

*Wacław Pilis, Ryszard Zarzeczny, Beata Manowska,
Jan Chmura, Leon Rak, Joanna Rodziewicz-Gruhn, Józef Langfort*

WSPÓLZALEŻNOŚĆ PROGU AMONIAKOWEGO I PROGU ANAEROBOWEGO

Wstęp

Parnas w 1929 r. wykazał, że kurczące się mięśnie produkują i uwalniają jon amonowy NH_4^+ [14]. Głównym źródłem powstawania tego jonu jest proces deaminacji adenozy-5' monofosforanu (AMP) do inozy-5' monofosforanu (IMP) pod wpływem deaminazy AMP. Innym ważnym źródłem jonu amonowego jest proces deaminacji głównie rozgałęzionych aminokwasów [13, 18]. Deaminacja AMP, powstawanie IMP i jonu amonowego decyduje o statusie energetycznym komórki, tj. tempie resyntezy i utylizacji ATP (16). Proces ten jest stymulowany poprzez wysokie stężenie mleczanu i niską zawartość fosfokreatyny mięśniowej [6]. Takie warunki pojawiają się przy wykonywaniu ćwiczeń o wysokiej intensywności. W ćwiczeniach o niskiej intensywności wykazano, że czynnikiem mogącym wpływać na mięśniową produkcję jonu amonowego jest obniżenie zawartości glikogenu mięśniowego [2] Graham i współaut. [8] wykazali, że założenie to jest jedynie słuszne w warunkach skrajnego wyczerpania mięśnia, a w ćwiczeniach o niższej intensywności także brak jest zależności pomiędzy osoczym stężeniem jonu amonowego a tempem rozkładu glikogenu. Ten ostatni pogląd uzupełniły badania Maclean i wsp. [13] i dotyczyły braku modyfikacji tempa produkcji jonu amonowego w warunkach diety wysokowęglowodanowej.

Wiadomo również, że mięśniowa produkcja jonu amonowego, w przerywanych ćwiczeniach o wzrastającej intensywności w warunkach diety niskowęglowodanowej, była wyższa niż przy spożywaniu diety mieszanej [9]. Powyższe spostrzeżenia potwierdziły również badania Czarnowskiego i współaut. [4] wskazujące na to, że produkcja jonu amonowego w organizmie człowieka podczas

ćwiczeń o umiarkowanej intensywności i w warunkach diety niskowęglowodanowej, była wyższa. Z kolei Hughes i współaut. [11] oraz Podolin i współaut. [15] wykazali, że obniżona zawartość glikogenu mięśniowego przesuwiała próg mleczanowy w kierunku wyższych obciążeń, lecz zmian tych nie obserwowano w stosunku do progu wentylacyjnego. Wydaje się zatem, że zawartość glikogenu mięśniowego może mieć istotny wpływ tak na występowanie progu mleczanowego, jak i amoniakowego. Zbieżność tą można by szerzej omówić gdyby podjęto próbę wyznaczania progu amoniakowego u ludzi z chorobą Mc Ardle'a, charakteryzującą się brakiem mięśniowego enzymu fosforylasy glikogenowej i w konsekwencji brakiem przyrostu stężenia mleczanu i niepojawianiem się progu mleczanowego, a równocześnie występującym progami wentylacyjnym [10].

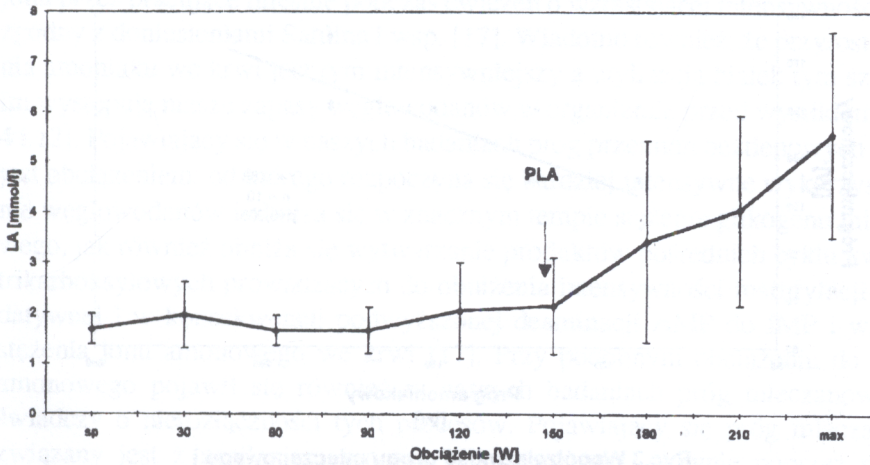
Stąd też celem tej pracy było podjęcie próby wyjaśnienia, czy występowanie progu mleczanowego i wentylacyjnego jest skojarzone z progami amoniakowym.

Badania i metodyka badań

Badania przeprowadzono na 10 zdrowych mężczyznach, studentach Akademii Wychowania Fizycznego w Katowicach w wieku około 22 lat. Wzrost badanych wynosił 181.2 ± 6.01 cm, natomiast masa ciała 75.7 ± 5.03 kg. Przed przystąpieniem do badań przez okres 3 dni badani spożywali mieszaną dietę o wartości energetycznej 3000 kcal/24h. Przez dalsze trzy dni badani spożywali beźmięsną dietę o tej samej wartości kalorycznej składającej się z białego sera, ryżu, ziemniaków, dżemu, mleka, cukru, jabłek, kawy, herbaty i kompotu jabłkowego. Dieta była tak dobrana, gdyż równocześnie dokonywano oznaczeń aktywności reninowej osocza. Badana grupa wykonywała wysiłek o stopniowo narastającej intensywności na cykloergometrze „ELEMA”. Obciążenie zwiększano o 30 W co 3 minuty do subiektywnie maksymalnego zmęczenia. W spoczynku oraz przy każdym poziomie obciążenia dokonywano poboru krwi w celu określenia stężenia mleczanu i jonu amoniakowego oraz oznaczano wentylację płucną i wydalanie CO₂. Próg mleczanowy, amoniakowy i wentylacyjny oznaczano jako punkt ostrego przyrostu stężeń tych metabolitów i nasilonych zmian wentylacyjnych podczas pracy [1]. W układzie wartości zlogarytmowanych stężenie mleczanu oznaczano spektrofotometrycznie przy pomocy zestawu odczynników firmy Boehringer (Mannheim, Niemcy), a jonu amoniakowego również spektrofotometrycznie przy użyciu aparatu Kodak Ektachem BT60 (Estman Kodak Co, Rochester NY 414650). Wyniki opracowano statystycznie obliczając $\bar{x} \pm SD$ a porównań statystycznych dokonywano przy użyciu testu „t” Studenta obliczając równocześnie współzależności zjawisk przy pomocy współczynnika korelacji. Za istotne statystycznie przyjmowano wartości przy $p < 0,05$.

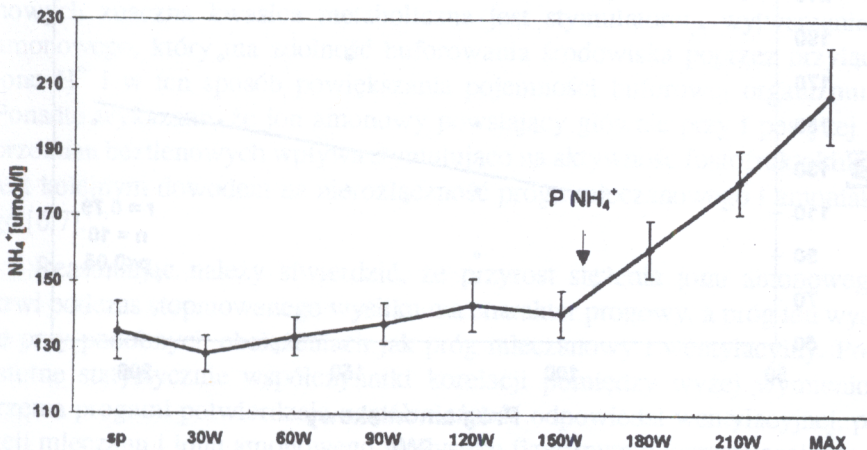
Wyniki badań

Stężenie mleczanu w spoczynku osiągnęło wartość $1,81 \pm 0,3$ mmol/l krwi u badanych mężczyzn. Próg przemian beztlenowych wystąpił przy stężeniu mleczanu wynoszącym $2,79 \pm 0,14$ mmol/l krwi i przy obciążeniu $146,8 \pm 23,36$ W (ryc.1). Próg wentylacyjny wystąpił przy obciążeniu $138,50 \pm 19,5$ W i nie różnił



Ryc.1 Zmiany stężenia mleczanu (LA) we krwi podczas wysiłku o stopniowo wzrastającej intensywności w zależności od obciążenia ($\bar{x} \pm SD$)

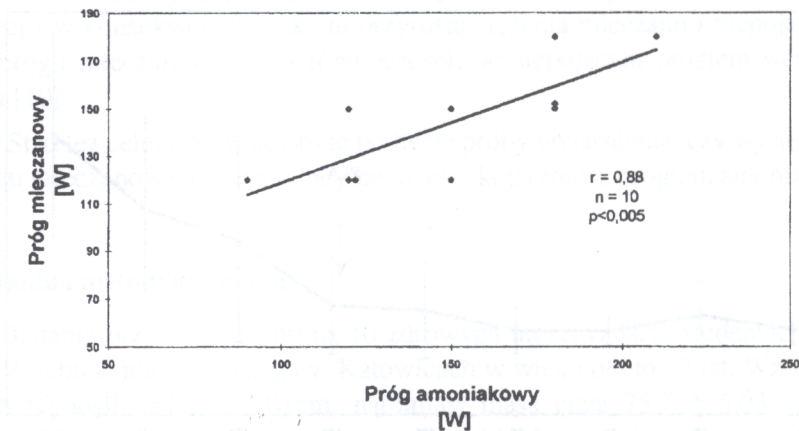
↓ - próg LA



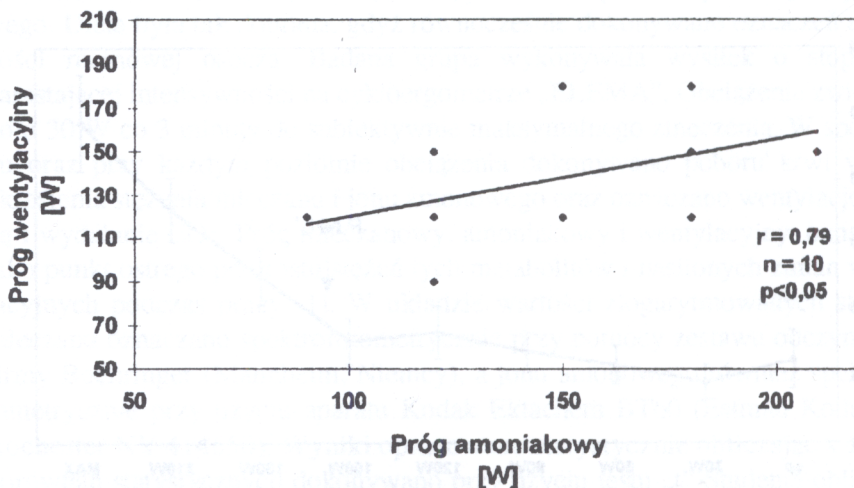
Ryc.2 Zmiany stężenia jonu amoniakowego (NH₄⁺) w czasie wysiłku o stopniowo wzrastającej intensywności

↓ - obciążenie przy którym występuje próg amoniakowy

się istotnie od progu mleczanowego. Stężenie jonu amonowego we krwi badanych w warunkach spoczynku wynosiło 135.0 ± 8.67 mmol/l. Gwałtowny wzrost stężenia NH_4^+ we krwi wystąpił po obciążeniu 159.31 ± 6.92 W (próg amoniakowy) i wzrastał przy wysiłku maksymalnym do stężenia 207.5 ± 14.52 $\mu\text{mol/l}$. Stężenie jonu amonowego w punkcie progowym wynosiło 138.13 ± 5.94 $\mu\text{mol/l}$ krwi (ryc.2). Próg amoniakowy nie różnił się od obciążenia, przy którym występował próg wentylacyjny i mleczanowy.



Ryc.3 Współzależność progu mleczanowego i amoniakowego



Ryc.4 Współzależność progu wentylacyjnego i amoniakowego

Współzależności pomiędzy progiem amoniakowym a mleczanowym oraz wentylacyjnym były istotne statystycznie i wynosiły odpowiednio: $r = 0.88$ ($p < 0,005$) (ryc. 3) i $r = 0.79$ ($p < 0,05$) (ryc. 4). Współzależność progu mleczanowego i wentylacyjnego była również wysoce istotna ($r = 0.96$; $p < 0,001$).

Dyskusja

Wyraźny wzrost stężenia NH_4^+ w późniejszych fazach submaksymalnych obciążeń wskazujący na jego progowy przyrost wynika z ciągłej produkcji tego jonu przez pracujące mięśnie podczas ćwiczeń o wzrastającej intensywności i jest zgodny z doniesieniami Sahlina i wsp. [17]. Wiadomo również, że przyrost stężenia amoniaku we krwi jest tym intensywniejszy a utylizacja białek tym szybsza, im występują niższe zapasy węglowodanów w organizmie przed wysiłkiem [2, 3, 4 i 12]. Pojawiający się w naszych badaniach próg przemian beztlenowych (PPB) jest obciążeniem, od którego rozpoczyna się bardziej intensywne wykorzystywanie węglowodanów i obniża się w znacznym tempie stężenie glikogenu mięśniowego, jak również obniża się wytwarzanie produktów pośrednich cyklu kwasów trikarboksylowych prowadzących do obniżenia intensywności fosforylacji oksydatywnej i w konsekwencji podwyższonej deaminacji AMP do IMP i wzrostu stężenia jonu amonowego we krwi [17]. Przy podobnym obciążeniu do progu amonowego pojawił się również w naszych badaniach próg mleczanowy, co świadczy o nierozłączności tych procesów. Pojawiający się próg mleczanowy związany jest z nasileniem procesu glikolitycznego, głównie poprzez wzrost aktywności włókien szybko kurczliwych typu FT [6]. Dudley i Terjung [5] wykazali również, że wraz z aktywacją włókien FT podczas pracy następuje wzrost stężenia jonu amonowego we krwi. Powstająca powyżej progu przemian beztlenowych znaczna kwasica metaboliczna jest stymulatorem wytwarzania jonu amonowego, który ma zdolność buforowania środowiska poprzez przyłączenie jonu H^+ i w ten sposób powiększania pojemności buforowej organizmu [17]. Ponadto wykazano, że jon amonowy powstający głównie przy i powyżej progu przemian beztlenowych wpływa stymulująco na aktywność fosfofruktokinazy, co jest kolejnym dowodem na nierozłączność progu mleczanowego i amoniakowego [6,7].

Reasumując należy stwierdzić, że przyrost stężenia jonu amonowego we krwi podczas stopniowanego wysiłku ma charakter progowy, a próg ten występuje przy podobnych obciążeniach jak próg mleczanowy i wentylacyjny. Ponadto istotne statystycznie współczynniki korelacji pomiędzy wyżej wymienionymi trzema progami potwierdzają współzależność odpowiedzi wentylacyjnej, produkcji mleczanu i jonu amonowego w wysiłku fizycznym o wzrastającej intensywności.

Bibliografia

1. Beaver W.L., Wasserman K., Whipp B.J. „Improved detection of lactate threshold during exercise using a log-log transformation”, *J. Appl. Physiol.*, 1985, 59, 1936-1940.
2. Broberg S., Sahlin K. „Hyperammonemia during prolonged exercise an effect of glycogen depletion?” *J.Appl.Physiol.*, 1988, 65:2475-2477.
3. Broberg S., Sahlin K. „Adenine nucleotide degradation in human skeletal muscle during prolonged exercise”, *J.Appl.Physiol.*, 1989, 65:2475-2477.
4. Czarnowski D., Langfort J., Pilis W., Górski J. „Effect of a low-carbohydrate diet on plasma and sweat ammonia concentrations during prolonged nonexhausting exercise”, *Eur. J.Appl.Physiol.* 1995, 70: 70-74.
5. Dudley G.A., Terjung R.L. „Influence of aerobic metabolism on IMP accumulation in fast-twitch muscle”., *Am. J.Physiol.* 1985a, 248: C37-C42.
6. Dudley G.A., Terjung R.L. „Influence of acidosis on AMP deaminase activity in contracting fast-twitch muscle.” *Am. J.Physiol.*, 1985b, 248:C43-C50.
7. Eriksson L.S., Broberg S., Bjorkman O., Wahren J. „Ammonia metabolism during exercise in man”. *Clin. Physiol.*, 1985, 5:325-336.
8. Graham T.E., Kiens B., Hargreaves M., Richter E.A. „Influence of fatty acids on ammonia and amino acid flux from active human muscle”. *Am.J.Physiol.* 1991, 261: E168-E176.
9. Greenhaff P.L., Leiper J.B., Ball D., Maughan R.J. „The influence of dietary manipulation on plasma ammonia accumulation during incremental exercise in man.”, *Eur.J.Appl.Physiol.*, 1991, 63:338-334.
10. Magberg J., Coyle E.M., Carroll J.E., Miller J.M., Martis W.H., Brooke M.H. „Exercise hyperventilation in patients with McArdle’s disease”. *J.Appl.Physiol.*, 1982,52, 991-994.
11. Hughes E.F., Turner S.C. and Brooks G.A. „Effects of glycogen depletion and pedaling speed on "anaerobic threshold"”. *J.Appl.Physiol.Respirat. Environ. Exercise Physiol.*, 1982,6, 1598-1607.
12. Langfort J., Pilis W., Zarzewny R., Nazar K., Kaciuba-Uściłko H., Titow-Stupnicka E., Wojtyna J. „Effect of ketogenic diet on metabolic and hormonal responses to graded exercise in men”. In: *XIX Congres of the Polish Physiological Society* (Abstracts). Swiecka E (ed) N. Copernicus University, Toruń 1993, p 362.

13. MacLean D.A., Spriet L.L., Hultman E., Graham T.E. „Plasma and muscle amino acid and ammonia responses during prolonged exercise in humans”, *J.Appl.Physiol.*, 1991, 70:2095-2103.
14. Parnas J.K. Ammonia formation in muscle and its source. *Am.J.Physiol.*, 1929, 90:567-472.
15. Podolin D.A., Munger P.A. and Mazzeo R.S. „Plasma catecholamine and lactate response during graded exercise with varied glycogen conditions”, *J.Appl. Physiol.*, 1991, 71(94), 1427-1433.
16. Sahlin K., Katz A. Purine nucleotide metabolism. Principles of exercise biochemistry. *Med.Sport Sci.* , 1988, 27:120-139.
17. Sahlin K., Katz A., Broberg S. Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise, *Am.J.Physiol.*, 1990, 259:C834-C841.
18. Vusse G.J., van der Saris W.H.M. Carbohydrate supplementation, glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise, *Am.J.Physiol.*, 1991, 260:E883-E890.

SUMMARY

W. Pilis, R. Zarzeczny, B. Manowska, J. Chmura, L. Rak, J. Rodziewicz-Gruhn, J. Longfort

MUTUAL CORRELATION BETWEEN AMMONIA THRESHOLD AND ANAEROBIC THRESHOLD

The paper focusses on explaining whether there is an ammonia threshold in gradually intensified exercise and whether there may be a mutual correlation between the ammonia threshold and ventilation and lactate thresholds. 10 healthy males were subjected to exercise gradually intensified to maximum load. At each stage of workload, blood was taken to determine the concentration of ammonia and lactate as well as pulmonary ventilation and CO₂ secretion per minute.

The abovementioned investigation showed that workloads of 146,8 ± 23,36 W, 138,50 ± 19,5 W and 159,31 ± 6,92 W were accompanied by concentration of NH₄⁺ ions which was equal to 138,50 ± 5,93 μmol/l at Threshold point. It was also revealed that there were significant correlations between the ammonia threshold and the lactate threshold as well as the ventilation threshold. There were significant correlations which equalled $r = 0,88$ ($p < 0,005$) and $r = 0,79$ ($p < 0,05$) respectively. There was also a significant correlation between the lactate threshold and the ventilation threshold $r = 0,96$ ($p < 0,01$).