

УДК 612.111.3-063

Гасюк О.М., Самойленко Ю.С., Половинко Т.О., Леоненко С.Ю.  
**ФІЗИЧНА ПРАЦЕЗДАТНІСТЬ В УМОВАХ ВПЛИВУ ЕРИТРОПОЕЗ-  
 СТИМУЛЮЮЧОГО ФАКТОРУ**

Херсонський державний університет  
 м. Херсон; e-mail: gasuk@ksu.ks.ua

*Ключові слова:* еритропоетин, фізична працездатність, витривалість, виснаження, негемопоетичний вплив

**Вступ.** Еритропоетин (ЕРО) являє собою гормон, глікопротеїн з молекулярною масою 30,4 кДа, що стимулює проліферацію та диференціацію еритроїдних клітин у зрілі еритроцити [2]. Основна роль ЕРО полягає у попередженні розвитку процесів апоптозу попередників еритроцитів. У здорової людини ЕРО переважно синтезується нирками (до 90 %), купферовськими клітинами печінки і визначається рівнем насиченості крові киснем [7].

На сьогоднішній день накопичено чимало доказів плейотропного впливу еритропоетину на фізіологічні системи організму людини. У багатьох дослідженнях показано, що рецептори до ЕРО є не лише на мембранах клітин червоного кісткового мозку, їх також виявлено в клітинах ендотелію, гладеньких і скелетних м'язів, міокарді [7; 9; 12; 28].

Тим не менш, негемопоетичний вплив ЕРО на організм залишається значною мірою нерозкритим. Секреція ЕРО у здорової дорослої людини, насамперед, відбувається в нирках у відповідь на гіпоксію для підтримки оптимального рівня еритроцитарної маси. Зазвичай, базальний рівень секреції ЕРО перебуває у пікомольярних концентраціях, проте в періоди гіпоксичної стимуляції (зокрема під час виконання фізичних вправ) він збільшується у 50-100 разів [6; 13; 16; 22; 23; 25; 27]. У зв'язку з цим, ЕРО розглядають як можливий протиішемічний фактор [4; 23].

Під час застосування рекомбінантного ЕРО у досліджуваних осіб зафіксовано поліпшення настрою [14], у спортсменів покращується загальний фізичний стан [15]. Крім того, повідомлялося про здатність ЕРО сприяти підвищенню експресії судинного ендотеліального фактора росту (VEGF), що обумовлює посилення росту капілярів скелетних м'язів [3]. Деякі дослідження, проведені за участі непідготовлених та підготовлених спортсменів з різних дисциплін, показали, що фізичні вправи субмаксимальної та максимальної сили не впливають на рівень ЕРО в плазмі [5; 18; 19].

На противагу цьому, інші дослідження виявили невелике збільшення рівня ЕРО в плазмі після декількох годин тренування, що підтверджується

різким підвищенням кількості циркулюючих ретикулоцитів після фізичних навантажень [20; 21].

Зустрічаються повідомлення про те, що деякі спортсмени для поліпшення їх фізичної витривалості певний час перебувають на території з розрідженим повітрям (2000-3000 м над рівнем моря), а це спричиняє виникнення гіпоксії та відповідну стимуляцію продукції ЕПО, підвищення вмісту гемоглобіну в крові; проводять переливання еритроцитарної маси, штучно уводять препарат рекомбінантного ЕПО [10; 11; 26]. Припускають, що посилення ниркового кровообігу є лише незначним стимулюючим фактором синтезу ЕПО, проте гормони стресу, такі як кортизол і катехоламіни, можуть відігравати більш значну роль в регуляції продукції ЕПО [8].

Незважаючи на достатню кількість досліджень окремих аспектів застосування еритропоетину, дотепер залишаються відкритими питання щодо особливостей тривалого впливу ЕПО на фізичну працездатність та залежність такого впливу від дози препарату.

Мета даного дослідження - вивчення фізичної працездатності білих лабораторних мишей в умовах тривалого введення різних доз рекомбінантного еритропоетину.

### **ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

У дослідях використовували білих безпородних статевозрілих мишей-самців із вагою  $23 \pm 3$  г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію, де підтримувалась температура на рівні  $20-24$  °C [24]. Всі експериментальні процедури виконано згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986 р. Дослідження проводилося протягом двох місяців. Тварини були розподілені на дослідну ( $n = 30$ ) та контрольну ( $n = 10$ ) групи. Тваринам із дослідної групи протягом двох місяців підшкірно вводили рекомбінантний препарат, стимулятор гемопоезу, еритропоетин (Епобіокрин, ПАТ «Біофарма»). Дослідна група була розподілена на 3 підгрупи по 10 особин у кожній: 1-й групі підшкірно вводили препарат в концентрації 0,13 МО, 2-й групі - 6,5 МО та 3-й групі - 13 МО. На другому етапі експерименту кількість уведеного еритропоетину була зменшена вдвічі: 1 група – 0,065 МО, 2 група - 3,25 МО та 3 група – 6,5 МО. Після кожного третього введення препарату робилась перерва на тиждень. Інтактним тваринам вводився фізіологічний розчин.

Для оцінки впливу еритропоез-стимулюючого фактору на загальну фізичну працездатність тварин, кожного наступного дня після введення препарату застосовували метод примусового плавання до повного виснаження з вантажем, який складав 10% від маси тіла. Мишей поміщали в циліндр ( $h = 30$  см,  $d=30$  см), з теплою водою ( $25 \pm 1$  °C), де вони плавали до повного виснаження. Про фізичну працездатність судили за показниками часу активного плавання над поверхнею води ( $T_{\text{пакт}}$ ) та часу плавання

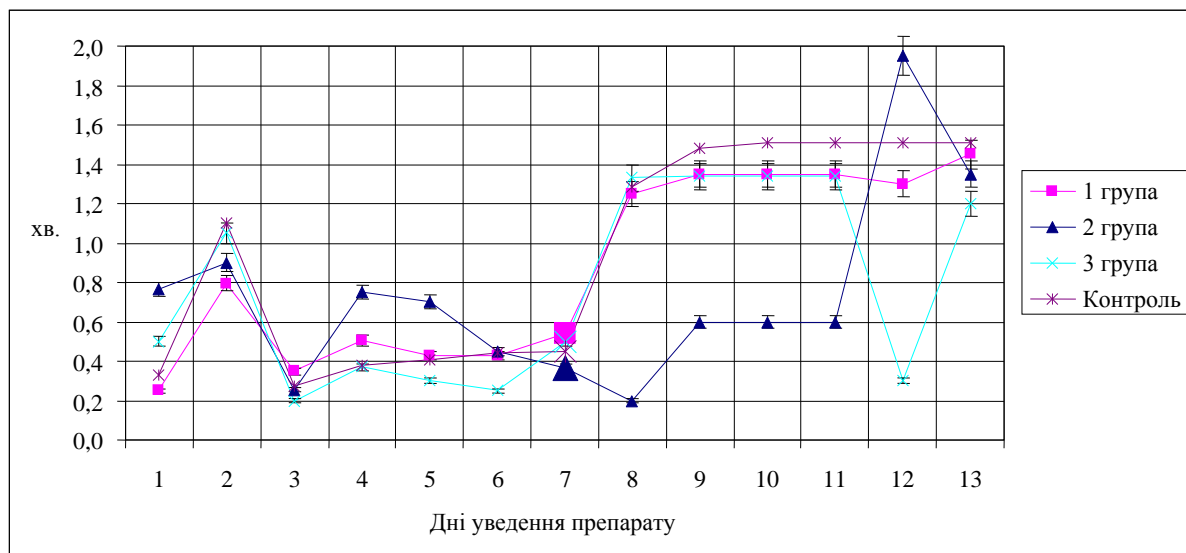
мишей від моменту потрапляння у воду до повного виснаження – занурення на дно (Тп) [1; 17].

Статистичну обробку проводили за допомогою програм Microsoft Excel XP, Statistica 6.0. Використовували непараметричні критерії Вілкоксона та Манна-Уїтні. Різницю вважали достовірною при  $p \leq 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Фізична працездатність - це здатність організму тривалий час виконувати м'язову роботу середньої інтенсивності. Така здатність є важливим компонентом фізичної підготовленості людини. Вона тісно корелює з основними показниками фізичної підготовленості: працездатністю, станом здоров'я та фізичною досконалістю. Низькі значення працездатності пов'язані зі зниженням резервних можливостей організму, що виявляється в умовах напруженої м'язової діяльності, обмеження кисневого забезпечення роботи, максимального споживання міокардом кисню та напруженістю судинних реакцій [18].

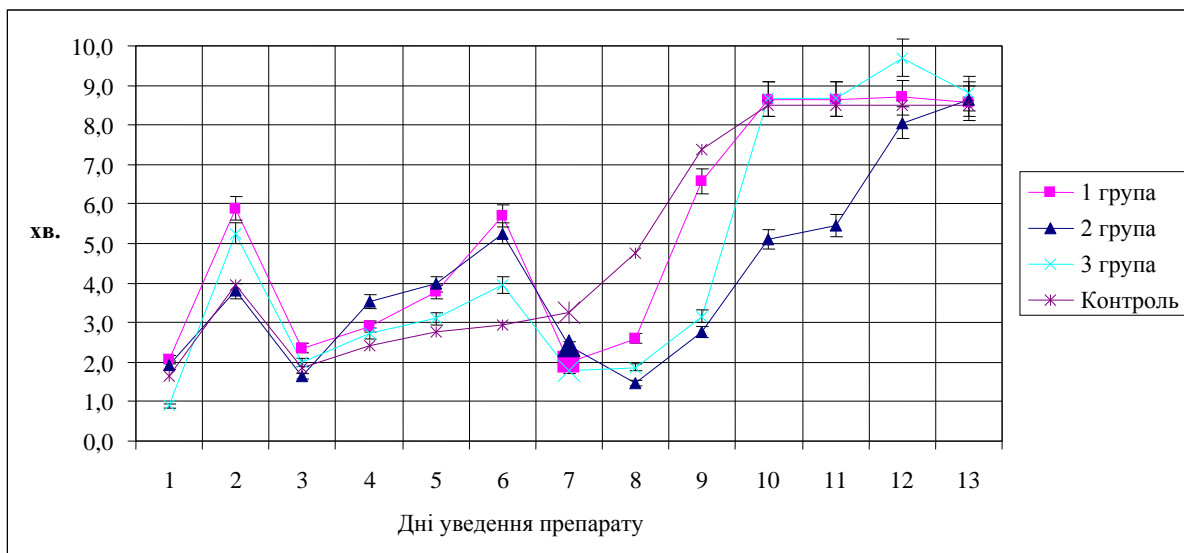
Після опрацювання результатів отриманих з тесту примусового плавання, визначено наступні зміни (рис.1 та рис. 2). Перше введення препарату достовірно покращило час активного плавання (Тпакт) тільки у мишей 2 групи, натомість час пасивного плавання (Тп) у всіх досліджуваних групах достовірно не відрізнявся. Різкі зміни було зафіксовано наступного дня після другої ін'єкції ЕПО.



**Рис. 1. Вплив різних концентрацій еритропоєтину на показники часу активного плавання мишей над поверхнею води**

В експериментальних групах після другого введення гормону спостерігали різкі зміни показників активного плавання у трьох групах: 0,80, 0,90 та 1,05 хв відповідно. Показники плавання до повного виснаження також значно підвищилися в порівнянні з виміряними початковими значеннями. Перша, друга та третя експериментальні групи мали такі

показники: 5,89, 3,80 та 5,25 хв відповідно. Після третьої ін'єкції відбувалося зменшення часу активного плавання та плавання до повного виснаження у порівнянні з відміченими початковими значеннями. Після серії з трьох ін'єкцій ЕПО було зроблено тижневий перерив.



**Рис. 2. Вплив різних концентрацій еритропоєтину на показники часу плавання мишей від моменту потрапляння у воду до повного виснаження**

Зменшення часу активного та пасивного плавання після третьої ін'єкції може свідчити про перевищення дозування на одну тварину, або шкідливу дію гормону. Тому, крім зменшення фізичної працездатності, також відмічено зміни поведінки тварин: збільшення їх сонливості, потреба у великій кількості води та малій кількості їжі. Але при наступних тренуваннях наступав етап стабілізації показників, спостерігалось повернення до початкових значень і поступове зростання фізичної працездатності (результат можливої дії еритропоєтину та постійних тренувань).

Після шостого введення еритропоєтину було відмічено зростання часу  $T_p$  у першій групі на 150%, у другій – на 132% та у третій – на 127%, в той час показники активного плавання майже не змінювались протягом четвертої, п'ятої та шостої ін'єкції. По закінченні другого тижня знову було зроблено тижневу перерву.

На третьому тижні концентрацію гормону знизили вдвічі. Це зменшення майже не викликало змін у фазі активного плавання у першій та другій групі, а в третій – збільшилося удвічі, але відбулося зменшення часу плавання до повного виснаження. Перша група дала показник 1,99 хв, друга – 2,4 хв, та третя – 1,8 хв.

Після восьмого введення гормону відбулося значне підвищення часу активного плавання у першій та третій групі мишей – 1,25 хв та 1,33 хв

відповідно. В той час як показники другої групи дещо знизилися і становили 0,20 хв. Незначне підвищення часу плавання до повного виснаження показала перша експериментальна група тварин – 2,60 хв, що на 130% більше за попередній показник. Друга група дала невелике зменшення – 1,47 хв.

Дев'яте введення еритропоетину сприяло підвищенню Тп, особливо у першій групі, результат якої становив 6,58 хв. Друга та третя група показали результати 2,75 хв та 3,16 хв відповідно. Водночас час активного плавання тварин змінився тільки у другій групі – 0,60 хв, що утричі більше за попередній результат. По закінченні серії ін'єкцій, з третього тижня знову було зроблено тижневу перерву.

Введення десятої ін'єкції ЕПО збільшує показники часу Тп: перша група – 8,65 хв, друга – 5,1 хв та третя – 8,66 хв, разом з тим, показник часу активного плавання не змінювався.

Дванадцята ін'єкція гормону показала, що у другій експериментальній групі підвищився час активного плавання на 361% і показник становив 1,95 хв. У третій групі час активного плавання зменшився і становив 0,3 хв. Одночасно, показники плавання до повного виснаження тварин підвищилися у другій та третій групах: 8,05 хв та 9,70 хв.

Останнє введення ЕПО вказує на незначне зменшення Такт у другій групі – 1,35 хв та підвищення показників у третій групі, які становлять 1,20 хв. Результати Тп майже не змінилися, але були дещо знижені у третій експериментальній групі – 8,8 хв.

### ВИСНОВКИ

Одноразове введення еритропоетину в концентраціях 0,65 МО, 3,5 МО та 6.5 МО призводить до незначних збільшень параметрів фізичної працездатності, найбільш продуктивні зміни були відмічені після другої ін'єкції, про що свідчить двократне збільшення показників активності та витривалості. При третьому введенні спостерігається передозування гормону і як результат - різкий спад параметрів.

У контрольної групі відбувалось поступове збільшення фізичної працездатності, що ми вважаємо результатом постійних тренувань.

Введення гормону наприкінці дослідження не давали достовірних результатів. Можливим поясненням цього результату може бути явище звикання організму до високих багаторазових ін'єкцій еритропоетину. Перспективним є подальше вивчення впливу рекомбінантного еритропоетину на біохімічні показники м'язової тканини в умовах роботи та спокою.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [Хабриев Р.У., Верстакова О.Л., Арзамасцев Е.В. и

- др.]: под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – [2-изд., перераб. и доп.] – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
2. Федоров Н.А. Эритропоэтин / Н.А. Федоров, М.Г. Кахетемидзе. - М: Медицина, 1973. - 190 с.
  3. Alvarez A. Role of vascular endothelial growth factor on erythropoietinrelated endothelial cell proliferation / A. Alvarez, M. Castilla, P. Gonzalez, D. Tan, A. Riesco, et al. // J. Am. Soc. Nephrol. – 1998. - № 9. – P. 1998-2004.
  4. Contaldo C. Human recombinant erythropoietin protects the striated muscle microcirculation of the dorsal skinfold from postischemic injury in mice / C. Contaldo, C. Meier, A. Elsherbiny, et al. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2007. - №293. – P. 274-283.
  5. Gareau R. Exercise duration and serum erythropoietin level / R. Gareau, C. Caron, G.R. Brisson // Horm. Metab. Res. – 1991. - №23. – P. 355.
  6. Gassmann M. Non-erythroid functions of erythropoietin / M. Gassmann, K. Heinicke, J. Soliz and O.Ogunshola // Adv. Exp. Med. Biol. – 2003. - № 543. – P. 323-330.
  7. Grimm C. HIF-1-induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration / C.Grimm, A.Wenzel, M.Groszer, H.Mayser, M.Seeliger, M.Samardzija, C. Bauer, M. Gassmann and C.Reme // Nat. Med. – 2002. – Jun. 8. – P. 718-724.
  8. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin / W. Jelkmann // Intern. Med. – 2004. – №43. - 649-659.
  9. Junk A.K. Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury / AK.Junk, A.Mammis, SI. Savitz, M.Singh, S.Roth, S.Malhotra, PS. Rosenbaum, A.Cerami, M.Brines DM. Rosenbaum // Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 2002. – Aug. 6: 99 (16). – P. 10659-10664.
  10. Levine B.D. "Living high-training low": effect of moderatealtitude acclimatization with low-altitude training on performance / B.D. Levine, J. Stray-Gundersen // J. Appl. Physiol. – 1997. - №83. – P. 102-112.
  11. Levine B.D. Point: positive effects of intermittent hypoxia (live high:train low) on exercise performance are mediated primarily by augmented red cell volume / B.D. Levine, J. Stray-Gundersen // J. Appl. Physiol. – 2005. - №99. – P. 2053-2055.
  12. Lundby C. Erythropoietin receptor in human skeletal muscle and the effects of acute and long-term injections with recombinant human erythropoietin on the skeletal muscle / C. Lundby, Y. Hellsten, MB. Jensen, AS. Munch and H.Pilegaard // Journal Appl. Physiol. - 2008. - № 104. – P. 1154-1160.
  13. Marzo F. Erythropoietin in heart and vessels: focus on transcription and signalling pathways / F. Marzo, A. Lavorgna, G. Coluzzi, E. Santucci, F. Tarantino, T. Rio, E. Conti, C. Autore, L. Agati and F.Andreotti // Journal of Thrombosis and Thrombolysis. - 04/2008.- 26(3). – P. 183-187.
  14. Miskowiak K. Erythropoietin improves mood and modulates the cognitive and neural processing of emotion 3 days post administration / K. Miskowiak, B. Inkster, S. Selvaraj, R. Wise, G. Goodwin, C. Harmer // Neuropsychopharmacology. – 2008. - № 33. – P. 611-618.
  15. Ninot G. Effects of recombinant human erythropoietin injections on physical self in endurance athletes / G. Ninot, P. Connes, C. Caillaud // J Sports Sci. – 2006. - №24. – P. 383-391.
  16. Paschos N. The Role of Erythropoietin as an Inhibitor of Tissue Ischemia / Nikolaos Paschos, Marios G. Lykissas and Alexandros E. Beris // International Journal of Biological Sciences. - 2008. - № 4(3). – P. 161-168.

17. Porsolt R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, M. Le Pinchon, M. Jalfre // Nature. - 1977. - № 5604. - P. 730–732.
18. Ricci G. Effects of a mixed physical activity (biathlon) on haematologic parameters, red cell 2,3-DPG and creatine, serum erythropoietin, urinary enzymes and microalbumin / G. Ricci, M. Masotti, E. De Paoli, M. Vedovato, G. Zanotti // Eur. J. Haematol. – 1990. - №45. – P. 178-179.
19. Schmidt W. Effects of maximal and submaximal exercise under normoxic and hypoxic conditions on serum erythropoietin level / W. Schmidt, K. Eckardt, A. Hilgendorf, S. Strauch, C. Bauer // Int. J. Sports. Med. – 1991. - №12. – P. 457-461.
20. Schobersberger W. Increase in immune activation, vascular endothelial growth factor and erythropoietin after an ultramarathon run at moderate altitude / W. Schobersberger, P. Hobisch-Hagen, D. Fries, F. Wiedermann, J. Rieder-Scharinger, et al. // Immunobiology. – 2000. - №201. – P. 611-620.
21. Schwandt H.J. Influence of prolonged physical exercise on the erythropoietin concentration in blood / H.J. Schwandt, B. Heyduck, H.C. Gunga, L. Rocker // J. Appl. Physiol. Occup. Physiol. - 1991. - №63. – P. 463-466.
22. Sharples E.J. Novel applications of Erythropoietin / E.J. Sharples, C. Thiemermann, M. Yaqoob // Current Opinions in Pharmacology. – 2006. - №6. – P. 184-189.
23. Soliz J. Erythropoietin regulates hypoxic ventilation in mice by interacting with brainstem and carotid bodies / J. Soliz, V. Joseph, C. Soulage, C. Becskei, J. Vogel, et al. // J Physiol. – 2005. - № 568. – P. 559-571.
24. Suckow M.A. The laboratory mouse / M.A. Suckow, Danneman P., Brayton C. – New York: CRC Press, 2001. – 176 p.
25. Wiesener M.S. Widespread hypoxia-inducible expression of Hif2alpha in distinct cell populations of different organs / M.S. Wiesener, J.S. Jürgensen, C. Rosenberger, C.K. Scholze, J.H. Hörstrup, C. Warnecke, et al. // FASEB J. – 2003. – № 17. – P. 271-273
26. Wilber R.L. Effect of hypoxic "dose" on physiological responses and sea-level performance / R.L. Wilber, J. Stray-Gundersen, B.D. Levine // Med. Sci. Sports. Exerc. – 2007. - №39. – P. 1590-1599.
27. Wright G.L. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with an acute cardioprotective effect for recombinant erythropoietin during ischemiareperfusion injury / G.L. Wright, P. Hanlon, K. Amin, C. Steenbergen, E. Murphy, M.O. Arcasoy // FASEB J. – 2004. - №18. – P. 1031-1033.
28. Wu H. Inactivation of erythropoietin leads to defects in cardiac morphogenesis / H Wu, SH. Lee, J. Gao, X. Liu and ML. Iruela-Arispe // Development. - 1999. - №126. P. 3597-3605.

**Гасюк Е.Н., Самойленко Ю.С., Половинко Т.А., Леоненко С.Ю.**

**ФИЗИЧЕСКАЯ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ В УСЛОВИЯХ**

**ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭРИТРОПОЭЗ-СТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА**

*Ключевые слова:* эритропоэтин, физическая работоспособность, выносливость, истощение, негемопоэтическое влияние

В статье приведены сведения об изучении физической работоспособности белых лабораторных мышей в условиях длительного введения различных доз рекомбинантного эритропоэтина. Установлено, что однократное введение эритропоэтина в концентрациях 0,65 МЕ, 3,5 МЕ и 6.5 МЕ приводит к незначительному увеличению параметров физической

работоспособности, а наиболее продуктивные изменения были отмечены после второй инъекции. При третьем введении наблюдается передозировка гормона и как результат - резкий спад изучаемых параметров. В контрольной группе происходило постепенное увеличение физической работоспособности, как результат постоянных тренировок. Введение гормона в конце исследования не давало достоверного улучшения показателей. Возможным объяснением этого результата может быть явление привыкания организма к высоким многократным инъекциям эритропоэтина.

**E Gasiuk, Y. Samoilenko, T. Polovinko, S. Leonenko**  
**PHYSICAL PERFORMANCE UNDER THE INFLUENCE OF**  
**ERYTHROPOIESIS-STIMULATING FACTOR**

*Keywords: erythropoietin, physical performance, endurance, exhaustion, nehemopoetychnyy impact*

This article provides information about studying of physical disability of white laboratory mice in long-term injection of different doses of recombinant erythropoietin. It was found that a one injection of erythropoietin in concentrations 0.65 IU, 3.5 IU and 6.5 IU leads to minor increases of physical performance parameters, the most productive changes were marked after the second injection, as evidenced by the double increase indicators of activity and endurance. In the third injection is overdose of hormone and as a result - a sharp decline of options. In the control group there is the gradual increase of physical performance, we think that it is the result of regular training. Injection of hormone in the end of study didn't give reliable results. A possible explanation for this result may be phenomenon of body's habituation to a high multiple of injections of erythropoietin.