

W. A. ROGOZKIN, L. MARKIEWICZ

## ZMIANY W MIĘŚNIACH PO PRACY FIZYCZNEJ PRZY STOSOWANIU FOSFORANÓW \*

Zagadnieniem zwiększenia wydolności ustroju przy wykonywanej pracy fizycznej pod wpływem podawania dużych ilości fosforanów zajmowało się szereg badaczy (5, 6, 16). Badania te zapoczątkowane przez *Embdena* kontynuowane były przez szereg pracowni fizjologicznych. Wprowadzenie do ustroju soli fosforowych bądź doustnie, bądź też pozajelitowo powodowało wyraźne działanie dodatnie, usprawniając pracę mięśniową. Obserwowanie zjawisk fizjologicznych pozostawiło zupełnie na uboczu przebadanie zmian biochemicznych w mięśniach, zwłaszcza dotyczących związków ważnych energetycznie przy pracy. Zagadnienie to nie posiada dotychczas szerszej interpretacji biochemicznej. I tak *Krestownikow* ze wsp. stoi na stanowisku, że ten dodatni wpływ stosowanych fosforanów biegnie drogą pobudzenia układu nerwowego, przede wszystkim przez zmianę trofiki. *Embden* natomiast uważa, że główne znaczenie ma tutaj proces wzmocnienia fosforylacji glukozy w pracujących mięśniach. Przypuszczenia te nie zostały dotychczas poparte badaniami biochemicznymi.

Ponieważ czołową rolę w przemianie energetycznej mięśni odgrywają poza ATP takie związki jak fosfokreatyna, glikogen i powstający w procesie glikolizy kwas mlekowy, postanowiliśmy przebadać ich zachowanie się zarówno w spoczynku jak i po wykonanej pracy po jednorazowym podaniu fosforanu sodu.

### METODYKA

Doświadczenia przeprowadzono na 136 białych szczurach, samcach, wagi 130—170 g. Na 30 min., 1 godz., 2 godz., 6 godz. i 24 godziny przed wykonaniem pracy wprowadzano im dootrzewnowo wodny roztwór  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  o zawartości odpowiadającej 10 mg P w 1 mililitrze w dawce równej 30 mg P/kg wagi zwierzęcia.

\* Praca została wykonana w zakładzie Biochemii (Kierownik Prof. dr N. N. Jakowlew) Leningradzkiego Naukowo-Badawczego Instytutu Kultury Fizycznej (Dyr. Kand. n. med. W. E. Ryżkowa).

Część zwierząt służyła jako grupa kontrolna otrzymując w podobny sposób odpowiednie ilości 0,9% NaCl.

Zwierzęta podzielono na IV grupy. I — stanowiły szczury kontrolne, otrzymujące roztwór soli fizjologicznej. II — otrzymujące fosforan sodu. Zwierzęta obu tych grup znajdowały się w zupełnym spokoju przez okres czasu jaki upływał od chwili iniekcji do pobrania materiału. III grupa pływała przez 15 min. w wodzie o temperaturze znajdowały się w zupełnym spokoju przez okres czasu jaki upływał od chwili jej zakończenia.

15 minutowy okres pływania według szeregu autorów (4, 11, 12) wywołuje przemiany energetyczne w mięśniach w znacznym stopniu opierające się na fazie bez-tlenowej z bardzo zaznaczonymi zmianami biochemicznymi.

Zwierzęta zabijano przez szybką dekapitację i wycięty mięsień łydkowy zamrażano ciekłym powietrzem, rozcierając go dokładnie na proszek. W otrzymanym w ten sposób proszku mięsny oznaczano zawartość fosfokreatyny (1), kw. mlekowego (2) oraz glikogenu według metody Pflügera.

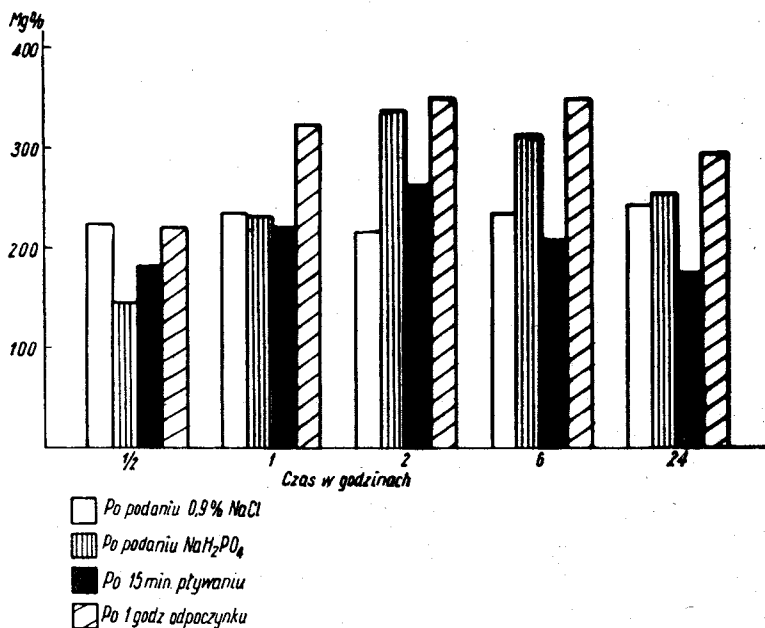
## WYNIKI

Dootrzewnowe podanie roztworu fizjologicznego nie wywołuje żadnych zmian w poziomie badanych przez nas substancji (tab. 1). Poziom fosfokreatyny, glikogenu, czy kw. mlekowego znajduje się w granicach uważanych za wartości charakterystyczne w spoczynku (4, 11). Natomiast podanie fosforanu powoduje zmiany w chemizmie mięśni już w warunkach spoczynku, przy czym działanie to jest zależne od czasu, jaki upłynął od chwili iniekcji.

Zmiany biochemiczne w spoczynku. W 30 min. po iniekcji  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  obserwujemy obniżenie poziomu fosfokreatyny mięśni o 30% (ryc. 1) przy jednoczesnym podwyższeniu zawartości kwasu mlekowego (o 58%). Zmiany te nie mogły być spowodowane zwiększoną ruchliwością, gdyż obie grupy szczurów: badane i kontrolne zachowywały się jednakowo. Po 1 godzinie poziom kw. mlekowego był wyższy o 61%, natomiast poziom fosfokreatyny i glikogenu nie ulegał zmianom w stosunku do zwierząt kontrolnych. Po 2 godz. od chwili iniekcji pojawiały się największe odchylenia. Poziom fosfokreatyny wzrastał o 58% i glikogenu o 18% ( $p < 0,01$ ), zaś poziom kwasu mlekowego pozostawał w granicach normy. Od tej chwili poziom fosfokreatyny zaczyna się stopniowo obniżać, chociaż jeszcze po 6 godz. znajduje się o 36% wyżej normy. W 24 godz. zawartość fosfokreatyny, kw. mlekowego i glikogenu nie wykazuje różnic w porównaniu z grupą kontrolną.

Zmiany po pracy fizycznej i odpoczynku. Część zwierząt po uprzednim otrzymaniu fosforanu pływała przez okres 15 min. Pływanie po 30 minutowej przerwie od chwili iniekcji wywoływało ustalenie się zawartości fosfokreatyny na poziomie wyższym o 26%, zaś kw. mlekowego o 38% w stosunku do tego jaki stwierdzano przed pracą. 60

minutowy odpoczynek powodował dalszy wzrost fosfokreatyny (o 54% w stosunku do poziomu przed pracą), osiągając wartości otrzymane u grupy kontrolnej. Glikogen i kw. mlekowy w okresie odpoczynku powracały do normy. Po pracy wykonanej w 1 godz. od chwili iniekcji zawartość fosfokreatyny nie wykazywała zmian, natomiast po odpoczynku poziom jej podnosił się o 39% w stosunku do wartości przed pracą. Poziom glikogenu zachowywał się jak w okresie poprzednim, natomiast kw. mlekowy był



Ryc. 1. Zawartość fosfokreatyny w mięśniach.

Fig. 1. Phosphocreatine content in muscles. 1 — after administration of 0.9% NaCl; 2 — after administration of NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 3 — after 15 min. swimming; 4 — after 1 hour of rest; time in hours.

niższy bezpośrednio po pracy i po okresie odpoczynku zmniejszał się jeszcze nieznacznie.

Zmiany biochemiczne po pływaniu, które miało miejsce w 2. i 6. godzinie od iniekcji fosforanów charakteryzują się obniżeniem fosfokreatyny, przy stosunkowo małym wzroście kw. mlekowego. Ze względu na wysoką zawartość fosfokreatyny po podaniu fosforanu poziom ten jest jeszcze wyższy od poziomu grupy kontrolnej. 60 minutowy odpoczynek przywraca wysokie wartości fosfokreatyny, przy równoczesnym spadku kw. mlekowego poniżej normy (w 2 godz.). Odpoczynek ten również pozwala na odtwarzanie się glikogenu.

*Tabela 1.* Zachowanie się poziomu fosfokreatyny, glikogenu i kwasu mlekowego mięśni w spokoju, po pracy i odpoczynku w mg/100 g.  
*Table 1.* Changes in the levels of muscle phosphocreatine, glycogen, and lactic acid (in mg/100 g.) during rest, after effort, and after rest

Warunki doświadczeń (1)	Fosfokreatyna (3)					Glikogen (4)					Kwas mlekowy (5)				
	1/2	1	2	6	24	1/2	1	2	6	24	1/2	1	2	6	24
Czas w godz. (2)															
Podanie 0,9% NaCl (6)	217	227	211	225	233	481	541	513	455	553	52.0	52.0	53.5	37.3	45.9
	±9.4	±14.1	±24.4	±24.6	±10.1	±24.0	±27.0	±42.0	±51.2	±26.0	±8.0	±6.9	±7.3	±5.0	±1.2
Podanie fosforanu sodu (30 mg P/kg) (7)	140	225	333	306	249	444	573	609	441	589	78.4	84.0	44.5	38.2	46.4
	±4.9	±12.5	±17.8	±11.1	±7.4	±21.6	±32.2	±17.6	±15.4	±29.8	±8.2	±7.7	±3.9	±5.7	±2.7
Pływanie 15 min. (8)	176	212	256	200	165	334	373	310	251	330	108.3	74.6	58.0	48.3	67.6
	±7.8	±11.4	±3.9	±17.0	±9.9	±20.2	±26.8	±36.0	±12.6	±9.1	±8.2	±6.3	±3.9	±3.4	±3.0
Odpoczynek 60 min. (9)	216	314	346	341	286	431	468	410	414	360	20.2	72.5	37.7	44.2	39.5
	±14.2	±27.0	±13.4	±14.2	±34.5	±35.0	±35.6	±22.6	±13.2	±18.3	±4.2	±11.3	±2.4	±4.3	±6.1

Experimental conditions (1); time in hours (2); phosphocreatine (3); glycogen (4); lactic acid (5); administration of 0.9% NaCl (6); administration of sodium phosphate (30 mg P/kg.) (7); swimming 15 min. (8); resting 60 min. (9).

Pływanie i odpoczynek w 24 godz. po iniekcji powoduje podobne zmiany jak te, które pojawiają się w tychże warunkach u zwierząt kontrolnych.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Powyższe wyniki doświadczeń pozwalają sądzić, że wprowadzenie do organizmu fosforanu sodu wywołuje duże zmiany biochemiczne w mięśniach. Efekt działania jest zależny od czasu, jaki upływa między momentem iniekcji, a początkiem badania. W początkowym okresie czasu (30—60 min.) po podaniu fosforanu dochodzi do nasilenia glikolizy w mięśniach, co uzewnętrznia się wzrostem zawartości kw. mlekowego, przy jednoczesnym obniżeniu poziomu fosfokreatyny. Brak zmian w poziomie glikogenu jest prawdopodobnie spowodowany zużyciem glukozy krwi. Istnienie takiej możliwości potwierdzają prace *Jakowlewa*, który obserwował obniżenie poziomu cukru we krwi po dożylnym podaniu fosforanów. Jednocześnie wzrost fosfoheksos w mięśniach świadczy o natężeniu przemiany węglowodanowo-fosforowej.

Należy jednak podkreślić, że praca fizyczna wykonana niedługo po podaniu fosforanu, nie prowadzi do dalszego obniżenia poziomu fosfokreatyny. Przeciwnie, poziom ten ulega podwyższeniu, w stosunku do wartości przedroboczych. Natomiast praca wykonana w 2 godz. po iniekcji charakteryzuje się stosunkowo niewielkim obniżeniem fosfokreatyny ze względu na jej wysoki poziom wyjściowy. Mimo spadku poziom ten jest tak wysoki, że przekracza wartości stwierdzone u szczurów kontrolnych, przebywających w zupełnym spokoju. Stan ten łącznie z podwyższeniem poziomu glikogenu stwarza znacznie lepsze warunki dla wykonania pracy fizycznej i wydaje się iż jest to przyczyna podnoszenia wydolności ustroju w wyniku podania fosforanu. Należy podkreślić, że *Sacks, Kaplan i Greenberg* w tym okresie czasu (105—120 min.) spostrzegali powiększenie wszczepiania  $^{32}\text{P}$  do cząstek fosfokreatyny i ATP.

Nasze wyniki w porównaniu z dawnymi badaniami (8, 10, 18) dotyczącymi wpływu insuliny na przemianę fosforowo-węglowodanową wykazują pewną zbieżność. Podanie insuliny zwiększa bowiem nie tylko zawartość fosfoheksos w tkance mięśniowej, ale powoduje również podniesienie poziomu fosfokreatyny (7, 13). Zestawienie działania insuliny i fosforanów pozwala wysnuć wniosek, że u jego podstawy leży ogólny mechanizm, powodujący zwiększenie procesów fosforylacji glukozy — a co za tym idzie zwiększenie zawartości bogato-energetycznych połączeń fosforowych.

Resynteza fosfokreatyny i innych połączeń bogatych w energię może przebiegać przy udziale beztlenowej lub tlenowej fosforylacji. *Cori* i wsp. stoją na stanowisku, że obok procesu w którym bierze udział ATP istnieje

drugi — bez udziału systemu kw. adenilowego. Można więc sądzić, że większe natężenie w przemianie fosfoheksosów w wyniku podania fosforanu powoduje z kolei zwiększenie zawartości kw. dwufosfoglicerynowego (15), który aktywnie bierze udział w procesie przestryfikowania reszty fosforowej na kreatynę. Według hipotezy Cori i wsp. droga ta dla resyntezy fosfokreatyny w mięśniach szkieletowych byłaby zasadnicza.

Nie należy oczywiście całkowicie wykluczać możliwości resyntezy fosfokreatyny drogą reakcji z ATP.

Innym interesującym zagadnieniem jest to, że wzrost fosfokreatyny mięśni w 2 do 6 godz. po podaniu fosforanu osiąga przeciętnie takie wartości, jakie spotykamy u szczurów w wyniku codziennego treningu prowadzonego w ciągu miesiąca. Obniżenie poziomu tego związku w wyniku pracy fizycznej dochodzi jedynie do wartości jakie otrzymujemy przed pracą w grupie zwierząt kontrolnych. Po 60 minutowym odpoczynku powraca ona do poziomu wyjściowego. Stężenie kw. mlekowego w mięśniach w wyniku pracy zwiększa się tylko o 30—40%, gdy bez wprowadzenia  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (po podaniu roztworu soli fizjologicznej) jest 4—5 razy wyższe od normy. Tak więc praca fizyczna wykonywana po 2 godzinach od chwili iniekcji charakteryzuje się mniejszą intensywnością procesów glikolizy z jednoczesnym utrzymaniem wysokiego poziomu fosfokreatyny w mięśniach.

Dane powyższe wyraźnie wskazują, że zmiany zachodzące po podaniu fosforanu są ściśle związane z utrzymaniem pogotowia energetycznego mięśni, pozwalając na powstanie lepszych warunków do wykonania pracy. Zmiany dotyczące zachowania poziomu glikogenu po pracy i odpoczynku, w pełni pokrywają się z danymi innych autorów (4, 11, 12). Działanie fosforanów w tym wypadku nie jest tak jasno widoczne.

Na podstawie powyższych doświadczeń dochodzimy do wniosku, że podanie fosforanów powodując zmianę przemian fosforo-węglowodanowych wpływa bezpośrednio na powiększenie potencjału energetycznego mięśni. W uprzednich naszych badaniach (14) wykazaliśmy bowiem, że działanie to jest obwodowe, gdyż zmiany o podobnym charakterze występowały także po uprzednim odnerwieniu mięśni kończyny.

#### WNIOSKI

1. W 30 min. po podaniu fosforanu zwierzętom w dawce 30 mg P/kg wagi, w mięśniach można zaobserwować pewne samorzutne obniżenie poziomu fosfokreatyny przy jednoczesnym wzmożeniu procesów glikolizy.
2. W 120 min. po podaniu fosforanu intensywność glikolizy w mięśniach obniża się. Zawartość fosfokreatyny jest znacznie podwyższona i utrzymuje się na tym poziomie przez dłuższy okres czasu.

3. Praca fizyczna wykonana w tym okresie czasu wyraża się mniejszymi zmianami w zawartości fosfokreatyny i kw. mlekowego w porównaniu z wynikami otrzymanymi w zwykłych warunkach.

В. А. Рогозкин, Л. Маркевич

### ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ФОСФАТОВ

#### Содержание

В экспериментах проведенных на 136 крысах исследовалось влияние однократного параэнтерального введения фосфата на состояние уровня фосфокреатина, гликогена и молочной кислоты в мышцах  $\text{Na H}_2\text{PO}_4$ , подавался в дозе 30 мг P/kg веса животного. Изменения происходящие в мышцах, исследовались в разные сроки после введения препарата, в условиях полного покоя, после физической нагрузки (15 — минутное плавание), и после отдыха (1 час).

В результате введения фосфора наблюдается повышение уровня фосфокреатина и гликогена. Самые выразительные изменения наблюдаются в 2 часа после инъекции фосфата.

Повышение функциональных способностей животного после физической нагрузки обусловлено повышением процессов фосфорилирования глюкозы и накоплением высокоэнергитических фосфорных соединений. Повидимому фосфат действует непосредственно на мышечный метаболизм.

W. A. Rogozkin, L. Markiewicz

### CHANGES IN MUSCLE AFTER PHYSICAL EFFORT AS MODIFIED BY ADMINISTRATION OF PHOSPHATES

#### Summary

Experiments were carried out on 136 rats and the the effect was studied of single parenteral administration of phosphate on the behaviour in muscles of phosphocreatine, glycogen, and lactic acid.  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  was used in doses equivalent to 30 mg. P/kg, of body weight. Changes in the muscles at different intervals since the injection were studied in absolute rest, after physical effort (15 min. swimming), and after 1 hour rest.

Administration of phosphate raised the levels of phosphocreatine and glycogen. The most conspicuous changes were noted 2 hours after the injection.

The efficiency of the organism is increased after physical effort through enhanced phosphorylation of glucose and accumulation of energy-rich phosphorus compounds. Phosphates appear to act directly on the metabolism of muscles.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Aleksiejewa A. M.: *Biochimia*, 1951, 16, 97. — 2. Barker S. B., Summerson W. H.: *J. Biol. Chem.*, 1941, 138, 535. — 3. Cori O., Traverso-Cori A., Lagarrigue M., Marens F.: *Biochem. J.*, 1958, 70, 633. — 4. Czagowiec N. R.: *Ukr. Bioch. Żurn.*, 1957, 29,

450. — 5. Daniłow A. A., Koriakina A. F., Kossowska E. B., Krestownikow A. N., Fomiczew A. W.: Fizjoł. Żurn., 1933, 16, 606. — 6. Embden G., Graf J., Schutz G.: Zeitschr. Physiol. Chem., 1921, 113, 67. — 7. Genes S. G.: Uśpiechi sowr. bioł. 1958, 45, 150. — 8. Iljin W. S., Jakowlew N. N., Wessełkina W. M.: Ztschr. Ges. Exp. Med., 1934, 93, 679. — 9. Jakowlew N. N.: Fizjoł. Żurn., 1937, 22, 639. — 10. Jakowlew N. N.: Izw. Naucz. Inst. Lesgafita, 1938, 21, 65.
11. Jakowlew N. N.: Fizjoł. Żurn., 1955, 41, 568. — 12. Jakowlew N. N., Leszkiewicz L. G., Szaposznikowa W. I.: Ukr. bioch. żurn., 1957, 29, 292. — 13. Kaplan N. O., Greenberg D. M.: J. Biol. Chem., 1944, 156, 525. — 14. Markiewicz L., Rogozkin W. A.: Biul. Exp. Bioł. i Med. (w druku), 1959. — 15. Rapaport S.: Bioch. Ztschr., 1937, 289, 416. — 16. Riabuszinskaja N. P.: Żurn. Eksp. Bioł. i Med., 1930, 13, 92. — 17. Sacks I.: Am. J. Physiol., 1945, 143, 157. — 18. Wesełkin N. W.: Fizjoł. Żurn., 1935, 19, 93.

Otrzymano dnia 13. V. 1959 r.