МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет физико-математических и естественных наук

Кафедра «Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.03.01 Биология
Профиль подготовки Биохимия
Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему:

«ИЗУЧЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЕ»

Студент Орлова Орлова Елена Сергеевна

Руководитель _____ Соловьев В.Б.

Нормоконтролер _____ Кручинина А.Д.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 15.06.20 № 13)

Заведующий кафедрой _____ Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично
(протокол заседания ГЭК от 24.06.20 № 5)

Секретарь ГЭК _____ Клыченков С.В.

Пенза, 2020

СОДЕРЖ АНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 7

1.1 Регуляторные пептиды и их обмен 7

1.1.1 Классификация регуляторных пептидов 9

1.1.2 Ферменты обмена регуляторных пептидов 12

1.2 Влияние физической работы на метаболизм человека 14

1.2.1 Влияние физической работы на гормональную систему 19

1.2.2 Влияние физической работы на уровень регуляторных пептидов у человека 21

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 23

2.1 Материалы исследования 23

2.2 Создание ступенчато повышающейся физической нагрузки 24

2.3 Определение уровня пептидов 24

2.4 Определение глюкозы и лактата в крови 26

2.5 Статистическая обработка 26

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ 27

3.1 Уровни соматотропина, инсулиноподобного фактора роста-1, лютеинизирующего гормона, фолликулостимулирующего гормона, пролактина и люлиберина в сыворотке крови 27

3.2 Уровни инсулина, глюкагона, лептина, глюкозы и лактата 30

3.3 Уровни адренокортикотропного гормона, вещества Р, кортизола и кортизона 32

3.4 Активность лейцинаминопептидазы и пептидилдипептидазы А 35

3.5 Изучение влияния физической нагрузки на уровни лактата и глюкозы у спортсменов……...37
ВЫВОДЫ 39
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 40

ВВЕДЕНИЕ

Биохимические изменения, возникающие при физической работе у человека, зависят в той или иной степени от ее продолжительности и силы, все эти изменения мы наблюдаем в крови, моче, внутренних органах, мышечной ткани и т.д. Достигнув своего максимального уровня, все эти биохимические изменения начинают негативно влиять на организм, приводя к снижению работоспособности. В связи с этим биохимия сконцентрировала свое внимание на нейропептидах, которые являются важными факторами в регуляции метаболизма, обезболивании при повреждениях, контроле в иммунной системе, адаптации к стрессу, половом созревании и многом другом. Исследования на протяжении многих лет доказывают участие многих регуляторных пептидов в реакциях адаптации при физической работе.

Регуляторные пептиды – группа биологически активных веществ, которые представляют собой цепи, состоящие из аминокислотных остатков. Играют важную роль в регуляции и реализации функций организма, они образуются и содержатся практически во всех органах и тканях организма, в основном богат ими головной мозг. Интерес к ним возник в 1970-х в Нидерландах после работ исследователей. В настоящее время известно более 1000 видов регуляторных пептидов. Различают олигопептиды (состоят из 10-20 числа аминокислотных остатков) и полипептиды (более крупные). Они образуются путем сложного, многоступенчатого выщепления пептида-предшественника. Наибольшая часть регуляторных пептидов представляют собой линейные пептиды, С-концевые аминокислоты в них нередко амидированы, а N-концевые остатки глутаминовой кислоты в виде пироглутамата [1].

Классификация регуляторных пептидов строится на основе трех принципов: функционального, структурного и по месту синтеза, по мимо этого название некоторых регуляторных пептидов не всегда соответствует их

физиологической активности, а может быть связано с источником их открытия, на основе этого выделяют несколько семейств: либерины и статины, опиоидные пептиды, АКТГ (адренокортикотропный гормон), панкреатические пептиды, вазопрессин и окситоцин, бомбезины, кинины, тахикинины, нейротензины, кальцитонины, эндотелины, ангиотензины.

Физическая работа вызывает увеличения целого ряда регуляторных пептидов в отделах центральной нервной системы в крови человека, например результаты исследования нейропептидов многих исследователей, показали увеличение уровня вещества Р в крови после бега.

Зная пути образования регуляторных пептидов и их инактивации (частичная или полная потеря активности), мы сможем регулировать концентрацию тех форм нейропептидов, от которых зависит результат спортсменов при физических нагрузках.

Практическое применение регуляторных пептидов актуально не только в спортивной деятельности но и в медицине, в основном это гормоны, такие как: адренокортикотропный гормон, инсулин, соматотропный гормон, вазопрессин, окситоцин и другие.

Целью данной работы является изучение концентрации регуляторных пептидов при физической работе у человека в сыворотке крови.

В соответствии с поставленной целью были выделены ниже представленные задачи:

- изучение уровня регуляторных пептидов в сыворотке крови у мастеров спорта в покое и во время физических нагрузок;
- изучение уровня регуляторных пептидов в сыворотке крови у нетренированных лиц в покое и во время физических нагрузок;
- исследование влияния регуляторных пептидов в сыворотке крови на организм у нетренерованных лиц и мастеров спорта в покое и во время физических нагрузок.

Выпускная квалификационная работа написана на 45 листах, содержит 6 рисунков, 1 таблицу и список литературы на русском и английском языках из 61 источника.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Регуляторные пептиды и их обмен

Регуляторные пептиды или нейропептиды – это группа активных веществ имеющих пептидную природу и состоящие из нескольких десятков аминокислотных остатков. Регуляторные пептиды имеют важную значимость в регуляции и реализации физиологических реакций организма, например, адаптационный процесс, участвуют в формировании полового поведения, влияют на состояние сердечно-сосудистой системы, эндокринной, пищеварительной, изменяют энергетический обмен в организме, участвуют передаче информации внутри клеток и тканей, так же оказывают большой спектр влияния как нейромодуляторы, медиаторы [1, 22, 24, 29, 45].

Интерес же к регуляторным пептидам и их исследованию появился в 1970-х годах после работ группы исследователей в Нидерландах [1]. На данное время, существуют затруднения в их определении и классификации, сама же классификация базируется на основе их структуры, функций и синтеза в организме. Основными наиболее изученными семействами регуляторных пептидов являются либерины и статины, опиоидные пептиды, АКТГ, вазопрессин и окситоцин.

В настоящее время можно так же сказать о том, что любая физическая нагрузка может вызвать сдвиг на уровне регуляторных пептидов в той или иной степени, что было доказано большинством исследователей прошлых лет [1,4,6,42]. Одну из преимущественно главных ролей в адаптации при физических нагрузках играет гипоталамо-гипфизарно-надпочечнико-гонадная система, а ее активация ведет к увеличению уровня гормонов гипофиза и рилизинг-факторов гипоталамуса [7, 23, 46].

Большинство регуляторных пептидов были обнаружены как в ЦНС (центральная нервная система) так и в периферических органах, например ВИП (вазоактивный интестинальный пептид) и нейропептид Y были

обнаружены в головном мозге и в желудочно-кишечном тракте [23, 60]. Было доказано, что высвобождающийся в кровь регуляторный пептид из какого-то определенного участка организма, может оказывать стимулирующее или тормозное воздействие на выброс других гормонов, это дало осознание того, что существуют каскадные процессы в их системе. При этом, благодаря данным каскадным процессам эффект от единичного введения пептида сохраняется длительный промежуток времени, а время существования самого пептида не менее нескольких минут [20].

Существует два пути образования регуляторных пептидов:

- нерибосомальный – при участии ферментов синтетаз;
- рибосомальный – он связан с рибосомами, которые локализуются на мембранах ЭПР (эндоплазматический ретикулум). Неактивные высокомолекулярные предшественники преобразуются в активную форму в результате органического протеолиза.

Большая часть нейропептидов образуется из крупных неактивных белков – предшественников (препропептиды) благодаря ключевым ферментам (протеазы), в определенный момент они вырезают нужную последовательность аминокислот, при этом из одного предшественника может образоваться целый ряд пептидов, сами же белки – предшественники образуются, в результате трансляции в рибосомах. В состав белка – предшественника входит несколько или одна последовательностей нейропептидов и сигнальная последовательность, она способствует перемещению белка – предшественника внутри клетки в течение первых нескольких минут, после окончания трансляции [11, 41].

В некоторых случаях образование нейропептидов и их процессов распада переплетаются друг с другом [1]. Например, распад нейропептида бета-эндорфина (имеющий уникальное функциональное значение), ведет к образованию гамма-эндорфина (так же нейропептид имеющий уникальное функциональное значение), отщепление концевого аминокислотного остатка у гамма-эндорфина ведет к образованию альфа-эндорфина и т.д.

Для всех регуляторных пептидов есть ряд общих специфических особенностей в процессинге препропептидов и структуре [1, 11]:

- на N – конце сигнальной последовательности находится от 15 до 20 гидрофобных аминокислотных остатков, её функция состоит в транслокации синтезируемого пептида;
- в структуре белков – предшественников. Регуляторные пептиды, находящиеся в составе белков – предшественников, с двух сторон ограничены парами остатков лизина и аргинина;
- предшественники регуляторных пептидов могут содержать несколько копий различных пептидов, например проопиомеланокортина - мет – энкефалина и т.д.

1.1.1 Классификация регуляторных пептидов

Регуляторные пептиды имеют большой спектр влияния на биологические системы регуляций организма, начиная с иммунной и до регуляции центральной нервной системы (ЦНС) [56, 57]. Точной и определенной классификации регуляторных пептидов нет, это затруднение можно объяснить тем, что они многофункциональны, то есть один и тот же пептид может определять работу нескольких систем в организме и одна биологическая функция, может изменяться под воздействием разных групп регуляторных пептидов [1, 2, 41, 54].

В основу определения современной классификации регуляторных пептидов вносят такие данные как химическое строение, происхождение, физиологическая активность, функции и локализация.

Благодаря приведенным выше данным о классификации, можно выделить несколько основных семейств регуляторных пептидов [1]:

1. Либерины (усиливают синтез и секрецию определенного гормона) и статины (имеют подавляющее действие) гипоталамуса, одна из самых основных их функций, это регуляция выхода гормонов гипофиза [18].

Тиролиберин, кортиколиберин, лютропин, соматолиберин, соматостатин, меланостатин;

2. Опиоидные пептиды. В отличии от либеринов и статинов имеют общие особенности структуры, в качестве активного центра содержат мет-, лей-энкефалиновые последовательности (YGGFM,YGGFL) или аналоги. Имеют обезболивающее свойства, осуществление которых происходит через те же рецепторы (у человека существует несколько типов опиатных рецепторов мю, дельта, каппа), на которые оказывают действия наркотические опиаты. Они способны влиять на наше эмоциональное поведение, вызывать чувство эйфории, блокировать сигнал боли, модулируют секрецию гормонов, оказывают тормозящее действие на ЦНС, оказывать влияние на память и обучаемость, так же данные пептиды способны вызывать признаки привыкания, угнетения дыхания и сердечной деятельности, что характерно для наркотиков. Биологический эффект опиода подавляется антагонистом – налоксон. Источниками данной группы пептидов являются гипофиз, надпочечники, продукты неполного гидролиза казеина и глютена. Производные ПОМК (проопиомеланокортина) – альфа-, бета-, гамма- эндорфин и мет- энкефалин, производные препродинорфина – динорфины, лей-энкефалин, альфа-, бета-неоэндорфин, леуморфин, риморфин и производные препроэнкефалин – динорфины, энкефалины [1, 12, 21]. Помимо данных примеров в организме так же обнаружены опиоиды не пептидной природы, например сальсолинол, бета-карболины (интенсивно образующиеся при алкоголизме) и небольшое количество кодеина и морфина, которые никак не связаны с алкоголизмом, наркотиками;

3. Вазопрессин (сокращает периферические артериолы и капилляры, тем самым повышает артериальное давление крови, оказывает действие на мочеобразование, улучшает память) и окситоцин (стимулятор мускулатуры матки и лактации, ослабляет память), выделены из нервной ткани. Объединяются общностью структуры и местом секреции. Синтезируются в гипоталамусе и при помощи специальных белков

переносчиков поступают в нейрогипофиз. Их секреция осуществляется в ответ на возбуждение определенных нейронов, например, стимулом секреции вазопрессина является изменение артериального и осмотического давления, а окситоцина нервные импульсы при кормлении молоком. Арг-, лиз-вазопрессин, окси-, мезо-, изо-, вазотоцин;

4. АКТГ – гипофизарный гормон (адренокортикотропный гормон). Влияет на процесс памяти, внимания и обучаемости, синтезируется клетками передней доли гипофиза, контролирует синтез и секрецию глюкокортикоидов (кортизол, кортизон, кортикостерон). Увеличение уровня данного гормона при физической работе наблюдается у не тренированных лиц, что является характерным ответом для стресс-реакции [15, 25, 19, 46, 55];

5. Панкреатические пептиды. Стимулируют выборотку желудочного сока, уменьшают аппетит, усиливают пищедобывательное поведение [60]. Пептид тирозин – тирозин PYY и панкреатический полипептид PPY, нейропептид Y (HnY);

6. Другие пептиды;

- бомбезины (бомбезин – снижает температуру тела и регулирует секрецию желудочно-кишечного тракта, участвует в процессе запоминания, гастрин-рилизинг пептид, литорин);
- кинины – брадикинин, каллидин;
- эндозепины (негативный регулятор ГАМК рецепторов, участвуют в появлении тревожных состояний, их количество увеличивается при старении и стрессах);
- тахикинины (вещество Р – открыт в 1931 году, в большом количестве содержится в гипоталамусе, субстанции nigra, регулирует ощущение боли и двигательную активность, имеет широкий спектр воздействия, один из первых нейропептидов определенный как нейромедиатор в проведении сенсорных импульсов) [44];

- нейротензины (нейротензин - снижает температуру, оказывает влияние на сокращение гладкой мускулатуры, нейромедин – снижает аппетит);
- кальцитонины (калицитонин – учуствует в поддержании водно-солевого баланса);
- эндотелины – эндотелин I, II, III;
- ангиотензины – ангиотензины I, II, III.

В заключении можно сказать, что нейропептиды являются межклеточными передатчиками информации, которые выполняют функции нейромедиаторов, нейромодуляторов одновременно. Каждый представленный нами нейропептид обладает своеобразной биологической активностью [39, 49, 50].

Представленная классификация характеризуется неполнотой ряда пептидов, она не предусматривает все их свойства и их сочетаний у большинства пептидов, общее число известных нам пептидов образует более 40 семейств.

1.1.2 Ферменты обмена регуляторных пептидов

По своей локализации ферменты обмена регуляторных пептидов подразделяют на две группы [1, 13, 17]:

- ферменты ЭПР (эндоплазматический ретикулум), секреторных везикул - карбоксипептидаза Н (КП Н, КФ 3.4.17.10), аминопептидаза В – подобный фермент (АП В) и т.д. Роль данных ферментов состоит в образовании активных форм регуляторных пептидов (процессинг);
- ферменты внеклеточной жидкости, наружной поверхности цитоплазматической мембраны – карбоксипептидаза N (КП N, КФ 3.4.12.7), ангиотензинпревращающий фермент (КФ 3.4.15.1), аминопептидазы (АП) и т.д. Принимают участие в процессинге и инактивации (потеря активности, полная или частичная) регуляторных пептидов.

Можно сделать небольшой, краткий вывод о том, что ключевая роль в регуляции уровня активных регуляторных пептидов и в запуске реакций их воздействия на организм, принадлежит ферментам последней стадии инактивации и процессинга [4, 5].

1. Карбоксипептидаза Н (КП Н, энкефалинконвертаза, карбоксипептидаза Е, КФ 3.4.17.10) - выделена в 1982 году из хромаффинных гранул надпочечников быка. Состоит из одной полипептидной цепи и имеет две формы, растворимая и мембраносвязанная [9]. Максимальная активность при значении pH 5,5-6,0. Отщепляет остатки аргинина и лизина с С - конца неактивных пептидов, принимает участие в инактивации активных пептидов. Участвует в процессинге регуляторных пептидов таких как вещество Р, инсулин вазопрессин и окситоцин, пролактин. Данный фермент вначале синтезируется как неактивный зимоген, а далее по ходу созревания секреторных везикул переходит в активную форму с Mr 52000 - 53000 и 55000 – 57000, которые отличаются N-концевым сигнальным пептидом, данные виды могут существовать как в растворимой, так и в мембраносвязанной форме. В отличие от растворимой, у мембраносвязывающей формы присутствует С - концевая амфифильная последовательность, которая состоит из 21 остатка гидрофобных и гидрофильных аминокислот, обеспечивающая связывание фермента с мембраной, при этом в ней находится Ca^{2+} связывающий участок (ионы Ca^{2+} оказывают влияние на стабильность и связываение с мембранами), так же данный фермент активируется ионами Co^{2+}, Ni^{2+}, ингибируется ионами Cd^{2+} , Cu^{2+} [4, 9, 46, 48].

Самая высокая активность карбоксипептидазы Н проявляется в аденогипофизе, хромаффинных гранулах надпочечников, островках Лангерганса, средняя в задней доли гипофиза, гипоталамусе, коре больших полушарий, низкая в спинном мозге, сердце, печени, почках [4,10,35];

2. Карбоксипептидаза N (КПN, аргинин-карбоксипептидаза, КФ 3.4.12.7) - данный фермент открыт в 1962 году, по своим свойствам близок к

панкреатической карбоксипептидазе В, но отличается тем, что не имеет неактивного предшественника. Относится к ферментам второй группы. Область локализации плазма крови и стенка кровеносных сосудов [8,36,51].

КПN состоит из четырех субъединиц 3 типов: двух с молекулярной массой 88 кДа (нет ферментативной активности) и по одной которые обладают ферментативной активностью 55 кДа и 48 кДа. Оптимум pH каталитической активности 7,0-7,8. Имеет способность отщеплять С-концевой аргинин в брадикинине, регулировать АД (артериальное давление), участвует в процессинге энкефалинов, регулирует множество биологических процессов [8,10,36,59].

3. Ангиотензинпревращающий фермент (АПФ, дипептидил-карбоксипептидаза А, КФ 3.4.15.1) он выделен и очищен из различных тканей животных. В мозге и всех остальных тканях (за исключением семенников) обнаружена лишь эндотелиальная форма, которая состоит из одной полипептидной цепи и двух гомологичных доменов, каждый из них имеет активный центр и центр связывания Zn^{2+},

1.2 Влияние физической работы на метаболизм человека

Мышечная работа - это сильный стимулятор биохимических изменений и обмена веществ во всём организме [11].

Метаболизм (обмен веществ) - это совокупность различных многоэтапных химических процессов в организме, происходящих при участии ферментов. Он отвечает за поддержание роста и развития всего организма, преобразование калорий в энергию, ответ организма на изменение окружающей среды, размножение и многое другое [24, 33, 35]. Вещества (продукты), которые образуются в результате обмена веществ, выводятся из организма через легкие, кожу, почки.

Множество факторов могут повлиять на скорость обмена веществ, к ним относят [31, 33]: возраст человека. В процессе взросления физическая

активность человека снижается, происходит снижение объема мышечной массы, поэтому у людей преклонного возраста обмен веществ замедленный; вес человека и мышечная масса. Научно доказано, что чем выше данный показатель, тем больше требуется затраты энергии для поддержания работоспособности; пол человека. В отличие от мужского организма мускулатура женщин менее развита, вследствие этого обмен веществ у мужчин происходит быстрее; время приема пищи и ее полезные свойства. Пища в которой присутствует минимум минералов, витаминов, жиров оказывает тормозящее действие на синтез гормонов приводя к замедленному метаболизму; генетика; бессонница, алкоголизм, курение и многое другое так же оказывает пагубное влияние на обмен веществ.

1. Белковый обмен. Белки или протеины - это высокомолекулярные органические вещества. Они являются одним из основных строительным материалом тканевых структур, являются переносчиком кислорода, осуществляют сокращение мышц, выступают как буферные системы, имеют значение как источник энергии и многое другое [30].

О нормальном восстановлении и распаде белков мы можем судить по содержанию мочевины в крови при физической работе, которая нормализуется при отдыхе. Безазотистый остаток может быть превращен в углеводы, жиры, либо окисляется до воды и углекислого газа. Состояние белкового обмена можно судить по азотистому равновесию [27, 30, 32,].

Синтез белков требует достаточно большой затраты энергии поэтому при однократных физических нагрузках он подавлен, так как энергетические запасы мышечных клеток направлены на сокращение, так же при воздействии физической работы увеличивается содержание структурных, сократительных белков, это приводит к увеличению мышечной массы [27, 30, 32,].

2. Углеводный обмен. Углеводы - это органические вещества. В сутки вместе с пищей в наш организм поступает до 500 грамм углеводов. К основным углеводам можно отнести клетчатку, крахмал, лактозу, сахарозу и

гликоген, они присутствуют в каждой клетке организма и могут выполнять различные функции, например энергетическая, строительная, защитная, запасающая и др.

Моносахариды, не расщепляются в желудочно-кишечном тракте, к ним относятся глюкоза, фруктоза, галактоза. Дисахариды, расщепляются в желудочно-кишечном тракте на два моносахарида, к ним относятся мальтоза, лактоза, сахароза. Полисахариды, в отличие от моно- и дисахаридов это крупные молекулы, соединенные между собой, которые состоят из множества остатков моносахаридов, к ним относятся гликоген и крахмал [27].

Глюкоза играет очень важную роль в метаболизме организма, так как является главным источником энергии. В нашем организме она расходуется на образование энергии, синтез гликогена, жиров и аминокислот. Значительное потребление глюкозы происходит скелетными мышцами, в них расщепление углеводов происходит в ходе анаэробных (одна молекула глюкозы превращается в 2 молекулы лактата и высвобождается энергия, данный способ получения энергии используется при не долгой физической нагрузке длительность которой не более 20 минут) и аэробных реакций (при этом образуется две молекулы пирувата, который вступает в реакции окисления и в результате которых на одну молекулу глюкозы образуется 30 молекул АТФ) [2, 6, 32].

3. Липидный обмен. Липиды представляют собой группу веществ биологического происхождения, представленные жирами и жироподобными веществами, они не растворяются в воде, но растворимы в органических растворителях, их обмен регулируется ЦНС (центральной нервной системой). В сутки с пищей мы потребляем до 100 грамм жиров. По изменению концентрации свободных жирных кислот в крови, которые образуются в пищеварительном тракте из жиров, контролируют уровень влияния липидов в процессах энергообеспечения мышечной деятельности, чем больше их освобождается из жировой ткани и их концентрация в крови

выше, тем больше их расход в мышцах как субстрат окисления. Пластическая роль жиров состоит в том, что они входят в состав цитоплазмы, играют роль в строении мембран [30, 32].

Для людей, которые занимаются спортом, рекомендуемо употребление липидов с низкой точкой плавления, они содержатся в молоке, кисломолочных продуктах. Перед высокой физической нагрузкой количество липидов в пище должно быть снижено, так как они плохо усваиваются. Если энергетических нагрузок мало, то жир откладывается в избытке в жировых депо. Регулярные физические нагрузки благоприятно влияют на обмен липидов и распределение жировой ткани в организме.

4. Водно-минеральный обмен. Содержание воды в организме взрослого человека составляет 60% от общей массы тела, при потере даже 5% возникает чувство сильной жажды, так же вода служит как универсальный растворитель, выполняет функцию терморегуляции, при физических нагрузках её выведение с потом возрастает. Так же в нашем организме 4% от массы тела составляют такие минеральные вещества как кальций, фосфор, калий, хлор, натрий и магний, которые относятся к макроэлементам, к микроэлементам можно отнести ферум, марганец, йод, цинк и другие, большая часть всех этих элементов содержится в костях, зубах нежели чем в мышцах, крови и внутренних органах, выводятся в составе мочи, кала и с потом. Вода и минеральные вещества влияют на рост и развитие всего организма в целом, участвуют в обмене веществ и в выведении продуктов обмена [30, 32].

Определение показателей метаболизма могут решить задачи комплексного обследования человека, например, осуществлять контроль за адаптацию, перестройку организма при физической работе, выполнять контроль, за функциональным состоянием организма, проводить диагностику патологических изменений организма, оценивать уровень физической подготовки человека и многое другое.

При различной физической нагрузке, в скелетных мышцах так же происходят биохимические изменения, например в образовании АТФ (аденозинтрифосфорная кислота) принимает участие гликоген, его запасы используются как главный источник энергии для работы мышц, поэтому его уровень концентрации в мышцах, в независимости от силы нагрузки снижается. Параллельно данному процессу происходит накопление лактата, что способствует увеличению осмотического давления, в результате которого в мышечные клетки (миоциты) поступает вода, и мышцы набухают. При длительной мышечной работе умеренной мощности распад гликогена происходит с потреблением кислорода, продуктами которого является вода и газ, они выводятся из миоцитов в кровь, поэтому в мышцах мы можем не обнаружить накопление лактата, а лишь не высокое содержание гликогена.

При выполнении силовых упражнений в мышцах увеличивается скорость распада белков, особенно тех которые входят в состав миофибрилл (органеллы которые обеспечивают сокращение мышц) поперечнополосатых мышц. Вследствие этого в крови увеличивается содержание кетокислот и продуктов их расщепления.

Достигнув определенного уровня при физической работе, происходит снижение работоспособности, биохимические показатели организма начинают оказывать негативное влияние на работоспособность и организм в целом. Особенностью биохимических исследований при физической нагрузке является то, что пробы на анализ берутся до физической нагрузки, во время выполнения и после.

Восстановление организма после физических нагрузок – это восстановление всех энергетических субстратов затраченных на данный процесс. При восстановлении организма после физической нагрузки, более информационным показателем служит мочевина, нормализация ее концентрации в крови свидетельствует о восстановлении синтеза белка в крови, а значит и организма [32, 33, 35].

Наблюдение и контроль, за процессами утомления и восстановления организма требуется для оценки переносимости нами физической нагрузки [32, 33].

1.2.1 Влияние физической работы на гормональную систему

Гормоны - это биологически активные вещества, вырабатываемые эндокринными железами, которые оказывают влияние на физиологические и биохимические процессы [61]. Они регулируют процессы метаболизма, функционирования органов, адаптацию и многое другое.

Мы знаем, что с первых секунд физической работы в нашем организме начинаются биохимические изменения, в том числе это касается и гормонов, они играют определённую роль в регуляторных процессах всего организма. Физическая работа провоцирует выделение либеринов, которые запускают синтез тропинов гипофизом, через кровь они проникают в эндокринные железы, где и осуществляется секреция гормонов [30, 61, 28].

При различных физических нагрузках гормоны продуцируют несколько органов, в этом участвуют поджелудочная железа, гипофиз, надпочечники, половые железы. Они участвуют в процессах терморегуляции, увеличении выносливости и мышечной массы и многое другое. При этом повышаются такие биологически активные соединения как: соматотропин, инсулин, тироксин, адреналин, эстрогены, эндорфины [11, 30, 59].

При увеличении времени нагрузки и силы в крови увеличивается уровень соматотропина (гормон роста – способствует улучшению состояния суставов, сухожилия, связок, снижает расход углеводов и т.д.) и кортизола, это сопровождается улучшением работоспособности. Со временем действие гормона роста у людей теряется, но его воздействие на функции образование протеина и жировой обмен остается, поэтому данный гормон как допинг у спортсменов запрещен. Что касается кортизола (гормон стресса), то он помогает мобилизовать энергию в экстренных ситуациях, облегчает распад белка, триглицеридов. Когда его вырабатывается большое количество и

концентрация повышается, происходит расщепление клеток мышц, нарушается поставка в них аминокислот, что оказывает негативное влияние на метаболизм сахаридов во время отдыха, поэтому его высокое содержание нежелательно для организма, так же он является запрещенным как допинг [30, 32, 41].

У людей, относящихся к возрасту от 60 до 75 лет после физической нагрузки до 40% увеличивается уровень тестостерона, который сохраняется до 3 часов. Данный гормон оказывает влияние на тонус мышц и их объём, его задачей является восстановление мышечного белка, который разрушается в процессе тренировок. При всем этом длительность повышенной концентрации эстрогена после физической нагрузке у женщин составляет около 4 часов, он оказывает влияние на интенсивность процессов метаболизма, эмоциональное состояние и способствует распаду жиров.

Инсулин – вырабатывается поджелудочной железой, контролирует концентрацию сахара в крови. Его выделение стимулируется при больших физических нагрузках. Несет ответственность за проникновение аминокислот и глюкозы в мышцы, что оказывает влияние на их рост [11].

Тироксин – гормон щитовидной железы, вырабатываясь при физической активности, улучшает работоспособность и выносливость, а так же улучшает метаболизм [1].

Адреналин - образуется мозговым веществом надпочечников, вырабатывается не только при физических нагрузках, но и при экстремальных ситуациях и сильных эмоциях. Перераспределяет кровоток к наиболее активным областям организма, увеличивает кровообеспечение скелетной мускулатуры, гликогеновый распад в мышечных волокнах и расход липидных запасов.

Дофамин – гормон, который вызывает ощущение счастья. Данный гормон синтезируется из тирозина во время физических нагрузок, поэтому после проделанной работы мы чувствуем удовлетворение.

1.2.2 Влияние физической работы на уровень регуляторных пептидов у человека

Регуляторные пептиды играют особую роль в регуляции, реализации различных функций в организме, содержатся и образуются практически во всех тканях и органах. Играют роль в механизмах обучения, памяти, адаптационных процессах, регулируют эмоциональное поведение, контролируют уровень артериального давления, влияют на иммунную систему, оказывают влияние на регуляцию, поддержание гомеостаза, половое созревание и многое другое [1].

В настоящее время биохимия спорта сконцентрировала свое внимание на поиске ключевых факторов, что регулируют метаболизм, объектом для этого стала пептидергическая система с её обширным влиянием на организм. Воздействуя на это, можно будет улучшить спортивные показатели, но при этом нужно знать пути образования и инактивации регуляторных пептидов, оказывая воздействия на ферменты их обмена веществ, можно регулировать концентрацию тех нейропептидов, которые оказывают положительное влияние на результат при физической нагрузке [1, 26, 28, 37].

Проделанная физическая нагрузка может оказывать некое влияние на уровень отдельных регуляторных пептидов. Во многих работах, которые направлены на изучение влияния физической нагрузки на уровень регуляторных пептидов, показано повышение концентрации бета-эндорфина, мет-энкефалина производные ПОМК (проопиомеланокортин) и вещества Р (тахикины). Вещество Р – один из известных нейропептидов относящийся к семейству тахикинов, который состоит из 11 аминокислотных остатков и открыт в 1931 году, в мозге лошади и кишечной ткани. Является медиатором боли с широким спектром воздействия, а также выполняет ряд других функций: оказывает влияние на кровяные сосуды и уровень АД (артериального давления), провоцирует сокращение гладких мышц, активирует выделение гормонов пищеварения и т.д. Lind и сотрудники представили информацию о увеличении уровня вещества Р в крови во время

бега. Самый высокий его показатель проявлялся в течение 30 минут после завершения физических нагрузок [37, 46].

Нейропептид Y и катехоломины синтезируются в ответ на стресс, а так как физическая работа в некотором понимании воспринимается организмом как стресс то и в этом случае тоже. Уровень нейропептида Y повышается в крови тренирующихся женщин, которые ранее мало занимались физическими нагрузками [60]. Выполняет такие функции как увеличение аппетита, сохранение энергии в виде жира, понижает тревожность, оказывает влияние на понижение артериального давления и т.д.

При интенсивных физических нагрузках у не тренированных людей, может наблюдаться повышение концентрации АКТГ (адренокортикотропный гормон – по своему химическому строению является пептидным гормоном, состоящий из 39 аминокислотных остатков) в сыворотке крови во - время и после тренировок [46, 47, 55].

Вазопрессин – является пептидным гормоном гипоталамуса. При физической работе его уровень в крови повышается, как вероятно физическая нагрузка стимулирует его секрецию путем изменения осмотического давления и объема плазмы [1].

Так же утверждено участие опиоидергической системы, которая понижает интенсивность болевого ответа и регулирует мотивацию при физических нагрузках.

По нескольким вышеприведённым примерам в заключении можно сделать краткий вывод о том, что физические нагрузки оказывают влияние на функционирование пептидергической системы, при этом повышается уровень регуляторных пептидных молекул в крови, который в разы отличается от уровня нормы [37].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Кровь – это жидкая соединительная ткань внутренней среды организма, она является одним из наиболее важных объектов, подвергаемых биохимическому исследованию, так как в ней отражаются все метаболические изменения. Она состоит из жидкой среды (плазма) и форменных в ней элементов (эритроциты, лейкоциты и тромбоциты). В ней определяют содержание форменных элементов крови, субстратов и метаболитов.

Выполняет такие функции как:

- транспортная;
- дыхательная;
- экскреторная;
- терморегулирующая;
- гомеостатическая;
- защитная.

По изменению состава крови или плазмы крови можно судить о гомеостатическом состоянии внутренней среды организма или изменении его при спортивной деятельности.

Пробы крови отбирались из локтевой вены до нагрузки и после остановки тредбана (устройство по типу беговой дорожки, которая предназначена для определения показателя физической работоспособности спортсмена), непосредственно перед началом процедуры необходимо обработать руки и область взятия крови спиртовым раствором [14]. Кровь забирается в специальные вакуумные пробирки. Под локоть необходимо подложить валик, в области трети плеча наложить жгут и попросить сжать кулак, далее пальпируем вену и определяем место взятия крови, фиксируем вену большим пальцем левой руки и вводим иглу, при этом сняв жгут,

отобрав необходимое нам количество крови извлекаем иглу, на месте взятия оставляем вату и просим сжать в локте, сам материал отправляется в лабораторию. Кровь центрифугировали, сыворотку замораживали для последующих исследований [31, 53, 58].

Испытуемые составили три группы:

1. Бегуны на средние дистанции квалификации мастера спорта и мастера спорта международного класса в возрасте 18-28 лет;

2. Студенты ПГПУ в возрасте 18-22 года.

3. Студенты ПГПУ в возрасте 18-22 года, занимающиеся спортом.

Каждая группа делилась на две подгруппы – до нагрузки и на субмаксимальной нагрузке.

2.2 Создание ступенчато повышающейся физической нагрузки

Физическую работу создавали с помощью программируемого тредбана, начиная со скорости 3,5 м/с, повышая каждые две минуты на 0,5 м/с до скорости, характеризующейся подъемом пульса до 180, на которой испытуемый бежал до состояния полного утомления.

2.3 Определение уровня пептидов

Уровень регуляторных пептидов – АКТГ, инсулина, глюкагона, лептина, люлиберина, ЛГ, ФСГ, пролактина, соматотропина, ИФР-1 и вещества Р определяли иммуноферментным методом ELISA с реактивами производства DRG (Германия и США, основана в 1973 году).

Иммуноферментный анализ (ИФА, enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) – это иммунологический лабораторный метод качественного или количественного определения (низкомолекулярных соединений, макромолекул, вирусов и т.д.), основанный на определении комплекса антиген-антитело [14, 16].

Существует несколько вариантов ИФА:

1. ELISA (enzyme linked immunoadsorbent assay) – при помощи иммуносорбентов, связанных с ферментами;

2. EIA (enzyme immunoassay) – на основе фермент-иммуноопределения;

3. EMIT (enzyme multiplied immunoassay technique) – на связи с ферментами.

Первый и второй методы гетерогенного анализа, здесь такие ферменты как например, пероксидаза хрена, щелочная фосфотаза, имеют более высокое распространение, в особенности пероксидаза хрена в связи с её легкодоступностью, так же она содержит углеводные остатки, которые легко окисляются, при этом в состав субстратной системы входят хромогены, которые при окислении перекисью водорода дают окрашенные соединения. Последний же является гомогенным ИФА.

Что касается самого процесса, на лунках тест-планшета зафиксирован антиген возбудителя, который инкубируется с испытуемой сывороткой или плазмой крови. При наличии в них специфических антител происходит связывание их с образованием комплекса антиген-антитело.

В дальнейшем, при инкубации этого комплекса с конъюгатом, происходит присоединение анти-антител к имеющимся комплексам антиген-антитело. Ферментативная реакция (цветная реакция) проходит в присутствии перекиси водорода и субстрата, представленного неокрашенным соединением, которое в процессе пероксидазной реакции окисляется до окрашенного продукта реакции на заключительном этапе проведения исследования. Интенсивность окрашивания зависит от количества выявленных специфических антител [16].

В отличии от других методов иммуноферментный анализ имеет некие преимущества:

- высокая чувствительность;
- простота выполнения;

- низкая стоимость;
- использование минимум объема материала для исследования.

Результат оценивается спектрофотометрически.

Спектрофотометрия – это метод исследования растворов и твердых веществ, который основан на измерении спектра поглощения в УФ (ультрафиолетовой 200-400 нм), видимой (400-760 нм), ИК (инфракрасной, более 760 нм) областях. При помощи спектрофотометрии в пробах можно определить содержание ферментов, белков, гормонов, витаминов, провести качественный и количественный анализ определения веществ.

Спектр поглощения в ультрафиолетовой области в спектрофотометрии широко используется при колличественном анализе определения веществ, при этом основным условием является соблюдение закона Бугера-Ламберта-Бэра, где относительна оптическая плотность, прямо пропорциональна толщине кюветы.

2.4 Определение глюкозы и лактата в крови

Для определения уровня глюкозы использовали прибор – глюкометр. Для определения уровня лактата использовали портативный прибор – лактометр.

2.5 Статистическая обработка

Для оценки достоверности различий между значениями физиологической нормы и значениями после физической нагрузки использовали t-критерий Стьюдента. Это параметрический критерий, используемый для проверки гипотез о достоверности разницы средних при анализе количественных данных с нормальным распределением и одинаковой вариантой. Этот критерий разработан Уильямом Госсетом.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Уровни соматотропина, инсулиноподобного фактора роста-1, лютеинизирующего гормона, фолликулостимулирующего гормона, пролактина и люлиберина в сыворотке крови

Регуляторные пептиды имеют важную значимость в регуляции и реализации физиологических реакций организма, например; адаптационный процесс, участвуют в формировании полового поведения, влияют на состояние сердечно-сосудистой системы, эндокринной, пищеварительной, изменяют энергетический обмен в организме, участвуют передаче информации внутри клеток и тканей, так же оказывают большой спектр влияния как нейромодуляторы, медиаторы (где их воздействие осуществляется через систему рецепторов), гормоны и факторы роста [1, 22, 24, 29, 45].

Мы знаем, что с первых секунд физической работы в нашем организме происходят биохимические изменения. Регуляторные пептиды при всем этом играют важную роль, в процессе физической работы их концентрация может, как увеличиваться, так и понижаться и каждый из них может выполнять какие либо определенные функции.

Например, при увеличении времени и силы нагрузки в крови повышается уровень соматотропина (гормон роста) который способствует улучшению состояния связок и сухожилий, а так же снижает расход углеводов.

Физическая работа оказывает влияние на активацию синтеза таких веществ как:

- ЛГ (лютеинизирующий гормон – регулирует работу половых желез, стимулирует выброс прогестерона у женщин и тестостерона у мужчин);
- ФСГ (фолликулостимулирующий гормон – вырабатывается и

накапливается в передней доли гипофиза, оказывает влияние на функции половых желез);

- пролактин и люлиберин.

Даже незначительное их повышение влияет на мотивационное поведение [1].

В результате исследований было установлено, что у спортсменов высокой квалификации не наблюдалось отличий по содержанию соматотропина, ИФР-1, ЛГ, ФСГ, пролактина и люлиберина в сыворотке крови от нетретренированных людей ни в покое, ни при физической работе. У обеих исследуемых групп уровни этих регуляторных пептидов повышались при нагрузке на одинаковую величину – на 250, 40, 70 и по 50 % соответственно (рис.1).

Таким образом, незначительные повышения соматотропина, ИФР-1, ЛГ, ФСГ, пролактина и люлиберина при физических нагрузках играют роль в мотивационных и адаптационных процессах.

А) *Б)*

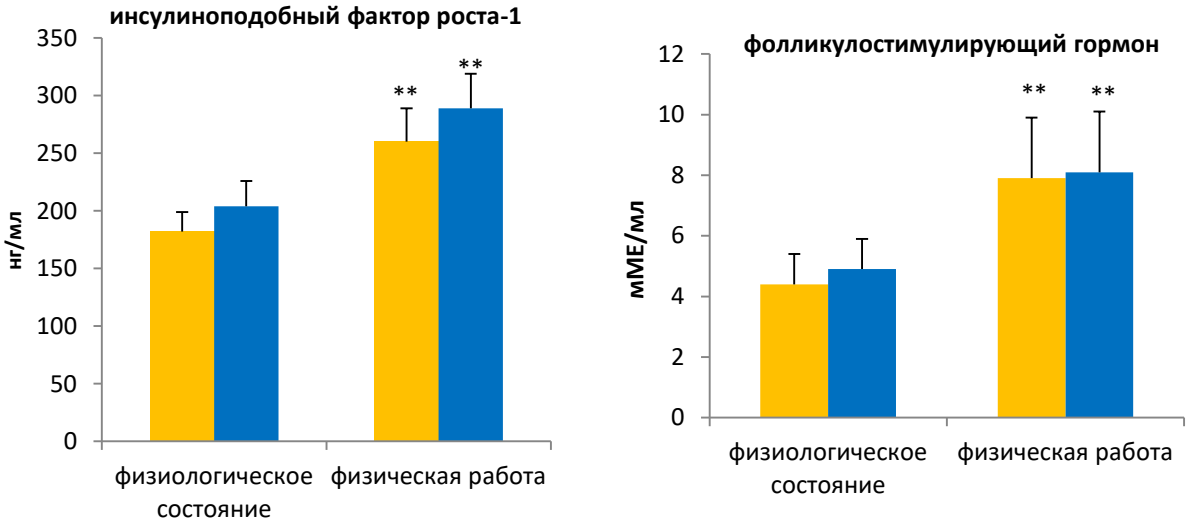


*Рисунок 1. Условные обозначения: ■ - спортсмены, ■ - неспортсмены. ** - P < 0,01, *** - P < 0,001 по сравнению с физиологическим состоянием. А – инсулиноподобный фактор роста - 1, Б – фолликулостимулирующий гормон.*

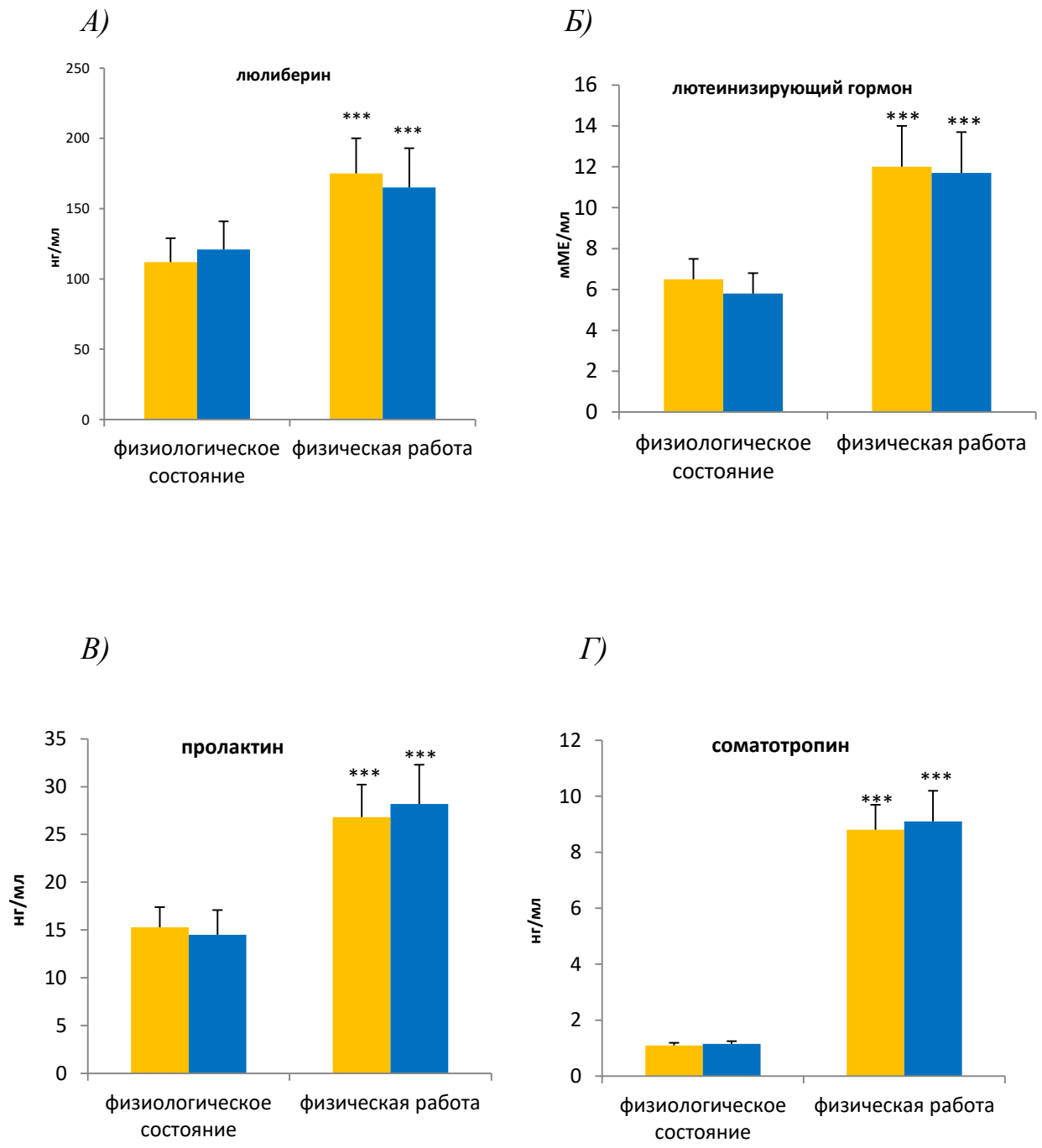


Рисунок 2. Условные обозначения: ■ *- спортсмены,* ■ *- неспортсмены. ** - P < 0,01, *** - P < 0,001 по сравнению с физиологическим состоянием. А – люлиберин, Б – лютеинизирующий гормон, В – пролактин, Г– соматотропин.*

3.2 Уровни инсулина, глюкагона, лептина, глюкозы и лактата

Результаты многочисленных исследований показывают, что при анаэробной работе происходит мобилизация гликогена печени (основная форма хранения глюкозы) и выход глюкозы в кровь, что отражается на ее содержании в крови у здоровых людей [45, 78, 61]. Однако возрастающий уровень инсулина у спортсменов высокого класса способствует поглощению глюкозы работающими тканями и нормализации уровня глюкозы в крови.

Сам по себе инсулин вырабатывается поджелудочной железой, контролирует концентрацию сахара в крови. Его выделение стимулируется при больших физических нагрузках. Несет ответственность за проникновение аминокислот и глюкозы в мышцы, что оказывает влияние на их рост [11].

Изменение концентрации глюкозы в крови при физических нагрузках для каждого человека является индивидуальным, что зависит от длительности, силы нагрузки и подготовки организма. Не долгие нагрузки могут вызвать повышение уровня глюкозы в крови за счет распада гликогена в печени до свободной глюкозы, которая поступает в кровь, в то время как длительные нагрузки приводят к ее понижению, что свидетельствует о её интенсивном потреблении тканями организма. Данный показатель может использоваться в спортивной диагностике.

Более высокое по сравнению с не спортсменами поглощение глюкозы тканями, в первую очередь мышечной, может обеспечивать более высокий показатель содержания лактата при максимальной физической нагрузке у спортсменов экстра-класса, что в свою очередь может положительно сказаться на достижении спортивного результата. Лактат– это продукт распада (анаэробного) глюкозы и гликогена, в течении нескольких часов он выводится из мышечных волокон, при выполнении таких физических нагрузок как бег это происходит намного быстрее.

В покое уровни инсулина, глюкагона и лептина в крови спортсменов

были выше, чем у неспортсменов на 30%. При физической работе уровни инсулина и глюкагона у спортсменов поднимались на 70 и 110 % соответственно по сравнению с исходным, уровень лептина не изменялся, в то время, как у неспортсменов уровень инсулина в нагрузке не отличался от исходного, а уровни глюкагона и лептина поднимались на 130 и 60% соответственно. Данный факт позволяет объяснить наблюдаемые нами и описанные в литературе изменения в концентрации глюкозы и лактата при физической нагрузке (рис.2).

Опираясь на данные исследования можно сделать выводы о тренированности спортсмена сбалансировать программу тренировок и питания.

А) *Б)*

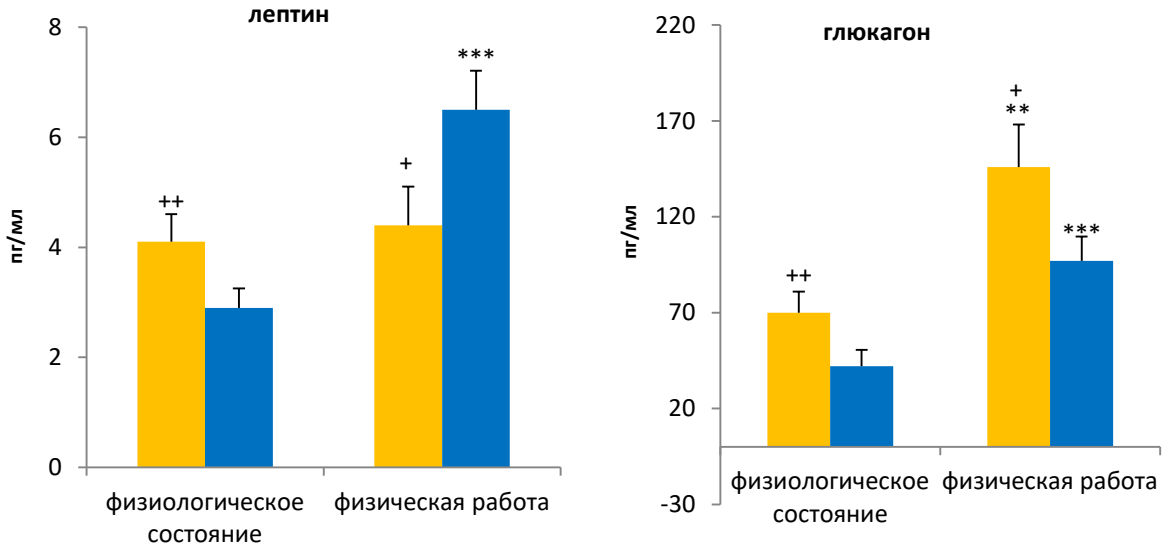
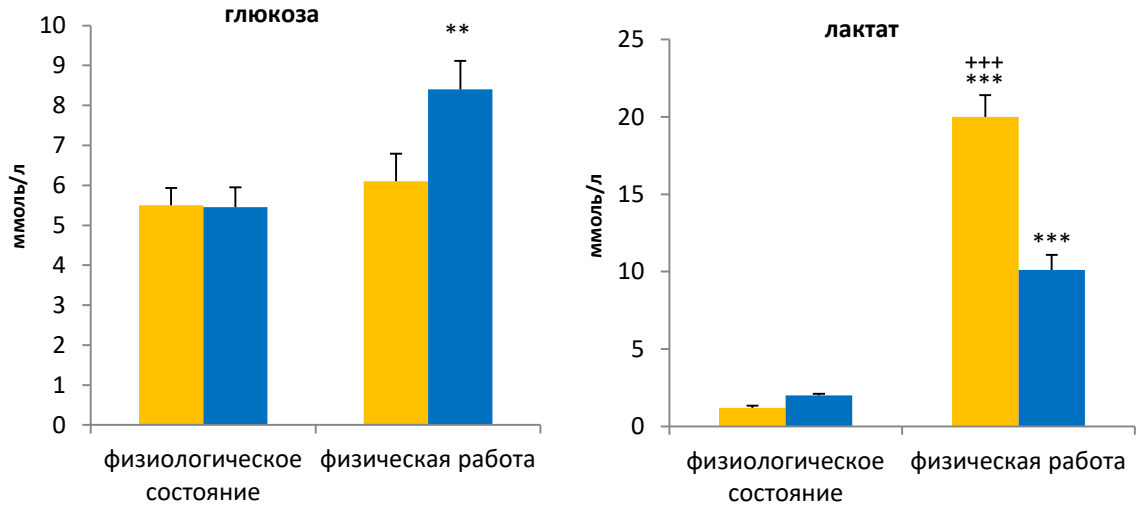


*Рисунок 3. Условные обозначения: ■ - спортсмены, ■ - неспортсмены. ** - P < 0,01, *** - P < 0,001 по сравнению с физиологическим состоянием, + - P < 0,01, ++ - P < 0,01, +++ - P < 0,001 по сравнению с неспортсменами. А – лептин, Б – глюкагон.*

А) *Б)*



В)

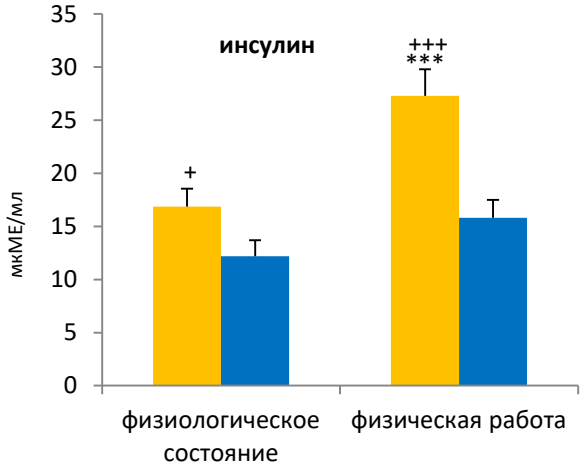


Рисунок 4. Условные обозначения: ■ *- спортсмены,* ■ *- неспортсмены. ** - P < 0,01, *** - P < 0,001 по сравнению с физиологическим состоянием, + - P < 0,01, ++ - P < 0,01, +++ - P < 0,001 по сравнению с неспортсменами., А – глюкоза, Б – лактат, В – инсулин.*

3.3 Уровни адренокортикотропного гормона, вещества Р, кортизола и кортизона

АКТГ – гипофизарный гормон (адренокортикотропный гормон). Влияет на процесс памяти, внимания и обучаемости, синтезируется клетками передней доли гипофиза, контролирует синтез и секрецию

глюкокортикоидов (кортизол, кортизон, кортикостерон). Увеличение уровня данного гормона при физической работе наблюдается у не тренированных лиц, а так же и тренерованных, что является характерным ответом для стресс-реакции [5].

По-видимому, уровень АКТГ, кортизола и кортикостерона у спортсменов постоянно повышен вследствие частого воздействия стрессирующего фактора (физических тренировок). Надпочечники спортсменов способны к усиленному выбросу гормонов адаптации – кортизола и кортикостерона только в условиях повышенной активности симпатоадреналовой системы. Кортизол при всем этом регулирует углеводный обмен, максимальный его уровень наблюдается в утреннее время суток, минимальный вечером. Повышенная концентрация кортизола в крови негативно сказывается при наращивании мышечной массы, иммунитет и т.д. Что касается кортизона, то он как и кортизол стимулирует синтез углеводов из белков, изменяет метаболизм и повышает устойчивость к стрессу

Содержание вещества Р в сыворотке крови спортсменов в покое было на 300% выше, чем у неспортсменов. При физической работе у спортсменов не наблюдалось изменений в его концентрации, в то время как у неспортсменов происходило повышение уровня вещества Р на 60%.

Вещество Р – открыт в 1931 году, в большом количестве содержится в гипоталамусе, субстанции nigra, относится к семейству тахикинов, состоит из 11 аминокислотных остатков, регулирует ощущение боли и двигательную активность, имеет широкий спектр воздействия. Выполняет ряд других функций: оказывает влияние на кровяные сосуды и уровень АД (артериального давления), провоцирует сокращение гладких мышц, активирует выделение гормонов пищеварения [37, 44, 46].

Уровень АКТГ у спортсменов в физиологическом состоянии был выше, чем у контрольной группы в 3,5 раза. После нагрузки уровень АКТГ у неспортсменов повышался в 3 раза по сравнению с исходным, у спортсменов происходило повышение на 85% по сравнению с исходными данными, что в

2 раза превышало значение контрольной группы на нагрузке. Повышение уровня АКТГ у спортсменов на максимальной нагрузке, вероятно, связано со стимуляцией выброса инсулина, поскольку содержание кортизола и кортикостерона не изменялось (рис.3).

Результаты, полученные в ходе исследования, совпадают с результатами, которые описаны в обзоре литературы и подходят для описания стрессовых реакций организма.

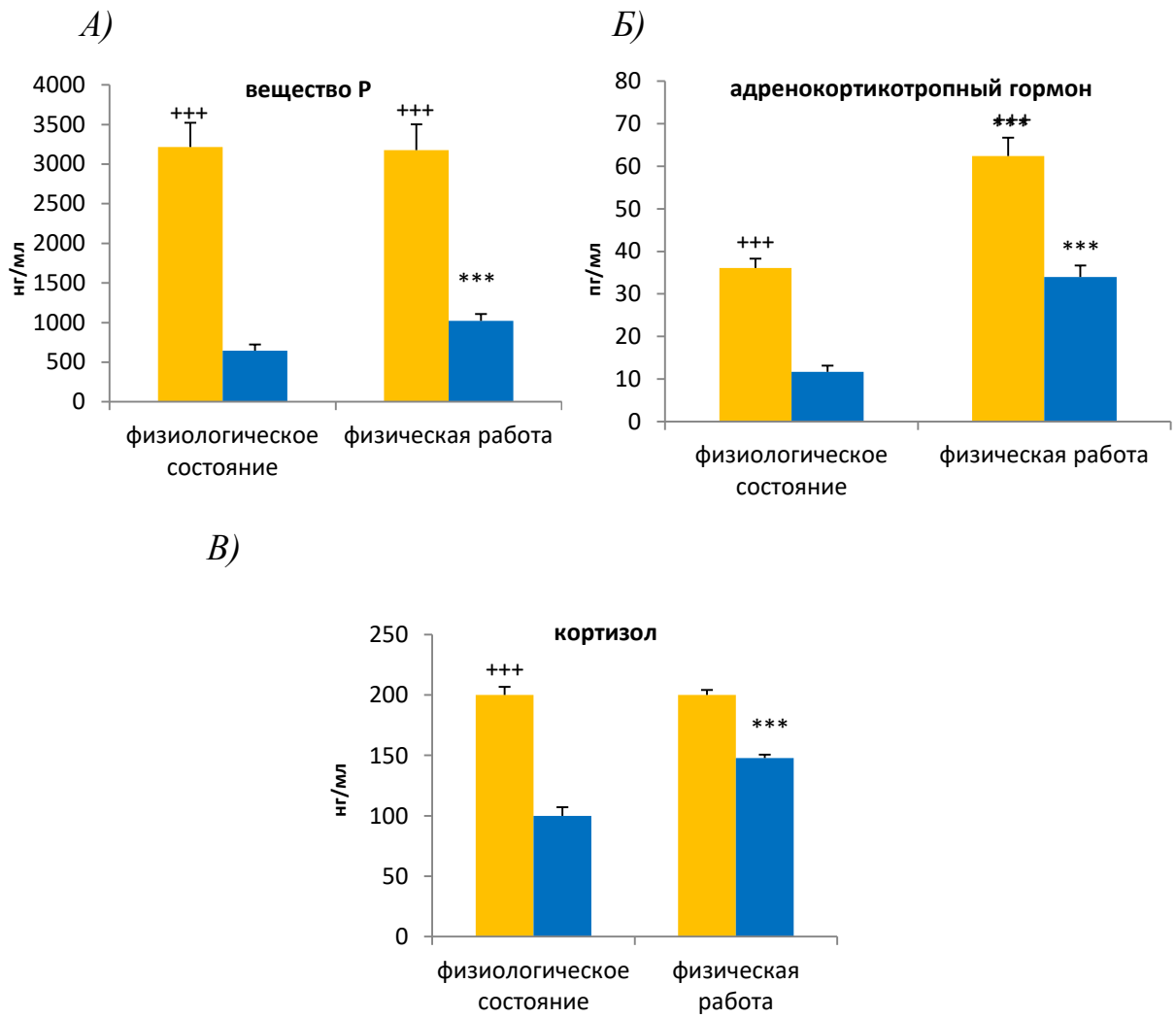


Рисунок 5. Условные обозначения: ■ *- спортсмены,* ■ *- неспортсмены.*
**** - P < 0,001 по сравнению с физиологическим состоянием,*
+++ - P < 0,001 по сравнению с неспортсменами. А – вещество Р, Б – адренокортикотропный гормон, В – кортизол.

3.4 Активность лейцинаминопептидазы и пептидилдипептидазы А

По своей локализации ферменты обмена регуляторных пептидов подразделяют на две группы [1, 13, 17]:

- ферменты ЭПР (эндоплазматический ретикулум), секреторных везикул - карбоксипептидаза Н (КП Н, КФ 3.4.17.10), аминопептидаза В – подобный фермент (АП В) и т.д. Роль данных ферментов состоит в образовании активных форм регуляторных пептидов (процессинг);
- ферменты внеклеточной жидкости, наружной поверхности цитоплазматической мембраны – карбоксипептидаза N (КП N, КФ 3.4.12.7), ангиотензинпревращающий фермент (КФ 3.4.15.1), аминопептидазы (АП) и т.д. Принимают участие в процессинге и инактивации (потеря активности, полная или частичная) регуляторных пептидов.

Ангиотензинпревращающий фермент (АПФ, дипептидил-карбоксипептидаза А, КФ 3.4.15.1) он выделен и очищен из различных тканей животных. В мозге и всех остальных тканях (за исключением семенников) обнаружена лишь эндотелиальная форма, которая состоит из одной полипептидной цепи и двух гомологичных доменов, каждый из них имеет активный центр и центр связывания Zn^{2+}, её молекулярная масса 180 кДа, вторая нейрональная форма молекулярная масса которой 170 кДа, присутствует только в мозге и отсутствует в других тканях. АПФ имеет оптимум pH 7,6-8,2, для максимальной активности требуются ионы Cl^- [8].

АПФ является компонентом ренин-ангиотензиновой системы. Вовлекается в обмен ангиотензина и брадикинина, является важным звеном в регуляции артериального давления, водно-солевого, при воспалительных процессах, а так же при эмоциональных стрессах, агрессивности и т.д.

Лейцинаминопептидаза (КФ3.4.11.1) отлепляет практически любые N-концевые аминокислоты, за исключением аланина и цистеина [56]. Активность фермента равномерно распределена между серым и белым веществом коры полушарий. Его обнаружили и в цитозольной и в

мембранной фракциях головного мозга, самая большая активность найдена в миелине. Возможно, что лейцинаминопептидазе принадлежит важная роль в инактивации энкефалинов, вещества Р и большинства других регуляторных пептидов.

Уровень лейцинаминопептидазы у спортсменов в покое был выше по сравнению с неспортсменами. После выполненной физической работы значительное ее повышение наблюдалось у неспртсменов в то время как у спортсменов наблюдалось понижение. Пептидилдипептидаза А в покое была ниже в обеих группах в отличии от результатов после физической работы (рис.5).

Можно сделать небольшой, краткий вывод о том, что ключевая роль в регуляции уровня активных регуляторных пептидов и в запуске реакций их воздействия на организм, принадлежит ферментам последней стадии инактивации и процессинга [4,5].

А) *Б)*

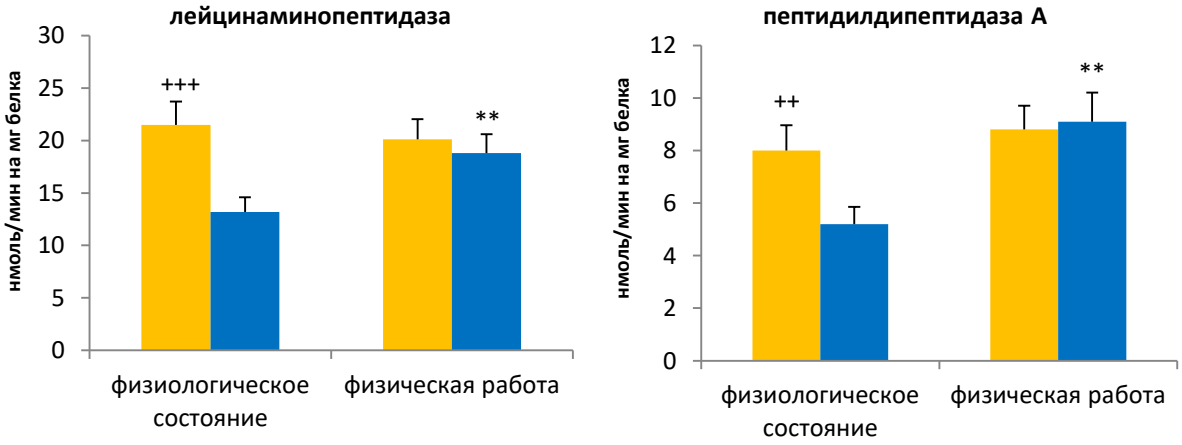


Рисунок 6. Условные обозначения: ■ *- спортсмены,* ■ *- неспортсмены. А – лейцинаминопептидаза, Б - пептидилдипептидаза А.*

3.5 Изучение влияния физической нагрузки на уровни лактата и глюкозы у спортсменов

Глюкоза играет очень важную роль в метаболизме организма, так как является главным источником энергии. В нашем организме она расходуется на образование энергии, синтез гликогена, жиров и аминокислот. На изменение содержания глюкозы в крови человека при мышечной деятельности влияет тренированность, мощность и продолжительность работы. Значительное потребление глюкозы происходит скелетными мышцами, в них расщепление углеводов происходит в ходе анаэробных (одна молекула глюкозы превращается в 2 молекулы лактата и высвобождается энергия, данный способ получения энергии используется при не долгой физической нагрузке длительность которой не более 20 минут) и аэробных реакций (при этом образуется две молекулы пирувата, который вступает в реакции окисления и в результате которых на одну молекулу глюкозы образуется 30 молекул АТФ) [2, 6, 32].

Немалое количество спортсменов имеют повышенное содержание глюкозы (> 6,0) в крови после физической нагрузки, при чем, содержание лактата невысокое, что является доказательством того, что спортсмены недостаточно подготовлены к такой работе (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты определения глюкозы и лактата у спортсменов.

№ п/п	Лактат в крови, ммоль/л	Глюкоза в крови, моль/л, до-после
1	6,1	4,7-4,7
2	4,4	5,7-4,6
3	4,6	4,7-4,8
4	6,2	5,5-5,5
5	9,4	5,1-4,9

Продолжение таблицы 1.

6	6,5	5,5-4,5
7	4,7	4,6-3,9
8	6,7	4,1-4,0
9	4,9	4,8-4,0
10	4,5	4,6-4,8
11	4,4	4,9-4,9
12	4,8	4,9-4,2
13	4,2	5,8-5,2
14	6,1	4,3-4,2
15	5,4	3,7-4,6
16	9,4	5,7-5,6
17	4,3	5,8-5,3
18	4,2	3,0-4,5
19	4,1	4,7-5,1
20	4,0	4,3-5,2

Большая часть испытуемой группы показала стабильные показатели концентрации глюкозы и лактата в крови во время нагрузки, что свидетельствует о нормальном их состоянии обмена веществ и формированности систем энергообеспечния орагнизма.

Концентрация лактата (молочной кислоты) в крови является наиболее важным показателем при оценке насыщенности нагрузки. Накопление лактата, способствует увеличению осмотического давления, в результате которого в мышечные клетки (миоциты) поступает вода, и мышцы набухают.

ВЫВОДЫ

1. Пептидергическая система активно вовлечена в адаптивные процессы, от которых зависит спортивный результат.

2. Наибольшую роль в адаптации к физической работе у спортсменов высокой квалификации играют такие регуляторные пептиды, как АКТГ, инсулин, глюкагон и лептин, регулирующие обмен основных энергетических молекул, а также вещество Р, обладающее широким спектром действия: модулирующее болевую чувствительность, повышающее устойчивость к стрессу, а глюкоза и лактат в крови во время нагрузки, свидетельствуют о нормальном состоянии обмена веществ.

3. Систематическое повышение содержания соматотропина, ИФР-1, люлиберина, ЛГ, ФСГ и пролактина при периодических нагрузках играет существенную роль в адаптационных процессах.

4. Пептидергическая система спортсменов высокой квалификации в физиологическом состоянии функционирует более интенсивно, чем у неспортсменов, при физической работе изменения в её функционировании менее выражены, чем у неспортсменов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ашмарин И.П., Антипенко А.Е., Ашапкин В.В. Нейрохимия: учебник. Москва: изд. Института биомедицинской химии РАМН, 1996. 470 с.
2. Бегерина Е.Г. Биохимии: учебник. Москва, 2017. 779 с.
3. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Терсенов О.А. Биохимические сдвиги и их оценка в диагностике патологических состояний. Москва: Медицинская книга, 2002. 320 с.
4. Вернигора А.Н., Генгин М.Т. Механизм регуляции активности и биологическая роль карбоксипептидазы Н – фермента процессинга нейропептидов // Биохимия. 1995. № 12. С. 1492-1497.
5. Вернигора А.Н. Карбоксипептидаза Н мозга животных в норме и при действии стресс–факторов: диссертация кандидата биологических наук. Днепропетровск, 1991. 156 с.
6. Волков Н.И., Несен Э.Н., Осипенко А.А., Корсун С.Н. Биохимия мышечной деятельности. Киев: Олимпийская литература, 2000. 503 с.
7. Габбясова Ю.Р., Третьяков Д.А., Плетень А.П. Пептиды головного мозга // Новая наука: современное состояние и пути развития. 2017. 41 с.
8. Генгин М.Т., Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Щетинина Н.В. Активность карбоксипептидазы N и ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови крыс в норме и при эмоциональном стрессе // Укр. биохим. журн. 1994. № 2. С. 141-142.
9. Генгин М.Т. Влияние эмоционально-болевого стресса на активность КПН – фермента процессинга регуляторных нейропептидов головного мозга крысы // Физиол. Журн. 1994. Т.80. №3. С. 25-27.
10. Генгин М.Т. Основы биохимии и молекулярной биологии: учебное пособие по биохимии: ПГПУ им В.Г. Белинского. Пенза. 2012. С. 175-175.

11. Гомазков О.А. Нейрохимия: учебник. Москва: изд. Института биомедицинской химии РАМН, 2007. 120 с.

12. Гомазков О.А. Регуляция биосинтеза энкефалинов: биохимические и физиологические аспекты // Успехи современной биологии, 1989. № 1(4). С. 123-124.

13. Гомазков О.А. Функциональная биохимия регуляторных пептидов. Москва: Наука, 1993. 202 с.

14. 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. 2018. С. 769-771.

15. Дворяковский И.И., Корнеева И.Т., Зоткин В.Н., Поляков С.Д. Биохимический контроль физической подготовленности юных футболистов на основании оценки уровня кортизола / 9-я международ. конф. «Высокие технологии восстановительной медицины: профессональное долголетие и качество жизни». Сочи. 2006. С. 216-217.

16. Дёмин Д.Б. Эффекты тиреоидных гормонов в развитии нервной системы // Журн. мед.-биол. иссл. 2018. Т.6, №2. С. 208-224

17. Дмитриев А.Д. Биосинтез нейропептидов // Итоги найки и техн,- ВИНИТИ,- Фармакол. и химиотерапевтич. средства. 1982. №3. С. 7-49.

18. Додонова С.А., Белых А.Е., Бобынцев И.И. Регуляторные пептиды семейства меланокортинов: биосинтез, рецепция, биологические эффекты. // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". 2018. № 17. С. 41-42.

19. Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных болезней. Санкт-Петербург: наука, 2004. 198 с.

20. Ерошенко Т.М. Каскадные эффекты регуляторных пептидов / Ерошенко Т.М., Титов С.А., Лукьянова. Л.Л. // Итоги науки и техники. Физиология человека и животных. 1991. Т. 46. 240 с.

21. Замятнин А.А. Общие функциональные особенности эндогенных регуляторных олигопептидов // Нейрохимия. 1992. № 9. С. 120-123.

22. Клуша В.Е. Пептиды – регуляторы функций мозга // Журнал фармакология. 1984. 254 с.

23. Клюшников С.А. Вереютина И.А. Иллариошкин С.Н. Нейродегенеративные заболевания и регуляторные пептиды // Нервные болезни. 2017. С. 94-97.

24. Корнева Е.А. Регуляторные пептиды как модуляторы защитных функций организма // Нервные болезни. 1985. № 5. С. 663-665.

25. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М. Исследование спектра физиологической активности аналога АКТГ4-10 гептапептида семакс // Нейрохимия. 2008. С. 109-111.

26. Локтев С.А., Шкеля В.А. Воспроизводимость показателей аэробной и анаэробной работоспособности спортсменов в условиях стандартных лабораторных тестов // Теория и практика физической культуры. 1995. № 10. С. 52-56.

27. Малинин В.В., Морозов В.Г. Клиническая фармакология. Механизмы пептидной регуляции гомеостаза. Москва: изд. Институт биомедицинской химии, 2016. 323 с.

28. Макарова Г.А. Практическое руководство для спортивных врачей. Учебник: Ростов-на-Дону: БАРОПресс, 2000. 800 с.

29. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2-х томах. Пер. с англ. / Под ред. Гинодмана Л.М. Том 2. М.: Мир, 1993. 415 с.

30. Михайлов С.С. Спортивная биохимия: учебник. Москва: Советский спорт, 2013. 348 с.

31. Муронов А.Е. Правила забора венозной крови и ее хранение // Общая реаниматология. 2017. С. 23

32. Никулин Б.А., Родионова И.И. Биохимический контроль в спорте. Москва: Советский спорт, 2011. 232 с.

33. Никулин Б.А. Биохимические маркеры утомления и восстановления после физической нагрузки. Москва: Советский спорт, 2009. 355 с.

34. Никулин Б.А. Биохимический мониторинг тренировочного процесса. Москва: Советский спорт, 2009. 234 с.

35. Осокин А.С. Практикум по биологической химии. Саратов: Мир, 1970. 124 с.

36. Соловьев В.Б., Генгин М. Т. Активность пептидил-дипептидазы А и карбоксипептидазы N в сыворотке крови пациентов с болезнью Альцгеймера // Украинский биохимический журнал. 2007 Т. 79. № 6 С. 103-105.

37. Соловьев В.Б. Кислотно-основные показатели крови спортсменов различных квалификационных групп в норме и при физической работе / Соловьев В.Б., Генгин М.Т., Скуднов В.М., Петрушова О.П. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2010. Т. 96. № 5. С. 542-544.

38. Солодков А.С., Сологуб Е.Б. Физиология человека. Общая. Спортивная. Возрастная: учебник для высших учебных заведений физической культуры. Москва: Терра-спорт, 2001. 183 с.

39. Судаков К.В. Олигопептиды в механизмах устойчивости к эмоциональному стрессу // Патол. физиология и эксперим. терапия. 1989. № 9. С. 10-11.

40. Теппермен Дж., Теппермен У. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс: Пер. с англ. / Под ред. Ажипа Я. И. Москва: Мир, 1989. 223 с.

41. Хомутов А.Е., Пурсанов К.А., Перепелюк З.В. Регуляторные пептиды. Учебно-методическое пособие. Н. Новгород. 2017. 73 с.

42. Хребтова А.Ю. Функциональное значение особенностей периферической крови у спортсменов с различной направленностью тренировочного процесса // Теория и практика физическая культура. 1999. № 1. С. 43-44.

43. Юматов Е.А. Пептидно-нейромедиаторные устойчивости к эмоциональному стрессу. Стресс и психологическая патология. Москва: изд. Международный форум по медицине, 1983. 122 с.

44. Юматов Е.А., Гехт К., Скоцеляс Ю.Г. Субстанция Р как фактор устойчивости к эмоциональному стрессу // Медицинская биохимия. 1984. № 9. С. 776-777.

45. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Башкина О.А Нейропептидная регуляция иммунитета // Иммунология. 2018. С. 86-87.

46. Allen M. Activity-generated endorphins: A review of their role in sports science // J. Appl. Sport Sci. 1983. № 8. P. 130-133.

47. Cain D.W., Cildlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids // Nat. Rev. Immunol. 2016. 17(4). P. 233-247.

48. Chao H.-W., Chao S.-W., Lin H. Homeostasis of Glucose and Lipid in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease // Int. J. Mol. Sci. 2019. 20(2). P. 297-298.

49. Erdos E.G., Skidgel R.A. Angiotensin-I-converting enzyme //Lab. Inuest. 1987. P. 345-348.

50. Gibson A.M., Biggins J.A., Lauffart B., Mantle D., McDermott J.R. Human brain leucyl aminopeptidase: Isolation, characterization and specificity against some neuropeptides // Neuropeptides. 1991. № 3. P. 164-168.

51. Gastaldelli A., Gaggini M., Defronzo R. Glucose Kinetics: An Update and Novel Insights Into Its Regulation by Glucagon and GLP-1 // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2017. 20(4). P. 300-309.

52. Hackney A.C., Lane A.R. Exercise and the Regulation of Endocrine Hormones // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. 2015. N 135. P. 293-311.

53. Kovyazina I.V., Bukharaeva E.A. Diverse Effects of Noradrenaline and Adrenaline on the Quantal Secretion of Acetylcholine at the Mouse Neuromuscular Junction // Neuroscience. 2019. N 423. P. 162-171.

54. Korim W.S., Sabetghadam A. Adrenaline: insights into its metabolic roles in hypoglycaemia and diabetes // Br. J. Pharmacol. 2016. № 173(9). P. 1425-1437.

55. Mulukutla B.C., Yongky A., Le T. Regulation of Glucose Metabolism – A Perspective From Cell Bioprocessing // Trends Biotechnol. 2016. № 34(8). P. 638-651.

56. Palstra A. P., Ohishi H. Dierences in the actions of adrenaline and noradrenaline with regard to glucose intolerance in patients with pheochromocytoma // Endocr. J. 2019. № 66. P. 187-192.

57. Park, E. Changes in basal hypothalamo-pituitary-adrenal activity during exercise training are centrally mediated // J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2018. P. 281-289.

58. Watson A.M. Sleep and Athletic Performance // Current Sports Medicine Reports. 2017. 16(6). P. 413-418.

59. Widmann M., Nieß A.M., Munz B. Physical Exercise and Epigenetic Modifications in Skeletal Muscle // Sports Medicine. 2019. № 49(1). P. 509-523.

60. Zhu J., Thompson C.B. Metabolic regulation of cell growth and proliferation // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2019. № 20(7). P. 436-450.

61. Watanabe T., Morimoto A., Comparing Glucose and Insulin Data from the Two-Hour Oral Glucose Tolerance Test in Metabolic Syndrome Subjects and Marathon Runners // Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2016. P. 5290-5293

АНТИПЛАГИАТ
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

Пензенский государственный университет

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	**Орлова Елена Сергеевна**
Подразделение	
Тип работы	Выпускная квалификационная работа
Название работы	ИЗУЧЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЕ
Название файла	Орлова-проверка.docx
Процент заимствования	**20.28 %**
Процент самоцитирования	**0.00 %**
Процент цитирования	**0.69 %**
Процент оригинальности	**79.03 %**
Дата проверки	**08:54:03 04 июня 2020г.**
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Модуль поиска "Интернет Плюс"; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по elibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция Медицина; Диссертации и авторефераты НББ; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска "ПГУ"; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов; Коллекция Wiley
Работу проверил	Соловьев Владимир Борисович ФИО проверяющего
Дата подписи	04.06.20

Подпись проверяющего

Чтобы убедиться в подлинности справки, используйте QR-код, который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
06.03.01 Биология
Профиль подготовки «Биохимия»

Утверждаю:
Зав. кафедрой
_____ Г.А. Карпова

«05» ноября 2019 г.

Задание

По ВКР студента: Орловой Елены Сергеевны

Тема работы: «Изучение концентрации регуляторных пептидов в сыворотке крови человека при физической работе»

Утверждена приказом по Университету от «29» октября 2019 г. № 1193а-о

Срок сдачи студентом законченной работы «18» мая 2020г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки выполнения этапов	Примечания
1.	Формирование обзора литературы	Ноябрь	Выполнено
2.	Подбор методов исследования	Ноябрь	Выполнено
3.	Отработка методов исследования	Декабрь	Выполнено
4.	Выполнение эксперимента	Январь-февраль	Выполнено
5.	Статистическая обработка результатов	Февраль	Выполнено
6.	Разработка и составление первой главы ВКР	Март	Выполнено
7.	Разработка и составление второй главы ВКР	Март	Выполнено
8.	Разработка и составление третьей главы ВКР	Апрель	Выполнено
9.	Согласование выводов с руководителем, исправление ошибок	Май	Выполнено
10.	Представление ВКР на кафедру	Май	Выполнено
11.	Подготовка доклада и презентации	Июнь	Выполнено
12.	Защита выпускной квалификационной работы	Июнь	Выполнено

Дата выдачи задания «05» ноября 2019 г.

Руководитель _____ Соловьев В,Б.

Задание принял к исполнению Орлова

ОТЗЫВ
РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Тема выпускной квалификационной работы: «Изучение концентрации регуляторных пептидов в сыворотке крови человека при физической работе»
Автор (студент/ка): Орлова Елена Сергеевна
Факультет физико-математических и естественных наук
Кафедра «Общая биология и биохимия»»
Группа: 16ФБ1.2
Направление подготовки 06.03.01 Биология
Профиль подготовки Биохимия
Руководитель: Соловьев Владимир Борисович д.б.н., профессор кафедры «Общая биология и биохимия»

Показатели оценки выпускной квалификационной работы

Показатель оценивания	Критерии			
	Отлично	Хорошо	Удовлетв.	Неудовл.
Актуальность и обоснование выбора темы	+			
Логика работы, полнота и соответствие теме	+			
Уровень владения предметными знаниями	+			
Самостоятельность	+			
Достоверность выводов	+			
Оформление ВКР	+			
Качество подготовленного доклада	+			
Литература	+			
Возможность внедрения	+			
Общая оценка				

Отмеченные достоинства: Тема заявленной выпускной квалификационной работы полностью раскрыта; текст ВКР соответствует целям и задачам.
Отмеченные недостатки: Незначительные пунктуационные и орфографические ошибки в обзоре литературы.
Заключение: Орлова Елена Сергеевна выполнена данную работу в соответствии с требованиями к оформлению подобного вида научных работ, может быть допущена к защите и заслуживает положительной отметки.

Руководитель:
«4» июня 2020 г.