

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.155.1

К.П. Базарин, Н.М. Титова, С.А. Кузнецов

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У СПОРТСМЕНОВ, ЧЛЕНОВ КОМАНДЫ ПО СПОРТИВНОМУ ОРИЕНТИРОВАНИЮ

ФГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет (Красноярск)

Изучалась динамика показателей антиоксидантного статуса у спортсменов-ориентировщиков в состоянии максимальной усталости (после окончания соревновательного периода) и после отдыха. Приводятся результаты исследования содержания малонового диальдегида (МДА), каталазы (Kat), супероксиддисмутазы (СОД), глутатион-S-трансферазы (GST) в эритроцитах венозной крови. Выявлены достоверные отличия активности ферментов системы антиоксидантной защиты и содержания МДА в зависимости от предшествующего уровня физических нагрузок. Определено, что процессы восстановления организма после периода интенсивных физических нагрузок характеризуются снижением содержания МДА и увеличением активности ферментов системы антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: спорт, физическая нагрузка, система антиоксидантной защиты

DYNAMICS OF ANTIOXIDANT STATUS INDICES IN ORIENTEERING TEAM MEMBERS

K.P. Bazarin, N.M. Titova, S.A. Kuznetsov

Siberian Federal University, Krasnoyarsk

The present research is devoted to the study of the dynamics of antioxidant status indices in sportsmen going in for orienteering in the state of their maximum tiredness (right after competition) and after rest. The article presents the results of the research of malondialdehyde (MDA), catalase (C), superoxide dismutase (SOD) and glutathione-S-transferase (GST) content in venous blood erythrocytes. We revealed significant differences in the activity of enzymes of antioxidant defense system and malondialdehyde content depending on the previous level of physical activity. It was determined that restoration processes of an organism after the period of intensive physical activity were characterized by the decrease of MDA content and increase of the activity of enzymes of antioxidant defense system.

Key words: sport, physical activity, antioxidant defense system

ВВЕДЕНИЕ

Активные формы кислорода (АФК) в последние годы привлекают значительное внимание исследователей [9, 10, 11, 12, 17, 21, 23, 26, 28, 29]. Считается, что АФК составляют отдельную систему в организме, участвующую как в ряде физиологических функций, так и во многих патологических процессах. Знание механизмов работы данной системы важно как для понимания закономерностей физиологического функционирования тканей организма в норме, так и для понимания особенностей течения многих патологических процессов и выбора способов активного влияния на них; оно способно дать возможность разработки технологий лечения многих заболеваний, продления жизни, роста физических возможностей организма человека.

Высокий уровень физических нагрузок, характерный для спорта высших достижений, оказывает существенное влияние на систему АФК, вызывая комплекс изменений в ферментных системах. Эти изменения могут как носить положительный, компенсаторный, характер, так и, в ряде случаев, приводить к декомпенсации, угнетению активности антиоксидантных механизмов, накоплению в тканях АФК с развитием

повреждений. Несмотря на значительное количество исследований в данной области, пока указанные механизмы изучены не до конца.

Основные механизмы генерации АФК связаны с нарушениями функционирования электронно-транспортных цепей митохондрий или микросом, особенно при низкой концентрации АДФ, недостатке кислорода, а также при изменении свойств дегидрогеназ [2]. Учитывая, что деятельность в условиях гипоксии – характерная особенность многих, в особенности циклических, видов спорта, есть все основания считать, что у спортсменов возможны существенные изменения в работе указанной системы [6, 8, 14, 25].

Все АФК являются окислителями клеточных компонентов и в больших количествах необратимо повреждают клетки. Защита организма от АФК осуществляется антиоксидантной системой (АОС). АОС включает низкомолекулярные антиоксиданты (АО) и систему ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные превращения глутатиона и аскорбата, дисмутирующих активные формы кислорода и элиминирующих пероксиды [1]. Выделяют следующие ферменты, реализующие функции защиты от АФК: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ),

глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза (GST), глутатионредуктаза.

Степень выраженности адаптационной реакции АОС зависит от многих физиологических и внешних факторов, таких, как пол, возраст, рацион питания, получаемые медикаменты. Некоторые гены системы антиоксидантной защиты могут быть активированы достаточно быстро в ответ на патологический процесс, связанный с увеличением уровня АФК, например, при острой инфекции, интоксикации, острой гипоксии, ишемии. Другие же гены активируются гораздо медленнее и отвечают за адаптацию организма к длительно действующим факторам – таким, например, как изменившиеся условия окружающей среды, изменившиеся энергетические затраты [16]. Следовательно, можно считать, что изменения, возникающие в системе АФК – АОС в организме спортсмена, носят сочетанный характер и не являются лишь локальным ответом на предшествующую нагрузку, при этом долговременные изменения в данной системе изучены недостаточно. Таким образом, целью нашего исследования явилось изучение изменений уровня концентрации малонового диальдегида как показателя интенсивности окислительных процессов и активности ряда ферментов системы антиоксидантной защиты у спортсменов в различных фазах годового тренировочного макроцикла, характеризующихся существенно отличающимся уровнем физических нагрузок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 19 спортсменов, членов сборной команды Сибирского федерального университета по спортивному ориентированию, имеющих общий тренировочный и соревновательный режим. Квалификация: мастеров спорта – 9, кандидатов в мастера спорта – 7, имеющих 1-й разряд – 3; женщин – 11, мужчин – 8. Средний возраст составил 22,21 лет, стандартное отклонение – 3,58. Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом, обследуемые спортсмены давали добровольное информированное согласие на участие в эксперименте.

Образцы венозной крови забирались из локтевой вены локтевого сгиба, в состоянии покоя, как минимум через 12 часов после окончания физической нагрузки. В качестве антикоагулянта использовался гепарин. Проба А была взята в течение 3 дней после окончания соревновательного периода (максимальная усталость); проба В – в конце переходного периода (длительность – 4 недели), характеризующегося значительным снижением нагрузок.

Материалом исследования служили упакованные эритроциты, выделенные из венозной крови. Для упакованных эритроцитов определяли гемоглобин унифицированным гемоглобинцианидным методом с использованием набора реактивов фирмы «Агат-Мед». Мерой окислительных процессов в исследовании служил МДА, один из продуктов перекисного окисления липидов. О содержании МДА судили по его реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой в кислой среде [18].

Активность СОД определяли по степени ингибирования реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде в присутствии фермента [5]. Об интенсивности аутоокисления адреналина судили по динамическому нарастанию поглощения при длине волны 347 нм, обусловленному накоплением продукта окисления, опережающим по времени образование адренохрома с максимумом поглощения при 480 нм.

Определение активности каталазы основано на образовании окрашенного в желтый цвет комплекса неразрушенного в процессе катализируемой ферментом реакции пероксида водорода с молибдатом аммония, интенсивность окрашивания которого регистрировали на фотоэлектрическом колориметре при длине волны 400 нм [4].

Мерой активности глутатион-S-трансферазы служила скорость образования глутатион-S-конъюгатов между восстановленным глутатионом и 1-хлор-2,4-динитробензолом в ходе катализируемой ферментом реакции. Увеличение концентрации глутатион-S-конъюгатов регистрировали на спектрофотометре «Спекол» при длине волны 340 нм [7].

Достоверность различий между показателями зависящих выборок оценивали по непараметрическому U-критерию Вилкоксона. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами обнаружено существенное увеличение уровня МДА в пробе А (состояние максимальной усталости по окончании соревновательного периода), по сравнению с пробой В (окончание переходного периода, отдых). Это согласуется с рядом исследований, подтверждающих, что интенсивная мышечная активность ведет к значимому увеличению образования АФК [6, 8, 14, 25]. Достоверные отличия уровней активности ферментов системы антиоксидантной защиты обнаружены только для GST. Отличия уровней активности КАТ и СОД между пробами А и В не достоверны.

В ряде исследований показано, что активность СОД в тканях скелетных мышц увеличивается при регулярной физической нагрузке пропорционально ее интенсивности [13, 19, 24]. Имеются также данные об увеличении активности СОД в тканях миокарда и диафрагмы крыс при интенсивной нагрузке (плавание) [24]. В отношении каталазы имеются данные о снижении активности данного фермента под влиянием физической нагрузки [10]. Учитывая, что в нашем исследовании пробы крови забирались в состоянии покоя как минимум через 12 часов после окончания физической нагрузки, можно предположить, что СОД и КАТ в большей степени отвечают за срочные адаптационные реакции системы антиоксидантной защиты в организме спортсмена и не подвержены длительным кумулятивным изменениям. Этот тезис подтверждается данными [2, 22], где СОД рассматривается как стресс-белок, синтезируемый в короткое время в ответ на окислительный стресс.

На рисунке 1 представлена диаграмма, демонстрирующая направленность изменений уровней

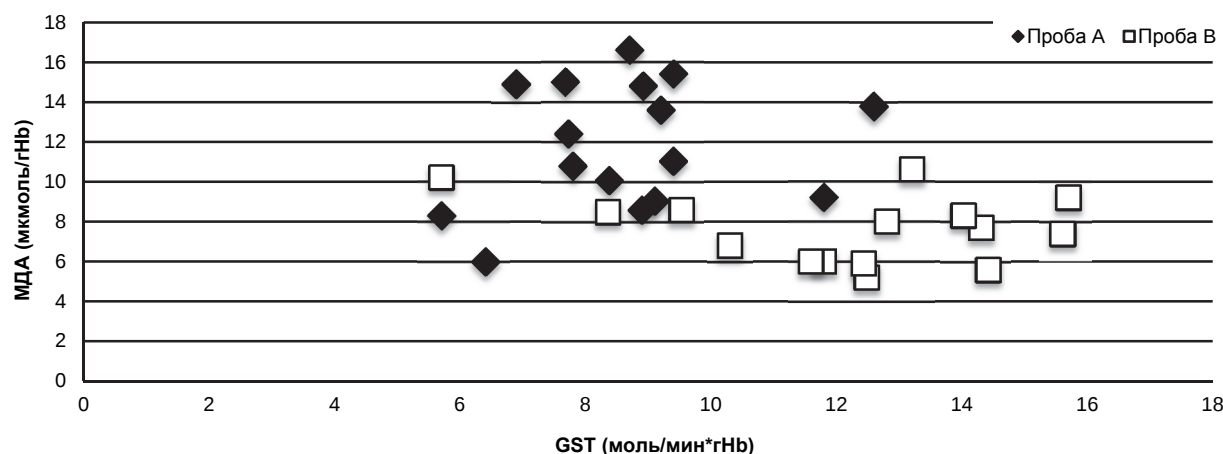


Рис. 1. Показатели уровней МДА и GST в пробе А (максимальная усталость) и в пробе В (после отдыха).

МДА и GST. Мы видим, что процесс восстановления после высоких физических нагрузок сопровождается снижением количества малонового диальдегида и повышением активности глутатион-S-трансферазы.

Учитывая, что GST является ферментом, который за счет восстановленного глутатиона осуществляет прямую регенерацию липоперекисей в мембранах без предварительного фосфолипазного гидролиза, снижая последствия окислительного стресса и эндогенной интоксикации, а также способствует выведению из организма токсичных продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков [27], рост активности данного фермента в период восстановления организма спортсмена после периода максимальных физических нагрузок выглядит вполне закономерным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение влияния физических нагрузок на прооксидантную систему и систему антиоксидантной защиты является актуальной задачей по причине их значительного влияния на состояние здоровья и функциональные возможности организма. В ходе проведенного исследования выявлены долговременные достоверные изменения активности глутатион-S-трансферазы и концентрации малонового диальдегида в зависимости от предшествующего уровня физических нагрузок. Установлено, что процессы восстановления организма после периода интенсивных физических нагрузок характеризуются снижением содержания МДА и увеличением активности GST, что свидетельствует о преобладании процессов репарации поврежденных структур.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 12-04-31445.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // Труды ИСА РАН. – 2006. – Т. 19. – С. 50–69.

2. Зайцев В.Г., Закревский В.И. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградской медицинской академии. – Волгоград, 1998. – Т. 54. – С. 49–53.

3. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатионтрансферазы // Успехи современной биологии. – 2000. – № 107. – С. 179–194.

4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1990. – № 1. – С. 16–17.

5. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопр. мед. химии. – 1999. – № 3. – С. 36–42.

6. Bejma J., Ji L.L. Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle // J. Appl. Physiol. – 1999. – N 87. – P. 465–470.

7. Beutler E. Red cell metabolism // A Manual of Biochem. Methods. – N.Y. – London – Tokyo, 1990. – P. 131–134.

8. Davies K.J.A., Quantanilla A.T., Brooks G.A., Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1982. – N 107. – P. 1198–1205.

9. Deminice R., Trindade C.S., Degiovanni G.C., Garlip M.R. et al. Oxidative stress biomarkers response to high intensity interval training and relation to performance in competitive swimmers // J. Sports. Med. Phys. Fitness. – 2010. – N 50 (3). – P. 356–362.

10. Djordjevic D., Cubrilo D., Macura M., Barudic N. et al. The influence of training status on oxidative stress in young male handball players // Mol. Cell. Biochem. – 2011. – N 351 (1–2). – P. 251–259.

11. Filaire E., Massart A., Portier H., Rouveix M. et al. Effect of 6 weeks of n-3 fatty-acid supplementation on oxidative stress in Judo athletes // Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab. – 2010. – N 20 (6). – P. 496–506.

12. Gomes E.C., Stone V., Florida-James G. Impact of heat and pollution on oxidative stress and CC16 secretion after 8 km run // Eur. J. Appl. Physiol. – 2011. – N 111 (9). – P. 2089–2097.

13. Higuchi M., Cartier L-J., Chen M., Holluszy J.O. Superoxidedismutase and catalase in skeletal muscle: Adaptive response to exercise. // J. Gerontol. – 1985. – N 40. – P. 281–286.
14. Jackson M.L., Edwards R.H.T., Symons M.C.R. Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle // Biochim. Biophys. – 1985. – Acta 847. – P. 185–190.
15. Ji L.L. Exercise at old age: Does it increase or alleviate oxidative stress? // Ann. N.-Y. Acad. Sci. – 2001. – N 923. – P. 236–247.
16. Ji L.L. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise // Free Radical Biol. & Med. – 2008. – N 44. – P. 142–152.
17. Knez W.L., Peake J.M. The prevalence of vitamin supplementation in ultraendurance triathletes // Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab. – 2010. – N 20 (6). – P. 507–514.
18. Ko K.M., Godin D.V. Ferric ion-induced lipid peroxidation in erythrocytes membranes effects of phytic acid and butylated hydroxytoluene // Mol. Cell Biochem. – 1990. – N 10. – P. 125–131.
19. Leewenburgh C., Fiebig R., Chandwaney R., Ji L.L. Aging and exercise training in skeletal muscle: Responses of glutathione and antioxidant enzyme systems // Am. J. Physiol. – 1994. – N 267. – P. 439–445.
20. Martinović J., Dopsaj V., Kotur-Stevuljević J., Dopsaj M. Oxidative stress biomarker monitoring in elite women volleyball athletes during a 6-week training period // J. Strength. Cond. Res. – 2011. – N 25 (5). – P. 1360–1367.
21. Martinović J., Kotur-Stevuljević J., Dopsaj V., Dopsaj M. et al. Paraoxonase activity in athletes with depleted iron stores and iron-deficient erythropoiesis // Clin. Biochem. – 2010. – N 43 (15). – P. 1225–1229.
22. McCord J.M. Stress proteins in inflammation. – L.: Richelien Press. – 1990. – P. 186.
23. Neubauer O., Reichhold S., Nics L., Hoelzl C. et al. Antioxidant responses to an acute ultra-endurance exercise: impact on DNA stability and indications for an increased need for nutritive antioxidants in the early recovery phase // Br. J. Nutr. – 2010. – N 104 (8). – P. 1129–1138.
24. Powers S.K. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle // Am. J. Physiol. – 1994. – N 266. – P. 375–380.
25. Reid M.B., Haack K.E., Franchek K.M., Valberg P.A. et al. Reactive oxygen in skeletal muscle. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro // J. Appl. Physiol. – 1992. – N 73. – P. 1797–1804.
26. Serrano E., Venegas C., Escames G., Sánchez-Muñoz C. et al. Antioxidant defense and inflammatory response in professional road cyclists during a 4-day competition // J. Sports Sci. – 2010 – N 28 (20). – P. 1047–1056.
27. Tateishi N., Wang W. Glutathione: metabolism and physiological functions // Pharmacol. Reviews. – 2001 – N 50 (3). – P. 335–355.
28. Tian Y., Nie J., Tong T.K., Baker J.S. et al. Serum oxidant and antioxidant status during early and late recovery periods following an all-out 21-km run in trained adolescent runners. // Eur. J. Appl. Physiol. – 2010. – N 110 (5). – P. 971–976.
29. Tiidus P.M., Houston M.E. Vitamin E. status does not affect the response to exercise training and acute exercise in female rats // J. Nutr. – 1993. – N 123. – P. 834–840.

Сведения об авторах

Базарин Кирилл Петрович – кандидат медицинских наук, директор Интеграционного научно-технологического центра физической культуры и спорта Сибирского федерального университета (660079, г. Красноярск, пр. Свободный, 79; тел.: 8 (391) 271-31-22; e-mail: kpbazarin@gmail.com)

Титова Надежда Митрофановна – кандидат биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета (660079, г. Красноярск, пр. Свободный, 79; e-mail: tinami@mail.ru)

Станислав Александрович Кузнецов – начальник отдел российских грантов и программ Сибирского федерального университета (660079, г. Красноярск, пр. Свободный, 79; skuznetsov@sfu-kras.ru)