

Н.В. Богдановська, Г.М. Святодух, А.В. Коцюруба, Ю.П. Коркач, М.В. Маліков

Синтез оксиду азоту у період довгострокової адаптації до інтенсивної м'язової роботи у спортсменок

Обстежено 14 тренуваних і 21 нетренуваних молодих дівчат віком від 18 до 22 років. Показано, що для дівчат, які систематично виконують м'язову роботу (у період тренувань) характерний більш високий рівень синтезу оксиду азоту. Це може відбуватися внаслідок кальційзалежного окиснення L-аргініну конститутивними ізоформами NO-синтаз (eNOS, nNOS) та за рахунок відновлення стабільних окиснених метаболітів NO. Кальційзалежний синтез оксиду азоту відіграє важливу роль у забезпеченні довготривалої адаптації організму до фізичних навантажень значного обсягу та інтенсивності у період змагань. Закінчення періоду змагань супроводжується активацією індукційного кальційнезалежного de novo синтезу NO з L-аргініну.

Ключові слова: довготривала адаптація, фізичні навантаження, синтез оксиду азоту, конститутивні NO-синтази, індукційна NO-синтаза.

ВСТУП

Відомо, що одним із фізіологічних механізмів пристосування організму до фізичних навантажень є дилатація судин м'язів скелета й серця. На думку деяких авторів, причиною цього феномена є вплив на рецептори судин ендотеліального оксиду азоту, що вивільняється під впливом катехоламінів, які викидаються в кров під час виконання м'язової роботи. Є повідомлення про те, що регулярні фізичні навантаження в тренувальному режимі поліпшують ендотеліальну функцію периферичних судин здорових людей [6], хворих на хронічну серцеву недостатність [9], осіб із факторами ризику серцево-судинних захворювань [8], а також з ішемічною хворобою серця [1, 7]. Показано, що однією з причин розвитку серцево-судинних захворювань є: зниження синтезу NO в ендотелії, зумовлене зменшенням активності ендотеліальної NO-синтази (eNOS); зниженням доступності запасів L-аргініну для eNOS; прискорений метаболізм NO (при підвищеному утворенні вільних радикалів); їхня комбінація [10, 11].

Разом з тим практично немає відомостей щодо особливостей синтезу оксиду азоту у молодих здорових осіб, які систематично виконують фізичні навантаження значного обсягу й інтенсивності.

Мета нашої роботи полягала у вивченні фізіологічних процесів пристосування організму до м'язової роботи та особливостей синтезу оксиду азоту за цих умов. Безсумнівна актуальність і безумовна практична значимість стали передумовами для проведення нашого дослідження.

МЕТОДИКА

Обстежено 35 дівчат віком від 18 до 22 років, яких розподілили на дві групи. До I контрольної групи (n=21) ввійшли нетренувані дівчата, до II групи (n=14) дівчата, які систематично виконували фізичні навантаження значного обсягу та інтенсивності. В усіх обстежених визначали такі показники плазми крові: вміст нітрит (NO₂⁻)-і нітрат (NO₃⁻)-аніонів і сечовини; активність ферментів альтернативних шляхів деградації аргініну – неокисного його гідро-

лізу аргіназою з утворенням сечовини й орнітину та окисного синтезу оксиду азоту кальційзалежною конститутивною (cNOS=eNOS+nNOS) і кальційнезалежною індукбельною (iNOS) ізоферментами NO-синтази; активність відновного синтезу оксиду азоту із його окиснених стабільних метаболітів за дії НАДН-залежної нітратредуктази. Використовуючи отримані результати, розраховували частку нітрит-аніонів у загальній сумі стабільних метаболітів оксиду азоту (нітрит + нітрат = 100 %), частку активності cNOS у сумарній активності NOS (NOS=cNOS+iNOS= 100 %), а також індекс оксигенації (IO) = $[\text{NO}_2^-]1000/[\text{NO}_3^-]+[\text{сечовина}]$.

Зазначені показники у осіб дослідної групи визначали тричі: на самому початку періоду змагань, який починався відразу по закінченні підготовчого періоду, коли фізичні навантаження виконувалися лише в тренувальному режимі, у середині й наприкінці періоду змагань, коли фізичні навантаження виконувалися як у тренувальному, так і в змагальному режимах. Крім зазначених біохімічних показників, у дівчат обох груп визначали загальну фізичну працездатність (вPWC₁₇₀) й аеробну продуктивність їх організму з використанням субмаксимального тесту PWC₁₇₀.

Усі отримані під час дослідження матеріали були оброблені стандартними методами математичної статистики з використанням статистичного пакета Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що основним проявом фізіологічної дії оксиду азоту є вазодилататорний ефект, що сприяє поліпшенню циркуляції крові, підвищенню кисневого забезпечення органів і тканин організму й, тим самим, збільшенню його загальної фізичної працездатності [2–5].

Результати нашого дослідження дали змогу не лише підтвердити ці уявлення, але

й одержати зовсім нові відомості щодо особливостей синтезу оксиду азоту у здорових осіб, які систематично виконують фізичну роботу у великих обсягах. Раніше синтез оксиду азоту вивчали тільки при обстеженні практично здорових осіб, що не виконують м'язову роботу постійно, або в осіб з певною формою патології тієї або іншої фізіологічної системи організму після виконання фізичної роботи різного ступеня важкості та тривалості.

Виявилось, що у тренуваних дівчат практично всі біохімічні показники, що характеризують різні шляхи синтезу оксиду азоту, достовірно відрізнялися (іноді в кілька разів) від їхніх значень у осіб контрольної групи (табл.1).

У дівчат дослідної групи спостерігалася більш висока активність, з одного боку, як кальційзалежного окисного та відповідно синтезу оксиду азоту, так і – неокисного синтезу сечовини, про що свідчили вірогідно більш високі значення активності cNOS, нітратредуктази та аргінази відповідно (див. табл. 1). Разом з тим слід відзначити, що достовірний приріст активності ферменту відповідного синтезу NO – нітратредуктази (на 22,2 %) у тренуваних дівчат був значно менш вираженим, ніж приріст у них активності аргінази (на 165,6 %), що призводить до більш інтенсивного утворення із L-аргініну сечовини та орнітину (з якого в суміжних реакціях утворюється путресцин та інші поліаміни, необхідні для підтримки проліферативних процесів, особливо синтезу ДНК у скелетних м'язах, а також γ -аміномасляна кислота (ГАМК) – регулятор мітохондріальної пори перемінної провідності. Також слід зазначити реципрокність зміни активності двох ізоферментів окисного метаболізму аргініну – de novo синтезу оксиду азоту, а саме: значне підвищення активності кальційзалежних конститутивних ізоферментів синтезу NO – eNOS, nNOS (на 67 %) у плазмі крові інтенсивно тренуваних дівчат супровод-

жувалося менш значним, але достовірним зниженням активності кальційнезалежного iNOS (на 38,52 %). Частка активності cNOS у сумарній активності NOS при цьому підвищувалася (з 67,42 % у нетренованих до 84,89 % у тренуваних дівчат), як і частка нітрит-аніона в сумі стабільних окиснених метаболітів NO (від 1,72 до 18 % відповідно). Наномольні рівні найбільш стабільного макрокомпонента плазми – нітрат-аніона, на відміну від пікомольних рівнів менш стабільного нітрит-аніона (збільшення на 82,6 %) у плазмі крові тренуваних дівчат, навпаки, істотно знижувалися (на 85,4 %). Останнє може бути спричинено зменшенням утилізації кисню для утворення нітрату при ферментативному окисненні нітриту оксигемоглобіном еритроцитів або оксиміоглобіном кардіоміоцитів, або ж можливим зменшенням його неферментативного утворення при розпаді перокси-нітриту, як і ймовірним збільшенням утилізації нітрату для синтезу оксиду азоту при його послідовному відновленні нітрат-і нітрит-редуктазами. Збільшення активності першої ланки (нітратредуктазної) цього шляху синтезу NO ми спостерігали у тренуваних дівчат (див. табл.1).

Цікаво, що такі реципрокні зміни пулів стабільних метаболітів NO у плазмі крові не супроводжуються достовірною динамікою в ній сечовини, вміст якої в крові активно регулюється процесами секреції та реабсорбції в нирках. Вміст у крові, як показали наші дослідження, істотно змінюється при інтенсивних тренуваннях, що вказує на важливу роль як нітрит-, так і нітрат-аніонів для підтримки працездатності організму дівчат у період інтенсивних тренувань. Слід відзначити наявність прямого кореляційного зв'язку між збільшенням розрахованого нами за біохімічними показниками у крові обстежених IO і реальними значеннями загальної фізичної працездатності та аеробної продуктивності організму дівчат.

Важливо, що більш інтенсивний процес *de novo* синтезу оксиду азоту кальційзалежними ізоферментами eNOS і nNOS (приріст активності cNOS майже на 20 %, $P < 0,05$) і помірне збільшення потужного відновного синтезу оксиду азоту, але не його синтезу *de novo* кальційнезалежною iNOS корелював й з вірогідно більш високими, у осіб дослідної групи, значеннями їх загальної фізичної працездатності та аеробної продук-

Таблиця 1. Динаміка біохімічних показників у плазмі крові у нетренованих і тренуваних дівчат ($M \pm m$)

Показник	Нетреновані (контроль, n=21)	Треновані (n=14)
NO ₂ ⁻ , пмоль/мг білка	162,6±28,3	296,9±36,2*
NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка	9,3±0,69	1,36±0,13*
Аргіназа, нмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка	0,99±0,27	2,63±0,32*
Сечовина, нмоль/мг білка	64,81±5,3	77,9±4,44
NO-синтаза, пмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка		
конститутивна	28,75±2,17	48,01±4,50*
індуцибельна	13,89±1,46	8,54±1,47*
сумарна	41,15±3,29	55,71±5,47*
Нітратредуктаза, нмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка	3,78±0,23	4,62±0,25*
Індекс оксигенації, ум.од.	2,32±0,19	3,78±0,46*
Частка, %		
конститутивної NO-синтази	66,2±7,4	84,7±9,32*
NO ₂ ⁻	1,7±0,2	17,9±1,8*
Загальна фізична працездатність, кгм · хв ⁻¹ · кг ⁻¹	12,86±0,97	19,94±0,53*
Аеробна продуктивність, мл · хв ⁻¹ · кг ⁻¹	48,32±1,24	59,37±1,17*

* $P < 0,05$ стосовно значення в контрольній групі.

тивності, у зв'язку з чим можна зробити висновок про істотну роль оксиду азоту, синтезованого за допомогою реутилізації нітрат- і нітрит-аніонів у забезпеченні адекватного рівня загальної фізичної підготовки організму.

Не менш важливим питанням нашого дослідження було вивчення особливостей зміни синтезу оксиду азоту в різні терміни тривалого періоду змагань (ПЗ), тобто в динаміці систематичного виконання інтенсивних фізичних навантажень, а саме: на початку періоду змагань (див. табл.1), у його середині і у його кінці (табл. 2).

Слід відмітити, що вже до середини періоду змагань (близько 5 міс систематичних інтенсивних фізичних навантажень у тренувальному й змагальному режимах) для дівчат було характерно статистично значиме зниження рівня їх загальної фізичної працездатності й аеробної продуктивності, що узгоджується з відомими уявленнями про динаміку цих показників у рамках тренувального й змагального процесів. Водночас високий рівень реутилізаційного синтезу оксиду азоту в середині ПЗ (активність нітратредуктази в цей період збільшилася на 150 % відносно початку ПЗ)

свідчив не тільки про збереження високих рівнів біосинтезу оксиду азоту, але й досить оптимальної форми адаптації організму дівчат до систематичної інтенсивної м'язової роботи, що підтверджується досить високими значеннями індексу оксигенації (збільшення 171 % відносно початку ПЗ).

Разом з тим наприкінці ПЗ дуже підвищується інтенсивність індукційного *de novo* біосинтезу оксиду азоту кальційнезалежним ізоферментом iNOS (приріст активності до кінця ПЗ становив у дівчат 211 %) при достовірному реципрокному зменшенні активності кальційзалежного *de novo* синтезу NO (зменшення активності cNOS до кінця ПЗ на 37%) і при невеликій активності реутилізаційного синтезу NO (активність нітратредуктази до кінця ПЗ почала знижуватися, не сягнувши рівня вірогідності), водночас знижувався майже на 30 % порівняно з серединою ПЗ і ІО.

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що необхідний рівень адаптованості організму дівчат до тривалого інтенсивного фізичного навантаження, обтяженого психологічним стресом, що виникає в період ПЗ і відсутній у тренувальний період, забезпечувався, зокрема,

Таблиця 2. Значення біохімічних показників у плазмі крові дівчат на різних етапах періоду змагань (M±m; n= 14)

Показник	Початок	Середина	Закінчення
NO ₂ ⁻ , пмоль/мг білка	296,9±36,2	358,9±27,5	341,7±22,5
NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка	1,36±0,13	1,76±0,07**	3,62±0,75**
Аргіназа, нмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка	2,63±0,32	1,38±0,19**	1,33±0,08**
Сечовина, нмоль/мг білка	77,9±4,44	77,6±5,7	70,5±3,3
NO-синтаза, пмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка			
конститутивна	48,01±4,50	56,45±3,05	32,01±2,08**
індуцибельна	8,54±1,47	7,9±1,54	18,0±1,07**
сумарна	55,71±5,47	64,27±4,24	50,03±7,25
Нітратредуктаза, нмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка	4,62±0,25	6,94±0,78**	3,91±0,40
Індекс оксигенації, ум.од.	3,78±0,46	6.45±0.74**	4,46±0,55
Частка, %			
конститутивної NO-синтази	84,7±13,4	87,7±15,2	64,0±9,7
NO ₂ ⁻	17,9±1,8	16,9±1,9	8,6±1,0**
Загальна фізична працездатність, кгм · хв ⁻¹ · кг ⁻¹	19,94±0,53	15,89±0,98**	12,11±0,65**
Аеробна продуктивність, мл · хв ⁻¹ · кг ⁻¹	59,37±1,17	50,47±2,23**	42,70±1,55**

** P < 0,05 стосовно значень на початку періоду змагань

за рахунок вираженого домінування кальційзалежного синтезу NO при окисній деградації L-аргініну, що забезпечує утворення достатньої кількості оксиду азоту. Отже, в стресових умовах періоду змагань заради забезпечення виконання необхідної роботи відбувається погоджена взаємодія двох шляхів метаболізму аргініну, а саме між його неокисним гідролізом аргіназою з утворенням сечовини (важливого водорозчинного антиоксиданту), поліамінів (антиоксиданти, стимулятори проліферації) і ГАМК (регулятор мітохондріальної пори, гальмівний нейромедіатор) із утвореного орнітину, і окисним синтезом (інгібуючому проліферацію, зсідання крові, адгезію лімфоцитів, активуючому утилізацію кисню і синтез АТФ) на користь останнього.

У безстресових умовах тренувального періоду (див. табл.1) активність аргінази підвищувалася, конкуруючи з cNOS за аргінін, що компенсувалося помірним збільшенням потужного реутилізаційного синтезу оксиду азоту через відновлення стабільних метаболітів ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$). У стресових умовах ПЗ значно збільшується частка окисного кальційнезалежного індукцйбельного *de novo* синтезу оксиду азоту з аргініну. Однак цей шлях повністю не компенсував зниження як відновного синтезу NO з нітрату (що підтверджується не тільки зниженням активності нітратредуктази, але й значним збільшенням пулів її субстрату – нітрат-аніона – у плазмі крові), так і його конститутивного кальційзалежного *de novo* синтезу з аргініну. Переконливим підтвердженням цього висновку стали результати обстеження дівчат, проведеного наприкінці ПЗ: близько 10 міс систематичних фізичних навантажень у тренувальному й змагальному режимах (див. табл. 2). На цьому етапі дослідження у дівчат спостерігалися найбільш низькі значення загальної фізичної працездатності й аеробної продуктивності, у зв'язку із чим рівень функціональної підготовленості

дівчат, а отже, і їх адаптованості до систематичної м'язової роботи, можна вважати незадовільним.

Таким чином, результати проведеного дослідження дали змогу не лише зареєструвати об'єктивну наявність певних особливостей у системі синтезу оксиду азоту в дівчат з довгостроковою формою адаптації до м'язової роботи в стресових і безстресових умовах, але й констатувати його важливу роль у забезпеченні необхідного рівня фізичної підготовленості організму й, в остаточному підсумку, адекватній адаптації до тривалих систематичних фізичних навантажень.

ВИСНОВКИ

1. Для дівчат, які систематично виконують м'язову роботу (у тренувальний період), характерний більш високий рівень синтезу оксиду азоту внаслідок кальційзалежного окиснення L-аргініну конститутивними ізоформами NO-синтази (eNOS, nNOS) і за рахунок відновлення стабільних окиснених циркулюючих метаболітів NO.

2. Оксид азоту, синтезований окисним кальційзалежним шляхом *de novo*, відіграє важливу роль у забезпеченні довгострокової адаптації організму до фізичних навантажень значного обсягу й інтенсивності на початку й у середині обтяженого стресом ПЗ.

3. Індукцйбельний окисний кальційнезалежний *de novo* синтез NO із L-аргініну не компенсує потреби в оксиді азоту, що виникає наприкінці ПЗ.

**Н.В. Богдановская, Г.М. Святодух,
А.В. Коцюруба, Ю.П. Коркач, М.В. Маликов**

СИНТЕЗ ОКСИДА АЗОТА В ПЕРИОД ДОЛГОСРОЧНОЙ АДАПТАЦИИ К ИНТЕНСИВНОЙ МЫШЕЧНОЙ РАБОТЕ У ДЕВУШЕК

Обследовано 14 тренированных и 21 нетренированных молодых девушек в возрасте от 18 до 22 лет. Показано, что для девушек, систематически выполняющих мышеч-

ную работу (в тренировочный период), характерен более высокий уровень синтеза оксида азота за счет кальций-зависимого окисления L-аргинина конститутивными изоформами NO-синтаз (eNOS, nNOS) и за счет восстановления стабильных окисленных метаболитов NO. Оксиду азота, синтезированному кальцийзависимым путем de novo, принадлежит важная роль в обеспечении долговременной адаптации организма к физическим нагрузкам значительного объема и интенсивности в начале и в середине отягощенного стрессом периода соревнований. К концу периода соревнований наблюдается значительная активация индуцибельного кальций-независимого de novo синтеза NO из L-аргинина.

Ключевые слова: долговременная адаптация, физические нагрузки, синтез оксида азота, конститутивные NO-синтазы, индуцибельная NO-синтаза.

**N.V. Bogdanovskaya, A.N. Svyatodouh A.,
A.V. Kotsuruba, Yu.P. Korkach, N.V. Malikov**

NITRIC OXIDE SYNTHESIS IN GIRLS DURING LONG-TERM ADAPTATION TO INTENSIVE MUSCULAR WORK

14 trained and 21 non-trained girls 18-22 years of age have been inspected. We found that systematically trained girls had a higher level of nitric oxide synthesis through calcium-dependent L-arginine oxidation by constitutive NO-synthase isoforms (eNOS, nNOS) and through reduction of stable oxidized NO metabolites. NO synthesized de novo in calcium-dependent pathway provides a long-term organism adaptation to physical loads of high volume and intensity at the beginning and in the middle of stress-aggravated competition period. At the end of competition period we detected significant activation of inducible calcium-independent de novo NO synthesis from L-arginine. Key words: nitric oxide synthesis, long-term adaptation, intensive muscular work.

Zaporozhye state university, Zaporozhye, Ukraine;

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

Запорізьк. ун-т;

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

E-mail: ruba@biochem.kiev.ua

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аронов Д.М. Кардиологическая реабилитация на рубеже веков // Сердце. – 2002. – №3. – С.123–125.
2. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук. – 2001. – **32**, № 3. – С. 49–65.
3. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даценко В.В., Майский В.А. Роль оксида азота в механизмах формирования рефлекторных вазомоторных реакций // Там же. – 2005. – № 4. – С. 3–14.
4. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. – СПб: Изд-во СПбГМУ, 2003. – 38 с.
5. Сагач В.Ф. Роль оксида азота в регуляции кровообращения. – В кн.: Пурины и монооксид азота. Регуляторная функция в организме. – Минск: Технопринт, 2003. – С. 110–113.
6. Clarkson P., Montgomery H.E., Mullen M.J. et al. Exercise training enhances endothelial function in young men // J. Amer. Coll. Cardiol. – 1999. – **33**. – P.1379–1385.
7. Hambrecht R., Wolf A., Gielen S. et al. Effect of physical exercise on coronary endothelial function in coronary artery disease // N.Engl. J. Med. – 2000. – **342**. – P.454–460.
8. Lavrentic A., Salobir B.G., Keber I. Physical training improves flow-mediated dilatation in patients with the polymetabolic syndrome // Arterioscler. Thromb. Vascular. Biol. – 2000. – **20**. – P.551–555.
9. Linke A., Schoene N., Gielen S. et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: systemic effects of lower-limb exercise training // J. Amer. Coll. Cardiol. – 2001. – **37**. – P.392–397.
10. McAllister R.M. Endothelial-mediated control of coronary and skeletal muscle blood flow during exercise: introduction // Med. Sci. Sports. Exerc. – 1995. – **27**, №8. – P.1122–124.
11. Niebauer J., Cooke J.P. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress // J. Amer. Coll. Cardiol. – 1996. – **28**, №7. – P.1652–1660.

Матеріал надійшов до редакції 16.01.2009