

52

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УССР  
ДОНЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ  
им. А. М. ГОРЬКОГО

На правах рукописи

Для служебного пользования  
Экз. № 605186

**СМУЛЬСКИЙ Валерий Леонидович**

**ВЛИЯНИЕ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
НА РАБОТОСПОСОБНОСТЬ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ  
ПРОЦЕССЫ ПРИ НАПРЯЖЕННОЙ  
МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

(03.00.13 — физиология человека и животных)

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Донецк — 1975

Диссертация выполнена на кафедре физиологии /заведующий - профессор А. Р. РАДЗИЕВСКИЙ/ и в проблемной научно-исследовательской лаборатории больших тренировочных нагрузок /заведующий - доцент В. Д. МОНОГАРОВ / Киевского государственного института физической культуры / ректор - доктор пед. наук, профессор В. А. ПАРФЕНОВ/.

Научные руководители :

Доктор медицинских наук, профессор М. Я. ГОРКИН

Доктор медицинских наук, профессор Ф. П. ТРИГУС

Кандидат медицинских наук, В. Н. КОТИЙ

Официальные оппоненты :

Доктор медицинских наук, профессор Ф. Т. АГАРКОВ

Кандидат медицинских наук, И. С. МЕРКУЛОВА

Научное учреждение, давшее отзыв о диссертации -  
Киевский медицинский институт

Автореферат разослан " 5 " ММММ 1975 г.

Защита диссертации состоится " 5 " ММММ 1975 г.  
на заседании Совета по гигиене и теоретическим специальностям  
Лонецкого медицинского института (340098, г. ДОНЕЦК, пр. ИЛЬИЧА, 16)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института

Ученый секретарь Совета доцент Н. В. МАЕВСКАЯ

Проблема повышения работоспособности и ускорения протекания восстановительных процессов после больших физических нагрузок является одной из актуальнейших проблем физиологии мышечной деятельности, труда и спорта.

Определенное место в этой проблеме отводится изысканию средств повышения мышечной работоспособности, и в частности, с помощью применения биологически активных веществ, способных расширять "узкие" места метаболических циклов, протекание которых затруднено при интенсивных физических нагрузках (Н. Н. ЯКОВЛЕВ, 1947, 1965, 1967; Л. В. КОРОБКОВ и Е. Е. БЕЛЕНЬКИЙ, 1969; В. М. ВИНГРАДОВ, 1969; П. М. БУРЬЯН, 1970; Е. Е. БЕЛЕНЬКИЙ, 1972; Р. Д. ДИБНЕР и В. Ф. ЛУТКОВ, 1972).

Учитывая значительное количество тиоферментов, участвующих во многих звеньях метаболизма, и роль глутатиона в восстановлении активности ферментов, естественно, в этом плане заслуживает внимание сам глутатион и другие серосодержащие соединения, способные реактивировать наиболее активные в функциональном отношении сульфгидрильные группы (тиоловые, SH-группы) ферментов и белковых структур (Т. Р. SINGER, E. S. G. VARRON, 1944; Б. И. ГОЛЬДШТЕЙН, 1959; Ф. З. МЕРСОН, 1960; СЕНТ-ДЬЕРДЬИ, 1968; Д. М. ТОРЧИНСКИЙ, 1971; Г. П. МИРОНОВ, Г. Д. МИРОНОВА, М. Н. КОНДРАШОВА, 1973), активность которых в значительной степени может снижаться при утомлении (АТФ-аза, различные дегидрогеназы, фосфоруктокиназа и т. д.).

Согласно современным представлениям сульфгидрильные группы, являясь лабильными переносчиками протонов и электронов, принимают участие в биологическом окислении.

Из наблюдений Р. НОРКИНС (1925) следует, что в тканях имеется большой запас (фонд) электронов с высоким биопотенциалом. Эти электроны не принадлежат SH-группам, но их количество находится

в соответствии с общим количеством этих групп, и между SH-группами и электронами существует динамическое равновесие (СЕНТ-ДЬЕРДЫ, 1968).

Широкое участие тиоловых групп в обменных процессах служит метаболической основой для энергообеспечения и катаболических процессов в организме. Высокая реакционная способность белковых и небелковых SH-групп обуславливает их ведущую роль в осуществлении таких важнейших физиологических процессов как мышечное сокращение, нервная деятельность, клеточное деление, регуляция проницаемости мембран, окислительное фосфорилирование и фотосинтез ( Т.Р. SINGER, W.S.G. BARRON, 1944; X.C. КОШТОЯНН, 1951; Б.И. ГОЛЬДШТЕЙН, 1955; А. ЛЕНИНДЖЕР, 1966; S. OBERIN, G. OBERIN, 1968; ШИПАКИН, 1972 и т.д.).

При тяжелом утомлении, вызванном напряженной мышечной деятельностью, наблюдается значительное нарушение энергопродукции, и прежде всего, нарушение окислительного ресинтеза АТФ, что приводит к снижению работоспособности (Н.Н. ЯКОВЛЕВ, 1969). Наряду с этим установлено что SH-группы играют важную роль в митохондриальном окислении (А. ЛЕНИНДЖЕР, 1966; Г. П. МИРОНОВ, Г. Д. МИРОНОВА, М. Н. КОНДРАШОВА, 1973), и с помощью тиоловых соединений можно существенно стимулировать процессы окислительного фосфорилирования при различных патологических состояниях (Ф. З. МЕРСОН, 1960; С. Е. СЕВЕРИН, 1965).

#### З А Д А Ч И И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Принимая во внимание большое значение сульфгидрильных групп как переносчиков электронов в метаболических цепях, осуществляющих синтез и расход энергетических запасов клетки, а также учитывая роль SH-групп в поддержании активности целого ряда белков и фер-

ментов, обуславливающих мышечную деятельность, мы поставили в настоящей работе задачу изучить влияние некоторых тиоловых соединений на мышечную работоспособность и функциональное состояние энергетических процессов, которые ее обуславливают. Вместе с тем, учитывая органические особенности метаболизма при физических нагрузках, представлялось целесообразным исследовать эти воздействия на различные органы и ткани, и в частности, на скелетные мышцы, миокард и печень.

Для решения поставленной задачи были проведены следующие исследования: 1. Изучение зависимости между содержанием SH-групп в тканях и степенью мышечного утомления в опытах *in vitro*, *in situ* и *in vivo*.

2. Установление влияния тиоловых соединений (моно- и дитиолов) на работоспособность изолированных органов (мышцы и сердце лягушки), процессы утомления и восстановления мышечной работоспособности при физической нагрузке в опытах *in vivo*.

3. Определение влияния тиоловых соединений на процессы окислительного фосфорилирования а также на содержание аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), креатинфосфата (КФ) и неорганического фосфата (НФ) в органах крыс при различных по продолжительности физических нагрузках и кратковременном отдыхе после мышечной деятельности.

4. Изучение действия тиоловых соединений на некоторые стороны углеводного обмена (общее содержание гликогена и глюкозы) в мышцах, печени и сердце крыс при различных по продолжительности физических нагрузках и кратковременном отдыхе после интенсивной мышечной деятельности.

5. Выявление действия тиолов на функциональное состояние симпато-адреналовой системы (содержание катехоламинов (КА) в различных органах) при физической нагрузке.

Влияние тиоловых соединений на мышечную работоспособность исследовалось при применении следующих препаратов: монотиола-цистеина дитиолов-унитиола (2,3-димеркаптопропансульфоната натрия) и мезо-димеркаптоянтарной кислоты (ДМЯК):

В опытах *in vivo* препараты вводились подкожно в эквимолярных условно терапевтических дозах, находящихся в диапазоне 5-10% Д<sub>50</sub> (цистеин- 42 мг/кг, Унитиол- 79 мг/кг, ДМЯК - 70 мг/кг).

Модель физической нагрузки при проведении исследований на изолированной икроножной мышце лягушки (опыты *in vitro*) и на икроножной мышце крысы (опыты *in situ*) служило прямое раздражение мышц индукционным током с частотой 30 импульсов в минуту.

Работоспособность сердечной мышцы в опытах *in vitro* изучалась на изолированном сердце лягушки с циркулирующим раствором РИНГЕРА в замкнутой системе (круговой препарат изолированного сердца лягушки).

В качестве модели физической нагрузки и утомления в опытах *in vivo* служила общепринятая методика плавательной нагрузки крыс с подвешенным грузом (7-10% от веса животного) при температуре воды 28-30°C.

Показателем работоспособности крыс являлось время, в течение которого животное способно продержаться на воде.

Для проведения исследований по изучению количественного содержания общих, белковых и небелковых водорастворимых сульфгидрильных групп в скелетных мышцах, миокарде и печени интактных животных, животных, подвергавшихся воздействию 15-минутной и 2-5 часовой плавательной нагрузкой, использовали метод амперометрического титрования (I. КОЛТВОРР и W. HARRIS, 1946). Белок в пробах определяли по методу КЪЕЛЬДА-ЛЯ с реактивом ВИНКЛЕРА.

Для оценки уровня энергетического обмена в мышцах, печени и миокарде крыс в условиях напряженной мышечной деятельности под воздействием

тиолового препарата исследовались процессы окислительного фосфорилирования, определялось содержание в тканях АТФ, КФ, НФ и общее содержание гликогена и глюкозы как у интактных животных, так и у животных, плававших 15 минут, 5 часов и отдыхавших 5 часов после 5-часовой плавательной нагрузки без применения и с применением ДМЯК.

Содержание НФ, КФ и АТФ в тканях находили по методу Д. Л. ФЕРДМАНА и Е. Ф. СОПИНА (1965), а общее содержание гликогена и глюкозы по методу А. КЕМР и сотр. (1954).

Процессы окислительного фосфорилирования (интенсивность дыхания -  $\Delta O$ , интенсивность фосфорилирования -  $\Delta$  АДФ, коэффициент АДФ/О) определяли полярографическим методом в условиях *in vitro* (субстратом окисления являлась янтарная кислота) в митохондриях миокарда, печени и передней группы мышц бедра задней конечности как интактных крыс, так и крыс, плававших 5 часов без применения и с применением ДМЯК.

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования в 0,3 М сахарозы и 0,01 М ЭЛТА (рН=7,4) при температуре 0-2° С. Содержание митохондриального белка определяли по методу ЛЮУРИ.

Содержание КА в надпочечниках, мышцах, печени и миокарде крыс находили по методу Ф. П. ТРИНУСА (1965).

Испытуемыми были интактные крысы, крысы, плававшие 5 часов, и крысы, отдыхавшие 5 часов после 5-часовой плавательной нагрузки с применением (в двух последних группах) и без применения ДМЯК.

Цифровые данные результатов исследований обрабатывали методами вариационной статистики (М. Л. БЕЛЕНЬКИЙ, 1959; Н. БЕЙЛИ, 1964).

$I_{50}$  определяли по методу наименьших квадратов (В. В. ПРОЗОРОВ - СКИЙ, 1962).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Согласно полученным данным, мышечное утомление как в опытах *in vitro* на мышцах лягушки, так и в опытах *in situ* на мышцах крыс сопровождалось значительным снижением содержания SH-групп.

Причем, характер снижения содержания тиоловых групп во всех случаях был одинаков: снижение концентрации общих SH-групп происходило, в основном, за счет снижения концентрации SH-групп небелковых тиолов, в то время как в содержании белковых SH-групп значительных изменений не наблюдалось.

Проведенными исследованиями *in vitro* удалось установить прямую корреляционную зависимость работоспособности скелетной мышцы от содержания в ней SH-групп. При этом снижение работоспособности мышцы на 50% сопровождается уменьшением концентрации небелковых SH-групп с 1,72 мкм/0,1 г белка до 0,92 мкм/0,1 г белка, что составляет 46,5% исходного количества тиоловых групп.

Наличие тесной корреляционной связи ( $r = 0,88$ ;  $P < 0,02$ ) между степенью снижения амплитуды мышечных сокращений при утомлении мышцы в опытах *in vitro* и снижения в ней содержания небелковых SH-групп свидетельствует об определенном участии небелковых тиолов в процессах мышечного сокращения и развития утомления. Эти данные могут также свидетельствовать об окислении небелковых тиолов, возможно глутатиона, в процессе мышечного утомления, так как в свое время еще В.А. ПАЛЛАДИНЫМ (1935) было показано, что мышечное утомление сопровождается накоплением в мышцах окисленной формы глутатиона, а В.Т. КОСОВЕР (1970) установил факт непосредственного участия восстановленной формы этого тиола в акте мышечного сокращения.

Наличие тесной корреляционной связи между степенью утомления мышцы и содержанием в ней небелковых SH-групп побудило нас исследовать



довать влияние низкомолекулярных тиоловых соединений на мышечную работоспособность. Проведенными опытами *in vitro* удалось установить, что перфузия утомленной мышцы лягушки изотоническим раствором содержащим цистеин, унитиол или ДМЯК (концентрация  $10^{-6}$  М/мл) способствовала увеличению мышечной работоспособности и снятию явлений утомления.

Полученные данные свидетельствуют о том, что низкомолекулярные моно- и дитиолы, также как и глутатион, могут выполнять защитную роль по отношению к тиоловым белкам и ферментам и восстанавливать их активность при мышечном утомлении.

Однако, принимая во внимание органичные особенности метаболизма, мы полагали, что для более полного выяснения роли тиолов в мышечной деятельности целесообразно провести исследование по определению содержания SH-групп в различных тканях, и прежде всего в мышцах, печени и миокарде животных при различных по характеру физических нагрузках.

Как свидетельствуют результаты наших наблюдений, 15-минутная плавательная нагрузка, характеризующаяся согласно данным Р.И. ЛЕНКОВОЙ (1970) усилением анаэробных процессов, обуславливает значительное снижение общего содержания SH-групп скелетных мышц, печени и миокарда крыс. Причем, это снижение происходило в значительной степени за счет SH-групп небелковых тиолов.

При работе умеренной интенсивности, характеризующейся усилением аэробных процессов, в опытах *in vivo* на крысах (2-5 часовая плавательная нагрузка) отмечалось дальнейшее увеличение по сравнению с 15-минутным плаванием общего содержания сульфгидрильных групп в мышечной ткани, в то время как в печени изменений концентрации SH-групп не наблюдалось.

Увеличение общего содержания  $\text{SH}$ -групп в мышцах происходило как за счет некоторого увеличения количества небелковых, так и за счет возрастания содержания белковых  $\text{SH}$ -групп.

Поскольку в начальной фазе интенсивной мышечной деятельности в мышечной ткани происходит накопление  $\text{NADH}_2$  (Г. П. ФЕДОРОВА, 1964), и следовательно,  $\text{NADPH}_2$ , то принимая во внимание установленную R. PINO и W. BARTLEY (1969) следующую зависимость:



можно полагать, что увеличение в мышечной ткани концентрации восстановленного НАД может явиться причиной увеличения содержания  $\text{SH}$ -групп небелковых тиолов.

Увеличение количества белковых тиоловых групп в мышцах может происходить, с одной стороны, в результате реакции тиол-ди-сульфидного обмена между белковыми и небелковыми тиолами и, с другой стороны, в результате перехода вялореагирующих  $\text{SH}$ -групп в свободно реактивные, т.е. за счет изменения конформации белковых молекул. Не исключено, что такой переход происходит под воздействием накапливаемой в крови и тканях мочевины (Б. Н. МАНУХИН, 1956), концентрация которой может значительно возрастать при физических нагрузках.

Особо следует отметить обнаруженный нами тот факт, что длительная плавательная нагрузка обуславливает снижение в миокарде

общего количества SH-групп на фоне довольно низкого содержания небелковых SH-групп и резкого снижения работоспособности.

Таким образом, получены новые данные об особенностях динамических процессов, происходящих между белковыми и небелковыми SH-группами в органах животных при различных по характеру физических нагрузках. Причем, как оказалось, наиболее существенное снижение содержания SH-групп при утомлении, вызванном длительной физической работой, происходит в миокарде.

В связи с этим уместно подчеркнуть, что мощность и длительность мышечной деятельности в значительной степени определяется функциональным состоянием сердечно-сосудистой системы, на которую приходится основная часть физиологической нагрузки (В. В. ВАСИЛЬЕВА, 1971). По этой причине функциональное состояние миокарда может явиться звеном, лимитирующим мышечную работоспособность по причине нарушения кровообращения.

Проведенные нами исследования на изолированном сердце лягушки подтверждают предположение о важной роли тиолов в сердечной деятельности, поскольку, как оказалось, цистеин, унитиол и ДМЯК в концентрации  $10^{-8}$  -  $10^{-5}$  М/мл способны быстро устранять нарушение ритма, частоты и силы сердечных сокращений, возникающих в результате продолжительной его работы.

Изучение действия тиоловых соединений в опытах *in vivo* также свидетельствует о их благоприятном влиянии на мышечную работоспособность и восстановительные процессы при утомлении.

Так, согласно полученным экспериментальным данным, однократное профилактическое введение животным перед физической нагрузкой цистеина, унитиола и ДМЯК повышает работоспособность, способствуя увеличению продолжительности плавания крыс соответственно на 62,5, 142,6 и 185,7%. Следует отметить, что эффективность тиоловых соедине-

ний, за исключением цистеина, была выше, чем при применении гала-скорбина (одного из средств, применяемых в настоящее время для повышения работоспособности) в рекомендуемой дозе.

Таким образом, было установлено, что по степени воздействия на работоспособность исследованные тиоловые соединения располагаются в следующем порядке: ДМЯК, унитиол, цистеин.

Определение восстановления работоспособности животных после 5-часового отдыха показало, что продолжительность плавания крыс по сравнению с контрольной группой увеличилась под влиянием ДМЯК на 200%, цистеина на 96,1%, и унитиола на 44,2%.

Обращает на себя внимание тот факт, что цистеин и унитиол в опытах по изучению их влияния на работоспособность и восстановление работоспособности проявляли разный эффект, что, вероятно, связано с особенностями того или иного тиола проникать через клеточные мембраны и претерпевать изменения в процессе метаболизма.

Учитывая тот факт, что все исследованные тиоловые соединения вводились в эквимолярных дозах, можно считать, что наиболее выраженное действие на работоспособность животных оказывает ДМЯК.

Благоприятный эффект ДМЯК, нужно полагать, обусловлен удачно сочетавшимися свойствами в этом соединении тиола и янтарной кислоты. Согласно данным М. Н. КОНДРАШОВОЙ и соавт. (1972, 1973), янтарная кислота является ключевым субстратом энергообеспечения и биосинтеза цикла КРЕБСА. Энергетические преимущества янтарной кислоты имеют ряд важных биологических значений, одним из которых является усиление образования и использования ее в митохондриях в процессе адаптации к гипоксии (в том числе и к гипоксии, вызванной мышечной деятельностью). Это обстоятельство заслуживает особое внимание в связи с тем, что при гипоксии обнаружено существование стадии, когда пиридиннуклеотиды ткани полностью восстановлены, а флаво-

протеиды еще окислены, что указывает на большие возможности для окисления янтарной кислоты, поскольку сукцинатдегидрогеназа является типичным флавопротеидом. По мнению М. Н. КОНДРАШОВОЙ (1972) приведенные факты теоретически обосновывают возможность использования янтарной кислоты и ее ближайших производных в качестве возможных регуляторов окислительных процессов при гипоксических состояниях.

Однако, как свидетельствуют результаты наших исследований, применение самого сукцината в эквимолярной с ДМЯК дозе заметных изменений в работоспособности и восстановлении работоспособности по сравнению с контрольной группой животных не вызывало. Вероятно, это объясняется тем, что предел скорости метаболических превращений, обуславливающих мышечную деятельность, зависит прежде всего от энзиматической активности, нежели от увеличения концентрации субстрата (С. СОРТ, 1956; С. А. НЕЙФАХ, 1960, 1964).

Анализ литературных данных а также собственные наблюдения позволяют считать, что положительное влияние тиоловых соединений на мышечную работоспособность обусловлено их действием на метаболизм и кроме того – обеспечением адаптационных процессов благодаря улучшению нервно-мышечной передачи импульсов и стабилизации медиаторов.

Доказательство участия SH-групп в нервно-мышечной передаче импульсов берет начало с классических исследований Л. А. ОРБЕЛИ (1934), показавшего, что раздражение симпатического нерва стимулирует мышечную деятельность, а также исследований Б. Н. МАНУХИНА (1956) и Ф. П. ТРИНУСА (1965) о роли SH-групп во взаимодействии медиаторов симпатической нервной системы с адренорецепторами, играющими важную роль в приспособительных реакциях сердечно-сосудистой системы при различных состояниях организма, и в частности,

при физических нагрузках (М. И. КАЛИНСКИЙ, 1970).

Особую роль в реакциях адаптации организма к физическим нагрузкам играет симпато-адреналовая система, функциональное состояние которой связано со сложными процессами биосинтеза, депонирования, освобождения, обратного захвата и взаимодействия катехоламинов с рецепторами органов и тканей.

Интерес к изучению КА при мышечной деятельности связан с тем, что последние, активируя фермент аденилциклазу, приводят к образованию из АТФ вторичного универсального посредника — циклической 3,5-АМФ, которая переводит фосфоорилазу в активное состояние в результате чего активизируется гликогенолиз (Е. SUTHERLAND, T. RALL, 1968; Е. SUTHERLAND, 1972).

Тиоловые соединения обладают способностью стабилизировать концентрацию КА в тканях и даже способствовать их накоплению (Ф. П. ТРИНУС, 1965; В. Н. КОТИЙ, В. С. ДАНИЛЕНКО, 1972). В связи с этим для выяснения некоторых сторон механизма действия тиоловых соединений на работоспособность представлялось целесообразным исследовать их влияние на содержание КА в органах крыс при мышечной деятельности.

Для решения поставленной задачи нами было проведено определение содержания КА в надпочечниках, мышцах, печени и миокарде интактных крыс, крыс, плававших 5 часов, а также крыс, отдохавших 5 часов после 5-часовой плавательной нагрузки без применения и с применением (в двух последних случаях) ДМЯК, как самого эффективного из всех исследованных тиоловых соединений по их влиянию на работоспособность.

Согласно полученным экспериментальным данным, применение ДМЯК перед 5-часовой плавательной нагрузкой способствовало повы-

шению содержания КА в мышцах и печени по сравнению с контрольной и интактной группой животных. Повышение содержания КА может быть обусловлено их стабилизацией. Не исключено участие в этом процессе изменения обратного захвата или затруднения освобождения КА из тканевых депо.

Очень интересно, что отмеченное увеличение содержания КА в печени и мышцах под действием дитиола не только не снижает содержания гликогена в органах, а напротив, приводит, как мы увидим ниже, к его накоплению, что может быть обусловлено увеличением содержания КА в связанной (неактивной) форме.

Применение ДМЯК перед 5-часовым отдыхом после длительной плавательной нагрузки не вызвало достоверных изменений содержания КА в исследуемых тканях по сравнению с животными контрольной группы. Нам представляется важным отметить, что это отличает благоприятное действие тиоловых соединений на организм при мышечной деятельности от механизма действия типичных "допинговых" средств.

Характерной особенностью действия "допинговых" средств, в частности психотропных стимуляторов фениламинового ряда, является высвобождение под действием этих препаратов так называемых "мобильных" запасов КА (адреналин, норадреналин, дофамин) в структурах ЦНС и симпатических окончаниях в различных органах, (ABOUL-EMEIL HASSAN, 1971).

Возбуждение адренорецепторов под влиянием эндогенных КА ЦНС и органов проявляется в активации высших отделов мозга, повышении возбудимости двигательных центров и т.п. При этом сигнальная (предупреждающая) роль утомления снижается и значительно увеличивается опасность истощения при чрезмерных физических нагрузках. Несмотря на усиление гликолиза психотропные стимуляторы, тем не менее, вызывают нарушение энергопродукции, что приводит к "выжиганию"

энергетических резервов клетки, обуславливая этим неэкономную работу организма и нанося большой, а иногда непоправимый вред здоровью (Н. Д. ГРАЕВСКАЯ, А. И. ШАЕВ, 1974).

С функциональным состоянием симпато-адреналовой системы, как известно, неразрывно связано и состояние углеводно-фосфорного обмена в тканях. В связи с этим определенный интерес в плане выяснения механизма влияния тиоловых соединений на работоспособность заслуживают полученные нами данные по определению общего содержания гликогена и глюкозы, АТФ, КФ, и НФ в мышцах, печени и миокарде крыс при 15-минутной, 5-часовой физической нагрузки а также после 5-часовой нагрузки плаванием и 4-5-часового отдыха после нее.

Согласно результатам проведенных экспериментов, введение животным перед 15-минутной плавательной нагрузкой ДМЯК вызывало снижение в исследованных тканях по сравнению с контрольной группой животных общего содержания гликогена и глюкозы, способствуя в то же время увеличению концентраций АТФ и КФ. Содержание НФ в тканях под влиянием ДМЯК по сравнению с контролем оказалось более низким, что свидетельствует об увеличении использования первого для синтеза богатых энергией органических фосфорных соединений.

Обнаруженный эффект дитиола может быть объяснен как способностью тиоловых соединений стабилизировать КА, так и их способностью расширять "узкие" ферментатические звенья гликолиза (влияние на активность фосфоорилазы, гексокиназы и т. д.) (Е. Ф. СОПИН, 1960; В. И. КОЛОДЯНИЙ, 1968).

Как показали контрольные опыты, при утомлении, вызванном длительной мышечной нагрузкой (5-часовое плавание), в мышечной ткани имеет место значительное снижение общего содержания гликогена и глюкозы, АТФ, КФ и увеличение содержания НФ. Эти данные согласуются



с современными представлениями о состоянии углеводно-фосфорного обмена в мышцах при физических нагрузках (Н. Н. ЯКОВЛЕВ, 1969).

4-5 часовой отдых после 5-часовой плавательной нагрузки способствует нормализации уровня АТФ в мышцах, однако содержание КФ и углеводов остается по-прежнему пониженным, а содержание НФ - повышенным.

Характер изменений содержания КФ и НФ в миокарде и печени оказался аналогичным изменению их содержания в мышечной ткани. Однако в отношении АТФ уровень последнего в этих органах как при плавательной нагрузке различной продолжительности, так и после 4-5 часового отдыха достоверно не изменился.

Установлено, что наиболее существенные сдвиги в содержании углеводных запасов в исследуемых тканях крыс проявляются под действием длительной плавательной нагрузки. Причем, если в печени после кратковременного отдыха общее содержание гликогена и глюкозы остается на довольно низком уровне, то в миокарде оно почти восстанавливается до исходных концентраций, что, вероятно, обусловлено способностью сердечной мышцы интенсивно использовать молочную кислоту для энергообеспечения и восстановления запасов гликогена (Д. Л. ФЕРДМАН, 1961).

Снижение содержания АТФ и КФ а также увеличение концентрации НФ в мышцах как при 5-часовой физической нагрузке, так и после 3-часового плавания с последующим 4-5 часовым отдыхом свидетельствует о значительных изменениях в образовании макроэргов, что, очевидно, связано с частичным разобщением дыхания и фосфорилирования.

Несмотря на то, что в миокарде и печени в результате воздействия на животных длительной физической нагрузкой нами не было отмечено снижения уровня АТФ, тем не менее, принимая во внимание возможность переэстерификации АДФ с КФ а также учитывая значительное

снижение КФ и увеличение содержания НФ в этих органах, можно по аналогии с мышечной тканью констатировать факт нарушения эффективности процессов образования макроэргов.

Введение животным перед 5-часовой плавательной нагрузкой ДМЯК обусловило более высокое общее содержание гликогена и глюкозы в мышцах, печени и миокарде, а уровень АТФ и КФ в этих органах (за исключением КФ печени) при этом оказался значительно выше аналогичного уровня в тканях контрольной группы животных.

Увеличение содержания макроэргов в органах крыс согласуется с результатами наших исследований по изучению влияния ДМЯК на процессы окислительного фосфорилирования и свидетельствует об увеличении эффективности аэробного ресинтеза богатых энергией органических фосфорных соединений.

Наблюдающееся при этом более высокое содержание гликогена и глюкозы в тканях вероятно обусловлено более экономным использованием углеводов запасов под влиянием дитиола, с одной стороны, и с другой стороны, более высокой скоростью ресинтеза гликогена при наличии большей концентрации АТФ. Последнее предположение представляется обоснованным, так как в синтезе гликогена, как известно, участвует АТФ.

Экспериментальные данные по изучению влияния ДМЯК на углеводно-фосфорный обмен в тканях крыс при 5-часовом отдыхе после 4-5-часовой плавательной нагрузки подтверждают это положение. Так, введение ДМЯК сразу после нагрузки обуславливает после отдыха более высокое по сравнению с контролем содержание в исследуемых органах АТФ и КФ на фоне более низкого содержания НФ. При этом восстановление общего содержания гликогена и глюкозы в мышцах происходило почти в два раза быстрее, чем у животных контрольной группы.

Решающим фактором быстрого восстановления углеводных запасов в мышцах во время отдыха после физической нагрузки является по-видимому то, что ДМЯК способствует увеличению количества макроэргов, идущих на пластические процессы.

Таким образом, как свидетельствуют полученные нами данные, применение ДМЯК при длительной физической нагрузке и в периоде кратковременного отдыха после нее способствует увеличению содержания макроэргов в исследуемых тканях а также способствует более экономному использованию и более быстрому восстановлению в органах общего содержания гликогена и глюкозы по сравнению с животными контрольной группы.

Подтверждением факта стимулирующего влияние ДМЯК на аэробный ресинтез АТФ при напряженной мышечной деятельности являются полученные нами результаты полярографического изучения воздействия этого дитиола на процессы окислительного фосфорилирования.

Отмеченное нами в контрольных опытах значительное снижение эффективности процессов аэробного пути образования АТФ (снижение АДФ/О, снижение интенсивности фосфорилирования АДФ во всех исследуемых органах, изменение интенсивности дыхания митохондрий этих тканей) под воздействием 5-часовой плавательной нагрузки свидетельствует о глубоких изменениях в функциональном состоянии митохондрий.

Прежде всего после длительной физической нагрузки следует отметить довольно низкий КПД дыхательного фосфорилирования в тканях, что свидетельствует об обесценивании потребления кислорода. Сопутствующее этому снижение скорости фосфорилирования АДФ в миокарде приводит к возникновению дефицита макроэргов в сердечной мышце и, в конечном счете, к снижению функциональных возможностей организма. Эти данные согласуются с результатами исследований

И. И. ЯКОВЛЕВА (1960) и Р. И. ЛЕНКОВОЙ, (1970), также наблюдавших частичное разобщение окисления и фосфорилирования в митохондриях скелетных мышц как в начале интенсивной мышечной деятельности, так и при тяжелом утомлении, вызванном длительной физической нагрузкой.

Введение животным перед 5-часовым плаванием ДМЯК предупреждало возникновение отмеченных нарушений в деятельности митохондриальных структур. Эффект дитиола проявлялся в более высоком по сравнению с контрольной группой животных коэффициенте АДФ/О в митохондриях печени, в скелетных мышцах он достоверно не изменился, хотя тенденция к его увеличению проявлялась, и в митохондриях миокарда этот коэффициент был таким, как и у интактных животных.

Интенсивность фосфорилирования АДФ в митохондриях миокарда под действием ДМЯК при 5-часовой плавательной нагрузке была такой же, как и у интактных крыс; а в митохондриях печени и скелетных мышц даже превышала соответствующие уровни.

Под влиянием ДМЯК интенсивность дыхания митохондрий всех исследуемых тканей оставалась довольно высокой.

Если сравнить степень воздействия ДМЯК на интенсивность фосфорилирования АДФ в митохондриях исследуемых органов после длительной плавательной нагрузки, то окажется, что наибольший эффект дитиола проявляется в отношении митохондрий миокарда а затем скелетных мышц и печени. Следовательно, получены прямые доказательства о важной роли сердца в процессах возникновения утомления и снятия последнего тиоловыми соединениями.

Определенный интерес для понимания механизма влияния тиоловых соединений на процесс окислительного ресинтеза АТФ вносят данные о роли SH-групп в митохондриальном окислении.

Сульфгидрильным группам митохондриальных мембран принадлежит

большая роль в механизме регуляции проницаемости последних ( R.SCOTT a.al., 1961; A.FLYNHARTY, D.SANADI., 1960, 1962; А.ЛЕНИНДЖЕР, 1966). Поэтому активирующее влияние тиолов связано с их способностью поддерживать в восстановленном состоянии свободнореактивные SH-групп митохондриальных белков а также целого ряда внутримитохондриальных тиоловых ферментов и дыхательных переносчиков и тем самым обуславливать нормальное протекание процессов окислительного фосфорилирования (А.ЛЕНИНДЖЕР, 1966).

Подтверждением участия небелковых тиолов в механизме окислительного фосфорилирования в определенной мере может служить тот факт, что характер изменения количественного содержания небелковых сульфгидрильных групп и изменение коэффициента P/O в мышечной ткани крыс при плавательной нагрузке различной продолжительности одинаков.

Так, математическая обработка и сопоставление данных Р.И.ЛЕНКОВОЙ (1970) о состоянии процессов окислительного фосфорилирования в мышцах крыс при физической нагрузке различной продолжительности с нашими данными о содержании SH-групп подтверждает участие последних в процессах окислительного фосфорилирования. Согласно данным Р.И.ЛЕНКОВОЙ (1970), коэффициент P/O в скелетных мышцах интактных крыс составил  $2,0 \pm 0,04$ ; после 15-минутного плавания он снизился до  $1,2 \pm 0,03$  и после 5-часовой плавательной нагрузки был равен  $1,5 \pm 0,02$ . Эти изменения тесно коррелируют с отмеченным нами изменением содержания небелковых SH-групп в мышечной ткани при различных по продолжительности физических нагрузках ( $r = 0,94$ ;  $P < 0,01$ ).

В то же время, согласно нашим данным, наиболее существенное снижение содержания небелковых SH-групп, также как и наиболее выраженные нарушения в протекании процессов окислительного фосфор-

лирования и их нормализация под воздействием ДМЯК при 5-часовой плавательной нагрузке, наблюдалось в миокарде.

Следует заметить, что нормализацию энергетического обмена в миокарде под воздействием тиолов (цистеина) при различных патологических состояниях наблюдали также Ф. З. МЕРСОН (1960) и С. Е. СЕВЕРИН (1965).

Таким образом, эти данные позволяют расценивать баланс сульфгидрильных групп в клетках, и прежде всего в миокарде, как один из важнейших факторов, способствующих стабильности процессов энергетического обмена при мышечной деятельности.

Принимая во внимание особенности механизма действия тиоловых соединений на метаболизм при напряженных физических нагрузках, следует отметить, что эти соединения относятся к средствам, близким к естественным метаболитам, способствующим поддержанию гомеостаза организма и расширению его потенциальных возможностей в приспособительных реакциях.

Суммируя результаты проведенных экспериментальных исследований, необходимо отметить, что тиоловые соединения, и в частности ДМЯК, обладают выраженными свойствами повышать работоспособность при напряженной мышечной деятельности и ускорять восстановительные процессы после интенсивной физической нагрузки.

Учитывая благоприятный эффект тиолов на энергетические процессы при различных по характеру физических нагрузках а также их стимулирующее влияние на протекание восстановительных процессов после мышечной деятельности, можно считать применение тиоловых соединений, и в частности ДМЯК, с целью повышения мышечной работоспособности и ускорения протекания восстановительных процессов после физических нагрузок экспериментально обоснованным.

## В ы в о д ы

1. Содержание небелковых SH-групп в мышцах находится в прямой корреляционной зависимости от степени мышечного утомления (опыты *in vitro* ).
2. Физическая нагрузка, соответствующая анаэробной фазе мышечной деятельности (15-минутное плавание), способствует снижению содержания свободных небелковых сульфгидрильных групп в скелетной мышце, миокарде и печени. Содержание белковых SH-групп в мышцах также снижается, а в миокарде и печени практически не меняется.

Физическая работа, соответствующая аэробной фазе мышечной деятельности (2-5 часовое плавание), сопровождается восстановлением содержания небелковых и увеличением концентрации белковых тиоловых групп в скелетных мышцах и печени. В сердечной мышце, в отличие от скелетной мускулатуры, общая концентрация тиоловых групп снижена за счет уменьшения концентрации SH-групп небелковых тиолов.

3. Тиоловые соединения (как монотиол- цистеин, так и дитиолы- унитиол и димеркаптоянтарная кислота) способствуют увеличению работоспособности животных и ускорению протекания восстановительных процессов после интенсивных физических нагрузок. Наиболее эффективной в этом отношении является димеркаптоянтарная кислота.
4. Механизм благоприятного действия димеркаптоянтарной кислоты при напряженной мышечной деятельности заключается в увеличении степени сопряженности окисления и фосфорилирования, а также в увеличении интенсивности ресинтеза АТФ в митохондриях скелетных мышц, печени и миокарде крыс.

5. Димеркаптоянтарная кислота на фоне анаэробной физической нагрузки (15-минутное плавание) стимулирует использование углеводов запасов в скелетных мышцах и миокарде. При этом отмечается значительное увеличение содержания АТФ и креатин фосфата в мышцах, печени и миокарде. При длительной физической нагрузке (аэробная фаза мышечной деятельности) под влиянием димеркаптоянтарной кислоты использование гликогена и глюкозы в исследуемых органах происходит более экономно и содержание макроэргов в этих тканях поддерживается на стабильно высоком уровне.
6. Димеркаптоянтарная кислота способствует более быстрому восстановлению общего содержания гликогена и глюкозы в мышцах и печени а также увеличению содержания макроэргов в тканях во время отдыха после длительной физической нагрузки.
7. Применение димеркаптоянтарной кислоты, в отличие от типичных "допинговых" средств, не сопровождается изменением по сравнению с контрольной группой животных запасов катехоламинов в надпочечниках и миокарде при длительной физической нагрузке, а так же в надпочечниках, мышцах, печени и миокарде крыс при 5-часовом отдыхе после 5-часового плавания, в мышцах и печени после 5-часовой плавательной нагрузки под влиянием димеркаптоянтарной кислоты содержание катехоламинов увеличивается.
8. Проведенные экспериментальные исследования позволяют научно обосновать применение тиоловых соединений (мезо-димеркаптоянтарной кислоты) для повышения работоспособности а также в восстановительном периоде после напряженной мышечной деятельности.



По теме диссертации опубликованы следующие работы :

1. СМУЛЬСКИЙ В. Л. Влияние дитиола  $S_{10}$  на процессы окислительного фосфорилирования при напряженной мышечной деятельности. "Матер. II съезда фармакологов Украинской ССР "Здоровья", Киев, 1973 г. стр. 224-225.
2. КОТИЙ В. Н.  
СМУЛЬСКИЙ В. Л. "Влияние тиоловых соединений на работоспособность". "Матер. I. Всесоюзн. конф. проблемных научно-исследовательских лабораторий института физической культуры". Методический кабинет, Москва, ГЦОЛИФК, 1973 г. стр. 112-114.
3. СМУЛЬСКИЙ В. Л. "Изменение содержания сульфгидрильных групп в мышцах при утомлении" Тематический сборник "Биологические основы спортивной тренировки", КГИФК, Киев, 1974, стр. 34-37. (На укр. языке).