлением. Было внесено предложение сообщать индивидуальные данные и классифицировать участников исследования, например, по низкой, средней/умеренной или высокой реакции для лучшего представления и интерпретации данных [49, 51]

Данные биомаркеров подтверждают противовоспалительное действие системной энзимотерапии

В отличие от функциональных параметров ПКМ и БВД, анализ биомаркеров показал значительное и «более чем малое» превосходство группы СЭТ по сравнению с группой плацебо как в отдельных этапах и в обоих этапах совместно. Цитокины могут играть относительно незначительную роль в регулировании полезности для здоровья упражнений низкой интенсивности, таких как быстрая ходьба [55]. В отличие от этого, марафон вызывает сильный физиологический стресс и серьезную цитокиновую реакцию [56] как более общую реакцию на внутреннее и/или внешнее давление. Такие факторы, как окислительный и нитрозированный стресс, поврежденные или несвернутые белки, гипертермия или энергетический дисбаланс, вызывают производство цитокинов во время физических нагрузок за счет катехоламинов, эндотоксинов, аларминов, АТФ и самих провоспалительных цитокинов [57, 58]. Скорее всего, СЭТ вносит свой вклад в снижение сильной цитокиновой реакции при повреждении мышечной ткани от физических

нагрузок или синдроме отсроченной мышечной болезненности вне зависимости от уровня физической подготовки/тренированности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препарат СЭТ принимался перорально в течение 72 часов до и 72 часов после интенсивной тренировки, что привело к более высокой максимальной концентрической силе и более низком уровне боли, вызванной давлением у участников исследования с меньшим опытом в тренировках с сопротивлением, а также значительному положительному действию на противовоспалительные и прочие биомаркеры у всех участников исследования. Для определения потенциальной роли СЭТ в контроле повреждения мышечной ткани, вызванного физическими упражнениями, и синдрома отсроченной мышечной болезненности в разных группах требуется дополнительное исследование.

Признательность. Авторы выражают свою благодарность тренерам Sportschule FFB-Puch GmbH и, в частности, Лоренцу Вестнеру за содействие в проведении данного исследования.

Участники исследования. ТМ: концепция и план исследования, получение, анализ и интерпретация данных. ГЛ: анализ и интерпретация данных, составление проекта отчета о проведенном исследовании. КР: концепция и план исследования, анализ и интерпретация данных, составление проекта отчета о проведенном исследовании. СР: концепция и план исследования, анализ и интерпретация данных. ЙКВ: статистический анализ и интерпретация данных. ЭП: получение данных, ГП: главный исследователь, концепция и план исследования, получение, анализ и интерпретация данных. Каждый из соавторов рассмотрел данную работу и выразил свое окончательное мнение в отношении ее содержания.

Конкурирующие интересы. ГЛ работает среди нескольких прочих как консультант Mucos Pharma GmbH &

Co. KG. Mucos Pharma GmbH & Co. KG внес продукт, необходимый для интервенции и финансировал исследование с СР в качестве представителя компании.

Происхождение и коллегияльная оценка. Без ввода в действие. Внешняя коллегияльная оценка.

Открытый доступ. Данная статья находится в открытом доступе и распространяется в соответствии с условиями лицензии с указанием авторства (CC BY 4.0), которая разрешает другим лицам распространение, воспроизведение, адаптацию и использование данной работы для коммерческого использования, при условии надлежащей ссылки на оригинальную работу. См. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

©Автор(ы) статьи (или их сотрудник(и), если только иное не указано в тексте статьи) 2017. Все права защищены. Не разрешено никакого коммерческого использования, если только явным образом не указано иное.

REFERENCES

- 1 Urso ML. Anti-inflammatory interventions and skeletal muscle injury: benefit or detriment? *J Appl Physiol* 2013;115:920-8.
- 2 Tidball JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27:1022-32.
- 3 Chazaud B, Brigitte M, Yacoub-Youssef H, et al. Dual and beneficial roles of macrophages during skeletal muscle regeneration. *Exerc Sport Sci Rev* 2009;37:18-22.
- 4 McCroskery S, Thomas M, Platt L, et al. Improved muscle healing through enhanced regeneration and reduced fibrosis in myostatin- null mice. *J Cell Sci* 2005;118:3531-41.
- 5 Pelosi L, Giacinti C, Nardis C, et al. Local expression of IGF-1 accelerates muscle regeneration by rapidly modulating inflammatory cytokines and chemokines. *Faseb J* 2007;21:1393-402.
- 6 Toumi H, F'guy S, Best TM. The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. *J Anat* 2006;208:459-70.
- 7 Hurme T, Kalimo H. Activation of myogenic precursor cells after muscle injury. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24:197-20.
- 8 Malerba A, Vitiello L, Segat D, et al. Selection of multipotent cells and enhanced muscle reconstruction by myogenic macrophage- secreted factors. *Exp Cell Res* 2009;315:195-27.
- 9 Fechner G, Bajanowski T, Brinkmann B. Immunohistochemical alterations after muscle trauma. *Int J Legal Med* 1993;105:203-7.
- 10 Hurme T, Kalimo H, Lehto M, et al. Healing of skeletal muscle injury: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Med Sci Sports Exerc* 1991;23:801-10.
- 11 Stauber WT. Factors involved in strain-induced injury in skeletal muscles and outcomes of prolonged exposures. *J Electromyogr Kinesiol* 2004;14:61-70.
- 12 Abdelmagid SM, Barr AE, Rico M, et al. Performance of repetitive tasks induces decreased grip strength and increased fibrogenic proteins in skeletal muscle: role of force and inflammation. *PLoS One* 2012;7:e38359.
- 13 Ebbeling CB, Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med* 1989;7:207-34.
- 14 Lieber RL, Friden J. Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. *J Sci Med Sport* 1999;2:253-65.
- 15 Mackey AL, Kjaer M, Dandanell S, et al. The influence of anti-inflammatory medication on exercise-induced myogenic precursor cell responses in humans. *J Appl Physiol* 2007;103:425-31.
- 16 Mikkelsen UR, Langberg H, Helmark IC, et al. Local NSAID infusion inhibits satellite cell proliferation in human skeletal muscle after eccentric exercise. *J Appl Physiol* 2009;107:1600-11.
- 17 Shireman PK, Contreras-Shannon V, Ochoa O, et al. MCP-1 deficiency causes altered inflammation with impaired skeletal muscle regeneration. *J Leukoc Biol* 2007;81:775-85.
- 18 Middleton E, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, ed. *The flavonoids: advances in research since 1986*. London: Chapman & Hall, 1993:619-52.
- 19 Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol* 2008;585:325-37.
- 20 Lorkowski G. Gastrointestinal absorption and biological activities of serine and cysteine proteases of animal and plant origin: review on absorption of serine and cysteine proteases. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2012;4:10-27.
- 21 Steinhoff M, Buddenkotte J, Shpacovitch V, et al. Proteinase- activated receptors: transducers of proteinase-mediated signaling in inflammation and immune response. *Endocr Rev* 2005;26:1-43.
- 22 Mackie EJ, Loh LH, Sivagurunathan S, et al. Protease-activated receptors in the musculoskeletal system. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40(6-7):1169-84.
- 23 Desser L, Rehberger A, Kokron E, et al. Cytokine synthesis in human peripheral blood mononuclear cells after oral administration of polyezyme preparations. *Oncology* 1993;50:403-7.
- 24 Misra UK, Payne S, Pizzo SV. The monomeric receptor binding domain of tetrameric α 2-macroglobulin binds to cell surface GRP78 triggering equivalent activation of signaling cascades. *Biochemistry* 2013;52:4014-25.
- 25 Misra UK, Pizzo SV. Binding of receptor-recognized forms of α 2- macroglobulin to the α 2-macroglobulin signaling receptor activates phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem* 1998;273:13399-402.
- 26 Gonias SL, Balber AE, Hubbard WJ, et al. Ligand binding, conformational change and plasma elimination of human, mouse and rat α -macroglobulin proteinase inhibitors. *Biochem J* 1983;209:99-105.
- 27 Buford TW, Cooke MB, Redd LL, et al. Protease supplementation improves muscle function after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41:1908-14.
- 28 Beck TW, Housh TJ, Johnson GO, et al. Effects of a protease supplement on eccentric exercise-induced markers of delayed-onset muscle soreness and muscle damage. *J Strength Cond Res* 2007;21:661-7.
- 29 Udani JK, Singh BB, Singh VJ, et al. BounceBack capsules for reduction of DOMS after eccentric exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover pilot study. *J Int Soc Sports Nutr* 2009;6:14.
- 30 Lachin JM. Introduction to sample size determination and power analysis for clinical trials. *Control Clin Trials* 1981;2:93-113.

- 31 Wei LJ, Lachin JM. Two-Sample asymptotically Distribution-Free tests for incomplete multivariate observations. J Am Stat Assoc 1984;79:653-61.
- 32 Lachin JM. Some large-sample distribution-free estimators and tests for multivariate partially incomplete data from two populations. Stat Med 1992;11:1151-70.
- 33 Frick H, Rahlfs VW. On power and necessary sample sizes of the Wilcoxon-Mann-Whitney test. Commun Statist -Theory Meth 1998;27:2445-60.
- 34 Bauer P, Kohne K. Evaluation of experiments with adaptive interim analyses. Biometrics 1994;50:1029-41.
- 35 Bauer P, Kieser M. Combining different phases in the development of medical treatments within a single trial. Stat Med 1999;18:1833-48.
- 36 McLeay Y, Barnes MJ, Mundel T, et al. Effect of new zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. J Int Soc Sports Nutr 2012;9:19.
- 37 Neri S, Mariani E, Meneghetti A, et al. Calcein-acetyoxymethyl cytotoxicity assay: standardization of a method allowing additional analyses on recovered effector cells and supernatants. Clin Diagn Lab Immunol 2001;8:1131-5.
- 38 Sinkovics JG, Horvath JC. Human natural killer cells: a comprehensive review. Int J Oncol 2005;27:5-47.
- 39 Maurer WHL, Lehman W. Multiple comparisons in drug clinical trials and preclinical assays: a-priori ordered hypotheses. Gustav Fischer Verlag 1995.
- 40 Kieser M, Bauer P, Lehman W. Inference on multiple endpoints in clinical trials with adaptive interim analyses. Biom J 1999;41:261-77.
- 41 Bretz F, Koenig F, Brannath W, et al. Adaptive designs for confirmatory clinical trials. Stat Med 2009;28:1181-217.
- 42 Banik N, Kohne K, Bauer P. On the power of Fisher's Combination Test for Two Stage Sampling in the Presence of Nuisance Parameters. Biom J 1996;38:25-37.
- 43 Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, et al. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? Med Sci Sports Exerc 2001;33:1490-5.
- 44 McHugh MP. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. Scand J Med Sci Sports 2003;13:88-97.
- 45 Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T, et al. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? Exerc Immunol Rev 2012;18:42-97.
- 46 Chen TC, Chen HL, Liu YC, et al. Eccentric exercise-induced muscle damage of pre-adolescent and adolescent boys in comparison to young men. Eur J Appl Physiol 2014;114:1183-95.
- 47 Chen CH, Nosaka K, Chen HL, et al. Effects of flexibility training on eccentric exercise-induced muscle damage. Med Sci Sports Exerc 2011;43:491-500.
- 48 McHugh MP, Connolly DA, Eston RG, et al. The role of passive muscle stiffness in symptoms of exercise-induced muscle damage. Am J Sports Med 1999;27:594-9.
- 49 Sayers SP, Knight CA, Clarkson PM. Neuromuscular variables affecting the magnitude of force loss after eccentric exercise. J Sports Sci 2003;21:403-10.
- 50 Morgan DL, Proske U. Popping sarcomere hypothesis explains stretch-induced muscle damage Physiol. Clin Exp Pharmacol Physiol 2004;31:541-5.
- 51 Paulsen G, Crameri R, Benestad HB, et al. Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. Med Sci Sports Exerc 2010;42:75-85.
- 52 Paulsen G, Egner IM, Drange M, et al. A COX-2 inhibitor reduces muscle soreness, but does not influence recovery and adaptation after eccentric exercise. Scand J Med Sci Sports 2010;20:e195-207.
- 53 Chen TC. Variability in muscle damage after eccentric exercise and the repeated bout effect. Res Q Exerc Sport 2006;77:362-71.
- 54 Nosaka K, Chapman D, Newton M, et al. Is isometric strength loss immediately after eccentric exercise related to changes in indirect markers of muscle damage? Appl Physiol Nutr Metab 2006;31:313-9.
- 55 Markovitch D, Tyrrell RM, Thompson D. Acute moderate-intensity exercise in middle-aged men has neither an antinor proinflammatory effect. J Appl Physiol 2008;105:260-5.
- 56 Nieman DC, Henson DA, Smith LL, et al. Cytokine changes after a marathon race. J Appl Physiol 2001;91:109-14.
- 57 Welc SS, Clanton TL. The regulation of interleukin-6 implicates skeletal muscle as an integrative stress sensor and endocrine organ. Exp Physiol 2013;98:359-71.
- 58 Peake JM, Della Gatta P, Suzuki K, et al. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects. Exerc Immunol Rev 2015;21:8-25.