

ОСТРОЕ НАРУШЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ПУРИНОВ КАК ПУСКОВОЙ МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ УТОМЛЕНИЯ У СПОРТСМЕНОВ-ПЛОВЦОВ

Корнякова В.В.¹, Конвай В.Д.²

¹ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, Россия, e-mail: rector@omsk-osma.ru;

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

Проведено биохимическое обследование высококвалифицированных спортсменов-пловцов в подготовительном периоде тренировочного процесса. Контрольную группу обследуемых составили лица, не занимающиеся спортом. Исследованы показатели пуринового обмена, активности системы антиоксидантной защиты, перекисного окисления липидов и окислительных процессов. Проведена оценка изменения данных показателей у спортсменов с признаками утомления. Показано, что в крови этих спортсменов статистически значимо изменяются показатели пуринового обмена, активности ферментов антиоксидантной защиты и состояния перекисного окисления липидов, в отличие от других групп обследованных лиц. В частности, повышено содержание урата и малонового диальдегида, снижена активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, содержание глутатиона. Катаболизм пуринов развивается в условиях интенсификации анаэробного гликолиза, гиперлактидемии и дефицита глюкозы. Данные показатели могут быть использованы для диагностики утомления у спортсменов.

Ключевые слова: кровь, спортсмены, антиоксидантная система, утомление.

ACUTE DISORDER OF PURINE METABOLISM AS HOW THE MECHANISM DEVELOPMENT OF FATIGUE IN ATHLETES SWIMMERS

Korniyakova V.V.¹, Conway V.D.²

¹Omsk State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russia, e-mail: rector@omsk-osma.ru;

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

The biochemical examination of elite athletes swimmers in the preparatory period of training process. The control group comprised subjects who are not involved in sports. Studied indicators of purine metabolism, activity of antioxidant system, lipid peroxidation and oxidation processes. Evaluation of changes of these indices in athletes with signs of fatigue. It is shown that in the blood of these athletes significantly altered indicators of purine exchange, activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation, in contrast to other groups of persons surveyed. In particular, increasing the urate and malondialdehyde, reduced activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glucose-6-phosphatedehydrogenase, the glutathione content. Catabolism purine mononucleotides develops in conditions of an intensification anaerobic glycolysis, increased lactate content and glucose deficiency in the blood. These indicators can be regarded as markers of fatigue the athletes of this group.

Keywords: blood, athletes, antioxidant system, fatigue.

Интенсивные физические нагрузки, сопровождающие профессиональные занятия спортом, часто приводят к развитию утомления, что негативно сказывается на эффективности тренировочного процесса. Механизм этого явления до конца не изучен, что лимитирует разработку новых эффективных методов как своевременного распознавания этого состояния, так и коррекции сопровождающих его метаболических нарушений. Нами было высказано предположение, что развитие утомления связано с острым нарушением метаболизма пуринов [3], впервые описанным в процессе исследования клинической смерти и развивающейся после нее пострелизационной патологии [2]. Справедливость его была в

дальнейшем подтверждена экспериментальными исследованиями, проведенными на крысах, подвергшихся принудительному плаванию с грузом [4]. Суть этого явления заключается в том, что развившийся во время гипоксии лактоацидоз способствует усиленному катаболизму пуриновых мононуклеотидов до гипоксантина. Дальнейшее окисление последнего до мочевой кислоты в результате реакций, катализируемых ксантиноксидазой, сопряжено с чрезмерной продукцией данным энзимом активных кислородных метаболитов, истощающих антиоксидантную систему и повреждающих ненасыщенные жирные кислоты мембранных структур внутренних органов [5].

Целью настоящей работы было получение доказательств того, что острое нарушение метаболизма пуринов лежит в основе развития утомления не только у крыс, но и у человека, испытывающего интенсивные физические нагрузки.

Материалы и методы исследования

В выборку вошли спортсмены мужского пола (61 чел.), занимающиеся 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. Спортсмены, которые, по данным анкетирования, спортивного анамнеза и функциональных методов исследования, не имели признаков утомления, составили первую группу испытуемых (С1), а имеющие их - вторую (С2). Контрольную группу составили 30 человек, не занимающихся спортом, того же возраста и пола (К). При проведении исследования соблюдались требования Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека».

Забор крови у спортсменов проводили натощак через 5-10 минут после завершения тренировки. В сыворотке крови определяли концентрацию молочной и мочевой кислот, глюкозы, мочевины и активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) унифицированными методами лабораторной диагностики.

В эритроцитах исследовали активность глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГлР) по С.Н. Власовой и соавт. [1], супероксиддисмутазы (СОД) по Т.В. Сирота [8], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) по Д.В. Черданцеву [9], содержание малонового диальдегида (МДА) по С.Н. Селютиной и соавт. [7] и глутатиона [6]. Для биохимического исследования крови использовали реактивы фирм «Ольвекс» (Россия), Hospitex (Швейцария, Италия), Randox (Великобритания).

Результаты исследования обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента и непараметрических методов математического анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что физические нагрузки сопровождаются усилением анаэробного гликолиза у спортсменов обеих групп, о чем свидетельствует нарастание концентрации лактата в крови. У спортсменов группы С1 она превышает аналогичный показатель в контрольной группе на 120% ($P=0,0001$), а у спортсменов группы С2 – на 173% ($P<0,0001$). При этом концентрация мочевой кислоты в первом случае не отличается от контрольного уровня. У спортсменов второй группы она превышает как аналогичный показатель в контроле (на 41,2%, $P=0,0001$), так и у спортсменов группы С1 (на 42,4%, $P=0,0001$). Можно полагать, что у последних образующаяся в мышцах молочная кислота вовлекается в печени в реакции глюконеогенеза и успешно превращается в глюкозу. Концентрация этого моносахарида у спортсменов группы С1 статистически значимо не отличается от аналогичного показателя в контроле (таблица 1).

Таблица 1

Показатели, характеризующие пуриновый обмен и окислительные процессы в крови спортсменов без признаков (С1) и с признаками (С2) утомления, и лиц, не занимающихся спортом (К), $M \pm m$

Показатели	К, n=30	С1, n=61	С2, n=20
Глюкоза, моль/л	5,22 \pm 0,17	4,74 \pm 0,10	3,79 \pm 0,24 к, С1
Лактат, ммоль/л	2,19 \pm 0,15	4,82 \pm 0,18 к	5,98 \pm 0,48 к, С1
Урат, мкмоль/л	345 \pm 12	342 \pm 7	487 \pm 20 к, С1
Мочевина, ммоль/л	5,04 \pm 0,37	5,34 \pm 0,17	5,86 \pm 0,34
АсАТ, МЕ/л	22,3 \pm 1,1	23,7 \pm 0,7	30,0 \pm 1,9 к, С1

к - различия статистически значимы по сравнению с лицами, не занимающимися спортом,

С1 - со спортсменами без признаков утомления.

Достаточная обеспеченность тканей глюкозой у спортсменов первой группы способствует достаточно эффективной генерации из нее рибозо-5-фосфата в реакциях пентозного цикла. Функционированию этого метаболического пути способствует сохранность активности его ключевого фермента - Г-6-ФДГ. Активность последней в эритроцитах спортсменов группы С1 статистически значимо не отличается от контроля. Известно, что активность данного фермента в эритроцитах коррелирует с активностью ее во внутренних органах [10].

Можно полагать, что обеспеченность тканей рибозо-5-фосфатом способствует генерации из него достаточного количества фосфорибозилдифосфата, необходимого для реутилизации гипоксантина, образующегося в процессе катаболизма пуриновых мононуклеотидов в условиях закисления тканей молочной кислотой. Уровень этого азотистого основания в тканях резко не увеличивается, что предотвращает усиленное вовлечение его в ксантиноксидазную реакцию и сопряженную с этим процессом усиленную продукцию активных кислородных метаболитов. Последние не оказывают повреждающее воздействие на ферменты антиперекисной защиты.

Активность СОД, ГПО и ГлР в эритроцитах спортсменов группы С1 статистически значимо не отличается от аналогичных показателей в контроле. Функционирование этих энзимов, наряду с сохранностью фонда глутатиона в эритроцитах, способствует инаktivации того небольшого количества активных кислородных метаболитов, которое может генерироваться ксантиноксидазой и другими их источниками. Это предотвращает чрезмерную липопероксидацию мембранных структур. Содержание малонового диальдегида в эритроцитах спортсменов группы С1 статистически значимо не отличается от уровня этого показателя в контроле (таблица 2). Свидетельством отсутствия повреждения мембранных структур клеток является также отсутствие повышения в сыворотке крови спортсменов группы С1 активности АсАТ.

Таблица 2

Показатели, характеризующие состояние антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в эритроцитах спортсменов без признаков (С1) и с признаками (С2) утомления, и лиц, не занимающихся спортом (К), $M \pm m$

Показатели	К, n=30	С1, n=65	С2, n=20
Супероксиддисмутаза, Ед СОД/мл	328 \pm 18	316 \pm 12	252 \pm 20 к, С1
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	274 \pm 16	267 \pm 8	354 \pm 29 к, С1
Глутатион, ммоль/л	1,043 \pm 0,08	0,956 \pm 0,02	0,850 \pm 0,03 к, С1
Глутатионпероксидаза, МЕ/мл	29,1 \pm 1,0	30,6 \pm 1,1	25,5 \pm 1,1 к, С1
Глутатионредуктаза, МЕ/мл	4,26 \pm 0,16	4,14 \pm 0,11	3,48 \pm 0,21 к, С1
Глюкозо-6-фосфат- дегидрогеназа, МЕ/л	99,2 \pm 7,7	94,5 \pm 4,4	71,1 \pm 8,3 к, С1

к - различия статистически значимы по сравнению с лицами, не занимающимися спортом,
С1 - со спортсменами без признаков утомления.

У спортсменов группы С2 интенсивные физические нагрузки сопровождаются более выраженной лакцидемией. Так, концентрация лактата у них на 24,1% выше, чем у спортсменов группы С1 ($P=0,041$). Развившаяся у спортсменов группы С2 гиперлактоцидемия связана, вероятно, не только с усиленной выработкой тканями молочной кислоты, но и с недостаточно эффективной реутилизацией ее в реакциях глюконеогенеза. Это является одним из факторов, способствующих снижению уровню гликемии. Концентрация глюкозы в крови спортсменов группы С2 снижена на 27,4% по сравнению с аналогичным показателем в контроле ($P=0,001$) и на 20% - у спортсменов группы С1 ($P=0,002$). Дефицит углеводов в дальнейшем является одним из факторов, способствующих чрезмерному катаболизму пуринов.

Прогрессирующий лактоацидоз приводит к усиленному катаболизму АМФ до гипоксантина. Дальнейшее превращение последнего может протекать двумя путями: 1) реутилизацией его до инозинмонофосфата и АМФ; 2) окислением до ксантина и мочевой кислоты в результате ксантиноксидазной реакции. Для реализации первого из этих путей необходим фосфорибозилдифосфат, взаимодействующий с гипоксантином в реакции, катализируемой гипоксантинфосфорибозилтрансферазой с образованием инозинмонофосфата. Последний в дальнейшем способен превращаться в АМФ. Для образования фосфорибозилдифосфата нужен рибозо-5-фосфат, генерируемый из глюкозы в реакциях пентозного цикла. Торможению последнего в условиях недостаточной обеспеченности тканей глюкозой способствует, вероятно, и снижение активности ключевого энзима этого метаболического пути – Г-6-ФДГ. В эритроцитах спортсменов группы С2 она снижена соответственно на 28,3% ($P=0,029$) и 24,8% ($P=0,022$) по сравнению с аналогичными показателями в группах К и С1.

Уровень гипоксантина в тканях в силу данных факторов увеличивается, что способствует превращению его по второму пути – окислению ксантиноксидазой до ксантина и мочевой кислоты. Уровень последней в крови спортсменов группы С2 увеличен на 41,2% по сравнению с аналогичным показателем в контроле ($P<0,0001$) и на 42,4% ($P<0,0001$) – по отношению к группе С1. Генерация этого метаболита сопряжена с усиленной выработкой ксантиноксидазой активных кислородных метаболитов. Они обезвреживаются СОД, которая при этом повреждается. Активность данного энзима в эритроцитах спортсменов группы С2 снижена соответственно на 23,2% ($P=0,025$) и 20,3% ($P=0,028$) по сравнению с аналогичными показателями в контроле и у спортсменов группы С1.

Торможение активности СОД, наряду с усиленной продукцией ксантинооксидазой активных кислородных метаболитов, является одним из факторов, приводящих к усиленной липопероксидации мембранных структур. Содержание МДА в эритроцитах спортсменов группы С2 увеличено по сравнению с уровнем этого вещества в контроле и у спортсменов группы С1 соответственно на 29,2% ($P=0,042$) и 32,6% ($P=0,003$). На повреждение мембранных структур клеток указывает нарастание в сыворотке крови активности АсАТ. Значение этого показателя в группе С2 на 34,5% выше по сравнению с контролем ($P=0,001$) и 26,6% по отношению к спортсменам группы С1 ($P=0,004$).

Чрезмерной липопероксидации мембранных структур способствует также недостаточно эффективное обезвреживание уже образовавшихся перекисей липидов, вследствие торможения активности ГПО. В эритроцитах спортсменов группы С2 она снижена на 12,4% по сравнению с контролем ($P=0,044$) и на 16,7% ($P=0,046$) по отношению к спортсменам группы С1. *In vivo* она, вероятно, тормозится и вследствие развившегося дефицита глутатиона. Содержание этого трипептида в эритроцитах спортсменов первой из названных групп снижено соответственно на 18,5% ($P=0,033$) и 11,1% ($P=0,017$) по отношению к контролю и спортсменам группы С1.

Развитие дефицита глутатиона можно связать как с усиленным вовлечением его в реакции инактивации перекисных соединений, так и с недостаточно эффективным восстановлением образующегося при этом глутатиондисульфида в реакции, катализируемой ГлР. Активность последней в эритроцитах спортсменов группы С2 снижена по отношению к аналогичному показателю в контроле и у спортсменов группы С1 соответственно на 18,3% ($P=0,024$) и 15,9% ($P=0,017$). Это может быть связано с прямым воздействием на этот энзим активных кислородных метаболитов или продуктов перекисного окисления липидов. Торможение ГлР возможно и вследствие недостаточной обеспеченности данного энзима НАДФН₂, генерируемого из глюкозы в реакциях пентозного цикла. Торможение этого метаболического пути вследствие развившегося дефицита глюкозы и торможение активности Г-6-ФДГ было отмечено нами выше.

Заключение

Таким образом, интенсивные физические нагрузки у спортсменов, имеющих признаки утомления, приводят к интенсификации анаэробного гликолиза, с последующим развитием дефицита углеводов и лактоацидоза, инициирующих усиленный катаболизм пуринов до урата. Это сопровождается активацией процессов свободнорадикального окисления в клетках с последующей деструкцией их мембран образующимися активными кислородными метаболитами, угнетением компонентов антиоксидантной системы и ферментов пентозного

цикла. Эти явления лежат в основе функциональных нарушений, ведущих к снижению эффективности тренировочного процесса.

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. Киреев М.М. Нуклеотидный фонд головного мозга в различные периоды умирания организма / М.М. Киреев, В.Д. Конвай // Вопр. мед. химии. - 1978. - Вып. 5. – С. 629–632.
3. Конвай В.Д. Роль острого нарушения метаболизма пуринов в развитии постренимационной патологии печени / В.Д. Конвай, П.П. Золин // Омск. научн. вестн. - 2003. - № 3. – С. 168–172.
4. Корнякова В.В. Роль нарушения метаболизма пуринов в повреждении кардиомиоцитов крыс при физических нагрузках / В.В. Корнякова, В.Д. Конвай // Омский научный вестник. - 2012. - № 1 (108). – С. 96-99.
5. Корнякова В.В. Нарушение пуринового обмена в кардиомиоцитах крыс при интенсивных физических нагрузках и его коррекция селенитом натрия / В.В. Корнякова, В.Д. Конвай // Омский научный вестник. – 2013. - № 1 (118). – С. 163-165.
6. Костромитиков Н.А., Суменков Е.А. Определение глутатиона фотоколориметрическим методом исследования // Вестн. РАСХН. - 2005. - № 5. - С. 69-70.
7. Селютина С.Н., Селютин А.Ю., Паль А.И. Модификация определения концентрации ТБК-активных продуктов сыворотки крови // Клин. лаб. диагн. - 2000. - № 2. - С. 8-10.
8. 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.
9. Черданцев Д.В. Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите. – Красноярск : АРТЭ, 2002. – 148 с.
10. Чигринский Е.А. Антиоксидантная система семенников крыс при физических нагрузках разной интенсивности : автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Омск, 2010. – 24 с.

Рецензенты:

Степанова И.П., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой химии ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Омск;

Кудря О.Н., д.б.н, доцент, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный университет физической культуры и спорта», г. Омск.