DOI: 10.17117/na.2016.12.02.332

<http://ucom.ru/doc/na.2016.12.02.332.pdf>

Поступила (Received): 22.12.2016

**Алиев С.А., Гасанова А.К., Алибекова С.С., Бехбудова Г.М.
Механизмы антиоксидантной адаптации
скелетных мышц**

**Aliev S.A., Hasanova A.K., Alibekova S.S., Behbudova G.M.
Mechanisms of antioxidant adaptation in skeletal muscles**

Статья посвящена изучению роли антиоксидантных ферментов в адаптации скелетных мышц к физическим нагрузкам – к фактору, который является причиной интенсификации производства активных форм кислорода, способных привести к различным структурным и функциональным нарушениям органа. Антиоксидантная система мышц, включающая в себя в частности, ферментные антиоксиданты, призвана защитить клеточные структуры от повреждения со стороны кислородных радикалов и, следовательно, должна быть способна адаптироваться к «физиологическому окислительному стрессу», степень которого определяется интенсивностью физической работы. В статье приведены данные об изменениях активности таких ферментов, как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, в белой и красной скелетных мышцах при действии хронических и острых нагрузок, полученные одним из авторов и имеющаяся об этих и других эндогенных антиоксидантах информация из литературы. Обсуждаются посттранскрипционные и посттрансляционные аспекты в механизме антиоксидантной адаптации скелетных мышц к физическим нагрузкам

Ключевые слова: физическая нагрузка, скелетные мышцы, антиоксидантные ферменты, адаптация

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

This paper is dedicated to role of antioxidant enzymes of skeletal muscles adaptation to physical exercise – factor which results in intensification of reactive oxygen species production that can cause different structural and functional disturbances in cells. Muscle antioxidant system including enzyme antioxidants defends cell components from damages by oxygen radicals and must be able to adapt to “physiological oxidative stress” state which depends in exercise intensity. In this paper, we present our data on study of activity changes of such enzymes as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in white and red skeletal muscles under action both chronic and acute exercise. Also, corresponding information from other authors about these and other endogen antioxidants has been considered. Both posttranscriptional and posttranslational aspects in adaptation mechanisms of skeletal muscles to physical exercise are discussed

Key words: physical exercise, skeletal muscles, antioxidant enzymes, adaptation

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

Гасанова Арзу Карам гызы

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

Hasanova Arzu Karam

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

Алибекова Самира Саадат гызы

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

Alibekova Samira Saadat

Teacer
Azerbaijan state academy of physical culture and
sport
Azerbaijan, Baku, F.X. Xoyskiave ave., 98

Бехбудова Гюнель Матлаб

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

Behbudova Gunel Matlab

Teacer
Azerbaijan state academy of physical culture and
sport
Azerbaijan, Baku, F.X. Xoyskiave ave., 98

Введение

Занятия физическими упражнениями сопровождаются усиленным потреблением кислорода, который необходим для повышенного энергообеспечения организма посредством окислительного фосфорилирования в митохондриях. Высокие концентрации O_2 в клетках создают условия для интенсификации ресинтеза АТФ в ответ на усиление мышечной деятельности. Однако высокие концентрации O_2 создают и опасность для жизнедеятельности клеток; увеличивается вероятность образования высокореакционных соединений кислорода, так называемых активных форм кислорода (АФК) – супероксид-аниона, перекиси водорода и гидроксильного радикала [1,2]. Эти соединения способны реагировать с липидами, белками и нуклеиновыми кислотами, являясь потенциальными факторами повреждения клеточных компонентов – мембран, ферментных систем, генетического аппарата. Для скелетных мышц окислительная атака O_2 является наиболее серьезной, потому как потребление ими O_2 в отличие от других тканей увеличивается до 100 и более раз при нагрузках высоких мощностей.

В последние два десятилетия изучение роли свободнорадикальных процессов в мышечной деятельности, участия антиоксидантной системы защиты в них, в первую очередь, её ферментного составляющего, все больше привлекает внимание исследователей, так как адаптация мышц к физическим нагрузкам, по-видимому, происходит при непосредственном участии этой системы [3]. Основными ферментными компонентами антиоксидантной системы мышц являются супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза (ГПО) и глутатионредуктаза (ГР), активность которых изучалась в различных мышцах, при различных условиях выполнения физических нагрузок. С помощью СОД в митохондриях и цитоплазме убираются анион-радикалы супероксида (O_2^-), ГПО обезвреживает перекисные соединения, а ГР служит для восстановления окисленного глутатиона. Многие авторы изучали реакцию активностей отдельных антиоксидантных ферментов в скелетных мышцах в ответ на физические нагрузки различного характера – на острые и хронические нагрузки [3-6], однако обобщение

полученных данных для формулировки адаптационных механизмов антиоксидантной системы встречается затруднения из-за разброса в принадлежностях мышц и ферментов, типах мышц, условиях нагрузок. Нами также были предприняты исследования активности этих ферментов в скелетных мышцах с соблюдением некоторых условий: все три фермента СОД, ГР, ГПО исследовались одновременно у одних и тех же животных (белых крыс), подверженных одним и тем же нагрузкам [7,8]. Источниками активности ферментов являлись одни и те же мышцы, причем для выявления специфичности оксидативных ответов рассматривались скелетные мышцы с различными скоростными свойствами (белая и красная части мышцы *gastrocnemius*). Выявленные нами изменения в активности отдельных антиоксидантных ферментов в ответ на хронические физические нагрузки и реакция на однократную нагрузку имели как сходство, так и различия с данными других авторов. В настоящей статье мы на основе собственных и литературных данных попытались проанализировать адаптационное поведение (имеются в виду изменения в базовой и индуцируемой нагрузкой активности) антиоксидантных ферментов скелетных мышц и выявить какие механизмы в них могли бы быть ответственны за реализацию антиоксидантной адаптации к физическим нагрузкам.

Материалы и методика

Привлекаемые в статье экспериментальные результаты по изучению антиоксидантных ферментов СОД, ГП, ГР, а также непрямого антиоксидантного фермента, но связанного с функционированием глутатионовых ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД), в скелетных мышцах при действии физических нагрузок на организм ранее были опубликованы в статьях одного из авторов [7-11]. Методические подходы в этих экспериментах были следующими. Опыты проводились на 6-месячных белых беспородных крысах. Физические нагрузки осуществлялись посредством ежедневного 30 минутного бега в барабане (диаметр 44 см) при скорости 15 м/мин в течение 4-х недель, по 5 дней в неделю. Исследовались белая и красная части икроножной мышцы (*m.gastrocnemius*), соответственно как быстрый (гликолитический) и медленный (оксидативный) типы волокон. В экспериментах также оценивался уровень процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях, для чего измерялась концентрация малонового диальдегида (МДА); это необходимо для характеристики состояния окислительного стресса в мышцах под действием физических нагрузок.

Результаты и их обсуждение

Реакцию антиоксидантных ферментов в скелетных мышцах (возможно, и в других органах) на физические нагрузки следует рассматривать в двух аспектах: реакция на однократные острые нагрузки и реакция на длительные хронические нагрузки. Напомним, что в общих чертах реакция отдельных антиоксидантных ферментов характеризуется следующим образом. Хронические нагрузки (между умеренной и субмаксимальной мощности) приводят к уменьшению базовой активности ГР в быстрых и медленных скелетных мышцах,

соответственно на 60% и 45%. У тренированных животных под действием однократной нагрузки активность ГР резко увеличивается, тогда как у нетренированных такая реакция очень слабо выражена [11].

Базовая активность ГП в скелетных мышцах под действием тренировочных нагрузок растет; в белой мышце на 40%, а в красной – на 75%. У нетренированных крыс влияние однократной нагрузки на активность ГП неодинаково для разных мышц; в быстрой мышце практически достоверных изменений нет, в красной мышце происходит рост активности на 50%. Однако в результате тренировки реакция на нагрузку становится однонаправленной; рост активности ГП наблюдается в обеих мышцах [7,11].

Тренировочные нагрузки не приводят к значительным изменениям в активности СОД в скелетных мышцах в состоянии покоя, однако реакция на однократную нагрузку (уменьшение активности СОД) в белой мышце становится менее резкой – 24% ($p>0.05$) против 61% ($p<0.05$) у контрольных крыс; в красной мышце рост активности фермента сохраняется (~35%, $p<0.05$) [9,11]. Характерным является тот факт, что роль СОД в адаптивных процессах в скелетных мышцах проявляется значительно слабее, чем в сердечной мышце и печени (см. [9]).

Зададимся вопросом: чем можно объяснить повышение активности антиоксидантных ферментов в ответ на острые физические нагрузки? Связано ли это активацией экспрессии соответствующего гена под действием физических нагрузок? Для выяснения данного вопроса некоторыми исследователями были осуществлены измерения количества m-РНК для различных ферментов в скелетных мышцах. В работе [12] было показано значительное снижение уровня m-РНК как в мышцах *soleus* под действием острой физической нагрузки у нетренированных крыс. Однако у тренированных крыс такое снижение отсутствовало. Другие авторы, изучавшие влияние более длительной однократной физической нагрузки на содержание m-РНК для CuZn-СОД (цитоплазматическая изоформа), Mn-СОД (митохондриальная изоформа) и каталазы у крыс, не обнаружили изменений в количестве m-РНК в ответ на нагрузки [13]. Однако для ГПО содержание m-РНК уменьшалось под действием нагрузки на 21.6% и 60.8% в мышцах DVL и SVL, соответственно. Эти данные демонстрируют то, что несмотря на повышение ферментативной активности при действии острых физических нагрузок до истощения, количество m-РНК для ГПО, CuZn-СОД и Mn-СОД может уменьшаться.

Детального понимания механизмов повышения активности антиоксидантных ферментов в ходе физических упражнений сегодня нет [14]. Факты уменьшения уровней m-РНК для СОД и ГПО под действием нагрузок выглядят парадоксальными. В рамках существующих экспериментальных фактов можно предположить, что физические нагрузки могут влиять на активность фермента в посттрансляционный период синтеза белка данного фермента. По-видимому, здесь определенная сигнальная роль должна отводиться АФК, которые формируются под действием физической нагрузки.

Адаптивные изменения антиоксидантной системы в мышцах и других органах к хроническим физическим нагрузкам – регулярным физическим трени-

ровкам – представляют, несомненно, большой интерес. Всем знакома польза физических упражнений для хорошего здоровья и предупреждения различных болезненных состояний организма. Однако хронические физические нагрузки также являются факторами возникновения окислительного стресса в организме, следовательно, становятся причиной нарушения баланса между прооксидантами и антиоксидантами. Наши данные косвенно [9], данные работ [6,15] непосредственно показывают, что длительные тренировки приводят значительному уменьшению содержания GSH в мышцах, соответственно, *gastrocnemius* и *soleus* у крыс. Интенсивные тренировки плаванием у крыс также обнаружили подобное уменьшение уровня GSH в миокарде.

Рассмотрим адаптационные изменения антиоксидантных ферментов. Хотя острые физические нагрузки могут вызвать активацию определенных антиоксидантных ферментов без дополнительного синтеза белка, защитные возможности тканей против окислительного стресса ограничены, причем в зависимости от того, какой антиоксидантный фермент, и о какой ткани идет речь. Для случаев долговременной работы, не исключено, что клетки способны синтезировать (*denovo*) дополнительное количество белка антиоксидантных ферментов, чтобы бороться потенциальным окислительным стрессом в будущем. Возможность получения моноклональных антител к конкретным антиоксидантным ферментам (например, СОД) дает в руки исследователей мощный инструмент для изучения их регуляции на генном уровне.

Как сообщалось в работах [16,17], активность СОД в скелетных мышцах растет в результате тренировок. Однако в других работах [3,4] такая адаптация активности СОД к тренировкам не нашла подтверждения, несмотря на то, что применялись сходные модели тренировок. Эти различия могли бы быть объяснены тем, что в исследованиях различных авторов изучались разные изоформы фермента, использовались разные методы определения активности, применялись различной интенсивности и повторяемости тренировочные нагрузки, которые могли вызвать различной степени окислительный стресс в мышцах и, наконец, различного типа мышечные волокна могли быть исследованы. В этом смысле примечательными являются работы [16], в которых показано, что основной вклад в повышение активности СОД в ходе тренировок дает, главным образом, митохондриальная изоформа СОД, тогда как вклад цитоплазматической изоформы незначителен. Соотношение активностей различных изоформ СОД, их белковое содержание, а также количество m-RНК в мышце *soleus* у крыс после длительных тренировок изучались и в работе [17]. Активность CuZn-СОД, соответствующая состоянию покоя, значительно возрастала в результате тренировок, но количества ферментного белка и m-RНК оставались неизменными. Напротив, для Mn-СОД как активность фермента, так и количество белка увеличивались; уровень m-RНК опять не менялся. По мнению авторов, эти данные говорят о том, что индукция обеих изоформ СОД тренировочными нагрузками обусловлены посттранскрипционными механизмами и посттрансляционные модуляции могут играть роль в поведении CuZn-СОД. Влияние тренировок на Mn-СОД было подтверждено в работе [19] и показано, что это влияние специфично для различных типов волокон.

Для ГПО получены относительно достоверные данные, указывающие на её явные адаптационные свойства [6,8]. Адаптация ГПО проявляет специфичность по отношению различных типов волокон, она хорошо проявляется в мышцах типа 2а, которые наиболее реактивны к тренировкам. Увеличение активности ГПО на 45% наблюдалось в красной мышце (*gastrocnemius*) (тип 2а) у крыс после длительных тренировок, хотя в других мышцах эффекта тренировок не было (*soleus* и белая часть *gastrocnemius*). Следует отметить, что данные наших исследований показывает увеличение активности ГПО для красной части мышцы (*gastrocnemius*) значительно большее (75%), более того мы обнаруживаем повышение активности и в белой мышце (~40%), которое не наблюдалось в упомянутой работе. Близкое к полученному в наших экспериментах значению увеличение (62%) активности ГПО наблюдалось в результате тренировок у крыс в мышце DVL, опять же в *soleus* и миокарде эффект тренировки не обнаружен [6]. Эффект тренировки в сердце, а также в печени, полученный в нашей работе, выражается в уменьшении активности ГПО, хотя данные, уже упомянутой работы, показывают сохранение активности ГПО в этих органах. Сегодня принято, что фермент ГПО экспрессируется единой изоформой в разных клеточных компартментах, имеются однако данные, что ГПО из митохондрий в скелетных мышцах подвергается адаптационным изменениям в большей степени, чем фермент из цитозоля.

Почему различные антиоксидантные ферменты показывают различные адаптационные свойства к физическим нагрузкам? Ответ может быть неоднозначным и будет зависеть от специфической картины экспрессии гена каждого фермента, от порогов, необходимых для индукции и их взаимодействия. Синтез фермента *denovo* является энергозависимым и относительно медленным процессом и, вероятно, будет осуществляться в последнюю очередь для борьбы с окислительным стрессом. Активность СОД достаточно высока и довольно равномерно распределена среди типов мышечных волокон, что, по-видимому, указывает на то, что удаление супероксид радикалов не является лимитирующей стадией процесса. ГПО же уничтожает конечные продукты процесса радикалообразования (т.е. перекись водорода, органические перекиси) и её активность относительно низка. Вероятно, этим объясняется, почему ГПО показывает большую адаптивность к тренировкам, чем СОД и каталаза [9,11,19]. Именно к такому заключению, а именно, о том, что в скелетных мышцах в формировании адаптивного ответа антиоксидантной системы на хроническую физическую нагрузку превалирует вклад компонентов глутатионовой системы, а в сердечной мышце и печени – супероксиддисмутаза, мы и приходим на основании наших собственных результатов.

Когда мы сравниваем адаптационные возможности и реакцию на острые нагрузки скелетных мышц разных скоростных типов, а именно, гликолитической и оксидативной мышц, должны иметь ввиду их энергетические особенности. В силу того, что в быстрых мышцах подавляющая часть энергообеспечения происходит за счет гликолиза, необходимые для глутатионредуктазной реакции восстановительные агенты в виде NADPH, которые доставляются из гексо-зимонофосфатного шунта, могут быть недостаточны при усилении анаэробного

окисления глюкозы для выполнения физической нагрузки. Практическое сохранение активности ГР в белой мышце у нетренированных крыс, и наибольший рост активности по сравнению с другими тканями (в том числе и красной мышцей) у тренированных крыс может говорить о сдвиге соотношений между двумя путями окисления глюкозы, возможно, через влияние на ключевой фермент «шунта» – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу под действием тренировочных нагрузок.

Наблюдаемое в наших экспериментах увеличение активности Г6ФД в скелетных мышцах в результате тренировок действительно указывает на сдвиг баланса окисления глюкозы в сторону пентозофосфатного пути, т.е. в сторону образования избытка NADPH. Как мы и предполагали, на фоне практического сохранения глутатионредуктазной активности в белой мышце у нетренированных крыс, и наибольшего роста активности по сравнению с другими тканями у тренированных крыс после однократной нагрузки такое поведение ключевого фермента «шунта» под действием тренировочных нагрузок в целом согласуется и с литературными данными [20].

Окислительный стресс, вызываемый физической нагрузкой в скелетных мышцах, может приводить к различным изменениям в функциональных и структурных свойствах мышечных волокон в зависимости от степени окислительных сдвигов, соответственно, от характера нагрузки. Относительно слабые сдвиги в сторону увеличения оксидантообразования являются нормальными физиологическими событиями, которые приводят к адаптивным изменениям антиоксидантного механизма мышц для противостояния к будущему более высокому напору АФК. Сильные окислительные сдвиги могут быть причиной более серьезных повреждений клеточных структур; могут быть повреждены мембранные структуры различных органелл, ответственных за реализацию сократительной функции, т.е. окислены липиды и белки, с участием которых реализуются процессы возбуждение – сокращение – расслабление, их энергетическое обеспечение и регуляция. Такие последствия окислительного стресса, возможно, обуславливают, отчасти, процесс утомления мышц – процесс который сегодня до конца еще не понят.

Авторы искренне благодарят заведующего лабораторией Института физиологии им. А.И. Караева д.ф.-м.н., профессора А.М.Гаджиева за ценные консультации и непосредственное участие в подготовке настоящей статьи.

Список используемых источников:

1. Davies K., Quintanilla A., Brooks G., Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982, v. 107, p. 1198-1205.
2. Halliwell B., Gutteridge J. *Free radicals in Biology and Medicine* (2nd ed). Oxford: Clarendon Press, 1989, P. 136-158.
3. Ji L.L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *PSEBM*, 1999, v.222, pp.283-292.
4. Alessio H., Goldfarb A. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training // *J.Appl.Physiol.*, 1988, v. 64, No 4, p.1333-1336.
5. Bejma J., Ji L. Aging and acute exercise enhance free radical generation rat skeletal muscle // *J.Appl.Physiol.*, 1999, v. 87, No 1, p. 465-470.
6. Leuwenburgh C., Hollander J., Leichtweis S. et al. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue- and muscle fiber-specific // *Am. J. Physiol.*, 1997, v. 272, p. 363-369.

7. Гаджиев А.М., Керимова А.К. Оксидативные аспекты адаптации мышц к физическим нагрузкам / Сборник статей. II Всероссийская научная конференция «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды». Челябинск, РФ, 2006, с.354-358.
8. Керимова А.К., Агаев Т.М., Гаджиев А.М. Свободнорадикальные окислительные процессы при мышечной деятельности: методические подходы к исследованиям, адаптивные изменения редокс показателей // Известия НАН Азербайджана. Биологические науки, 2005, №5-6, с.109-121.
9. Керимова А.К. Влияние физической нагрузки на некоторые антиоксидантные и метаболические показатели мышц и печени у крыс // Проблемы физиологии и биохимии. Труды Института физиологии им. А.И.Караева НАН Азербайджана, 2006, т. 23, с.
10. Гасанова А.К., Гаджиев А.М. Влияние острых и хронических физических нагрузок на интенсивность перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов в мышцах и печени // Известия Национальной АН Грузии. Биомедицинская серия, 2010, Т.36, №5-6, с.325-332.
11. Керимова А.К., Гаджиев А.М. Адаптивная реакция глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов при действии физических нагрузок // Современные проблемы сравнительной физиологии и биохимии. 2005, с. 345-354.
12. Oh-Ishi S., Kizaki T., Nagasawa J. et al. Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content, and mRNA expression in rat muscle // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 1997, 24, 326-332.
13. Gore M., Feibig R., Hollander J., Ji L. Acute exercise alters mRNA abundance of antioxidant enzyme and nuclear factor B activation in skeletal muscle, heart and liver // Med. Sci. Sports Exerc., 1997, v. 29, P. S229.
14. Tiidus P., Pushkarenko J., Houston M. Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle // Am. J. Physiol., 1996, v. 271, p. R832-R836.
15. Ramires P., Hollander J., Fiebig R., Ji L. Effects of training and dietary glutathione on liver and muscle glutathione status in rats // Med. Sci. Sports Exerc., 1999, v. 31, p. S52.
16. Higuch M., Cartier L., Chen M., Holloszy J.O. Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise // J.Gerontol., 1985, v. 40, p. 281-286.
17. Oh-Ishi S., Kizaki T., Yamashita H. et al. Alteration of superoxide dismutase iso-enzyme activity, content, and mRNA expression with aging in rat skeletal muscle // Mech. Ageing Dev., 1996, v. 84, p. 65-76.
18. Hollander J., Fiebig R., Gore M. et al. (1999) Superoxide dismutase gene expression: fiber-specific adaptation to endurance training. Am. J. Physiol., 277: R856-R862.
19. Remacle J., Lambert D., Raes M. et al. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability // Biochem. J., 1992, v. 286, p. 41-46.
20. Lawler J., Powers S., Visser T. et al. Acute exercise and skeletal muscle antioxidant and metabolic enzymes: Effect of fiber type and age // Am. J. Physiol., 1993, v. 265, p. R1344-R1350.

© 2016, Алиев С.А., Гасанова А.К., Алибекова С.С.,
Бехбудова Г.М.

Механизмы антиоксидантной адаптации
скелетных мышц

© 2016, Aliev S.A., Hasanova A.K., Alibekova S.S.,
Behbudova G.M.

Mechanisms of antioxidant adaptation in skeletal
muscles