

*Dorota Zarzeczna, Ilona Pokora, Jacek Chmura, Wiesław Pilis,
Ryszard Zarzeczny, Leon Rak, Cezary Michalski*

PRÓG ANAEROBOWY A STĘŻENIA JONÓW WAPNIOWYCH I MAGNEZOWYCH W OSOCZU KRWI U MEŹCZYŹN PODCZAS WYSIŁKU FIZYCZNEGO O STOPNIOWO NARASTAJĄCEJ INTENSYWNOŚCI

Wstęp

Próg anaerobowy (PPB) pojawia się zwykle przy intensywności wysiłku 55-75% VO_2max i charakteryzuje się ostrym nieliniowym wzrostem stężenia mleczanu we krwi [8]. Wiele wskaźników fizjologicznych, wśród nich wentylacja minutowa płuc (V_E) i częstość skurczów serca (HR), wykazują istotną współzależność z progiem anaerobowym. Wysokie korelacje wykazano również porównując próg mleczanowy z obciążeniami, przy których występuje ostry wzrost stężenia noradrenaliny, adrenaliny, hormonu wzrostu oraz jonów amonowego czy potasowego we krwi [3, 12].

Dobrze udokumentowana jest rola jonów Ca^{+2} i Mg^{+2} w kontroli szybkości reakcji enzymatycznych, regulacji czynności błon biologicznych czy funkcjonowaniu systemu sercowo-naczyniowego w spoczynku oraz podczas wysiłku fizycznego [4, 5, 6]. Stosunkowo nieliczne opracowania eksperymentalne dotyczą oceny dynamiki zmian stężenia obu wymienionych kationów dwuwartościowych podczas wysiłku fizycznego, szczególnie na tle progowego wzrostu stężenia mleczanu we krwi.

Celem pracy było zbadanie dynamiki zmian stężenia kationów Ca^{+2} i Mg^{+2} podczas wysiłku fizycznego o stopniowo narastającej intensywności we współzależności z progiem mleczanowym oraz wentylacyjnym osiąganym w zastosowanym teście.

Materiał i metody

W badaniach wzięło udział 10 zdrowych mężczyzn (charakterystykę antropometryczną badanych przedstawia tabela 1). Wszyscy badani byli ochotnikami i przed przystąpieniem do eksperymentu zostali poinformowani o celu i protokole badań. Temat i protokół badań został zaakceptowany przez Komitet Etyczny Badań przy Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach.

Tabela 1. Charakterystyka antropometryczna badanych:

Liczba badanych n = 10	Po diecie mieszanej wzbogaconej NaCl		Po diecie bezmięsnej
Masa ciała [kg]	75,7 – 5,03	n.s	73,3 – 4,8
Wiek [lata]	22,0 – 0,5	n.s	22,0 – 0,5
Wysokość ciała [cm]	181,2 – 6,01	n.s	181,2 – 6,01
Maksymalny pobór tlenu VO _{2max} (l/min)	4,20 – 1,01	n.s	3,62 – 0,6
Spocz. częstość skurczów serca HR uderz./min	71,7 – 6,4	n.s	72,6 – 8,9

Przez trzy dni przed przystąpieniem do testu badani spożywali dietę mieszaną o wartości energetycznej 3000 kcal/24h/75kg m.c. dodatkowo wzbogaconą NaCl (dobowe spożycie chlorku sodowego wynosiło około 120 mmol/l). Przez dalsze 3 dni badani spożywali dietę bezmięsną o podobnej wartości kalorycznej. W czasie przyjmowania diety bezmięsnej dokonywano u badanych dobowej zbiórki moczu, w której oznaczano stężenie jonów wapniowych.

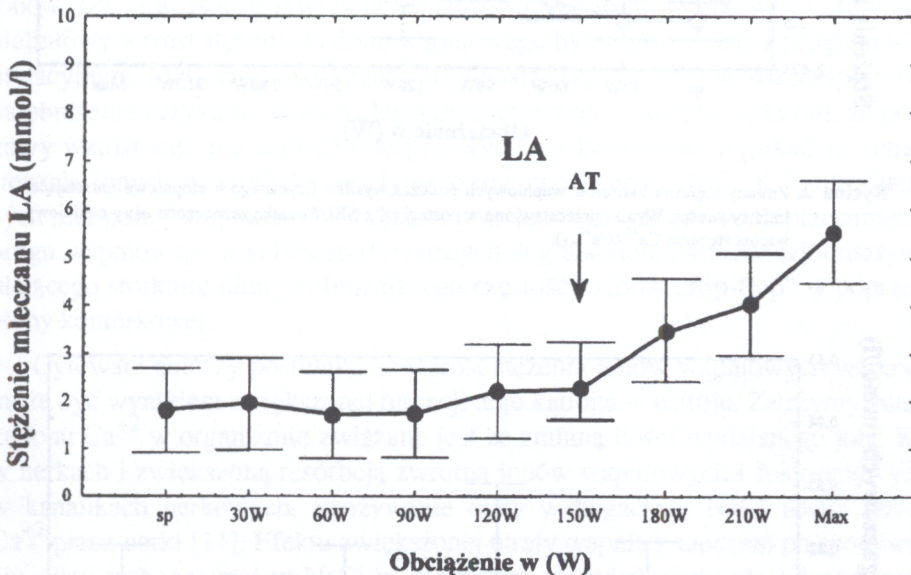
W dniu doświadczenia badani byli na czczo. Trzydzieści minut przed przystąpieniem do testu wysiłkowego dokonywano u nich pomiarów antropometrycznych, częstości skurczów serca (HR), ciśnienia tętniczego krwi (RR), a następnie wprowadzano im kaniulę do żyły łokciowej, z której podczas testu pobierano próbki krwi dla oznaczenia stężenia Ca⁺², i Mg⁺² – spektrofotometrycznie za pomocą aparatu Kodak, Ektachem (dla przeliczenia stężenia badanych jonów na objętość osocza oznaczano wskaźnik hematokrytu). Stężenia mleczanu (LA) - -oznaczano spektrofotometrycznie, zestawem testów enzymatycznych firmy Boehringer, Mannheim (Niemcy) w próbkach krwi arterializowanej, pobranej z opuszki palca w każdej ostatniej minucie obciążenia wysiłkowego. Badani wykonywali test wysiłkowy o stopniowo narastającej intensywności na cykloergometrze rowerowym, w którym co trzy minuty zwiększano obciążenie o 30 W.

Podczas testu rejestrowano w sposób ciągły wentylację minutową płuc (\dot{V}_E) oraz minutowe wydalanie dwutlenku węgla (\dot{V}_{CO_2}).

Próg mleczanowy (LA_{AT}), próg wentylacyjny (VE_{AT}) oraz progowy wzrost $[Ca^{+2}]$ wyznaczano metodą log-log [2]. Uzyskane wyniki poddano standardowej analizie statystycznej, przyjmując poziom istotności różnic $p < 0.05$. Wyniki zestawiono na rycinach w postaci średnich arytmetycznych i odchyłeń standardowych prób. Współzależności badanych zjawisk określano poprzez wyliczenie współczynników korelacji liniowej.

Wyniki

W czasie stosowania testu wysiłkowego o narastającej intensywności obserwowano nieliniowy wzrost stężenia mleczanu. Próg mleczanowy (LA_{AT}) ob-

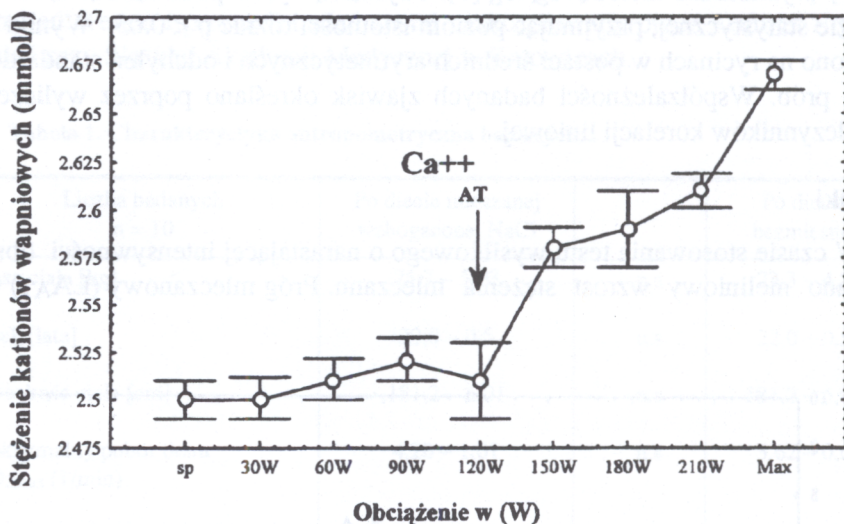


Rycina 1. Zmiany stężenia mleczanu (LA) podczas wysiłku fizycznego o stopniowo narastającej intensywności. Wyniki przedstawiono w postaci ($\bar{X} \pm SE$). Strzałką zaznaczono ostry nieliniowy wzrost stężenia mleczanu (LA_{AT}) we krwi.

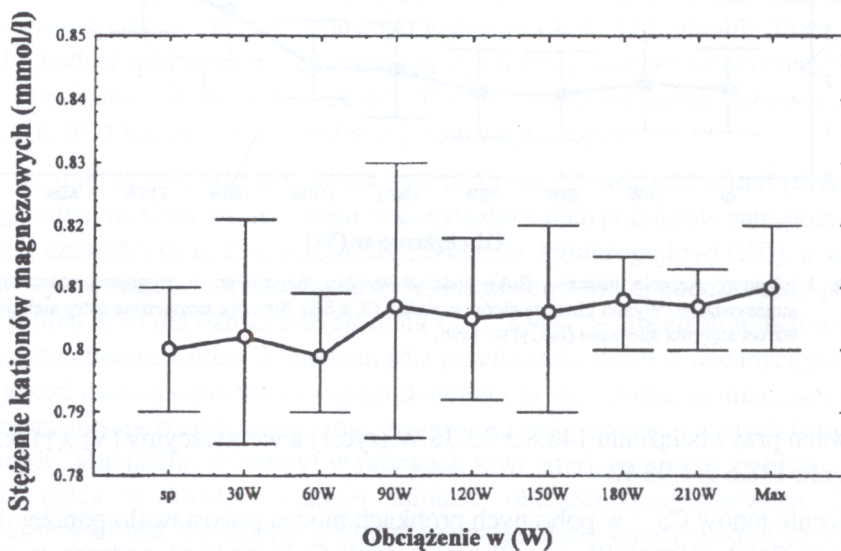
serwowano przy obciążeniu $146,8 \pm 23,36$ W (ryc.1) a wentylacyjny (VE_{AT}) przy obciążeniu $138,5 \pm 1,95$ W.

Stężenie jonów Ca^{+2} w pobranych próbkach moczu pozostawało poniżej dolnej normy fizjologicznej [9] a wysiłkowe stężenia Ca^{+2} we krwi podczas wysiłku przedstawiono na rycinie 2. Zmiany stężenia tego kationu miały charakter

progowy. Ostry nieliniowy wzrost jonów wapniowych wystąpił przy obciążeniu 142.8 ± 17.6 W, przy którym stężenie Ca^{+2} wynosiło 2.58 ± 0.02 mmol/l.



Rycina 2. Zmiany stężenia kationów wapniowych podczas wysiłku fizycznego o stopniowo narastającej intensywności. Wyniki przedstawiono w postaci ($X \pm SE$). Strzałką zaznaczono ostry nieliniowy wzrost stężenia Ca^{+2} (Ca^{+2}_{AT}).



Rycina 3. Zmiany stężenia kationów magnezowych w osoczu krwi u 10 badanych podczas testu wysiłkowego o stopniowo narastającej intensywności. Wyniki przedstawiono w postaci ($X \pm SE$).

Dynamikę zmian stężenia kationu magnezowego w osoczu przedstawiono na rycinie 3. Stężenia jonów Mg^{+2} nie zmieniało istotnie i nie miały charakteru progowego.

Wykazano ponadto istotną współzależność pomiędzy V_{EAT} a LA_{AT} ($r = 0.96$) $p < 0,001$, oraz pomiędzy V_{EAT} a Ca^{+2}_{AT} ($r = 0.75$) $p < 0,05$ jak również pomiędzy LA_{AT} a Ca^{+2}_{AT} ($r = 0.76$); $p < 0,05$.

Omówienie wyników

Progowe stężenia mleczanu (2.79 ± 0.14 mmol/l) były o 26% wyższe od spoczynkowego stężenia tego metabolitu we krwi (1.81 mmol/l). Podobny (29%) wzrost stężenia LA we krwi w punkcie progu mleczanowego (LA_T) odnotowali Green i wsp. [7], badając współzależność progów: wentylacyjnego (V_{AT}) i mleczanowego (LA_T) podczas wysiłku fizycznego o stopniowo narastającej intensywności. LA_T wykazywał istotną korelację z progowym wzrostem stężenia jonów (Ca^{+2}) w osoczu krwi podczas stosowanego testu wysiłkowego. Również nieliniowy wzrost stężenia kationu wapniowego był współzależny z progiem wentylacyjnym. McCarron i współaut. [10] badając wpływ diety wysokowapniowej na obniżenie ryzyka rozwoju nadciśnienia tętniczego u kobiet, wykazali, że progowy wzrost stężenia kationów wapniowych we krwi może wynikać ze zmian stężenia innych elektrolitów w płynie pozakomórkowym (Na^+ , K^+), określających „set-point” wapniowy. Witteman i współaut. [16] obserwowali przesunięcie progu wapniowego u kobiet spożywających 20g alkoholu/24h (związku usztywniającego strukturę błony i obniżającego częstość ruchów „flip-flop” w poprzek błony komórkowej).

Cytowani autorzy postulują, że wzrost stężenia jonów wapniowych we krwi może być wynikiem zwiększonej retencji tego kationu w ustroju. Zatrzymywanie kationu Ca^{+2} w organizmie związane jest ze zmianą ilości wydalanego jonu K^+ w nerkach i zwiększoną resorpcją zwrotną jonów wapniowych i fosforanowych w kanalikach nerkowych. Spożywanie diety wzbogaconej NaCl nasila utratę Ca^{+2} przez nerki [11]. Efektu zwiększonej utraty wapnia z moczem po spożyciu diety wzbogaconej w NaCl w niniejszym doświadczeniu nie odnotowano. Dobowa utrata wapnia była o 30% niższa od dolnej normy fizjologicznej stężenia tego kationu w moczu. Otrzymane wyniki świadczą, że zastosowana dieta bezmięсна spowodowała retencję jonów wapniowych w ustroju. Zwiększona retencja jonów wapniowych w organizmie nie tłumaczy jednak progowego wzrostu ich stężenia we krwi podczas stosowanego testu wysiłkowego.

Z chwilą rozpoczęcia wysiłku fizycznego obserwuje się wzrost stężenia jonów wapniowych (z 10^{-7} do 10^{-5} mmol) w cytozolu komórkowym. Napływ/wypływ kationów wapniowych zależy od gradientu stężeń tego jonu między wnętrzem komórki a środowiskiem zewnętrznym. Wzrost stężenia kationów wa-

pnionych w płynie pozakomórkowym może być konsekwencją dwóch procesów: zmian w ilości napływających/wypływających jonów Ca^{+2} z komórki oraz zmian aktywności Ca^{+2} ATPazy w sarkolemie włókna mięśniowego.

Zasadniczą rolę w zwiększeniu poziomu jonów wapniowych w płynie pozakomórkowym w warunkach zastosowanego testu wysiłkowego mógł odgrywać wzrost ich aktywnego wydalania z komórki. Efekt ten mógł być konsekwencją wzrostu liczby obrotów Ca^{+2} ATPazy lub też wynikać ze zwiększonej aktywności pompy wapniowej w błonie komórkowej [10, 14]. Czynnikiem, które oddziałują na opisane wyżej procesy w błonie komórkowej są: regulatory wewnątrzkomórkowe (m.in. kalmodulina) oraz aminy katecholowe [10]. Seeling [14] uważa, że niski stosunek $\text{Mg}^{+2}/\text{Ca}^{+2}$ w płynie pozakomórkowym zwiększa uwalnianie amin katechowych. Stittmatter i współaut. [15] wykazali, że agoniści receptorów β -adrenergicznych i aminy katecholowe zwiększają płynność błony komórkowej, przez co może zwiększać się aktywność Ca^{+2} ATPazy w błonie komórkowej.

Wzrost stężenia Ca^{+2} podczas skurczu mięśniowego prowadzi do zmian gradientu stężenia kationu wapniowego pomiędzy wnętrzem komórki a płynem pozakomórkowym oraz do aktywacji fosfolipaz i proteaz błonowych i co się z tym wiąże wzrostu przepuszczalności błony komórkowej [13]. Przytoczone fakty mogą sugerować, że zmiana przepuszczalności błony komórkowej może stwarzać dogodne warunki dla zwiększonego uwalniania kwaśnych produktów przemiany materii z komórki [1].

Reasumując należy stwierdzić, że dynamika zmian stężenia jonu Ca^{+2} w wysiłku o wzrastającej intensywności może mieć charakter progowy i odnotowana w badaniach istotna współzależność pomiędzy progiem wentylacyjnym a progowym wzrostem stężeń jonów wapniowych wskazuje na istotny związek pomiędzy wzrostem wentylacji minutowej płuc a zmianami stężeń jonów wapniowych w płynie pozakomórkowym. Wydaje się również, że wystąpienie progu mleczanowego jest wynikiem wzrostu przepuszczalności błon komórkowych dla kwaśnych produktów przemiany materii pośredniczonym przez jony wapniowe, na co wskazuje istotna współzależność obydwu wartości progowych.

Bibliografia

1. Armstrong R. „Initial events in exercise- induced muscular injury”. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1990, 22: 429-435.
2. Beaver W., Wasserman K., Whipp P. „Improved detection of lactate threshold during exercise using a log-log transformation”, *J. Appl. Physiol.*, 1985, 59: 1936-1940.

3. Buono M., Clavy T., Cook R. „Blood lactate and ammonium ion accumulation during graded exercise in humans”, *J. Appl. Physiol.*, 1984, 57: 135-139.
4. Coride A., Rego A., Grohen P. „The reaction of Mg^{+2} with CA^{+2} -ATPase from human red cell membranes and its modification by Ca^{+2} . Biochem”, *Biophys. Acta.*, 1988, 863:165-177.
5. De La Cruz M., Alemany J., De Cos A. „The effects of calcitonin on calcium uptake and respiration in rat-liver mitochondria”, *Biochem. Biophys. Acta.* 1988, 853:169-174.
6. Guillemett G., Poitras M., Bouilty G. „Two Ca^{+2} transport systems are distinguished on the basis of their Mg^{+2} dependency in a post-nuclear particulate fraction of bovine adrenal cortex. *Cell. Calcium.* 1991, 12: 51-60.
7. Green H., Hughson G., Orr G., Ronney D.: *Anaerobic threshold, blood lactate and muscle metabolites in progressive exercise.* 1983, 54: 1032-1038.
8. Ivy J., Withers R., Van Handel P., Elger D., Costill D. „Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants of lactate threshold”, *J. Appl. Physiol.* 1980, 49: 523-527.
9. Kokot F. *Gospodarka wodno-elektrolitowa i kwasowo-zasadowa w stanach fizjologii i patologii.* PZWL W-wa 1994
10. McCarron D., Moris C., Young E., Roullet Ch., Druke T. „Dietary calcium and blood pressure modifying factors in specific populations”, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1994, 54: 2155-2195.
11. McCarron D., Rankin L., Bennett W., Krutzik S., McClung M., Luft F. „Urinary calcium excretion at the extremes sodium intake in normal man”, *Am. J. Nephrol.*, 1981, 3: 84-90.
12. Mazzeo R., Marshall P.: Influence of plasma catecholamines on the lactate threshold during graded exercise. *J. App. Physiol.* 1989, 67: 1319-1322.
13. Thomas G., Reed D. „Effect of extracellular Ca^{+2} emission on isolated hepatocytes. Loss of mitochondrial membrane potential and protection by inhibitors of uniport Ca^{+2} transduction”, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1980, 245:501-507.

14. Seeling M. „Consequences of magnesium deficiency on the enhancement of stress reactions, preventive and therapeutic implicatins”, *J.Amm.Coll. Nutr.*, 1994, 13: 429-446.
15. Stittmatter W., Hirata F., Axelrod J. „Phospholipid methylation unmasks cryptic B-aderenergic receptors in rat”, *Science*, 1979, 204 :1205-1207.
16. Witteman J., Willett W., Stompfer M. „A prospective study of nutritional factors and hypertension among U.S. women”, *Circulation*. 1989, 80: 1320-1327.

SUMMARY

D.Zarieczna, J.Pokora, J.Chmura, W.Pilis, R.Zarieczny, L. Rak, C.Michalski

ANAEROBIC THRESHOLD AND CONCENTRATION OF CALCIUM AND MAGNESIUM IONS IN BLOOD PLASMA OF A MALE SUBJECTED TO GRADUALLY INTESIFIED PHYSICAL EXERCISE

The investigation involved 10 healthy, young men who were subjected to a steadily intensified exercise test, starting from maxima. Workload was graded every 30 W. Each test was monitored for minute pulmonary ventilation, secretion of carbon dioxide and blood was taken from the pulp of a finger in order to determine lactate concentration. Blood was also taken from the elbow vein in order to determine sodium and kalium ion concentration.

Investigation revealed that only the exercise increase of calcium ion concentration was exponential, whereas no exercise increase in concentration was observed for Mg^{++} ions. A statistically significant correlation between lactate and calcium thresholds ($r = 0,76$ and $p < 0,05$) and between the ventilation threshold and calcium threshold ($r = 0,75$ and $p < 0,05$) was revealed. Lactate and ventilation thresholds were also significantly correlated ($r = 0,96$, $p < 0,00$).