

**Методические рекомендации по применению донаторов оксида азота с  
целью повышения физической работоспособности спортсменов**

**Москва 2013**

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Введение.....	3
1. Физиологическое действие оксида азота на организм человека.....	5
2. Методические рекомендации по применению донаторов оксида азота с целью повышения физической работоспособности спортсменов, занимающихся видами спорта на выносливость.....	21
3. Методические рекомендации по применению донаторов оксида азота с целью повышения физической работоспособности спортсменов, занимающихся скоростно-силовыми видами спорта.....	28
Заключение.....	32

## Введение

Оксид азота в организме человека выполняет роль универсального регулятора многих биологических функций. Под его влиянием оксида азота происходит расслабление сосудов, повышается потребление глюкозы во время физических нагрузок, улучшается сократительная функция миокарда. В организме человека оксид азота синтезируется из аминокислоты L-аргинин под влиянием ферментов NO-синтаз (NOS). Под влиянием эндотелиальной NO-синтазы происходит синтез физиологических уровней оксида азота. Образующийся из L-аргинина оксид азота активирует в гладкомышечных клетках гуанилатциклазу, стимулирующую синтез цГМФ, который, в свою очередь, обуславливает вазодилатацию. Вместе с тем, уровень оксида азота в крови может различаться между индивидами одной популяции и значительно уменьшаться с возрастом и при наличии некоторых патологий.

Выделяют три группы клеточных мишеней для NO:

1) Железосодержащие белки и ферменты (гуанилатциклаза, гемоглобин, миоглобин, цитохромы, ферменты синтеза белка и ДНК). Взаимодействие NO с этими мишенями играет роль в цитотоксическом действии макрофагов, расслаблении мышц сосудов и желудочно-кишечного тракта, переносе кислорода, образовании АТФ и формировании долговременной памяти.

2) Белки, содержащие SH-группы и среди них ферменты митохондрий и цикла трикарбоновых кислот.

3) Активные формы кислорода. NO может быть окислен свободными радикалами. Тем самым ингибируются реакции перекисного окисления липидов, активируемые в условиях ишемии или воспаления. При гиперпродукции NO связывается с кислородом и образует пироксинетрилы, по токсичности во много раз превышающие NO, которые играют важную роль во многих патофизиологических процессах.

Дополнительный прием донаторов оксида, таких как свекольный сок, аминокислота L-аргинин, L-цитруллин, нитрат натрия, глицин-пропионил-L-карнитин, 2-нитроксиэтил 2-амино-3-метилбутаноат и другие, может значительно повысить уровень физической работоспособности спортсменов за счет увеличения доставки кислорода и нутриентов к рабочим группам мышц. Установлено, что прием донаторов оксида азота повышает толерантность организма, как к аэробным, так и анаэробным физическим нагрузкам и способствует более быстрому восстановлению скелетных мышц, в особенности у юных спортсменов.

Важно отметить, что донаторы оксида азота по своей природе не являются допинговыми средствами, однако их широкое применение ограничено в связи недостаточной информацией, касающейся подбором наиболее эффективных форм и дозировок донаторов оксида азота.

Таким образом, разработка методических рекомендаций по применению донаторов оксида азота с целью повышения физической работоспособности спортсменов является актуальной задачей современной спортивной медицины.

## 1. Физиологическое действие оксида азота на организм человека

Оксид азота (NO) является одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов. Он представляет собой уникальный по своей природе и механизмам действия вторичный мессенджер в большинстве клеток организма. Главным источником синтеза NO в организме служит аминокислота L-аргинин. Превращение аргинина в NO и цитруллин катализирует фермент NO-синтаза (NOS).

NO-синтаза - это сложно устроенный гемсодержащий фермент, представляющий собой гомодимер, то есть он состоит из двух одинаковых белковых субъединиц, к каждой из которых присоединено несколько кофакторов, определяющих каталитические свойства фермента: кальмодулин, FMN, FAD, NADPH, тетрагидробиоптерин. Активность фермента проявляется только при объединении двух его субъединиц. NOS обладает бифункциональной активностью: монооксигеназной и редуктазной, относится к классу дегидрогеназ (Dudzinski, 2006).

NO-синтазы составляют семейство, то есть имеется группа ферментов, несколько различающихся по аминокислотной последовательности белковой части молекулы и механизмам, регулирующих их активность, но тем не менее, катализирующих одну и ту же реакцию образования оксида азота. В настоящее время хорошо изучена структура разных изоформ NO-синтазы, известны механизмы, регулирующие их активность, и хромосомная локализация генов, ответственных за синтез ферментов.

Синтезировать и выделять NO способно большинство клеток организма человека и животных, однако наиболее изучены три клеточные популяции: эндотелий кровеносных сосудов, клетки нервной ткани (нейроны) и макрофаги - клетки соединительной ткани, обладающие высокой фагоцитарной активностью. Выделяют три основные изоформы NO-синтаз:

нейрональную, макрофагальную и эндотелиальную (обозначаются соответственно как NO-синтаза 1, 2 и 3) (Niess, 2005). Нейрональная и эндотелиальная изоформы фермента постоянно присутствуют в клетках и называются конститутивными, а макрофагальная изоформа является индуцибельной - фермент синтезируется при определенном внешнем воздействии на клетку.

Активность конститутивных изоформ фермента прямо зависит от внутриклеточной концентрации ионов кальция или кальмодулина и, таким образом, повышается под влиянием различных агентов, приводящих к увеличению их уровня в клетке. Конститутивные изоформы NO-синтазы имеют преимущественно физиологическое значение, поскольку количество образуемого NO относительно невелико.

Индукцибельные изоформы NO-синтазы проявляют активность через 6-8 ч (время, необходимое для активации генов и начала синтеза фермента) после внешнего воздействия на клетки, продуцируют огромные количества NO (в 100-1000 раз больше, чем конститутивные изоформы фермента). Активность индуцибельной NO-синтазы не зависит от уровня кальция/кальмодулина, поскольку кальмодулин постоянно и прочно связан с ферментом. В настоящее время показано, что не только макрофаги, но многие другие клетки способны при определенных внешних воздействиях, в основном в условиях патологии, синтезировать индуцибельную форму NO-синтазы.

#### *Механизм действия и функции NO*

Выделяют три группы клеточных мишеней для NO:

1) Железосодержащие белки и ферменты (гуанилатциклаза, гемоглобин, миоглобин, цитохромы, ферменты синтеза белка и ДНК). Взаимодействие NO с этими мишенями играет роль в цитотоксическом действии макрофагов, расслаблении мышц сосудов и желудочно-кишечного

тракта, переносе кислорода, образовании АТФ и формировании долговременной памяти.

2) Белки, содержащие SH-группы и среди них ферменты митохондрий и цикла трикарбоновых кислот.

3) Активные формы кислорода. NO может быть окислен свободными радикалами. Тем самым ингибируются реакции перекисного окисления липидов, активируемые в условиях ишемии или воспаления. При гиперпродукции NO связывается с кислородом и образует пироксинетрилы, по токсичности во много раз превышающие NO, которые играют важную роль во многих патофизиологических процессах.

В большинстве клеток основной мишенью действия NO является растворимая форма фермента гуанилатциклазы, которая катализирует синтез цГМФ. Накопление цГМФ в клетках активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу и  $Ca^{2+}$ -АТФазу. цГМФ-зависимая протеинкиназа фосфорилирует ряд белков, в том числе NO-синтазу, что приводит к изменению активности фермента и скорости синтеза NO. Тем самым осуществляется регуляция синтеза NO по механизму отрицательной обратной связи.

Основная функция NO связана с вазодилатацией и торможением процесса агрегации и адгезии тромбоцитов и выступает в качестве вещества, улучшающего микроциркуляцию за счёт расслабления гладких мышц сосудов и улучшения реологических свойств крови (Невзорова, 1997).

Кроме того, наличие NO в сосудистой эндотелии является необходимым условием осуществления другими вазодилататорами (ацетилхолин, гистамин, брадикинин, серотонин, адениновые нуклеотиды) сосудорасширяющего действия. Можно считать NO локальным тканевым гормоном, который поддерживает активную вазодилатацию, регулирует кровоток и контролирует артериальное давление (Charbit, 1997).

NO, выделяемый эндотелиальными клетками в сердце через повышение внутриклеточной концентрации цГМФ, обеспечивает сократительную функцию миокарда, усиливает релаксацию желудочков и увеличивает диастолическую растяжимость (Paulus, 1994).

Физиологические концентрации NO способны участвовать в регуляции внутриклеточного метаболизма, увеличивать активность антиоксидантных ферментов (Beckman, 1994) и экспрессию кодирующих их генов (Ванин, 1993). Недостаток NO приводит к повреждению мембран клеток свободными радикалами, тогда как его чрезмерная продукция стимулирует апоптоз, что связано с токсическим действием избытка NO на метаболизм клетки. Значительные изменения в синтезе NO при стрессе позволяют предположить участие NO в стрессовых реакциях организма. Выдвинута гипотеза о том, что NO участвует в регуляции стресс-реакции, ограничивая ее чрезмерную активацию и повреждающие эффекты на центральном и периферическом уровнях (Меерсон, 1993).

#### *Физиологические эффекты оксида азота*

Оксид азота проявляет свои эффекты за счет взаимодействия с самыми различными системами организма. Например, NO участвует в ряде биохимических процессов посредством влияния на клетки через АДФ-рибозил-трансферазу и цАДФ-рибозу. Следует также указать, что индуцибельная NOS проявляет свое действие в клетках в ответ на воздействие эндо- и экзотоксинов, медиаторов воспаления, соединений, активирующих свободнорадикальное окисление.

Индукция iNOS цито-кинами и образование оксида азота приводит к усилению токсического действия макрофагов в отношении опухолевых клеток, бактерий, грибов, простейших. При этом оксид азота играет роль агента, защищающего организм хозяина от инородных тел.



Многообразие биологических эффектов, вызываемых высвобождением NO, разнотипность систем, на которые действует этот регулятор метаболизма, не изменяет, тем не менее, того факта, что важнейшей физиологической мишенью для оксида азота в организме является растворимая гуанилатциклаза (pГЦ), локализованная в гладких мышцах сосудистой стенки.

Именно с функционированием гуанилатциклазы непосредственно связаны такие физиологические эффекты NO, как его антигипертензивные и антиагрегационные свойства. Растворимая гуанилатциклаза катализирует биосинтез так называемого вторичного мессенджера - циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) из гуанозинтрифосфата (ГТФ).

Оксид азота реагирует с гемной простетической группой активного центра pГЦ с образованием нитрозогема, ферментная активность возрастает в 50 раз за счет конформационных изменений, подобных тем, которые наблюдаются при связывании гемоглобина с кислородом. Таким образом, NO функционирует для гормональной передачи, которая индуцирует повышение межклеточного содержания Ca<sup>+</sup> в эндотелиальных клетках.

В результате этого увеличивается скорость продукции цГМФ в соседних мышечных клетках. Накопление цГМФ возможно не только за счет активации pГЦ экзогенными донорами оксида азота, но и путем ингибирования фермента фосфодиэстеразы-5 (PDE 5), ответственного за превращение активного цГМФ в неактивный ГМФ.

Открытие кальциевых (и других) каналов приводит к возникновению постсинаптических потенциалов (как это характерно для медиаторов), что и определяет медиаторное действие цГМФ, который является так называемым вторичным мессенджером. Этот термин - вторичный мессенджер - означает, что медиатор, являющийся первичным мессенджером (выделяющимся из нервных окончаний в синаптическую щель, где в результате его взаимодействия с постсинаптическим рецептором происходит серия

биохимических процессов), вызывает внутри эффекторной клетки образование цГМФ, который далее действует как химический передатчик.

Это и есть метод химической передачи в организме, в результате которого медиатор обеспечивает протекание биохимических процессов в клетке, сам в клетку не попадая. Здесь уместно отметить, что пути развития биологических эффектов непосредственно связаны с открытием или закрытием тех или иных ионных каналов. Нечто подобное происходит и при высвобождении оксида азота - активируется рГЦ, которая, в свою очередь, катализирует образование цГМФ.

Последний, как описано выше, обеспечивает открытие ионных каналов и возникновение биологического отклика, в данном случае антигипертензивного эффекта. Несколько слов о самой растворимой гуанилатциклазе: ее характерная черта (в отличие от аденилатциклазы, субстратом которой является АТФ) - наличие в составе фермента гема. Ферроиротопорфирин 1X-гем образуется при введении железа в протопорфирин IX. Сама цепь реакций протопорфирин IX + железо гем -> гуанилатциклаза пока не вполне ясна. Однако, очевидно, что именно с наличием гема следует связывать активацию фермента оксидом азота.

Фактически, истинным активатором фермента является не NO, а комплекс NO-гем. Установлено, что лишенная гема рГЦ теряет способность к NO-активации. Еще одна проблема, связанная с гуанилатциклазой и оксидом азота - антиагрегационная активность NO. Показано, что рГЦ регулирует агрегацию по механизму обратной связи - инициирование агрегации тромбоцитов (например, добавлением АДФ) приводит к активации гуанилатциклазы, накоплению цГМФ, который дает сигнал к дезагрегации.

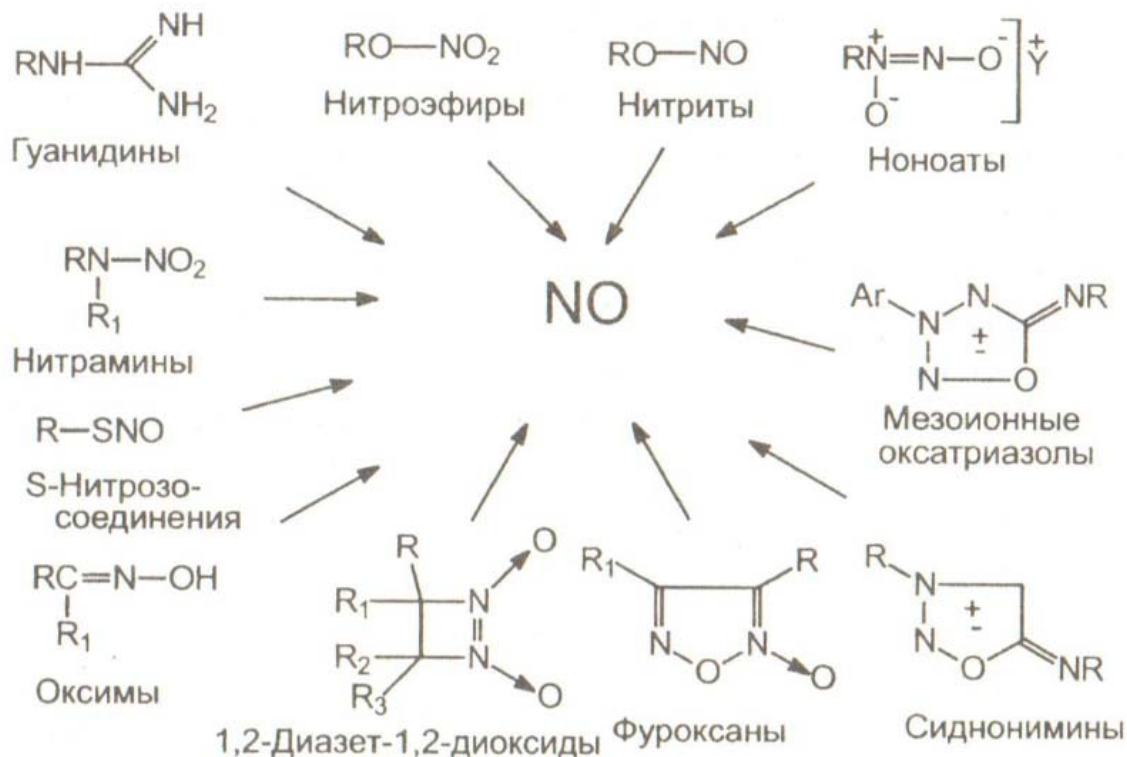
Очевидно, что активация растворимой гу-анилатциклазы оксидом азота представляет собой перспективный путь к ослаблению развития агрегации тромбоцитов, приводящей к образованию тромбов. Очень важно, что регуляторная роль рГЦ проявляется на самых ранних стадиях процесса

агрегации и, соответственно, активаторы фермента, а следовательно, оксид азота, равно как и доноры оксида азота, могут явиться ценными лекарственными веществами для ослабления агрегации и, более того, для ее профилактики.

Исследование воздействия на нее различных препаратов является удобным и показательным тестом для проверки способности испытуемых веществ высвобождать оксид азота, поскольку негемный механизм активации рГЦ встречается крайне редко.

### *Экзогенные доноры оксида азота*

Итак, NO играет ключевую роль в контроле васкулярного тонуса, участвует в поддержании сердечно-сосудистого гомеостаза (гомеостаз - относительное динамическое постоянство внутренней среды - крови, лимфы, тканевой жидкости и устойчивость основных физиологических функций - кровообращения, дыхания, терморегуляции, обмена веществ и т.д. - организма), в регуляции дыхания, иммунитета и нейротрансмиттерных механизмах, является цитотоксическим и цитостатическим агентом. Целый ряд патологических состояний, например, сердечно-сосудистые, инфекционные, воспалительные заболевания, тромбозы, злокачественные опухоли, заболевания мочеполовой системы, мозговые повреждения при инсультах и др., могут в значительной степени быть связаны с недостатком или перепродукцией оксида азота в организме. В связи с этим понятно, что одно из наиболее активно развивающихся сейчас направлений - изыскание различных соединений, способных служить генераторами оксида азота в организме, т.е. поиск ксенобиотиков, трансформация которых (связанные или не связанные с каталитической активностью NO-синтаз) может приводить к образованию NO. На схеме приведены основные типы NO-доноров, обсуждение свойств которых составило основной предмет обзоров и, конечно, на схеме даны только наиболее часто исследуемые из них.



Данная область в настоящее время развивается весьма бурно и в этот список включается все больше и больше соединений различных классов, для которых характерно высвобождение оксида азота в самых разных условиях. Следует еще раз специально подчеркнуть, что недостаток этого трансммиттера в организме млекопитающих приводит к целому ряду патологических состояний, из которых отметим сердечно-сосудистые, инфекционные, воспалительные заболевания, тромбозы, опухоли.

Но прежде чем перейти к рассмотрению исследований, посвященных данной проблеме, хотелось бы подчеркнуть, что в здравоохранении в настоящее время используется ряд лекарственных средств, активность которых обоснованно связывают с их способностью *in vivo* высвободить оксид азота. Если говорить точно, эти препараты следует относить к ряду пролекарств (prodrugs), поскольку их фармакологическая активность обусловлена предшествующим метаболизмом с выделением оксида азота - истинного действующего начала.

Это, прежде всего, такие средства, как нитроглицерин, нитросорбид, изосорбид мононитрат, эринит, амилнитрит, никорандил - анти-ангинальные препараты (от латинского названия *angina pectoris*- грудная жаба), являющиеся представителями группы периферических вазодилататоров. Перечисленные соединения известны в медицине и медицинской химии под общим названием «нитраты» или нитроэфиры или нитриты (амилнитрит). К этой группе антиангинальных препаратов относят также такие известные доноры оксида азота, как натрия нитропруссид и молсидомин.

### *Метаболизм L-аргинина*

По смыслу предстоящего обсуждения основной проблемой этой главы являются катаболические процессы (катаболизм - фаза метаболизма, включающая деградацию молекул питательных веществ и сопровождающаяся выделением энергии), протекающие с участием L-аргинина. С другой стороны, следует хотя бы кратко рассмотреть, каким же образом аргинин появляется в организме (здесь речь об анаболизме - фазе промежуточного метаболизма, связанной с требующими энергетических затрат процессами биосинтеза компонентов клеток из молекул-предшественников).

Для млекопитающих аргинин не является незаменимой аминокислотой (в ряде работ его называют полу- (*semi*) заменимой аминокислотой), поскольку существует биосинтетические пути его получения в живом организме. Отметим, что новорожденным и растущим организмам аргинин необходимо доставлять извне. У взрослых же эта аминокислота в достаточных количествах образуется в печени в процессе синтеза мочевины. Наиболее общий путь синтеза L-аргинина в организме млекопитающих основан на трансформации глутамина, протекающей через образование целого ряда аминокислот с участием большого количества ферментов.

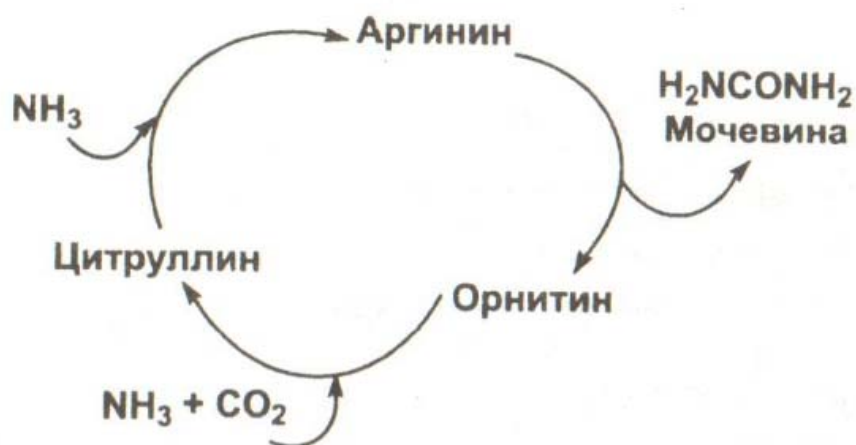
Глутамин (совместно с глутаматом и пролином) образуется из α-кетоглутарата (одного из продуктов цикла лимонной кислоты)) при катализе ферментом глутаматдегидрогеназой. Следующая стадия - амидирование - требует энергии, которая высвобождается при трансформации аденозинтрифосфата (АТФ) в аденозиндифосфат (АДФ).

Не акцентируя пока внимание на типах клеток и тканей, где реализуется получение аргинина (краткая информация об этом будет приведена ниже), остановимся на ферментных системах, задействованных в этом синтезе. Это - фосфат-зависимая глутаминаза, катализирующая процесс превращения L-глутамина в L-глутамат, из которого при участии P5C-синтазы образуется L-глутамил-фосфат и далее при катализе тем же ферментом L-глутамил-полуальдегид. Последний спонтанно и не энзиматически циклизуется в 2-дегидропирролидинкарбоновую кислоту (P5C), существующую в виде цвиттер-иона и далее под действием орнитин-аминотрансферазы (OAT) трансформируется в L-орнитин. Последовательные реакции при катализе с участием фермента OAT, аргининосукцинат-синтазы (ACC) и аргининосукцинат-лиазы (ACL) приводят соответственно к L-цитруллину, L-аргининосукцинату и L-аргинину.

Необходимо отметить, что в плазму крови поступает как экзогенный (из пищи), так и эндогенный аргинин (образующийся в процессе биосинтеза из цитруллина, как показано на схеме, или при деградации собственных белков).

В тонком кишечнике главными предшественниками синтеза аргинина являются глутамин и глутамат. При обратном захвате L-глутамина протекают указанные выше энзиматические процессы, в результате которых образуются L-цитруллин и L-аргинин. В энтероцитах (основной тип кишечных клеток) происходит синтез L-цитруллина и L-аргинина, хотя нужно отметить, что предшественником синтеза этих аминокислот является также L-пролин, превращающийся в P5C под действием ферментов -

пипеколиновой кислоты оксидазы и саркозин оксидазы. Существенен почечный синтез аргинина: в почках цитруллин экстрагируется из крови и далее стехиометрически превращается в аргинин при участии уже упомянутых ферментов. Наивысшая скорость синтеза L-аргинина наблюдается в цикле мочевины, который локализуется в гепатоцитах (печеночных клетках). В самом общем виде цикл мочевины (избавляющий организм от отходов метаболизма - токсичного аммиака, превращая его в нетоксичную мочевины и бикарбонат, регулируя pH крови) может быть представлен следующим образом.



Более подробное химическое описание ферментативной трансформации орнитина в цитруллин дано на схеме, на которой показано, что карбамоильный остаток ферментативно переносится на ш-аминогруппу L-орнитина из карбамоилфосфата. Сам же карбамоилфосфат образуется при взаимодействии аденозинтрифосфата (АТФ) с аммиаком и бикарбонатом аммония.

Биосинтетический путь, приводящий к аргинину - подход к получению основного субстрата для синтеза оксида азота. Этой проблеме будет посвящена значительная часть монографии. Здесь же отметим, что цитруллин, являющийся сопродуктом оксида азота при окислении аргинина,

способен вновь превращаться в аргинин, и в настоящее время этот путь трактуется как L-аргинин/цитруллин цикл.

Существование L-цитруллин/NO-цикла подтверждается тем фактом, что общая продукция цитруллина в организме ниже, чем общая продукция оксида азота. Кроме того, цитруллин способен частично заменять аргинин в поддержании определенного уровня NO в интактных клетках. В целом, на настоящее время существует мнение, что регуляция путей превращения аргинина может являться одним из механизмов регуляции индуцибельной NO-синтазы - одной из изоформ синтаз оксида азота (NOS), катализирующих биотрансформацию L-аргинина с высвобождением оксида азота.

#### *Влияние мышечной деятельности на продукцию NO в скелетных мышцах*

В настоящее время можно считать доказанным стимуляцию экспрессии и синтеза NO под влиянием мышечной деятельности. При изучении влияния высокоинтенсивной физической нагрузки на продукцию NO в организме человека было установлено, что содержание оксида азота в выдыхаемом воздухе повышается (Shin, 2003). Однако разные типы физических нагрузок оказывали различное влияние на уровень синтеза NO в скелетных мышцах (Perez, 2002).. Тренировка животных в течение 16-20 недель предотвращала нарушения в вазодилатации коронарной артерии, вызванные диетой с повышенным содержанием жира и увеличивала продукцию NO (Thompson, 2003).

В скелетных мышцах присутствуют все три изоформы NO-синтаз, но уровень их экспрессии существенно различается. В модельном эксперименте на животных 4-х недельная тренировка повышала активность NOS3 в быстро-сокращающейся m. gastrocnemius крыс на 480% и NOS1 на 240 %. Аналогичные изменения, но в меньшей степени, наблюдались в мышце диафрагмы. Тогда как активность NOS2 в данном эксперименте не



изменялась (Vassilakopoulos, 2003). В другом эксперименте было установлено, что тренировка повышала экспрессию гена  $Ca^{2+}$ -АТФаза (SERCA2a), который находится под контролем NO, в быстро-сокращающейся *m. gastrocnemius*, но не в медленно-сокращающейся *m. soleus* (Kubo, 2003).

В опыте на изолированных мышцах показано, что электростимуляция приводит к повышению содержания цГМФ в быстро-сокращающейся *m. extensor digitarum longus* и оно не изменяется в медленно-сокращающейся *m. soleus* (Lau, 2000). У мышей нокаутных по NOS1 увеличение содержания цГМФ было значительно меньше. Таким образом, повышение уровней NO и цГМФ в быстро-сокращающихся скелетных мышцах зависят от обеих изоформ NO-синтаз NOS3 и NOS1.

Мышечная деятельность может предотвращать нарушения функций сердечно-сосудистой системы, вызванные возрастом. Под влиянием тренировки замедляется снижение продукции NO в аорте у крыс (Tanabe, 2003), изменяется соотношение активных форм кислорода и NO (Reid, 2002), уменьшается адгезия нейтрофилов и тромбоцитов (Sasaki, 2004).

Установлено, что под влиянием регулярных физических нагрузок, у лиц среднего и старшего возраста, наблюдается снижение показателей кровяного давления. У носителей генотипов aa и ab гена NOS3 выявлена достоверная ассоциация с уровнем систолического кровяного давления и физической активностью (Kimura, 2003). Эти данные, расширяют представления о механизмах, контролирующих изменения кровяного давления под влиянием физических нагрузок и отчетливо выявляют роль генетических факторов на примере полиморфного гена NOS3.

Изоформы NOS, по-видимому, играют различную роль в модуляции структуры сердца. При изучении влияния NOS1 и NOS3 на транскрипцию генов, связанных с развитием гипертрофии левого желудочка сердца, на модели нокаутных мышей установлено, что у мышей с отсутствием NOS1

изменяется экспрессия 67 генов в сердце, а у мышей с отсутствием NOS3 - 47 генов, причем общими были только 16 генов (Carpola, 2003).

В последнее время активно обсуждается наличие особой функции NO в скелетных мышцах – это регуляция потребления глюкозы во время физических нагрузок (McConell, 2006).

Приведенные данные не оставляют сомнений об участии NO-синтаз в адаптации организма к мышечной деятельности. Генетические вариации ферментов также могут вносить существенный вклад в развитие и проявление физических возможностей человека, особенно это относится к эндотелиальной NO-синтазе.

### *Полиморфизм гена NOS3*

Ген NOS3 расположен на хромосоме 7q35-36 (Miyahara, 1994) и состоит из 26 экзонов. Описаны и изучаются 4 полиморфных маркера гена NOS3: интрон 4 4a/b полиморфизм, экзон 7 локус G894T, интрон 18 локус A27C; интрон 23 локус G10T.

Полиморфизм по интрону 4 представлен 2 аллелями: “b”, в котором имеются 5 повторяющихся фрагментов 27 п.о., и “a”, в котором только 4 таких повтора. В популяции аллель “b” NOS3 встречается значительно чаще, чем аллель “a”.

При обследовании 428 здоровых людей было показано, что a/a генотипу соответствует максимальный уровень базального NO, тогда как у людей с b/b генотипом он приблизительно в 2 раза ниже, гетерозиготы занимают промежуточное положение (Wang, 1997). У индивидов гомозиготных по редкому аллелю, уровень нитратов и нитритов в крови, напрямую связанный со скоростью выработки NO эндотелием сосудов, достоверно выше, чем у носителей генотипа b/b, что свидетельствует о потенциальной генетической роли генотипа a/a как фактора риска развития

атеросклероза и заболеваний, приводящих к нарушению нормальной выработки окиси азота (Tsukada, 1998).

Показано более высокое содержание аллеля “а” и частота генотипа а/а у пациентов со стенокардией в Австралии (Wang, 1996), среди японцев с гипертонией и перенесших инфаркт миокарда (Uwabo, 1998), что указывает на очевидное участие гена NOS3 в генезе сердечно-сосудистых нарушений.

При анализе частот аллелей в группе больных с артериальной гипертензией и гипертрофией левого желудочка частота встречаемости аллеля “а” была достоверно выше, чем в группе здоровых лиц (Nakayama, 1997, Минушкина, 2002).

Хорошо изучен также структурный полиморфизм экзона 7: замена гуанина тимином в 894 позиции гена NOS3, что приводит к замене глутамина аспарагином в 298 позиции самого фермента (Yoshimura, 1998). Показана связь данной мутации с вазоспастической стенокардией, а также большая частота ее встречаемости в группе больных инфарктом миокарда по сравнению со здоровыми людьми. У здоровых лиц эта мутация практически не встречается, а у больных с инфарктом миокарда ее частота составляет 16% (Liu, 1998). Механизмы, за счет которых наличие данной мутации повышает риск развития инфаркта миокарда до сих пор остаются неясными. Данные о связи этой мисенс-мутации с артериальной гипертензией противоречивы. Имеются данные о большей частоте встречаемости этой мутации у больных гипертонией (до 10%) в японской (Miyamoto, 1998) и европейской (Bonnardeaux, 1995) популяциях. Исследования полиморфизма гена NO-синтазы по интронам 18 и 23 на европейской популяции не показали связи этих видов полиморфизма с артериальной гипертензией (Bonnardeaux, 1995).

Приведенные популяционно-генетические исследования позволили получить представления о наличии связи полиморфизма гена NO-синтазы 3 типа с такими заболеваниями как артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца. Вместе с тем они показали, что в настоящее время

отсутствует информация об ассоциации этого полиморфного генетического маркера с формированием и проявлением фенотипических качеств человека. Изучение частоты встречаемости генотипов и аллелей гена эндотелиальной NO-синтазы (NOS3) у спортсменов различной специализации позволит выявить предрасположенность к выполнению разных по энергетическому обеспечению физических нагрузок.

## **2. Методические рекомендации по применению донаторов оксида азота с целью повышения физической работоспособности спортсменов, занимающихся видами спорта на выносливость**

Установлено, что прием донаторов оксида азота может значительно повысить уровень физической работоспособности спортсменов за счет увеличения доставки кислорода и нутриентов к рабочим группам мышц. Также обнаружено, что прием донаторов оксида азота повышает толерантность организма к аэробным физическим нагрузкам и способствует более быстрому восстановлению скелетных мышц, в особенности у юных спортсменов. Важно отметить, что донаторы оксида азота по своей природе не являются допинговыми средствами.

Наиболее используемым донатором оксида азота в видах спорта на выносливость считается **L-аргинин**. Аргинин (или L-Аргинин) - условно незаменимая алифатическая аминокислота. Аргинин - основной донатор оксида азота и его переносчик. Аргинин снабжает азотом систему ферментов, называемых NO-синтазами, которые синтезируют NO, - или оксид азота.

Аргинин содержится в продуктах: творог, сыр, и другие молочные продукты, мясо, морепродукты, зерновые культуры, орехи и др.

Аргинин может синтезироваться в организме из цитруллина, орнитина и диметиларгинина (ADMA).

### *Заявленные эффекты аргинина*

#### L-Аргинин:

- Повышает запасы гликогена мышц
- Ускоряет восстановление скелетных мышц
- Ускоряет заживление травм
- Снижает артериальное давление
- Улучшает транспорт креатина в мышцы
- Обладает антиоксидантными свойствами

- Усиливает секрецию гормона роста
- Снижает уровень холестерина низкой плотности
- Укрепляет иммунитет

#### *Оптимальные дозы аргинина*

Аргинин рекомендуется принимать в дозах от 3 до 9 г в сутки. Чем выше доза, тем ощутимее эффект, однако не рекомендуется превышать дозу более 10 г. Надо начинать прием с наименьшей дозы, затем постепенно увеличивать ее. Порошковые формы растворяют в холодной воде (1 стакан), таблетированные запивают стаканом воды.

#### *Оптимальное время приема*

Лучшее время для приема аргинина: перед тренировкой, после тренировки - для улучшения питания мышц.

#### *Сочетание*

Аргинин используется не только как самостоятельная добавка, но и транспортная система. За счет повышения кровотока в мышцах, аргинин улучшает доставку всех питательных веществ к мышечным клетками. В частности, его используют как транспортную систему для креатина, поэтому их желательно принимать одновременно. Очень часто аргинин входит в состав предтренировочных комплексов.

#### *Содержание в продуктах питания*

L-Аргинин встречается во многих продуктах питания, как животного, так и растительного происхождения. В таблице приведены данные по содержанию аргинина на 100 грамм продукта и указано содержание белка.

<b>Продукт</b>	<b>Белок</b>	<b>Аргинин</b>	<b>А/Б</b>
Сырое куриное филе	21,23 г	1436 мг	6,8 %
Сырое филе лосося	20,42 г	1221 мг	6,0 %
Куриное яйцо	12,57 г	820 мг	6,5 %
Коровье молоко, 3,7 % жирности	3,28 г	119 мг	3,6 %
Кедровые орехи	13,69 г	2413 мг	17,6 %
Грецкие орехи	15,23 г	2278 мг	15,0 %
Тыквенные семечки	30,23 г	5353 мг	17,7 %
Пшеничная мука г/п	13,70 г	642 мг	4,7 %
Кукурузная мука	6,93 г	345 мг	5,0 %
Рис нешлифованный	7,94 г	602 мг	7,6 %
Гречишный хлеб	13,25 г	982 мг	7,4 %
Горох сушеный	24,55 г	2188 мг	8,9 %

**Цитруллин** - аминокислота, которая не входит в состав строительных белков, однако имеет большое число физиологических эффектов, цитруллин участвует в метаболизме мочевины, он является промежуточным метаболитом в утилизации токсичного вещества - аммиака.

#### *Биологические эффекты цитруллина*

- Из цитруллина может образовываться аргинин - основной донатор азота, который улучшает кровоток в мышцах.
- Повышает выносливость и улучшает питание мышц
- Цитруллин укрепляет иммунную функцию и увеличивает энергетический потенциал организма

#### *Цитруллин в спорте*

Цитруллин широко применяется в спорте как добавка с целью увеличения производительности, ускорения восстановления и улучшения кровоснабжения мышц. Чаще всего цитруллин выпускается в виде цитруллина малата. Поскольку цитруллин участвует в утилизации мочевины, он способствует скорейшему выведению таких токсинов, как мочевина и молочная кислота.

Цитруллин малат в дозе около 6 г в сутки снижает мышечное утомление, увеличивает уровень продукции АТФ на 34%, а также поднимает концентрацию фосфокреатина на 20% после выполнения упражнений, что делает его мощным восстановителем и энергетиком. Цитруллин позволяет сделать тренировки более интенсивными, а также сократить время восстановления. Цитруллин может с успехом применяться в аэробных видах спорта - бег, велоспорт, плавание и т.д. для быстрого восстановления и профилактики перетренированности.

Максимальный эффект цитруллина наступает на 15 день приема, однако первые положительные ощущения возникают уже на 3-4 день приема. Рекомендуемая продолжительность курса 1-2 месяца. Цитруллин можно принимать на постоянной основе - без перерывов.

#### *Как принимать цитруллин*

Цитруллин рекомендуется принимать на пустой желудок перед тренировками, за 20-30 минут. Дополнительная порция может быть принята утром и перед сном. Поскольку многие эффекты цитруллина обусловлены подъемом уровня аргинина, специфика приема тоже одинакова.

#### *Оптимальные дозы цитруллина*

Минимальная эффективная доза цитруллина - 6 г в сутки. Однако в некоторых исследованиях цитруллин использовался в дозах 18 грамм в сутки, при этом получены значительно лучшие результаты. Следует обратить



внимание на то, что во многих спортивных добавках цитруллин содержится в крайне малых количествах, которые не позволяют извлечь из него максимальную пользу.

### *Побочные эффекты цитруллина*

До сих пор, в ходе клинических испытаний не было выявлено ни одного побочного эффекта цитруллина. Также не было сообщений и от атлетов, употребляющих цитруллин.

### *Сочетание цитруллина с другими добавками*

Есть несколько различных добавок, которые можно комбинировать с цитруллином для увеличения суммарной эффективности, за счет синергического или потенцирующего действия. Наиболее предпочтительное спортивное питание для сочетания:

Карнозин - помогает увеличить анаэробный порог за счет буферизации молочной кислоты, а также защитить мышцы от окислительного стресса.

L-карнитин - увеличивает энергопродукцию, за счет включения в метаболизм жиров. Позволяет улучшить физические показатели, защитить сердечно-сосудистую систему.

Креатин - увеличивает силу и мышечный рост.

Аргинин - улучшает питание мышц за счет увеличения продукции оксида азота. Увеличивает продукцию гормона роста и инсулина.

Витамины и минералы - элементы, которые участвуют практически во всех метаболических процессах. Особенно хорошо цитруллин сочетается с витаминами группы В и цинком.

### **Нитрат натрия**

Главными поставщиками нитратов в составе пищи являются овощи, такие как салат, шпинат и свекла. В воде также могут содержаться нитраты в

значительном количестве. Ограничения в приеме нитратов связаны с данными о том, что высокое содержание нитратов в пище приводит к раковым заболеваниям.

Предполагается, что с овощами человек может потреблять в среднем 100-150 мг нитратов в день. Существуют несколько научных работ, в которых был использован нитрат натрия в качестве пищевой добавки в спорте. Так, в работе Larsen и соавторов (2010) было показано, что прием нитрата натрия внутрь в дозировке 0,1 ммоль/ кг в течение 3 дней привело к повышению эффективности энергопродукции при мышечной деятельности со снижением потребности в кислороде. В другой работе (Bescos et al. 2011) с участием профессиональных велосипедистов и триатлонистов также было установлено, что прием нитрата натрия в дозировке 10 мг/кг за 3 часа до тренировки снижает потребность организма в кислороде без последствий для физической работоспособности. Иными словами, прием нитрата натрия может повысить экономичность мышечной работы.

### **Нитрат натрия в составе свекольного сока**

Свекольный сок является одним из крупнейших открытий спортивной науки последнего десятилетия, когда исследователи из Университета Эксетера обнаружили, что он позволяет людям выполнять физические упражнения до 16% дольше. Поразительные результаты заставили многих профессиональных спортсменов, от футболистов до велосипедистов, обратить внимание на потенциал использования свекольного сока в своей спортивной практике. Такой эффект может оказать прием 500 мл свекольного сока в день (эквивалент 527 мг нитрата натрия) в течение 6 дней.

Недавнее исследование (Lansley et al. 2010) о пользе свекольного сока предполагает, что ключевыми его ингредиентами, которые придают ему уникальные свойства увеличивать спортивную результативность, являются нитраты.

При потреблении, свекольный сок обладает двумя отмеченными физиологическими эффектами. Во-первых, он расширяет кровеносные сосуды, снижает артериального давления и увеличивает кровоток. Во-вторых, оно влияет на мышечную ткань, уменьшая количество кислорода, необходимого мышцам во время физической работы. Совокупное воздействие свекольного сока оказывает значительное влияние на результативность выполнения физических задач, будь то упражнения низкой или высокой интенсивности.

*Оптимальные дозы и время приема свекольного сока*

250 мл в день в течение 4 недель за 2,5 часа до тренировки.

### **3. Методические рекомендации по применению донаторов оксида азота с целью повышения физической работоспособности спортсменов, занимающихся скоростно-силовыми видами спорта**

Прием донаторов оксида, таких как свекольный сок, аминокислота L-аргинин, L-цитруллин, нитрат натрия, глицин-пропионил-L-карнитин и другие, может значительно повысить толерантность организма к анаэробным физическим нагрузкам. Важно отметить, что донаторы оксида азота по своей природе не являются допинговыми средствами.

Наиболее используемым в силовых видах спорта донатором оксида азота считается **L-аргинин**. Аргинин (или L-Аргинин) - условно незаменимая алифатическая аминокислота. Аргинин - основной донатор оксида азота и его переносчик. Аргинин служит как носитель и донатор азота, который необходим в синтезе мышечной ткани, именно эта функция явилась главным фактором распространения аргинина в силовых видах спорта. Аргинин способствует увеличению мышечной массы и уменьшению жиров при адекватной физической нагрузке.

Аргинин содержится в продуктах: творог, сыр, и другие молочные продукты, мясо, морепродукты, зерновые культуры, орехи и др.

#### *Оптимальные дозы*

Для набора мышечной массы аргинин рекомендуется принимать в дозах от 3 до 9 г в сутки. Чем выше доза, тем ощутимее эффект, однако не рекомендуется превышать дозу более 10 г. Надо начинать прием с наименьшей дозы, затем постепенно увеличивать ее. Порошковые формы растворяют в холодной воде (1 стакан), таблетированные запивают стаканом воды.

#### *Оптимальное время приема*

Лучшее время для приема аргинина: перед тренировкой, после тренировки - для улучшения питания мышц. На ночь - для усиления секреции гормона роста.

**Цитруллин** - аминокислота, которая не входит в состав строительных белков, однако имеет большое число физиологических эффектов, цитруллин участвует в метаболизме мочевины, он является промежуточным метаболитом в утилизации токсичного вещества - аммиака.

### *Цитруллин в силовых видах спорта*

Цитруллин широко применяется в спорте как добавка с целью увеличения производительности, ускорения восстановления и улучшения кровоснабжения мышц. Чаще всего цитруллин выпускается в виде цитруллина малата. Поскольку цитруллин участвует в утилизации мочевины, он способствует скорейшему выведению таких токсинов, как мочевина и молочная кислота. Эти продукты обмена образуются в процессе физической активности, обмена протеина и катаболических реакций, они замедляют восстановление и снижают физические показатели спортсмена.

Ученые также определили, что цитруллин может использоваться как альтернатива аргинину, поскольку в организме происходит инверсия одной аминокислоты в другую. Это значит, что цитруллин может увеличивать продукцию гормона роста, секрецию инсулина и продукцию креатина.

Также в исследованиях было обнаружено, что цитруллин малат в дозе около 6 г в сутки снижает мышечное утомление, увеличивает уровень продукции АТФ на 34%, а также поднимает концентрацию фосфокреатина на 20% после выполнения упражнений, что делает его мощным восстановителем и энергетиком, который может существенно улучшить результаты в бодибилдинге, пауэрлифтинге и других силовых видах спорта.

Цитруллин позволяет сделать тренировки более интенсивными, а также сократить время восстановления.

Максимальный эффект цитруллина наступает на 15 день приема, однако первые положительные ощущения возникают уже на 3-4 день приема. Рекомендуемая продолжительность курса 1-2 месяца. Цитруллин можно принимать на постоянной основе - без перерывов.

#### *Как принимать цитруллин*

Цитруллин рекомендуется принимать на пустой желудок перед тренировками, за 20-30 минут. Дополнительная порция может быть принята утром и перед сном. Поскольку многие эффекты цитруллина обусловлены подъемом уровня аргинина, специфика приема тоже одинакова.

#### *Оптимальные дозы цитруллина*

Минимальная эффективная доза цитруллина - 6 г в сутки. Однако в некоторых исследованиях цитруллин использовался в дозах 18 грамм в сутки, при этом получены значительно лучшие результаты. Следует обратить внимание на то, что во многих спортивных добавках цитруллин содержится в крайне малых количествах, которые не позволяют извлечь из него максимальную пользу.

#### **Нитрат натрия в составе свекольного сока**

Свекольный сок содержит высокие дозы нитратов. Обнаружено, что он повышает физическую работоспособность на 16%. Установлено, что спортсмены, пьющие свекольный сок, меньше устают от физических нагрузок. Самый заметный эффект от приема сока этого овоща достигается при регулярных тренировках. Для этого учёные отобрали семерых здоровых мужчин и попросили их выполнить серию упражнений с разгибанием ног в коленях. При этом замерялся уровень физического напряжения испытуемых

и проводилось магнитно-резонансное сканирование, позволявшее наблюдать за тем, что происходит с мышцами. Тест повторялся дважды: сначала мужчины выполняли упражнения, выпив свекольный сок; через некоторое время вместо сока использовался напиток-плацебо из чёрной смородины.

Оказалось, что после употребления сока свёклы в крови удваивалось количество определённого нитрата и сокращалась скорость использования мышцами основного источника энергии - аденозинтрифосфата. Как результат, мышцы испытуемых работали более эффективно и поглощали меньше кислорода. Еще одно исследование подтвердило, что прием свекольного сока может не только повысить выносливость, но и мощность на 5%.

### **Глицин-пропионил-Л-карнитин (GPLC)**

Глицин-пропионил-Л-карнитин (GPLC) относится к новым добавкам, эффективность которого при тренировках доказана в различных экспериментах. Установлено, что глицин-пропионил-Л-карнитин обладает как антиоксидантным эффектом, так и повышает экспрессию гена эндотелиальной NO-синтазы, что сказывается на вазодилатации и физической работоспособности. Прием 4,5 мг глицин-пропионил-Л-карнитина в день в течение 4 недель способно существенно повысить уровень метаболитов оксида азота в организме человека (Bloomer et al. 2007). В недавней работе (Jacobs et al. 2009) было показано, что однократный прием 4,5 мг глицин-пропионил-Л-карнитина за 90 минут до физической нагрузки повышает максимальную мощность на 5,2% и анаэробную выносливость (способность удержать мощность на высоком уровне в течение долгого времени) при выполнении Вингейт-теста.

*Оптимальные дозы и время приема глицин-пропионил-Л-карнитина  
4,5 мг в день в течение 4 недель за 1,5 часа до силовой тренировки.*

## Заключение

Многочисленными исследованиями установлено, что прием донаторов оксида, таких как свекольный сок, аминокислота L-аргинин, L-цитруллин, нитрат натрия, глицин-пропионил-L-карнитин и другие, может значительно повысить уровень физической работоспособности спортсменов за счет увеличения доставки кислорода и нутриентов к рабочим группам мышц. Установлено, что прием донаторов оксида азота повышает толерантность организма, как к аэробным, так и анаэробным физическим нагрузкам и способствует более быстрому восстановлению скелетных мышц, в особенности у юных спортсменов.

Важно отметить, что донаторы оксида азота по своей природе не являются допинговыми средствами, однако их широкое применение ограничено в связи недостаточной информацией, касающейся подбором наиболее эффективных форм и дозировок донаторов оксида азота.

Эффект от приема донаторов оксида азота связан с физиологическими свойствами оксида азота. Оксид азота в организме человека выполняет роль универсального регулятора многих биологических функций. Под его влиянием оксида азота происходит расслабление сосудов, повышается потребление глюкозы во время физических нагрузок, улучшается сократительная функция миокарда. В организме человека оксид азота синтезируется из аминокислоты L-аргинин под влиянием ферментов NO-синтаз (NOS). Под влиянием эндотелиальной NO-синтазы происходит синтез физиологических уровней оксида азота. Образующийся из L-аргинина оксид азота активирует в гладкомышечных клетках гуанилатциклазу, стимулирующую синтез цГМФ, который, в свою очередь, обуславливает вазодилатацию.

Таким образом, применение донаторов оксида азота с целью повышения аэробной и анаэробной работоспособности спортсменов способно повысить эффективность подготовки спортсменов.