

ОБЩАЯ И ИНТЕГРАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

**АДАПТАЦИЯ К ГИПОКСИИ И ГИПЕРОКСИИ
ПОВЫШАЕТ ФИЗИЧЕСКУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ:
РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И РЕДОКС СИГНАЛИЗАЦИИ**

© Т. Г. Сазонтова,¹ О. С. Глазачев,^{2,3} А. В. Болотова,¹ Е. Н. Дудник,⁴
Н. В. Стряпко,¹ И. В. Бедарева,¹ Н. А. Анчишкина,¹ Ю. В. Архипенко¹

¹Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Россия, Москва;

²Международный институт социальной физиологии, Россия, 125009, Москва,
ул. Моховая 11, стр. 4, e-mail: glazachev@mail.ru;

³Московский государственный гуманитарный университет им. М. А. Шолохова;

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова

Проведено теоретическое обоснование, экспериментальный анализ и исследование возможности реализации защитных эффектов нового метода адаптации к гипоксии-гипероксии в повышении толерантности организма к физическим нагрузкам. Установлено, что сочетание тренировки к физическим нагрузкам с адаптацией к гипоксии-гипероксии повышает выносливость при острой физической нагрузке (ОФН). Анализ свободнорадикальных процессов, уровня антиоксидантов и белков HSP показал, что кратковременная тренировка к физическим нагрузкам, взятая отдельно, компенсирует стрессорную, но не гипоксическую компоненту ОФН, сочетание тренировки с адаптацией к гипоксии-гипероксии полностью нормализует обе компоненты. В исследовании оценена эффективность такой адаптации у квалифицированных молодых спортсменов с синдромом перетренированности. После курса гипоксии-гипероксии на фоне физических тренировок в облегченном режиме у спортсменов нормализуется вегетативный баланс, повышена устойчивость к острой гипоксии, уровень работоспособности, растут значения теста PWC170, максимального потребления кислорода и их относительных величин, снижена степень прироста двойного произведения на нагрузку. Подтверждены выводы экспериментальной части — гипоксия-гипероксия оптимизирует гипоксическую (устойчивость спортсменов к гипоксии) и стрессорную (экономичность работы миокарда при ОФН) компоненты в системных реакциях адаптации и восстановления спортсменов с перетренированностью.

Ключевые слова: адаптация, гипоксия, гипероксия, физическая выносливость (работоспособность), активные формы кислорода, антиоксиданты, HSP, спортсмены.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 98. № 6. С. 793—807. 2012

T. G. Sazontova,¹ O. S. Glazachev,^{2,3} A. V. Bolotova,¹ E. N. Dudnik,⁴ N. V. Stryapko,¹ I. V. Bedareva,¹ N. A. Anchishkina,¹ Yu. V. Arhipenko¹. ADAPTATION TO HYPOXIA AND HYPEROXIA IMPROVES PHYSICAL ENDURANCE: THE ROLE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND REDOX-SIGNALING (Experimental and Applied Study). ¹Faculty of Fundamental Medicine, M. Lomonosov Moscow State University; ²International Institute of Social Physiology, Moscow; ³M. A. Sholokhov Moscow State University for the Humanities; ⁴I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, e-mail: glazachev@mail.ru

We have conducted theoretical foundation, experimental analysis and a pilot study of a new method of adaptation to hypoxia and hyperoxia in the prevention of hypoxic and stress-induced disorders and improving the body's tolerance to physical stress. It has been shown in the experimental part that a combination of physical exercise with adaptation to hypoxia-hyperoxia significantly increased tolerance to acute physical load (APL) and its active phase. Analysis of lipid peroxidation processes, antioxidant enzymes and HSPs showed that short-term training for physical exercise by itself compensates the stressor, but not the hypoxic component of the APL, the combination of training with adaptation to hypoxia-hyperoxia completely normalizes the stressor and hypoxic components of APL. The pilot study has been performed to evaluate the effectiveness of hypoxic-hyperoxic training course in qualified young athletes with over-training syndrome. After completing the course of hypoxia-hyperoxia adaptation, 14 sessions, accompanied by light mode sports training, the athletes set the normalization of autonomic balance, increased resistance to acute hypoxia in hypoxic test, increased physical performance — increased PWC170, maximal oxygen consumption (VO₂max) parameters, their relative values to body mass, diminished shift of rate pressure product in the load. Thus, we confirmed experimental findings that hypoxic-hyperoxic training optimizes hypoxic (increased athletes resistance to proper hypoxia) and stress (myocardium economy in acute physical stress testing) components in systemic adaptation and restoration of athletes' with over-training syndrome.

Key words: hypoxia, hyperoxia, physical performance, ROS, SOD, HSPs, athletes.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 98. N 6. P. 793—807. 2012

В последние годы при внедрении инновационных технологий в область реабилитационной и спортивной медицины все больше внимания уделяется немедикаментозным способам повышения общей резистентности организма [6, 9, 18]. К таким методам относятся различные виды адаптации, например к стрессу, физическим и гипоксическим нагрузкам, изменению температуры окружающей среды. Ведется поиск новых способов адаптации, позволяющих сократить сроки формирования адаптационного ответа, уменьшить побочные реакции. Разрабатываются режимы более «мягкого» стрессорного или гипоксического воздействия для формирования приближенного к физиологическим условиям ответа клеток, тканей и организма в целом.

Последние 20 лет интенсивно изучается метод адаптации к периодической гипоксии, повышающий резистентность организма к действию повреждающих факторов, — интервальная нормобарическая гипоксическая тренировка (ИНГТ) [20, 21]. В основе ее действия лежит адаптация собственно к гипоксии, а также к периодам реоксигенации в момент возвращения к дыханию воздухом с нормальным содержанием кислорода, при этом уровень кислорода при сеансах нормоксии является относительно повышенным для организма, только что перенесшего формы кислорода (АФК), что может оказать повреждающее действие и/или запустить каскад редокс-сигнального пути, приводящего к формированию адаптационного ответа и повышению резистентности [27].

Помимо известной роли избыточного уровня АФК в развитии патологических состояний образование АФК и инициация свободнорадикальных процессов являются естественными физиологическими процессами, постоянно протекающими в организме. Главными физиологическими функциями АФК являются: а) окисление различных поврежденных молекул с целью их дальнейшей утилизации [13, 46], б) синтез молекул мессенджерного типа, например эйкозаноидов, при свободнорадикальном окислении ПНЖК фосфолипидов [32, 37] и в) участие в редокс-сигнализации и внутриклеточной системе передачи внешнего сигнала к клеточному ядру с последующим синтезом белков [26, 41]. Благодаря АФК, инициирующим редокс-сигнализацию, в отсутствие специфических рецепторов развивается клеточный ответ на действие гипоксии, окислителей и восстановителей. Медиаторы, действие которых опосредовано специфическими рецепторами, например гормональными, также активируют неспецифическую редокс-сигнализацию, что является основой перекрестных эффектов адаптации, при которых тренировка к одному повреждающему фактору повышает резистентность организма к дейст-

вию другого фактора. В нашем случае адаптация к изменению уровня кислорода использована для повышения эффективности тренировок к физическим нагрузкам.

Важнейшим следствием инициации редокс-сигнализации является активация факторов транскрипции: NF- κ B [28], AP-1 [34], HIF-1 α , HIF-3 α [41, 47], индуцирующих защитные белки, среди которых ферменты антиоксидантной защиты, белки семейства HSP, Fe-регулирующие белки, ферменты репарации, пероксиредоксины [15, 17, 30, 34, 35, 38]. В результате клетки насыщаются протекторными молекулами (причем сформированная эндогенно защита эффективней внешней) при экзогенных добавках [33]. Повторная, ограниченная, генерация АФК является механизмом повышения резистентности организма при стрессе [15], физической тренировке [36], холодовой адаптации [43], введении адаптогенов [39, 42], диете, обогащенной субстратами окисления, — ПНЖК n-3 класса [16, 33], интервальной гипобарической гипоксии [22]. В целом периодическое действие фактора внешней среды приводит к периодически повторяющейся ограниченной генерации АФК и индуцированному синтезу защитных белков [14].

Применение интервальной гипоксической тренировки для повышения спортивных достижений применяется на протяжении более 30 лет [6, 24, 45]. Основные вопросы при этом — за счет каких системных и молекулярных механизмов повышается устойчивость к острым физическим нагрузкам (ОФН) и работоспособность спортсменов, какова «цена» такого повышения, возможно ли сократить длительность курса тренировок и как увеличить положительный эффект адаптации без побочных эффектов?

Ранее нами было показано, что формирование защитного эффекта за более короткое время требует углубления гипоксии, увеличения АФК-сигнала, что ведет к массивному синтезу защитных белков и тем не менее отсутствию ограничения интенсивности АФК-процессов [40]. Для увеличения АФК-сигнала без побочных эффектов периоды нормоксии при адаптации к гипоксии были заменены периодами умеренной гипероксии, что усилило АФК-сигнал без углубления гипоксической составляющей. Новый вид адаптации к гипоксии и умеренной гипероксии (Г/Г) [2] по сравнению с гипоксией-нормоксией (Г/Н) отличается более ранним повышением резистентности мембранных структур [14]. Показана потенциальная способность нового метода адаптации к Г/Г в защите мембранных структур от АФК-индуцированных повреждений *in vitro* [14], положительный эффект нормобарической интервальной гипоксии с дозированной оксигенацией в пульмонологии [5, 19].

Данная работа также выполнялась в рамках этой новой поисковой темы. Учитывая, что адаптация к комбинированному действию нескольких факторов внешней среды — гипоксии, холоду, иммобилизации, физической нагрузке и др. — может обладать большей эффективностью, чем адаптация к каждому из них по отдельности, и что истощающая физическая нагрузка, подобно соревновательной, обладает гипоксической и стрессорной компонентой, было предположено, что тренировка к физическим нагрузкам, совмещенная с адаптацией к интервальной гипоксии-гипероксии, может оказаться более эффективной в отношении результата — повышения физической выносливости без высокой «затратности» для организма. Однако подобные исследования малочисленны, а в отношении адаптации к гипоксии-гипероксии вообще не проводились, поэтому вопрос об эффективности такой комбинированной адаптации оставался открытым. Поиск ответа на этот вопрос явился предметом настоящего исследования.

Цель исследования — изучение возможности реализации защитных эффектов адаптации к гипоксии и гипероксии в предупреждении стрессорных и гипоксических нарушений и повышении толерантности организма к физическим нагрузкам.

МЕТОДИКА

Комплексные экспериментальные и прикладные исследования выполнены в два этапа. На первом — сравнили действие различных видов адаптации к изменению уровня кислоро-

да в предупреждении нарушений, индуцированных истощающей ОФН, и в повышении эффективности физических тренировок. На втором — выполнили исследование эффективности адаптации к интервальной гипоксии-гипероксии совместно с регулярными физическими нагрузками для устранения синдрома перетренированности и повышения работоспособности у квалифицированных спортсменов.

Первый этап

Общий план исследования. Работа проведена на 45 крысах-самцах линии Вистар массой 200—230 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария факультета фундаментальной медицины МГУ. Определяли эффективность физической тренировки, взятой отдельно и в комбинации с адаптацией к изменению уровня кислорода — к Г/Н и Г/Г, в повышении физической выносливости, нормализации свободнорадикальных процессов и уровня защитных белков HSP.

Острую физическую нагрузку (ОФН) проводили плаванием до отказа при 21 °С с грузом, составляющим 5 % от массы тела. Фиксировали общую длительность плавания и длительность активной фазы. Забор тканей проводили через 2 ч после нагрузки.

Адаптацию к изменению уровня кислорода проводили в нормобарических условиях с использованием воздушной смеси со сниженным и повышенным уровнем кислорода с помощью установки, работающей по принципу мембранного деления газов — оригинальной разработки Лаборатории адаптационной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова (рук. проф. Ю. В. Архипенко) совместно с НПФ «Метакс». При адаптации к интервальной Г/Н чередовали 5-минутные интервалы 10 % O₂ и 3-минутной нормоксии по 64 мин в день, 15 дней. При новом режиме адаптации к Г/Г чередовали периоды 5-минутной 10 % O₂ и умеренной гипероксии — 3-минутной 30 % O₂ по 64 мин в день, 15 дней. Длительность сеансов увеличивали постепенно — с 1-го дня — 20 мин к 3-му и далее — 64 мин.

Совмещение адаптационных воздействий — адаптации к изменению уровня кислорода и физической тренировки — 8Пл (умеренный режим — 24 °С, 8 дней по 30 мин, увеличивая сеансы от 10 мин) проводили у контрольных животных и через 2 ч после адаптации к Г/Н или к Г/Г начиная с 8-го дня адаптации.

Интенсивность свободнорадикального окисления оценивали по скорости накопления продуктов перекисного окисления липидов при его индукции *in vitro* в системе Fe²⁺+аскорбат. Уровень малонового диальдегида и его производных определяли в реакции с ТБК по максимуму спектра поглощения.

Активность ферментов антиоксидантной защиты определяли спектрофотометрически — Cntra 10e, в линейной области: каталазы — по потреблению H₂O₂ при 240 нм, супероксиддисмутазы — по изменению скорости образования супероксида в системе ксантин-ксантинооксидаза при 560 нм по скорости образования формазана из NBT. Предварительно удаляли гемоглобин при экстракции смесью хлороформ-этанол.

Уровень белков HSP — индуцибельных HSP72 и HSP32, конститутивных HSC73 — определяли в цитоплазматической фракции сердца с использованием аппаратуры Bio-Rad 3System, переноса на PVDF мембрану в системе SemiDry, первых моноклональных антител (Stressgen, Канада) и вторых антител, конъюгированных с пероксидазной меткой (SantaCruz, США). При детектировании использовали ECL реагенты Amersham и рентгенографическую пленку Kodak. Положительным контролем служили образцы, выделенные из термически обработанных клеток H35 (41.5 °С, 30 мин).

Результаты первого этапа

Масса животных. Сравнение массы животных до и после эксперимента показало отсутствие значимого снижения во всех группах от контроля, свидетельствуя, что выбранный режим тренировки является умеренным для организма. Одна-

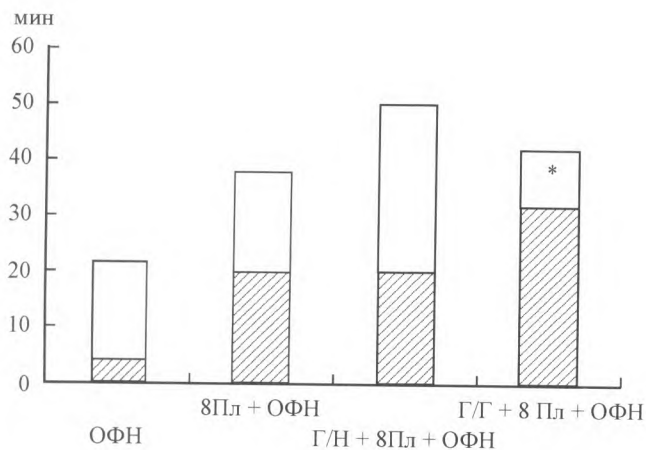


Рис. 1. Эффект применения адаптации к гипоксии—нормоксии (Г/Н) и к гипоксии—гипероксии (Г/Г) совместно с тренировкой к физическим нагрузкам на общую длительность плавания и длительность фазы активного плавания — более интенсивный цвет.

ОФН — острая физическая нагрузка плаванием до отказа с 5%-ным грузом у контрольных животных; 8Пл + ОФН — ОФН после тренировки к физическим нагрузкам, 8 сеансов; Г/Н + 8Пл + ОФН — после физической тренировки, совмещенной с адаптацией к Г/Н; Г/Г + 8Пл + ОФН — ОФН после физической тренировки, совмещенной с адаптацией к Г/Г. * Достоверность отличий ($p < 0.05$) от 8Пл + ОФН (Mann—Whitney U-Test).

ко зарегистрировано достоверное различие между адаптацией к Г/Н и к Г/Г. Масса животных в группе, сочетающей тренировку к физическим нагрузкам с адаптацией к Г/Г, после ОФН была достоверно выше, чем в группе Г/Н + 8Пл + ОФН, прирост составил за время эксперимента 19.4 г, т. е. ОФН после адаптации к Г/Г, совмещенной с тренировкой к плаванию, не только не снижает массы животных, а, возможно, стимулирует синтез белков.

Длительность плавания. После тренировки к физической нагрузке как в сочетании с адаптацией к изменению уровня кислорода, так и без общая длительность плавания до истощения достоверно увеличилась. В случае отдельной физической тренировки (8Пл+ОФН) время тестирующей ОФН увеличено на 54 %. При совмещении физической тренировки с адаптацией к Г/Н (Г/Н + 8Пл + ОФН) и Г/Г (Г/Г + 8Пл + ОФН) этот показатель увеличен в 2.3 и в 2 раза соответственно, относительно ОФН. (рис. 1). Еще более наглядные результаты получены при оценке длительности фазы активного плавания.

Восьмидневная физическая тренировка — группа 8Пл+ОФН — достоверно увеличивала длительность активной фазы по сравнению с контрольными животными (ОФН), а доля активной фазы в общем времени удерживания на воде составляла 52 %. Сочетание адаптации к Г/Н с физической тренировкой (Г/Н + 8Пл + ОФН) увеличивает длительность плавания в целом, но не длительность активной фазы. По сравнению с группой 8Пл + ОФН доля активной фазы при Г/Н даже уменьшается с 52 до 40 % от общего времени удерживания на воде. Только добавление к физическим тренировкам адаптации к Г/Г (Г/Г + 8Пл + ОФН) увеличивает время активной фазы на 24 % от 8Пл + ОФН.

Таким образом, растет длительность выполнения ОФН при сочетании физической тренировки с адаптацией к Г/Н и Г/Г, но только при сочетании ее с адаптацией к Г/Г увеличивается длительность активной фазы, еще больше повышая физическую выносливость.

Интенсивность свободнорадикальных процессов и активность ферментов антиоксидантной защиты сравнили при ОФН после тренировки к плаванию отдельно и на фоне адаптации к изменению уровня кислорода. После ОФН уровень

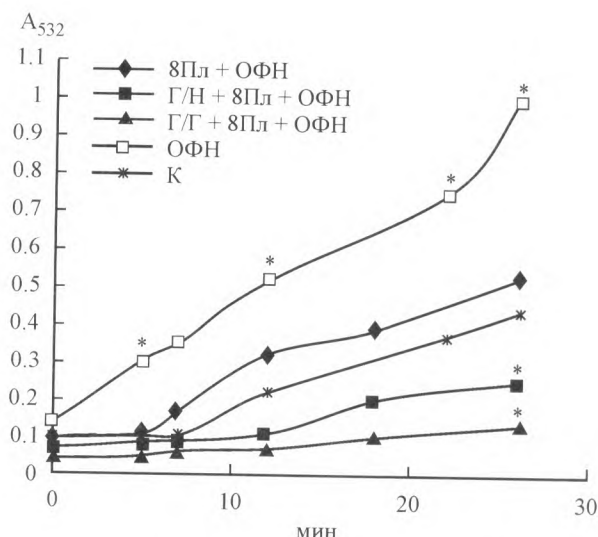


Рис. 2. Эффект адаптации к Г/Н и Г/Г совместно с физической тренировкой на динамику (в минутах — по оси абсцисс) накопления ТБК-активных продуктов свободнорадикального окисления (в ед. оптич. плотности, A_{532} — по оси ординат) при его индукции *in vitro* в ткани печени.

К — контроль; обозначения групп — см. рис. 1. * Достоверность отличий ($p \leq 0.05$) от контроля (Mann—Whitney U-Test).

индуцируемого свободнорадикального окисления в высокочувствительной к действию АФК ткани печени возрастает более чем в 2 раза, что свидетельствует о резком снижении резистентности к АФК-зависимому повреждению. Тренировка к физическим нагрузкам сама по себе (8Пл + ОФН) и в комбинации с адаптацией к изменению уровня кислорода (Г/Н + 8Пл + ОФН и Г/Г + 8Пл + ОФН) снижает уровень свободнорадикальных процессов после ОФН (рис. 2). Так, после ОФН на фоне прямой адаптации к физическим нагрузкам (8Пл + ОФН) скорость накопления продуктов перекисного окисления липидов достоверно не отличается от контроля и значительно ниже, чем в группе ОФН ($p < 0.05$). Проведение тренировок к плаванию на фоне адаптации к изменению уровня кислорода приводило к еще большему снижению интенсивности свободнорадикального окисления. Важно, что такая компенсация индукции АФК-процессов происходила на фоне увеличения длительности самого стрессорного воздействия — истощающей ОФН.

Компенсация свободнорадикальных процессов после восьмидневной тренировки реализуется, в том числе и за счет достоверного повышения активности обоих ферментов по сравнению с ОФН и контролем. Активность СОД была на 24 % выше контроля, каталазы — на 35 %. Как в группе ОФН, так и тренировки к физическим нагрузкам (8Пл + ОФН) изменили физиологическое соотношение про- и антиоксидантов.

Сочетание физической тренировки с адаптацией к Г/Н и особенно к Г/Г не только снижает уровень окисления, но и не вызывает значительной активации защитных систем. При сочетании тренировки с адаптацией к Г/Н (Г/Н + 8Пл + ОФН) это проявляется в снижении уровня СОД, а при сочетании с адаптацией к Г/Г (Г/Г + 8Пл + ОФН) — в отсутствие достоверного повышения как СОД, так и каталазы (рис. 3).

По-видимому, синтез этих ферментов является своеобразной «ценой» повышенной резистентности при тренировке к физическим нагрузкам. Сочетание ее с адаптацией к Г/Г ведет к более рациональному механизму реализации защиты от

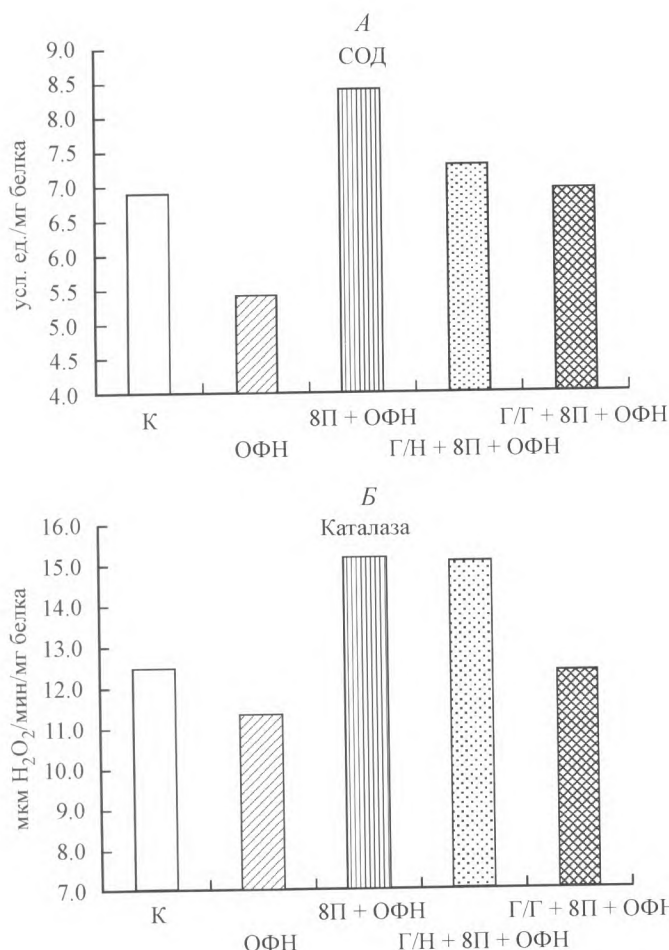


Рис. 3. Эффект адаптации к Г/Н и Г/Г совместно с тренировкой к физическим нагрузкам на активность.

А — супероксиддисмутаза (СОД) и Б — каталаза в печени. Обозначения групп — см. рис. 1. * Достоверность отличий от контроля (Wilcoxon Matched Pairs Test), $p < 0.05$.

свободнорадикальных повреждений. Важно, что именно при таком восстановлении баланса прооксидантов и антиоксидантов увеличена эффективность физической тренировки.

Другими словами, совмещение двух видов адаптации — к изменению уровня кислорода и к физической тренировке — предупреждает как снижение уровня защитных систем при ОФН, так и их чрезмерную активацию при тренировке к физическим нагрузкам, снижая «цену» и повышая эффективность такой физической тренировки.

Уровень белков семейства HSP: HSP72, HSP32, HSC73. Подобные закономерности были обнаружены и для других протекторных белков, в частности трех белков семейства HSP: индуцибельных форм HSP72 и HSP32 и конститутивной HSC73.

Активация синтеза HSP происходит как после теплового шока, так и при окислительном стрессе [44], гипоксии [23]. Для индуцибельного HSP72 характерна ускоренная и массивная экспрессия в ответ на стрессорные воздействия раз-

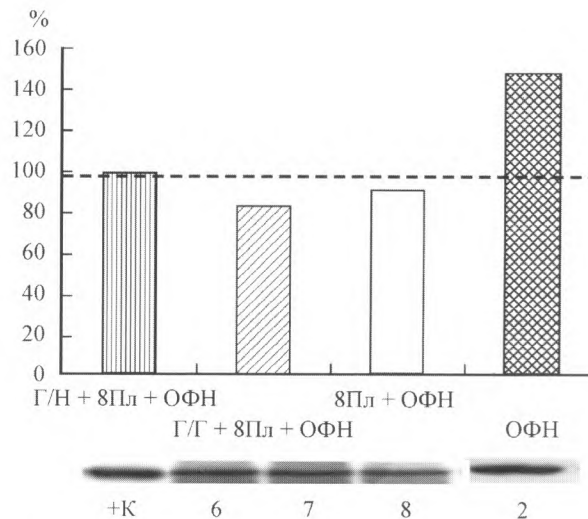


Рис. 4. Эффект адаптации к Г/Н и Г/Г совместно с физической тренировкой на уровень индуцибельного стресс-белка HSP72 в миокарде.

К — контроль, взят за 100 %, пунктирная линия; обозначения групп — см. рис. 1. +К — положительный контроль — образцы из клеток H35, после термовоздействия (41.5 °C, 30 мин).

личной природы, сопровождающиеся денатурационными изменениями белков. HSP32 является индуцибельной изоформой гем-оксигеназы. Изменение ее уровня нужно рассматривать в комплексе с изменением уровня других АФК-индуцированных белков. Так, ее индукция может указывать на присутствие как АФК-сигнала, так и гипоксической составляющей воздействия, в то время как повышение уровня HSP72 отмечают при АФК-зависимых стрессорных воздействиях, но не при отдельно взятой гипоксии [1]. Поэтому одновременная индукция HSP72 и HSP32 свидетельствует о наличии АФК-сигнала, а в случае отсутствия изменений в уровне HSP72, но наличия индукции HSP32 — о гипоксическом сигнале. Конститутивный белок HSC73 постоянно экспрессируется при физиологических условиях, в отсутствие стресса выполняет функцию молекулярного шаперона для вновь синтезируемых белков, участвует в их транспорте либо в протеасомной деградации необратимо поврежденных белков, уровень HSC73 может свидетельствовать о гипоксической компоненте адаптационного процесса [1, 4].

Разработанный нами недавно комплексный анализ изменения этих белков позволяет судить о вкладе стрессорной и гипоксической компоненты воздействия.

ОФН вызывает индукцию HSP72, уровень его повышается на 61% от контроля. Тренировка к физическим нагрузкам (8Пл + ОФН), а также ее сочетание с адаптацией к изменению уровня кислорода (Г/Н + 8Пл + ОФН и Г/Г + 8Пл + ОФН) компенсирует стрессорную компоненту, и уровень HSP72 снижается до контроля (рис. 4). Это подтверждает, что ОФН является стрессорным фактором для организма, а тренировка к физической нагрузке как в сочетании с адаптацией к Г/Н и Г/Г, так и без нее предупреждает рост интенсивности АФК-процессов, что согласуется с предыдущими результатами.

Однако в отношении уровня других белков семейства HSP результаты иные — после тренировки (8Пл + ОФН) повышен уровень HSP32 (на 34 % от контроля и на 43 % от ОФН) и HSC73 (на 24 % от контроля), т. е. увеличена гипоксическая компонента воздействия (рис. 5, А и Б). Физическая тренировка, совмещенная с адаптацией к изменению уровня кислорода, снижает этот эффект. При сочетании физических тренировок с адаптацией к Г/Н (Г/Н + 8Пл + ОФН)

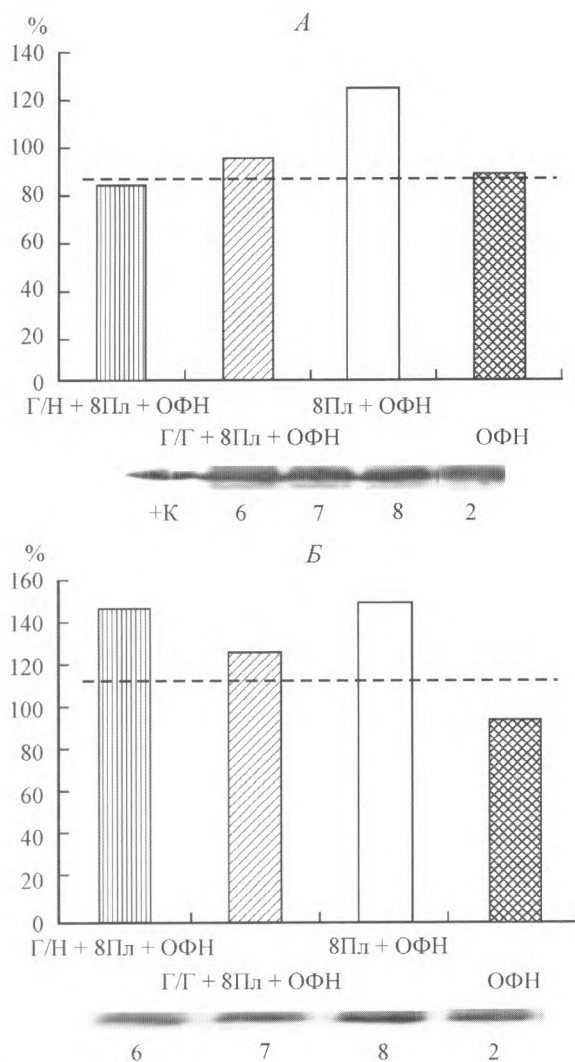


Рис. 5. Эффект адаптации к Г/Н и Г/Г совместно с тренировкой к физическим нагрузкам на уровень индуцибельного белка HSP32 (А) и конститутивного белка HSP73 (Б) в сердце. Контроль, 100 %, пунктир; обозначения групп — см. рис. 1.

снижен уровень HSP32, при сочетании с Г/Г (Г/Г + 8Пл + ОФН) эффект выше — нормализуется уровень обоих белков.

Кратковременная тренировка к физическим нагрузкам, взятая отдельно, компенсирует стрессорную, но не гипоксическую компоненту ОФН. Сочетание тренировки с адаптацией к Г/Н частично компенсирует гипоксическую компоненту, а с адаптацией к Г/Г полностью нормализует стрессорную и гипоксическую компоненты ОФН.

Результаты первого этапа свидетельствуют о положительном влиянии адаптации к гипоксии-гипероксии на показатели физической выносливости, баланс про- и антиоксидантов, белки HSP, что в целом свидетельствует в пользу применения этого вида адаптации для подготовки к интенсивным и соревновательным физическим нагрузкам.

Для апробации и оценки эффективности предложенного нового варианта метода интервальных нормобарических гипоксических тренировок — режима интервальной гипоксически-гипероксической тренировки (ИГГТ) как более эффективного в потенцировании физической работоспособности выполнено исследование с группой квалифицированных молодых спортсменов. В исследовании приняли участие 15 спортсменов-легкоатлетов, 18—20 лет (7 мужчин и 8 женщин) со спортивной квалификацией КМС и МС (спортивный стаж 7—9 лет) с верифицированным синдромом перетренированности, снижением общей функциональной готовности и специальной работоспособности. Для коррекции сниженных функциональных возможностей им был предложен курс ИГГТ (14 процедур по 45 мин в режиме 3 раза в неделю) в качестве моновоздействий на фоне регулярных облегченных физических тренировок (после тренировок через 1.5—2 ч). Для создания газовых смесей с содержанием O_2 от 10 до 35 % использовали опытный образец прибора Reoxy (производство «AI Mediq», Люксембург).

Перед началом курса определяли индивидуальную чувствительность спортсменов к гипоксии путем проведения 10-минутного гипоксического теста (ГТ — дыхание через маску газовой смесью с 10 %-ным содержанием O_2) с ежеминутным мониторингом ЧСС и насыщения гемоглобина кислородом (So_2). Процедуры ИГГТ проводили в интервальном режиме — начинали с подачи через маску гипоксической газовой смеси (ГГС) с 11 % O_2 (5—7 мин), затем 2—3 мин — гипероксической газовой смеси с 30 % O_2 . Переключение газовых смесей при каждой процедуре осуществлялось автоматически по специальным алгоритмам (биообратная связь) [7], за процедуру чередовали 6—8 циклов.

До курса процедур ИГГТ и на 3—4-й день по их завершении спортсмены проходили комплексное обследование, которое проводилось в первой половине дня и включало: анализ состояния вегетативной регуляции методом кардиоинтервалографии (АПК «ВНС-спектр», ООО «Нейрософт», Иваново, 2002) с оценкой временных и частотных характеристик variability сердечного ритма (BCR) в соответствии с известными стандартами [8]. В качестве временных характеристик BCR рассчитывали ЧСС, уд/мин; среднее квадратичное отклонение величин RR интервалов за всю эпоху (SDNN, мс); коэффициент вариации (CV, %). Вычисляли индекс напряжения регуляторных систем (ИН, усл. ед.). При частотном анализе общей variability эпохи кардиоинтервалов определяли общую мощность спектра BCR—TP, а также мощности в отдельных диапазонах: высокочастотном (HF, %), низкочастотном (LF, %), сверхнизкочастотном (VLF, %). Вычисляли индекс симпатопарасимпатического взаимодействия LF/HF [10]; оценивали уровень физической работоспособности с использованием теста PWC170 и расчетом показателей абсолютной и относительной (на кг массы тела) работоспособности в модификации В. Л. Карпмана [11], максимального потребления кислорода — МПК, МПК/кг, а также экономичности выполнения нагрузки (индексы инотропного и хронотропного резерва — ИИР и ИХР, показатель «двойного произведения» — ДП) [11].

Полученные в динамике курса ИГГТ данные сравнивались с результатами динамического тестирования 19 спортсменов той же спортивной квалификации без признаков перетренированности, выполняющих тренировки в обычном режиме с аналогичными нагрузками. Результаты представлены в виде $M \pm m$. В рамках исследования эффективности и безопасности метода ИГГТ по организационно-методическим и этическим соображениям не планировались группы двойного слепого контроля (спортсмены с перетренированностью, прошедшие имитированные процедуры) для исключения плацебо-эффектов и группы сравнения спортсменов, прошедших курс гипоксии-нормоксии. Эти ограничения будут преодолены на последующих этапах работы.

При исходном тестировании все спортсмены группы ИГГТ имели признаки снижения общей и специальной тренированности: ухудшение общего самочувствия, повышенную утомляемость (80 %), высокий уровень субъективной тревоги (66.6 %), признаки вегетативной дисрегуляции по симпатикотоническому типу центрального генеза — сниженные по отношению к нормативам спортсменов значения ТР, умеренно повышенные значения LF, VLF, сниженный вклад дыхательной периодики — HF (табл. 1). Уровень работоспособности практически у всех участников исследования был снижен, а показатели, отражающие физиологическую «цену» выполняемой нагрузки, повышены по сравнению с результатами тестирования 19 спортсменов без признаков перетренированности, тренирующихся в обычном режиме с аналогичными нагрузками.

После прохождения курса ИГГТ на фоне спортивных тренировок в облегченном режиме установлено улучшение функционального состояния спортсменов, повышение уровня работоспособности. Выявлено существенное повышение значений PWC170, МПК и их относительных величин (максимально приближенные к данным группы сравнения), а также достоверное снижение степени прироста значений ЧСС, АД, двойного произведения (ΔДП), ИХР и ИИР (табл. 1), что свидетельствует о повышении хроноинотропных резервов миокарда и экономизации работы кровообращения при выполнении тестирующей физической нагрузки той же мощности.

По завершении курса ИГГТ отмечено существенное повышение устойчивости спортсменов к острой моделируемой гипоксии в повторно выполненном гипоксическом тесте — достоверно меньшая степень снижения насыщения гемоглобина O₂ и повышения степени прироста ЧСС при повторном ГТ (табл. 2). Значимых гематологических сдвигов не происходило, что может свидетельствовать о «физиологичности» тренировки, ее невысокой «цене» для организма, это выражалось в отсутствии необходимости активации эритропоэза у предварительно физически тренированных лиц [31].

Т а б л и ц а 1

Динамика показателей физической работоспособности и вегетативного статуса у спортсменов в курсе ИГГТ ($n = 15$, $M \pm m$)

Показатель	Исходно	После курса ИГГТ
МПК/МТ, мл/кг	46.4 ± 1.3 ($53.4 \pm 1.8^*$)	50.37 ± 1.39 ($p = 0.001$) (54.7 ± 1.6)
PWC170, кгм/мин	1025 ± 71 ($1225 \pm 84^*$)	1151 ± 71 ($p = 0.001$) (1278 ± 93)
PWC170/МТ, кгм/мин/кг	15.79 ± 0.75 ($19.26 \pm 0.64^*$)	17.98 ± 0.76 ($p = 0.005$) (19.88 ± 0.71)
ИХР, %	65.8 ± 3.6 ($50.8 \pm 4.1^*$)	54.8 ± 5.4 ($p = 0.01$) (49.6 ± 3.8)
ИИР, %	50.0 ± 5.3 (37.5 ± 4.9)	38.0 ± 5.9 ($p = 0.01$) (36.8 ± 5.0)
ДПнагр., усл. ед.	248 ± 8.5 ($208 \pm 8^*$)	213 ± 11 ($p = 0.08$) (199 ± 11)
ΔДП, усл. ед.	167 ± 8 (128 ± 9)	132 ± 12 ($p = 0.007$) (127 ± 9)
ТР, мс ²	3118 ± 456 (4503 ± 512)	3890 ± 337 ($p = 0.1$) (4654 ± 521)
VLF, мс ²	1410 ± 204 (1610 ± 315)	1298 ± 136 (1740 ± 404)
LF, мс ²	1300 ± 566 (860 ± 340)	801 ± 209 ($p = 0.005$) (828 ± 420)
HF, мс ²	277 ± 170 ($1100 \pm 344^*$)	624 ± 168 ($p = 0.005$) (1167 ± 501)
LF/HF	8.01 ± 5.51 ($2.2 \pm 1.0^*$)	1.45 ± 0.71 ($p = 0.007$) (1.81 ± 0.95)
ЧСС покоя, уд/мин	68.2 ± 5.3 (62.4 ± 3.8)	67.12 ± 3.72 (60.4 ± 4.6)

Примечание. В скобках — значения группы сравнения, $n = 19$. * Достоверность отличий, $p \leq 0.05$ и выше по отношению к данным группы сравнения (Mann—Whitney U-Test). Значения p в скобках — достоверность различий по отношению к исходным данным в группе ИГГТ.

Т а б л и ц а 2

Динамика показателей гипоксической устойчивости
и гематологических сдвигов
у спортсменов в курсе ИГГТ ($M \pm m$)

Показатель	Исходно	После курса ИГГТ
SaO ₂ min, %	77.9 ± 1.8 (83.7 ± 2.1) *	84.2 ± 1.5 ($p = 0.001$) (85.7 ± 3.0)
ЧСС max, уд/мин	82.2 ± 3.9 (79.7 ± 3.1) *	76.6 ± 3.0 ($p = 0.01$) (77.7 ± 2.3)
ΔSaO ₂ , %	-19.3 ± 2.1 (-15.7 ± 3.1)	-12.2 ± 1.5 ($p = 0.002$) (-13.7 ± 2.1)
ΔЧСС, уд/мин	14.6 ± 2.7 (9.7 ± 1.8) *	9.1 ± 2.2 ($p = 0.016$) (10.0 ± 2.4)
Гемоглобин, г/л	138.33 ± 2.68	140.71 ± 2.78
Гематокрит, %	40.51 ± 0.77	41.62 ± 0.73
Эритроциты, 10 ¹² /л	4.82 ± 0.09	4.84 ± 0.09
Ретикулоциты, ‰	9.05 ± 1.15	9.79 ± 1.09

Примечание. SaO₂min и ЧССmax — соответственно минимальные значения насыщения крови кислородом и максимальные значения ЧСС при проведении ГТ, ΔSaO₂ и ΔЧСС — средние значения степени снижения насыщения крови кислородом и прироста ЧСС в ГТ. Данные в скобках — значения группы сравнения, $n = 19$; гематологические показатели в этой группе не измерялись. Обозначения достоверности различий — см. табл. 1.

Полученные данные хорошо согласуются с результатами работ, где показана эффективность использования относительно коротких (2—3 недели) протоколов искусственно моделированной интервальной гипоксии в восстановлении аэробной производительности и «экономизации» выполнения беговых нагрузок [3, 8, 25].

В динамике психовегетативных показателей значимо снижена степень субъективно оцениваемого хронического утомления, показана тенденция к повышению общей мощности ВСР со снижением вклада LF, повышением вклада HF компонентов и нормализацией индекса LF/HF, что отражает активацию парасимпатических механизмов регуляции и нормализацию симпатопарасимпатического баланса в регуляции кровообращения (табл. 1).

Таким образом, в целом подтверждены выводы экспериментальной части работы: гипоксически-гипероксическая тренировка оптимизирует как гипоксическую (повышение устойчивости спортсменов к гипоксии), так и стрессорную (оптимизация работы миокарда при острых тестирующих физических нагрузках) компоненты в системных реакциях адаптации и восстановления спортсменов с перетренированностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа — одна из первых, демонстрирующих возможности и преимущества метода комбинированных интервальных гипоксически-гипероксических тренировок в повышении физической выносливости, оптимизации кардиоваскулярного, вегетативного статуса, прооксидантного-антиоксидантного баланса. Полученные результаты свидетельствуют, что сочетание двух видов адаптации — к физической нагрузке и к гипоксии-гипероксии — увеличивает эффективность физической тренировки, повышая выносливость и нормализуя уровень свободнорадикальных процессов и защитных белков, в целом являясь менее «физиологически затратной» для организма, чем любая из адаптаций, взятая по отдельности. Продемонстрирована потенциальная эффективность нового метода интервальной гипоксии-гипероксии для коррекции функционального состояния, потенцирования физической работоспособности и аэробной выносливости спортсменов. В целом предложенный метод интервальной нормобарической ги-

поксии-гипероксии имеет существенный, экспериментально обоснованный потенциал для широкой апробации и внедрения в практику спортивной и восстановительной медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Андреева Л. И., Горанчук В. В., Шустов Е. Б. Адаптация человека к гипертермии и изменения в лейкоцитах периферической крови. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 87 (9) : 1208—1216. 2001.
- [2] Архипенко Ю. В., Сазонтова Т. Г., Глазачев О. С., Платоненко В. И. Способ повышения неспецифических адаптационных возможностей человека на основе гипоксически-гипероксических газовых смесей. Патент РФ №2289432 от 20.12.2006.
- [3] Бобылева О. В., Глазачев О. С. Особенности микроциркуляции у практически здоровых людей при острой гипоксии и в курсе интервальной гипоксической тренировки. Физиология человека. 34 (6) : 92—99. 2008.
- [4] Бойкова А. А., Андреева Л. И., Маргулис Б. А. Конститутивная изоформа белка теплового шока 70 кДа моонуклеаров крови человека как маркер адаптации при нормобарической гипоксической тренировке Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 92 (7) : 835—842. 2006.
- [5] Ельчанинова С. А., Смагина И. В., Кореньяк Н. А., Варшавский Б. Я. Влияние интервальной гипоксической тренировки на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов. Физиология человека. 29 (3) : 72—75. 2003.
- [6] Игнатенко Г. А. Современные возможности адаптационной медицины. Клиническая медицина. 11 (1) : 56—57. 2008.
- [7] Костин А. И., Глазачев О. С., Платоненко А. В., Спирина Г. К. Устройство для проведения комплексной интервальной нормобарической гипоксически-гипероксической тренировки человека. Патент РФ №2365384 от 27.08.2009.
- [8] Манжугетова М. Р., Сыздыков М. С., Пак Г. Д., Даулетова С. А. Адаптационное влияние гипокситренировки на физическую работоспособность и центральную гемодинамику у летного состава. В сб.: Физиология адаптации. Материалы 1-й Всерос. научно-практической конф. Волгоград. 292—296. 2008.
- [9] Метаболический синдром. Под ред. Г. Е. Ройтберг. М. Мед-пресс-информ. 2007.
- [10] Михайлов В. М. Вариабельность ритма сердца. Иваново. ООО «Нейрософт». 2000.
- [11] Михайлов В. М. Нагрузочное тестирование под контролем ЭКГ: велоэргометрия, тредмил-тест, степ-тест, ходьба. Иваново. ООО «Нейрософт». 2005.
- [12] Мухарлямов Ф. И., Смирнова М. И., Бедрицкий С. А., Лядов К. В. Интервальная гипоксическая тренировка при артериальной гипертензии. Вопр. курорт. физиотер. и леч. физкультуры. 2 : 5—6. 2006.
- [13] Сазонтова Т. Г. Стресс-индуцированные изменения функционирования Са-транспортующей системы саркоплазматического ретикулума сердца и ее устойчивость к эндогенным повреждающим факторам. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 108 : 271—274. 2008.
- [14] Сазонтова Т. Г., Архипенко Ю. В. Роль свободнорадикальных процессов в адаптации организма к изменению уровня кислорода. В сб.: Проблемы гипоксии: Молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Под ред. Лукьяновой Л. Д., Ушакова И. Б. М. Истоки. 112—137. 2004.
- [15] Сазонтова Т. Г., Архипенко Ю. В., Меерсон Ф. З. Увеличение активности ферментов антиоксидантной защиты сердца при адаптации крыс к коротким стрессорным воздействиям. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 103 (10) : 411—413. 1987.
- [16] Сазонтова Т. Г., Архипенко Ю. В., Меерсон Ф. З. Адаптация к периодической гипоксии и диета с ПНЖК n-3 класса, обладающие кардиопротекторным действием, повышают устойчивость Са-транспорта саркоплазматического ретикулума миокарда к свободнорадикальному окислению. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 120 (7) : 42—45. 1995.
- [17] Сазонтова Т. Г., Жукова А. Г., Анчишкина Н. А., Архипенко Ю. В. Фактор транскрипции HIF-1 α , белки срочного ответа и резистентность мембранных структур в динамике после острой гипоксии. Вестник РАМН. 2. 17—25. 2007.

- [18] Современные технологии восстановительной медицины. Под ред. А. И. Труханова. М. Медика. 2004.
- [19] Степанов В. К., Дворников М. В., Маев Э. З., Емельянов Б. Н., Козырев П. В., Виноградов Н. В., Козырева Е. П. Нормобарическая интервальная гипокситерапия с дозированной оксигенацией в пульмонологии. Прерывистая нормобарическая гипокситерапия: Докл. межд. академ. пробл. гипоксии. М. Бумажная галерея. IV: 154—163. 2005.
- [20] Стрелков Р. Б., Чижов А. Я. Прерывистая нормобарическая гипоксия в профилактике, лечении и реабилитации. Екатеринбург. Уральский рабочий. 2001.
- [21] Чижов А. Я., Потиевская В. И. Прерывистая нормобарическая гипоксия в профилактике и лечении гипертонической болезни. М. РУДН. 2002.
- [22] Arkhipenko Yu. V., Sazontova T. G., Tkatchouk E. N., Meerson F. Z. Adaptation to continuous and intermittent hypoxia: role of the active oxygen-dependent system. Adaptation biology and medicine (Vol.1 Subcellular Basis) (Eds B. K. Sharma et al.). New Dehli. Narosa Publishing House. 251—259. 1997.
- [23] Benjamin I. J., McMillan R. Stress (Heat shock) proteins. Molecular shaperones in Cardiovascular Biology and Diseases. Circ.Res. 83 : 117—132. 1998.
- [24] Bonetti D. L., Hopkins W. G. Sea-level exercise performance following adaptation to hypoxia: A meta-analysis. Sports Medicine. 39 (2) : 107—127. 2009.
- [25] Burtcher M., Gatterer H., Faulhaber M., Gerstgrasser W., Schenk K. Effects of intermittent hypoxia on running economy. Internat. J. Sports Med. 31 (9) : 644—650. 2010.
- [26] Chandel N. S., Schumacker P. T. Cellular oxygen sensing by mitochondria: old questions, new insight. J. Appl. Physiol. 88 : 1880—1889. 2000.
- [27] Das D. K. Redox regulation of cardiomyocyte survival and death. Antiox. Redox Signal. 13 (1): 23—37. 2001.
- [28] Flohe L., Brigelius-Flohe R., Salion C. Redox regulation of NF-kappa B activation. Free Rad. Biol. Med. 22 : 1115—1126. 1997.
- [29] Gore C. J., Clark S. A., Saunders P. U. Nonhematological mechanisms of improved sea-level performance after hypoxic exposure. Med. Sci. Sports Exerc. 39 (9) : 1600—1609. 2007.
- [30] Graven K. K., Zimmerman L. H., Dickson E. W., Weinhouse G. L., Farber H. W. Endothelial cell hypoxia associated proteins are cell and stress specific. J. Cell. Physiol. 157 (3) : 544—554. 1993.
- [31] Hamlin M. J., Hellemans J. Effect of intermittent normobaric hypoxic exposure at rest on haematological, physiological, and performance parameters in multi-sport athletes. J. Sports Sciences. 25 (4) : 431—441. 2007.
- [32] Hemler M. E., Cook H. W., Lands W. E. Prostaglandin biosynthesis can be triggered by lipid peroxides. Arch. Biochem. Biophys. 193 : 340—345. 1979.
- [33] Hu M. L., Frankel E. N., Leibowitz B. E., Tappel A. L. Effect of dietary lipids and vitamin on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney. J. Nutr. 119 : 1574—1582. 1989.
- [34] Maulik N., Yoshida T., Das D. K. Regulation of cardiomyocyte apoptosis in ischemic reperfused mouse heart by glutathione peroxidase. Mol. Cell Biochem. 196 : 13—21. 1999.
- [35] Peng J., Jones G. L., Watson K. Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. Free Rad. Biol. Med. 28 (11) : 1598—1606. 2000.
- [36] Powers S. K., Criswell D., Lawler J., Ji L. L., Martin D., Herb R. A., Dudley G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. Am. J. Physiol. 266 (2) : 375—380. 1994.
- [37] Roberts A. M., Messina E. J., Kaley G. Prostacyclin (PGI₂) mediates hypoxic relaxation of bovine coronary artery strips. Prostaglandins. 21 : 555—569. 1981.
- [38] Ryter S. W., Tyrrell R. M. The heme synthesis and degradation pathway: role in oxidant sensitivity. Free Radic. Biol. Med. 8 : 289—309. 2000.
- [39] Sanz M. J., Ferrndiz M. L., Cejudo M., Terencio M. C., Gil B., Bustos G., Ubeda A., Gunasegaran R., Alcaraz M. J. Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. Xenobiotica. 24 (7) : 689—699. 1994.
- [40] Sazontova T. G., Tkatchouk E. N., Kolmykova S. N., Ehrenbourg I. V., Meerson F. Z., Arkhipenko Yu. V. Comparative analysis of peroxidation and antioxidant enzyme activities in rats adapted to different regimes of normobaric hypoxia. Hypox. Med. J. 2 (4) : 4—7. 1994.
- [41] Semenza G. L. Perspectives on oxygen sensing. Cell. 98 : 281—284. 1999.
- [42] Singh B., Sharma S. P., Goyal R. Evaluation of Geriforte, an herbal geriatric tonic, on antioxidant defense system in Wistar rat. Ann. N. Y. Acad. Sci. 717 : 170—173. 1994.

- [43] Spasic M. B., Saicic Z. S., Buzadzic B., Korac B., Blagojevic D., Petrovic V. M. Effect of long term exposure to cold on the antioxidant defense system in the rat. *Free Rad. Biol. Med.* 15 (3) : 291—299. 2001.
- [44] Whelan S. A., Hightower L. E. Differential induction of glucose regulated an heat shock proteins; effect of pH and sulfhydryl-reducing agents on chicken embryo cells. *J.Cell.Physiol.* 125 (2) : 251—258. 1985.
- [45] Wilber R. L. Application of altitude/hypoxic training by elite athletes *Med. Sci. Sports Exercise.* 39 (9) : 1610—1624. 2007.
- [46] Zolotarjova N., Ho C., Mellgren R. L., Askari A., Huang W. H. Different sensitivities of native and oxidized forms of Na^+/K^+ -ATPase to intracellular proteinases. *Biochim. Biophys. Acta.* 1192 (1) : 125—131. 1994.
- [47] Zhukova A. G., Sazontova T. G. Hypoxia inducible factor-1 α : function and biological role. *Hypoxia Med. J.* 3—4 : 34—41. 2005.

Поступила 29 III 2012