

**ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В МЕХАНИЗМАХ ПОВЫШЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ
МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ПОРОГЕ
АНАЭРОБНОЙ НАГРУЗКИ**

Аннотация.

Актуальность и цели. Рассматриваются механизмы энергообеспечения работающей мышцы. Целью работы является изучение роли сукцинатдегидрогеназы (КФ 1.3.99.1.) – одного из ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот в накоплении лактата при пороге анаэробного обмена.

Материалы и методы. Работа выполнена на белых беспородных крысах, активность сукцинатдегидрогеназы изучается в гомогенате мышц животных после физической работы, а также *in vitro* при разных значениях pH реакционной среды.

Результаты. Анализируется динамика изменения величины pH крови при ступенчато повышающейся нагрузке у спортсменов разной квалификации, обсуждается возможный молекулярный механизм резкого увеличения концентрации лактата в крови. Показано, что точка излома на кривой изменения величины pH предшествует во времени точке излома на кривой увеличения концентрации лактата при физической работе.

Выводы. При достижении точки pH, равной в сыворотке крови 7,35 происходит резкое снижение активности СДГ, что приводит к быстрому накоплению метаболитов, преимущественно карбоновых кислот, которые вызывают существенное снижение pH среды и переход энергообеспечения метаболизма на преимущественно гликолитический.

Ключевые слова: сукцинатдегидрогеназа, pH, лактат, анаэробный порог, физическая работа.

V. B. Solovev, R. N. Volodin

**A STUDY OF THE ROLE OF SUCCINATE DEHYDROGENASE
IN THE MECHANISMS OF LACTIC ACID CONCENTRATION
INCREASING AT THE ANAEROBIC THRESHOLD**

Abstract.

Background. The article considers the mechanisms of energy-supply of functioning muscles. The purpose of this work is to study the role succinate dehydrogenase role as one of the key enzymes of the tricarboxylic acids cycle in lactate accumulation at the threshold of anaerobic exchange.

Materials and methods. The research was carried out on outbred white rats. The authors studied the succinate dehydrogenase activity in the animals' muscles homogenate after certain physical activity, and also *in vitro* at different pH values of blood of the reactive medium.

Results. The work analyzes the dynamic pattern of blood pH at the stepwise raising exercise of athletes of different qualification and discusses possible molecular mechanisms of sharp increase of blood lactate concentration. It is shown that the

breakpoint on the pH value change curve precedes in time the breakpoint on the lactate concentration increase curve at certain physical activities.

Conclusions. Upon reaching the pH equaling 7,35 in blood serum the activity of succinate dehydrogenase sharply decreases leading to rapid accumulation of metabolites, mostly carboxylic acids, which cause considerable reduction in pH and energy metabolism transition to the predominantly glycolytic.

Key words: succinate dehydrogenase, pH, lactate, anaerobic threshold, physical activity.

Введение

Более века исследователи заняты изучением физиологических и биохимических изменений, происходящих в организме при физической нагрузке. В начале XX столетия Douglas с соавторами [1] обнаружили увеличение концентрации лактата в крови при одновременном снижении концентрации бикарбонатных ионов и усилении дыхания при физической нагрузке. Позднее Wasserman [2] и Holtmann [3] разработали концепцию «порога анаэробной нагрузки организма» (ПАНО) и неинвазивные методы его определения, связав повышение концентрации лактата с возникающим кислородным долгом. В настоящее время гипотеза лактатного порога подвергается резкой критике со стороны физиологов и биохимиков [4]. При нарастающей интенсивности физической нагрузки существует момент, начиная с которого концентрация лактата в крови резко увеличивается [5, 6]. Ранее исследователи ошибочно принимали это наблюдение за внезапное начало образования лактата. В настоящее время известно, что лактат образуется в организме и в условиях достаточного поступления кислорода [7].

Результаты исследований кислотно-основных показателей крови, показателей буферной системы крови, а также концентрации лактата в крови спортсменов разных квалификационных групп в норме и при физической работе различной интенсивности, проведенных в Пензенском государственном университете, показывают справедливость гипотезы лактатного порога [8]. Авторы предполагают, что инактивация ферментов аэробного расщепления пировиноградной кислоты является причиной возникновения ПАНО и приводит к резкому увеличению концентрации лактата в мышечных клетках и крови. Гипотеза возникновения построена на данных исследования, в которых показано, что точка ПАНО у спортсменов разных квалификационных групп является постоянной и возникает при достижении pH крови 7,35. Это косвенно подтверждается литературными данными об инактивации пируватдегидрогеназного комплекса и ферментов цикла трикарбоновых кислот при pH ниже физиологических значений [9]. Однако эта гипотеза остается неподтвержденной, поскольку исследований активности данных ферментов в гомогенате мышц при различных значениях pH не проводилось. К настоящему времени в литературе имеются данные о pH-оптимуме сукцинатдегидрогеназы, однако динамика изменения активности при закислении не исследована.

Таким образом, целью нашей работы являлось изучение роли сукцинатдегидрогеназы – одного из ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот в возникновении точки ПАНО.

Материалы и методы

В качестве материала использовались скелетные мышцы самцов белых беспородных крыс массой 300–350 грамм. Физическая работа создавалась с использованием модели острой физической нагрузки [10]. Диапазон pH создавали набором 100 мМ фосфатных буферов с pH от 6,0 до 7,5. Гомогенаты мышц каждой серии исследования приготавливали на соответствующем буфере. Активность сукцинатдегидрогеназы определяли по методу [11] и выражали в нмолях окисленного сукцината за 1 мин на 1 мг белка, учитывая, что снижение оптической плотности на 1,0 эквивалентно восстановлению 60 нмолей 2,6-ДХФИФ, а количество восстановленного красителя пропорционально количеству окисленного сукцината. Концентрацию белка в гомогенатах мышц крыс определяли по Лоури [12]. Результаты обрабатывали с использованием *t*-критерия и монофакторного дисперсионного анализа.

Результаты и их обсуждение

В результате нашего исследования было выяснено, что физическая работа вызывает повышение активности СДГ в мышцах крысы, что свидетельствует о высокой роли данного фермента в обеспечении физической работы энергией (рис. 1). По-видимому, организм мобилизует данный фермент с целью увеличения скорости окисления субстратов при повышенной физической активности.

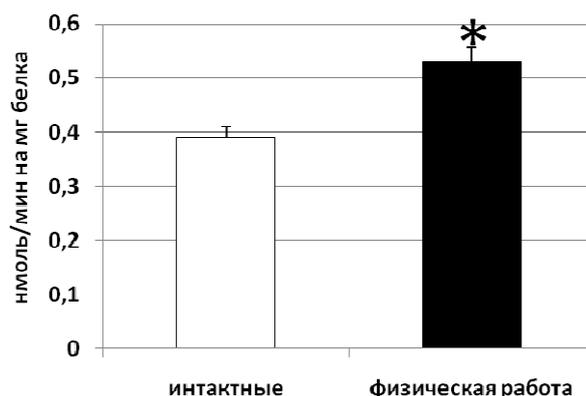


Рис. 1. Влияние физической работы на активность сукцинатдегидрогеназы в мышцах крысы (нмоль/мин на мг белка, $M \pm m$, $N = 6-14$). * – $P < 0,05$

Исследование активности СДГ при различных значениях pH показывает выраженный спад активности фермента при значении pH 7,25 (рис. 2). Активность фермента при этом снижается на 40 %. Наличие излома в графике зависимости активности фермента от pH, т.е. резкой потери активности фермента свидетельствует о возможной роли данного процесса в дальнейшем резком увеличении концентрации предшествующих метаболитов, в том числе лактата и резком снижении pH среды, что приводит к снижению физической работоспособности и выносливости, т.е. к тем явлениям, которые сопровождают точку ПАНО.

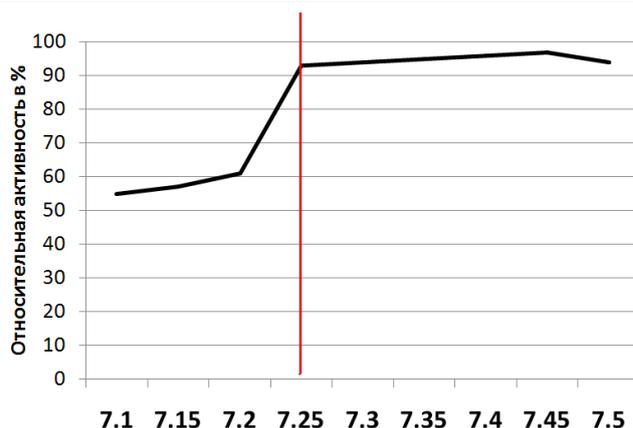


Рис. 2. Активность сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах мышц при различном значении pH (активность в % по отношению к максимальной активности, $N = 6$)

Результаты нашего исследования подтверждают гипотезу, сформулированную сотрудниками кафедры «Общая биология и биохимия» Пензенского государственного университета, – возможной причиной возникновения точки ПАНО является выраженное снижение активности сукцинатдегидрогеназы при закислении [8].

Заключение

Таким образом, можно представить следующую модель возникновения точки ПАНО – при физической работе происходит постепенный рост концентрации лактата в работающих мышцах и сыворотке крови, что сопровождается медленным и постепенным снижением pH. Однако при достижении точки pH, равной в сыворотке крови 7,35, происходит резкое снижение активности СДГ, что приводит к быстрому накоплению метаболитов, преимущественно карбоновых кислот, которые вызывают существенное снижение pH среды и переход энергоснабжения метаболизма на преимущественно гликолитический.

Интересным представляется вопрос о механизмах резкого снижения активности СДГ при достижении критической точки pH – 7,25. Данные литературы свидетельствуют о плавном снижении активности фермента при удалении от pH оптимума, однако *in vivo* возможно опосредованное влияние на активность СДГ в составе митохондриального ферментативного комплекса, а также опосредованное влияние через биологические мембраны, поскольку сукцинатдегидрогеназа является митохондриальным ферментом.

Список литературы

1. **Douglas, C. G.** Coordination of the respiration and circulation with carnations in bodily activity / C. G. Douglas // *Lancet*. – 1927. – Vol. 213. – P. 213–218.
2. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise / K. Wasserman, B. J. Whipp, S. N. Koyal, W. L. Beaver // *J. Appl. Physiol.* – 1973. – Vol. 35. – P. 236–243.
3. **Holtman, W.** Zur Frange der Dauerleistungsfahigkeit / W. Holtman // *Fortschr. Med.* – 1961. – Vol. 7. – S. 43–453.

4. **Westerblad, H.** Muscle Fatigue: Lactic Acid or Inorganic Phosphate the Major Cause / H. Westerblad, D. Allen, J. Jannergren // *News Physiol. Sci.* – 2002. – Vol. 17. – P. 17–21.
5. **Solovev, V. B.** The peptidergic system of humans and animals at physical exercise / V. B. Solovev, M. T. Gengin. – Vienna : “East West” Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH, 2016. – 196 p.
6. Влияние физической работы на уровень регуляторных пептидов и активность ферментов их обмена в сыворотке крови спортсменов различных квалификационных групп / В. Б. Соловьев, О. В. Соловьева, А. А. Столяров, В. М. Скуднов // *Actualscience.* – 2015. – Т. 1, № 2 (2). – С. 6–16.
7. **Billat, V. L.** Differential modeling of anaerobic and aerobic metabolism in the 800-m and 1,500-m run / V. L. Billat, J. P. Koralsztein, R. H. Morton // *J. Appl. Physiol.* – 2009. – Vol. 107 (2). – P. 478–487.
8. Кислотно-основные показатели крови спортсменов различных квалификационных групп в норме и при физической работе / В. Б. Соловьев, М. Т. Генгин, В. М. Скуднов, О. П. Петрушова // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* – 2010. – Т. 96, № 5. – С. 539–544.
9. Occurrence of oxygen-sensitive, NADP⁺-dependent pyruvate dehydrogenase in mitochondria / H. Inui, K. Miyatake, Y. Nakano, S. Kitaoka // *J. Biochem.* – 1984. – Vol. 96 (1). – P. 931–934.
10. Утилизация и реституция источников энергии при мышечной деятельности в условиях устойчивого состояния метаболизма / А. Ф. Краснова, Г. И. Самоданова, С. В. Усик, Н. Н. Яковлев // *Физиологический журнал СССР им. И. М. Сеченова.* – 1977. – Т. 63, № 6. – С. 864–871.
11. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle / G. A. Brooks, H. Dubouchaud, M. Brown, J. P. Sicurello, C. E. Butz // *Proc. natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 1129–1134.
12. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrought, A. L. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.

References

1. Douglas C. G. *Lancet.* 1927, vol. 213, pp. 213–218.
2. Wasserman K., Whipp B. J., Koyal S. N., Beaver W. L. *J. Appl. Physiol.* 1973, vol. 35, pp. 236–243.
3. Holtman W. *Fortschr. Med.* 1961, vol. 7, pp. 43–453.
4. Westerblad H., Allen D., Jannergren J. *News Physiol. Sci.* 2002, vol. 17, pp. 17–21.
5. Solovev V. B., Gengin M. T. *The peptidergic system of humans and animals at physical exercise.* Vienna: “East West” Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH, 2016, 196 p.
6. Solov'ev V. B., Solov'eva O. V., Stolyarov A. A., Skudnov V. M. *Actualscience.* 2015, vol. 1, no. 2 (2), pp. 6–16.
7. Billat V. L., Koralsztein J. P., Morton R. H. *J. Appl. Physiol.* 2009, vol. 107 (2), pp. 478–487.
8. Solov'ev V. B., Gengin M. T., Skudnov V. M., Petrushova O. P. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova* [Russian physiological journal named after I. M. Sechenov]. 2010, vol. 96, no. 5, pp. 539–544.
9. Inui H., Miyatake K., Nakano Y., Kitaoka S. *J. Biochem.* 1984, vol. 96 (1), pp. 931–934.
10. Krasnova A. F., Samodanova G. I., Usik S. V., Yakovlev N. N. *Fiziologicheskiy zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova* [Physiological journal of USSR named after I. M. Sechenov]. 1977, vol. 63, no. 6, pp. 864–871.
11. Brooks G. A., Dubouchaud H., Brown M., Sicurello J. P., Butz C. E. *Proc. natl. Acad. Sci. USA.* 1999, vol. 96, pp. 1129–1134.
12. Lowry O. H., Rosebrought N. J., Farr A. L., Randall R. J. *J. Biol. Chem.* 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275.

Соловьев Владимир Борисович

доктор биологических наук, профессор,
кафедра общей биологии и биохимии,
Пензенский государственный университет
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: bionauka@ya.ru

Solovev Vladimir Borisovich

Doctor of biological sciences, professor,
sub-department of general biology
and biochemistry, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Володин Роман Николаевич

преподаватель, кафедра физической
подготовки, Пензенский филиал Военной
академии материально-технического
обеспечения им. генерала армии
А. В. Хрулёва (Россия, г. Пенза-5)

E-mail: volodika7@rambler.ru

Volodin Roman Nikolaevich

Lecturer, sub-department of physical
training, Penza branch Military academy
of logistics named after A. V. Khrulev
(Penza-5, Russia)

УДК 577.156

Соловьев, В. Б.

Изучение роли сукцинатдегидрогеназы в механизмах повышения концентрации молочной кислоты при пороге анаэробной нагрузки / В. Б. Соловьев, Р. Н. Володин // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2016. – № 4 (16). – С. 38–43. DOI: 10.21685/2307-9150-2016-4-4