УДК 616-006.6-07:618.11-006-07

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И БАКТЕРИЦИДНАЯ СИСТЕМА НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Величко Т.И.

ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет», Самара, Россия (443011, Самара, ул. Ак. Павлова, 1),e-mail: tivelichko@mail.ru

В статье констатируется, что под действием стрессорных факторов, одним из которых является физическая нагрузка, усиливается интенсивность перекисных процессов, происходит изменение защитной реакции организма и метаболической активности нейтрофилов крови. Исследования биохимических и цитохимических параметров дают важную информацию о влиянии спортивной тренировки на состояние различных систем организма спортсмена и состоянии его здоровья. Установлено наличие корреляционных связей между уровнем функционирования системы ПОЛ-АО и функциональным состоянием нейтрофильных гранулоцитов, а также установлено, что у юношей пловцов уровня первого разряда и КМС состояние нейтрофилов, важных элементов бактерицидной системы крови, значимо отличается от таковой у не занимающихся спортом того же возраста и пола.

Ключевые слова: нейтрофилы, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, спортсмены, периоды тренировочного цикла.

FREE-RADICAL PROCESSES AND BACTERICIDAL SYSTEM OF NEUTROPHILS IN THE PERIPHERAL BLOOD DURING EXERCISE

Velichko T.I.

FSBEI HPE «Samara State University», Samara, Russia (443011, Samara, Ac. Pavlov st., 1), e-mail: tivelichko@mail.ru

The article states that under the action of stress factors, one of which is physical activity, increases the intensity of peroxidation processes, there is a change in the protective reaction of the organism and the metabolic activity of blood neutrophils. Research on the biochemical and cytochemical parameters provide important information on the effect of athletic training on the status of the various systems of the athlete's body and his health. The presence of correlation between the level of functioning of the system of POL-AO and functional status of neutrophils, and also found that boys swimmers who have the level of the first category and the CMS, the status of neutrophils, which are important elements of bactericidal blood system, significantly different from those who didn't involve in sports at the same age and sex.

Keywords: neutrophils, lipid peroxidation, antioxidants, athletes training cycle periods

В основе достижения спортивного результата лежат адаптационные процессы, происходящие в организме. Физическая нагрузка может быть одним из факторов, повышающих интенсивность ПОЛ. На сегодня установлено, что определяющим является не столько уровень ПОЛ, сколько состояние системы «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» (ПОЛ-АО) в организме, определяющей возможности развития дезадаптационных расстройств и возникновение патологий.

Дестабилизация гомеостаза вне зависимости от источника возмущения сопровождается изменением количества и функциональной активности нейтрофилов (Нф) периферической крови, что рассматривается как один из универсальных экстренных механизмов реакции организма на нарушение постоянства внутренней среды.

Спортивная тренировка, существенно изменяется в течение годичного цикла подготовки в соответствии с задачами конкретного периода. Исследования биохимических и

цитохимических параметров дают важную информацию о влиянии спортивной тренировки на состояние различных систем организма спортсмена, состоянии здоровья, а также о физиологических механизмах оздоровительного эффекта физической тренировки.

Цель исследования – оценка свободнорадикальных процессов и бактерицидной системы нейтрофиловпериферической крови при физических нагрузках.

Материал и методы исследования

В группу обследования входили студенты, спортсмены (КМС, I разряд) пловцы мужского пола, в возрасте 18 – 21 года. Контрольную группу составили юноши того же возраста, занимающиеся физической культурой только в рамках вузовской программы. Схемы круглогодичной тренировки у спортсменов строились с учетом теории периодизации спортивной тренировки в течение года и включали подготовительный, соревновательный и восстановительный периоды. При обследовании были использованы цитохимические методики определения в Нф уровня миелопероксидазы (МПО) [3], содержание катионных белков (КБ) [7], уровень кислой фосфатазы (КФ) [8] и щелочной фосфатазы (ЩФ) [9]. Биохимический метод был использован для определения уровня ПОЛ-АО по содержанию малоновогодиальдегида (МДА) [1] и активности каталазы [3] в плазме крови и эритроцитах. Уровень физической работоспособности определяли с помощью пробы PWC_{170} и максимального потребления кислорода (МПК) [4]. Статистическая обработка данных производилась методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, статистически достоверными считались данные при $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$.

Для выявления взаимосвязи между уровнем физической работоспособности, уровнем функционирования системы ПОЛ-АО и компонентами бактерицидных систем Нф был проведен корреляционный анализ полученных данных с помощью компьютерной программы математического анализа «SPSSStatistics 17.0».

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение динамики уровня МДА в плазме крови и эритроцитах в группе пловцов позволило установить волнообразную динамику его подъема и спада в различные периоды подготовки. Максимальный показатель в соревновательном периоде – в плазме крови 3,56±1,431 мкмоль/л и в эритроцитах 568,66±43,634 мкмоль/л; минимальный в восстановительном периоде – в плазме крови 2,47±0,16 мкмоль/л и в эритроцитах 219,15±11,762 мкмоль/л.

Уровень МДА в плазме крови у пловцов статистически значимо был снижен по сравнению с контролем в подготовительном и соревновательном периоде (2,76±0,221 мкмоль/л и 3,56±1,431 мкмоль/л соответственно против 4,49±0,632 мкмоль/л в контроле,

p<0,001). В восстановительный период уровень МДА у пловцов не отличался от такового в контрольной группе.

Уровень МДА в эритроцитах является информативным показателем интенсивности процессов свободнорадикального окисления в мембранах клетки. Уровень МДА в эритроцитах пловцов в подготовительном, соревновательном и восстановительном периодах существенно и значимо ниже такового в контроле (p<0,001).

Антиоксидантная защита тормозит свободнорадикальное окисление липидов. Динамика активности каталазы в плазме крови пловцов без резких скачков, в эритроцитах – показывает большой скачек в соревновательном периоде, в остальных периодах показатели близки.

При анализе активности каталазы плазмы крови было установлено, что уровень этого фермента, метаболизирующего перекись водорода, у пловцов несколько снижен в подготовительном периоде (0,05±0,012ммоль/мин/л против 0,1±0,02 ммоль/мин/л в контроле, p<0,02) и существенно повышен у пловцов в соревновательном и восстановительном периоде (0,14±0,012 ммоль/мин/л против 0,1±0,02 ммоль/мин/л в контроле, p<0,05 и 0,08±0,022 ммоль/мин/л против 0,05±0,014 ммоль/мин/л в контроле соответственно).

Активность каталазы в эритроцитах пловцов в подготовительном периоде резко снижена (3,1±0,63 ммоль/мин/л против 9,9±1,69 ммоль/мин/л, p<0,001). В соревновательном периоде, напротив, имеет место, резко выраженное и статистически значимое повышение активности каталазы в эритроцитах пловцов по сравнению с контролем (22,2±1,87 ммоль/мин/л против 9,9±1,69 ммоль/мин/л, p<0,001).В восстановительном периодеактивность каталазы эритроцитов пловцов значимо не отличается от такой в эритроцитах контрольной группы.

МПО относится к классу окислительно-восстановительных ферментов и позволяет судить о кислородзависимой бактерицидной активности Нф. Уровень КБ характеризует кислороднезависимую цитотоксичность Нф. ЩФ и КФ – гидролитические ферменты специфических гранул, принимающее активное участие в анаэробном метаболизме, а также ответственны за переваривание убитых клеток и других остатков, поглощенных Нф.

Считается, что циркулирующие Нф у спортсменов характеризуются увеличением спонтанной продукции кислородных радикалов [2, 6], а лейкоцитарная секреция свободных радикалов является фактором индукции ПОЛ [5]. Таким образом, уровень ПОЛ в периферической крови, с одной стороны, возможно, определяется активностью Нф, с другой стороны, ПОЛ – опосредованная стимуляция клиринговой программы Нф, которая в купе с моноцитами уменьшает вероятность контакта антигенов с лимфоидными клетками и снижает выраженность гуморального иммунного ответа [5].

В периферической крови экспериментальной группы юношей-пловцов наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз. Увеличение Нф в крови говорит об усилении иммунной реакции при воздействии физической нагрузки. Абсолютное количество Нф периферической крови сохранилось на уровне контроля только в подготовительный период; во все остальные периоды годичного цикла абсолютное количество Нф статистически значимо превышало таковое в контрольной группе ($p<0,01$). Относительное количество Нф было также статистически значимо повышено по сравнению с контрольной группой в восстановительном периоде ($p<0,05$). В соревновательный период относительное количество Нф было статистически значимо ниже, чем в контроле ($p<0,001$).

В подготовительном и соревновательном периоде уровень МПО у пловцов статистически значимо выше уровня МПО Нф контрольной группы (2,01±0,132 СЦК и 1,38±0,093 СЦК против 1,13±0,122 СЦК в контроле, $p<0,001$, $p<0,05$). В восстановительном периоде активность фермента в Нф пловцов значимо ниже, чем в Нф контрольной группы (1,72±0,014 СЦК против 2,47±0,053 СЦК в контроле, $p<0,001$).

Уровень КБ в подготовительном и соревновательном периодах пловцов существенно и статистически значимо превышает таковой в Нф контрольной группы ($p<0,05$, $p<0,001$). В восстановительный период уровень КБ, напротив, оказывается резко снижен в сравнении с аналогичным показателем контроля (1,41±0,042 СЦК против 1,95±0,051 СЦК в контроле, $p<0,001$).

Уровень КФ у пловцов снижен во все периоды годичного цикла; уровень активности ЩФ повышается только в восстановительном периоде ($p<0,001$), в остальные периоды ЩФ находится на уровне контроля. Динамика КФ и ЩФ у пловцов, вероятно, может свидетельствовать о возможности наличия незавершенного фагоцитоза Нф периферической крови.

В результате проведенных исследований установлены корреляционные связи между уровнем функционирования системы ПОЛ-АО и компонентами бактерицидных систем Нф у юношей пловцов в подготовительном, соревновательном и восстановительном периодах (табл. 1, 2, 3).

Таблица 1

Корреляционные связи по Спирмену у пловцов в подготовительном периоде

Корреляция по Спирмену - пловцы, подготовительный период												
	МПО	**КБ**	**ЩФ**	**КФ**	**МПК**	**Каталаза плазма**	**Каталаза эритроциты**	**МДА плазма**	**МДА эритроциты**	**Абс. Нф**	**Отн. Нф**	**PWC**
МПО	1	-0,358	0,128	-0,111	-0,022	0,301	-0,261	,453*	,429*	0,026	-,469*	-0,154
КБ	-0,358	1	-0,311	0,061	0,004	-0,314	,519*	-,577**	-,746**	-0,183	0,147	-0,039
ЩФ	0,128	-0,311	1	0,069	0,027	,438*	-0,183	0,325	0,296	0,085	0,052	0,059
КФ	-0,111	0,061	0,069	1	-0,15	0,298	0,143	0,019	-0,225	-0,186	-0,217	-0,032

МПК	-0,022	0,004	0,027	-0,15	1	0,124	0,016	0,21	0,175	0,209	0,407	0,072
Каталаза плазма	0,301	-0,314	,438*	0,298	0,124	1	-,434*	,549**	,538**	-0,082	-0,414	0,167
Каталаза эрит.	-0,261	,519*	-0,183	0,143	0,016	-,434*	1	-,573**	-,527*	-0,102	0,138	-0,121
МДА плазма	,453*	-,577**	0,325	0,019	0,21	,549**	-,573**	1	,765**	-0,09	-0,166	0,139
МДА эрит.	,429*	-,746**	0,296	-0,225	0,175	,538**	-,527*	,765**	1	0,085	-0,232	0,127
Абс. Нф	0,026	-0,183	0,085	-0,186	0,209	-0,082	-0,102	-0,09	0,085	1	,498*	-0,085
Отн. Нф	-,469*	0,147	0,052	-0,217	0,407	-0,414	0,138	-0,166	-0,232	,498*	1	-0,083
PWC		-0,039	0,059	-0,032	0,072	0,167	-0,121	0,139	0,127	-0,085	-0,083	1

**Корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторон.).
*Корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторон.).

Таблица 2

Корреляционные связи по Спирмену у пловцов в соревновательном периоде

Корреляция по Спирмену – пловцы, соревновательный период												
	МПО	**КБ**	**ЩФ**	**КФ**	**МПК**	**Каталаза плазма**	**Каталаза эритроциты**	**МДА плазма**	**МДА эритроциты**	**Абс. Нф**	**Отн. Нф**	**PWC**
МПО	1	,766**	,776**	,615**	-0,111	-0,235	,674**	0,15	-0,235	-0,073	-,673**	-0,105
КБ	,766**	1	,709**	,721**	-0,233	-0,289	,692**	0,207	-0,183	-0,181	-,688**	0,04
ЩФ	,776**	,709**	1	,731**	-0,067	-0,185	,650**	0,138	-0,21	0,015	-,626**	0,174
КФ	,615**	,721**	,731**	1	-0,008	-0,275	,692**	,441*	-0,159	-,457*	-,667**	0,117
МПК	-0,111	-0,233	-0,067	-0,008	1	0,022	-0,003	-0,052	-0,065	-0,157	0,094	-0,268
Каталаза плазма	-0,235	-0,289	-0,185	-0,275	0,022	1	-0,279	0,229	-0,164	0,031	0,134	-0,256
Каталаза эрит.	,674**	,692**	,650**	,692**	-0,003	-0,279	1	0,247	-0,408	-0,151	-,548**	0,106
МДА плазма	0,15	0,207	0,138	,441*	-0,052	0,229	0,247	1	-0,314	-,443*	-,449*	0,065
МДА эрит.	-0,235	-0,183	-0,21	-0,159	-0,065	-0,164	-0,408	-0,314	1	-0,093	-0,012	0,038
Абс. Нф	-0,073	-0,181	0,015	-,457*	-0,157	0,031	-0,151	-,443*	-0,093	1	,571**	0,164
Отн. Нф	-,673**	-,688**	-,626**	-,667**	0,094	0,134	-,548**	-,449*	-0,012	,571**	1	0,034
PWC	-0,105	0,04	0,174	0,117	-0,268	-0,256	0,106	0,065	0,038	0,164	0,034	1

**Корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторон.).
* Корреляция начима на уровне 0.05 (2-сторон.).

Таблица 3

Корреляционные связи по Спирмену у пловцов в восстановительном периоде

Корреляция по Спирмену - пловцы, восстановительныйпериод												
	МПО	**КБ**	**ЩФ**	**КФ**	**МПК**	**Каталаза плазма**	**Каталаза эритроциты**	**МДАплазма**	**МДАэритроциты**	**Абс. Нф**	**Отн. Нф**	**PWC**
МПО	1	,751**	0,175	-0,309	0,095	0,052	-,504*	0,066	-,536*	-,709**	-,555*	0,032
КБ	,751**	1	,458*	-0,289	0,057	0,025	-,598**	0,002	-,883**	-,527*	-,692**	-0,141
ЩФ	0,175	,458*	1	0,279	0,156	0,185	-0,284	0,118	-,512*	-0,302	-0,289	0,223
КФ	-0,309	-0,289	0,279	1	0,069	0,225	0,273	-0,205	0,149	0,132	0,133	,453*
МПК	0,095	0,057	0,156	0,069	1	0,018	-0,289	0,053	0,14	0,106	0,101	-0,162
Каталаза плазма	0,052	0,025	0,185	0,225	0,018	1	-0,078	0,361	-0,051	-0,054	-0,159	-0,012
Каталаза эрит.	-,504*	-,598**	-0,284	0,273	-0,289	-0,078	1	-0,185	0,425	0,265	0,228	0,239
МДАплазма	0,066	0,002	0,118	-0,205	0,053	0,361	-0,185	1	-0,111	0,242	-0,039	-0,271
МДАэрит.	-,536*	-,883**	-,512*	0,149	0,14	-0,051	0,425	-0,111	1	0,401	,635**	0,039
Абс. Нф	-,709**	-,527*	-0,302	0,132	0,106	-0,054	0,265	0,242	0,401	1	,616**	-0,217
Отн. Нф	-,555*	-,692**	-0,289	0,133	0,101	-0,159	0,228	-0,039	,635**	,616**	1	0,175
PWC	0,032	-0,141	0,223	,453*	-0,162	-0,012	0,239	-0,271	0,039	-0,217	0,175	1

**Корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторон.).
*Корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторон.).

У пловцов выражены корреляционные связи иммунной системы и системы ПОЛ-АО во всех периодах подготовки. Можно утверждать, что при физическом и эмоциональном напряжении в соревновательном периоде у пловцов, происходят максимальные функциональные изменения в иммунных показателях и окислительно-восстановительной системы, отвечающие за сохранение здоровья.

Взаимосвязь МПО и КБ у пловцов в соревновательном и восстановительном периодах характеризует антибактериальную эффективность лейкоцитов.

Антиоксидантная защита, представленная каталазой в плазме крови и эритроцитах имеет корреляционные связи в подготовительном и соревновательном периодах, в восстановительном периоде у спортсменов только связь в эритроцитах с иммунной системой.

Существует мнение, что отрицательные корреляции, регистрируемые между активностью МПО и уровнем МДА как в плазме крови, так и в эритроцитах, могут отражать окислительную деструкцию гидроперекисей жирных кислот в присутствии свободных радикалов, секретируемых Нф.

Выводы

Функциональное состояние бактерицидной системы нейтрофилов периферической крови у пловцов зависит от периода подготовки, так, в подготовительном и соревновательном периодах повышаются их аэробная и анаэробная бактерицидная активность.

Анализ динамики функционирования системы ПОЛ-АО в эритроцитах периферической крови у пловцов позволил выявить выраженное разнонаправленное изменение этих показателей в соревновательном периоде, что может свидетельствовать о возможности возникновения оксидативного стресса.

Результаты оценки корреляционных взаимодействий метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов с уровнем МДА у пловцов, дают основания предполагать, что МДА может отражать способность Нф к фагоцитозу, а АОС представленная каталазой, ускоряющая процесс адаптации, повышает неспецифическую резистентность организма в зависимости от тренировочного периода на различных этапах годичного цикла.

Список литературы

1. Андреева Л.И. и др. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб.Дело. – 1988. – №11. – С.86-89.

2. Дятлов Д.А. Изменения функционального статуса и циркулирующих фагоцитов как критерий риска развития респираторных инфекций у спортсменов-лыжников / Д.А. Дятлов, И.А. Волчегорский, Е.Д. Пушкарев // Иммунология. – 1988. – № 5. – С. 59 – 61.
3. Карпищенко А.И. Медицинские и лабораторные технологии и диагностика. - СПб: Интермедика,1999. – 656 с.
4. Карпман В.Л. Тестирование в спортивной медицине / В.Л. Карпман, З.Б. Белоцерковский, И.А. Гудков. – М.: Физкультура и спорт, 1988. – 208 с.
5. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1989. – 254 с.
6. Павлинский С.Л. Роль лейкоцитарного звена в активации процессов перекисного окисления липидов в организме / С.Л. Павлинский, П.В. Пигаревский, В.Н. Загольская // Физиология человека. – 1997. – Т. 25, № 5. – С. 99 – 104.
7. Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. –1974. – Т.16. – № 10. – С.1321–1322.
8. Шубич М.Г. О неспецифичности цитохимического выявления кислой фосфатазы в нейтрофильных лейкоцитах // Лаб.Дело. – 1980. – № 3. – С.150–154.
9. Шубич М.Г. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии. – М.: Медицина, 1980. – 224 с.

Рецензенты:

Якунин В.Е., д.м.н., профессор ФГБОУ ВПО «Тольяттинский государственный университет», г. Тольятти;

Кретова И.Г., д.м.н., профессор ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет», г. Самара.