

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

## ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ ГОМЕОСТАЗ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРИНУДИТЕЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК

<sup>1</sup>Гильмутдинова М.Ш., <sup>2</sup>Цебржинский О.И.<sup>1</sup>*Николаевский национальный университет им. В.А. Сухомлинского,  
Николаев, e-mail: gilmariash@mail.ru;*<sup>2</sup>*Полтавский национальный педагогический университет им. В.Г. Короленко, Полтава*

В статье рассматриваются данные о прооксидантно-антиоксидантном состоянии скелетных мышц крыс линии «Wistar» (на примере четырёхглавой мышцы бедра) в условиях принудительных физических нагрузок на фоне моделирования условий недостатка и избытка мелатонина. Полученные результаты демонстрируют, что в условиях принудительных физических нагрузок процессы свободно радикального перекисного окисления усиливаются, снижается активность антиоксидантных ферментов. Показано, что в условиях избытка мелатонина в мышцах мелатонин приобретает свойства прооксиданта, усиливая процессы перекисной окисления, а в условиях недостатка мелатонина снижается уровень антиоксидантной защиты, активируются процессы свободно радикального перекисного окисления в мышцах. При комбинации условий принудительной физической нагрузки с различными режимами освещённости уменьшается активность антиоксидантных ферментов и увеличивается уровень протеолитической активности в мышцах, что может свидетельствовать о срыве адаптационных способностей, так как принудительная нагрузка является разновидностью стресса.

**Ключевые слова:** прооксидантно-антиоксидантное состояние, скелетные мышцы, мелатонин, физическая нагрузка

## PROOXIDANT-ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS OF THE SKELETAL MUSCLE OF RATS IN CONDITIONS OF FORCED PHYSICAL EXERTION

<sup>1</sup>Gilmutdinova M.S., <sup>2</sup>Tsebrzhinskiy O.I.<sup>1</sup>*Nikolaev national University of V.A. Sukhomlinsky, Nikolaev, e-mail: gilmariash@mail.ru;*<sup>2</sup>*Poltava national pedagogical University of V.G. Korolenko, Poltava*

Information about prooxidant-antioxidant condition of rats «Wistar» skeletal muscles (for example quadriceps) in forced physical exertion on background of modeling conditions of excess and lack of melatonin are considered in the article. The results show that in conditions of forced physical exertion processes of free radical lipid peroxidation are amplified, decreases the activity of antioxidant enzymes. It is shown that in conditions of the excess of melatonin in muscles melatonin acquires properties of prooxidant, reinforcing processes of peroxidation, and in conditions of the lack of melatonin decreases the level of antioxidant protection, activates the processes of free radical lipid peroxidation in the muscles. If a combination of conditions forced physical exertion with different modes of light is reduced activity of antioxidant enzymes and increased level of proteolytic activity in the muscles, which may indicate disruption of adaptation abilities, because a forced physical exertion is a kind of stress.

**Keywords:** prooxidant-antioxidant condition, skeletal muscles, melatonin, physical exertion

Известно, что при физической нагрузке наблюдается нарушение кислородного баланса. В подобных условиях проявляются определённые метаболические изменения, результатом которых является активация перекисного окисления липидов, накопление свободных радикалов, нарушение структуры мембран. Процесс активации неферментативного свободнорадикального перекисного окисления биополимеров (СРПО) можно скорректировать с помощью антиоксидантов, что отмечается в различных органах и системах при негативных условиях и патологических состояниях [10].

Наиболее сильные антиоксидантные свойства проявляет мелатонин, защищая организм от свободных радикалов, снижает уровень активных форм кислорода, таким образом усиливая природные факторы антиоксидантной защиты [5; 13]. Синтезируется в эпифизе только в темноте, но не на свету

[1]. Экспериментально изучена протекторная роль мелатонина в экстремальных условиях, которые вызваны физической нагрузкой, в таких органах, как головной мозг [10].

**Цели исследования.** Учитывая проработанные литературные источники, следует отметить, что практически отсутствуют работы, которые описывают изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса в мышцах, их адаптации к условиям чрезмерной физической нагрузки в условиях влияния на продукцию мелатонина эпифизом. Поэтому целью исследования является изучение состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса в мышцах при условиях физической нагрузки на фоне моделирования условий гипо- и гипермелатонинемии.

Тема исследования является фрагментом комплексной темы «Органные эффекты мелатонина» (№ госрегистрации в УкрИНТЕИ: 0109U002265).

**Материал и методы исследования**

Эксперимент длился 30 суток (осенний период, октябрь). В исследовании было использовано 48 половозрелых самцов (6 месяцев) белых крыс линии «Wistar», средней массой 200 г. По принципу аналогов было сформировано 6 групп. В каждой группе по 8 животных.

1. Интактная группа (условная норма). В течение 30 дней животные получали только стандартный кормовой рацион, а также были помещены в условия 12-часового чередования дня и ночи.

2. Контрольная группа № 1. Моделирование условий недостатка мелатонина путём содержания животных в условиях круглосуточного освещения 1000–1500 лк в течение 30 суток.

3. Контрольная группа № 2. Моделирование условий избытка мелатонина путём содержания животных в условиях круглосуточной темноты, а также ежедневный прикорм мелатонином в дозе действующего вещества 1 мг на 1 кг массы тела в течение 30 суток.

4. Контрольная группа № 3. В течение 20 суток животные не подвергались влиянию, получали только стандартный кормовой рацион и были помещены в условия 12-часового чередования дня и ночи. Начиная с 21 дня, на 10 суток, моделировались условия, при которых животные подвергались принудительным физическим нагрузкам (тест Порсолта «принудительное плавание» [3]).

5. Экспериментальная группа № 1. В течение 20 дней животные пребывали в условиях круглосуточного освещения 1000–1500 лк. Начиная с 21 дня, на 10 суток, моделировались условия, при которых животные подвергались принудительным физическим нагрузкам (ежедневно до конца эксперимента).

6. Экспериментальная группа № 2. В течение 20 дней животные пребывали в условиях круглосуточной темноты. Начиная с 21 дня, на 10 суток, моделировались условия, при которых животные подвергались принудительным физическим нагрузкам (ежедневно до конца эксперимента).

В четырехглавой мышце бедра определяли концентрацию диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) – соответственно первичного и вторичного продуктов неферментативного свободнорадикального перекисного окисления (СРПО), активность антиоксидантных (АО) ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы, каталазы, а также общую протеолитическую активность [9].

Полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с акцентом внимания на погрешности средних величин [4; 6] с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Excel».

**Результаты исследований и их обсуждение**

Полученные данные отражены в таблице.

Прооксидантно-антиоксидантное состояние четырехглавой мышцы бедра при физической нагрузке и различных условиях обеспеченности мелатонином.  $M \pm m$ ; в группе  $n = 8$

№ п/п	Показатель	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа	6 группа
1	ДК, мкмоль/кг	7,48 ± 0,57	8,41 ± 0,33	10,34 ± 0,62 p < 0,002	9,20 ± 0,33 p < 0,02	8,64 ± 0,38	10,71 ± 0,11 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001
2	МДА, мкмоль/г	12,02 ± 0,87	13,62 ± 0,99	12,40 ± 0,79	14,49 ± 0,12 p < 0,02	16,83 ± 0,26 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,01	18,69 ± 0,23 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>3</sub> < 0,001
3	СОД, ум. од./г	1,05 ± 0,05	0,92 ± 0,03 p < 0,05	0,95 ± 0,03	0,85 ± 0,01 p < 0,002	0,86 ± 0,02 p < 0,01	0,87 ± 0,01 p < 0,01 p <sub>3</sub> < 0,05
4	Каталаза, мкат/кг	1,65 ± 0,14	1,59 ± 0,19	1,53 ± 0,16	1,96 ± 0,12	1,89 ± 0,10	1,69 ± 0,18
5	Глутатионпероксидаза, мкат/кг	5,89 ± 0,51	4,77 ± 0,46	5,23 ± 0,37	4,45 ± 0,28 p < 0,02	4,22 ± 0,27 p < 0,02	4,00 ± 0,23 p < 0,01 p <sub>3</sub> < 0,02
6.	Протеолитическая активность, нкат/кг	21,56 ± 2,78	33,05 ± 3,78 p < 0,05	27,72 ± 3,99	86,80 ± 5,30 p < 0,001	92,96 ± 4,37 p < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,001	79,52 ± 2,92 p < 0,001 p <sub>3</sub> < 0,001

**Примечания:** p – сравнение с величинами показателей интактной группы;  
p<sub>1</sub> – сравнение с величинами группы принудительной физической нагрузки;  
p<sub>2</sub> – сравнение с величинами показателей гипомелатонинемии;  
p<sub>3</sub> – сравнение с величинами показателей гипермелатонинемии.

Проанализировав данные представленной таблицы, можно констатировать следующее.

При недостатке мелатонина (группа № 2) проявляется уменьшение активности СОД по сравнению с нормой на 12%

(p < 0,05). Это свидетельствует о снижении антиоксидантного потенциала за счёт недостатка мелатонина, который является индуктором экспрессии её гена [2; 12]. В свою очередь, уменьшение продукции СОД

может вызвать повышенный уровень активных форм кислорода, что может привести к повреждению мембран клеток мышц. При недостатке мелатонина повышается уровень общей протеолитической активности на 53% ( $p < 0,05$ ), что может быть связано с активацией лизосом миоцитов и фагоцитов, указывая на изменения регуляции деструктивных процессов.

При избытке мелатонина (группа № 3) отмечается увеличение уровня ДК по сравнению с нормой на 38% ( $p < 0,002$ ). Предполагается, что образование ДК может быть связано со способностью избыточного количества мелатонина проявлять прооксидантное действие.

Следует отметить, что в 4, 5 и 6 группе наблюдаются изменения одних и тех же показателей. Величины показателей ДК, МДА и общей протеолитической активности постепенно увеличиваются от группы к группе, показатели СОД и глутатионпероксидазы уменьшаются от группы к группе.

В группе № 4 также выявлено повышение уровня ДК на 22% ( $p < 0,02$ ), повышение уровня МДА на 20% ( $p < 0,02$ ), снижение активности СОД на 20% ( $p < 0,002$ ), снижение активности глутатионпероксидазы на 24% ( $p < 0,02$ ), повышение уровня общей протеолитической активности в 4 раза ( $p < 0,001$ ). Эти изменения могут быть связаны с утомлением и стрессовой компонентой: гипоксией (из-за ишемии), накоплением молочной кислоты, усиленным окислением жирных кислот в митохондриях, нарушением нервной регуляции, как об этом свидетельствует литература [7; 8; 11], то есть с условиями физической нагрузки. Стресс способен вызвать ряд изменений, что в дальнейшем может привести к формированию дисбаланса функций различных органов и систем, а также нарушением различных видов метаболизма. Как следствие, после физической нагрузки отмечается повышение процессов СРПО, в результате чего отмечается повышенный уровень ДК, МДА, а также снижение активности антиоксидантных ферментов (СОД, глутатионпероксидаза).

В группе № 5 выявлено повышение уровня МДА на 40% ( $p < 0,001$ ) против величин нормы и на 23% ( $p_2 < 0,01$ ) против контроля на недостаток мелатонина, что может быть связано с истощением антиоксидантной защиты, в том числе и нехватки мелатонина. Об этом свидетельствует снижение активностей СОД на 19% ( $p < 0,01$ ) и глутатионпероксидазы на 28% ( $p < 0,02$ ), что косвенно указывает на срыв адаптационных процессов из-за снижения антиоксидантного потенциала, в том числе и вслед-

ствие недостатка мелатонина. Повышение уровня общей протеолитической активности в 4,5 раза ( $p < 0,001$ ) против значений нормы и в 3 раза ( $p < 0,001$ ) против величин контроля на недостаток мелатонина, что, возможно, связано с активацией лизосом миоцитов, что может указывать на изменения регуляции деструктивных процессов, которые могут быть вызваны условиями принудительной физической нагрузки, в результате чего накапливается молочная кислота.

В группе № 6 выявлено повышение уровня ДК на 43% ( $p < 0,001$ ) против значений нормы, на 16% ( $p_1 < 0,001$ ) против величин, характерных для физической нагрузки, повышение концентрации МДА на 55% ( $p < 0,001$ ) против значений нормы, на 28% ( $p_1 < 0,001$ ) против величин, характерных для физической нагрузки, на 35% ( $p < 0,001$ ) против уровня контроля на избыток мелатонина, что может указывать на усиление процессов пероксидации, что, возможно, связано со способностью избыточного количества мелатонина иметь прооксидантное действие. Кроме того, избыток мелатонина мог бы блокировать собственную секрецию в эпифизе, при том что основным регулятором биосинтеза является свет. Снижение активности СОД на 18% ( $p < 0,01$ ) и глутатионпероксидазы на 32% ( $p < 0,001$ ) против значений нормы, а также снижение активности СОД на 9% ( $p_3 < 0,001$ ) и глутатионпероксидазы на 24% ( $p_3 < 0,02$ ) против величин показателей гипермелатонинемии, что может указывать на срыв адаптационных процессов, что, возможно, вызвано условиями чрезмерной физической нагрузки. Повышение уровня общей протеолитической активности в 4 раза ( $p < 0,001$ ) против величин нормы и в 3 раза ( $p_3 < 0,001$ ) против величин контроля на избыток мелатонина может указывать на изменения регуляции деструктивных процессов, которые могут также быть вызваны условиями принудительной физической нагрузки, а также совмещения, кумуляции влияний физических нагрузок и гипермелатонинемии.

### Выводы

1. В условиях принудительной физической нагрузки процессы СРПО усиливаются, снижается активность антиоксидантных ферментов.
2. В условиях избытка мелатонина в мышцах данное вещество приобретает свойства прооксиданта, усиливая процессы пероксидации.
3. В условиях недостатка мелатонина снижается уровень АО защиты, активируются процессы СРПО в мышцах.

4. При комбинации условий принудительной физической нагрузки с различными режимами освещённости уменьшается активность антиоксидантных ферментов и увеличивается уровень протеолитической активности в мышцах, что может свидетельствовать о срыве адаптационных способностей, так как принудительная нагрузка является разновидностью стресса.

#### Список литературы

1. Анисимов В.Н. Мелатонин: роль в организме и применение в клинике. – СПб.: Система, 2007. – 40 с.
2. Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т.72, № 3. – С. 5–11.
3. Бобков Ю.Г. Фармакологическая коррекция утомления / Бобков Ю.Г., Виноградова В.М., Лосев С.С., Хатков В.Ф. – М.: Медицина, 1984. – 208 с.
4. Деркач М.П. Курс варіаційної статистики / М.П. Деркач, Р.Я. Гумецький, М.Є. Чабан. – Київ: Вища школа, 1977. – 208 с.
5. Забелина В.Д. Мелатонин – «гормон сна» и не только // Consil. Provisorum. – 2006. – № 3. – С. 9–12.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1986. – 293 с.
7. Мирзоев О.М. Применение восстановительных средств в спорте. – М.: Спорт Академ Пресс, 2000. – 202 с.
8. Михайлов С.С. Спортивная биохимия. – М.: Советский спорт, 2004. – 220 с.
9. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / Л.В. Беркало, О.В. Бобович, О.О. Гейко, О.І. Цебржинський та ін. – Полтава, 1997. – 271 с.
10. Скочко-Волкова Т.А., Зленко Т.О., Демченко О.М. Порівняльна характеристика впливу мелатоніну, пірацетаму та кавінтону на процеси перекисного окислення ліпідів у різних відділах головного мозку в умовах інтенсивного фізичного навантаження // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2001. – № 3. – С. 38–42.
11. Уилмор Дж. Х., Костилл Д.Л. Физиология спорта и двигательной активности: пер. с англ. – К.: Олимпийская литература, 1997. – 504 с.
12. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals // News Physiol. Sci. – 2000. – Vol. 15. – P. 246–250.
13. Terron M.P., Cubero J., Barriga C., Ortega E., Rodriguez A.B. Phagocytosis of *Candida albicans* and superoxide anion levels in ring dove heterophils: Effect of melatonin // J. Neuroendocrinol. – 2003. – 15, № 12. – P. 1111–1115.

#### References

1. Anisimov V.N. Melatonin: rol' v organizme i primenenie v klinike. SPb: Sistema, 2007. 40 p.
2. Baraboi V.A. Antiokislitel'naya i biologicheskaya aktivnost' melatonina. Ukr. biokhim. zhurn. 2000. T. 72, no. 3. pp. 5–11.
3. Bobkov Yu.G. Farmakologicheskaya korrektsiya utomleniya. Bobkov Yu.G., Vinogradova V.M., Losev S.S., Khatkov V.F. Moskva: Meditsina, 1984. 208 p.
4. Derkach M.P. Kurs variatsiinoi statistiki. Derkach M.P., Gumets'kii R.Ya., Chaban M.E. Kiev: Vishcha shkola, 1977. 208 p.
5. Zabelina V.D. Melatonin – «gormon sna» i ne tol'ko. Zabelina V.D. Consil. Provisorum. no. 3, 2006. pp. 9–12.
6. Lakin G.F. Biometriya. Lakin G.F. Moskva: Vysshaya shkola, 1986. 293 p.
7. Mirzoev O.M. Primenenie vosstanovitel'nykh sredstv v sporte. M.: SportAkademPress, 2000. 202 p.
8. Mikhailov S.S. Sportivnaya biokhimiya. M.: Sovetskii sport, 2004. 220 p.
9. Posibnik z eksperimental'nykh klinichnykh doslidzhen' v biologii ta meditsini / [Berkalo L.V., Bobovich O.V., Geiko O.O., Tsebrzhins'kii O.I. ta in.]. Poltava, 1997. 271 p.
10. Skochko-Volkova T.A., Zlenko T.O., Demchenko O.M. Porivnyal'na kharakteristika vplivu melatoninu, piratsetamu ta kavintonu na protsesi perekisnogo okislennya lipidiv u riznykh viddilakh golovnoho mozku v umovakh intensivnogo fizichnogo navantazhennya. Skochko-Volkova T.A. «Eksperimental'na ta klinichna fiziologiya i biokhimiya». no. 3, 2001. pp. 38–42.
11. Uilmor Dzh. Kh., Kostill D.L. Fiziologiya sporta i dvigatel'noi aktivnosti: Per. s angl. K.: Olimpiiskaya literatura, 1997. 504 p.
12. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals. News Physiol. Sci. 2000. Vol. 15. pp. 246–250.
13. Terron M.P., Cubero J., Barriga C., Ortega E., Rodriguez A.B. Phagocytosis of *Candida albicans* and superoxide anion levels in ring dove heterophils: Effect of melatonin. Terron M.P.J. Neuroendocrinol. 15, no. 12, 2003 pp. 1111–1115.

#### Рецензенты:

Авраменко А.О., д.м.н., зав. кафедрой физиологии и биохимии Николаевского национального университета им. В.А. Сухолинского, г. Николаев;

Бобырева Л.Е., д.м.н., профессор, зав. кафедрой эндокринологии, ВДНЗ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава.

Работа поступила в редакцию 26.03.2014.