

УДК: 612.1+615.014.425:796/799

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КРОВИ ПРИ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ**Корнякова В.В., Конвай В.Д., Фомина Е.В.***ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Минздрава России», Омск, e-mail: bbk_2007@inbox.ru, http://www.omsk-osma.ru*

Изучены метаболические изменения, происходящие в организме при физических нагрузках, с позиций теории острого нарушения метаболизма пуринов и проведена их коррекция селенитом натрия. Физические нагрузки моделировали методом принудительного плавания с грузом на белых крысах самцах. Установлено, что интенсивные физические нагрузки сопровождаются острым нарушением метаболизма пуринов, сопряженным с усиленной генерацией ксантинооксидазой активных кислородных метаболитов, истощающих антиоксидантную систему и усиливающих липопероксидацию ненасыщенных жирных кислот мембран эритроцитов. Введение селенита натрия в дозе 30 мкг/кг массы не только способствует снижению катаболизма пуринов до урата, но и предотвращает истощение в эритроцитах антиоксидантной системы и усиление в них перекисного окисления липидов. Полученные данные могут быть положены в основу новых способов диагностики и коррекции метаболических нарушений при интенсивных физических нагрузках.

Ключевые слова: физические нагрузки, кровь, селенит натрия**THE ANTIOXIDATIVE BLOOD STATUS UNDER PHYSICAL ACTIVITIES AND ITS CORRECTION****Korniyakova V.V., Conway V.D., Fomina E.V.***Omsk State Medical Academy, Omsk, e-mail: bbk_2007@inbox.ru, http://www.omsk-osma.ru*

Metabolic changes in an organism under physical activities are studied from the position of the theory of acute violation of the purine metabolism. Correction of these changes has been carried out by using the sodium selenite. The physical activities have been modelled by the method of compulsory swimming with load of albino rats (males). It is revealed that intense physical activities lead to acute violation of the purine metabolism connected with enhanced release of active oxygen metabolites generated by xanthine oxidase. It depleted the antioxidative system and enhances lipid peroxidation of unsaturated fatty acids of the erythrocyte membranes. Injection of the sodium selenite (in dose equal to 30 mkg/kg of body mass) promotes decrease of the purine catabolism down to urate as well as prevents depletion of the erythrocyte antioxidative system and increasing of lipide peroxidation in erythrocytes. These results may be used for developing of new methods of diagnostics and correction of metabolic violations under intense physical activities.

Keywords: physical activity, blood, sodium selenite

Интенсивные физические нагрузки, препятствующие адаптационным возможностям организма, нередко приводят к метаболическим нарушениям в организме спортсменов с последующим развитием утомления и снижением спортивных результатов [6, 10]. Механизмы развития их до конца не изучены, что лимитирует разработку новых методов диагностики и коррекции этого явления [3, 5, 9]. Оно может быть связано с острым нарушением метаболизма пуринов, ранее описанным нами на модели клинической смерти и реанимации [2].

В настоящей работе предпринята попытка объяснения механизмов развития утомления, развивающегося при интенсивных физических нагрузках, с позиций теории острого нарушения метаболизма пуринов и проведения коррекции этого состояния.

Материал и методы исследования

Эксперимент проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» на 55 белых аутбредных крысах-самцах массой 240 ± 20 г. Исследования проводились в соответствии

с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609 ЕЕС). Исследуемые животные были разделены на 4 группы. Первую из них составляли интактные крысы (И, $n = 10$). Во вторую группу вошли животные с оптимальным режимом физической нагрузки (ОН, $n = 15$), подвергшиеся принудительному плаванию с грузом, равным 10% от массы тела в течение пяти недель эксперимента через день. На крысах третьей группы (ИН, $n = 15$) моделировали интенсивные физические нагрузки принудительным плаванием с грузом, равным 10% от массы тела, в течение первых трех недель эксперимента через день, последние две недели – ежедневно. Крысы четвертой группы (ИН + С, $n = 15$) подвергались плаванию по схеме ИН, но на последней неделе эксперимента они получали перорально селенит натрия ежедневно в дозе 30 мкг/кг массы тела до принудительного плавания с грузом. Критерием ограничения времени плавания у крыс второй, третьей и четвертой экспериментальных групп служило опускание животного на дно бассейна, после которого оно не могло самостоятельно подняться на поверхность.

Плавание крыс проводили в бассейне диаметром 45 см, глубиной 60 см, с температурой воды 28–30 °С, а воздуха в виварии – 19–21 °С. По окончании эксперимента у них забирали кровь, в плазме которой определяли концентрацию лактата, урата, пирувата, β-гидроксипирувата, мочевины, свобод-

ных жирных кислот (СЖК) унифицированными методами исследования, а в эритроцитах – содержание малонового диальдегида (МДА) – по реакции с тиобарбитуровой кислотой, глутатиона (G-SH) – реакцией с 5,5 – дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой, активность супероксиддисмутазы (СОД) – по Т.В. Сирота [7], каталазы (КАТ) – по М.А. Королук с соавт. [4], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) – по Д.В. Черданцеву [8], глутатионредуктазы (ГлР) и глутатионпероксидазы (ГлПО) – по С.Н.Власовой с соавт. [1].

Для биохимических исследований использовали реактивы фирм «Ольвекс» (Россия), «Hospitex» (Швейцария), «Randox» (Великобритания). Результаты исследования обработаны статистически с помощью программы «SPSS 13.0». Статистическая обработка осуществлялась с использованием t-критерия и непараметрического критерия Манна-Уитни. Достаточным считался уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Приведенные в табл. 1 данные свидетельствуют о том, что даже оптимальные физические нагрузки приводят к усилению анаэробного гликолиза, что выражается в нарастании лакцидемии. Уровень лактата в крови крыс группы ОН превышает соответствующий показатель у интактных крыс на 40,0% ($P = 0,002$). Должно быть,

у животных группы ОН лактат успешно реутилизируется в углеводы в реакциях глюконеогенеза, что препятствует резкому закислению тканей, сопряженному с усиленным катаболизмом пуриновых мононуклеотидов. Повышенный уровень лактата в крови крыс группы ОН сопряжен с некоторым увеличением в ней концентрации пировиноградной кислоты, которая на 17,2% превышает аналогичный показатель у интактных животных ($P = 0,059$).

Из-за повышенного расхода углеводов, вызванного интенсификацией анаэробного гликолиза в условиях ОН, развивается их дефицит. Следствием этого является интенсификация процессов кетогенеза, о чем свидетельствует повышенная концентрация β -гидроксibuтирата в плазме крови крыс группы ОН по отношению к аналогичному параметру у интактных животных [на 29,6%; $P = 0,010$]. На вовлечение в окислительный процесс липидов и аминокислот указывает также повышенная концентрация СЖК и мочевины в плазме крови крыс группы ОН, содержание которых превышает аналогичные показатели у интактных животных соответственно на 14,9% ($P = 0,035$) и 23,0% ($P = 0,035$).

Таблица 1

Показатели, характеризующие окислительные процессы в крови крыс интактных (И), подвергнутых оптимальным нагрузкам (ОН), интенсивным нагрузкам (ИН) и введению селенита натрия (ИН + С), $M \pm m$, $n = 10-15$

Показатели	И	ОН	ИН	ИН+С
Лактат, ммоль/л	5,95 ± 0,32	8,33 ± 0,60и	10,92 ± 0,45и, он	7,78 ± 0,67и, ин
Пируват, ммоль/л	0,29 ± 0,01	0,34 ± 0,02	0,40 ± 0,02и, он	0,34 ± 0,01и, ин
Урат, мкмоль/л	75,9 ± 6,2	104,8 ± 10,5	150,2 ± 16,4и, он	107,5 ± 6,8и, ин
Мочевина, ммоль/л	5,34 ± 0,25	6,57 ± 0,34и	6,70 ± 0,43и	5,43 ± 0,20он, ин
СЖК, ммоль/л	0,583 ± 0,02	0,670 ± 0,03и	0,673 ± 0,02и	0,590 ± 0,03ин
β -гидроксibuтират, мкмоль/л	81 ± 5	105 ± 6и	113 ± 10и	104 ± 7и

Примечание: и – различия статистически значимы по сравнению с крысами интактными, он – с подвергнутыми ОН, ин – с подвергнутыми ИН.

Вместе с тем в организме крыс, плавающих по схеме ОН, не происходит резкого усиления катаболизма АТФ и АМФ до урата. Отмечается лишь тенденция к увеличению уровня последнего в крови данных животных [на 38,1% по сравнению с аналогичным параметром у крыс группы И ($P = 0,061$)]. Вследствие этого в условиях ОН генерирование ксантиноксидазой активных кислородных метаболитов не протекает с большой интенсивностью, на что указывает отсутствие статистически значимых изменений со стороны показателей состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у крыс этой группы. Исключением является торможение в эритроцитах активности КАТ, кото-

рая снижена на 63,2% по сравнению с аналогичным параметром у крыс интактной группы (($P = 0,001$), табл. 2).

Интенсивные физические нагрузки сопровождаются еще большей интенсификацией реакций анаэробного гликолиза, что приводит к значительному возрастанию в плазме крови крыс этой группы концентрации лактата [на 83,5% ($P = 0,0001$) и 31,1% ($P = 0,003$) по сравнению с аналогичными параметрами у животных групп И и ОН соответственно]. В условиях ИН лимитируется, вероятно, превращение пирувата в щавелевоуксусную кислоту. Его концентрация в крови превышает аналогичный параметр у животных групп И и ОН соответственно на 37,9% ($P = 0,001$) и 17,6%

($P = 0,045$). У крыс группы ИН отмечается еще большая интенсификация кетогенеза. Концентрация β -гидроксибутирата в плазме крови крыс группы ИН превышает уровень этого показателя у животных группы И и ОН соответственно на 39,5% ($P = 0,01$) и 7,6% ($P = 0,62$). Торможение реакций цикла Кребса, вызванное снижением генерации щавелевоуксусной кислоты, приводит к недостаточно эффективному окислению СЖК в организме крыс группы ИН. Их концентрация в крови данных животных превышает аналогичный параметр у живот-

ных групп И и ОН соответственно на 15,4% ($P = 0,024$) и 0,4% ($P = 0,82$). Следствием этого является, вероятно, развитие в тканях кетоацидоза, который совместно с лактоацидозом приводит к интенсивному катаболизму пуриновых мононуклеотидов до гипоксантина и ксантина с последующим окислением этих метаболитов ксантинооксидазой до урата. Уровень урикемии в крови крыс группы ИН превышает аналогичный показатель у животных группы И и ОН соответственно на 97,9% ($P = 0,0001$) и 43,3% ($P = 0,011$).

Таблица 2

Изменение показателей, характеризующих перекисное окисление липидов и антиоксидантную защиту в эритроцитах крыс интактных (И), подвергнутых оптимальным нагрузкам (ОН), интенсивным нагрузкам (ИН) и введению селенита натрия (ИН+С), $M \pm m$, $n = 10-15$

Показатели	И	ОН	ИН	ИН+С
Супероксиддисмутаза, Ед СОД/мл	1055 ± 40	912 ± 43	722 ± 36и, он	891 ± 55и, ин
Каталаза, мкЕД/мл	75,2 ± 7,7	27,7 ± 2,5и	21,8 ± 2,9и, он	25,1 ± 2,2и, ин
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	274 ± 6	293 ± 8	335 ± 14и, он	289 ± 10ин
Глутатион, ммоль/л	1,03 ± 0,02	1,02 ± 0,04	0,88 ± 0,04и, он	1,02 ± 0,03ин
Глутатионпероксидаза, МЕ/мл	292 ± 14	257 ± 11	223 ± 7и, он	290 ± 10ин
Глутатионредуктаза, МЕ/мл	0,52 ± 0,01	0,48 ± 0,02	0,33 ± 0,05и, он	0,49 ± 0,03ин
Глюкозо-6-фосфат- дегидрогеназа, МЕ/л	726 ± 79	663 ± 80	311 ± 53и, он	590 ± 80ин

Примечание: и – различия статистически значимы по сравнению с крысами интактными, он – с подвергнутыми ОН, ин – с подвергнутыми ИН.

Катаболизм пуринов сопряжен с усиленной генерацией ксантинооксидазой активных кислородных метаболитов, усиливающих липопероксидацию ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов мембран эритроцитов. Этому способствует торможение функции системы антиперекисной защиты. Активность СОД в эритроцитах крыс группы ИН снижена по сравнению с аналогичным показателем у животных групп И и ОН соответственно на 31,6% ($P = 0,001$) и 20,8% ($P = 0,004$). Образующаяся в супероксиддисмутазной реакции перекись водорода инактивируется недостаточно эффективно вследствие торможения КАТ. Активность последней в эритроцитах крыс группы ИН ниже аналогичного показателя у животных групп И и ОН соответственно на 71,0% ($P = 0,001$) и 21,3% ($P = 0,045$). Все это способствует повреждению мембран эритроцитов, на что указывает увеличение в них уровня МДА, промежуточного продукта перекисного окисления липидов. Содержание этого метаболита в эритроцитах крыс группы ИН превышает аналогичный показатель у животных групп И и ОН на 22,3% ($P = 0,003$) и 14,3% ($P = 0,019$) соответственно.

В реакции инактивации гидроперекисей липидов, образовавшихся в результа-

те интенсификации свободнорадикальных процессов, принимает участие G-SH. Усиленное вовлечение этого трипептида в глутатионпероксидазную реакцию приводит к развитию его дефицита. Содержание G-SH в эритроцитах крыс, подвергшихся ИН, снижается на 14,6% ($P = 0,008$) и 13,7% ($P = 0,041$) по сравнению с уровнем этого показателя у крыс группы И и ОН соответственно. Определенный вклад в развитие дефицита G-SH вносит, вероятно, и торможение функции ГлПО и ГлР. Так, в эритроцитах крыс группы ИН активность первого из названных энзимов, снижена на 23,6% ($P = 0,002$) и 13,2% ($P = 0,025$) относительно аналогичного показателя у животных групп И и ОН соответственно, а активность ГлР – на 36,5% ($P = 0,001$) и 31,3% ($P = 0,018$) относительно активности данного фермента в крови крыс вышеупомянутых групп соответственно.

При этом также, вероятно, тормозится и генерация НАДФН₂, необходимого для функционирования ГлР. Этому способствует снижение в эритроцитах крыс группы ИН активности Г-6-ФДГ – ключевого фермента пентозофосфатного пути окисления глюкозы [на 57,2% ($P = 0,002$) и 53,1% ($P = 0,004$) по сравнению с анало-

гичными показателями в группах И и ОН соответственно].

О развитии у животных группы ИН утомления свидетельствует статистически значимое снижение времени активного плавания к окончанию эксперимента по сравнению с крысами группы ОН. Крысы, подвергнутые ИН, на пятой неделе эксперимента отличались более пассивным поведением и снижением двигательной активности в периоды отдыха.

Введение крысам, подвергнутым ИН, селенита натрия сглаживает описанные выше метаболические нарушения, в частности, уменьшает степень гипоксии. Концентрация молочной кислоты в плазме крови крыс группы ИН+С снижена на 28,8% ($P = 0,001$) по сравнению с аналогичным показателем у животных группы ИН, а содержание пирувата – на 15,0% ($P = 0,025$). Это связано, вероятно, с более интенсивным вовлечением пирувата в пируватдегидрогеназную реакцию и окислением образовавшегося ацетил-КоА в цикле Кребса. Интенсификация этого метаболического пути способствует более эффективному окислению СЖК. Концентрация последних в плазме крови крыс группы ИН + С статистически значимо не отличается от аналогичного параметра у животных интактной группы, она на 12,3% ниже, чем у крыс группы ИН ($P = 0,045$). Снижение интенсивности процессов кетогенеза подтверждается также отсутствием выраженного повышения концентрации β -гидроксибутирата в плазме крови крыс группы ИН + С. Она на 8,0% ($P = 0,86$) ниже по сравнению с аналогичным показателем у животных группы ИН.

Введение крысам группы ИН+С селенита натрия снижает также интенсивность окисления аминокислот, что подтверждается уменьшением содержания мочевины в плазме крови крыс группы ИН + С [на 17,4% ($P = 0,014$) и 19,0% ($P = 0,011$) по сравнению с аналогичным параметром у животных групп ОН и ИН соответственно]. Снижение степени лакто- и кетоацидоза способствует уменьшению катаболизма пуриновых мононуклеотидов до урата. Концентрация последнего в плазме крови крыс, получавших селенит натрия хотя и превышает аналогичный показатель у крыс интактной группы [на 41,6% ($P = 0,006$)], но она на 28,4% ниже, чем у животных группы ИН ($P = 0,018$).

Введение крысам селенита натрия способствует восстановлению активности селензависимого фермента антиоксидантной защиты ГлПО. Активность последней в эритроцитах крыс группы ИН+С статистически значимо не отличается от ана-

логичного параметра у интактных крыс. При этом в эритроцитах крыс первой из названных групп активность ГлПО и ГлР выше аналогичного показателя у животных группы ИН [на 30,0% ($P = 0,001$) и 48,5% ($P = 0,009$) соответственно]. Функционированию ГлПО в эритроцитах крыс, получавших селенит натрия, способствует также восстановление у них содержания G-SH. Оно превышает аналогичный показатель у крыс группы ИН на 15,9% ($P = 0,036$). Развившееся вследствие этого снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов подтверждается снижением содержания МДА в эритроцитах крыс группы ИН + С [на 13,7% по сравнению с аналогичным параметром у животных группы ИН ($P = 0,032$)].

Более эффективной инактивации активных кислородных метаболитов, образующихся при ИН, способствует повышение активности СОД. В эритроцитах крыс группы ИН + С она превышает аналогичный показатель у животных группы ИН на 23,4% ($P = 0,042$). Достаточно эффективному обезвреживанию образующейся перекиси водорода способствует восстановление активности КАТ в эритроцитах крыс группы ИН + С. Она на 15,1% превышает аналогичный показатель у животных группы ИН ($P = 0,037$). Можно полагать, что введение селенита натрия предотвращает не только интенсификацию анаэробного гликолиза, но и развившейся при ней дефицит глюкозы. Это способствует более эффективной генерации из такого моносахарида как рибозо-5-фосфата, необходимого для реутилизации гипоксантина в АМФ, так и НАДФН₂, участвующего в поддержании в клетках фонда G-SH. Этому благоприятствует также увеличение в эритроцитах крыс группы ИН + С активности Г-6-ФДГ [на 89,7% по сравнению с аналогичным показателем у животных группы ИН ($P = 0,012$)].

Применение селенита натрия способствует повышению физической работоспособности животных, что выражается в увеличении времени активного плавания на 57,8% ($P = 0,037$) относительно группы крыс, подвергнутых ИН. Это свидетельствует о снижении у животных группы ИН + С степени утомления.

Таким образом, интенсивные физические нагрузки приводят к интенсификации анаэробного гликолиза и, как следствие, – к развитию лакто- и кетоацидоза, инициирующих усиленный катаболизм пуринов с последующим усилением свободнорадикального окисления и истощением функции антиоксидантной системы. Введение селенита натрия способствует более эффек-

тивному протеканию окислительных процессов, повышению эффективности системы антиоксидантной защиты и снижению интенсивности липопероксидации мембран эритроцитов в организме крыс, подвергнутых интенсивным физическим нагрузкам. Это способствует увеличению резистентности организма животных к интенсивным физическим нагрузкам. Полученные в данном исследовании данные могут быть положены в основу новых способов диагностики и коррекции метаболических нарушений, развившихся при интенсивных физических нагрузках.

Список литературы

1. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – № 8. – С. 19–21.
2. Конвай В.Д., Золин П.П. Роль острого нарушения метаболизма пуринов в развитии постреанимационной патологии печени // Омский науч. вестник. – 2003. – № 3. – С. 168–172.
3. Корнякова В.В., Конвай В.Д., Рейс Б.А. Утомление после чрезмерных физических нагрузок: механизмы развития, коррекция // Теория и практика физической культуры. – 2009. – № 3. – С. 23–25.
4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 248 с.

6. Рожнецов В.В., Полевшиков М.М. Утомление при занятиях физической культурой и спортом: проблемы, методы исследования. – М.: Советский спорт, 2006. – 280 с.

7. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопр. мед. химии. – 1999. – Т. 45, № 3. – С. 263–272.

8. Черданцев Д.В. Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите. – Красноярск: АРТЭ, 2002. – 148 с.

9. Brancaccio P. Biochemical markers of muscular damage / P. Brancaccio, G. Lippi, N. Mffulli // Clin. Chem. Lab. Med. – 2010. – Vol. 48, № 6. – P. 757–767.

10. Nicolaidis M.J. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations / M.J. Nicolaidis, A.Z. Jamurtas, V. Paschalis // Sports Med. – 2008. – Vol. 38, № 7. – P. 579–606.

Рецензенты:

Зуева О.М., д.м.н., профессор, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности ГОУ ВПО Омского государственного технического университета, г. Омск;

Калинина И.Н., д.б.н., профессор, профессор кафедры медико-биологических основ физической культуры и спорта ФГБОУ ВПО Сибирского государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Сибирского государственного университета физической культуры и спорта, г. Омск.

Работа поступила в редакцию 28.11.2011.