DOI: 10.17117/na.2016.11.02.442

<http://ucom.ru/doc/na.2016.11.02.442.pdf>

Поступила (Received): 02.11.2016

Алиев С.А., Гасанова А.К., Алибекова С.С. Изменение содержания тиоловых групп в организме крыс, подвергшихся физической нагрузке

Aliev S.A., Hasanova A.K., Alibekova S.S.
Change of the content thiol groups in rat muscles
under the action of exercise training

В работе показаны аспекты оксидант-антиоксидантных взаимоотношений в клетках скелетных мышц (красной и белой), сердце и печени крыс. Антиоксидантная система представлена в виде цитозольных сульфгидрильных групп. Тренировке подвергались 6 месячные крысы в течении 4 недель 5 дней по 30 минут. В представленной работе показаны результаты и обсуждено влияние нагрузки на свободнорадикальные процессы

Ключевые слова: скелетные мышцы, тиолы, сульфгидрильные группы, физическая нагрузка, адаптация

Алиев Саадат Абдулла оглы

Кандидат биологических наук, доцент
Азербайджанская государственная академия
физической культуры и спорта
Азербайджан, г. Баку, пр. Ф.Х. Хойского, 98

Гасанова Арзу Карам гызы

Кандидат биологических наук, доцент
Азербайджанская государственная академия
физической культуры и спорта
Азербайджан, г. Баку, пр. Ф.Х. Хойского, 98

Алибекова Самира Саадат гызы

Преподаватель
Азербайджанская государственная академия
физической культуры и спорта
Азербайджан, г. Баку, пр. Ф.Х. Хойского, 98

Antioxidant index as total cytozol sulfhydryl groups content in rat skeletal muscles (red and white muscles), heart and liver under endurance exercise training was studied. The results showed that four-week chronic exercise training (running with velocity of 15 m/min, 30 min/day, 5 days/wk) induced essential changes in thiol index only in skeletal muscles than in heart and liver on the whole. Presented results have been discussed from the point of view of free radical nature of exercise effect for skeletal muscles and other organs

Key words: skeletal muscles, thiol, antioxidants, exercise, SH groups

Aliyev Saadat Abdulla

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
Azerbaijan state academy of physical culture and sport
Azerbaijan, Baku, F.X. Xoyski ave., 98

Hasanova Arzu Karam

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
Azerbaijan state academy of physical culture and sport
Azerbaijan, Baku, F.X. Xoyski ave., 98

Alibekova Samira Saadat

Teacher
Azerbaijan state academy of physical culture and sport
Azerbaijan, Baku, F.X. Xoyski ave., 98

Высшие организмы обладают удивительно эффективной антиоксидантной системой (АОС) защиты, которая развивалась в течение длительной эволюции. Вероятность окислительного повреждения клеточных структур в целом и

при действии физических нагрузок, в частности, определяется не только уровнем производства свободных радикалов, но и емкостью антиоксидантной защиты. До последнего времени важность антиоксидантов связывалась с болезненными, патологическими состояниями организма. До сих пор мы не имеем достаточных знаний о том, как каждый антиоксидант ведет себя под влиянием физической нагрузки. Эти знания важны для того, чтобы правильно оценить адекватность защиты против оксидативно-повреждающего действия физических нагрузок, а также, что тоже очень важно, для возможности модификации антиоксидантной защиты путем диетических манипуляций, добавок.

В последние годы в литературе важным предметом дискуссий являются вопросы чем объясняются изменения активности антиоксидантных ферментов в ответ на острые физические нагрузки? Под «изменениями», конечно, чаще всего имеется ввиду повышение активности ферментов, что не всегда имеет место под действием физических нагрузок. Связано ли повышение активности ферментов активацией экспрессии соответствующего гена под действием физических нагрузок? Для выяснения этих вопросов необходимо осуществление молекулярно-биологических исследований отдельных ферментов на уровне экспрессии генов, отдельных стадий синтеза белка в тканях, в частности, скелетных мышцах подверженных действию физической нагрузки.

Вопросы, касающиеся роли оксидативных процессов в осуществлении и регуляции мышечной деятельности находятся в центре внимания исследователей, и все направления исследований являются актуальными как с точки зрения свободнорадикальной биологии, так и фундаментальных и прикладных аспектов биохимии и физиологии спортивных упражнений. Имеются ввиду исследования индуцируемых физическими нагрузками источники свободных радикалов, механизмов и особенностей развития свободнорадикальных процессов, в частности, реакций перекисного окисления липидов, механизмов антиоксидантной защиты и её адаптивных возможностей при действии хронических физических нагрузок, использования про- и антиоксидантных показателей как критериев для оценки физической работоспособности и многих других сторон проблемы. Наши исследования проводимые на экспериментальных животных, подвергаемых физическим нагрузкам в идентичных условиях, охватывали одновременно различные органы с различными окислительными особенностями метаболизма, включающие скелетные мышцы, сердечную мышцу и печень, с параллельными измерениями в них активностей различных антиоксидантных ферментов и интенсивности ПОЛ, что, на наш взгляд, снимет возможные противоречия в интерпретации наших и существующих в литературе данных.

Так как изучение свободнорадикальных процессов в организме и антиоксидантной системы защиты находится в центре внимания исследователей, требует двустороннего рассмотрения уже давно. С одной стороны, это есть выяснение характера оксидантообразования, его инициаторов и условий распространения, с другой – оценка антиоксидантных защитных механизмов, изучение их возможностей адаптироваться к изменяющимся условиям оксидантообразования, в случае мышечной деятельности, под действием физических нагрузок,

учитывая, что адаптация мышц к физическим нагрузкам происходит при непосредственном участии этой системы. Усиление метаболических процессов при интенсивных физических нагрузках приводит к повышенному потреблению кислорода двигательными мышцами, миокардом и другими органами, что создает условия для интенсификации свободнорадикальных процессов. Антиоксидантная защитная система представляет жизненную необходимость в борьбе против оксидативного стресса. На основе собственных результатов с привлечением соответствующих данных литературы, мы констатируем участие антиоксидантных элементов скелетных мышц и других органов в адаптивных процессах, связанных с регулярными физическими упражнениями, как на уровне общей редуцирующей способности клетки, так и ферментной защиты от активных форм кислорода и различных радикальных соединений, появляющихся в результате взаимодействия АФК с различными компонентами клетки. Эти антиоксидантные показатели претерпевают тканеспецифичные адаптивные изменения, которые также чувствительны к особенностям энергетического метаболизма, и облегчают защиту скелетных мышц от повреждающего действия окислительного стресса, вызванного физическими нагрузками.

В наших предыдущих исследованиях изучались и были выявлены особенности процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность некоторых антиоксидантных ферментов мышц и других органов при действии физических нагрузок [2, 3]. Опираясь на результаты этих исследований, можно утверждать, что хронические физические нагрузки обуславливают усиление продукции АФК (активных форм кислорода) и модификацию течения свободнорадикальных процессов в скелетных мышцах и других органах, которое выражается в адаптивных изменениях уровня ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной защиты. Характер же изменений про- и анти-оксидантных показателей в мышцах зависит от типа энергообеспечения. Уровень ПОЛ тесно связан с содержанием эндогенных тиолов в тканях. SH-содержащие соединения в первую очередь подвергаются окислению под действием продуктов ПОЛ, тем самым предохраняя от окисления другие функциональные группы и молекулы. Физические упражнения, обуславливающие усиление продукции активных форм кислорода (АФК) и модификацию течения ПОЛ, также будут факторами, влияющими на тиоловое содержание в скелетных мышцах и других органах. Чтобы выяснить, влияют ли хронические физические нагрузки на уровень тиолового содержания мышц и печени и как отличается реакция сульфгидрильной редуцирующей среды скелетных и сердечной мышц и печени на физическую нагрузку у нетренированного и тренированного организмов, мы исследовали содержание SH-групп, представляющих собой сумму свободных низкомолекулярных тиолов (глутатион и др.) и находящихся на поверхности белков SH-групп (измеряемое содержание тиолов мы будем называть общим цитозольным), в белой, красной скелетных мышцах, сердечной мышце и печени у крыс под воздействием хронических и острых физических нагрузок [1, 2, 3].

Эксперименты проводились на 6-месячных белых крысах. Животные произвольно разделялись в 2 группы: одна группа ежедневно подвергалась беговой нагрузке в барабане с диаметром 44 см при режиме вращения со скоростью 15

м/мин в течение 30 мин. Тренировки продолжались в течение 4-х недель, по 5 дней в неделю. Однократная физическая нагрузка давалась путем бега в барабане со скоростью 15 м/мин в течение 20 мин. Группа животных, не получавших тренировочные нагрузки, 1 раз в неделю подвергалась бегу в барабане в течение 10 минут для обучения бегу в экспериментальных условиях. Через сутки после окончания тренировочных нагрузок половина из нетренированных и половина из тренированных животных подвергались однократной нагрузке, сразу после этого производились декапитация всех животных и выделение тканей.

Исследовались икроножная мышца (*m.gastrocnemius*), её белая и красная части, соответственно как быстрый гликолитический и медленный оксидативный типы волокон, сердце и печень. Содержание сульфгидрильных групп определяли по модифицированной методике Lindsey-Sedlak, основанной на методе Ellman [12]. Общие цитозольные сульфгидрильные группы (другими словами, легкодоступные сульфгидрильные группы), представляющие собой сумму сульфгидрильных групп глутатиона и других низкомолекулярных тиолов вместе поверхностно расположенными белковыми сульфгидрильными группами определяли в 10% суспензии тканей в 10 мМ натрий-фосфатном буфере с 0,001 М ЭДТА (pH 8,0) с добавлением 10 мкл реактива Ellman к 100 мкл гомогената. Концентрация белка определялась по методу Бредфорда. Статистическая достоверность сравнений между показателями различных групп (из 5 животных) оценивалась по t-критерию Стьюдента, в отдельных случаях использовался непараметрический U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты экспериментов по измерению содержания сульфгидрильных групп для контрольных нетренированных и тренированных в течение 4-х недель хроническими физическими нагрузками показали, что распределение концентрации общих цитозольных SH-групп неравномерно по изучаемым тканям. Максимальное содержание общих цитозольных SH-групп у обычных контрольных крыс в состоянии покоя среди тканей наблюдается в белой мышце ($86,6 \pm 11,5$ нмоль/мг белка), минимальное в печени ($49,8 \pm 7,8$ нмоль/мг белка). В оксидативной красной мышце и сердечной мышце содержание измеряемых тиолов практически одинаково и оно немного превышает их содержание в печени; со статистической точки зрения значения содержания общих цитозольных SH-групп в последних трех тканях достоверного различия мы не обнаруживаем, $p > 0,05$.

У крыс, получивших регулярные хронические физические нагрузки, в состоянии покоя содержание SH-групп в скелетных мышцах существенно снижены по отношению к нетренированным животным. В белой мышце наблюдается достоверное уменьшение содержания SH-групп на 38,9% ($p < 0,05$), а в красной мышце – на 34,8% ($p < 0,05$). У нетренированных животных в скелетных мышцах мы наблюдаем различную реакцию на однократную физическую нагрузку. Последняя приводит к уменьшению содержания SH-групп в белой мышце на 58% ($p < 0,01$), а в красной мышце под действием такой же нагрузки содержание этих тиолов увеличивается в более чем 2 раза ($p < 0,01$).

Мы обнаружили эффект тренировочных нагрузок, на реакции скелетных мышц на однократную нагрузку по тиоловому показателю и он выглядит

следующим образом: в белой мышце характер изменения содержания SH-групп у тренированных крыс под действием нагрузки остается, т.е. этот показатель так же, как у нетренированных животных уменьшается, однако степень уменьшения становится умеренной (всего 17%), хотя степень достоверности этого изменения не высока, уровень доверия не меньше 0,05. В красной же мышце наблюдается совсем другая картина: в отличие от нетренированных животных в этой мышце у тренированных животных однократная нагрузка вызывает достоверное уменьшение содержания SH-групп. Уменьшение составляет около 50% ($p < 0,05$). Таким образом, в гликолитической мышце в результате тренировок реакция содержания SH-групп на физическую нагрузку практически исчезает, остается небольшое снижение данного показателя, а в оксидативной мышце реакция становится более умеренной.

В сердечной мышце под действием хронических тренировочных нагрузок в содержании общих цитозольных SH-групп достоверных изменений не обнаружено, у тренированных животных в состоянии покоя такой же уровень данного тиолового показателя, что и у нетренированных. Однократная нагрузка также не приводит к каким-либо существенным изменениям в содержании SH-групп в сердечной мышце у нетренированных крыс. Только у тренированных крыс мы обнаружили некоторое уменьшение содержания SH-групп в сердце после физической нагрузки; уменьшение составило около 18% при уровне значимости чуть большей, чем принято для достоверных различий 95%-ной вероятностью. В отличие от скелетных мышц, сердечная мышца оказывается более стабильной по содержанию SH-групп клеточной среды при воздействии различных физических нагрузок на организм.

Печень у крыс проявляет специфичную реакцию по содержанию общих цитозольных SH-групп на регулярные тренировочные нагрузки; в состоянии покоя у тренированных крыс содержание SH-групп в печени значительно превышает содержание в печени нетренированных крыс. Превышение составляет 83% при $p < 0,05$. Отметим, что рост содержания SH-групп в результате хронических нагрузок имеет место только в печени, в скелетных мышцах наблюдается снижение, а в сердце изменений нет. У нетренированных животных под действием однократной нагрузки в печени наблюдается уменьшение содержания SH-групп на 31% ($p < 0,05$). Такой же характер изменений содержания SH-групп в ответ на физическую нагрузку сохраняется и у тренированного организма; здесь также наблюдается уменьшение содержания SH-групп печени (на 37%, $p < 0,05$) после нагрузки. Интересно, что наибольший уровень содержания общих цитозольных SH-групп у тренированных крыс в состоянии покоя соответствует печени ($91,2 \pm 13,6$ нмоль/мг белка). Пропорции снижения этого тиолового показателя в печени, вызванного однократной физической нагрузкой у нетренированных и тренированных крыс практически одинаковы.

Полученные данные указывают на то, что эффект тренировочных физических нагрузок больше отражается на показателе содержания общих цитозольных SH-групп скелетных мышц, чем сердечной мышцы и печени. Опыты показывают, что по этому показателю реакция исследуемых тканей на однократную

нагрузку с тренировкой становится более умеренной, но характер изменений остается; исключение составляет красная мышца.

Как было отмечено выше, в скелетных мышцах и других органах регулярные физические нагрузки приводят к адаптивным изменениям уровня ПОЛ в состоянии покоя и в результате появляется тканеспецифичная реакция на однократную нагрузку. Снижение уровня общих цитозольных тиолов в покое скелетных мышцах при длительных тренировочных нагрузках согласуется с низкими уровнями продуктов ПОЛ в этих же мышцах. С другой стороны эти же данные находят свое подтверждение в результатах наших исследований активности фермента глутатионредуктазы в тех же скелетных мышцах [3]; низкая по отношению к нетренированным животным у тренированных животных активность этого фермента, который катализирует восстановление окисленного глутатиона, составляющего основную часть легкодоступных тиолов, свидетельствует об адаптивном снижении цитозольных сульфгидрилных групп. О снижении содержания глутатиона в *m.soleus* у крыс при длительных тренировках показано в работах [7, 9]. Отсутствие изменений в содержании тиолов в сердечной мышце с одной стороны согласуется с повышенным по отношению к нетренированным животным уровнем продуктов ПОЛ, а с другой относительно высокой активностью глутатионредуктазы по отношению к скелетным мышцам. Поскольку печень является основным местом синтеза циркулирующего глутатиона из эндогенных или поступающих извне аминокислот [8, 11, 12], увеличение содержания тиолов в печени в результате тренировок можно отнести в счет глутатионового составляющего. Уменьшение содержания цитозольных тиолов в белой мышце и печени под действием однократной нагрузки является свидетельством ускорения продукции АФК и других свободных радикалов при интенсивной мышечной работе. В оксидативной красной мышце увеличение содержания тиолов может, происходит за счет более интенсивного извлечения глутатиона из плазмы. Практическая неизменность содержания цитозольных тиолов в сердечной мышце при действии физических нагрузок, повидимому, отражает сохранение уровня общей восстановительной способности миокарда как жизненно важной структуры при высокой двигательной активности.

Таким образом, в наших исследованиях мы находим подтверждение участия антиоксидантных элементов скелетных мышц и других органов в адаптивных процессах, связанных с регулярными физическими упражнениями, на уровне общей редуцирующей способности клетки, наравне с ферментной защитой от оксидантных соединений. Тиоловые антиоксидантные показатели претерпевают тканеспецифичные адаптивные изменения, которые чувствительны также и к особенностям энергетического метаболизма, и облегчают защиту органов от повреждающего действия окислительного стресса, развиваемого при интенсивных физических упражнениях.

Список используемых источников:

1. Алиев С.А, Гасанова А.К, Алибекова С.С. Новые аспекты исследований в биохимии физических упражнений и спорта. Научный альманах 2015, № 12-2 (14) стр.397-404.

- 2, Алиев С.А., Агаева С.Е. Динамика тиолового содержания и продуктов перекисного окисления липидов в структурах мозга у крыс при голодании. Акт. Проблемы науки и образ.: сборн. Науч. Труд. по матер. Межд.Науч.-прак. Конф. (29 марта 2012).
3. Гаджиев А.М., Алиев С.А., Агаева С.Е. Роль эндогенных и экзогенных антиоксидантов в адаптивной мышечной деятельности // Теория и практика физической культуры и спорта. Москва. 2014 №8 стр.53-56.
4. Керимова А.К., Гаджиев А.М. Влияние физических нагрузок на уровень перекисного окисления липидов в скелетных мышцах. Актуальные проблемы физиологии и биохимии. 2004, 30: 256-264
5. Керимова А.К., Гаджиев А.М. Адаптивная реакция глутатион зависимых антиоксидантных ферментов при действии физических нагрузок. Современные проблемы сравнительной физиологии и биохимии. Материалы 3-го Съезда Азербайджанского физиологического общества. Сборник статей Баку: Елм, 2005, С.345-354.
6. Alessio H.M., Goldfarb A.H. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. J.Appl.Physiol., 1988, 64 (4): p. 1333-1336.
7. Clarkson P.M., Thompson H.S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am. J. Clin. Nutr., 2000, 72 (suppl), pp.637S-646S.
8. Ji L.L. (1999) Antioxidants and oxidative stress in exercise. PSEBM. 222. 283-292
- Leuwenburgh C., Hollander J., Leichtweis S., Griffiths M., Gore M., Ji L.L. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue- and muscle fiber-specific. Am. J. Physiol., 1997, 272. 363-369.
9. Meister A., Anderson M.E. Glutathione. Annu. Rev. Biochem., 1983, 52: 711-760.
10. Ramires P.R., Hollander J., Fiebig R., Ji L.L. Effects of training and dietary glutathione on liver and muscle glutathione status in rats. Med. Sci. Sports Exerc., 1999, 31: S52.
11. Sedlak J., Lindsey R. Estimation of Total, Protein-Bound and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. Analit. Biochem., 1968, 25: p.192-205.

© 2016, Алиев С.А., Гасанова А.К., Алибекова С.С.
Изменение содержания тиоловых групп в организме
крыс, подвергшихся физической нагрузке

© 2016, Aliev S.A., Hasanova A.K., Alibekova S.S.
Change of the content thiol groups in rat muscles
under the action of exercise training