

178

ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Библиотека
M

БАЗУЛЬКО

Александр Семенович

**ПРИМЕНЕНИЕ НЕРОБОЛА
ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ МЫШЕЧНОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
СИЛОВОГО (СТАТИЧЕСКОГО) ХАРАКТЕРА
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЖИВОТНЫХ**

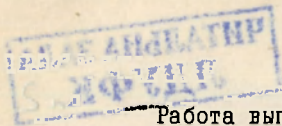
(03.00.04 — Биологическая химия)

Диссертация написана на русском языке

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

ТАРТУ 1974



Работа выполнена в секторе питания Ленинградского
научно-исследовательского института физической культуры
(директор - доктор биологических наук В.А.Рогозкин)

Научный руководитель - доктор биологических наук
В.А.Рогозкин

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, проф. А.А.ВМРУ
кандидат медицинских наук, доц. Л.Я.ТЯЖЕПЫЛЬД

Ведущее учреждение -

Ленинградский государственный ордена Ленина и ордена Красного
Знамени институт физической культуры им. П.Ф.Лесгафта

Автореферат разослан " 8 " _____ 197 4 г.

Защита диссертации состоится " 8 " _____ 197 4 г.

в 16 часов на заседании Ученого Совета Тартуского государ-
ственного университета медицинского факультета
(Главное здание университета, Тарту, ул. Юликооли, 18)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Тартуского государственного университета.

Ученый секретарь Совета ТГУ

И. Маароос (И.Маароос)

Ведущая роль в процессах биохимической адаптации организма к интенсивной мышечной деятельности принадлежит белкам. Поэтому одной из главных задач в восстановительный период является обеспечение благоприятных условий для быстрой нормализации и усиления анаболической фазы белкового обмена. С этой целью в практике спорта в течение последних 10 лет стали очень интенсивно применяться анаболические стероиды (АС) – синтетические производные мужских половых гормонов с резко выраженными анаболическими свойствами и ослабленным андрогенным действием.

Использование АС в эксперименте на животных и в клинике позволило установить, что эти соединения вызывают в организме **задержку** азота, фосфора, кальция, серы – химических веществ, являющихся обязательными компонентами белкового обмена, применение их сопровождается возникновением положительного азотистого баланса в организме, усилением синтеза тканевых белков, нарастанием мышечной массы, прибавкой веса / Дильман, 1961; Kruskemper, 1963; Пацовски, 1964; Шульцев, 1964; Зарубина, 1965; Arnold and Potts, 1965; Свечникова и др., 1969; Васюкова и др., 1969; Жаров, Сегаль, 1969/.

Использование АС спортсменами, в основном, связано с интенсивной мышечной деятельностью силового характера – тяжелая атлетика, метание и ряд игровых видов спорта.

Наибольшую популярность в спорте среди других АС получил неробол. Применение его на фоне систематических занятий с тяжестями сопровождалось увеличением веса тела и мышечной массы, способствовало развитию силы и улучшало результаты в спортивных упражнениях / Steinbach, 1968; Johnson, O'Shea, 1969; Imhof, 1970; Сарсания, 1970; Ward, 1970; Калам Маароос, Виру, Унгер, 1971; Casner et al., 1971; Johnson, Fisher, 1972/. Однако,

вопрос о механизме действия АС в условиях обычной двигательной активности изучен недостаточно, а при тренировке практически не изучен. В литературе содержится очень мало сведений о возможности побочных влияний на организм и их андрогенного действия при длительном и повторном применении. Неизвестны основные закономерности биохимических изменений белкового обмена в скелетных мышцах во время введения АС на фоне тренировки и в отдаленные периоды после их отмены.

Исходя из изложенного, целью нашего исследования было изучение в эксперименте на животных действия анаболического стероида неробола на процессы протеиносинтеза в скелетных мышцах и возможность проявления андрогенного действия при интенсивной мышечной деятельности силового характера.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработать эффективный метод силовой тренировки животных.
2. Выяснить зависимость анаболического действия неробола на скелетные мышцы животных от их функциональной активности, интенсивности физической нагрузки, дозы АС и обеспеченности организма белковым питанием.
3. Выявить некоторые биохимические изменения процесса протеиносинтеза в скелетных мышцах тренированных животных во время однократных и повторных циклов применения неробола и после его отмены.
4. Изучить влияние неробола на процессы биосинтеза белка и РНК в мышцах животных при выполнении однократной силовой нагрузки и в период отдыха после нее.
5. Оценить возможность андрогенного действия и побочных влияний неробола при длительном применении на фоне систематической мышечной деятельности.

ПОСТАНОВКА ЭКСПЕРИМЕНТА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использованы взрослые белые крысы-самцы весом 180-200 г, содержавшиеся на стандартном синтетическом рационе с 20% белка.

Опыты проводились на животных, сохранявших обычный двигательный режим и животных, подвергавшихся ежедневной систематической мышечной деятельности силового (статического) характера при висении с дополнительным грузом на вертикальном стержне. Упражнение состояло из 3-кратного повторения 2-минутного висения через 1 минуту отдыха, величина груза была 10% или 15% от веса тела, продолжительность тренировки - от 14 до 84 дней. В качестве анаболического стероида использовали препарат "Неробол" фирмы Гедеон Рихтор (Будапешт, Венгрия), содержащий 1-дегидро-метилтестостерон (17 α -метил-17 β -гидрокси- $\Delta^{1,4}$ -андростен-3-он). Гормон вводили внутривенно в 1 мл суспензии в 0,9% растворе NaCl через 1 час отдыха после физической нагрузки. Контрольным животным в то же время вводили 1 мл 0,9% раствора NaCl.

При изучении анаболического действия гормона на тренированных животных неробол вводили с 1 по 21 день и с 43 по 63 день тренировки. С 22 по 42 и с 64 по 84 день тренировка продолжалась без введения гормона.

Для выяснения зависимости анаболического эффекта неробола от обеспеченности организма белковым питанием часть животных во время тренировки переводили с основного рациона с 20% белка, на изокалорийные диеты с 27% и 40% белка.

Исследования проводили на 14, 21, 31, 42, 56, 63, 73 и 84 дни эксперимента. При тренировке и длительном введении неробола животных в острый опыт брали через 16-18 часов отдыха с момента последнего выполнения физической нагрузки и введения стероида. При

выполнении однократной силовой нагрузки крыс исследовали в покое, сразу же после работы и через различные интервалы отдыха от 30 мин до 7 часов.

Для оценки анаболического действия неробола исследовали следующие показатели: прибавку веса тела животных, поедаемость корма, вес икроножной мышцы и ее сухой остаток, содержание белка (Lowry et al., 1951) и РНК мышц (Munro, 1966), интенсивность включения оротовой- C^{14} кислоты в РНК (выделение тотальной РНК по методу Sherrer, Darnell, 1962; Soeiro, Darnell, 1969) и лейцина- C^{14} в миофибриллярные и саркоплазматические белки мышц (фракционирование по методу Иванова и др., 1959), радиоактивность мышечной ткани, активность ферментов аспарат-аминотрансферазы (Yatsidis, 1960) и цитохромоксидазы мышц (Smith, Stotz, 1949). При изучении влияния физической нагрузки на протекание процессов энергетического обмена в мышцах исследовали содержание гликогена (Good, Kramer, Somogyi, 1933), креатинфосфата (Алексеева, 1956) и лактата (Barker, Sammer-son, 1941). Для оценки тренировочного эффекта помимо показателей анаболического действия неробола, с помощью прибора собственной конструкции, измеряли мышечную силу животных в начале и конце периода тренировки.

Оценку андрогенного действия неробола на половую систему крыс осуществляли по изменению веса семенников, семенных пузырьков /СП/, вентральной простаты, содержанию секрета в СП и лимонной кислоты (Natalson et al., 1948) в вентральной простате и СП. Кроме того исследовали вес печени, почек и надпочечников как органов, активно участвующих в процессах метаболизма и утилизации стероидных гормонов.

Результаты исследований обработаны статистически (Плохинский, 1970).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анаболическое действие неробола при систематической мышечной деятельности силового характера

Применение различных по интенсивности физических нагрузок при тренировке животных показало, что интенсивная тренировка (висяние с 15% грузом) является неадекватной функциональным возможностям организма по сравнению с умеренной тренировкой (висяние с 10% грузом), о чем свидетельствовало замедление темпов роста крыс. На 10-й день интенсивной тренировки прибавка веса тела составляла $11,1 \pm 2,2\%$, у нетренированных - $16,4 \pm 1,3\%$, у тренированных с умеренными нагрузками $16,2 \pm 1,8\%$. К 21 дню эти различия несколько сглаживались, но прибавка веса тела при интенсивной тренировке оставалась меньшей, чем при умеренной (табл.1).

Использование разных доз неробола при интенсивной и умеренной тренировке животных показало оптимальность сочетания умеренных физических нагрузок и дозы 0,3 мг /кг для проявления анаболического эффекта гормона. Доза 1,5 мг/кг оказывала угнетающее влияние при интенсивных, а доза 0,05 мг/кг оказалась не эффективной при умеренных физических нагрузках (табл.1). Анаболическое действие неробола в дозе 0,3 мг/кг проявлялось в более значительном увеличении веса тела и мышечной массы, повышении содержания РНК, активации процессов переамирирования и окисления, увеличении содержания белка и сужого остатка мышц.

Таблица I

Анаболическое действие неробода на скелетные мышцы крыс при 21-дневной тренировке силовыми нагрузками различной интенсивности ($M \pm m$).

Условия опыта	Исходный вес крыс (г)	Прибавка веса тела (% к исходному)	РНК (мкг/г ткани)	Активность ААТ (мкм ПВК/г ткани/мин)	Сухой остаток (%)
Интенсивная тренировка	180,0 \pm 7,1 (4)	27,4 \pm 2,5 (4)	854,4 \pm 22,4 (4)	17,2 \pm 0,4 (4)	23,9 \pm 0,7 (4)
То же+неробол 1,5 мг/кг	185,0 \pm 2,1 (4)	22,4 \pm 3,9 (4)	851,2 \pm 24,2 (4)	16,1 \pm 0,4 (4) P < 0,05	23,8 \pm 0,6 (4)
То же+неробол 0,3 мг/кг	188,0 \pm 3,7 (4)	30,4 \pm 1,3 (4)	1003,2 \pm 28,7 (4) P < 0,05	21,0 \pm 0,8 (4) P < 0,05	24,7 \pm 0,2 (4)
Умеренная тренировка	192,0 \pm 1,8 (11)	31,3 \pm 1,9 (5)	803,2 \pm 29,7 (6)	17,2 \pm 0,8 (6)	24,6 \pm 0,26 (6)
То же+неробол 0,3 мг/кг	191,7 \pm 0,7 (14)	38,0 \pm 1,9 (11) P < 0,01	913,5 \pm 41,5 (6) P < 0,05	20,0 \pm 0,7 (6) P < 0,05	26,0 \pm 0,23 (6) P < 0,01
То же+неробол 0,05 мг/кг	193,7 \pm 1,9 (5)	30,2 \pm 2,1 (4)	805,1 \pm 63,8 (5)	18,7 \pm 0,8 (5)	24,3 \pm 0,28 (5)

() - число опытов;

P - к контролю.

По сравнению с животными, тренированными без неробода, на 21 день эксперимента по прибавке веса тела, содержанию РНК, активности аспаратаминотрансферазы (ААТ) мышц и сухому остатку отличия были статически достоверны (табл. I). Активность цитохромоксидазы (ЦО) мышц повышалась с 614 \pm 21,2 до 732 \pm 15,6 мкг индоф. сини/г ткани (P < 0,01), содержание белка - с 214 \pm 9,6 до 239 \pm 5,1 мг/г ткани (P < 0,05). Относительный вес икроножной мышцы увеличился с 0,633 \pm 0,20 до 0,675 \pm 0,11%, показатель мышеч-

ной силы возрос с $4,82 \pm 0,06$ до $4,88 \pm 0,8$ г/г веса и достоверно коррелировал о прибавкой веса тела ($r = 0,73$; $P = 0,03$).

Таблица 2
Применение неробола в течение 21 дня в условиях
обычного двигательного режима животных ($M \pm m$)

Группы животных	Исходный вес крыс (г)	Прибавка веса тела (% к ис- ходному)	РНК (мкг/г ткани)	ААТ (мкм ЦВК/г ткани/мин)	Сухой остаток (%)
Нетренированные	$191,5 \pm 2,4$ (8)	$29,9 \pm 2,9$ (4)	$774,4 \pm 18,7$ (4)	$13,7 \pm 0,4$ (4)	$23,8 \pm 0,31$ (4)
То же + неробол 0,3 мг/кг	$187,8 \pm 2,9$ (5)	$30,6 \pm 2,0$ (4)	$764,6 \pm 38,5$ (4)	$14,4 \pm 1,7$ (4)	$24,2 \pm 0,26$ (4)

() - число опытов

Применение неробола в дозе 0,3 мг/кг у нетренированных животных не обнаружило анаболического действия гормона на скелетные мышцы (табл.2).

Таким образом, результаты исследований влияния разных доз неробола при тренировке животных различной интенсивности и одной и той же дозы (0,3 мг/кг) у тренированных и нетренированных крыс выявили зависимость анаболического эффекта от дозы гормона и интенсивности физической нагрузки, показали необходимость повышенной функциональной активности скелетных мышц для проявления анаболического действия дозы неробола 0,3 мг/кг.

Исследования, проведенные на 31 и 42 дни продемонстрировали постепенное затухание анаболических процессов в мышцах тренирован-

ных животных после прекращения введений неробола. На 31 день тренировки содержание РНК составляло $935,2 \pm 17,6$ мкг/г ткани и еще достоверно ($P < 0,01$) превышало уровень контроля ($812,4 \pm 17,9$ мкг/г ткани), но активность ААТ мышц не имела достоверных различий ($17,6 \pm 0,3$ в контроле и $18,1 \pm 0,4$ мкм ПВК/г ткани/мин в опыте). На 42 день тренировки содержание РНК мышц было у опытной группы крыс $856,0 \pm 52,8$, у контрольной - $809,2 \pm 23,4$ мкг/г ткани, активность ААТ - $15,4 \pm 0,8$ и $17,9 \pm 0,6$ мкм ПВК/г ткани/мин, активность ЦО - $653 \pm 26,6$ и $618 \pm 20,3$ мкг индоф. сини/г ткани/мин. Прибавка веса тела животных, получавших неробол, за период с 22 по 42 день тренировки оказалась на 18 г меньше, чем за первые 3 недели.

При повторном трехнедельном введении неробола тренированным животным с 43 по 63 день тренировки общая направленность изменений обмена веществ в скелетных мышцах оставалась такой же, как и при первом длительном применении гормона. Однако во время повторных введений мышечная ткань проявляла большую чувствительность к нероболу и уже через 2 недели (56 день тренировки) содержание РНК достигало $1059 \pm 28,5$ мкг/г ткани по сравнению с $821,6 \pm 24,0$ в контроле ($P < 0,001$), активность ЦО мышц была равна в опыте $1063,5 \pm 28,7$, в контроле - $811,4$ мкг индоф. сини/г ткани/мин ($P < 0,001$), активность ААТ - $22,3 \pm 1,28$ и $19,8 \pm 0,31$ мкм ПВК/г ткани/мин соответственно. Можно думать, что в течение первого периода введений неробола в мышцах могла сформироваться система рецепторов, обеспечивающая транспорт гормона в клетку. Прекращение введений гормона как и после первого применения его сопровождалось угасанием интенсивности окислительных процессов, переаминирования аминокислот, уменьшением содержания РНК в мышцах.

Опыты о применении неробола у тренированных животных, получавших рационы с 20,27 и 40% белка, показали независимость анаболического эффекта в скелетных мышцах от повышенного поступления аминокислот с пищей (табл.3 и I).

Таблица 3

Анаболическое действие неробола (0,3 мг/кг) на скелетные мышцы крысы при 21-дневной тренировке на фоне повышенного содержания белка в пище ($M \pm m$).

Условия опыта		Исходный вес (г)	Прибавка веса тела (% к исходному)	Вес икроножной мышцы (в % к весу тела)	РНК (мкг/г ткани)	ААТ (мкм ПВК/г ткани/мин)
27% белка	Тренировка	190,7±1,6 (6)	30,7±1,7 (6)	0,631±0,014 (6)	814,9±22,7 (6)	16,0±0,9 (6)
	Тренировка + неробол	191,2±1,9 (8)	38,3±1,1 (6) P < 0,01	0,654±0,019 (6)	914,4±31,2 (6) P < 0,05	19,1±0,6 (6) P < 0,02
40% белка	Тренировка	192,8±4,5 (5)	26,4±1,0 (5)	0,629±0,013 (5)	780,0±18,4 (5)	20,1±0,3 (5)
	Тренировка + неробол	192,8±4,3 (5)	33,7±1,9 (5) P < 0,01	0,675±0,009 (5)	911,0±25,6 (5) P < 0,02	20,9±0,3 (5)

() - число опытов

Об этом свидетельствуют одинаковые различия между контрольными и опытными животными по прибавке веса тела, увеличению веса икроножной мышцы и содержанию РНК в мышцах животных при 27% и 40% содержания белка (табл.3) в сравнении с 20% белковой диетой (табл.1). Содержание белка в мышцах тренированных животных, получавших рацион с 20% белка равно в контроле

214±9,6, в опыте - 239-5,1 мг/г ($P < 0,05$) и практически совпадало с соответствующими величинами 206±6,9 и 235±8,8 мг/г ткани ($P < 0,05$) при 40% белковой диете. Одинаковые различия по сухому остатку мышц были как при 20% (24,6 ±0,26% в контроле 26,0±0,23% в опыте, $P < 0,01$), так и при 27% белковой диете (24,7 ±0,28% в контроле и 25,8±0,18% в опыте, $P < 0,01$). Таким образом, отсутствие дополнительного усиления анаболического действия неробола при увеличении белка в пище, показало, что содержание аминокислот, поступающих в организм при полноценном сбалансированном белковом питании (диета с 20% белка) не является лимитирующим фактором для проявления анаболического действия неробола.

При исследовании влияния неробола на внутренние органы тренированных животных было обнаружено анаболическое действие гормона на печень. Относительный вес этого органа при введении неробола увеличивался при 20% белковой диете с 3,58±0,08% до 4,02±0,06% ($P < 0,001$), при 40% содержании белка в пище - с 3,53±0,06% до 3,96±0,13% ($P < 0,05$). На вес почек и надпочечников при обеих диетах неробол не оказывал влияния.

Андрогенное действие неробола в организме тренированных животных

Наряду с проявлением анаболического действия неробола в дозе 0,3 мг/кг при длительном и повторном введении гормона было установлено влияние его на функцию половых желез (табл.4). Картина проявления андрогенного действия была одинаковой в обоих случаях и заключалась в угнетении функции гонад и замедлении темпов роста желез аксессуарного полового аппарата. О понижении функциональной активности семенников свидетельствовало замедление роста гонадзависимых желез -семенных пузырьков и вентральной простаты,

уменьшение количества секрета в СП по сравнению с контрольными тренированными и нетренированными животными. Кроме того, на 21 день введения гормона в СП на 21% уменьшалось содержание лимонной кислоты, которое по данным литературы тесно коррелирует с продукцией тестостерона гонадами и является одним из показателей, отражающих их функциональную активность (Mann, Parsons, 1950; Вартапетов и др., 1970; Gerwal et al., 1971). Снижение уровня цитрата отмечалось и в вентральной простате, но было менее выражено. О замедлении роста СП без изменения их секреторной способности свидетельствует тот факт, что количество секрета, приходящегося на 1 мг ткани не изменялось на 21 день введения гормона и составляло 0,52 мг по сравнению с 0,54 мг у тренированных без неробола и 0,51 мг у нетренированных крыс. При повторном введении неробола (63 день тренировки), несмотря на достоверное снижение веса СП и содержания секрета в них (табл.4), секреторная способность их не изменялась и количество секрета на 1 мг ткани было равно в опытной группе - 0,51 мг, у тренированных без неробола - 0,53 мг, у нетренированных - 0,51 мг. Замедление темпов роста семенников при введении гормона отмечалось лишь у достаточно интенсивно растущих крыс весом до 250-270 г. (21 день тренировки), тогда как у животных, вес которых достигал 300 г и более (63 день тренировки) вес семенников не изменялся.

После отмены гормона как при первом, так и повторном применении неробола вес половых желез возрастал и через 3 недели различий между опытной и контрольными группами животных по весу семенников, семенных пузырьков, содержанию секрета в СП, весу вентральной простаты, содержанию цитрата в аксессуарных половых железах не обнаруживалось.

Таким же закономерность проявления андрогенного действия

Таблица 4
Влияние неробота на вес половых желез тренированных животных во время первого и повторного введения (M ± m)

Группы животных	21 день				63 день			
	Гонады	Семенные пузырьки		Вентральная простата	Гонады	Семенные пузырьки		Вентральная простата
		Вес желез	Вес секрета			Вес желез	Вес секрета	
Нетренированные	1372 ± 28,7 (5)	432,8 ± 40,9 (9)	235,8 ± 18,5 (8)	125 ± 11,5 (4)	1421 ± 83,6 (5)	517 ± 32,2 (5)	323 ± 26,6 (5)	130,4 ± 3,0 (5)
Тренированные	1311 ± 38 (6)	392,0 ± 61,0 (6)	197,0 ± 27,0 (6)	122 ± 8,8 (6)	1420 ± 34,4 (5)	338 ± 18,6 (5)	318 ± 42,8 (5)	135,0 ± 3,0 (5)
То же + неробот 0,3 м/кг	1255 ± 28 (5) P < 0,02	359,0 ± 37,0 (6)	187,0 ± 32 (6)	102 ± 10 (6)	1434 ± 75,5 (5)	453 ± 16,3 (5) P < 0,01	234 ± 10,6 (5) P < 0,05	106,9 ± 7,9 (5) P < 0,02

() - число опытов P - к тренированным без неробота

неробола наблюдалась и при содержании тренированных животных на 27% и 40% белковом питании, однако вес гонад при 21-дневном введении гормона не изменялся, а темпы роста СП и вентральной простаты замедлялись незначительно.

Результаты наших исследований полностью согласуются с данными об андрогенном действии неробола у взрослых животных в состоянии покоя /Юдаев, Покровский, 1966/ и при тренировке / Brown, Pilch, 1972/ Они указывают на возможность регуляции нероболом состояния половых желез через систему гипоталамус-гипофиз и экскрецию гонадотропных гормонов аденогипофизом /Левина, 1968; Smollich, 1969; Бабичев, Волина, 1970; Milanov, 1970; Amatayakul et al., 1971; Sar, Stumpf, 1973; Steinberger et al. 1973/. Согласно данным литературы, введение тестостерона и его производных взрослым животным обычно сопровождается угнетением гонадотропной функции гипофиза, приводит к дедифференцировке клеток Лейдига в семенниках и нарушает их функцию /Mijake, 1961; Бегнашвили, 1969; Liwanowski, Miskowiak, 1970; Singh, Mathur, 1970; Sar, Stumpf, 1973/. Очевидно, и при длительном введении неробола также происходит угнетение гонадотропной функции гипофиза, поскольку во всех опытах продолжение тренировки животных после отмены гормона сопровождалось нормализацией веса половых желез.

Влияние неробола на протеинсинтез скелетных мышц
после однократной силовой нагрузки

Изменения обмена веществ, происходящие в мышцах животных, после выполнения однократной физической нагрузки показывают возможные пути реализации анаболического действия неробола при длительном использовании его на фоне систематической мышечной деятельности.

Исследование энергетического обмена скелетных мышц крыс в покое, при выполнении однократной силовой нагрузки и через час отдыха после нее показало, что введение гормона животным совпадает с фазой восстановления энергетического потенциала к дорабочему уровню. Содержание гликогена в состоянии покоя равнялось $6,010 \pm 0,086$, после работы понижалось до $3,480 \pm 0,191$ ($P < 0,001$), а через час отдыха достигало исходного уровня - $5,860 \pm 0,235$ мг/г ткани. Содержание креатинфосфата было равно в покое - $2,750 \pm 0,094$, после работы - $2,360 \pm 0,232$ ($P < 0,001$), через час отдыха - $2,710 \pm 0,160$ мг/г ткани, лактата - $0,430 \pm 0,030$; $0,604 \pm 0,030$ ($P < 0,03$) и $0,431 \pm 0,035$ мг/г ткани соответственно.

Активность митохондриального фермента ЦО после выполнения физической нагрузки возрастала на 30% с $564 \pm 17,2$ до $733 \pm 13,9$ мкг индоф.сини/г тк./мин., ($P < 0,02$), а затем постепенно снижалась к 4 часам до исходных величин ($595 \pm 13,7$ мкг индоф.сини/г ткани/мин). Введение неробола повышало активность ЦО мышц через 2 часа отдыха до $756 \pm 27,5$ мкг индоф.сини/г ткани/мин ($P < 0,01$) и в течение 4 часов отдыха она достоверно ($P < 0,05$) превышала уровень ее в мышцах контрольных животных.

Активность цитоплазматического фермента ААТ мышц в покое составляла $16,3 \pm 0,3$ мкм ЦВК/г ткани/мин, не изменялась при выполнении физической нагрузки, резко возрастала через 1 час отдыха до $21,1 \pm 0,3$ мкм ЦВК/г ткани/мин ($P < 0,001$), а затем через 2 часа отдыха понижалась до исходного уровня. При введении неробола повышенная активность ААТ сохранялась в течение 4 часов отдыха ($P < 0,02$).

Таким образом, восстановление энергетического потенциала мышц через час отдыха устраняло острую конкуренцию за энергию АТФ между процессами энергетического и пластического обмена, а

повышение интенсивности процессов окисления и переаминирования при введении неробол создавала благоприятные условия для усиления биосинтеза мышечных белков.

Содержание РНК в мышцах животных, выполнявших однократную физическую нагрузку, повышалось в периоде отдыха. Наибольшие различия по сравнению с уровнем покоя отмечались через 5 часов отдыха и составляли в контрольных животных + 18% ($P < 0,001$), у получавших неробол - + 27% ($P < 0,001$). Об усилении синтеза РНК при введении гормона свидетельствовало повышение поступления в мышцу оротовой- C^{14} кислоты, которую вводили животным по 50 мкюри на 100г веса за 30 минут до забоя, и более интенсивное включение ее в РНК мышц. Усиление транспорта оротовой- C^{14} кислоты и синтеза РНК у животных опытной группы происходило через 3 часа отдыха, тогда как у контрольных крыс эти процессы не достигали такой интенсивности и через 5 часов. К 5 часам отдыха радиоактивность ткани в опытной группе была на 17%, а интенсивность синтеза РНК на 20% выше, чем в контроле. Поскольку 30-минутная экспозиция предшественника в основном отражает включение его в ядерную РНК клетки / Schutz et al., 1968; Billing et al. 1969; Rovera et al. 1970/, то стимуляция синтеза РНК под влиянием неробол свидетельствует о возможной его регуляции на уровне транскрипции.

При длительной 5 часовой экспозиции оротовой- C^{14} кислоты (107 мкюри на 100 г веса), позволяющей оценить включение радиоактивности в цитоплазматическую РНК клетки / Scherrer, Darnell, 1962; Vlobel et al. 1968; Hamilton et al., 1968; Lowtrup et al., 1970/. радиоактивность тотальной РНК мышц через 5 часов отдыха у контрольных животных составляла 870 ± 21 , а в опытной группе - 2040 ± 32 имп/миш/мг РНК ($P < 0,01$). Значительное повышение

радиоактивности тотальной РНК мышц при введении неробола сопровождалось увеличением радиоактивности всех фракций РНК, полученных о помощью дифференциального центрифугирования в градиенте сахаразы 5-20% (6 часов; 24000 об/мин; SW- 25, ротор I). Однако преобладающее включение метки происходило в фракции тяжелых РНК мышц. Полученные данные позволяют предполагать усиление нероболом синтеза рибосомальных РНК. Результаты наших исследований подтверждаются данными Уайта (White, 1966) об усилении синтеза рибосом в скелетных мышцах крыс при введении неробола.

Введение животным лейцина- C^{14} (14,5 мкюри на 100 г веса за 30 минут до забоя) позволило исследовать влияние физической нагрузки и неробола на интенсивность синтеза мышечных белков. Однократная мышечная деятельность силового характера сопровождалась угнетением транспорта лейцина- C^{14} в мышцу на 15% ($P < 0,05$) и снижением интенсивности его включения в саркоплазматические белки на 26% ($P < 0,05$). Интенсивность синтеза миофибриллярных белков практически не изменялась. В периоде отдыха происходила постепенная нормализация этих процессов: транспорт аминокислот в мышцу контрольных животных достигал исходного уровня к 4 часам, а к 7 часам отдыха превышал его на 28%. Изменения интенсивности синтеза саркоплазматических белков носили фазовый характер: радиоактивность белков через 1 час отдыха возрастала до исходного уровня, в интервале 2-5 часов понижалась на 30-33% ($P < 0,05$) и через 7 часов отдыха достигала уровня покоя. Синтез миофибриллярных белков повторял тот же фазовый процесс лишь с тем различием, что величины удельной радиоактивности были ниже и через 7 часов отдыха не происходило восстановления к дорабочему уровню.

Применение неробола уже через 2 часа отдыха, нормализовало транспорт аминокислот в мышцу и на 13-15% превышало интенсивность

синтеза саркоплазматических белков. Об усилении нероболом интенсивности синтеза саркоплазматических белков мышц свидетельствует не только повышение интенсивности включения лейцина- C^{14} в белки, но также и более высокая относительная удельная радиоактивность. Если через 2 часа отдыха она была такой же, как у контрольных крыс (0,54 и 0,52), то через 3 часа на 8% (0,52 против 0,48), а в интервале 4 - 7 часов отдыха на 27% превышала уровень контроля (0,51-0,53 против 0,40-0,44).

Таким образом исследование обмена веществ в скелетных мышцах контрольных крыс после выполнения однократной физической нагрузки показало сопряженность изменений интенсивности различных метаболических путей, обеспечивающих нормализацию протеиносинтеза в периоде отдыха. Результаты наших исследований по изменению интенсивности обмена РНК, аминокислот и синтеза саркоплазматических белков после кратковременной физической нагрузки согласуются с данными других авторов /Попова, 1961; Краснова, 1959; 1972; Рогозки, Яковлев, 1960; Чаговец, 1962; Орещенко, Яковлев, 1969; Литвинова, Рогозки, 1970; Плискин, 1972/. Более выраженные изменения синтеза саркоплазматических белков по сравнению с миофибриллами, очевидно, обусловлены более высокой скоростью их метаболизма и подтверждается данными литературы /Velick, 1956; Dreufus et al., 1960; Schapira et al. 1964; Пхакадзе, 1967; Millward, 1970/. При введении неробола интенсивность развития анаболической фазы обмена веществ в периоде отдыха ускоряется.

Результаты исследований анаболического действия неробола на животных, выполнявших интенсивную мышечную деятельность силового характера, продемонстрировали усиление анаболических процессов в организме и стимуляцию основных метаболических путей, обеспечивающих усиление синтеза мышечных белков при введении гормона. Как

при систематической мышечной деятельности, так и при выполнении однократных физических нагрузок по обмену РНК, белков, аминокислот, повышению активности ферментов установлена однонаправленность изменений обмена веществ, происходящих в мышечной ткани при введении неробола.

Результаты экспериментов показали, что функциональная активность скелетных мышц, определяющая интенсивность развития анаболических процессов в периоде отдыха после выполнения физической нагрузки, имеет существенное значение для проявления анаболического эффекта неробола, а доза гормона должна превышать определенную пороговую величину. Это согласуется с данными других авторов о том, что дозы неробола 5-20 мг/кг, эффективные при менее интенсивном обмене веществ у животных /Абдуллаев, 1965; Длаев, Покровский, 1966; Boris et al., 1970; Мороз, 1971/ понижаются до 1-2 мг/кг при усилении метаболизма в скелетных мышцах /Софромова, 1970; Boris et al. 1970/. При систематической мышечной деятельности животных дают эффект дозы неробола 0,5-1,65 мг/кг /Brown, Pilch, 1971; Wydra, 1971/, а при силовой тренировке атлетов положительный анаболический эффект обнаружен при дозах неробола 0,15-0,20 мг/кг /Steinbach, 1968; Johnson, O'Shea, 1969; Ward, 1970; Калам, Маароос, Виру, Унгер, 1971; Casper et al. 1971; Johnson, Fisher, 1972/.

Таким образом, результаты наших исследований позволяют заключить, что усиление метаболизма скелетных мышц при систематической мышечной деятельности повышает чувствительность мышечной ткани к нероболу, а пороговые величины эффективных доз гормона оказываются намного ниже, чем при обычном двигательном режиме.

Можно полагать, что выполнение кратковременных физических нагрузок, увеличивая площадь капиллярного русла мышц и повышая

сосудисто-тканевую проницаемость (Щевелев, 1969), способствует более интенсивному транспорту неробола в мышцу. Очевидно, именно на уровне транспорта гормона в мышечную клетку определяются основные различия в выраженности анаболического эффекта неробола в дозе 0,3 мг/кг при систематической мышечной деятельности и в состоянии покоя.

Весьма важным моментом при этом является высокая метаболическая устойчивость неробола к действию 5 α - и 5 β -редуктаз печени, благодаря чему, он в 3 раза медленнее метаболизируется в печени и почках, чем естественные андрогены (Покровский, 1968; Корцова, Сагаль, 1971), и поэтому может оказывать более продолжительное воздействие на скелетные мышцы.

Отмеченное в наших экспериментах повышение радиоактивности мышечной ткани при введении лейцина- C^{14} и оротовой- C^{14} кислоты животным, получавшим после физической нагрузки неробол, свидетельствует о влиянии гормона на механизмы регуляции тканевой проницаемости скелетных мышц.

Приведенные экспериментальные данные создают представление о существовании целого комплекса факторов, определяющих развитие анаболического действия неробола в скелетных мышцах при интенсивной мышечной деятельности.

При рассмотрении вопроса о механизме действия неробола обращает на себя внимание повышение активности ферментов ААТ и ЦО мышц и большая чувствительность саркоплазматических белков к действию гормона. Согласно современным представлениям, основным непосредственным регулятором обмена веществ является активность ферментов, определяющих скорость отдельных метаболических реакций, а гормоны, в конечном итоге, служат медиаторами между центральной нервной системой и тканевыми белковыми системами, в том числе и ферментативными.

Об усилении синтеза ферментных белков в мышцах крыс при введении наробола (0,3 мг/кг) на фоне силовой тренировки свидетельствует одновременное увеличение активности ААТ мышц и повышение содержания в них цитоплазматического изофермента ААТ (Чайковский, Пшенин, Базульно, 1972). Весьма вероятной представляется возможность повышения под влиянием наробола интенсивности синтеза и других белков-ферментов. В пользу такого предположения свидетельствуют результаты наших исследований о сопряженности усиленного нароболом синтеза саркоплазматических белков с протеканием окислительных процессов, реакций переаминирования, синтеза РНК в мышцах животных, выполнявших физическую нагрузку. Разнообразие метаболических путей, на которые оказывает влияние наробол, предполагает участие различных ферментных систем. Поэтому повышение активности ферментов в мышечной ткани представляется одним из наиболее вероятных путей реализации анаболического действия наробола на обмен веществ в скелетных мышцах.

Результаты исследования обмена РНК в мышцах крыс, получавших наробол, полностью оговариваются и дополняют данные об усилении синтеза мышечных белков. Интенсивность включения оротовой- C^{14} кислоты в РНК мышц свидетельствует о стимуляции нароболом синтеза РНК в ядре клетки и существовании регуляции процесса протеиносинтеза на уровне транскрипции. Возможность проникновения естественных андрогенных стероидов в ядра клеток различных тканей, взаимодействие их с хроматином, активация фермента РНК-полимеразы и усиление синтеза ядерных РНК в настоящее время подтверждены экспериментально (Liao, 1965; Brenner, Florini, 1966; Тименина, Гольбер, 1968; Bashirelahi, Villee, 1970; Юдаев, Покровский 1970, 1971). На основании этого можно полагать, что, возможно, и наробол при введении в организм животных, выполнявших физическую нагрузку, взаимодействует с генетическим аппаратом ядер

мышечных клеток.

Совокупность полученных экспериментальных данных позволяет считать, что, очевидно, усиление синтеза РНК является пусковым звеном в реализации анаболического действия неробола в скелетных мышцах животных, выполнявших физическую нагрузку силового характера, и в дальнейшем приводит к усилению синтеза мышечных белков, в первую очередь, саркоплазматических белков-ферментов.

Результаты наших исследований показали, что неробол обладает сильным анаболическим действием и применение его значительно повышает эффективность силовой тренировки животных. Однако, влияние неробола на состояние половых желез является отрицательной стороной действия этого препарата в тренированном организме при длительном использовании его даже в небольших дозах. Снижение порога чувствительности мышечной ткани к анаболическому гормону в результате усиления обмена веществ после выполнения интенсивной силовой нагрузки в то же время сопровождается повышением чувствительности к нему систем, участвующих в регуляции половой функции организма.

Эти факты должны служить предостережением против чрезмерного применения неробола и других анаболических стероидов в организме здорового человека, спортсмена, без должного врачебного контроля.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Использование неробола при систематической мышечной деятельности силового характера усиливает анаболические процессы в организме животных и повышает эффективность тренировки. Анаболическое действие неробола проявляется в увеличении веса тела и скелетных мышц, повышении содержания РНК и белка, активности ферментов аспаратаминотрансферазы и цитохромоксидазы скелетных мышц.

2. Анаболическое действие неробола при систематической мышечной

деятельности силового характера зависит от дозы гормона, интенсивности физической нагрузки и сроков применения. Наибольший эффект наблюдается при оптимальном сочетании адекватной физической нагрузки и дозы неробола 0,3 мг/кг. Такая доза гормона не оказывает анаболического действия при обычном двигательном режиме.

3. При тренировке животных физическими нагрузками силового характера анаболический эффект неробола обнаруживается через 10-14 дней после введения гормона. Наибольшие изменения в скелетных мышцах происходят на 21 день. После прекращения введения неробола анаболический эффект сохраняется в течение 7-10 дней.

4. При повторном использовании неробола на фоне систематической мышечной деятельности общий характер проявления анаболического действия не изменяется по сравнению с первым периодом длительного введения. Однако мышечная ткань проявляет большую чувствительность к гормону во время повторного введения. Содержание РНК, активности аспаратаминотрансферазы и цитохромоксидазы скелетных мышц на 14-й день повторного введения неробола достигают более высоких величин, чем на 21 день первого периода-введения.

5. Содержание аминокислот, поступающих в организм с пищей при полноценном, сбалансированном по белку питании (20% белковая диета), не является лимитирующим фактором для проявления анаболического действия неробола. Увеличение содержания белка в пище до 27% и 40% не вызывает дополнительного усиления анаболического эффекта.

6. Применение неробола у животных, выполнявших однократную физическую нагрузку силового характера, повышает в восстановительном периоде активность ферментов аспаратаминотрансферазы и цитохромоксидазы мышц, усиливает транспорт лейцина- C^{14} и оротовой- C^{14} кислоты и ускоряет интенсивность включения их в саркоплазматичес-

ние белки и РНК скелетных мышц. При введении неробола интенсивность синтеза саркоплазматических белков и РНК возрастает раньше и анаболическая фаза продолжается дольше, чем у контрольных животных. Регулирующее влияние неробола на процессы протеиносинтеза осуществляется на уровне транскрипции и сопровождается преобладающим увеличением тяжелых фракций РНК мышц в периоде отдыха после выполнения однократной физической нагрузки.

7. Анδροгенное действие неробола у тренированных животных проявляется в задержке роста семенников, семенных пузырьков и вентральной простаты. При повторном введении гормона задержка роста половых желез отмечается на 14-й день, тогда как при первом курсе неробола эти изменения четко проявляются лишь на 21-й день. Результаты исследований свидетельствуют о возможности антигонадотропного влияния неробола на гипофиз и угнетении функциональной активности семенников.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. Базулько А.С. Об использовании неробола при систематической мышечной деятельности. Сборник по вопросам высшего спортивного мастерства. Л., 126-132, 1972.
2. Базулько А.С. Влияние неробола на протеинсинтез скелетных мышц после однократной силовой нагрузки. Сборник по вопросам высшего спортивного мастерства. Л., 132-136, 1972 .
3. Базулько А.С. Использование неробола для повышения эффективности силовой тренировки животных. XII Всесоюзная научная конференция по физиологии, морфологии, биомеханике и биохимии мышечной деятельности. Львов, 182-183, 1972.
4. Базулько А.С. Миотропное действие неробола и регуляция синтеза белков в скелетных мышцах тренированных животных. 2-я Всесоюзная конференция по биохимии мышечной системы. Л., 19-20, 1972.
5. Базулько А.С., Рогозкин В.А. Влияние неробола на аспаргатаминотрансферазную активность скелетных мышц крыс при условиях экспериментальной тренировки. Укр. биохим. журн., 45.1, 29-31, 1973.
6. Базулько А.С., Рогозкин В.А. Влияние неробола и физической нагрузки силового характера на интенсивность синтеза миофибрилярных и саркоплазматических белков скелетных мышц в восстановительный период. В сб.: Эндокринные механизмы регуляции приспособления организма к мышечной деятельности. IV Уч. Зап. Тартуского гос. ун-ва. Тарту, 311, 43-48, 1973.
7. Чайковский В.С., Пшендин А.И., Базулько А.С. Изучение механизма индукции аспаргатаминотрансферазы в скелетных мышцах при повышенной функциональной деятельности организма. Материалы Всесоюзного симпозиума "Регуляция обмена веществ при мышечной деятельности и выполнении спортивных упражнений". Л., 65-68, 1972

Материалы, вошедшие в диссертацию, были доложены:

1. На Всесоюзном симпозиуме "Регуляция обмена веществ при мышечной деятельности и выполнении спортивных упражнений".

Ленинград, 1-4/XI-1971 г.

2. На XII Всесоюзной научной конференции по физиологии, морфологии, биомеханике и биохимии мышечной деятельности.

Львов, 6-10/X-1972 г.

3. На 2-й Всесоюзной конференции по биохимии мышечной системы.

Ленинград, 31/X - 2/XI - 1972 г.

4. На IV Всесоюзном симпозиуме "Эндокринные механизмы регуляции приспособления организма к мышечной деятельности".

Кяэрику, 15-17/У-1973 г.

5. На Всесоюзном симпозиуме "Биохимические пути повышения эффективности спортивной тренировки".

Ленинград, 2-3/X-1973 г.

Текст диссертации изложен на 144 страницах машинописи, указатель литературы содержит 213 отечественных и 155 иностранных источников.

В текст включены 28 таблиц и 17 рисунков.