

УДК 616.8-009.17-008.9:612.766.1

ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИ УТОМЛЕНИИ, РАЗВИВШЕМСЯ ВСЛЕДСТВИЕ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК

¹Корнякова В.В., ²Конвай В.Д., ¹Муратов В.А.

¹ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Омск, e-mail: rector@omsk-osma.ru;

²ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»,
Омск, e-mail: adm@omgau.ru

Проведено биохимическое обследование экспериментальных животных, подвергшихся принудительному плаванию, и высококвалифицированных спортсменов-пловцов. Подопытные крысы были разделены на три группы: контрольную, плававшую без груза, и две опытные, в которых крысы плавали с грузом, равным 10% от массы тела. У крыс второй опытной группы, плавающих в более интенсивном режиме, развивалось утомление. Обследованные спортсмены на основании анамнеза, физиологических и биохимических методов исследования были разделены на две группы: спортсмены с признаками утомления и не имеющие их. Контрольную группу обследуемых составили 30 лиц, не занимающихся спортом. В крови и сердце животных изучали показатели состояния системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов. Эти же показатели определяли в крови спортсменов-пловцов. Показано, что развитие утомления и у крыс и у спортсменов сопровождается гиперлактидемией, приводящей к катаболизму пуринов, истощению ферментов антиоксидантной системы и активации процессов перекисного окисления липидов. Данные процессы протекают односторонне как в крови, так и в жизненно важных органах. Это позволяет использовать изученные биохимические показатели в качестве тестов для прогнозирования развития утомления у спортсменов.

Ключевые слова: интенсивные физические нагрузки, кровь, сердце, утомление, антиоксидантная система

PROCESSES OF FREE RADICAL OXIDATION AT FATIGUE, WHICH DEVELOPED AS A RESULT OF INTENSE PHYSICAL EXERCISE

¹Kornyakova V.V., ²Konvay V.D., ¹Muratov V.A.

¹Omsk State Medical University, Omsk, e-mail: rector@omsk-osma.ru;

²Omsk state agrarian university of P.A. Stolypin, Omsk, e-mail: adm@omgau.ru

Held biochemical examination of experimental animals exposed to the forced swim and highly skilled swimmers. Experimental rats were divided into three groups: control and two experienced, in which rats swam with a load equal to 10% of body weight. The rats of the second group experienced swimming in a more intensive mode, developed fatigue. The investigated athletes on the basis of medical history, physiological and biochemical research methods were divided into two groups: with signs of fatigue and not having them. The control group consisted of 30 persons not practice sports. In the blood and the heart of the animals studied indicators of the status of the antioxidant defense system and lipid peroxidation. These indicators were determined in the blood of athletes – swimmers. It is shown that the development of fatigue in rats and athletes induce excess of lactate, leading to catabolism of purines, depletion of antioxidant enzymes and activation of lipid peroxidation. These processes are unidirectionally both in blood and in the vital organs. This allows the use of biochemical indicators studied as a test for predicting the development of fatigue in athletes.

Keywords: intense physical exercise, blood, heart, fatigue, antioxidative system

Физические нагрузки высокой интенсивности, сопровождающие современный спорт, могут приводить изначально к развитию утомления, а затем и переутомления либо физического перенапряжения [3, 5]. Развитие утомления приводит к снижению физической работоспособности спортсменов и эффективности тренировочного процесса [4], это обосновывает необходимость разработки максимально эффективных методов его распознавания. Существующие на сегодняшний день методы, позволяющие диагностировать утомление, недостаточно эффективны, поскольку не отражают состояние окислительных процессов в жизнен-

но важных органах, от функционирования которых зависит резистентность организма к физическим нагрузкам [1].

Цель исследования – предложить биохимические тесты для прогнозирования развития утомления на основании выявленных взаимосвязей между показателями окислительных процессов в жизненно важных органах и крови экспериментальных крыс и крови спортсменов, подвергшихся интенсивным физическим нагрузкам.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на белых аутбредных крысах-самцах массой 240 ± 20 г. и спортсменах-пловцах. Исследуемые животные были разделены

на три группы. Первую из них составляли контрольные крысы (Кк, $n = 10$), подвергавшиеся плаванию без груза по усредненному времени (3–7 мин) через день в течение пяти недель эксперимента. Во вторую группу вошли животные с оптимальным режимом физической нагрузки (ИНк, $n = 10–15$), подвергавшиеся принудительному плаванию с грузом, равным 10% от массы тела, в течение пяти недель эксперимента через день. На крысах третьей группы (ИН + Ук, $n = 10–15$) 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. Критерием ограничения времени плавания у крыс второй и третьей 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°C, а воздуха в виварии – 19–21°C. Исследования проводились в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609 ЕЕС). По окончании эксперимента проводили забор крови и сердца. Сердце гомогенизировали на 0,15 М растворе хлорида калия в стеклянном гомогенизаторе Поттера при температуре 0–2°C. Готовили 20% гомогенаты сердца.

В выборку вошли 81 спортсмен мужского пола, занимающихся плаванием, в возрасте от 17 до 20 лет. Обследуемые спортсмены имели первый спортивный разряд, разряд кандидата в мастера спорта или мастера спорта. Они были обследованы в подготовительном периоде тренировочного процесса, отличающемся интенсивными физическими нагрузками. Первую группу испытуемых составили спортсмены, не имеющие по данным анамнеза, физиологических и биохимических исследований признаки утомления (ИНс, $n = 61$). Во вторую группу вошли спортсмены, имеющие признаки утомления по данным тех же исследований (ИН + Ус, $n = 20$). Забор крови у спортсменов проводили через 5–10 минут после завершения тренировки.

Контрольную группу (Кс) составили 30 человек, не занимающихся спортом, того же возраста и пола. При проведении исследования соблюдались требования Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека».

По окончании эксперимента в крови крыс, спортсменов и лиц контрольной группы определяли концентрацию молочной и мочевой кислот, активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) унифицированными методами лабораторной диагностики. В эритроцитах и гомогенатах сердца исследовали активность глутатионредуктазы (ГлР), содержание малонового диальдегида (МДА), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и глутатиона методами, описанными в работе [2]. Для биохимического исследования крови использовали реактивы фирм «Ольвекс» (Россия), «Hospitex» (Швейцария, Италия), «Randox» (Великобритания).

Результаты исследования обработаны статистически с использованием компьютерной программы «SPSS 13.0 for Windows». Статистическая обработка осуществлялась при помощи непараметрического U -критерия Манна – Уитни. Измерение связи между переменными проводили при помощи корреляционного анализа по Спирмену (r_s).

Результаты исследования и их обсуждение

Из приведенных в табл. 1 и 2 данных следует, что и у экспериментальных животных, и у спортсменов-пловцов интенсивные физические нагрузки сопровождаются выраженной гиперлактацидемией. Концентрация лактата у крыс группы ИН + Ук превышает значение аналогичного показателя в группах Кк и ИНк соответственно на 33,3% ($P = 0,0001$) и 31,1% ($P = 0,003$). У спортсменов группы ИН + Ус концентрация молочной кислоты в крови на 173 и 24% выше по сравнению с группами Кс ($P < 0,0001$) и ИНс ($P = 0,041$) соответственно. Развившийся лактоацидоз приводит к интенсивному катаболизму пуриновых мононуклеотидов до гипоксантина и ксантина с последующим окислением этих метаболитов ксантиноксидазой до урата. Уровень урикемии в крови крыс группы ИН + Ук превышает аналогичный показатель у животных группы Кк и ИНк соответственно на 89,6% ($P = 0,0001$) и 43,3% ($P = 0,01$). Аналогичная тенденция отмечена и у спортсменов группы ИН + Ук: уровень урикемии у них на 41,2% выше, чем в контроле ($P = 0,0001$), и на 42,4% превышает аналогичный показатель в группе ИНк ($P = 0,0001$) (табл. 1, 2).

Интенсивные физические нагрузки у крыс группы ИН + Ук приводят к интенсификации анаэробного гликолиза и развитию лактоацидоза, инициирующих усиленный катаболизм пуринов. Это приводит к повреждению мембран эритроцитов, на что указывает нарастание в этих клетках уровня МДА – промежуточного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ). Его содержание в эритроцитах крыс группы ИН + Ук превышает аналогичный показатель у животных групп К и ИН на 18,8% ($P = 0,001$) и 14,3% ($P = 0,019$) соответственно. Коэффициент корреляции между концентрацией мочевой кислоты в плазме крови и содержанием МДА в эритроцитах крыс составляет $r_s = 0,366$ ($P = 0,09$). Это свидетельствует о взаимосвязи между катаболизмом пуринов и интенсификацией процессов ПОЛ. Повышение содержания МДА в эритроцитах спортсменов группы ИН + Ус (на 29,2% ($P = 0,042$) и 32,6% ($P = 0,003$) по сравнению с группами Кс и ИНс соответственно) указывает на развившуюся у них липопероксидацию мембранных структур этих клеток.

Таблица 1

Показатели окислительных процессов у крыс контрольных (Кк, $n = 10$), подвергшихся интенсивным физическим нагрузкам без развития утомления (ИНк, $n = 10-15$) и с его развитием (ИН + Ук, $n = 10-15$), $M \pm m$

Показатели	Кк	ИНк	ИН + Ук
<i>В крови крыс</i>			
Лактат, ммоль/л	8,19 ± 0,49	8,33 ± 0,60	10,92 ± 0,45 к, ин
Урат, мкмоль/л	79,2 ± 6,4	104,8 ± 10,5	150,2 ± 16,4 к, ин
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	282 ± 3	293 ± 8	335 ± 14 к, ин
Глутатион, ммоль/л	1,01 ± 0,02	1,02 ± 0,04	0,88 ± 0,04 к, ин
Глутатионредуктаза, МЕ/мл	0,48 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,33 ± 0,05 к, ин
Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, МЕ/л	712 ± 76	663 ± 80	311 ± 53 к, ин
<i>В сердце крыс</i>			
Малоновый диальдегид, мкмоль/мг белка	8,83 ± 1,41	9,34 ± 0,26	10,18 ± 0,42
Глутатион, ммоль/г белка	38,5 ± 2,6	33,5 ± 1,7	26,4 ± 2,4 к, ин
Глутатионредуктаза, МЕ/мг белка	52,4 ± 2,6	51,1 ± 2,2	44,1 ± 0,5 к, ин
Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, МЕ/г белка	3,21 ± 0,44	2,88 ± 0,26	1,94 ± 0,33 к, ин

Примечание. к – различие статистически значимо по сравнению с группой Кк; ин – с группой ИНк.

Таблица 2

Показатели окислительных процессов в крови лиц, не занимающихся спортом (Кс, $n = 30$), и спортсменов-пловцов, испытывающих интенсивные физические нагрузки без развития утомления (ИНс, $n = 61$) и с его развитием (ИН + Ус, $n = 20$), $M \pm m$.

Показатели	Кс	ИНс	ИН + Ус
Лактат, ммоль/л	2,19 ± 0,15	4,82 ± 0,18 к	5,98 ± 0,48 к, ин
Урат, мкмоль/л	345 ± 12	342 ± 7	487 ± 20 к, ин
АсАТ, МЕ/л	22,3 ± 1,1	23,7 ± 0,7	30,0 ± 1,9 к, ин
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	274 ± 16	267 ± 8	354 ± 29 к, ин
Глутатион, ммоль/л	1,043 ± 0,08	0,956 ± 0,02	0,850 ± 0,03 к, ин
Глутатионредуктаза, МЕ/мл	4,26 ± 0,16	4,14 ± 0,11	3,48 ± 0,21 к, ин
Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, МЕ/л	99,2 ± 7,7	94,5 ± 4,4	71,1 ± 8,3 к, ин

Примечание. к – различие статистически значимо по сравнению с группой Кс; ин – с группой ИНс.

Следствием активации ксантиноксидазной реакции, сопровождающей катаболизм пуринов, является повреждение мембранных структур кардиомиоцитов крыс группы ИН + Ук. Об этом свидетельствует повышенное содержание в клетках сердца последних МДА (на 15,3 ($P = 0,48$) и 9,0% ($P = 0,16$) по сравнению с аналогичными показателями у животных групп Кк и ИНк соответственно). Повышение содержания МДА в клетках сердца крыс группы ИН + Ук отрицательно коррелирует со снижением в их крови активности Г-6-ФДГ ($r_s = -0,794$; $P = 0,003$).

Интенсификация процессов ПОЛ в крови крыс и спортсменов с развившимся утомлением приводит к истощению антиоксидантной системы (АОС). Со-

держание G-SH в эритроцитах крыс, подвергшихся ИН + Ук, снижается на 12,9% ($P = 0,011$) и 13,7% ($P = 0,041$) по сравнению с уровнем этого показателя у крыс групп Кк и ИНк соответственно. Отрицательная корреляция между концентрацией G-SH в эритроцитах и содержанием урата в плазме крови подтверждает взаимосвязь между уровнем этого трипептида в организме крыс и интенсивностью катаболизма пуринов ($r_s = -0,265$; $P = 0,17$). Дефицит глутатиона развивается и у спортсменов группы ИН + Ус. Содержание этого трипептида в эритроцитах последних снижено на 18,5% ($P = 0,033$) и 11,1% ($P = 0,017$) по отношению к контролю и спортсменам группы ИНс соответственно. Содержание глутатиона снижается и в кардиомиоцитах

крыс группы ИН + Ук [на 31,4% ($P = 0,019$) и 21,2% ($P = 0,028$) относительно значения аналогичного показателя у животных групп Кк и ИНк соответственно].

Развившийся дефицит глутатиона связан, очевидно, с торможением активности ГлР. В эритроцитах крыс группы ИН + Ук она на 31,3% ($P = 0,018$) ниже относительно активности данного фермента в крови животных групп Кк и ИНк. В эритроцитах спортсменов группы ИН + Ус активность данного фермента снижена по отношению к аналогичному показателю в группах Кк и ИНк на 18,3% ($P = 0,024$) и 15,9% ($P = 0,017$) соответственно. Снижение активности ГлР в крови спортсменов группы ИН + Ус положительно коррелирует со снижением показателя активности Г-6-ФДГ в крови крыс группы ИН + Ук ($r_s = 0,481$; $P = 0,041$). Активность ГлР снижается также в клетках сердца крыс группы ИН + Ук [на 15,8% ($P = 0,017$) и 13,7% ($P = 0,023$) по сравнению с аналогичными показателями у животных групп Кк и ИНк соответственно].

Снижение активности ГлР связано с недостаточной обеспеченностью данного фермента НАДФН₂, генерируемого из глюкозы в реакциях пентозного цикла. О торможении последнего свидетельствует развившийся у крыс и спортсменов дефицит Г-6-ФДГ. В эритроцитах крыс группы ИН + Ук активность последней на 56,3% ($P = 0,003$) и 53,1% ($P = 0,004$) ниже по сравнению с аналогичными показателями в группах Кк и ИНк соответственно. В клетках крови спортсменов группы ИН + Ус активность Г-6-ФДГ снижена соответственно на 28,3% ($P = 0,029$) и 24,8% ($P = 0,022$) по сравнению с аналогичными показателями в группах Кс и ИНс. Она положительно коррелирует с показателем активности ГлР в крови крыс группы ИН + Ук ($r_s = 0,511$; $P = 0,026$). О снижении эффективности пентозного

цикла свидетельствует также уменьшение активности Г-6-ФДГ в кардиомиоцитах крыс группы ИН + Ук на 39,6% ($P = 0,044$) и 32,6% ($P = 0,046$) по сравнению с уровнем аналогичного показателя у крыс групп Кк и ИНк соответственно. Снижение активности Г-6-ФДГ в клетках сердца крыс группы ИН + Ук тесно коррелирует со снижением в их крови активности ГлР ($r_s = 0,546$; $P = 0,018$).

Заключение

Таким образом, показано что утомление, развившееся вследствие интенсивных физических нагрузок, сопровождается развитием гиперлактацидемии, инициирующей катаболизм пуринов до урата. Следствием активации ксантинооксидазной реакции являются активация процессов ПОЛ, истощение компонентов АОС и угнетение пентозного цикла. Данные процессы происходят однонаправленно как в крови и жизненно важных органах крыс, так и в крови спортсменов. Это позволяет предложить биохимические показатели, о которых говорилось выше, в качестве биохимических тестов для диагностики развития утомления у спортсменов.

Список литературы

1. Корнякова В.В., Конвай В.Д. Роль нарушения метаболизма пуринов в повреждении кардиомиоцитов крыс при физических нагрузках // Омский научный вестник. – 2012. – № 1 (108). – С. 96–99.
2. Корнякова В.В., Конвай В.Д., Фомина Е.В. Антиоксидантный статус крови при физических нагрузках и его коррекция // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 47–51.
3. Макарова Г.А., Локтев С.А. Медицинский справочник тренера / Г.А.Макарова, С.А. Локтев. – М.: Советский спорт, 2005. – 587 с.
4. Полевщиков М.М. Оценка утомления при занятиях физической культурой и спортом / М.М. Полевщиков, А.М. Шрага, В.Е. Афоньшин, В.В. Роженцов // Теория и практика физ. культуры. – 2014. – № 7. – С. 75–78.
5. Солодков А.С. Особенности утомления и восстановления спортсменов // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2013. – № 6 (100). – С. 131–143.