

Abstract

**L. Gunina,
Yu. Vinnichuk,
Ye. Nosach,
V. Bezuglaya,
Ye. Rosova,**

*Scientific Institute of National University of Physical Education and Sport of Ukraine, 1 Fizkultury str., Kyiv, Ukraine, 03680;
Institute of Physiology named of A. A. Bogomolets of National Academy of Sciences of Ukraine, 4 Academician Bogomolets str., Kyiv, Ukraine, 01601*

MECHANISMS OF ATP-LONG PREPARATION INFLUENCE ON ANIMAL WORK CAPACITY DURING EXPERIMENTAL MODELING OF PHYSICAL LOADS

Intensive continuous training and competitive loads, peculiar for modern elite sport, in the face of metabolism intensification and exhaustion of intracellular content of high-energy compounds contribute to pathology process activation primarily in myocardium. In addition to continuous and intensive physical loads against the background of chronic under-recovery, the combination of high loads with intensive mental activity and chronic psychoemotional stress is crucial in the development of abnormal changes in athlete cardiovascular system. Therefore, permanent intensive physical loads necessitate systematic and substantiated application of cardioprotectors – means for protection of the myocardium. Their action is not connected with the improvement of heart pump function directly, but is mediated by optimization of the processes of energy generation and expenditure, correction of respiratory chain function, normalization of balance between the intensity of the processes of free-radical oxidation and antioxidant defense, direct impact on cardiomyocytes, thus preventing the formation of myocardial metabolic remodeling. However, many pharmacological preparations widely used in clinical cardiological practice, and all trimetazidine and meldonium based drugs, in particular, are not allowed to be used in elite sport due to their recent prohibition by the World Anti-Doping Agency. The main cause of fatigue that occurs during intensive physical loads is the lack of adenosine triphosphoric acid – the major high-energy compound, the biological significance of which has been recently revealed to be much more than just the direct energy donation. Unfortunately, the usage of cardioprotectors in today's sport appears to be almost systemless and without accounting for the basic points of their metabolic action application, whereas the list of utilized preparations is rather narrow and mainly includes metabolic means. For this very reason, the application of non-prohibited in the practice of athletic preparation, ATP-based medicines seems to be quite logical for the sake of maintenance of functional status and further structural rearrangements of the myocardium. However, the mechanisms of their action on physical work capacity stimulation have been studied insufficiently, thus necessitating organization of the given experimental study under conditions of modeling continuous and intensive physical loads of inbred Wistar rats. It has been demonstrated that in the main group of animals, subjected to physical loads (treadmill running), in the face of intraperitoneal administration of 0.12 g/kg daily dose of ATP-long, equal to therapeutic dosing of preparation, the basis for endurance parameter increase is the reduction of oxidative stress expression within red-cell membranes with the decrease of resulting prooxidant-antioxidant coefficient from 2.23 in control to 1.22 in the main group, pH value normalization in venous blood of animals and increase

of its oxygen saturation to 88.3 ± 1.1 %, which approximately corresponds to saturation at the level of 89.8 ± 1.2 % in intact animals. These changes contribute to the improvement of blood oxygen transport function, which is of crucial importance during aerobic activities, and create prerequisites for normalization of electrocardiographic characteristics of animals' heart condition. When assessing physical performance changes in the dynamics of the experiment revealed that the end of the observation of animals in the control group while treadmill running a because of regular exercise increases on 42.3 % compared with intact rats. However, the intraperitoneal administration of ATP-long core group of animals reliably against these animals in the control group, an increase in the run until exhaustion is 20.2%, indicating that stimulation of the body ergogenic performance and, accordingly, direct/indirect ergogenic properties of the drug. Study findings allow to suggest that exogenous ATP in combination with magnesium and potassium ions and essential amino acid, histidine that form structural basis of ATP-long preparation, is both the modern cardioprotective and ergogenic means to be used in the practice of athletes preparation.

Keywords: physical working capacity, sport, physical activity, macroergic phosphates, ATP, oxidative homeostasis, pH, oxygen saturation, myocardium.

Corresponding author: gunina.sport@gmail.com

Резюме

Л. М. Гуніна,
Ю. Д. Вінничук,
О. В. Носач,
В. В. Безугла,
К. В. Розова,

НДІ Національного університету
фізичного виховання та спорту
України, вул. Фізкультури, 1,
м. Київ, Україна, 03680;
Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, вул. Ака-
деміка Богомольця, 4, м. Київ,
Україна, 01601

МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ АТФ-ЛОНГ НА ПРАЦЕЗДАТНІСТЬ ТВАРИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ

Проблема погіршення функціонального стану серцево-судинної системи за інтенсивних фізичних навантажень є однією з найважливіших проблем спортивної медицини, кардіології та фармакології. Саме негативні перебудови функціонального та структурного характеру, з одного боку, не дають змоги досягати більш високих спортивних результатів у зв'язку з відсутністю приросту аеробної фізичної працездатності, а, з другого, можуть стати головною причиною раптової смерті спортсменів. Дуже значну роль в погіршенні стану міокарда за фізичних навантажень відіграє нестача макроергічних фосфатів. Тому пошук та оцінка механізмів впливу на фізичну працездатність кардіопротекторних засобів на основі головного макроерга – аденозинтрифосфата – повинен ґрунтуватися на дослідженні тих основних метаболічних показників, що беруть участь в процесах перенесення кисню, а саме, вираженості змін окисного гомеостазу на мембранному рівні в еритроцитах, зрушень pH та насиченості крові киснем тощо. В експериментальній роботі при моделюванні тривалих фізичних навантажень у щурів (біг на тредбані) показаний позитивний вплив курсового застосування препарату АТФ-лонг на зміни вмісту одного з проміжних продуктів перекисного окислення ліпідів – малонового діальдегіду та основного неферментативного антиоксиданту – відновленого глутатіону, а також на сатурацію кисню у венозній крові та її pH з одночасним з покращенням параметрів електрокардіограми та приростом фізичної працездатності тварин, що підтверджує опосередковану кардіопротекторну та ергогенну дію дослідженого препарату. Це не тільки створює підґрунтя для подальшого вивчення механізмів підтримки



функціонального стану серця спортсменів під час тренувального процесу за допомогою АТФ-лонг, але й свідчить про доцільність застосування цього незабороненого у спорті фармакологічного засобу при інтенсивних фізичних навантаженнях.

Ключові слова: фізична працездатність, спорт, фізичні навантаження, макроергічні фосфати, АТФ, окисний гомеостаз, рН, сатурація кисню, міокард.

Резюме

Л. М. Гуніна,
Ю. Д. Вінничук,
Е. В. Носач,
В. В. Безуглая,
Е. В. Розовая,

*НИИ Национального университета физического воспитания и спорта Украины, ул. Физкультуры, 1, г. Киев, Украина, 03680;
Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, ул. Академика Богомольца, 4, г. Киев, Украина, 01601*

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА АТФ-ЛОНГ НА РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК

Проблема ухудшения функционального состояния сердечно-сосудистой системы при интенсивных физических нагрузках является одной из важнейших проблем спортивной медицины, кардиологии и фармакологии. Именно перестройки функционального и структурного характера, с одной стороны, не только позволяют достигать более высоких спортивных результатов в связи с отсутствием прироста аэробной физической работоспособности, но и, с другой, могут стать главной причиной внезапной смерти спортсменов. Важную роль в ухудшении состояния миокарда при нагрузках играет недостаток макроэргических фосфатов. Поэтому поиск и оценка механизмов влияния на физическую работоспособность фармакологических кардиопротекторных средств на основе главного макроэрга – аденозинтрифосфата – должен основываться на исследовании тех основных метаболических показателей, которые участвуют в процессах переноса кислорода, а именно, выраженности изменений окислительного гомеостаза на мембранном уровне в эритроцитах, сдвигов рН и насыщенности крови кислородом. В экспериментальной работе при моделировании длительных физических нагрузок у крыс (бег на тредбане) показано положительное влияние курсового применения препарата АТФ-лонг на изменения содержания одного из промежуточных продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида и основного неферментативного антиоксиданта – восстановленного глутатиона, а также на сатурацию кислорода в венозной крови и ее рН с одновременным улучшением параметров электрокардиограммы и приростом физической работоспособности, что подтверждает опосредованное кардиопротекторное и эргогенное действие исследованного препарата. Полученные данные не только создают основу для дальнейшего изучения механизмов поддержки функционального состояния сердца спортсменов во время тренировочного процесса с помощью АТФ-лонг, но и свидетельствует о целесообразности применения этого не запрещенного в спорте фармакологического средства во время интенсивных физических нагрузок.

Ключевые слова: физическая работоспособность, спорт, физические нагрузки, макроэргические фосфаты, АТФ, окислительный гомеостаз, рН, сатурация кислорода, миокард.

Автор, відповідальний за листування: gunina.sport@gmail.com



Вступ

Тренувальні та змагальні фізичні навантаження, притаманні сучасному спорту вищих досягнень, на фоні інтенсифікації обміну речовин і виснаження внутрішньоклітинного вмісту макроергічних сполук сприяють активізації патологічних процесів, зокрема, в міокарді [1–3]. Крім тривалих та інтенсивних фізичних навантажень на тлі хронічного недовідновлення, у виникненні патологічних змін серцево-судинної системи атлета істотне значення має поєднання навантажень великого обсягу з напруженою розумовою діяльністю та хронічним психоемоційним стресом. Важливу роль у виникненні таких порушень відіграє і наявність несанованих вогнищ хронічної інфекції, на фоні яких зміни в міокарді внаслідок фізичного перенапруження виникають частіше [4, 5].

Тому при постійних інтенсивних фізичних навантаженнях необхідне планомірне та обґрунтоване застосування засобів захисту міокарда – кардіопротекторів [6, 7]. Однак, багато фармакологічних препаратів, які широко використовуються в клінічній кардіологічній практиці, зокрема, всі засоби на основі триметазидину і мельдонію, не можна застосовувати в спорті вищих досягнень в зв'язку з заборонами Всесвітньої антидопінгової агенції (WADA), які вступили в силу протягом 2015-2016 років [8, 9].

Дія кардіопротекторів зазвичай безпосередньо не пов'язана з гемодинамічним ефектом, а опосередковується оптимізацією процесів утворення і витрат енергії, корекцією функції дихального ланцюга, нормалізацією балансу між інтенсивністю процесів вільнорадикального окислення і антиоксидантного захисту, прямим впливом на кардіоміоцити, що сприяє виживанню клітин в умовах гіпоксії та ішемії, перешкоджає формуванню метаболічного ремодельовання міокарда [10–13]. На жаль, в спорті на сьогодні використання кардіопротекторів відбувається безсистемно, без урахування основних точок прикладання їх метаболічної дії, а перелік використовуваних препаратів досить вузький [14] і переважно зводиться до метаболічних засобів [15].

Відомо, що основним джерелом акумуляції енергії в клітинах є аденозинтрифосфорна кислота (АТФ), а препарати на її основі традиційно відносяться до засобів, які впливають на енергетичний метаболізм, зокрема міокарда. Аденинові нуклеотиди і АТФ здатні регулювати внутрішньоклітинні процеси шляхом впливу на специ-

фічні – пуринові – рецептори. Отже на сьогодні інтерес до вивчення в організмі дії АТФ взагалі та за фізичних навантажень, зокрема, пов'язаний з тим, що при гіпоксії проявляються раніше невідомі властивості цієї речовини як ендогенного внутрішньоклітинного регулятора функцій клітини і міжклітинного месенджера. Даними останніх років показано, що, в основі захисної дії АТФ на організм лежить не тільки відновлення пулу макроергічних субстратів, але й вплив на шляхи передачі рецепторного сигналу, що супроводжується змінами експресії деяких генів [16, 17], посилення активності ряду ферментативних комплексів, що і визначає метаболізм клітини в цілому [18]. В середині клітини молекула АТФ відповідає за енергетику, в тому числі, через локалізовані внутрішньоклітинні рецептори до АТФ, де вона блокує чутливі калієві канали, розпадаючись до аденозину, а, потрапляючи назовні, впливає на калієві канали, активуючи їх [19]. Таким чином забезпечується "зворотній зв'язок" між кількістю енергії, що надходить у вигляді макроергічних фосфатів та утворюється різними метаболічними шляхами, та можливостями клітини [20]. Головною причиною ацидозу, який блокує подальший розвиток потужності роботи скелетних м'язів і виникає за інтенсивних фізичних навантажень здебільшого гліколітичного лактатного характеру, є не просто накопичення недоокиснених продуктів, таких як лактат (або пируват), але й гідроліз тієї частини АТФ, ресинтез якої не компенсується окислювальним фосфорилуванням [21].

Ефекти АТФ при захворюваннях серцево-судинної системи частіше за все пов'язують з продуктом її гідролізу – аденозином, який, активуючи P1-пуринові рецептори, здатний спричиняти негативну іно- і хронотропну дію на серце, що призводить до нівелювання реципрокної атріо-вентрикулярної вузлової тахікардії. АТФ має також антиаритмічну, гіпотензивну і протисудомну дію [17], стимулює утворення циклічного АМФ, який є потужним вазоділататором, зокрема впливає і на коронарні артерії, а зменшення постнавантаження в поєднанні з покращенням міокардиального кровообігу супроводжується збільшенням продуктивності роботи серця [19, 20]; АТФ також опосередковано впливає на скорочувальну здатність та насосну функцію серця [22]. Все це обґрунтовує необхідність підтримання визначеного, адекватного енергетичним витратам організму залежно від



інтенсивності та спрямованості фізичних навантажень, вмісту АТФ в організмі спортсмена.

За ефективністю і практично повною відсутністю токсичної дії серед інших кардіопротекторних препаратів на основі аденозинтрифосфату особливе місце займає вітчизняний засіб АТФ-лонг. Це перший оригінальний вітчизняний препарат групи прямих кардіопротекторів, представник класу різнолігандних координаційних сполук з макроергічними фосфатами, який має виражену кардіопротекторну, енергозберігаючу, мембраностабілізуючу, метаболічну дію при гострих і хронічних захворюваннях серцево-судинної системи, а також при її перенапруженні та дисфункції, тобто цей препарат є як прямим, так і непрямим кардіопротектором [23].

До того, відомо, що адаптаційні та патологічні процеси у спортсменів перебігають на тлі збільшення утворення активних форм кисню та інтенсифікації вільнорадикального окислення біологічних субстратів з формуванням окисного стресу. На сьогодні накопичено чисельні дані щодо значення окисного стресу в забезпеченні функціонування клітин при фізичних навантаженнях [24–26] та існує цілком виправдана та підтверджена експериментальними та клінічними даними думка, що саме окисний стрес є первинною ланкою подальших метаболічних перетворень у міокарді [27–29]. Отже, пошук і дослідження механізмів впливу високоефективних препаратів, здатних посилювати систему антиоксидантного захисту, мінімізувати негативні зміни в роботі серцево-судинної системи та інших системах організму, які лімітують приріст фізичної працездатності, є актуальним завданням сучасної спортивної науки, зокрема біології та фармакології спорту. З'ясування особливостей дії таких речовин дає можливість визначити правильні схеми їх використання з метою запобігання негативного впливу окисного стресу, дефіциту макроергів та основних електролітів при інтенсивних фізичних навантаженнях. На жаль, дослідних робіт з визначення різних сторін впливу препарату АТФ-лонг на фізичну працездатність та метаболічні зміни, що обумовлюють її стимуляцію, в тому числі, показники окисного гомеостазу, за моделювання тривалих навантажень в експерименті практично не існує.

Мета роботи – з'ясувати механізми впливу препарату АТФ-лонг на зміни фізичної працездатності в експериментальних тварин при тривалих фізичних навантаженнях.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведені на 30-ти інбредних (лінія Вістар) щурах обох статей масою 150–180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Тривале швидкісне навантаження моделювали за допомогою бігу щурів на тредбані протягом 15 днів при швидкості руху стрічки $42 \text{ м} \cdot \text{хв}^{-1}$, визначаючи при цьому тривалість бігу до повного стомлення (незможності до подальшого бігу) [30]. Тварин було розподілено на 3 однакових за кількістю (по 10) групи: інтактна група, контрольна – щурі, в яких моделювали фізичне навантаження (біг, фізіологічний розчин), основна – щурі з фізичним навантаженням та введенням препарату (біг на фоні застосування АТФ-лонг). Препарат, розчиняючи вміст капсули в дистильованій воді, вводили внутрішньоочеревинно в добовій дозі $0,12 \text{ г/кг}$, що еквівалентно дозуванню, наведеному в інструкції виробника для використання АТФ-лонг у людини. Кров для досліджень у щурів брали з хвостової вени під легким ефірним наркозом.

Утримання і використання лабораторних тварин відповідало методам, які рекомендуються Національними нормами з біоетики [31]. Роботу на усіх етапах експерименту виконували відповідно до Положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), та принципів Гельсінської Декларації (2000).

Дослідження прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (ПАР) на мембранному рівні здійснювали, використовуючи суспензію "тіней" еритроцитів, які є адекватним відображенням загального пулу клітинних мембран організму [32], шляхом визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА), як одного з проміжних продуктів перекисного окислення ліпідів [33], та відновленого глутатіону (GSH), як одного з основних природних неферментативних антиоксидантів [34]. Спектрофотометрію проводили на фотометрі "Becton PU-65" (Becton Dickinson, США) при довжинах хвилі 220, 232, 278, 400 нм.

Як результуючу цих двох протилежних процесів розраховували прооксидантно-антиоксидантний коефіцієнт (K_{na}) за формулою:

$$K_{na} = \frac{\text{вміст МДА}}{\text{вміст GSH}}$$



де: $K_{\text{на}}$ – прооксидантно-антиоксидантний коефіцієнт, ум. од.;

МДА – концентрація малонового діальдегіду, $\text{нмоль}/10^6 \text{ ер.}$;

GSH – концентрація глутатіону, $10^{12} \text{ ммоль/ер.}$

Вибір лише двох методів дослідження змін окисного гомеостазу був обумовлений тим, що в практиці підготовки спортсменів, з її динамічністю та необхідністю достатньо швидко отримувати результати медико-біологічних обстежень, зокрема, поточних і під час тренувальних зборів, виникає необхідність термінової оцінки функціонального стану спортсменів. На жаль, в цій ситуації немає можливості проводити тривалі складні дослідження, які потребують наявності спеціального обладнання та значної кількості реагентів і часу. Тому в лабораторній діагностиці спортивної діяльності більш доцільними є такі методології, які за умов достатньо високої інформативності, можуть бути виконані за короткий проміжок часу та будуть доступні для розуміння тренером та спортивним лікарем-практиком. З огляду на це, запропонований нами прооксидантно-антиоксидантний коефіцієнт $K_{\text{на}}$, що відображає співвідношення активності процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту на мембранному рівні, на базі вимірювання лише двох біохімічних показників дає достатньо інформативну кількісну оцінку вищезазначених процесів та корелює із загальновідомими, проте досить складними, індексами, розробленими для оцінки окисного гомеостазу при фізичних навантаженнях у спортсменів. Зокрема, при здійсненні кількісної інтегральної оцінки окисного стресу за фізичних навантажень за відомим алгоритмом Абакумова М. М., що базується на визначенні співвідношення вмісту та активності максимальної кількості про- та антиоксидантних показників у сироватці (плазмі) крові та еритроцитах [35], встановлено, що значення обчисленого в наших більш ранніх дослідженнях коефіцієнту, залежно від включених до розрахунку параметрів, коливаються від 0,545 до 1,12 в контролі (здорові нетреновані особи) та від 0,766 до 1,85 – у спортсменів, що зіставимо з результатами, одержаними при використанні лише значень МДА та GSH [36]. Відомо, що під час оцінки вираженості окисного стресу, що є невід'ємною складовою медико-біологічного контролю стану спортсменів [37], доцільно використовувати не більш ніж 2-3 параметри, які бажано для біль-

шої наочності переводити в уніфіковану форму у вигляді коефіцієнтів або індексів [38].

Дослідження кислотно-основного стану венозної крові, зміни якого асоціюються з окисним стресом, здійснювали за допомогою портативного аналізатора газів та електролітів "Osmetech OPTI CCA" (OptiMedical Inc., США) при застосуванні для кожного зразка крові одноразових вимірювальних касет та контрольних аутентичних касет того ж виробника. При цьому оцінювали значення рН, ступінь насиченості крові киснем та двоокисом вуглецю.

Електрокардіограми у щурів реєстрували на електрокардіографі "ЕК 1 Т-1/3-07" (Аксион, Росія) в стандартних відведеннях I, II, III (двополюсні відведення від кінцівок: I – ліва і права передні кінцівки, II – ліва задня і права передня кінцівки, III – ліва задня і ліва передня кінцівки), в положенні на спині, з використанням голчастих електродів, які розміщали підшкірно на кінцівці [39]; тварин при цьому наркотизували ефіром.

Статистичну обробку здійснювали за допомогою ліцензійної програми "GraphPadInStat" (США) із визначенням середнього арифметичного (M) та похибки (m). Для оцінки достовірності змін, оскільки отримані дані за критерієм Шапіро-Уїлка відповідали нормальному закону розподілу, використовували параметричний t -критерій Стьюдента; відмінності вважали вірогідними при значенні P , не меншому ніж 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що моделювання тривалого фізичного навантаження у тварин супроводжується активацією процесу перекисного окислення ліпідів зі змінами вираженості ПАР. При цьому вміст малонового діальдегіду в мембранах еритроцитів, порівняно з даними у інтактних тварин, зростає, а вміст відновленого глутатіону, як відображення антиоксидантного захисту, навпаки, знижується. Моделювання ж фізичного навантаження на фоні застосування АТФ-лонг покращує параметри ПАР у клітинних мембранах еритроцитів тварин (Табл. 1), що підтверджує нормалізація значення прооксидантно-антиоксидантного коефіцієнту $K_{\text{на}}$ (Рисунок 1).

Проведений підрахунок значення $K_{\text{на}}$ вказує, що при тривалому фізичному навантаженні в експериментальних тварин контрольної групи спостерігається переважання процесів ліпоперекиснення над ступенем антиоксидантного захисту, що залежить від функціональних резервів ендогенної антиоксидантної системи організму



та неодмінно призводить до запуску багатьох патофізіологічних процесів та погіршення витривалості тварин [40]. У тварин основної групи показник $K_{па}$ зменшується, що свідчить про ак-

тивізацію антиоксидантних механізмів, пригнічення процесів перекисного окислення в скелетній мускулатурі та приводить до відповідного зменшення стомлення [18, 28, 38].

Таблиця 1 – Вплив курсового застосування АТФ-лонг на показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в мембранах еритроцитів щурів за тривалого фізичного навантаження

Групи тварин та умови дослідження	Показники, що досліджували ($M \pm m$)	
	МДА, нмоль/ 10^6 ер.	GSH, 10^{12} ммоль/ер.
Інтактні тварини (n = 10)	$6,12 \pm 0,21$	$4,45 \pm 0,14$
Контрольна група – фізичне навантаження + фізіологічний розчин (n = 10)	$7,74 \pm 0,121^*$	$3,47 \pm 0,19^*$
Основна група – фізичне навантаження + АТФ-лонг в дозі 0,12 г/кг (n = 10)	$5,32 \pm 0,10^{*#}$	$4,37 \pm 0,11^{\#}$

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з даними в інтактних тварин;

– $p < 0,05$ порівняно з даними у контрольних тварин

Електрокардіографічне дослідження, проведене у експериментальних щурів, довело, що під дією АТФ-лонг кількість електрокардіограм, на яких реєструються зміни гіпоксичного та дисметаболического характеру, зменшується на

14,2 % і 18,7 % відповідно, що вказує на позитивний вплив на функціональний стан міокарда та, відповідно, свідчить про кардіопротекторні властивості препарату.



Рисунок 1 – Вплив курсового застосування АТФ-лонг на зміни прооксидантно-антиоксидантного коефіцієнту в мембранах еритроцитів щурів за тривалого фізичного навантаження

У тварин з моделюванням фізичного навантаження результати визначення рН, який зазвичай знижується в динаміці навантажень циклічного характеру (біг, плавання, веслування та ін.) внаслідок накопичення лактату в кровноносному руслі [37, 41] та окисного стресу, що виникає [42], показали, що його (рН – прим. авторів) значення за дії тривалого навантаження незначно (на 0,011), але достовірно ($p < 0,05$), знижується проти даних в інтактних тварин ($7,338 \pm$

$0,002$), що може свідчити про тенденції розвитку метаболічного ацидозу [21]. Водночас достовірних змін рН, порівняно з даними в інтактних тварин, за умов моделювання бігових навантажень на фоні введення АТФ-лонг не було зафіксовано (Рисунок 2). Встановлено, що насичення крові киснем (сатурація, SO_{2v}) при застосуванні препарату вірогідно ($p < 0,05$) збільшується на $12,4 \pm 0,9$ % та складає $88,3 \pm 1,1$ % порівняно з даними у тварин контрольної групи. Тобто у

тварин основної групи величина сатурації кисню практично досягає вихідного рівня цього показника в інтактних щурів, який відповідає значенню $89,8 \pm 1,2\%$ (Рисунок 3). Такі дані

опосередковано можуть вказувати на поліпшення кисень транспортної функції крові і, відповідно, є передумовою для зростання аеробної витривалості [18, 27].

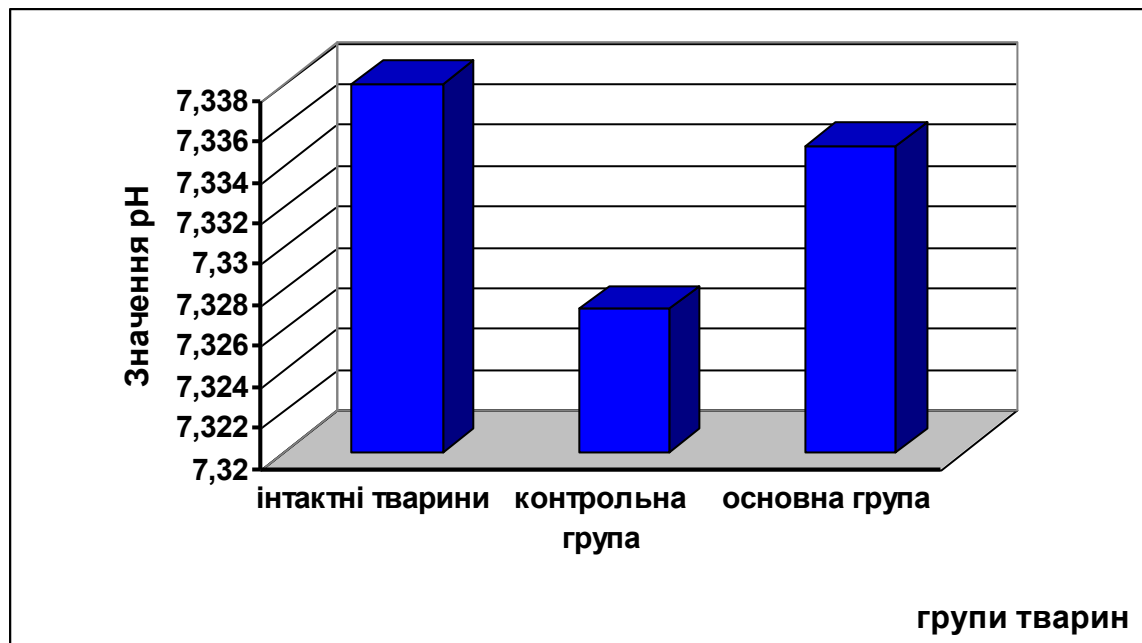


Рисунок 2 – Вплив курсового застосування АТФ-лонг на зміни рН венозної крові щурів за тривалого фізичного навантаження

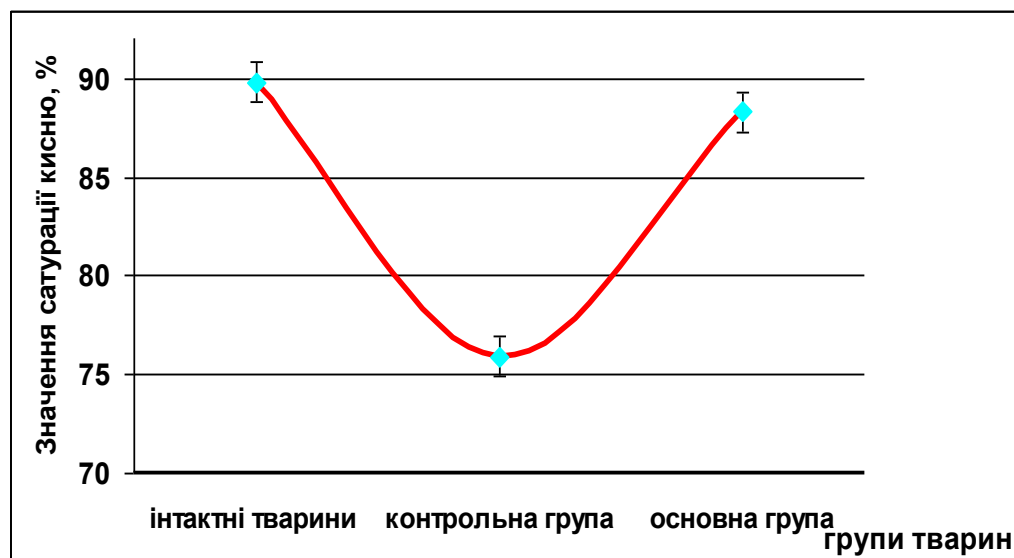


Рисунок 3 – Вплив курсового застосування АТФ-лонг на зміни сатурації кисню у венозній крові щурів за тривалого фізичного навантаження

Під час оцінки змін фізичної працездатності в динаміці експерименту встановлено, що наприкінці спостереження у тварин контрольної групи час бігу на тредбані внаслідок постійних тренувань зростає, порівняно з інтактними щурами, на 42,3 %. В той же час, при внутрішньоочеревинному введенні АТФ-лонг у тварин осно-

вної групи достовірно, проти даних у тварин контрольної групи, спостерігається збільшення час бігу до повного стомлення ще на 20,2 % (Табл. 2), що свідчить про стимуляцію ергогенних характеристик організму та, відповідно, прями/опосередковані ергогенні властивості препарату.

Таким чином, результати комплексних експериментальних досліджень довели, що застосування метаболітотропного кардіопротектора АТФ-лонг не тільки має нормалізуючий вплив на локальний окисний гомеостаз в клітинних мембранах, але й на системні критерії, значною мірою опосередковані його змінами, такі як рН

крові та сатурація кисню, що закономірно сприяє зростанню витривалості тварин. Ці дані створюють передумови для подальшої оцінки та використання метаболітотропного незабороненого фармакологічного засобу АТФ-лонг у практиці підготовки спортсменів.

Таблиця 2 – Вплив АТФ-лонг на зміни тривалості бігу щурів на тредбані в динаміці експерименту

Групи тварин та умови дослідження	Час бігу на тредбані (M ± m), хв
Інтактні тварини (n = 10)	5,24 ± 0,22
Контрольна група – фізичне навантаження + фізіологічний розчин (n = 10)	7,46 ± 0,53*
Основна група – фізичне навантаження + АТФ-лонг в дозі 0,12 г/кг (n = 10)	8,97 ± 0,28* #

Примітки: * – $p < 0,01$ порівняно з даними в інтактних щурів;

– $p < 0,05$ порівняно з даними у контрольній групі

Покращення показників електрокардіографічного дослідження під впливом препарату, з нашої точки зору, пояснюється тим, що іони магнію, які є природними антагоністами іонів кальцію, забезпечують негативний іотропний ефект на серцевий м'яз, тим самим знижуючи споживання кисню, зменшують периферичний опір за рахунок зниження тонуусу гладком'язових структур судин; магній також пригнічує процеси дезамінування і дефосфорилування [43]. Іони калію підтримують осмотичний та кислотно-основний гомеостаз клітини, беруть участь у забезпеченні трансмембранної різниці потенціалів, активізують синтез макроергів – АТФ і креатинфосфату [44]. Амінокислота гістидин є природною "пасткою" вільних радикалів, забезпечує інгібування процесів перекисного окислення ліпідів, тим самим захищаючи структурні компоненти мембран від переокиснення і гідролізу, запобігаючи їх деградації. Неорганічний фосфор, що утворюється внаслідок гідролізу АТФ, разом з імідазольним кільцем гістидину збільшує ємність клітинного буфера, забезпечуючи тим самим більш стійке збереження структурних елементів клітинної мембрани в умовах ішемії [45], яка виникає при фізичних тренуваннях. За рахунок здатності коригувати метаболічні процеси в міокарді в умовах гіпоксії та ішемії препарат має властивість стимулювати енергетичний обмін, активувати іон-транспортні системи клітинних мембран, відновлювати необхідні концентрації іонів магнію та

калію, покращувати антиоксидантну систему, що забезпечує захист міокарда. АТФ-лонг також активує мембранозалежні ферменти, відновлює ліпідний склад клітинних мембран і знижує вміст сечової кислоти. Препарат є більш стійким до впливу дезамінази, має більшу спорідненість до пуринових рецепторів і сприяє підвищенню працездатності [20].

В практиці спорту велике значення має також контроль за параметрами кислотно-основної рівноваги тканин і крові, оскільки інтенсивна м'язова діяльність майже завжди супроводжується зростанням кисневого дефіциту в організмі [46, 47]. В таких умовах відбувається зсув рН в кислий бік, що сприяє метаболічним порушенням та зриву процесів адаптації [48]. Локальне значення рН навколо мембранних структур підтримується в межах фізіологічних значень, незважаючи на зміни внутрішньоклітинного рН, оскільки при збільшенні клітинного рН імідазольні і фосфатні групи, які входять до складу АТФ-лонг, є компонентами мікрооточення мембран клітин, звільняють протони, а при зниженні рН, навпаки, зв'язують іони водню, тим самим підвищуючи ступінь збереження клітинних структур в умовах гіпоксії, в тому числі, гіпоксії навантаження [49].

В дослідженнях інших авторів також показані антиоксидантні властивості АТФ-лонг, які характеризуються покращенням показників ПОЛ у міокарді, печінці, головному мозку та крові, а також збільшенням стійкості до макси-



мальних фізичних навантажень у експериментальних тварин [50]. Позитивний дозозалежний кардіопротекторний ефект, що виражався "у підвищенні ЛД₅₀ (при введенні препарату в дозі 100 мг·кг⁻¹ маси тіла) в 2,2-2,5 рази" [цит. у перекладі по 45], довели дані експериментальних досліджень стосовно антиоксидантних властивостей препарату АТФ-лонг при гострому отруєнні мишей кардіотоксичними препаратами (доксорубіцин, натрію фторид, натрію нітропруссид) [45, 51]. Це також важливий факт, що характеризує препарат як нетоксичний, оскільки у спортсменів токсична дія на міокард здійсню-

ється не тільки завдяки накопиченню середньо-молекулярних пептидів як продуктів незавершеного протеолізу [52] та інших токсичних продуктів обміну [53], впливу ергогенних фармакологічних засобів [54], але й завдяки наявності вогнищ хронічної інфекції, що є найбільш частою причиною розвитку екстрасистолії, часто фатальної [55]. Це й обумовлює доцільність та обґрунтованість застосування кардіопротекторного препарату комплексної дії АТФ-лонг за фізичних навантажень та з метою підвищення резистентності до них пацієнтів з порушеннями функції міокарда.

Висновки

1. Вітчизняний препарат метаболіотропного характеру АТФ-лонг в умовах інтенсивних тривалих фізичних навантажень в експерименті приводить до покращення співвідношення прооксидантно-антиоксидантних параметрів, тобто пом'якшує вираженість окисного стресу.

2. Курсове застосування АТФ-лонг в умовах моделювання інтенсивних тривалих фізичних навантажень запобігає зниженню значення рН та супроводжується зростанням ступеня оксигенації крові, що опосередковано вказує на

поліпшення її кисень-транспортної функції.

3. Використання АТФ-лонг за фізичних навантажень в експерименті у щурів приводить до покращання параметрів електрокардіограм тварин.

4. Доведений позитивний вплив застосування АТФ-лонг на параметри фізичної працездатності експериментальних тварин, що обґрунтовує доцільність використання цього незабороненого Всесвітньою антидопінговою агенцією препарату як кардіопротектору з одночасною ергогенною дією.

References (список літератури)

1. Usacheva EV. [Myths and reality of cardioprotective therapy]. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; 9:546–559.
2. Serra-Grima R, Estorch M, Carrio I, Subirana M, Bernà L, Prat T. Marked ventricular repolarization abnormalities in highly trained athletes electrocardiograms: clinical and prognostic implications. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2000; 36(4):1310-1316.
3. Stephens F.B., Greenhaff P.L. Metabolic limitations to performance. The Olympic textbook of science in sport; Ed. by R.J. Maughan. Wiley-Blackwell, 2009: pp. 324–339.
4. Gavrilova EA. *Sportivnoe serdtse. Stressornaya kardiomiopatiya* [Athletic heart. Stressor cardiomyopathy]. Moskva: Sovetsky sport publ., 2007. 198 p.
5. Thiene G, Corrado D, Schiavon M, Basso C. Screening of competitive athletes to prevent sudden death: implement programmes now. *Heart*. 2013; 99(5):304–306. doi:10.1136/heartjnl-2012-302411.
6. Chekman I.S., Gorchakova N.A., Frantsuzova S.B., Nagornaya E.A. *Metabolitnyie i*

metabolitotropnyie preparaty v sisteme kardio- i organoproteksii [Metabolic and metabolototropic drugs in the system of cardio and organoprotection]. Kiev: Naukova dumka publ., 2009. 155 p.

7. Gunina Larisa, Milashyus Kazys. Implementation of the ergogenic action of antioxidative agents. *Problemyi, dostizheniya i perspektivy razvitiya mediko-biologicheskikh i sportivnyih nauk: materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakt. konferentsii* [Proceedings of the International scientific-practical. Conference: Problems, achievements and perspectives of development of medical-biological and sports sciences:]. Herson, 2016, pp. 230–237. (In English).
8. Gunina Larisa, Kostenko Vitaliy. [Cardioprotectors of direct action in sports: the present and the future.]. *Nauka v olimpiyskom sporte*. 2016; 4:44–58.
9. *Zaboronenyi spisok-2016. Mizhnarodniy standart* [Forbidden list-2016. International standard]. Vsesvitne antidopingove agentstvo, Kiev: 2016. 20 p.



10. Chekman IS, Gorchakova NA, Frantsuzova SB, Mintser VO, Svintsitskiy A.S. *Kardioprotektoryi* [Cardioprotectors]. Kiev: KMAPO imeni P.L. Shupika publ., 2005. 204 p.
11. Kirichek LT., Scherban NG. [Metabolite and metabolotrophic drugs in the system of stress protection]. *Mezhdunarodnyiy meditsinskiy zhurnal*. 2012;2:103–108.
12. Gunina Larisa. Metabolic cardioprotectors in sport: the focus on last changes in the WADA prohibited list (review). *Sporto Mokslas (Sport Science)*. 2016;4:50–56.
13. Haddad S, Wang Y, Galy B, Korf-Klingebiel M, Hirsch V, Baru AM, Rostami F, Reboll MR, Heineke J, Flögel U, Groos S, Renner A, Toischer K, Zimmermann F, Engeli S, Jordan J, Bauersachs J, Hentze MW, Wollert KC, Kempf TI. Iron-regulatory proteins secure iron availability in cardiomyocytes to prevent heart failure. *Eur. Heart J*. 2017; 38(5):362–372. doi: 10.1093/eurheartj/ehw333
14. Platonov VN, Oleynik SA, Gunina LM. *Doping v sporte i problemyi farmakologicheskogo obespecheniya podgotovki sportsmenov* [Doping in sport and problems of pharmacological support for the training of athletes]. Moskva: Sovetsky sport publ., 2010. 306 p.
15. Makarova G.A. *Farmakologicheskoe obespechenie sportivnoy deyatel'nosti: real'naya effektivnost i spornyye voprosy* [Pharmacological support of sports activities: real effectiveness and contentious issues]. Moskva: Sovetsky sport publ., 2013. 231 p.
16. Liu L, Li H, Cui Y, Li R, Meng F, Ye Z, Zhang X. Calcium Channel Opening Rather than the Release of ATP Causes the Apoptosis of Osteoblasts Induced by Overloaded Mechanical Stimulation. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 42(2):441–454. doi: 10.1159/000477592
17. Torrealba N, Aranguiz P, Alonso C, Rothermel BA, Lavandero S. Mitochondria in Structural and Functional Cardiac Remodeling. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017; 982:277–306. doi: 10.1007/978-3-319-55330-6_15
18. Akhmedov AT, Rybin V, Marin-García J. Mitochondrial oxidative metabolism and uncoupling proteins in the failing heart. *Heart Fail. Rev.* 2015; 20(2):227–249. doi: 10.1007/s10741-014-9457-4
19. Smolina N, Bruton J, Kostareva A, Sejersen T. Assaying Mitochondrial Respiration as an Indicator of Cellular Metabolism and Fitness. *Methods Mol Biol.* 2017; 1601:79–87. doi: 10.1007/978-1-4939-6960-9_7
20. Kozlovskiy VA, Shmaliy VI. [ATP as an instant messenger and an instant messenger as a therapeutic target]. *Liki Ukrayini*. 2008; 3(119):48–51.
21. Rozenfeld Aleksandr, Ryamova Kseniya. [Acidosis as a factor limiting muscular activity at physical exertion, and mechanisms of its formation]. *Nauka v olimpiyskom sporte*. 2016; 2:91–97.
22. Winslow RL, Walker MA, Greenstein JL. Modeling calcium regulation of contraction, energetics, signaling, and transcription in the cardiac myocyte. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 2016; 8(1):37–67. doi: 10.1002/wsbm.1322
23. Amosova EN, Bereza NV, Potapikova IV. [Effect of complex therapy with the inclusion of ATP-LONG on the diastolic function of the left ventricle in patients with ischemic heart disease at rest and under isometric loading]. *Likarska sprava*. 2002;3-4:48–50.
24. Tozzi-Ciancarelli MG, Di Massimo C, Mascioli A. Aging of human erythrocytes: the role of membrane perturbations induced by in vitro ATP-depletion. *Cell Mol. Biol.* 1992; 38(3):303–310.
25. Puckeridge M, Chapman BE, Conigrave AD, Kuchel PW. Membrane flickering of the human erythrocyte: physical and chemical effectors. *Eur. Biophys. J.* 2014; 43(4-5):169–177. doi: 10.1007/s00249-014-0952-2
26. Bielska AA Olsen BN, Gale SE. Side-Chain Oxysterols Modulate Cholesterol Accessibility through. *Membrane Remodeling. Biochemistry*. 2014. 53(18):3042–3051. doi:10.1021/bi5000096.
27. Gunina LM, Nosach OV. [Metabolic aspects of the effect of physical activity: oxidative stress and adaptation]. *Ukr. zhurnal klinichnoyi ta laboratornoyi meditsini*. 2012; 4:237–243.
28. Gunina Larisa, Bezuglaya Victoria. Metabolic markers of heart strain in athletes (a review). *Sporto Mokslas (Sport Science)*. 2017; 1:24–31.



29. Cordeiro RM. Reactive oxygen species at phospholipid bilayers: Distribution, mobility and permeation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014; 1838(1):438–444. doi: 10.1016/j.bbame.2013.09.016
30. Tereshina OP, Arkad'ev VG, Gomolyako IV. *Doklinichne vivchennya imunotoksichnoyi diyi likarskih zasobiv: metodichni rekomendatsiyi* [Pre-clinical study of immunotoxic activity of medicinal products: Methodical recommendations]. Kiev, 2000. 20 p.
31. *Bioetichna ekspertiza doklinichnih ta inshih naukovih doslidzhen, scho vikonyutsya na tvarinah. Metodichni rekomendatsiyi natsionalnogo komitetu z pitan bioetiki pri prezidiyi NAN Ukrayini, komitetu z bioetiki pri prezidiyi AMN Ukrayini, Institutu farmakologiyi i toksikologiyi AMN Ukrayini, Derzhavnogo farmakologichnogo tsentru MOZ Ukrayini.* [Bioethical examination of preclinical and other scientific researches carried out on animals: Methodical recommendations of the National Committee on Bioethics at the Presidium of the National Academy of Sciences of Ukraine, Bioethics Committee of the Presidium of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Institute of Pharmacology and Toxicology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, State Pharmacological Center of the Ministry of Health of Ukraine]. Kiev, 2006. 29 p. (In Ukrainian).
32. Paccaud JP, Carpentier JL, Schifferli JA. Direct evidence for the clustered nature of complement receptors type 1 on the erythrocyte membrane. *J. Immunol.* 1988; 141(11):3889–3894.
33. Bankova VV, Prischepova NF, Avratinskiy OI. [A method for evaluating pathological changes in the plasma membrane in children with various diseases]. *Patol. fiziol. i eksper. terapiya.* 1987; 3:78–81.
34. Shvets NI, Davydov VV. [Age features of changes in the glutathione system in the heart of rats with immobilization stress]. *Ukr. biohim. zhurn.* 2008; 80(6):74–78.
35. Abakumov MM, Davydov BV, Golikov AP, Golikov PP, Polumiskov VYu, Matveev SB, inventors. *Sposob integralnoy otsenki okislitel'nogo stressa pri neotlozhnyih sostoyaniyah* [Method of integral estimation of oxidative stress in urgent states]. Russian Patent, N 2002105650/15 RU, 2002.
36. Gunina LM. [Evaluation of the severity of oxidative stress as a component of biochemical control in sport]. *Medsina dlya sporta-2014: Materialy IV Vserossiyskogo Kongressa s mezhdunarodnyim uchastiem* [Proceedings of the Fourth All-Russian Congress with international participation: Medicine for sport-2014]. Kazan', 2014, pp. 61–63. (In Russian).
37. Nikulin BA, Rodionova II. *Biohimicheskiy kontrol v sporte* [Biochemical control in sports]. Moskva: Sovetsky sport publ., 2011. 228 p.
38. Volchegorskiy IA, Shaposhnik II, Alekseev EN, Harchenkova NV. [Content of products of peroxidation of lipids and ceruloplasmin in blood as an indicator of tolerance to physical activity in hypertrophic cardiomyopathy]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2002; 2:11–13.
39. Zapadnyuk IP, Zapadnyuk VI, Zahariya EA, Zapadnyuk BV. *Laboratornyie zhivotnyie. Razvedenie, sodержanie, ispolzovanie v eksperimente: Uchebnoe posobie* [Laboratory animals. Breeding, content, use in experiment: Tutorial]. Kiev: Vischa shkola publ., 1983. 383 p.
40. Bezuglaya Viktoriya. [Overspending the cardiovascular system at athletes: causes, manifestations, diagnosis, prevention]. *Nauka v olimpiyskom sporte.* 2016; 1:25–32.
41. Fleming N, Vaughan J, Feedback M. Ingestion of oxygenated water enhances lactate clearance kinetics in trained runners. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 2017; 14:9. doi: 10.1186/s12970-017-0166-y
42. Patlar S, Baltaci AK, Mogulkoc R. Effect of vitamin A administration on free radicals and lactate levels in individuals exercised to exhaustion. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2016; 29(5):1531–1534. PMID: 27731808
43. Pollard JR, Richardson S, Akhtar M, Lasry P, Neal T, Botting NP, Gani D. Mechanism of 3-methylaspartase probed using deuterium and solvent isotope effects and active-site directed reagents: identification of an essential cysteine residue. *Bioorg. Med. Chem.* 1999; 7(5):949–975. PMID: 10400348
44. Haynes JM, Cook AL. Protein kinase G-induced activation of K(ATP) channels



- reduces contractility of human prostate tissue. *Prostate*. 2006; 66(4):377–385. doi: 10.1002/pros.20355
45. Zhigunova A.K. [Cardioprotective drug ATP-long and its effect on metabolic processes in the myocardium]. *Ukrayinskiy medichniy chasopis*. 2012; 3(89):65–71.
46. Noordhof DA, de Koning JJ, Foster C. The maximal accumulated oxygen deficit method: a valid and reliable measure of anaerobic capacity? *Sports Med*. 2010; 40(4):285–302. doi: 10.2165/11530390-000000000-00000
47. Li Y, Niessen M, Chen X, Hartmann U. Method-induced Differences of Energy Contributions in Adolescent Female Kayaking. *Int. J. Sports Physiol. Perform*. 2017; 24:1–15. doi: 10.1123/ijsp.2016-0491
48. Ryibina IL, Miheev AA, Nehvyadovich AI. [Adaptive changes in homeostasis under the influence of intensive physical exercises]. *Voprosy kurortologiy, fizioterapii, lechebnoy fizkulturyi*, 2016; 93(1):21–24. PMID: 27030564
49. Yalyimov AA, Zadionchenko VS, Shehyan GG. [The use of myocardial cytoprotector meldonia in the therapy of coronary heart disease with comorbid complications]. *Consilium medicum*. 2013; 15(10):52–56.
50. Vdovenko NV, Lyahov OM, Mogilevich SE, Oliynik SA. [Membranotropic authorities "ATF-LONG"]. *Suchasni problemi nauki ta osviti: materialy V Mizhnarodnoy i mizhdistsiplinarnoyi naukovo-praktichnoy konferentsiyi* [Proceedings of the V International Interdisciplinary Sciences. Conference: Modern Problems of Science and Education]. Kharkiv: Vidavniichi tsentr Harkivskogo natsionalnogo unstitutu im. V.N. Karazina, 2004, p. 74 (In Ukrainian).
51. Gunina LM. [Mechanisms of influence of the probiotic "Laminolactate Sport" on the indicators of special training of qualified athletes.]. *Pedagogika, psihologiya i mediko-biologicheskie problemy fizicheskogo vospitaniya i sporta*. 2012; 4:36–43.
52. Ávila RA, Silva MASC, Peixoto JV, Kassouf-Silva I, Fogaça RTH, Dos Santos L. Mechanisms involved in the in vitro contractile dysfunction induced by different concentrations of ferrous iron in the rat myocardium. *Toxicol In Vitro*. 2016; 36:38–45. doi: 10.1016/j.tiv.2016.07.003
53. Klimenko OV, Chekman IS, Gorchakova NO. [Antitoxic properties of the ATP-Long preparation]. *Liki Ukrayini*. 2005, 3-4:4–11.
54. Sonobe T, Haouzi P. Sulfide Intoxication-Induced Circulatory Failure is Mediated by a Depression in Cardiac Contractility. *Cardiovasc Toxicol*. 2016; 16(1):67–78. doi: 10.1007/s12012-015-9309-z
55. Nagovitsyin AV, Ardashev VN, Voronkov YuI. [Kliniko-diagnosticheskie i ekspertnyie harakteristiki narusheniy serdechnogo ritma u pilotov gosudarstvennoy aviatsii]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2013; 47(3):43–49.

(received 21.06.2017, published online 29.09.2017)

(одержано 21.06.2017, опубліковано 29.09.2017)

