

Б.Л.Гавенаускас І.М.Маньковська, В.І.Носар, А.І.Назаренко, Л.В. Братусь

Вплив інтервального гіпоксичного тренування на показники адаптації щурів до гіпоксії навантаження

В експериментах на крысах-самцах линии Вистар было показано, что интервальная гипоксическая тренировка (ИГТ) – применение кратковременных воздействий нормобарической гипоксической гипоксии, прерываемых нормоксическими интервалами – модулирует и потенцирует функциональные и метаболические перестройки в организме и мышечной ткани, возникающие при длительном воздействии гипоксии нагрузки (тренировке на выносливость). Показатели физической выносливости и максимального потребления кислорода, которые характеризуют физическую работоспособность и аэробную производительность организма, возрастали в процессе адаптации к гипоксии нагрузки больше у тех животных, которые одновременно подвергались ИГТ. У этих же животных в наибольшей степени увеличивалось напряжение кислорода в скелетной мышце, а при однократной стандартной интенсивной физической нагрузке PO_2 в мышце, рН крови и мышцы снижались незначительно. Стандартные нагрузки у животных, адаптированных к мышечной деятельности в сочетании с ИГТ, вызывали меньшие сдвиги метаболических показателей мышечной ткани (содержания лактата, отношений лактат/пируват и НАД/НАДН), чем у крыс, тренированных на выносливость без применения ИГТ. Сочетанное воздействие гипоксии нагрузки и ИГТ способствовало наибольшему повышению эффективности и экономичности работы дыхательной цепи митохондрий скелетной мышцы с увеличением роли НАДН-оксидазного пути окисления в энергообеспечении и снижением митохондриальной дисфункции в мышечном волокне в условиях дефицита кислорода.

ВСТУП

Відомо, що у процесі адаптації до гіпоксичної гіпоксії розширюється діапазон можливостей функціональної системи дихання людини та тварин щодо адекватного забезпечення киснем значних метаболічних потреб м'язової тканини при інтенсивних фізичних навантаженнях і компенсації локальної гіпоксії м'язів, яка служить за цих умов тригерним механізмом розвитку гіпоксії навантаження (ГН) [4, 10, 29]. В останні роки з'явилися експериментальні та теоретичні (за допомогою інформаційних технологій) докази того, що вплив гіпоксичної гіпоксії може модулювати і потен-

ціювати метаболічні, а також структурні перебудови безпосередньо у м'язовій тканині при адаптації до ГН [14, 21, 26]. Ці праці стали основою для об'єднання впливів ГН і гіпоксичної гіпоксії не тільки при підготовці елітних спортсменів, але також для поліпшення якості життя людей за гіподинамічних умов існування і реабілітації хворих з різними нейро-м'язовими ураженнями [5]. Водночас було показано, що постійно діюча гіпоксична гіпоксія (наприклад у високогір'ї) може негативно впливати на ультраструктуру скелетних м'язів [21]. З'явилася практична необхідність відокремити вплив ГН від постійної дії гіпоксичної гіпоксії.

© Б.Л.Гавенаускас І.М.Маньковська, В.І.Носар, А.І.Назаренко, Л.В. Братусь

Для того, щоб досягти дисоціації гіпоксичних стимулів, були розроблені різні схеми фізичного тренування із застосуванням переривчастої гіпо- і нормобаричної гіпоксії за принципами „living high – training low” [18] або „living low – training high” [30]. Зараз у спортивній практиці успішно вживається метод інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ), який характеризується застосуванням періодичних (короткочасних) впливів нормобаричної гіпоксичної гіпоксії, що перериваються нормоксичними інтервалами приблизно такої самої тривалості, як і самі впливи [5, 9, 27]. Позитивний вплив ІГТ на функціональну систему дихання та кисневі режими організму при фізичному тренуванні було показано багатьма авторами [5, 9, 27]. Але зміни у системі транспорту кисню у м'язах та мітохондріальному апараті м'язових клітин при різних засобах поєднання ГН з ІГТ залишаються майже невивченими.

Мета нашої роботи – дослідити функціональні показники адаптації організму та скелетних м'язів до ГН (фізична витривалість, максимальне споживання кисню, напруження кисню і рН крові та скелетного м'яза), а також метаболічні показники м'язової тканини (вміст лактату та пірувату, співвідношення лактат/піруват і НАД/НАДН), активність маркерного ферменту циклу Кребса сукцинатдегідрогенази (СДГ), показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій при різних варіантах поєднання ІГТ і фізичного тренування на витривалість (endurance training) у щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 60 щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г. Моделювання ГН здійснювали за допомогою плавання щурів у воді при 30–32 °С упродовж 30 хв щоденно. Ступінь ГН визначали за напруженням кисню (PO_2) і рН крові [10]. ГН компенсованого ступеня не

приводила до розвитку артеріальної чи венозної гіпоксемії та зсувів рН крові [8]. При ГН субкомпенсованого ступеня знижувалося PO_2 в артеріальній і, особливо, у венозній крові до 20–22 мм рт.ст., рН крові значно зсувався в бік підвищення її кислотності [8]. ГН субкомпенсованого ступеня створювали плаванням щурів із вантажем. Вантаж підбирали таким чином, щоб швидкість споживання кисню була 70–75 % від дотренувального рівня максимального його споживання, це становило $7,0\% \pm 1,3\%$ від маси тіла тварин. Визначення максимального споживання кисню проводили манометричним методом у герметично закритому резервуарі з водою із забезпеченням поглинання CO_2 при ступінчастому підвищенні навантаження за розрахунками, викладеними у праці Brooks і White [12]. Максимальне споживання кисню визначалося як така швидкість споживання кисню ($VO_2 \max$), після досягнення якої підвищення навантаження не було пов'язане з подальшим зростанням VO_2 . Тестування тварин на фізичну витривалість здійснювали реєстрацією часу, протягом якого тварина плавала з подвійним вантажем, визначеним за максимальним споживанням кисню для тренування, до знемоги (10 с перебування під водою). ІГТ проводили двотижневим курсом, який складався з 14 сеансів, кожний – по 3 цикли 15-хвилинного дихання тварин гіпоксичною сумішшю з 12 % кисню, що чергувалися з 15-хвилинними нормоксичними інтервалами, тривалість сеансу була 75 хв. Методом випадкового вибору тварин поділено на шість груп: I – контроль (нетреновані щури); II – 4-тижневий курс ГН компенсованого ступеня (плавання без вантажу); III – 4-тижневий курс плавання з вантажем; IV – 2-тижневий курс ІГТ; V – 4-тижневий курс плавання з вантажем, у перші 2 тиж застосовували ІГТ (в різні години доби); VI – 4-тижневий курс плавання з вантажем, в останні 2 тиж додавали ІГТ. Щурів усіх груп протягом

тижня привчали до умов експерименту плаванням без вантажу по 10 хв кожного дня. Тести на максимальне споживання кисню та фізичну витривалість для тварин II–VI груп проводили на другу добу після закінчення курсів тренування. В останню добу тренування для тварин цих груп здійснювали ще одне стандартне навантаження – плавання з такою інтенсивністю, яка за часом і вантажем дорівнювала визначеним результатам тестування на фізичну витривалість для тварин контрольної групи. Реєстрацію напруження кисню у литковому м'язі (P_{mO_2}) проводили полярографічним методом за допомогою відкритого платинового електрода [2]; рН артеріалізованої крові визначали, використовуючи мікробіоаналізатор „Radelkis” (Угорщина), рН скелетного м'яза вимірювали за описаним методом [20]. У гомогенаті литкового м'яза вивчали вміст лактату [11] та пірувату [1]. Співвідношення НАД/НАДН розраховували за методом Green та співавт. [19].

Вивчення процесу АДФ-стимульованого дихання мітохондрій тканини литкового м'яза, що були виділені [6], проводили полярографічно за методом Chance та Willians [15]. Середовище виділення містило у ммоль/л: KCl – 100; EGTA – 5; $MgSO_4$ – 5; тріс-НCl – 50, рН 7,4. Середовище інкубації містило у ммоль/л: KCl – 50; KH_2PO_4 – 10; тріс-НCl – 25; сахарози – 250, рН 7,4. Як субстрати окиснення використовували: по 1 ммоль/л сукцинату натрію та α -кетоглутарату натрію. Концентрація доданої АДФ була 300 мкмоль/л. За отриманими полярограмами розраховували такі показники: стан відносного спокою (V2), швидкість фосфорилуючого (у метаболічному стані V3) та

контрольованого (у метаболічному стані V4) дихання мітохондрій, дихальний контроль за Chance (V3/V4), коефіцієнт ефективності фосфорилування АДФ/О [17]. Концентрацію білка визначали за методом Lowry та співавт. [25], активність СДГ – згідно з описаним [3]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи критерій t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що фізична витривалість для контрольних тварин (I група) становила $9,0 \pm 2,0$ хв (рис. 1); максимальне споживання кисню було $71,5 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 3,0 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$. Після тесту на фізичну витривалість P_{mO_2} знижувалося на 30 % (рис. 2), рН крові та м'язів значно зсувався у бік підвищення їх кислотності (рис. 3). Після курсу тренування до ГН плаванням без вантажу (II група) фізична витривалість і максимальне споживання кисню вірогідно

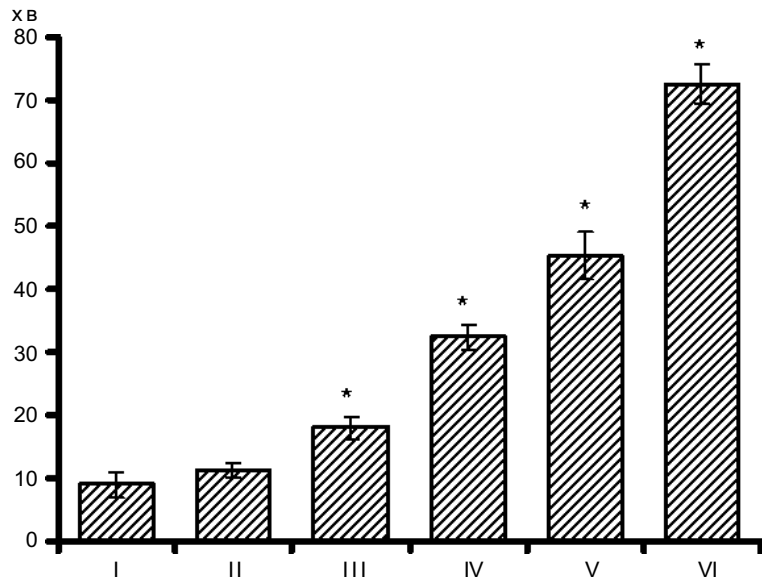


Рис. 1. Фізична витривалість щурів при різних режимах сумісного застосування гіпоксії навантаження (ГН) упродовж 4 тиж з інтервальним гіпоксичним тренуванням (ІГТ) упродовж 2 тиж: I – контроль; II – ГН компенсованого ступеня; III – ГН субкомпенсованого ступеня; IV – ІГТ; V – ГН субкомпенсованого ступеня з додаванням ІГТ у перші 2 тиж; VI – ГН субкомпенсованого ступеня з додаванням ІГТ в останні 2 тиж. * $P < 0,05$ порівняно з контролем ($n=10$)

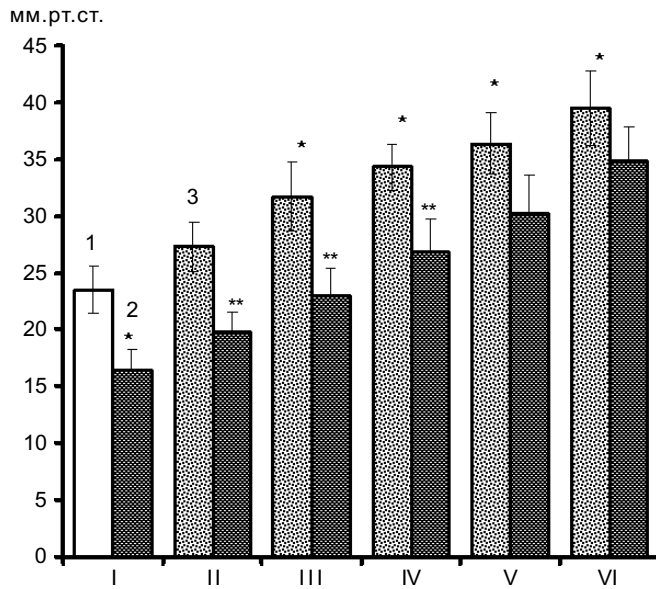


Рис. 2. Напруження кисню у литковому м'язі (P_{mO_2}) у щурів при різних режимах сумісного застосування гіпоксії навантаження (ГН) з інтервальним гіпоксичним тренуванням (ІГТ) до та після стандартного навантаження: I – контроль; II – ГН компенсованого ступеня; III – ГН субкомпенсованого ступеня; IV – ІГТ; V – ГН субкомпенсованого ступеня з додаванням ІГТ у перші 2 тиж; VI – ГН субкомпенсованого ступеня з додаванням ІГТ в останні 2 тиж; 1 – вихідний стан, 2 – після стандартного навантаження, 3 – до стандартного навантаження.
* $P < 0,05$ порівняно з вихідним станом, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями до та після стандартного навантаження ($n=10$)

не змінювалися, значення P_{mO_2} мало тенденцію до підвищення, рН крові і м'язів не змінювалися. Після проведення стандартного навантаження у тварин цієї групи зазначені показники змінювались аналогічно тим зрушенням, що були зареєстровані у щурів I групи. У тварин III групи, які пройшли курс тренування до ГН субкомпенсованого ступеня, фізична витривалість збільшувалась удвічі (див. рис. 1), значення P_{mO_2} вірогідно зросло, рН крові та м'язової тканини не зазнали істотних змін порівняно з контролем (див. рис. 2, 3). Максимальне споживання кисню вірогідно збільшувалося порівняно з тваринами I і II груп, і становило $85,2 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 2,1 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$ ($P < 0,05$). Напруження кисню у скелетному м'язі, рН крові та м'язів зменшувалось у відповідь на стандартне навантаження, але не так помітно, як у тварин II групи (див. рис. 2, 3). У тварин IV групи, які проходили курс ІГТ, фізична

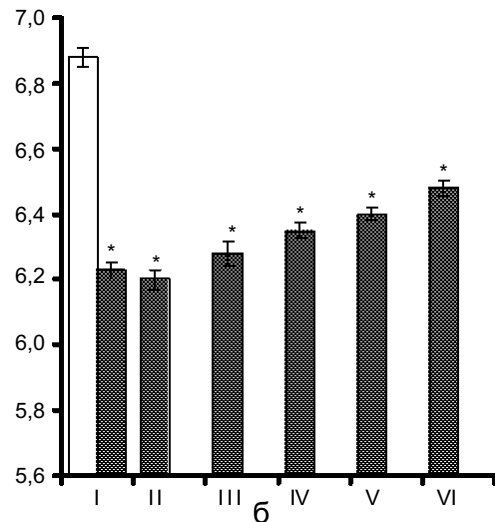
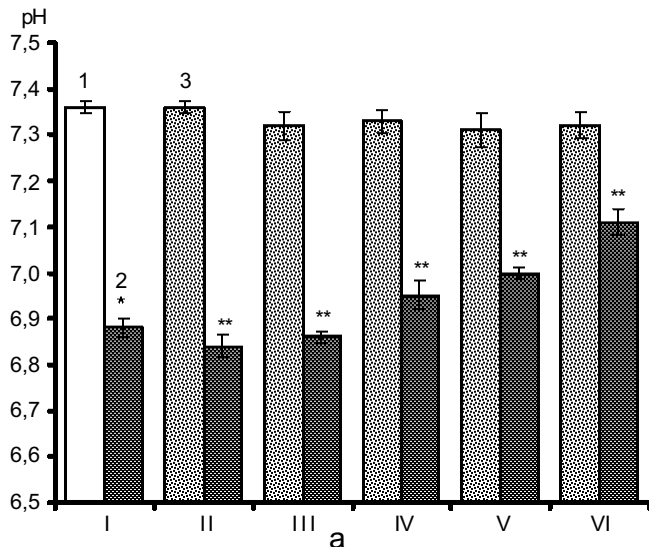


Рис. 3. Значення рН артеріалізованої крові (а) та скелетного м'язу (б) щурів при різних режимах сумісного застосування гіпоксії навантаження (ГН) з інтервальним гіпоксичним тренуванням (ІГТ) до та після стандартного навантаження: I – контроль; II – ГН компенсованого ступеня; III – ГН субкомпенсованого ступеня; IV – ІГТ; V – ГН субкомпенсованого ступеня з додаванням ІГТ у перші 2 тиж; VI – ГН субкомпенсованого ступеня з додаванням ІГТ в останні 2 тиж; 1 – вихідний стан, 2 – після стандартного навантаження, 3 – до стандартного навантаження.
* $P < 0,05$ порівняно з вихідним станом, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями до та після стандартного навантаження ($n=10$)

витривалість становила $32,0 \text{ хв} \pm 1,5 \text{ хв}$, тобто зростала більше ніж утричі порівняно з контролем (див. рис. 1). Водночас максимальне споживання кисню мало лише тенденцію до підвищення порівняно з контролем: $79,8 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 4,1 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$ ($P > 0,05$). P_{mO_2} підвищилося на 46 % порівняно з контрольними значеннями (див. рис. 2). Зміни P_{mO_2} , рН крові та м'яза у відповідь на стандартне навантаження були меншими, ніж у тварин I–III груп (див. рис. 2, 3). Чотириденне тренування тварин з використанням у перші 2 тиж курсів плавання з вантажем та ІГТ (V група) призводило до вірогідно вищої фізичної витривалості порівняно з цим показником у щурів IV групи (див. рис. 1); максимальне споживання кисню порівняно зі значеннями у тварин I–IV груп істотно збільшувалося – $94,8 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 3,2 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$ ($P < 0,05$). Слід зазначити, що після стандартного навантаження P_{mO_2} зменшувалося лише на 10 % (див. рис. 2). При цьому зсуви рН крові і м'язів були помітно меншими, ніж у тварин I–IV груп з меншими значеннями фізичної витривалості (див. рис. 3).

Однак саме застосування ІГТ в останні 2 тиж 4-тижневого курсу фізичних тренувань (VI група) було найбільш ефективне: так, фізична витривалість для цієї групи була на 60 % більшою від такої для щурів V групи і у 8 разів вищою, ніж у контролі (див. рис. 1). P_{mO_2} ще більше зростало (порівняно навіть із даними V групи) і суттєво не змінювалося після стандартного навантаження (див. рис. 2). рН крові та тканини скелетного м'яза за цих умов менше зсувався у бік підвищення їх кислотності порівняно з даними, отриманими у щурів V групи (див. рис. 3). Слід зазначити, що тільки у тварин VI групи відбувається зниження VO_2 у стані спокою (на 16 %): у нетренованих тварин VO_2 становила $24,0 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 1,1 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$, а у тварин VI групи – $20,0 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 1,1 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$

($P < 0,05$). Максимальне споживання кисню у щурів останньої групи, навпаки, зростало найбільше: значення цього показника було $116,2 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 5,3 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$.

Отже, показники фізичної витривалості та максимального споживання кисню, що характеризують фізичну працездатність і аеробну продуктивність організму, збільшувалися у процесі адаптації до гіпоксії навантаження більше у тих тварин, які одночасно проходили курс ІГТ. $VO_2 \text{ max}$ була на 25–38 % вищою у щурів, тренуваних за допомогою різних режимів поєднання фізичного навантаження з ІГТ порівняно з нетренованими щурами, в той час як $VO_2 \text{ max}$ у тренуваних без допомоги ІГТ була лише на 19,5 % вища, ніж у нетренованих тварин. Для фізичної витривалості ці показники збільшувалися у 5–8 і 3 рази відповідно. ІГТ в „чистому вигляді” призвело до збільшення фізичної витривалості майже в 3,5 раза, але максимальне споживання кисню при цьому лише мало тенденцію до збільшення.

Далі було показано, що стандартні навантаження призводили до типової метаболічної відповіді у скелетних м'язах тварин усіх досліджуваних груп, але ступінь змін метаболічних показників у різних групах тварин був різним (табл. 1). Так, концентрація лактату у скелетному м'язі контрольних щурів після стандартного навантаження значно підвищилася проти вихідного значення – у 4,5 раза. Приблизно таке саме підвищення було зареєстровано у щурів II групи. Після застосування різних засобів тренування (групи III–VI) це зростання прогресивно зменшувалося і було найменшим у м'язах тих тварин, що проходили курс фізичного тренування з додаванням ІГТ в останні 2 тиж цього курсу – на 35,5 % вище від вихідного значення. Концентрація пірувату у скелетному м'язі після стандартного навантаження зазнала менших змін: вона лише мала тенденцію до збільшення проти вихідного рівня в усіх групах. Співвідношення лактат/

піруват, яке застосовували як індикатор клітинного редокс-потенціалу [16], вірогідно підвищувалося після застосування стандартного навантаження у м'язах тварин усіх досліджуваних груп, але найменший ступінь такого підвищення було зареєстровано знову ж таки у тварин VI групи. Цитозольний редокс-потенціал (співвідношення НАД/НАДН) зменшувався після стандартного навантаження: найбільше – у тварин I і II груп, найменше – на фоні застосування ІГТ (V і VI групи). Активність ключового ензиму циклу трикарбонових кислот СДГ, що репрезентує вміст мітохондрій у м'язових клітинах, збільшувалась у м'язах тварин при використанні як ГН та ІГТ окремо, так і при поєднанні ІГТ з фізичним тренуванням. Водночас після стандартного навантаження активність СДГ змінювалася

по-різному: у I–III групах збільшувалася, у V–VI – зменшувалась, у IV групі – залишалася стабільною (див. табл. 1).

Слід зазначити, що в усіх дослідах початкова швидкість дихання мітохондрій (V_2) без АДФ була низькою і добре репродуктивною, що вказує на повне видалення залишків аденілатів під час приготування препаратів мітохондрій. У відповідь на додання АДФ у полярографічну камеру було чітко зафіксоване підвищення VO_2 до максимальних значень (V_3) на фоні збереження високих значень дихального контролю за Chance, що слугує показником високого ступеня спряження процесів окиснення та фосфорилування [14]. Було встановлено, що у нетренованих тварин після застосування інтенсивного фізичного навантаження реєструється перерозподіл

Таблиця 1. Зміни метаболічних показників м'язової тканини щурів при різних режимах сумісного застосування гіпоксії навантаження з інтервальним гіпоксичним тренуванням до та після стандартного навантаження ($M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин, схема дослідження	Лактат, мкмоль/г тканини	Піруват, мкмоль/г тканини	Лактат/піруват	НАД/НАДН	Активність СДГ, нмоль сукцинату · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка
I група					
до навантаження	1,62±0,20	0,054±0,002	30,0±1,81	300,3±45,7	8,63±1,33
після навантаження	7,29±0,51*	0,058±0,002	125,6±1,55*	71,67±8,23*	15,42±2,51*
II група					
до навантаження	1,50±0,41	0,048±0,002*	31,2±2,17	288,2±46,2	12,35±1,22*
після навантаження	6,84±0,82**	0,053±0,003	129,0±1,12**	69,8±10,37**	18,30±1,12**
III група					
до навантаження	1,72±0,44	0,050±0,005	34,4±2,53	261,8±38,7	14,75±1,2*
після навантаження	4,47±0,27**	0,061±0,007	72,5±1,95**	122,9±12,08**	19,75±2,21**
IV група					
до навантаження	1,48±0,22	0,049±0,004	30,2±2,00	298,2±41,4	15,51±1,57*
після навантаження	3,15±0,19**	0,057±0,005	53,5±2,25**	163,0±15,38**	15,64±1,35
V група					
до навантаження	2,13±0,33	0,055±0,003	38,7±2,17*	232,6±27,2	14,50±1,22*
після навантаження	2,94±0,23**	0,059±0,002	49,8±2,19**	180,8±21,3**	13,42±1,17
VI група					
до навантаження	1,55±0,17	0,051±0,004	30,3±1,70	296,4±23,4	13,74±1,12*
після навантаження	2,10±0,19**	0,057±0,002	36,8±1,12**	244,5±25,8**	10,44±1,22**

* вірогідно порівняно з контролем ($P<0,05$); ** вірогідно порівняно зі значеннями до та після стандартного навантаження ($P<0,05$).

субстратів дихання на користь сукцинату: в разі його окиснення різко зростає дихання в стані V_3 та його спряження з фосфорилуванням на фоні зниження ефективності фосфорилувального дихання (АДФ/О), при цьому у разі окиснення α -кетоглутарату натрію відбувається інгібування дихальної активності мітохондрій (табл. 2). Показники дихання мітохондрій у тварин II групи як до, так і після застосування стандартного навантаження, суттєво не відрізнялися від результатів, отриманих у контролі. У тварин, адаптованих до ГН субкомпенсованого ступеня (III група), за умов окиснення сукцинату після стандартного навантаження вірогідно збільшується дихальний контроль, але АДФ/О не змінюється порівняно зі значеннями цього коефіцієнта, отриманими до стандартного навантаження (див. табл. 2). Після проведеного курсу ІГТ (IV група) змінюються показники енергозабезпечення, пов'язані з окисненням як сукцинату, так і α -кетоглутарату натрію. Так, спостерігається тенденція до зниження рівня АДФ-стимульованого дихання у 3-му та 4-му метаболічних станах порівняно з контрольними. При цьому у мітохондріях скелетних м'язів щурів за умов окиснення сукцинату підвищувалася спряженість процесів дихання та окиснювального фосфорилування. Останнє засвідчує підвищення енергетичної регуляції дихання одночасно зі збільшенням ефективності фосфорилування за умов окиснення обох субстратів дихання. Стандартне навантаження після курсу ІГТ дозволило виявити значну протекторну роль адаптаційних механізмів енергозабезпечення, індукованих його сеансами. Ці зміни проявляються передусім збільшенням ефективності фосфорилування (див. табл. 2). Порівняльний аналіз показників функціонування мітохондрій скелетних м'язів тварин V групи зі значеннями, одержаними у тварин контрольної групи, засвідчив відсутність вірогідних змін за умов окис-

нення сукцинату, тобто активність сукцинатоксидазного шляху окиснення не змінилася. У разі окиснення мітохондріями НАД-залежного субстрату α -кетоглутарату натрію – швидкість дихання в усіх метаболічних станах знижується порівняно з результатами контрольної групи. Незважаючи на зниження інтенсивності споживання кисню, коефіцієнт АДФ/О був вірогідно вищим, що засвідчує зростання ефективності окиснювального фосфорилування. Відсутність при цьому змін дихального контролю також указує на підтримання високого ступеня спряження процесів окиснення та фосфорилування у мітохондріях м'язової тканини щурів, адаптованих до поєднаної дії ІГТ і ГН субкомпенсованого ступеня (див. табл. 2).

Показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій скелетних м'язів тварин VI групи засвідчують зростання ефективності роботи дихального ланцюга у разі окиснення НАД-залежного субстрату на фоні зниження швидкості фосфорилувального та контрольованого дихання, що вказує на економізацію процесів енергозабезпечення. При цьому у разі окиснення сукцинату натрію збільшується лише коефіцієнт АДФ/О. У відповідь на стандартне навантаження показники дихальної функції мітохондрій у тварин V та VI груп змінювались аналогічним чином: збільшувався дихальний контроль та коефіцієнт АДФ/О тільки за умов окиснення α -кетоглутарату натрію.

Таким чином, адаптивне значення впливу ГН компенсованого ступеня на функціональні та метаболічні перебудови в організмі і м'язовій тканині щурів під час тренування на витривалість було мінімальним, що збігається з даними інших дослідників [4, 10]. Такий метод тренування, як ми показали раніше, може позитивно вплинути на процеси транспорту й утилізації кисню у м'язах лише при набагато довшому терміні застосування фізичних навантажень (4–6 міс) та збільшенні обсягів

тренування (до 4 год у день) [8]. У процесі адаптації тварин до гіпоксії навантаження субкомпенсованого ступеня збільшувалися такі інтегральні функціональні показники фізичної працездатності й аеробної продук-

тивності, як фізична витривалість та максимальне споживання кисню, підвищувалася швидкість транспорту кисню до м'язових мітохондрій, збільшувався вміст самих мітохондрій у м'язовому волокні, на

Таблиця 2. Зміни показників АДФ-стимульованого дихання мітохондрій м'язової тканини щурів при різних режимах сумісного застосування гіпоксії навантаження з інтервальним гіпоксичним тренуванням за умов окиснення 1 ммоль/л сукцинату натрію та α -кетоглутарату натрію до та після стандартного навантаження ($M \pm m$; n=10)

Група тварин, схема досліджу	V_3 , нг атом $O \cdot$ хв ⁻¹ ·мг ⁻¹ білка	V_4 , нг атом $O \cdot$ хв ⁻¹ ·мг ⁻¹ білка	Дихальний контроль	АДФ/О, мкмоль АДФ/нг атом $O \cdot$
Сукцинат натрію				
I група				
до навантаження	67,8±5,9	19,5±1,4	3,47±0,16	1,76±0,11
після навантаження	89,2±6,1*	23,7±2,9	3,78±0,13*	1,46±0,09*
II група				
до навантаження	69,1±4,8	23,0±2,1	3,00±0,11	1,82±0,18
після навантаження	82,6±5,2**	24,4±3,4	3,38±0,14**	1,38±0,23**
III група				
до навантаження	78,8±4,8*	22,8±1,8	3,46±0,10	1,90±0,12
після навантаження	90,3±6,4**	24,1±2,2	3,74±0,14**	1,78±0,11
IV група				
до навантаження	63,7±3,4	16,4±1,8	3,88±0,18*	1,98±0,09*
після навантаження	68,8±3,9	19,06±2,3	3,61±0,09	2,19±0,10**
V група				
до навантаження	70,4±4,7	20,0±1,6	3,51±0,12	1,88±0,10
після навантаження	67,2±3,8	18,9±2,1	3,55±0,15	2,01±0,11
VI група				
до навантаження	69,8±5,3	20,2±1,1	3,45±0,15	1,99±0,10*
після навантаження	65,5±4,7	18,9±1,9	3,46±0,12	2,05±0,13
α-кетоглутарат натрію				
I група				
до навантаження	50,1±4,6	11,9±1,1	4,21±0,09	2,69±0,15
після навантаження	41,3±3,7	14,2±2,2	3,0±0,16*	1,53±0,29*
II група				
до навантаження	48,5±5,1	13,2±1,8	3,68±0,13	2,94±0,21
після навантаження	42,1±4,8	16,3±1,9	2,55±0,12**	1,63±0,17**
III група				
до навантаження	43,3±5,4	12,7±0,9	3,41±0,14*	3,05±0,12*
після навантаження	38,6±3,9	11,3±1,2	3,42±0,10	3,21±0,13
IV група				
до навантаження	44,2±3,7	10,2±1,7	4,34±0,12	2,97±0,10*
після навантаження	43,0±2,6	9,6±1,2	4,48±0,09	3,36±0,09**
V група				
до навантаження	41,1±4,2*	9,8±0,9*	4,19±0,11	3,18±0,14*
після навантаження	37,8±3,7	8,2±0,8	4,61±0,09**	3,47±0,11**
VI група				
до навантаження	41,4±3,7*	9,6±1,0*	4,30±0,13	3,37±0,13*
після навантаження	39,0±4,3	7,8±1,8	4,99±0,15**	3,79±0,11**

* вірогідно порівняно з контролем (P<0,05); ** вірогідно порівняно зі значеннями до та після стандартного навантаження (P<0,05).

що вказувало підвищення максимальної активності репрезентативного ферменту циклу трикарбонових кислот. Було встановлено, що адаптація до 2-х типів гіпоксії (гіпоксії навантаження та інтервальної гіпоксичної гіпоксії) найбільш сприяє мобілізації функціональних резервів транспорту й утилізації кисню у м'язовій тканині. На це вказує та обставина, що при стандартному навантаженні найменші прояви тканинної гіпоксії були відмічені саме при поєднанні ГН субкомпенсованого ступеня з ІГТ: найменше збільшення вмісту лактату і співвідношення лактат/піруват, найменше зниження напруження кисню у м'язі, рН крові та м'яза, співвідношення НАД/НАДН. У літературі ще і досі дискутується питання, чи є підвищення вмісту лактату та співвідношення лактат/піруват, а також зниження коефіцієнта НАД/НАДН наслідком нестачі кисню у м'язовій тканині [22], чи ці зміни віддзеркалюють підтримку мітохондріального дихання завдяки постачанню у мітохондрії відновлених еквівалентів [16]. Наші результати щодо найменшої акумуляції лактату у м'язі щурів за виконання стандартного субмаксимального навантаження лише у тому випадку, коли це супроводжувалося найменшим зниженням напруження кисню у м'язі, підтверджують першу гіпотезу. Ці результати збігаються з даними щодо зменшення накопичення лактату у скелетному м'язі людини під час субмаксимальної праці після акліматизації до висоти [13]. Наші результати можна інтерпретувати як такі, що підтверджують відомий феномен розвитку більш тісної інтеграції між постачанням АТФ та її метаболічним запитом при адаптації м'язової тканини до гіпоксії навантаження, що супроводжується меншою стимуляцією гліколізу [19]. Це, в свою чергу, викликає зниження продукції лактату й утилізації глюкози у м'язах та посилення спряження між окисненням пірувату та інтенсивністю гліколізу [14]. Ми вперше

показали, що такі метаболічні адаптації, специфічні для скелетного м'яза, потенціюються при сумісному впливі ГН та ІГТ.

Встановлені розбіжності між метаболічними реакціями на інтенсивне фізичне навантаження ми пов'язуємо насамперед із роллю мітохондріального апарату в адаптації м'язової тканини до гіпоксії та зниженням у процесі такої адаптації мітохондріальної дисфункції як базового молекулярного механізму у відповідь м'язової тканини на дефіцит кисню. Відомо, що основна риса адаптації функції мітохондрій до гіпоксії навантаження – це зниження VO_2 на одиницю дихального ланцюга при одній і тій самій інтенсивності робочого навантаження. Отже, зміни концентрацій цитозольних факторів, що контролюють дихання мітохондрій, потрібні для підтримки однакової швидкості поглинання O_2 при заданому навантаженні, будуть меншими у тренуваних м'язах [14]. Наші результати підтверджують ці положення, також вказують на те, що активація сукцинатзалежних процесів мітохондріального окиснення при дії стандартного навантаження зменшується у тварин, які тренувалися за допомогою ІГТ. При цьому принципове значення у формуванні адаптації до дефіциту O_2 на рівні дихання мітохондрій має збільшення ефективності функціонування НАДН-оксидазного шляху окиснення з посиленням дихального контролю при окисненні α -кетоглутарату натрію (тобто спряження дихання та фосфорилування), швидкості і ефективності фосфорилування. Це забезпечує економізацію дихального ланцюга мітохондрій, що було найбільш результативно при сумісному застосуванні ГН і ІГТ. Таким чином, у адаптованих до ГН і ІГТ тварин при інтенсивному фізичному навантаженні створюються умови для активації мітохондріального ферментного комплексу I і стимуляції утворення АТФ, а також для запобігання переходу у стадію декомпенсації, що сприяє активізації синтетичних

процесів, збільшенню маси мітохондрій та змінам кінетичних властивостей останніх [7, 14]. У м'язовій тканині це зумовлено також збільшенням популяції дрібних субсарколемальних мітохондрій [21], змінами проникності їхніх мембран для АДФ [24] та функціонального спряження деяких мітохондріальних кіназ [23].

Отримані результати дають можливість припустити, що використання методу адаптації до інтервальної гіпоксичної гіпоксії призводить на молекулярному рівні до підвищення регуляторної ролі фактора, що індукується гіпоксією – HIF-1 α [28]. Можливо, підвищення функції цього регулятора експресії киснезалежних генів призводить при застосуванні ІГТ до збільшення вмісту мРНК для міоглобіну, судинного фактора росту ендотелію, гліколітичних ензимів тощо [28]. Те, що найбільш позитивні результати були отримані при застосуванні ІГТ в останні 2 тиж фізичного тренування, можна пояснити високим рівнем потенціювання всіх механізмів метаболічної адаптації м'язів зі змінами кодування синтезу протеїнів, задіяних у процесах транспорту кисню до мітохондрій м'язових клітин (еритропоетин, судинний фактор росту ендотелію, NO-синтаза, міоглобін тощо). Останні припущення потребують, звісно, експериментального підтвердження.

**B.L.Gavenauskas, I.M.Mankovskaya,
V.I.Nosar, A.I.Nazarenko, L.V.Bratus**

INFLUENCE OF INTERMITTENT HYPOXIC TRAINING ON ADAPTATION TO LOAD HYPOXIA IN RATS

The aim of this study was to investigate physical endurance, maximal oxygen uptake, oxygen partial pressure, and pH in blood and skeletal muscle as well as the muscle metabolic parameters (lactate and pyruvate concentration, lactate/pyruvate and NAD/NADH ratios, succinate dehydrogenase activity, ADP-stimulated mitochondrial respiration) under various regimen of combination of endurance training with intermittent hypoxic training (IHT) in adult Wistar rats. It was shown that physical endurance, maximal oxygen uptake, and muscle PO₂ (PmO₂) were maximally increased in those animals who simultaneously underwent endurance training and IHT. The

same animals demonstrated the minimal decrease in PmO₂, blood and muscle pH under testing intensive physical workload. The latter led to the lesser shifts in metabolic parameters in the muscle of rats adapted both to IHT and endurance training than in rats adapted to endurance training only. The combined effects of IHT and adaptation to load hypoxia resulted in an increase of the role of NADH – oxidation pathway in the mitochondrial energy production.

Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабаскин П.П. Метод определения пировиноградной кислоты // Лаб. дело. – 1976. – №8. – С. 497.
2. Березовский В.А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. – К.: Наук. думка, 1975. – 277 с.
3. Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы: Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – С. 207–212.
4. Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. – М.: Медицина, 2003. – 407 с.
5. Колчинская А.З., Хацуков Б.Х., Закусило М.П. Кислородная недостаточность, деструктивное и конструктивное действие. – Нальчик: Изд-во КБНЦ РАН, 1999. – 208 с.
6. Кондрашова М.Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях тканей // Биохимия. – 1991. – 19, №3. – С. 388–405.
7. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1997. – 124, №9. – С. 244–253.
8. Маньковская И.Н., Филиппов М.М. Влияние гипоксии различного происхождения на кислородный режим мышечной ткани и механизмы его регуляции // Физиол. журн. – 1988. – 34, №2. – С. 56–63.
9. Радзиевский П.А. ИГТ в спорте высших достижений. – В кн.: Авто-матизированный анализ эффективности использования адаптации к гипоксии в медицине и спорте. – М. – Нальчик: Изд-во КБНЦ РАН, 2001. – С. 58–87.
10. Филиппов М.М. Процесс массопереноса респираторных газов при мышечной деятельности. Степени гипоксии нагрузки. – В кн.: Вторичная тканевая гипоксия. – К.: Наук. думка, 1983. – С. 197–216.
11. Bergmeyer H. U. L-(+)-Lactate. Determination with LDH, GPT and NAD // Methods of Enzymatic Analysis. – New York. – 1974. – P.1475.
12. Brooks G. A., White T.P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise // J. Appl. Physiol. – 1978. – 45, №6. – P.1009–1015.

13. Brooks G. A., Wolfel E. E., Butterfield G. E. et al. Poor relationship between arterial [lactate] and leg net release during exercise at 4,300 m altitude // *Amer. J. Physiol.* – 1998. – **275**, №4. – P. R 1192–R 1201.
14. Burrelle Y., Hochachka P. W. Endurance training induces muscle-specific changes in mitochondrial function in skinned muscle fibers // *J. Appl. Physiol.* – 2002. – **92**. – P. 2429–2438.
15. Chance B., Williams G. The respiratory chain and oxidative phosphorylation // *Adv. Enzymol.* – 1956. – **17**. – P. 65–134.
16. Connett R. J., Honig C. R., Gayeski T. E. J., Brooks G. A. Defining hypoxia: a systems view of VO_2 , glycolysis, energetics and intracellular PO_2 // *J. Appl. Physiol.* – 1990. – **68**. – P. 833–842.
17. Estabrook R. W. Mitochondrial Respiratory Control and the Polarographic Measurement of ADP: O Ratios // *Methods Enzymol.* – 1967. – **10**. – P. 41–47.
18. Gore C.J., Hahn A.G. et al. Live high: train low increases muscle buffer capacity and submaximal cycling efficiency // *Acta Physiol. Scand.* – 2001. – **173**. – P. 275–286.
19. Green H., Jones J. S., Ball–Burnett M., Farrance B., Ranney D. Adaptations in muscle metabolism to prolonged exercise and training // *J. Appl. Physiol.* – 1995. – **78**. – P. 138–145.
20. Hermansen L., Osnes J–B. Blood and muscle pH after maximal exercise in man // *Ibid.* – 1972. – **32**, № 3. – P. 1562–1572.
21. Hoppeler H., Vogt M. Muscle tissue adaptations to hypoxia // *J. Exp. Biol.* – 2001. – **204**, №18. – P. 3133–3146.
22. Katz A., Sahlin K. Regulation of lactic acid production during exercise // *J. Appl. Physiol.* – 1988. – **65**. – P. 509–518.
23. Kay L., Nicolay K., Wieringa B. et al. Direct evidence for the control of mitochondrial respiration by mitochondrial creatine kinase in oxidative muscle cells in situ // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**. – P. 6937–6944.
24. Laterveer F.D., Nicolay K., Gellerich FN. Experimental evidence for dynamic compartmentation of ADP at the mitochondrial periphery: coupling of mitochondrial adenylate kinase and mitochondrial hexokinase with oxidative phosphorylation under conditions mimicking the intracellular colloid osmotic pressure // *Mol. Cell Biochem.* – 1997. – **174**. – P. 43–51.
25. Lowry O., Rosenbrough N., Farr F. et al. Protein measurements with the Folin protein reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, №1. – P. 265–275.
26. Lyabakh K., Mankovskaya I. Oxygen transport to skeletal muscle working at VO_2max in acute hypoxia: theoretical predictions // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2002. – Pt A. – **132**. – P. 53 – 60.
27. Powell F.L., Garcia N. Physiological effects of intermittent hypoxia // *High Alt. Med. Biol.* – 2002. – **1**. – P. 125–136.
28. Semenza G. L. HIF–1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia // *J. Appl. Physiol.* – 2000. – **88**. – P. 1474–1480.
29. Wilber R.L. Current trends in altitude training // *Sports Med.* – 2001. – **31**, №4. – P. 249–265.
30. Wolski L.A., McKenzie D.C., Wenger H.A. Altitude training for improvements in sea level performance. Is there scientific evidence of benefit? // *Ibid.* – 1996. – **22**. – P. 251–263.