

А.В. Коцюруба, Ю.П.Коркач, С.О. Таланов, О.В.Базілюк, Л.Г. Степаненко, В.Ф.Сагач

## Вікові особливості змін аргіназо-NO-синтазної системи в серці щурів в умовах адаптації до тривалих фізичних навантажень плаванням

*Вивчали скоротливу активність ізольованого серця дорослих щурів в умовах адаптації до тривалих фізичних навантажень плаванням. Показано, що завдяки стимуляції продукції NO у мітохондріальному компартменті серця тренуваних дорослих щурів збільшується сила скорочень лівого шлуночка, зменшується жорсткість міокарда, поліпшується як систолічна, так і діастолічна функція серця. У мітохондріях серця тренуваних плаванням дорослих щурів встановлена стимуляція активності усіх досліджуваних ферментів синтезу оксиду азоту – індукцйбельної, конститутивної NO-синтази (de novo синтез) і нітратредуктази (неокисний реутилізаційний синтез), а у старих – лише ферментів окисного шляху de novo. Тренування достовірно знижувало мітохондріальні пули нітрат-аніона у дорослих щурів, а у старих – вміст сечовини; пули нітрит-аніона при цьому не змінювалися. Мітохондріальні пули  $H_2O_2$  після тренування у дорослих щурів підвищувалися, тоді як у старих, навпаки, знижувалися, вміст сечової кислоти (маркера активності ксантиноксидази) у щурів обох вікових груп після курсу тренувань зменшувався. Фізичне навантаження призводило до значного збільшення індексу оксигенації в мітохондріях дорослих щурів і до зниження активності мітохондріальної аргінази II. Отримані результати дають підставу вважати, що плавання як один із видів фізичних навантажень стимулює продукцію NO в мітохондріях дорослих і старих щурів, а відтак може розглядатися ефективним засобом немедикаментозної корекції вікової дисфункції серця.*

*Ключові слова: тренування, старіння, серце, мітохондрії, оксид азоту, окисний метаболізм.*

### ВСТУП

Відомо, що регулярні помірні фізичні навантаження, як і хронічна чи періодична помірна гіпоксія та фармакологічне прекондиціонування, сприяють покращенню функціонального стану серцево-судинної системи, особливо у людей похилого віку, завдяки стимуляції внутрішньомітохондріальних факторів, що регулюють мітохондріальну пору (МП). Ендогенна протективна дія на мітохондрії має свої вікові особливості, виявлення яких є актуальною проблемою. Протягом тривалого часу проводився пошук причин позитивних ефектів ішемічного [9], фармакологічного прекондиціонування [11, 13, 14], тривалих тренувань [4, 15],

інтервальної та хронічної помірної гіпоксії [5, 8] серед показників, що характеризують систему синтезу оксиду азоту – одного із ключових регуляторів цього процесу, особливо транспорту кальцію та відкриття МП [2, 3]. Ми навчилися тестувати інтенсивність двох шляхів de novo синтезу NO – конститутивного та індукцйбельного, що потребують кисню, та безкисневого реутилізаційного його синтезу. Ми вивчали не лише NO-синтазну систему (NOS), а розпочали комплексно досліджувати аргіназо-NO-синтазну систему як нерозривне ціле [1, 6, 10, 12]. Причини цього були вагомими, оскільки дія фармакологічних і фізіологічних регуляторів процесу прекондиціонування/сигналювання мітохондрій і загалом вазо-

© А.В. Коцюруба, Ю.П.Коркач, С.О. Таланов, О.В.Базілюк, Л.Г. Степаненко, В.Ф.Сагач

і кардіопротектування не обмежується окисним (синтез оксиду азоту), але поширюється і на неокисний (синтез сечовини) метаболізм L-аргініну. Останній у свою чергу конкурує з окисним його метаболізмом, особливо у мітохондріальному компартменті, де локалізована високоактивна індукцйбельна ізоформа аргінази – аргіназа II. Ця ізоформа може забезпечувати синтез глутамату в мітохондріях [7], який при декарбоксілюванні утворює  $\gamma$ -аміномасляну кислоту (ГАМК). Вона може бути інгібітором відкриття МП завдяки взаємодії з периферичним (мітохондріальним) бенздіазепіновим рецептором, що є структурним компонентом цієї пори а, отже, сприяти ефективності адаптації і прекодиціюванню кардіоміоцитів, у т.ч. і до тривалих фізичних навантажень.

Нещодавно ми показали, що в умовах адаптації до плавання в аорті щурів різного віку підвищується синтез NO і, навпаки, інгібується синтез сечовини, внаслідок чого суттєво поліпшуються її скорочувальні властивості [21]. При цьому набухання мітохондрій серця дорослих щурів після тривалих фізичних навантажень було меншим у 1,4 раза, а у старих тварин аж удвічі порівняно з контрольними нетренованими щурами [14].

Метою цієї роботи було дослідити дію тривалих помірних фізичних навантажень плаванням на функцію серця, окисний метаболізм і аргіназо-NO-синтазну систему у мітохондріях серця щурів різного віку.

## МЕТОДИКА

Досліди проведено на щурах-самцях лінії Вістар віком 6–7 міс (дорослі) і 21 міс (старі) до (контроль) та після курсу фізичного навантаження плаванням (дослід). Умови підготовки проб для біохімічних досліджень і схему тренування описано нами раніше [16].

*Фізіологічні дослідження.* Ізольоване серце для тимчасової зупинки занурювали у

холодний (5°C) розчин Кребса–Хензеляйта, потім за аорту підвішували на канюлю термостатованої камери. Перфузію коронарних судин проводили при постійному тиску (75–80 мм рт. ст.) модифікованим розчином Кребса такого складу (ммоль/л): NaCl – 118,0; KCl – 4,7; MgSO<sub>4</sub> – 1,2; NaHCO<sub>3</sub> – 24,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; глюкоза – 10,0. Цей розчин насичували карбогеном (O<sub>2</sub> 95 %, CO<sub>2</sub> 5 %); рН 7,4 при 37°C. у порожнину лівого шлуночка вводили поліетиленовий балончик, з'єднаний з тензодатчиком. Для оцінки діастолічної жорсткості міокарда та залежності сили скорочення лівого шлуночка від його попереднього розтягнення дозовано збільшували об'єм балончика на 33 мкл. Реєстрували зміни кінцевого діастолічного тиску та тиску, що розвивається в лівому шлуночку. діастолічну жорсткість міокарда розраховували як співвідношення приростів діастолічного тиску до об'єму балончика.

*Біохімічні дослідження.* У аліквотах проб, виділених із серця мітохондрій, визначали, як описано раніше [11, 13] активність ферментів кальційзалежного (конститутивного, cNOS=eNOS+nNOS) і кальційнезалежного (індукцйбельного, iNOS) шляхів de novo синтезу NO, активність нітратредуктази, що характеризує інтенсивність реутилізаційного шляху синтезу NO, а також активність аргінази – ключового ферменту неокисного шляху деградації L-аргініну.

У безбілкових аліквотах проб визначали пули стабільних метаболітів NO – нітрит (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) та нітрат (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-аніонів [11, 13], пули стабільного метаболіту активного кисню – пероксиду водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) [17] і пули сечовини – продукту аргіназної реакції. За концентраціями сечової кислоти оцінювали також інтенсивність повної деградації ксантиоксидазою продуктів розпаду АТФ – гіпоксантину і ксантину, що супроводжується генерацією супероксид-радикала. Пули сечової кислоти визначали за допомогою

набору реактивів (“Філісіт-Діагностика”, Україна). Використовуючи концентрації нітрит- та нітрат-аніонів і сечовини розраховували індекс оксигенації (ІО) в мітохондріях за формулою:  $IO = 1000 \cdot [NO_2^-] / ([NO_3^-] + [сечовина])$ , ум. од.

Розраховували також активність сумарної NOS у пікомолях за 1 хв на 1 мг білка, відношення активностей неокисного й окисного метаболізму аргініну (активність аргінази/активність NOS) і відношень неокисного реутилізаційного і окисного de novo шляхів синтезу NO (активність нітратредуктази/активність NOS) у мітохондріях, які виражали в умовних одиницях. Вміст загального білка мітохондрій визначали методом Бредфорд з використанням барвника Сumassi G-250 (“Ferrak”, Німеччина).

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням програм Excell (MS Office XP) та Origin 6.0 (Microcall Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Фізіологічні дослідження (дорослі щури).* Тренування плаванням покращує скоротливу активність міокарда. Дозоване розтягнення лівого шлуночка призводило до зростання тиску, що розвивається (ТР) міокардом, як у контрольних (n=8), так і у тренуваних плаванням (n=5) дорослих щурів (рис.1). Максимальний ТР становив  $120,0 \pm 33,4$  і  $137,1$  мм рт. ст.  $\pm 22,4$  мм рт. ст. при навантаженні 264 і 330 мкл відповідно. З подальшим збільшенням об’єму балончика ТР починав зменшуватися через переростягнення міокарда. При цьому фаза плато кривої реакції Франка–Старлінга у тренуваних тварин виявилася більш тривалою, ніж у контрольних. Паралельно з цим підвищувався кінцевий діастолічний тиск (КДТ). Слід зазначити, що при додатковому навантаженні 462 мкл у контрольних і 561 мкл у тренуваних щурів значення ТР і КДТ вирівнювалися (див. рис. 1). Цей феномен був результатом як більш повільного зменшення ТР, так і меншого нахилу кривої приросту КДТ.

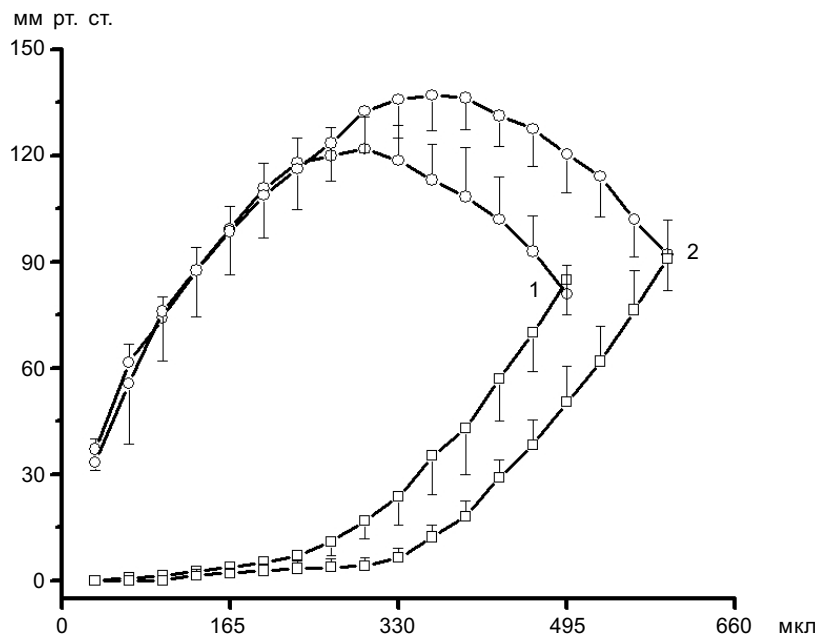


Рис. 1. Залежність кінцевого діастолічного тиску (квадратики) та тиску у лівому шлуночку (кружечки) серця від навантаження об’ємом у контрольних (1) і тренуваних плаванням (2) дорослих щурів

Установлено також, що тривале тренування плаванням призводило до вірогідного зменшення діастолічної жорсткості міокарда лівого шлуночка. Так, якщо при додатковому навантаженні об'ємом 462 мкл цей показник у контрольних щурів становив  $(1,82 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$  мм рт. ст./л, то у тренуваних –  $(1,08 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$  мм рт. ст./л (рис.2).

Таким чином, тренування дорослих щурів плаванням збільшувало силу серцевих скорочень і витривалість міокарда до попереднього розтягнення, а також зменшувало жорсткість лівого шлуночка. Все це свідчить про поліпшення систолічної та діастолічної функції серця.

За даними інших авторів, у тренуваних плаванням старих щурів знижувалися систолічний, діастолічний тиск і вміст лактату [18]. За таких самих умов тренування у щурів з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією виявлено пригнічення симпатoadреналової системи та вазоконстрикторних впливів простагландинів, а відтак, невелике зниження системного артеріального тиску [20].

*Біохімічні дослідження (дорослі та старі щури).* Тренування плаванням стимулює

синтез NO в мітохондріях серця дорослих щурів порівняно з нетренованими тваринами. Так, зростала активність усіх трьох шляхів синтезу NO, проте не однаковою мірою – iNOS і cNOS майже вдвічі, тоді як нітратредуктази – аж у 4,5 раза (табл.1). У старих щурів після тренування достовірно зростав лише *de novo* синтез NO (як конститутивний, так і індукційний), тоді як реутилізаційний (за вихідними значеннями більш інтенсивний, ніж у дорослих) достовірно не змінювався. Однією з причин зниження активності cNOS у старих щурів є зменшення рівня експресії eNOS [24].

У мітохондріальному компартменті серця після тренування достовірно знижувався вміст нітрат-аніона тільки у дорослих щурів, а сечовини – у старих щурів (див. табл. 2). Пули нітрит-аніона при цьому не змінювалися.

Після курсу тренувань плаванням розрахунковий індекс оксигенації збільшувався лише в мітохондріях серця дорослих щурів (табл. 3).

Отже, в умовах адаптації до плавання у мітохондріях серця потенціюється синтез NO, що залежить від віку тварини. Курс

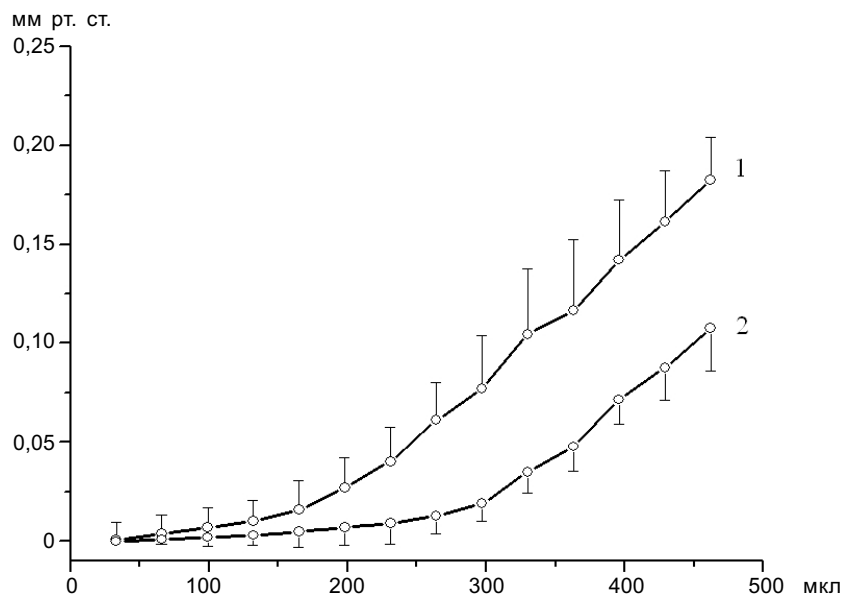


Рис. 2. Залежність діастолічної жорсткості міокарда від навантаження об'ємом у контрольних (1) і тренуваних плаванням (2) дорослих щурів

**Таблиця 1. Вплив тренування плаванням на активність ферментів синтезу оксиду азоту в мітохондріях серця щурів (M ± m)**

Група тварин	Індуцибельна NO-синтаза, пмоль · хв <sup>-1</sup> · мг <sup>-1</sup> білка	Конститутивна NO-синтаза, пмоль · хв <sup>-1</sup> · мг <sup>-1</sup> білка	Нітратредуктаза, нмоль · хв <sup>-1</sup> · мг <sup>-1</sup> білка
Дорослі (n=16)	1,73 ± 0,24	3,64 ± 0,27	0,36 ± 0,05
Дорослі треновані (n=5)	3,07 ± 0,21*	6,02 ± 0,80*	1,67 ± 0,10*
Старі (n=10)	2,00 ± 0,28	1,84 ± 0,26*	3,31 ± 0,82*
Старі треновані (n=6)	4,64 ± 0,45*,**	3,54 ± 0,26**	2,79 ± 0,09*

Примітка. В табл. 1–3 \*P < 0,05 відносно дорослих нетренованих щурів; \*\*P < 0,01 відносно старих нетренованих щурів.

тренування плаванням поліпшував систолічну та діастолічну функцію серця (див. рис. 1, 2) дорослих щурів одночасно з підвищенням синтезу NO. Можна припустити, що пригнічувальна дія тривалих тренувань плаванням у старих щурів на кальційіндуковане відкриття МП, про яке ми згадували раніше, опосередковується саме підвищеним синтезом NO. Серед

показників аргіназо-NO-синтазної системи в мітохондріях серця дорослих і старих тварин, а саме серед показників, що характеризують інтенсивність різних шляхів синтезу оксиду азоту (як de novo при окисному метаболізмі аргініну, так і реутилізаційного) та сечовини (неокисного метаболізму аргініну), як видно з табл. 1-2, ми зафіксували такі відмінності: трену-

**Таблиця 2. Вплив тренувань на стаціонарні пули стабільних метаболітів окисної і неокисної деградації аргініну в мітохондріях серця щурів (M ± m)**

Група тварин	Нітрит-аніон, пмоль · мг <sup>-1</sup> білка	Нітрат-аніон, нмоль · мг <sup>-1</sup> білка	Сечовина, нмоль · мг <sup>-1</sup> білка
Дорослі (n=16)	126,0 ± 17,2	76,3 ± 4,1	6,4 ± 0,5
Дорослі треновані (n=5)	134,3 ± 3,3	48,9 ± 0,6*	5,0 ± 0,4
Старі (n=10)	94,0 ± 6,1	89,4 ± 9,3	4,5 ± 0,4*
Старі треновані (n=6)	109,7 ± 6,7	91,3 ± 4,2*	2,7 ± 0,2*,**

вання підвищують швидкість реутилізаційного синтезу NO та знижують пули нітрат-аніона (засвідчує зниження утворення та розпаду пероксинітриту, а, отже, генерації супероксиду і в цілому виникнення оксидативного стресу, що є основним індуктором відкриття МП, загибелі кардіоміоцитів, і дезадаптації серця) лише в мітохондріях дорослих щурів.

Перша відмінність при розрахунках дала такі відносні значення (якщо за 100 % прийняти відношення активності нітратредуктази до сумарної NOS у мітохондріях серця дорослих нетренованих щурів): у тренованих дорослих тварин – 275 % (підвищення швидкості реутилізаційного над de novo синтезом NO майже в 3 рази); у нетренованих старих тварин – 1306 %

**Таблиця 3. Вплив тренувань на окисний метаболізм та індекс оксигенації в мітохондріях серця щурів (M ± m)**

Група тварин	Сечова кислота, нмоль · мг <sup>-1</sup> білка	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , пмоль · мг <sup>-1</sup> білка	Індекс оксигенації, ум.од.
Дорослі (n=16)	1,24 ± 0,06	1,52 ± 0,30	1,52 ± 0,10
Дорослі треновані (n=5)	1,11 ± 0,03	2,27 ± 0,14	2,49 ± 0,18*
Старі, n=10	3,77 ± 0,39*	3,42 ± 0,28*	1,00 ± 0,07*
Старі треновані (n=6)	1,78 ± 0,32**	1,34 ± 0,10**	1,17 ± 0,10*

(більше ніж у 10 разів), а після тренувань – 510 %, тобто спостерігається реципрокне підвищення відносного значення цього співвідношення у мітохондріях серця дорослих щурів і, навпаки, суттєве зниження у старих тварин.

Тренування плаванням значно вплинуло на окисний метаболізм у мітохондріях серця (див. табл. 3). Так, вміст  $H_2O_2$  (підсилювач експресії eNOS) у мітохондріях серця дорослих щурів після тренування мав тенденцію до зростання (більше ніж на 40 %), тоді як у старих (вихідні значення вдвічі більші, ніж у дорослих) він, навпаки, достовірно знижувався і майже сягав контрольних значень у дорослих тварин (табл. 3). У мітохондріях старих щурів після тривалих тренувань пули  $H_2O_2$  знижувалися достовірно. На відміну від  $H_2O_2$ , концентрація сечової кислоти (див. табл. 3), що є маркером активності ксантиноксидази, а, отже, і деградації пуринових нуклеотидів і генерації супероксид-аніона після тренування у дорослих щурів не змінювалася, а у старих достовірно знижувалася більш ніж удвічі. Таким чином, очікуваного пригнічення окисного метаболізму в мітохондріях серця дорослих щурів після курсу тренувань плаванням внаслідок значного зниження пулів нітрат-аніона, ми не спостерігали.

Серед найбільш вірогідних причин зниження пулів нітрат-аніона при стабільних рівнях генерації супероксиду і, очевидного, утворення пероксинітриту, може бути підвищення частки вільнорадикального розпаду останнього. Пероксинітрит розпадається на два вільні радикали – гідроксильний і діоксид азоту, які є ініціаторами спонтанної ланцюгової реакції перекисного окиснення ліпідів. Слід було б очікувати підвищення активності аргінази в мітохондріях внаслідок підвищеної генерації  $\cdot OH$ -радикала, але ми спостерігали зниження активності цього ферменту. Це вказує на певну функціональну особливість

$\cdot OH$  використання, який утворений не класично при відновленні  $H_2O_2$  у реакціях Хабер–Вайса, а при розпаді пероксинітриту. Ми припускаємо, що утворений таким чином  $\cdot OH$ -радикал може використовуватися для інгібування HIF-1 $\alpha$ -фактора транскрипції.

Іншим поясненням зниження внутрішньомітохондріальних пулів нітрат-аніона міг би бути вихід цього аніона, за розмірами близького до фосфат-аніона, разом з катіонами кальцію при роботі антипортера [22] або при симпорті з протоном, як у рослин [23]. Один або декілька із цих процесів і забезпечують ефективні фізіологічні механізми адаптації серця до фізичних навантажень, в т.ч. значне інгібування кальційіндукованого відкриття МП у тренуваних старих щурів, що було встановлено нами раніше [15].

Виявлено, що з віком активується неокисний метаболізм L-аргініну. Так, у мітохондріях серця старих щурів активність аргінази була у 4 рази вищою, ніж у дорослих. Після тренування плаванням спостерігалось зниження активності цього ферменту у дорослих щурів майже у 1,6 раза, а у старих – у 2,8 раза.

Отже, фізичне навантаження сприяє нормалізації неокисного шляху метаболізму L-аргініну у мітохондріальному компартменті, де локалізована переважно аргіназа II. Функцією її, на відміну від конститутивної ізоформи аргінази – аргінази I, є не синтез орнітину з наступним його використанням для біосинтезу поліамінів, а утворення орнітину для синтезу з нього проліну, глутамату та ГАМК [21]. Цікаво, що посттренувальна активність аргінази, а, значить, і можливості синтезу ГАМК (можливий ефективний інгібітор МП [19]) у мітохондріях старих щурів вища, ніж у дорослих, що корелює з більшою ефективністю інгібування МП саме у старих тварин. Відношення активності аргінази/NOS, що показує співвідношення неокисного й

окисного метаболізму аргініну, мала такі значення в мітохондріях серця: у дорослих нетренованих – 100 %, у тренуваних – 36 % (зниження активності неокисного метаболізму майже в 3 рази!); у старих нетренованих – 563 % (значне превалювання неокисного над окисним метаболізмом!), у старих тренуваних – 93 % (повна нормалізація співвідношення окисного й неокисного метаболізму аргініну після курсу тренувань!!).

Таким чином, причиною більш ефективного у старих тварин зменшення чутливості МП до  $Ca^{2+}$  після тривалих помірних фізичних навантажень є підвищення конститутивного синтезу NO та інгібування окисного стресу в мітохондріях. Очевидно, що реутилізаційний синтез NO в мітохондріях напряду не включено до програми регуляції МП, як і те, що вагому регуляторну, а не лише патофізіологічну роль, виконує пероксинітрит. Можливо, висунуте нами припущення про участь в інгібуванні фактора N1F-1 $\alpha$  може стати новою функцією OH.

Отримані результати підтверджують наше припущення про важливість продуктів аргіназного метаболізму аргініну в мітохондріях, у т.ч. для регуляції МП і про можливість участі як аніонів нітрату, так і фосфату, в функціонуванні мітохондріального антипортера (транслокації іонів кальцію із мітохондріального компартмента в цитозольний).

## ВИСНОВКИ

1. Завдяки стимуляції продукції NO, передусім у мітохондріальному компартменті серця тренуваних дорослих щурів, збільшується сила скорочень лівого шлуночка, зменшується жорсткість міокарда та поліпшується скоротлива активність ізольованого серця щурів.

2. У мітохондріях серця тренуваних плаванням дорослих щурів встановлено достовірну стимуляцію активності усіх

досліджуваних ферментів синтезу оксиду азоту – iNOS, cNOS і нітратредуктази, тоді як у старих – лише ферментів окисного шляху *de novo*.

3. У мітохондріальному компартменті серця тренування призводило до достовірного зниження вмісту нітрат-аніона тільки у дорослих щурів, а сечовини – у старих щурів. Пули нітрит-аніона при цьому майже не змінювалися.

4. Встановлено, що у мітохондріях серця дорослих щурів вміст  $H_2O_2$  після тренування підвищувався, тоді як у старих, навпаки, знижувався і майже сягав контрольних значень у дорослих тварин, концентрація сечової кислоти у щурів обох вікових груп зменшувалася. Тренування плаванням значно збільшувало індекс оксигенації в мітохондріях серця дорослих щурів.

5. Після тренування плаванням спостерігалось зниження активності аргінази у мітохондріях серця як дорослих, так і старих щурів.

6. Отримані результати дають підставу вважати, що плавання як один з методів фізичного навантаження стимулює конститутивний синтез NO і, навпаки, інгібує індукцибельну активність аргінази II в мітохондріях серця дорослих і старих щурів, а відтак може розглядатися як ефективний засіб немедикаментозної корекції вікової дисфункції мітохондрій, запобігання відкриття МП, попередження ініційованого іонами кальцію і окисним стресом апоптозу.

**А.В. Коцюруба, Ю.П. Коркач, С.А.Таланов, О.В.Базилук, Л.Г. Степаненко, В.Ф. Сагач**

### **ВЕКОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ АРГИНАЗО-NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К ПЛАВАНИЮ**

Изучали сократительную активность изолированного сердца взрослых крыс в условиях адаптации к длительным физическим нагрузкам плаванием. Показано, что благодаря стимуляции продукции NO в митохондриальном компарт-

менте сердца тренированных взрослых крыс увеличивается сила сокращений левого желудочка, уменьшается жесткость миокарда, улучшается как систолическая, так и диастолическая функция сердца. У тренированных плаванием взрослых крыс в митохондриях сердца установлена достоверная стимуляция активности всех исследованных ферментов синтеза оксида азота – индуцибельной, конститутивной NOS (de novo синтез) и нитратредуктазы (неокислительный реутилизационный синтез), тогда как у старых – только ферментов окислительного пути de novo. Тренировки приводили к достоверному снижению митохондриальных пулов нитрат-аниона только у взрослых крыс, мочевины – у старых крыс, внутримитохондриальные пулы нитрит-аниона при этом не изменились. Митохондриальные пулы  $H_2O_2$  после тренировки у взрослых крыс повышались, тогда как у старых животных, наоборот, снижались. Концентрация мочевой кислоты (маркера активности ксантиноксидазы) у крыс обеих возрастных групп после периода тренировок плаванием снижалась. Тренировки приводили к значительному увеличению “индекса оксигенации” в митохондриях сердца взрослых крыс и к снижению активности митохондриальной аргиназы II. Полученные результаты дают основание считать, что плавание как один из методов физической нагрузки стимулирует продукцию NO как в митохондриях сердца взрослых, так и старых крыс и поэтому может рассматриваться как эффективное средство немедикаментозной коррекции возрастной дисфункции митохондрий сердца.

Ключевые слова: тренировки, старение, сердце, митохондрии, оксид азота, окислительный метаболизм.

**A. Kotsuruba, Yu. Korkach, S. Talanov,  
O. Baziluk, L. Stepanenko, V. Sahach**

#### **ARGINASE-NITRIC OXIDE SYNTHASE SYSTEM CHANGES DUE TO ADAPTATION TO SWIMMING IN ADULT AND AGED RAT HEARTS**

We tested the physiological indices of adult rat heart beat for the adaptation to prolonged physical exercise (swimming). It was shown that the stimulation of NO-production in the heart mitochondria of trained adult rats improves both systolic and diastolic heart function. In adult rats trained by swimming the activity of both de novo and salvage enzymes of nitric oxide synthesis studied (iNOS, cNOS, nitratoreductase) were increased in heart mitochondria, whereas in the old rats only the activity of oxidative de novo enzymes. Training reduced the nitrate pools only in the mitochondria from adult rats and the urea pools in mitochondria from old rats. Intramitochondrial nitrite pools were unchanged. In adult rats, mitochondrial  $H_2O_2$  pools increased after training, whereas in the old rats they were reduced, the level of uric acid (a marker of xanthinoxidase activity) in ageing rats after training period was declined. Swimming training resulted in a significant increase in the value

of «oxygenation index» in mitochondria of adult rats and decreased the activity of mitochondrial arginase II. The results suggest that swimming is one of the methods of physical load stimulates NO production in the mitochondria of adult and old rats and therefore could be considered as an effective non-pharmacological tool for correction of mitochondrial dysfunction in adults and aging heart.

Key words: training, aging, heart, mitochondria, nitric oxide, oxidative metabolism.

*O.O. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Акопова О.В., Коцюруба А.В., Коркач Ю.П., Сагач В.Ф. Влияние оксида азота *in vivo* на метаболизм АФК и АФА в митохондриях сердца крыс // Дисфункция. эндотелия – Витебск, 2010. – С. 3–7.
2. Акопова О.В., Коцюруба А.В., Ткаченко Ю.П., Сагач В.Ф. Оксид азоту пригнічує відкриття мітохондріальної пори і збільшує кальцієву ємність мітохондрій *in vivo* // Фізіол. журн. – 2005. – 51. – № 3. – С. 3–11.
3. Бадова Т.А., Безруков В.В., Коркач Ю.П., Коцюруба А.В. Возрастные особенности влияния ишемического preconditionирования изолированного сердца крыс на метаболизм NO // Пробл. старения и долголетия – 2006. – 15, № 4. – С. 291–300.
4. Богдановська Н.В., Святодуч Г.М., Коцюруба А.В., Коркач Ю.П., Маліков М.В. Синтез оксиду азоту в процесі тривалої адаптації до інтенсивних фізичних навантажень у спортсменів // Фізіол. журн. – 2009. – 55, № 3. – С. 94–99.
5. Вавілова Г.Л., Струтинська Н.А., Коцюруба А.В., Сагач В.Ф. Чутливість феніларсиноксид – індикованого відкриття мітохондріальної пори в серці старих щурів за умов впливу на них інтервальних гіпоксичних тренувань // Фізіол. журн. – 2004. – 50, № 5. – С. 29–37.
6. Говсеева Н.М., Коцюруба А.В., Буханевич О.М., Артамонов М.М., Мегедь О.Ф., Гула Н.М. Зміна вмісту нітриту та сечовини у тканинах при морфінній залежності // Архів психіатрії. – 1998. – 1, № 16. – С. 112–114.
7. Горпинченко І.І., Гула Н.М., Мірошников Я.О., Коцюруба А.В., Буханевич О.М. Вміст L-аргініну і амінокислот, що утворюються за його метаболізму по окисному та неокисному шляхах в крові пацієнтів з еректильною дисфункцією // Урологія. – 2002. – № 3. – С. 85–90.
8. Доломан Л.Б., Коцюруба А.В., Косякова Г.В., Петренко О.В., Сагач В.Ф. Робота серця та функціональна активність ендотелію в залежності від віку і статі людини // Фізіол. журн. – 2004. – 50, № 5. – С. 19–28.



9. Рудык Е.В., Вавилова Г.Л., Сагач В.Ф., Коцюруба А.В. Интервальные гипоксические тренировки снижают некоторые показатели оксидативного стресса и чувствительность к индукторам митохондриальной поры в сердце старых крыс // Гипоксия. – Москва–Нальчик. – 2005. – 2. – С. 52–55.
10. Сагач В.Ф., Базилук О.В., Коцюруба А.В., Буханевич О.М. Порушення ендотелій-залежних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії // Фізіол. журн. – 2000. – 46, № 3. – С. 3–13.
11. Сагач В.Ф., Коркач Ю.П., Коцюруба А.В., Рудик О.В. Пригнічення відкриття митохондриальної пори екдистероном у серці старих щурів // Там само. – 2008. – 54, № 4. – С. 3–10.
12. Сагач В.Ф., Коцюруба А.В., Базилук О.В., Мегедь О.Ф., Буханевич О.М., Гула Н.М., Степаненко Л.Г. Інгібітори аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як новий клас антигіпертензивних сполук: дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів і судинний тонус при артеріальній гіпертензії // Там само. – 2001. – 47, № 5. – С. 3–11.
13. Сагач В.Ф., Рудик О.В., Вавилова Г.Л., Коцюруба А.В., Ткаченко Ю.П. Мелатонін відновлює ішемічну толерантність і зменшує чутливість до відкриття митохондриальної пори в серці старих щурів // Там само. – 2006. – 52, № 3. – С. 3–14.
14. Струтинська Н.А., Тимошук С.В., Вавилова Н.Л., Коцюруба А.В., Сагач В.Ф. Експресія UCP3 і чутливість МРТР до відкриття іонами Ca<sup>2+</sup> у серці старих щурів при активації біосинтезу коензиму Q // Там само. – 2009. – 55, № 3. – С. 44–54.
15. Чорна С.В., Таланов С.А., Струтинська Н.А., Вавилова Г.Л., Коцюруба А.В., Гайдай М.І., Сагач В.Ф. Вплив тривалих фізичних навантажень на зміни функції серця щурів при ішемії-реперфузії, чутливість кальцій індукованої митохондриальної пори та експресію роз'єднувального білка 3 // Там само. – 2010. – 56, № 1. – С. 13–21.
16. Baziluk O., Kotsuruba A., Stepanenko L., Talanov S., Korkach Yu., Sahach V. Age-dependence in alteration in nitric oxide synthesis in cardiovascular system during adaptation to physical training // Int. J. Physiol. and Phatophysiol. – 2010. – 1, № 4. – P. 345–356.
17. Cohen D.M., Gullans S.R., Chin W.W. Urea-inducible Erg-1 in murine inner medullary collecting duct cell is mediated by the serum response element and adjacent Ets motifs // J. Biol. Chem. – 1996. – 271, № 22. – P. 12903–12908.
18. Cox R.H., Hubbard J.W., Lawler J.E., Sanders B.J., Mitchell V.P. Cardiovascular and sympathoadrenal responses to stress in swim-trained rats // J. Appl. Physiol. – 1985. – 58, № 4. – P. 1207–1214.
19. Dave K.R., Lange-Asschenfeldt C., Raval A.P., Prado R, Busto R, Saul I, Pйrez-Pinzyn M.A. Ischemic preconditioning ameliorates excitotoxicity by shifting glutamate/gamma-aminobutyric acid release and biosynthesis // J. Neurosci Res. – 2005. – 82, № 5. – P. 665–673.
20. Ikeda T., Gomi T., Sasaki Y. Effects of swim training on blood pressure, catecholamines and prostaglandins in spontaneously hypertensive rats // Jpn. Heart J. – 1994. – 35, № 2. – P. 205–211.
21. Maarsingh H., Zaagsma J., Meurs H. Arginase: a key enzyme in the pathophysiology of allergic asthma opening novel therapeutic perspectives // Brit. J. Pharmacol. – 2009. – 158, № 3. – P. 652–664.
22. Malli R., Graier W.F. Mitochondrial calcium channels: Great unknowns with important functions // FEBS Letts. – 2010. – 584. – P. 1942–1947.
23. Miller A.J., Fan X., Orsel M., Smith S.J., Wells D.M. Nitrate transport and signaling // J. Exp. Bot. – 2007. – 85, № 9. – P. 2297–2306.
24. Tanabe T., Maeda S., Miyachi T., Iemitsu M., Takanashi M., Irukayama-Tomobe Y., Yokota T., Ohmori H., Matsuda M. Exercise training improves ageing-induced decrease in eNOS expression of the aorta // Acta Physiol. Scand. – 2003. – 178, № 9. – P. 3–10.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;  
E-mail: toliko49@ukr.net*

*Матеріал надійшов  
до редакції 01.08.2011*