

Влияние физической нагрузки на концентрацию эндотелиальной NO-синтазы и фактора активации тромбоцитов в плазме у спортсменов

Капилевич Л.В.^{1,2}, Кологривова В.В.¹, Милованова К.Г.¹, Захарова А.Н.¹

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

² Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить влияние однократной физической нагрузки на концентрацию эндотелиальной NO-синтазы и фактора активации тромбоцитов в плазме крови у спортсменов, тренирующихся в циклических и силовых видах спорта, а также у нетренированных волонтеров.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 28 мужчин в возрасте 18–25 лет, условно здоровые, без нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы. В соответствии со спортивной классификацией было сформировано три группы. Группа 1 (ЛА): высококвалифицированные спортсмены (кандидаты в мастера спорта (КМС), мастера спорта (МС)) циклических видов спорта – легкая атлетика (бег на средние дистанции 800–1 500 м), $n = 10$. Группа 2 (ТА): высококвалифицированные спортсмены (КМС, МС) силовых видов спорта – тяжелая атлетика, $n = 8$. Группа 3 (КГ): контрольная группа – нетренированные мужчины, не имеющие спортивного разряда, $n = 10$. Все волонтеры проходили обследование утром натощак. За 1 сут до исследования спортсменам было рекомендовано прекратить тренировочный процесс. У всех испытуемых трижды бралась кровь из локтевой вены: до нагрузки (проба А), сразу после выполнения стандартной пробы PWC₁₇₀ на велоэргометре (проба В) и через 60 мин после выполнения нагрузочной пробы (проба С). Определение концентрации eNOS и PAF в плазме производилось методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Показано, что особенности эндотелиальной реактивности у спортсменов различных специализаций в сравнении с нетренированными волонтерами в значительной степени связаны с уровнем продукции eNOS как в покое, так и в ответ на кратковременные физические нагрузки. Фактор активации тромбоцитов также может оказывать влияние на эндотелиальную реактивность, но в меньшей степени, и вовлекается только в механизмы адаптации к регулярным нагрузкам высокой интенсивности.

Ключевые слова: эндотелий, легкая атлетика, тяжелая атлетика, тренировки.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет средств Российского научного фонда, проект № 16-15-10026-П.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Биологического института ТГУ (протокол № 33 от 02.12.2019).

Для цитирования: Капилевич Л.В., Кологривова В.В., Милованова К.Г., Захарова А.Н. Влияние физической нагрузки на концентрацию эндотелиальной NO-синтазы и фактора активации тромбоцитов в плазме у спортсменов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (1): 45–49. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-45-49>.

✉ Капилевич Леонид Владимирович, e-mail: kapil@yandex.ru.

Effect of physical load on the concentration of endothelial NO-synthase and platelet-activation factor in plasma of athletes

Kapilevich L.V.^{1,2}, Kologrivova V.V.¹, Milovanova K.G.¹, Zakharova A.N.¹

¹ National Research Tomsk State University (NR TSU)
36, Lenin Ave., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the effect of a single physical activity on the concentration of endothelial NO-synthase and platelet-activating factor in blood plasma of athletes training in cyclic and strength sports, as well as in untrained volunteers.

Materials and methods. The study involved 28 men aged 18–25 years, who were relatively healthy and had no disorders of the cardiovascular system. Three groups were formed according to the sports classification. Group 1 (TFG): highly qualified athletes (Candidates for Master of Sports (CMS), Master of Sports (MS)) of cyclic sports – track and field athletics (middle-distance running, 800–1500 m), $n = 10$. Group 2 (WG): highly qualified athletes (CMS, MS) of strength sports – weightlifting, $n = 8$. Group 3 (CG): control group – untrained men with no sports category, $n = 10$. All volunteers were examined in the morning on an empty stomach. One day before the study, the athletes were advised to stop the training process. The blood from cubital vein was taken from all the subjects three times: before exercise (test A), immediately after performing the standard PWC₁₇₀ test on a bicycle ergometer (test B), and 60 minutes after performing the stress test (test C). Determination of the concentration of endothelial NO-synthase (eNOS) and platelet-activating factor (PAF) in plasma was performed by enzyme immunoassay.

Results. It has been shown that the features of endothelial reactivity in athletes of various specializations in comparison with untrained volunteers are significantly associated with the level of eNOS production both at rest and in response to short-term physical exertion. Platelet-activating factor can also affect endothelial reactivity, but to a lesser extent, and is involved only in the mechanisms of adaptation to repetitive high-intensity physical loads.

Key words: endothelium, athletics, weightlifting, training.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out at the expense of the Russian Science Foundation, project No. 16-15-10026-P.

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee of the Biological Institute of TSU (Protocol No. 33 of 02.12.2019).

For citation: Kapilevich L.V., Kologrivova V.V., Milovanova K.G., Zakharova A.N. Effect of physical load on the concentration of endothelial NO-synthase and platelet-activation factor in plasma of athletes. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (1): 45–49. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-45-49>.

ВВЕДЕНИЕ

Систематические физические нагрузки различного характера оказывают модулирующее влияние на сердечно-сосудистую систему, потенцируют процессы адаптации всех ее компонентов, включая сосудистый эндотелий [1, 2]. Эти перестройки могут оказывать разнонаправленное влияние на риск развития гемодинамических расстройств. Это влияние может быть как положительным, сопровождающимся потенциацией эндотелий-зависимых реакций, так и не-

гативным [3]. В то же время механизмы описанных адаптационных перестроек остаются во многом неясными. В предыдущих наших публикациях [4, 5] было показано, что у спортсменов высокой квалификации имеет место угнетение функциональной активности эндотелия, причем величина его определяется интенсивностью и характером тренировочного процесса.

Механизмы реализации эндотелий-зависимого расслабления сосудов традиционно связывают с продукцией оксида азота (NO). При участии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) усиливается образо-

вание NO в эндотелии. Содержание eNOS в плазме различается в зависимости от характера физических нагрузок [6]. По всей вероятности, это может являться одной из причин противоположных реакций в тесте с манжетой у спортсменов, тренирующихся в различных видах спорта. Однако сведения о величине концентрации eNOS в крови у людей при физических нагрузках различного характера часто противоречивы. Так, после циклических нагрузок описывают возрастание концентрации eNOS в плазме на 36%, тогда как после длительной тренировки на выносливость – лишь на 14% [7]. Также есть сведения, что ациклические нагрузки субмаксимальной мощности не сопровождаются возрастанием содержания eNOS в крови в отличие от длительных и интенсивных нагрузок циклического характера [8].

Одновременно с влиянием эндотелиальных факторов в модификации кровотока при физических нагрузках может принимать участие и система гемостаза, особенно ее тромбоцитарное звено. При острой и длительной интенсивной физической нагрузке наблюдается склонность к гиперкоагуляции, особенно у нетренированных лиц. Острая физическая нагрузка максимальной интенсивности приводит к транзиторному повышению количества тромбоцитов. Активация тромбоцитов зависит от интенсивности физической нагрузки [9–11]. Важное место в этом процессе занимает фактор активации тромбоцитов (PAF) [12], рассматриваемый некоторыми исследователями как механизм компенсации, защищающий спортсменов от риска тромбозов и развития сердечно-сосудистых заболеваний [13].

Цель настоящего исследования – оценить влияние однократной физической нагрузки на концентрацию эндотелиальной NO-синтазы и фактора активации тромбоцитов в плазме крови у спортсменов, тренирующихся в циклических и силовых видах спорта, а также у нетренированных волонтеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 28 мужчин в возрасте 18–25 лет, условно здоровые, без нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы. В соответствии со спортивной классификацией было сформировано три группы. Группа 1 (ЛА): высококвалифицированные спортсмены (кандидаты в мастера спорта (КМС), мастера спорта (МС)) циклических видов спорта – легкая атлетика (бег на средние дистанции 800–1 500 м), $n = 10$. Группа 2 (ТА): высококвалифицированные спортсмены (КМС, МС) силовых видов спорта – тяжелая атлетика, $n = 8$. Группа 3 (КГ): контрольная группа – нетренированные мужчины, не имеющие спортивного разряд, $n = 10$.

Все волонтеры проходили обследование утром натощак. За 1 сут до исследования спортсменам было рекомендовано прекратить тренировочный процесс. У всех испытуемых трижды бралась кровь из локтевой вены: до нагрузки (проба А), сразу после выполнения стандартной пробы PWC₁₇₀ на велоэргометре (проба В) и через 60 мин после выполнения нагрузочной пробы (проба С).

Использовались пробирки Vacuette Premium (Greiner Bio-One, Австрия) с лития гепарином и разделительным гелем объемом 5 мл. Концентрация гепарина в пробирках составила 20 ед/мл. Центрифугирование образцов крови проводилось при помощи лабораторной центрифуги LMC 3000 (Biosan, Латвия) через 30 мин после забора крови. Центрифугирование осуществлялось в течение 11 мин при 2 000 об./мин. Плазма замораживалась и хранилась в морозильной камере при температуре –20 °С, срок хранения – не более 30 сут.

Определение концентрации eNOS и PAF в плазме производилось методом иммуноферментного анализа с использованием наборов RayBio Human eNOS ELISA Kit (RayBio, США) и Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Platelet Activating Factor (PAF) (Cloud-Clone Corporation, США) Все образцы разливались в двух экземплярах. Для анализа использовались планшеты с общим числом плоскодонных лунок 96 (размер планшета 12 × 8 лунок). Инкубация производилась на термошейкере для планшетов PST-60HL (Biosan, Латвия). Процедура промывки осуществлялась при помощи промывочного устройства Anthos Fluido 2 (Biochrom, Великобритания). Измерение оптической плотности образцов проводилось при помощи микропланшетного спектрофотометра Anthos 2010 с фильтрами (400–750 нм) и программой ADAP+ (Biochrom, Великобритания). Расчет оптической плотности образцов производился при длине волны 450 нм, референсная длина волны 620 нм.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистического анализа Statistica 8.0. Уровень значимости при проверке гипотезы принадлежности двух выборок к одной генеральной совокупности оценивался по тесту Краскела – Уоллиса (ANOVA test). Данные представлены в виде средней и ее ошибки $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты представлены в таблице.

У контрольной группы была зарегистрирована концентрация eNOS ($4,96 \pm 0,72$) нг/мл, что достоверно выше данного показателя в обеих группах спортсменов. Одновременно в этой группе мы зафиксировали максимальный прирост данного по-

казателя сразу после физической нагрузки и сохранение его на неизменном уровне в течение 1 ч. У спортсменов обеих групп концентрация eNOS в покое была достоверно ниже – в 2 раза у легкоатлетов и 4 раза у тяжелоатлетов. У спортсменов группы ЛА после физической нагрузки регистрировался прирост концентрации eNOS в 2,5 раза, через 1 ч она снизилась примерно на 30%. У тяжелоатлетов мы, напротив, отмечаем тенденцию к снижению концентрации eNOS в плазме после нагрузки, которая через 1 ч возвращалась к исходным значениям.

Таблица

Концентрация eNOS и PAF в плазме крови здоровых волонтеров, не занимающихся спортом (контроль), спортсменов-тяжелоатлетов и спортсменов-легкоатлетов до, после и через 60 мин после нагрузки, $M \pm m$				
Группа	Ед. измерения	До нагрузки (проба А)	После нагрузки (проба В)	Через 60 мин после нагрузки (проба С)
КГ, $n = 10$	eNOS, нг/мл	$4,96 \pm 0,72$	$22,5 \pm 4,11$ $p_4 < 0,001$	$22,25 \pm 3,82$ $p_4 < 0,001$
	PAF, пкг/мл	$47,93 \pm 3,25$	$52,04 \pm 4,25$	$53,98 \pm 5,37$
ЛА, $n = 10$	eNOS, нг/мл	$2,23 \pm 0,42$ $p_3 < 0,05$	$6,13 \pm 0,74$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,05$	$4,66 \pm 0,55$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,05$
	PAF, пкг/мл	$40,42 \pm 3,27$ $p_3 < 0,05$	$39,25 \pm 4,28$ $p_3 < 0,01$	$38,16 \pm 4,57$ $p_3 < 0,01$
ТА, $n = 8$	eNOS, нг/мл	$1,35 \pm 0,47$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	$1,05 \pm 0,21$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,65 \pm 0,07$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_5 < 0,05$
ТА, $n = 8$	PAF, пкг/мл	$39,67 \pm 4,04$ $p_2 < 0,05$	$38,62 \pm 3,55$ $p_2 < 0,01$	$45,15 \pm 3,24$ $p_1 < 0,001$

Примечание. Достоверность различий между группами: p_1 – ТА и ЛА, p_2 – ТА и КГ, p_3 – ЛА и КГ; p_4 – достоверность различий с пробой А; p_5 – достоверность различий с пробой В.

Полученные результаты хорошо соотносятся с ранее опубликованными нами данными о реактивности эндотелия у спортсменов различных специализаций [4, 5]. Мы показали, что у спортсменов высокой квалификации отмечаются признаки эндотелиальной дисфункции, более выраженные в группе занимающихся силовыми видами спорта. У спортсменов-легкоатлетов эндотелий-зависимая вазодилатация выражена гораздо слабее, а у тяжелоатлетов не регистрировалась вовсе; у нетренированных лиц она выражена в наибольшей степени.

Величина концентрации PAF в исследуемых группах различались не столь значительно (см. таблицу). В контрольной группе в покое она составляла ($47,93 \pm 3,25$) пкг/мл, у спортсменов обеих

групп была ниже на 15%. Во всех группах данный показатель практически не изменялся после физических нагрузок, и только у тяжелоатлетов через 1 ч после нагрузки было отмечено его незначительное увеличение. По всей вероятности, в результате регулярных тренировок происходит снижение концентрации PAF в плазме у спортсменов. Это может являться фактором подавления эндотелий-зависимой вазодилатации. Ряд исследователей полагают, что тромбоциты могут стимулировать эндотелиальные реакции за счет механического взаимодействия с поверхностью эндотелия. В то же время данный механизм, по всей вероятности, более инерционен в сравнении с eNOS и не участвует в краткосрочных эффектах после однократной физической нагрузки. У тяжелоатлетов повышение концентрации PAF может быть связано с застоем крови и травмированием мышечной ткани и микроциркуляторного русла.

Физическая нагрузка сопровождается возрастанием артериального давления [14], которое может оказывать влияние на рост эндотелиоцитов [15]. Кроме того, механические стимулы, связанные с изменением напряжения сдвига и растяжения сосудистой стенки, активируют внутриклеточные сигнальные каскады в эндотелии, что сопровождается активацией факторов транскрипции [4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очевидно, что особенности эндотелиальной реактивности у спортсменов различных специализаций в сравнении с нетренированными волонтерами в значительной степени связаны с уровнем продукции eNOS как в покое, так и в ответ на кратковременные физические нагрузки. Фактор активации тромбоцитов также может оказывать влияние на эндотелиальную реактивность, но в меньшей степени, и вовлекается только в механизмы адаптации к повторяющимся интенсивным физическим нагрузкам. Выявленные закономерности могут служить как механизмом адаптации к регулярным тренировочным нагрузкам, так и фактором риска острых гемодинамических дисфункций у спортсменов.

ЛИТЕРАТУРА

- Green D.J., Spence A., Rowley N. et al. Vascular adaptation in athletes: is there an athlete's artery? *Exp. Physiol.* 2012; 97 (3): 295–304. DOI: 10.1113/expphysiol.2011.058826.
- Laughlin M.H., Newcomer S.C., Bender S.B. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. *J. Appl. Physiol.* 2008; 104 (3): 588–600. DOI: 10.1152/jappphysiol.01096.2007.
- Lee D.C., Sui X., Artero E.G. et al. Long-term effects of changes in cardiorespiratory fitness and body mass index on all-cause and cardiovascular disease mortality in men: the Aer-

- obics Center Longitudinal Study. *Circulation*. 2011; 124 (23): 2483–2490. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.038422.
4. Kapilevitch L.V., Kologrivova V.V., Zakharova A.N., Mourot L. Post-exercise endothelium-dependent vasodilation is dependent of training status. *Front. Physiol.* 2020; 11: 348. DOI: 10.3389/fphys.2020.00348.
 5. Кологривова В.В., Захарова А.Н., Пахомова Е.В. и др. Характеристика эндотелий-зависимой вазодилатации у спортсменов и нетренированных мужчин. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (2): 42–46. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-42-46.
 6. Дьякова Е.Ю., Капилевич Л.В. Захарова А.Н. и др. Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (1): 20–26. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-1-20-26.
 7. Cocks M., Shaw C.S., Shepherd S.O. et al. Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. *J. Physiol.* 2013; 591 (3): 641–656. DOI: 10.1113/jphysiol.2012.239566.
 8. Frandsen U., Höffner L., Betak A. et al. Endurance training does not alter the level of neuronal nitric oxide synthase in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2000; 89 (3): 1033–1038. DOI: 10.1152/jap.2000.89.3.1033.
 9. Wang J.S., Liao C.H. Moderate-intensity exercise suppresses platelet activation and polymorphonuclear leukocyte interaction with surface-adherent platelets under shear flow in men. *Thromb. Haemost.* 2004; 91 (3): 587–594. DOI: 10.1160/TH03-10-0644.
 10. Whittaker J.P., Linden M.D., Coffey V.G. Effect of aerobic interval training and caffeine on blood platelet function. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2013; 45 (2): 342–350. DOI: 10.1249/MSS.0b013e31827039db.
 11. Hanke A.A., Staib A., Görlinger K. et al. Whole blood coagulation and platelet activation in the athlete: a comparison of marathon, triathlon and long distance cycling. *Eur. J. Med. Res.* 2010; 15 (2): 59–65. DOI: 10.1186/2047-783x-15-2-59.
 12. Сергиенко В.И., Кантюков С.А., Ермолаева Е.Н. и др. Хемиллюминесценция тромбоцитов при физических нагрузках разной интенсивности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 167 (6): 686–689. DOI: 10.1007/s10517-019-04610-0.
 13. De Meirelles L.R. et al. Chronic exercise leads to antiaggregant, antioxidant and anti-inflammatory effects in heart failure patients. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2014; 21 (10): 1225–1232. DOI: 10.1177/2047487313491662.
 14. Hawley J.A., Hargreaves M., Joyner M.J., Zierath J.R. Integrative biology of exercise. *Cell*. 2014; 159 (4): 738–749. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.029.
 15. Dzau V.J., Gibbons G.H., Morishita R., Pratt R.E. New perspectives in hypertension research. Potentials of vascular biology. *Hypertension*. 1994; 23: 1132–1140. DOI: 10.1161/01.hyp.23.6.1132.

Сведения об авторах

Капилевич Леонид Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ; ст. науч. сотрудник, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Кологривова Валерия Викторовна, аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Милованова Ксения Геннадьевна, аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Захарова Анна Николаевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск.

(✉) Капилевич Леонид Владимирович, e-mail: kapil@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.09.2020

Подписана в печать 25.12.2020