

# БІОХІМІЯ

УДК [612. 1 : 796.015] : 577.15

Н.В. БОГДАНОВСЬКА

Запорізький національний університет  
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69600

## **ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА АКТИВНІСТЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ**

---

Здійснено аналіз стану системи синтезу оксиду азоту, судинного ендотелію, фізичної працездатності юнаків і дівчат 20-25 років з різною мірою адаптації до фізичних навантажень. Показано, що високий рівень фізичної працездатності забезпечується вираженими позитивними перебудовами всіх ланок системи синтезу оксиду азоту та функціонального стану судинного ендотелію і є більш вираженими в осіб жіночої статі. Встановлена сильна кореляційна залежність між рівнем фізичної працездатності і біохімічними параметрами функціонального стану системи синтезу оксиду азоту.

*Ключові слова:* фізичні навантаження, синтаза оксиду азоту, кореляційна залежність, юнаки, дівчата, фізична працездатність

Наразі відомо, що фізичні навантаження сприяють оптимізації функціонального стану фізіологічних систем організму та забезпечують високий рівень фізичної працездатності [11].

Також показано важливу роль оксиду азоту в регуляції діяльності серцево-судинної, дихальної, нервової, ендокринної, імунної та інших систем організму, які значною мірою визначають поточний рівень фізичної працездатності та ступінь адаптації до фізичних навантажень [1, 3, 4, 5]. Крім цього, фізичні навантаження попереджають ендотеліальну дисфункцію у здорових осіб і сприяють її корекції в осіб із захворюваннями серцево-судинної системи [1, 3, 4, 5].

Тому висловлюється припущення про існування тісної функціональної залежності між станом системи синтезу оксиду азоту і рівнем фізичної працездатності організму.

У зв'язку з актуальністю та практичною значимістю зазначеної проблеми метою даного дослідження було визначення кореляційної залежності між рівнем фізичної працездатності та функціональним станом системи синтезу NO.

### **Матеріал і методи досліджень**

У цьому дослідженні було проведене обстеження практично здорових юнаків і дівчат у віці 20-25 років, які були поділені на контрольну групу (нетреновані особи) з традиційним режимом рухової активності (дворазові заняття фізичною культурою у вищому навчальному закладі) та основну групу (треновані особи) зі стажем занять спортом більше 10 років – професійні спортсмени, члени збірних України з ігрових видів спорту.

Під час дослідження реєстрували показники фізичної працездатності, системи кровообігу, ендотелію судин, системи синтезу оксиду азоту та неокислювального метаболізму L-аргініну в плазмі крові. При проведенні дослідницької частини роботи морально-етичні норми відносно обстежених осіб були дотримані.

Рівень фізичної працездатності оцінювали за допомогою субмаксимального тесту PWC<sub>170</sub> на велоергометрі “Поляр” (випробуваний виконував 2 навантаження по 5 хвилин з інтервалом відпочинку між ними 3 хвилини) – розраховували абсолютну (aPWC<sub>170</sub>, кгм·хв<sup>-1</sup>) та відносну величини загальної фізичної працездатності (vPWC<sub>170</sub>, кгм·хв<sup>-1</sup>·кг<sup>-1</sup>), абсолютну (aMCK, л·хв<sup>-1</sup>) та відносну величини максимального споживання кисню (vMCK, мл·хв<sup>-1</sup>·кг<sup>-1</sup>) [6].

Оцінку функціонального стану судинного ендотелію здійснювали за величиною ендотеліозалежної вазомоторної реакції плечової артерії (ЕЗВДР) використовували пробу з реактивною гіперемією плечової артерії з ресстрацією таких показників: вихідні величини діаметра плечової артерії (D<sub>па</sub>, мм), лінійної (ЛШК, см·с<sup>-1</sup>) і об’ємної (ОШК, мл·с<sup>-1</sup>) швидкостей кровотоку, величини даних показників на піку розвитку реактивної гіперемії (відповідно D<sub>паг</sub>, мм; ЛШК<sub>г</sub>, см·с<sup>-1</sup>; ОШК<sub>г</sub>, мл·с<sup>-1</sup>) і значення приросту зазначених параметрів при проведенні проби (відповідно ΔD<sub>па</sub>, %; ΔЛШК, %; ΔОШК, %) [10].

Для оцінки функціонального стану системи синтезу оксиду азоту в плазмі крові визначали величини біохімічних показників, що характеризують інтенсивність синтезу оксиду азоту за двома альтернативними шляхами метаболізму – неокисному реутилізаційному і окислювальному de novo [2]. Інтенсивність окисної деградації аргініну, при якій утворюється оксид азоту de novo, оцінювали за активністю різних ізоформ NO-синтази – кальційзалежної конститутивної (визначалася сумарна активність eNOS + nNOS = cNOS, пмоль·хв<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup> білка) і кальційнезалежної індукційної (iNOS, пмоль·хв<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup> білка), а також за рівнем кінцевих метаболітів оксиду азоту – нітрит- (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, пмоль·мг<sup>-1</sup> білка) і нітрат- (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, пмоль·мг<sup>-1</sup> білка) аніонів. Інтенсивність реутилізаційного синтезу оксиду азоту оцінювали, визначаючи NADPH-залежну нітратредуктазну активність (нітратредуктаза, нмоль·хв<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup> білка). Інтенсивність неокислювального метаболізму L-аргініну оцінювали, визначаючи активність аргінази (Arg, нмоль·хв<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup> білка) [12].

Були розраховані співвідношення між біохімічними показниками:

- частку вмісту нітрит-аніона (% NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, %), маркеру оксигенації крові в сумарному пулі циркулюючих стабільних метаболітів оксиду азоту, за формулою  $\% \text{NO}_2^- = [\text{NO}_2^-] \times 100 / ([\text{NO}_3^-] + [\text{NO}_2^-])$ ;

- частку активності iNOS (% iNOS, %) у сумарній активності NO-синтази, за формулою  $\% \text{iNOS} = \text{активність iNOS} \times 100 / \text{активність (iNOS + cNOS} = \Sigma \text{NOS})$ .

Усі експериментальні матеріали, отримані в ході дослідження, були оброблені з використанням програми “Statistica-7”.

### Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз результатів, отриманих у дослідженні, дозволив встановити наявність істотних відмінностей у рівні фізичної працездатності та аеробних можливостей нетренованих і тренованих осіб.

Для тренованих юнаків та дівчат був характерний достовірно (p<0,001) більш високий рівень їхньої фізичної працездатності та аеробних можливостей у порівнянні з нетренованими однолітками. За відносними величинами PWC<sub>170</sub> треновані хлопці та дівчата випереджали своїх однолітків відповідно на 48,08±2,29 % і 48,16±1,16 %, а за відносними величинами MCK – відповідно на 26,14±2,15 % і 20,26±1,10 % (табл. 1).

Отримані результати, а також відомі літературні дані про те, що основним фактором, що лімітує зростання фізичної працездатності, є стан системи кровообігу, дозволили припустити і більш оптимальний рівень функціонування серця, а це, у свою чергу, могло бути наслідком більш високого функціонального стану судинного ендотелію, у тому числі, можливо, за рахунок більш інтенсивного синтезу оксиду азоту в його клітинах.

На користь цього припущення свідчили як результати порівняльного аналізу результатів у пробі з реактивною гіперемією плечової артерії, так і дані біохімічних досліджень. Як відомо, величина реактивної гіперемії напряму залежить від синтезу оксиду азоту в ендотелії судин і відображає функціональний стан ендотелію, як клітин, що синтезують оксид азоту.

Таблиця 1

Величини загальної фізичної працездатності (вРWC<sub>170</sub>) і аеробної продуктивності (вМСК) у нетренованих та тренуваних юнаків та дівчат (M±m)

Показники	Нетреновані	Треновані	Δ%
дівчата			
аРWC <sub>170</sub> , кгм·хв <sup>-1</sup>	731,84±43,13 середній	1405,32±49,19*** вище середнього	92,03±1,52
вРWC <sub>170</sub> , кгм·хв <sup>-1</sup> ·кг <sup>-1</sup>	13,61±0,97 середній	20,24±0,58*** вище середнього	48,68±1,16
аМСК, л·хв <sup>-1</sup>	2,68±0,95 середній	4,16±0,11*** високий	55,28±1,52
вМПК, мл·хв <sup>-1</sup> ·кг <sup>-1</sup>	49,88±2,75 середній	59,99±1,27** вище середнього	20,26±1,1
юнаки			
аРWC <sub>170</sub> , кгм·хв <sup>-1</sup>	1224,39±51,30 середній	2575,19±178,55*** високий	110,32±3,62
вРWC <sub>170</sub> , кгм·хв <sup>-1</sup> ·кг <sup>-1</sup>	18,33±0,72 середній	27,14±1,49*** високий	48,08±2,29
аМПК, л·хв <sup>-1</sup>	3,76±0,11 середній	6,74±0,39*** високий	78,96±3,62
вМПК, мл·хв <sup>-1</sup> ·кг <sup>-1</sup>	56,39±1,71 середній	71,14±3,26*** високий	26,14±2,15

Примітки: \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001 порівняно з показниками, зареєстрованими в нетренованих осіб; Δ% – величина відносної різниці (у %) між абсолютними значеннями показників у нетренованих і тренуваних.

Вдалося встановити, що в тренуваних осіб, незалежно від статі, був більш високий функціональний стан судинного ендотелію, про що свідчили достовірно вищі величини приросту, на піку проби реактивної гіперемії, діаметра плечової артерії (ΔD<sub>па</sub>, на 70,43±3,02 % серед дівчат і на 18,51±1,20 % серед юнаків), лінійної (ΔЛШК, відповідно на 68,80±1,27 % і на 27,68±1,33 %) і об'ємної (ΔОШК, відповідно на 18,98±1,28 % і на 8,23±1,07 %) швидкостей кровотоку, а також достовірно нижчі величини загального периферичного опору судин (ЗПОС, відповідно на 21,47±1,06 % і на 26,85±1,12 %) (табл. 2).

Таблиця 2

Показники судинної реакції в нетренованих і тренуваних юнаків та дівчат 20-25 років на піку проби реактивної гіперемії (M±m)

Показники	Дівчата		Юнаки	
	нетреновані (n=78)	тренувани (n=87)	нетреновані (n=81)	тренувани (n=72)
ΔD <sub>па</sub> , %	19,94±1,27	33,98±3,62***	24,62±1,08	29,18±0,72**
ΔЛШК, %	65,81±6,34	111,09±4,95***	34,54±2,62	44,10±2,32**
ΔОШК, %	141,47±10,69	168,32±8,55*	154,47±5,67	167,19±2,14*
ЗПОС, дин <sup>2</sup> ·с·см <sup>-5</sup>	2021,16±55,24	1587,31±19,08**	2919,91±200,39	2135,97±101,73**

Примітки: \* - p<0,05, \*\* - p<0,01, \*\*\* - p<0,001 порівняно з нетренованими особами.

Переконливими були й результати порівняльного аналізу стану системи синтезу оксиду азоту в осіб із різним рівнем тренуваності і, як уже було показано, різним рівнем фізичної працездатності та функціонального стану серцево-судинної системи (табл. 3).

Було встановлено, що в тренуваних осіб, незалежно від статі, відзначалася більш висока інтенсивність кальційзалежного de novo синтезу оксиду азоту з L-аргініну за участю конститутивної NO-синтази (сNOS) та його ресинтезу при відновленні стабільних окислених метаболітів оксиду азоту (нітрит- та нітрат-аніонів), і, навпаки, більш низька інтенсивність окисного кальційнезалежного шляху синтезу NO de novo за участю індукційної NOS (іNOS) та неокислювального аргіназного шляху метаболізму L-аргініну за участю аргінази, що конкурує з сNOS за спільний субстрат (L-аргінін).

Величини показників системи синтезу оксиду азоту в крові нетренованих і тренуваних дівчат і юнаків 18-20 років (M±m)

Показники	Дівчата		Юнаки	
	нетреновані (n=78)	тренувані (n=87)	нетреновані (n=81)	тренувані (n=72)
iNOS, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	13,83±1,47	8,54±1,47*	14,44±1,08	12,34±0,87*
cNOS, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	28,35±2,18	48,01±4,5***	40,11±3,23	58,49±3,85**
Сумарна NOS, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	42,18±2,90	56,55±5,42*	54,55±2,91	70,83±4**
Нітратредуктаза, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	3,78±0,23	4,62±0,25*	3,47±0,19	3,77±0,15
Аргіназа, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	2,69±0,32	0,99±0,27***	2,09±0,28	1,21±0,16**
$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{моль}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	168,62±28,29	296,87±36,22**	177,12±18,1	324,54±20,56***
$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{моль}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	7,76±0,82	1,36±0,14***	9,30±0,69	1,67±0,15***
% iNOS, %	32,75±2,59	14,83±1,78***	27,11±2,55	17,75±1,30**
% нітриту, %	1,878±0,398	6,702±0,264***	1,648±0,207	6,592±0,237***

Примітка. \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з нетренованими особами.

У тренуваних юнаків і дівчат ми спостерігали статистично значимо більш високі, ніж у їхніх нетренованих однолітків, значення активності cNOS (на  $69,34 \pm 2,29$  % серед дівчат і на  $45,81 \pm 1,56$  % серед юнаків), сумарної NOS (відповідно на  $34,06 \pm 2,12$  % і на  $29,84 \pm 1,70$  %), нітратредуктази (відповідно на  $22,31 \pm 1,49$  % і на  $8,05 \pm 1,61$  %), вмісту нітрит-аніона (відповідно на  $76,50 \pm 1,62$  % і на  $83,23 \pm 1,51$  %), їхні частки в сумарному пулі стабільних метаболітів оксиду азоту (відповідно на  $345,88 \pm 1,70$  % і на  $300,01 \pm 1,52$  %) і, навпаки, статистично значимо більш низькі величини активності iNOS (відповідно на  $38,27 \pm 1,41$  % і на  $14,55 \pm 1,29$  %), її частки в сумарній активності NOS (відповідно на  $54,71 \pm 1,21$  % і на  $34,52 \pm 1,12$  %), більш низькі величини концентрації нітрат-аніона (відповідно на  $82,43 \pm 1,01$  % і на  $82,02 \pm 1,02$  %) та активності аргінази (на  $63,20 \pm 1,31$  % серед дівчат і на  $42,11 \pm 1,15$  % серед юнаків).

Крім цього, з урахуванням результатів проби з реактивною гіперемією, можна було припустити, що підвищення активності конститутивної NOS (cNOS) забезпечувалося, в основному, за рахунок підвищення активності ендотеліальної NOS (eNOS).

Істотним підтвердженням вищесказаного стали результати кореляційного аналізу між величинами загальної фізичної працездатності обстежених осіб та показниками, що характеризують стан системи синтезу оксиду азоту (табл. 4).

Отримані при обстеженні тренуваних юнаків та дівчат коефіцієнти кореляції переконливо засвідчили високий ступінь функціональної залежності рівня фізичної працездатності від активності лише конститутивної, але не індукційної NO-синтази, від активності нітратредуктази та величини пулів і частки нітрит-аніонів у загальному пулі стабільних метаболітів оксиду азоту.

Навпаки, підвищеним рівням фізичної працездатності відповідали більш низькі величини активності не лише індукційного синтезу оксиду азоту (активності iNOS), але також і активності аргінази, яка конкурує з cNOS за субстрат.

Важливо вказати на те, що високий ступінь функціональної залежності між рівнем фізичної працездатності та показниками системи синтезу NO був зареєстрований нами і серед нетренованих юнаків та дівчат.

Коефіцієнти кореляції між рівнем фізичної працездатності (вPWC170) і показниками системи синтезу NO в нетренованих і тренуваних юнаків та дівчат (M±m)

Показники	Дівчата		Юнаки	
	нетреновані (n=78)	тренувані (n=87)	нетреновані (n=81)	тренувані (n=72)
iNOS	-0,59±0,22	-0,64±0,23*	-0,55±0,22	-0,71±0,16*
cNOS	0,68±0,18	0,63±0,22*	0,63±0,20	0,66±0,19*
Аргіназа	0,67±0,18	0,66±0,19*	0,56±0,23	0,62±0,21*
Нітратредуктаза	0,33±0,30	0,63±0,22*	0,59±0,22	0,69±0,18*
NO <sub>2</sub>	0,56±0,23	0,69±0,17*	0,43±0,27	0,65±0,19*
NO <sub>3</sub>	0,54±0,23	-0,27±0,31	-0,28±0,31	-0,27±0,31
Сумарна NOS	0,56±0,23	0,64±0,23*	0,68±0,18	0,66±0,19*
% iNOS	-0,80±0,12	-0,67±0,18*	-0,59±0,22	-0,75±0,15**
%NO <sub>2</sub>	0,40±0,28	0,71±0,16*	0,58±0,22	0,66±0,19

Примітка. \*, \*\* - достовірність коефіцієнту кореляції R (p<0,05, p<0,01).

У цілому, результати комплексного обстеження тренуваних юнаків і дівчат дозволили констатувати, що процес довготривалої адаптації серцево-судинної системи їхнього організму забезпечується за рахунок підвищення інтенсивності конститутивного *de novo* і реутилізаційного шляхів синтезу оксиду азоту, вмісту циркулюючого нітрит-аніона і зниження рівню циркулюючого нітрат-аніона, що сприяє зниженню судинного опору, підвищенню реактивності судин, і, як наслідок, підвищенню рівня фізичної працездатності організму.

Перспективи подальшого дослідження зумовлюють довести важливу роль оксиду азоту в забезпеченні адаптації до фізичних навантажень серед здорових осіб різної статі та з різним рівнем фізичної працездатності, визначити особливості стану системи синтезу NO в осіб з різним рівнем адаптації до фізичних навантажень та основні закономірності змін у даній системі при зміні фізичної працездатності.

### Висновки

Аналіз результатів дослідження дозволив констатувати існування сильного кореляційного зв'язку між рівнем фізичної працездатності і дослідженими біохімічними параметрами, що характеризують функціональний стан системи синтезу оксиду азоту: для високотренованих осіб, незалежно від статі, характерним є сильний позитивний кореляційний зв'язок вPWC<sub>170</sub> з величинами активності конститутивної та сумарної NOS, нітратредуктази, концентрації нітрит-аніона, їхньої частки в загальному пулі стабільних метаболітів оксиду азоту (R=+0,6 – +0,7) і сильний від'ємний зв'язок зі значеннями активності індукційної NOS, аргінази, частки індукційної NOS у загальному пулі NO-синтази і вмісту нітрат-аніона (R= -0,6 – -0,7).

1. *Абакумов М.М.* Оксид азота и свертывающая система крови в клинике / М.М. Абакумов, П.П. Голиков // Вестник Российской АМН. – 2005. – № 10. – С. 53–56.
2. *Богдановська Н.В.* Особливості обміну аргініну й синтезу оксиду азоту в юнаків при адаптації до фізичних навантажень у тренувальному та змагальному періоді / Н.В. Богдановська, А.В. Коцюрба, М.В. Маліков // Фізіологічний журнал. – 2011. – Т. 57, № 1. – С. 37–40.
3. *Братусь В.В.* Оксид азота как регулятор защитных и гомеостатических реакций организма / В.В. Братусь // Український ревматологічний журнал. – 2003. – № 4 (14). – С. 3–11.
4. *Гавриш А.С.* Морфология дисфункции сосудистого эндотелия при хроническом стрессе и атерогенезе / А.С. Гавриш // Український кардіологічний журнал. – 2005. – № 1. – С. 91–95.
5. *Журавлева И.А.* Роль окиси азота в кардиологии и гастроэнтерологии / И.А. Журавлева, И.А. Мелентьев, Н.А. Виноградов // Клин. мед. – 1997. – Т. 75. – № 4. – С. 18–21.
6. *Карпман В.Л.* Спортивная медицина: учеб. для ин-тов физ. культ. / В.Л. Карпман – М.: Физкультура и спорт, 1980. – 349 с.
7. *Марков Х.М.* Оксид азота и сердечно-сосудистая система / Х.М. Марков // Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С. 49–65.
8. *Митьков В.В.* Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике / В.В. Митьков, В.А. Сандрикова. – М.: Видар, 1998. – 360 с.

9. *Реутов В.П.* NOсинтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина // Биохимия – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 1029–1040.
10. *Deedwania P.C.* Endothelin? The bad actor in the play: a marker or cardiovascular disease / P.C. Deedwania // J Am. Coll Cardiol. – 1999. – № 33. – P. 939–942.
11. *Haram P.M.* Adaptation of endothelium to exercise training: insights from experimental studies / P.M. Haram, O.J. Kemi, U. Wisloff // Front Biosci. – 2008. – Jan 1;13. – P. 336–346.
12. *Moncada S.* The L-arginine – nitric oxide pathway / S. Moncada, A. Higgs // New Engl. J. 1993. – 329, № 27. – P. 2002–2012.

*Н.В. Богдановская*

Запорожский национальный университет, Украина

#### ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА АКТИВНОСТЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ

Проведен анализ состояния системы синтеза оксида азота, сосудистого эндотелия, физической работоспособности юношей и девушек возрастом 20-25 лет с различной степенью адаптации к физическим нагрузкам. Показано, что высокий уровень физической работоспособности организма обеспечивается выраженными положительными перестройками всех звеньев системы синтеза оксида азота и функционального состояния сосудистого эндотелия и это более выражено у лиц женского пола. Установлена сильная корреляционная зависимость между уровнем физической работоспособности и биохимическими параметрами функционального состояния системы синтеза оксида азота.

*Ключевые слова:* физические нагрузки, синтазы оксида азота, корреляционная зависимость, юноши, девушки, физическая работоспособность

*N.V. Bogdanovskaya*

Zaporizhian National University, Ukraine

#### EFFECT OF PHYSICAL ACTIVITY ON THE ACTIVITY OF ENDOTHELIAL NO-SYNTHASE

The analysis of the nitric oxide synthesis system, vascular endothelium, physical performance of boys and girls 20-25, with varying degrees of adaptation to physical stress. Shown that high levels of physical performance of organism ensured by positive reconstruction of all parts of the nitric oxide synthesis system and the functional state of the vascular endothelium. And it is more pronounced in females. Is established a strong correlation between the level of physical performance and biochemical parameters of the functional state of nitric oxide synthesis system.

*Key words:* physical stress, nitric oxide synthase, correlation, boys, girls, physical performance

Рекомендує до друку

О.Б. Столяр

Надійшла 26.06.2012