

УДК 612.111:577.15:796.015.6

DOI 10.34014/2227-1848-2020-4-133-141

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ, ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ, ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ НЕТРЕНИРОВАННЫХ КРЫС В ПЛАВАТЕЛЬНОМ ТЕСТЕ «ДО ОТКАЗА»

В.Д. Шадрина, Н.А. Вахнина, Е.Р. Бойко

Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук, г. Сыктывкар, Россия

Для нетренированного организма физическая нагрузка – это физиологический стресс, сопровождающийся увеличением активных форм кислорода, уровень которых в клетке регулируется ферментами – антиоксидантами.

Цель – исследование активности супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) эритроцитов при воздействии однократной физической нагрузкой (ФН) разной интенсивности.

Материалы и методы. Работа выполнена на трехмесячных самцах крыс линии Wistar. Животные разделены на семь групп: виварный контроль (ВК); плававшие 60 мин без дополнительного веса (нагрузка умеренной интенсивности (УН)); четыре группы участвующих в нагрузочном тестировании: низкоинтенсивная ФН (НИ) – плавание с грузом 2 % от массы тела, высокоинтенсивная (ВИ) – плавание с грузом 8, 10 и 15 % от массы тела (ВИ8, ВИ10, ВИ15). Животные седьмой группы (ОС) в течение 60 мин находились на мелководье без возможности плавать, чтобы вызвать окислительный стресс без физической нагрузки.

Результаты. Во всех группах наблюдалось значимое снижение активности СОД и значимое повышение активности ГП и Г-6-ФДГ относительно ВК. Наибольшее снижение активности СОД показано в группах ОС и УН (на 36 и 33,5 %, $p < 0,01$). При нагрузочном тестировании в группе УН отмечалось снижение активности СОД на 29 % ($p < 0,01$), в группах ВИ – на 25, 26 и 22 % соответственно ($p < 0,05$). Активность ГП и Г-6-ФДГ повышена во всех экспериментальных группах ($p < 0,05$), активность ГП повышена в группе ОС на 78 %, Г-6-ФДГ – в группах ОС и УН на 160 %. Выводы. При воздействии однократной физической нагрузкой разной интенсивности наблюдается снижение активности СОД и повышение активности ГП, Г-6-ФДГ относительно контроля. Не выявлены различия активности СОД и Г-6-ФДГ между группами плававших крыс; показана тенденция к повышению активности ГП в зависимости от интенсивности нагрузки.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, эритроциты, физическая нагрузка.

Введение. Физическая нагрузка разной интенсивности является распространенным методом исследования работоспособности, выносливости организма [1]. Физическая нагрузка до истощения, нагрузка на выносливость – это физиологический стресс, который сопровождается увеличением активных форм кислорода (АФК) [2], играющих роль сигнальных молекул при включении адаптационных механизмов [3].

Механизмы адаптации к физической нагрузке в нетренированном организме (срочная адаптация) отличаются от таковых в тре-

нированном (долговременная адаптация) тем, что на начальной стадии процесса приспособления к физической нагрузке окислительный стресс может привести к деструкции клеток тканей [3, 4]. Например, физическая нагрузка способствует метаболическим и структурным изменениям в эритроцитах в зависимости от ее интенсивности и продолжительности [5].

Сохранению функциональности и целостности эритроцитов способствует антиоксидантная система (АОС) [6]. Ключевым ферментом АОС является супероксиддисмутаза (СОД, КФ 1.15.1.1), прерывающая цепь сво-

боднорадикальных процессов в начале своего зарождения на стадии одноэлектронного восстановления кислорода с образованием супероксидного анион-радикала [3]. Глутатионпероксидаза (ГП, КФ 1.11.1.9) катализирует реакцию восстановления глутатионом нестойких органических гидропероксидов и перекиси водорода [3]. Наличие в цитозоле эритроцитов фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ, КФ 1.1.1.49) обеспечивает восстановление НАДФ до НАДФН, необходимого для перехода окисленного глутатиона в восстановленную форму и связывания АФК/перекисей, а также для поддержания тиоловых групп белков и ферментов в восстановленном состоянии, что особенно важно в условиях окислительного стресса [7]. Активность ферментов АОС взаимосвязана и сбалансирована, а их кооперативное действие необходимо для защиты клеток тканей от АФК [3].

В литературе имеются данные о влиянии физических нагрузок разной интенсивности и длительности на активность ферментов АОС крови [8] и тканей [9, 10] у человека и животных. Активность Г-6-ФДГ при различных режимах физической нагрузки изучается в основном у человека с пониженной активностью фермента [11]. Однако описывается значение этого фермента как ключевого в функционировании пентозофосфатного пути при адаптации к окислительному стрессу [12].

Таким образом, исследование активности ферментов АОС, способствующих повышению функциональности эритроцитов при адаптации организма к физической нагрузке, является одной из актуальных задач при изучении физиологических механизмов в обеспечении физической работоспособности.

Цель исследования. Изучение влияния однократной физической нагрузки разной интенсивности на активность СОД, ГП и Г-6-ФДГ эритроцитов крыс.

Материалы и методы. В работе использовали трехмесячных самцов крыс линии *Wistar* (масса тела 250–300 г). Животных содержали по 4 особи в клетке на стандартном рационе вивария, с доступом к воде *ad libitum*, при температуре 21 ± 1 °С и 12-часовом освещении. Доступ к пище прекращался не менее чем за два часа до эксперимента. Протокол ис-

следования одобрен этическим комитетом Института физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.

Животные случайным образом были разделены на семь групп: интактные крысы (виварный контроль (ВК)); животные, плававшие 60 мин без дополнительного веса (нагрузка умеренной интенсивности (УН)); четыре группы животных, участвующих в нагрузочном тестировании: низко интенсивная физическая нагрузка (НИ) – плавание с грузом 2 % от массы тела, высоко интенсивная физическая нагрузка (ВИ) – плавание с грузом 8, 10 и 15 % от массы тела (ВИ8, ВИ10 и ВИ15 соответственно). Животные седьмой группы (ОС) в течение 60 мин находились на мелководье при температуре $28,5 \pm 0,2$ °С без возможности плавать с целью вызвать окислительный стресс без физической нагрузки [13]. Все животные, за исключением групп ВК и ОС, предварительно проходили адаптацию к воде и плаванию, т.е. крысы плавали по 30 мин через день два раза [13] с последующим восстановлением через 10–14 дней для нивелирования эффекта тренировки. Крысы плавали в баке ($h=55$ см, $d=40$ см), заполненном десатурированной водой, чтобы избежать нежелательного влияния пузырьков газа на плавучесть животных. Для того чтобы исключить влияние температурного фактора при оценке физической работоспособности использовалась вода термонеutralного диапазона для лабораторных животных ($28,5 \pm 0,2$ °С) [14]. Высота столба воды составляла 40 см. После взвешивания животного металлическое кольцо фиксировали у основания хвоста эластичной нетравмирующей лентой, включение секундомера осуществляли в момент помещения животного в воду. Основными критериями развития полного утомления являлись три безуспешные попытки всплыть на поверхность или нахождение под водой более 10 с, сопровождавшееся опусканием на дно. Далее животное извлекали из воды, быстро обсушивали, декапитировали.

Определение активности СОД в смешанной крови проводили по методу [15], основанному на ингибировании реакции восстановления нитротетразолия синего в формазан (гидразинтетразолий) супероксидными анион-радикалами кислорода, генерируемыми систе-

мой «NADH-феназинметасульфат». Активность ГП определяли по убыли восстановленного глутатиона при его окислении гидроперекисью трет-бутила [16]. Активность Г-6-ФДГ в эритроцитах оценивали кинетическим методом с использованием коммерческих наборов (Sentinel, Италия) по скорости восстановления НАДФ до НАДФН, содержание которого регистрировали при длине волны 340 нм.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Excel и «Биостат» (версия 4.03). Различия считали значимыми при $p < 0,05$ по критерию Крускала–Уоллеса и критерию Данна для непараметрических выборок.

Результаты. Результаты фактического времени плавания крыс «до отказа» показали, что чем тяжелее груз, тем быстрее сокращается время плавания. С дополнительным грузом 8 % плавание длилось $2,98 \pm 0,89$ мин, 10 % – $2,0 \pm 0,33$ мин, 15 % – $1,53 \pm 0,1$ мин. Крысы с грузом 2 % разделились на две подгруппы по продолжительности плавания: $48,35 \pm 8,19$ мин ($n=3$) и $289,33 \pm 47,12$ мин ($n=3$).

Анализ полученных данных показал, что активность СОД в эритроцитах различалась в обследуемых группах животных (табл. 1). Наибольшее значение активности фермента зафиксировано у контрольных крыс (ВК), а наименьшее – у крыс ОС ($p < 0,01$). У крыс, плававших с утяжелением, активность СОД достоверно ниже по сравнению с животными из группы ВК ($p < 0,05$) и достоверно выше по сравнению с группой ОС только у ВИ8 ($p < 0,01$), ВИ10 ($p < 0,01$), ВИ15 ($p < 0,05$).

Активность ГП у крыс ВК была минимальная, у крыс ОС – максимальная ($p < 0,05$) (табл. 1). У крыс с умеренной, низко- и высокоинтенсивной нагрузкой наблюдалось снижение активности ГП относительно ОС. Статистически значимые различия активности фермента выявлены между ОС и ВИ8 ($p < 0,05$).

Изменение активности Г-6-ФДГ сходно с изменением активности ГП (табл. 1). Наименьшая активность фермента выявлена у животных в контроле, наибольшая – у животных из групп ОС и УН ($p < 0,05$).

Таблица 1

Table 1

Активность ферментов в эритроцитах крыс в плавательном тесте «до отказа» (M±SD)

Enzyme activity in rats' erythrocytes in "to-muscular-failure" swimming test (M±SD)

Показатель Indicator	ВК Vivarium control	Экспериментальные группы Experimental groups					
		ОС Oxidative stress	УН Moderate load	НИ Low intensity load	ВИ8 High intensity load (8)	ВИ10 High intensity load (10)	ВИ15 High intensity load (15)
СОД, у.е./Hb SOD, standard units/Hb	$0,641 \pm 0,15$ (n=16)	$0,406 \pm 0,14$ ** (n=7)	$0,426 \pm 0,11$ ** (n=10)	$0,452 \pm 0,11$ ** (n=6)	$0,484 \pm 0,06$ **## (n=6)	$0,472 \pm 0,04$ **## (n=6)	$0,501 \pm 0,08$ *# (n=6)
ГП, мкМ/Нб GP, μmol/ Hb	$585,05 \pm 125,5$ (n=7)	$1042,25 \pm 343,46$ * (n=6)	$830,13 \pm 152,47$ * (n=8)	$696,27 \pm 95,03$ (n=6)	$639,83 \pm 149,27$ # (n=7)	$827,51 \pm 308,4$ (n=6)	$847,09 \pm 284,75$ (n=5)
Г-6-ФДГ, МЕ/10 ⁹ эритроцитов G-6-FDH, mU/10 ⁹ erythrocytes	$463,40 \pm 108,26$ (n=5)	$1226,93 \pm 430,26$ * (n=5)	$1233,69 \pm 564,31$ * (n=5)	$718,57 \pm 213,24$ *# (n=5)	$693,61 \pm 135,48$ *# (n=5)	$775,55 \pm 338,79$ * (n=5)	$716,37 \pm 189,70$ * (n=5)

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с ВК при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$; # – различия достоверны по сравнению с ОС при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$.

Note. * – the differences are significant compared with the control group, $p < 0,05$, ** – the differences are significant compared with the control group, $p < 0,01$; # – the differences are significant compared with the oxidative stress, $p < 0,05$, ## – the differences are significant compared with the oxidative stress, $p < 0,01$.

Активность Г-6-ФДГ эритроцитов у крыс с низкоинтенсивной нагрузкой значимо не различалась по сравнению с группами высокоинтенсивной нагрузки (табл. 1).

Обсуждение. Анализ полученных данных свидетельствует об изменении активности ферментов АОС эритроцитов в зависимости от физиологического состояния животных. Животные из группы ОС были помещены в небольшое количество воды, где они большую часть времени стояли неподвижно, изредка опираясь передними лапами на стенку бака. Затем, чтобы оценить степень метаболических изменений, в частности в эритроцитах, возникающих в организме крыс при погружении в воду, они помещались в бак с водой, что для них является фактором стресса [13]. Вероятно, неподвижность, неадаптированность к воде и длительность воздействия (один час) явились причиной снижения активности СОД и повышения активности ГП и Г-6-ФДГ относительно контроля в результате повышенного образования АФК. Одной из причин снижения активности СОД является избыточное количество перекиси водорода, которая приводит к угнетению активности фермента [17]. Однако модификация СОД, приводящая к снижению активности энзима, предотвращается глутатионом [18]. Повышение активности ГП может быть связано с повышенным использованием восстановленного глутатиона [3]. В литературе есть данные о том, что избыточное количество перекиси водорода приводит к повышению активности пентозофосфатного пути [19]. В работе А.В. Макеевой и соавт. показано увеличение активности Г-6-ФДГ в условиях активации окислительного стресса на 70 % от контроля [20].

Таким образом, в результате острого стрессового воздействия в течение 60-минутного пребывания в воде показатели активности СОД, ГП, Г-6-ФДГ в эритроцитах свидетельствуют о развитии окислительного стресса у крыс в группе ОС.

Тест принудительного плавания как метод оценки выносливости (работоспособности) представляет собой комбинированный вид стресса, сочетающий эмоциональный стресс [21] и аэробно-анаэробную физическую нагрузку как физиологический стресс

[2, 13]. Плавательная нагрузка крыс в течение 60 мин является наиболее распространенным протоколом в исследовании влияния физических нагрузок, так как предполагается, что она не вызовет значительный рост маркеров окислительного стресса, но повысит эндогенную антиоксидантную защиту, поскольку является нагрузкой умеренной интенсивности [8]. В литературе есть данные о том, что регулярные умеренные физические упражнения ослабляют окислительный стресс [8, 22]. Представленные показатели активности СОД, ГП и Г-6-ФДГ (табл. 1) в эритроцитах крыс относительно контроля свидетельствуют о том, что у животных наблюдается окислительный стресс, вызванный однократной физической нагрузкой умеренной интенсивности. Возможно, однократное воздействие физической нагрузкой умеренной интенсивности приводит к окислительному повреждению клетки вследствие «ограниченного адаптивного ответа» [23]. В пользу данного предположения свидетельствуют результаты исследования М.В. Балыкина и соавт., в котором показано, что не только однократные, но и повторяющиеся физические плавательные нагрузки в первые пять суток наблюдения сопровождаются снижением активности СОД и каталазы в миокарде крыс [24].

Согласно методическим рекомендациям [14] плавание с грузом 2,5–3,0 % от массы тела относится к низкому уровню нагрузок большой длительности (аэробный режим). Известно, что при динамической работе утомление наступает медленнее, чем при статической, из-за лучшего кровотока вследствие чередования сокращения и расслабления мышц. Достаточное кровоснабжение работающих мышц позволяет выполнять умеренную работу довольно долго. Полученные данные показывают, что у крыс могут быть значительные различия в их реакции на физическую нагрузку, так крысы НИ по времени плавания разделились на две подгруппы: одни плавали 30–60 мин, другие – 200–350 мин. Надо отметить, что активность СОД и ГП независимо от продолжительности плавания у всех животных этой группы была практически на одном уровне. Изменения активности изучаемых ферментов позволяют говорить о достоверном

снижении окислительного стресса в группе НИ: активность СОД значимо повысилась по сравнению с ОС ($p < 0,05$), а активность ГП снизились, приближаясь к контрольным показателям. В работе Т. Kawamura, I. Muraoka сообщается, что физиологический механизм, за счет которого происходит увеличение окислительного стресса при повышении интенсивности или длительности физической нагрузки, неизвестен [25].

Плавание с грузом 8, 10 и 15 % – это высокоинтенсивная физическая нагрузка в анаэробном режиме [14]. Уровень активности ферментов АОС эритроцитов между группами крыс, плававших с грузом 8, 10 и 15 %, статистически значимо не различался. Интересно отметить, что для групп НИ и ВИ8 общим является характер изменения активности СОД, ГП и Г-6-ФДГ (табл. 1). Одинаковый результат при разных режимах физической нагрузки

достигнут за разный промежуток времени. Вероятно, развитие окислительного стресса во время анаэробной нагрузки происходит быстрее, чем во время аэробной. Данные, полученные в группе нетренированных молодых мужчин, показывают, что в плазме изменения активности СОД и ГП в анаэробных условиях фиксируются через 5 мин, а в аэробных – через 20 мин [26]. Предположительно, что для усиления окислительного стресса более важную роль играет интенсивность физической нагрузки, а не ее продолжительность [27].

Заключение. При воздействии однократной физической нагрузкой разной интенсивности наблюдается снижение активности СОД и повышение активности ГП, Г-6-ФДГ относительно контроля; не выявлены различия активности СОД и Г-6-ФДГ между группами крыс; показана тенденция к повышению активности ГП в зависимости от интенсивности нагрузки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Даценко А.В. Регистрация показателей физической выносливости биообъектов при беге на тредбане и плавании с отягощением с помощью компьютерного безмаркерного видеотрекинга. Саратовский научно-медицинский журнал. 2014; 10 (4): 776–771.
2. Ji L.L., Leichtweis S. Exercise and oxidative stress sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. Age. 1997; 20: 91–106.
3. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса; 2006. 400.
4. Меерсон Ф.З., Пиенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина; 1988. 256.
5. Senturk U.K., Gunduz F., Kuru O., Aktekin M.R., Kipmen D., Yalcin O., Bor-Kucukatay M., Yesilkaya A., Baskurt O.K. Exercise-induced stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats. J. Appl Physiol. 2001; 91: 1999–2004.
6. Kuhn V., Diederich L., Keller T.C.S., Kramer C.M., Lückstädt W., Panknin C., Suvorava T., Isakson B.E., Kelm M., Cortese-Krott M.M. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia. Antioxidants Redox Signaling. 2017; 26 (13): 718–742. DOI: 10.1089/ars.2016.6954.
7. Arese P., Gallo V., Pantaleo A., Turrini F. Life and death of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient erythrocytes – role of redox stress and band 3 modifications. Transfus. Med. Hemother. 2012; 39: 328–334. DOI: 10.1159/000343123.
8. Stanojevic D., Jakovljevic V., Barudzic N., Zivkovic V., Srejovic I., Parezanovic Ilic K., Cubrilo D., Ahmetovic Z., Peric D., Rosic M., Radovanovic D., Djordjevic D. Overtraining Does Not Induce Oxidative Stress and Inflammation in Blood and Heart of Rats. Physiol. Res. 2016; 65: 81–90.
9. Stone V., Kudo K.Y., Marcelino T.V., August P.M., Matte C. Swimming exercise enhances the hippocampal antioxidant status of female Wistar rats. Redox Report. 2015; 20: 133–138. DOI: 10.1179/1351000214Y.0000000116.
10. Sun Y., Cui D., Zhang Z., Zhang T., Shi J., Jin H., Ge Z., Ji L., Ding S. Attenuated oxidative stress following acute exhaustive swimming exercise was accompanied with modified gene expression profiles of apoptosis in the skeletal muscle of mice. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016; 2016: Article ID 8381242. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8381242> (дата обращения: 15.03.2020).

11. *Georgakouli K., Fatouros I.G., Draganidis D., Papanikolaou K., Tsimeas P., Deli C.K., Jamurtas A.Z.* Exercise in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency: Harmful or Harmless? A Narrative Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019; 2019: 8060193.
12. *Cherkas A., Holota S., Mdzinarashvili T., Gabbianelli R., Zarkovic N.* Glucose as major antioxidant: when, what for and why it fails? *Antioxidants*. 2020; 9: 140. DOI: 10.3390/antiox9020140.
13. *Brito A.F., Silva A.S., Souza I.L.L., Pereira J.C., Silva B.A.* Intensity of swimming exercise influences aortic reactivity in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2015; 48 (11): 996–1003.
14. *Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Берзин И.А., Капанадзе Г.Д., Фокин Ю.В., Семенов Х.Х., Станкова Н.В., Болотова В.Ц.* Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на работоспособность: методические рекомендации. Москва; 2014. 134.
15. *Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А.* Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1998; 6: 10–14.
16. *Моин В.М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1986; 12: 724–727.
17. *Uchida K., Kawakishi S.* Identification of oxidized histidine generated at the active site of Cu, Zn-superoxide dismutase exposed to H₂O₂. selective generation of 2-oxo-histidine at the histidine 118. *J. Biol. Chem*. 1994; 269 (4): 2405–2410.
18. *Kang J.H.* Modification and inactivation of Cu, Zn-superoxide dismutase by the lipid peroxidation product, acrolein. *BMB Rep*. 2013; 46 (11): 555–560. DOI: 10.5483/BMBRep.2013.46.11.138.
19. *Dick T.P., Ralser M.* Metabolic Remodeling in Times of Stress: Who Shoots Faster than His Shadow? *Molecular Cell*. 2015; 59: 519–521. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2015.08.002> (дата обращения: 15.03.2020).
20. *Макеева А.В., Луцки М.В., Болотских В.И., Попова Т.Н.* Регуляция активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на фоне развития токсического гепатита и экзогенного действия липоевой кислоты. *Вестник новых медицинских технологий*. 2018; 3. DOI: 10.24411/2075-4094-2018-16035.
21. *Bogdanova O.V., Kanekara S., Ā. Ancid K.E.D., Renshawa P.F.* Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiol. Behav*. 2013; 118: 227–239.
22. *Qin L., Yao Z., Chang Q., Zhao Y., Liu N., Zhu X., Liu Q., Wang L., Yang A., Gao C., Li J.* Swimming attenuates inflammation, oxidative stress and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced colitis. *Oncotarget*. 2017; 8 (5): 7391–7404.
23. *Radak Z., Zhao Z., Koltai E., Ohno H., Atalay M.* Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxidants Redox Signaling*. 2013; 18 (10): 1208–1246. DOI: 10.1089/ars.2011.4498.
24. *Балыкин М.В., Сагидова С.А., Жарков А.В.* Изменения газового состава крови и процессы свободнорадикального окисления липидов в миокарде при адаптации к физическим нагрузкам. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101 (9): 1007–1012.
25. *Kawamura T., Muraoka I.* Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. *Antioxidants*. 2018; 7: 119. DOI: 10.3390/antiox7090119.
26. *Ammar A., Trabelsi K., Boukhris O., Glenn J.M., Bott N., Masmoudi L., Hakim A., Chtourou H., Driss T., Hoekelmann A., Abed K.E.L.* Effects of aerobic-, anaerobic- and combined-based exercises on plasma oxidative stress Biomarkers in healthy untrained young adults. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17 (7): 2601.
27. *Johnson B.D., Padilla J., Wallace J.P., Johnson B.D.* The exercise dose affects oxidative stress and brachial artery flow-mediated dilation in trained men. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2012; 112: 33–42. DOI: 10.1007/s00421-011-1946-8.

Поступила в редакцию 24.07.2020; принята 18.10.2020.

Авторский коллектив

Шадрина Вера Дмитриевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии, Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. 167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Первомайская, 50; e-mail: Vera.shadrina56@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4553-6218>.

Вахнина Надежда Алексеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии, Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. 167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Первомайская, 50; e-mail: vakhnina80@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0779-5171>.

Бойко Евгений Рафаилович – доктор медицинских наук, профессор, отдел экологической и медицинской физиологии, Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. 167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Первомайская, 50; e-mail: erbojko@physiol.komisc.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8027-898X>.

Образец цитирования

Шадрина В.Д., Вахнина Н.А., Бойко Е.Р. Активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах нетренированных крыс в плавательном тесте «до отказа». Ульяновский медико-биологический журнал. 2020; 4: 133–141. DOI: 10.34014/2227-1848-2020-4-133-141.

ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE, GLUTATHIONE PEROXIDASE, GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE IN ERYTHROCYTES OF UNTRAINED RATS IN “TO-MUSCULAR-FAILURE” SWIMMING TEST

V.D. Shadrina, N.A. Vakhnina, E.R. Boyko

Institute of Physiology, Komi Scientific Center,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktывkar, Russia

For an untrained organism, physical activity is physiologically stressful. The stress is accompanied by an increase in reactive oxygen intermediates. Their level in the cell is regulated by antioxidant enzymes.

The aim of the paper to study the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-FDH) in erythrocytes under single physical load (FL) of different intensity.

Materials and Methods. The authors tested male Wistar rats aged 3 months. The animals were divided into seven groups: vivarium control (VC); rats who were swimming for 60 minutes without added weight (moderate intensity load (MIL)); four groups participating in load-testing: low-intensity FL (LI) – swimming with a load of 2 % of body weight; high-intensity FL (HI) – swimming with a load of 8 %, 10 % and 15 % of body weight (HI8, HI10, HI15). Animals of the seventh group (OS) were in the shallows for 60 min without the opportunity to swim in order to induce oxidative stress without physical load.

Results. In all groups, the authors observed a significant decrease in SOD activity and a significant increase in GP and G-6-FDH activity relative to VC. The greatest decrease in SOD activity was in the OS and MIL groups (by 36 % and 33.5 %, $p < 0.01$). During load testing, MIL group demonstrated a decrease in SOD activity by 29 % ($p < 0.01$), in HI groups – by 25%, 26% and 22 %, respectively ($p < 0.05$). GP and G-6-FDH activity increased in all experimental groups ($p < 0.05$), GP activity increased in OS group by 78 %, G-6-FDH activity increased in OS and MIL groups by 160 %.

Conclusion. When exposed to a single physical load of varying intensity, there was a decrease in SOD activity and an increase in GP and G-6-FDH activity relative to control. There were no differences in SOD and G-6-FDH activity between groups of swimming rats. There was a tendency to GP activity increase depending on the load intensity.

Keywords: superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, erythrocytes, physical load.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Datsenko A.V. Registratsiya pokazateley fizicheskoy vynoslivosti bioob"ektov pri bege na tredbane i plavanii s otyagoshcheniem s pomoshch'yu komp'yuternogo bezmarkernogo videotrekinga [Registration of indicators of physical endurance of biological objects when running on a treadmill and swimming with weights using computer markerless video tracking]. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2014; 10 (4): 776–771 (in Russian).

2. Ji L.L., Leichtweis S. Exercise and oxidative stress sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. *Age*. 1997; 20: 91–106.
3. Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funktsional'noy aktivnosti kletok (zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie). Fiziologicheskie i kliniko-biokhimicheskie aspekty* [Oxygen metabolism products in functional cell activity (life and death, creation and destruction). Physiological, clinical and biochemical aspects]. St. Petersburg: Meditsinskaya pressa; 2006. 400 (in Russian).
4. Meerson F.Z., Pshennikova M.G. *Adaptatsiya k stressornym situatsiyam i fizicheskim nagruzkam* [Adaptation to stressful situations and physical activity]. Moscow: Meditsina; 1988. 256 (in Russian).
5. Senturk U.K., Gunduz F., Kuru O., Aktekin M.R., Kipmen D., Yalcin O., Bor-Kucukatay M., Yesilkaya A., Baskurt O.K. Exercise-induced stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats. *J. Appl Physiol*. 2001; 91: 1999–2004.
6. Kuhn V., Diederich L., Keller T.C.S., Kramer C.M., Lückstädt W., Panknin C., Suvorava T., Isakson B.E., Kelm M., Cortese-Krott M.M. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia. *Antioxidants Redox Signaling*. 2017; 26 (13): 718–742. DOI: 10.1089/ars.2016.6954.
7. Arese P., Gallo V., Pantaleo A., Turrini F. Life and death of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient erythrocytes – role of redox stress and band 3 modifications. *Transfus. Med. Hemother.* 2012; 39: 328–334. DOI: 10.1159/000343123.
8. Stanojevic D., Jakovljevic V., Barudzic N., Zivkovic V., Srejovic I., Parezanovic Ilic K., Cubrilo D., Ahmetovic Z., Peric D., Rosic M., Radovanovic D., Djordjevic D. Overtraining Does Not Induce Oxidative Stress and Inflammation in Blood and Heart of Rats. *Physiol. Res*. 2016; 65: 81–90.
9. Stone V., Kudo K.Y., Marcelino T.V., August P.M., Matte C. Swimming exercise enhances the hippocampal antioxidant status of female Wistar rats. *Redox Report*. 2015; 20: 133–138. DOI: 10.1179/1351000214Y.0000000116.
10. Sun Y., Cui D., Zhang Z., Zhang T., Shi J., Jin H., Ge Z., Ji L., Ding S. Attenuated oxidative stress following acute exhaustive swimming exercise was accompanied with modified gene expression profiles of apoptosis in the skeletal muscle of mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016; 2016: Article ID 8381242. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8381242> (Accessed: 15.03.2020).
11. Georgakouli K., Fatouros I.G., Draganidis D., Papanikolaou K., Tsimeas P., Deli C.K., Jamurtas A.Z. Exercise in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency: Harmful or Harmless? A Narrative Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019; 2019: 8060193.
12. Cherkas A., Holota S., Mdzinarashvili T., Gabbianelli R., Zarkovic N. Glucose as major antioxidant: when, what for and why it fails? *Antioxidants*. 2020; 9: 140. DOI: 10.3390/antiox9020140.
13. Brito A.F., Silva A.S., Souza I.L.L., Pereira J.C., Silva B.A. Intensity of swimming exercise influences aortic reactivity in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2015; 48 (11): 996–1003.
14. Karkishchenko N.N., Karkishchenko V.N., Shustov E.B., Berzin I.A., Kapanadze G.D., Fokin Yu.V., Semenov Kh.Kh., Stankova N.V., Bolotova V.Ts. *Biomeditsinskoe (doklinicheskoe) izuchenie lekarstvennykh sredstv, vliyayushchikh na rabotosposobnost': metodicheskie rekomendatsii* [Biomedical (preclinical) study of drugs affecting performance: Guidelines]. Moscow; 2014. 134 (in Russian).
15. Galaktionova L.P., Molchanov A.V., El'chaninova S.A. Sostoyanie perekisnogo okisleniya u bol'nykh s yazvennoy boleznyu zheludka i dvenadtsatiperstnoy kishki [Peroxidation in patients with gastric and duodenal ulcer]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 1998; 6: 10–14 (in Russian).
16. Moin V.M. Prostoy i spetsificheskiy metod opredeleniya aktivnosti glutationperoksidazy v eritrotsitakh [Simple and specific method to determine glutathione peroxidase activity in erythrocytes]. *Laboratornoe delo*. 1986; 12: 724–727 (in Russian).
17. Uchida K., Kawakishi S. Identification of oxidized histidine generated at the active site of Cu, Zn-superoxide dismutase exposed to H₂O₂. selective generation of 2-oxo-histidine at the histidine 118. *J. Biol. Chem*. 1994; 269 (4): 2405–2410.
18. Kang J.H. Modification and inactivation of Cu, Zn-superoxide dismutase by the lipid peroxidation product, acrolein. *BMB Rep*. 2013; 46 (11): 555–560. DOI: 10.5483/BMBRep.2013.46.11.138.
19. Dick T.P., Ralser M. Metabolic Remodeling in Times of Stress: Who Shoots Faster than His Shadow? *Molecular Cell*. 2015; 59: 519–521. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2015.08.002> (Accessed: 15.03.2020).

20. Makeeva A.V., Lushchik M.V., Bolotskikh V.I., Popova T.N. Regulyatsiya aktivnosti glyuko-6-fosfatdehidrogenazy na fone razvitiya toksicheskogo gepatita i ekzogenogo deystviya lipovoy kisloty [Regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity associated with toxic hepatitis development and exogenous action of lipoic acid]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2018; 3. DOI: 10.24411/2075-4094-2018-16035 (in Russian).
21. Bogdanova O.V., Kanekara S., D. Ancid K.E.D., Renshawa P.F. Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiol. Behav.* 2013; 118: 227–239.
22. Qin L., Yao Z., Chang Q., Zhao Y., Liu N., Zhu X., Liu Q., Wang L., Yang A., Gao C., Li J. Swimming attenuates inflammation, oxidative stress and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced colitis. *Oncotarget*. 2017; 8 (5): 7391–7404.
23. Radak Z., Zhao Z., Koltai E., Ohno H., Atalay M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxidants Redox Signaling*. 2013; 18 (10): 1208–1246. DOI: 10.1089/ars.2011.4498.
24. Balykin M.V., Sagidova S.A., Zharkov A.V. Izmeneniya gazovogo sostava krovi i protsessy svobodnoradikal'nogo okisleniya lipidov v miokarde pri adaptatsii k fizicheskim nagruzkam [Changes in blood gas composition and free radical oxidation of lipids in the myocardium during adaptation to physical load]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2015; 101 (9): 1007–1012 (in Russian).
25. Kawamura T., Muraoka I. Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. *Antioxidants*. 2018; 7: 119. DOI: 10.3390/antiox7090119.
26. Ammar A., Trabelsi K., Boukhris O., Glenn J.M., Bott N., Masmoudi L., Hakim A., Chtourou H., Driss T., Hoekelmann A., Abed K.E.L. Effects of aerobic-, anaerobic- and combined-based exercises on plasma oxidative stress Biomarkers in healthy untrained young adults. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17 (7): 2601.
27. Johnson B.D., Padilla J., Wallace J.P., Johnson B.D. The exercise dose affects oxidative stress and brachial artery flow-mediated dilation in trained men. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2012; 112: 33–42. DOI: 10.1007/s00421-011-1946-8.

Received 24 July 2020; accepted 18 October 2020.

Information about the authors

Shadrina Vera Dmitrievna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, Department of Environmental and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Republic of Komi, Syktyvkar, GSP-2, Pervomayskaya St., 50; e-mail: Vera.shadrina56@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4553-6218>.

Vakhnina Nadezhda Alekseevna, Candidate of Sciences (Biology), Senior Researcher, Department of Environmental and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Republic of Komi, Syktyvkar, GSP-2, Pervomayskaya St., 50; e-mail: vakhnina80@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0779-5171>.

Boyko Evgeniy Rafailovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Department of Environmental and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Republic of Komi, Syktyvkar, GSP-2, Pervomayskaya St., 50; e-mail: erbojko@physiol.komisc.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8027-898X>.

For citation

Shadrina V.D., Vakhnina N.A., Boyko E.R. Aktivnost' superoksiddismutazy, glutationperoksidazy, glyuko-6-fosfatdehidrogenazy v eritrotsitakh netrenirovannykh krysv v plavatel'nom teste «do otkaza» [Activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glucose-6-phosphate dehydrogenase in erythrocytes of untrained rats in “to-muscular-failure” swimming test]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2020; 4: 133–141. DOI: 10.34014/2227-1848-2020-4-133-141 (in Russian).