

Министерство образования и науки Российской Федерации

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)

Факультет физической культуры

Кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии  
и медицины (СОТСФим)

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Руководитель ООП

д-р мед.наук, профессор

Л.В. Капилевич

«05» 06 2017 г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

по основной образовательной программе подготовки магистров

направление подготовки

49.04.01 – Физическая культура

Кироненко Татьяна Александровна

ПРОДУКЦИЯ МИОКИНОВ ПРИ ДИНАМИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ  
РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ У МЫШЕЙ

Научный руководитель ВКР

Д-р мед.наук, профессор

Л.В. Капилевич

«08» 06 2017 г.

Автор работы

студент (-ка) группы №23513

Т.А. Кироненко

Томск – 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....                                                                                            | 3  |
| ВВЕДЕНИЕ.....                                                                                                     | 4  |
| ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....                                                                                    | 6  |
| 1.1 Физиология упражнений.....                                                                                    | 6  |
| 1.2 Физиологическая характеристика циклической работы.....                                                        | 10 |
| 2. Классификация миокинов .....                                                                                   | 13 |
| 3. Миокины и их эффекты.....                                                                                      | 15 |
| 3.1 ИЛ-6.....                                                                                                     | 15 |
| 3.2 ИЛ-15 .....                                                                                                   | 17 |
| 3.3 ИЛ-8 .....                                                                                                    | 18 |
| ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ .....                                                                                 | 21 |
| 2.1. Дизайн исследования.....                                                                                     | 21 |
| 2.2 Анализ плазмы крови .....                                                                                     | 22 |
| 2.3 Статистическая обработка данных.....                                                                          | 24 |
| ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....                                                                          | 26 |
| 3.1 Динамика содержания интерлейкинов в плазме крови мышечной после<br>однократной нагрузки.....                  | 26 |
| 3.1.1 Динамика содержания ИЛ-6 в плазме после однократной нагрузки ..                                             | 26 |
| 3.1.2 Динамика содержания ИЛ-15 в плазме после однократной нагрузки                                               | 29 |
| 3.1.3 Динамика содержания ИЛ-8 в плазме после однократной нагрузки ..                                             | 32 |
| 3.2 Динамика содержания интерлейкинов в плазме крови у тренированных<br>животных после однократной нагрузки ..... | 35 |
| 3.2.1 Динамика содержания ИЛ-6 в плазме у тренированных животных ...                                              | 35 |
| 3.2.2 Динамика содержания ИЛ-15 в плазме у тренированных животных .                                               | 37 |
| 3.2.3 Динамика содержания ИЛ-8 в плазме у тренированных животных ...                                              | 40 |
| ВЫВОДЫ.....                                                                                                       | 44 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....                                                                                            | 45 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ А .....                                                                                                | 50 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....                                                                                                 | 52 |

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АТ – антитело

ИЛ-15 (IL-15) – интерлейкин 15

ИЛ-6 (IL-6) – интерлейкин 6

ИЛ-8 (IL-8) – интерлейкин 8

КЗ – кислородный запрос

МПК – максимальное потребление кислорода

СД 2 типа – сахарный диабет 2 типа

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ЦНС – центральная нервная система

ЧСС – частота сердечных сокращений

АМРК – 5'АМФ-активируемая протеинкиназа

COX – циклооксигеназа

CXCL – CXC-лиганд

CXCR –  $\alpha$ -рецептор интерлейкина 8

eNOS – эндотелиальная NO-синтаза

LIF – лейкемический ингибирующий фактор

PGE2 – простагландин E2

PI3-киназа – фосфоинозитид-3-киназа

TNF- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) – фактор некроза опухоли-альфа

## ВВЕДЕНИЕ

В течение последних 30 лет было доказано, что физические упражнения оказывают влияние на иммунную систему. Сделанное открытие о том, что физическая нагрузка приводит к увеличению количества цитокинов в кровотоке, была установлена возможная связь между скелетномышечной сократительной активностью и изменениями в иммунитете.

Накоплено достаточно данных, которые подтверждают, что регулярные физические упражнения снижают риск развития и улучшают состояние человека с уже имеющимися хроническими заболеваниями, такими как: сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет 2 типа, ожирение, деменция и депрессия. Несмотря на продолжительность физических упражнений, в результате, можно наблюдать множество последствий, к которым они приводят.

На протяжении большей части прошлого века исследователи искали связь между сокращением мышцы и гуморальными изменениями в виде некоторого “фактора нагрузки/упражнения”, который мог бы являться посредником некоторых exercise(упражнения)-индуцированных/индуцированных нагрузкой метаболических изменений в других органах, таких как: печень и жировая ткань. Другими словами, большая проблема возникла перед спортивными физиологами, так как необходимо было определить, как мышцы передают сигнал центральным и периферическим органам. Недавние исследования показали, что мышечные волокна продуцируют и высвобождают цитокин ИЛ-6 в систему кровообращения во время физических нагрузок.

Было предложено, что цитокины и другие пептиды, которые продуцируются, экспрессируются и высвобождаются мышечными волокнами и оказывают либо паракринный, либо эндокринный эффект, следует классифицировать как «миокины».

Также было предложено, что ИЛ-6 и другие цитокины, которые продуцируют скелетные мышцы, оказывающие свое влияние на другие органы и системы, должны быть названы «миокинами».

Именно с продукцией миокинов связывают корректирующие эффекты умеренной физической активности при целом ряде метаболических расстройств (сахарный диабет 2 типа, гипертоническая болезнь, атеросклероз и т.д.) [8]. Однако закономерности выделения миокинов в зависимости от интенсивности, характера и продолжительности физических нагрузок исследованы недостаточно [6].

Объект исследования: мышцы линии C57Bl/6.

Предмет исследования: продукция миокинов при физических нагрузках различной интенсивности.

Цель исследования – изучить содержание миокинов в плазме у мышей при динамической нагрузке различной интенсивности в различные сроки после плавания с учетом утяжеления и предварительной тренировки.

Задачи:

1. Изучить теоретические аспекты влияния физических нагрузок на иммунную систему.
2. Определить влияние утяжеления на содержание интерлейкинов в плазме крови мышей.
3. Определить влияние 4х-недельной тренировки на уровень интерлейкинов в плазме крови мышей.

Гипотеза настоящего исследования: предполагается, что количественные характеристики продукции миокинов скелетными мышцами зависят от интенсивности выполняемой работы и от уровня предварительной тренированности.

# ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Физиология упражнений

Физические упражнения – двигательное действие, выполняемое по закономерностям физического воспитания и применяемое для физического и духовного совершенствования человека. Классификация упражнений:

- невольные (стихийные);
- игровые;
- естественно-прикладные (освоение важных для жизни умений и навыков);
- соревновательные;
- аналитические.

Две большие группы физических упражнений, связанные с тем или иным видом спорта, со стандартностью или нестандартностью движений, в свою очередь, делятся по характеру воздействия их на организм на упражнения (движения) циклического характера (ходьба, бег, плавание, гребля, передвижение на коньках, лыжах, велосипеде и т. п.) и упражнения ациклического характера (упражнения без обязательной слитной повторяемости определенных циклов, имеющие четко выраженное начало и завершение движения: прыжки, метание, гимнастические и акробатические элементы, поднятие тяжестей и т. д.). Общим для всех движений циклического характера является то, что все они могут представлять собой работу не только постоянной, но и переменной мощности с различной продолжительностью выполнения. Многообразный характер движений не всегда дает возможность определить точно мощность выполненной работы (т. е. количество работы в единицу времени, связанное с силой мышечных сокращений, их частотой и амплитудой), поэтому в таких случаях часто используется термин «интенсивность». Понятно, что предельная длительность работы зависит от мощности и интенсивности выполняемой

работы, ее объема. Характер ее выполнения самым непосредственным образом связан с развитием утомления в организме. Если мощность работы велика, то длительность ее мала вследствие быстро наступающего утомления, и наоборот. При работе циклического характера спортивные физиологи различают зону максимальной мощности работы (продолжительность ее не превышает 20 – 30 с, причем утомление и снижение работоспособности большей частью наступает уже через 10 – 15 с), субмаксимальной (продолжительность ее составляет от 20 – 30 с до 3 – 5 мин), большой (продолжительность от 3 – 5 до 30 – 50 мин) и умеренной (продолжительность 50 мин и более) [8].

Физическая нагрузка – это величина воздействия физических упражнений на человека, которая сопровождается повышенным, относительно покоя, уровнем функционирования организма.

Различают внутреннюю и внешнюю стороны нагрузки. Внутренняя сторона характеризуется морфо-функциональными изменениями в организме под воздействием нагрузки. Внешняя – определяется количественной характеристикой выполняемой работы (интенсивность и объем). Нагрузка бывает стандартной и переменной. Первая одинакова по своим внешним параметрам в каждый момент времени, а вторая меняется по ходу выполнения упражнения. Эффект нагрузки определяется ее объемом и интенсивностью. Объем нагрузки – это длительность воздействия нагрузки на организм человека. Интенсивность – это сила воздействия нагрузки, характеризуемая напряженностью функций, разовой величиной усилий и т.п. Общая нагрузка нескольких физических упражнений (или занятий в целом) может быть определена, соответственно, по интегральным характеристикам ее объема и интенсивности в отдельных упражнениях (или занятиях). Между показателями объема и интенсивности нагрузки существуют обратно пропорциональные отношения [2].

Различные виды физической работы осуществляются с помощью мышечной системы, на долю которой приходится до 40% массы тела.

Различают статическую и динамическую мышечную работу. При статической работе мышечное сокращение не связано с движением частей тела. Например, мускулатура, обеспечивающая позу сидящего или стоящего человека, выполняет статическую работу. Динамическая работа — это когда отдельные части тела человека перемещаются. Физическая активность человека складывается из статической и динамической работы. Следует отметить, что при статической работе переносимость нагрузки зависит от функционального состояния тех или иных мышечных групп, а при динамической — еще и от эффективности систем, поставляющих энергию (сердечно-сосудистой, дыхательной), а также от их взаимодействия с другими органами и системами. Максимальное напряжение, а также максимальное время напряжения, которое способна развивать и удерживать определенная группа мышц, зависят от ее локальной функциональной мощности. В условиях динамической работы выносливость и максимальная мощность определяются эффективностью механизмов энергопродукции и их согласованностью с другими функциональными системами организма [2,3].

Работа может быть локальной, регионарной и общей. Если в работе задействованы до трети общей мышечной массы тела, то ее обозначают как локальную. В регионарной работе участвуют от трети до двух третей всей мускулатуры тела. При активации еще большего количества мышечной массы работа определяется как общая. Практическое значение имеет классификация интенсивности мышечной работы в зависимости от расхода энергии, исходя из максимума аэробных возможностей обследуемого. Максимум аэробных возможностей наиболее полно характеризуется максимумом потребления кислорода —  $V_{O_2max}$  (аэробной мощности). Согласно классификации, данной Soula et al. (1961), в тяжести работы различают 5 ступеней:

– очень тяжелая работа, при которой кислородный запрос превышает аэробную мощность организма, и превращение энергии происходит в

анаэробных условиях, максимальная продолжительность такой работы – несколько минут;

- работа на уровне 75-100% аэробной мощности индивидуума обозначается как максимальная, продолжительность непрерывной такой работы от 30 мин до 3 ч.;

- субмаксимальная работа соответствует 50-75% аэробной мощности индивидуума;

- интенсивная работа, при которой используется 25-50% аэробной мощности, сюда относится большинство разновидностей так называемого физического труда;

- при легкой работе расход энергии не превышает 25% аэробной мощности [3].

## 1.2 Физиологическая характеристика циклической работы

Циклические упражнения по предельному времени работы разделены по зонам относительной мощности – максимальной мощности (продолжающиеся до 10-30 с), субмаксимальной (от 30-40 с до 3-5 мин), большой (от 5-6 мин до 20-30 мин) и умеренной мощности (от 30-40 мин до нескольких часов). При этом учитывалось, что физическая нагрузка не равна физиологической нагрузке на организм человека, а основной величиной, характеризующей физиологическую нагрузку, является предельное время выполнения работы у бегунов, конькобежцев, пловцов. Работа максимальной мощности обеспечивается преимущественно за счет поступления энергии в результате процессов анаэробного окисления и относится к анаэробным алактатным нагрузкам, т.е. выполняется на 90-95% за счет энергии фосфогенной системы. Такая работа совершается во время спринтерского бега на 60, 100 и 200 метров, плавания на 25 и 50 метров, и т.п. Предельные единичные энерготраты могут достигать значительных величин, однако суммарные – минимальны. Огромный кислородный запрос удовлетворяется крайне незначительно, но кислородный долг не успевает достичь большой величины из-за кратковременности нагрузки. Короткий рабочий период недостаточен для формирования заметных адаптивных сдвигов в системах дыхания и кровообращения. При этом из-за высокого уровня предстартового возбуждения ЧСС может достигать больших значений. В результате активного выхода из печени углеводов в крови обнаруживается повышенное содержание глюкозы и формируется состояние гипергликемии [1].

Ведущими системами организма при работе в зоне максимальной мощности являются ЦНС и двигательный аппарат. Работа субмаксимальной мощности обеспечивается за счет поступления энергии в результате процессов анаэробно-аэробного окисления. Однако из-за незначительного по времени выполнения нагрузки преимущественным способом энергообеспечения являются реакции анаэробного гликолиза, что приводит к

предельному нарастанию концентрации молочной кислоты в крови. В таких условиях значение рН крови может снижаться до 7,0 и более. Высокий кислородный запрос формирует кислородный долг, который может достигать максимальных величин. Ведущие физиологические системы в обеспечении работы в зоне субмаксимальной мощности – ЦНС и системы транспорта газов крови (дыхательная, сердечно-сосудистая система и система крови). Их показатели достигают максимальных значений. При таком виде нагрузки рекомендуется определять величину прямого показателя физической работоспособности – максимальное потребление кислорода (МПК). Адаптивные сдвиги в системе энергообеспечения организма при работе большой мощности определяются, прежде всего, потребностями в кислороде – кислородным запросом (КЗ). Величина КЗ при выполнении работы большой мощности намного превышает возможности сердечно-сосудистой системы в транспортировке кислорода к работающим органам. Однако соотношение величин потребления кислорода и кислородного запроса в этом случае выше, чем при работе в зонах максимальной и субмаксимальной мощности. Энергетическое обеспечение работы большой мощности происходит преимущественно за счет аэробного обмена. Значительная длительность и высокая интенсивность работы большой мощности обеспечивает полное развертывание функций сердечно-сосудистой и дыхательной систем [1,4].

Выполнение работы умеренной мощности обеспечивается преимущественно за счет аэробного пути окисления. После исчерпания запасов глюкозы обменные процессы задействуют и окисление жиров. Такая работа выполняется во время бега на дистанции 20, 30 км, марафонского бега, шоссейных велогонок, лыжных гонок на 30, 50 км, спортивной ходьбы. Предельные единичные энерготраты незначительны, зато суммарные энерготраты могут достигать незначительных величин. Потребление кислорода при выполнении таких нагрузок составляет около 70-80 % от МПК, что способствует практически полной компенсации кислородного

запроса во время работы. Кислородный долг к концу работы может быть минимальным, а концентрация молочной кислоты не превышает нормальных значений. Достаточно длительный рабочий период способствует развитию адаптивных реакций в работе основных газотранспортных систем – дыхания и кровообращения. Благодаря этому, при работе умеренной мощности можно наблюдать истинное «устойчивое состояние». В результате активного использования из печени запасов углеводов в крови уменьшается содержание глюкозы, и накапливаются признаки гипогликемии. Ведущими системами организма при работе в зоне умеренной мощности являются сердечно-сосудистая система, дыхание, кровь, тканевое окисление и двигательный аппарат [1].

Выполнение работы переменной мощности постоянно требует нового сдвига активности различных органов и систем спортсмена. Особенности вегетативного обеспечения является невозможность одновременной быстрой перестройки систем снабжения организма – сердечно-сосудистой, дыхательной и других. Системы обеспечения всегда «опаздывают» за оптимальным кислородным снабжением, что способствует росту кислородного долга. Такая работа особенно характерна для спортивных игр и единоборств, а также для стандартных ациклических упражнений. Высокая лабильность вегетативного обеспечения является важным условием успешного выполнения подобной работы.

Ведущими системами организма при работе в зоне переменной мощности являются центральная и вегетативная системы, органы кровообращения, дыхания, система крови, а также тканевое окисление и двигательный аппарат. Уровень физической активности определяется величиной ЧСС. Следовательно, расчет корреляции ЧСС и мощности нагрузки в эксперименте позволяет судить о приспособленности организма спортсмена к данной работе [1,4].

## 2. Классификация миокинов

Среди миокинов в наиболее полной мере изучены IL-6, IL-8, IL-15, миостатин, PGE2, LIF, COX, CXCL, eNOS [42, 27]. Эти миокины представляют собой молекулы ранее известных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-15, CXCL1 и LIF), а также других белков (миостатин, COX и eNOS) и липидов (PGE2). Для названных молекул, во-первых, имеются наиболее убедительные доказательства их продукции именно мышечными клетками, индуктором которой является сократительная активность, а во-вторых, доказан достаточно широкий спектр физиологических эффектов.

В связи со значительно возросшим числом молекул, которые были идентифицированы как миокины, многие авторы обратились к проблеме их классификации. Однако единой, общепринятой классификации миокинов до сегодняшнего дня нет. И для этого есть вполне объективные причины. Большинство миокинов являются представителями весьма многочисленной и разнообразной группы цитокинов. Поэтому в основном исследователи пытаются построить классификацию миокинов по той же схеме, по которой традиционно классифицируют цитокины [7]. Однако, такие попытки чаще всего оказываются неудачными.

Поскольку цитокины, прежде всего, рассматриваются как регуляторы иммунитета, то эффект их традиционно оценивают, как про- или противовоспалительный, но физиологические эффекты миокинов в большинстве случаев не выяснены.

В максимально обобщенном виде классификация, основанная на таком подходе, выглядит так:

- цитокины подсемейства IL-6 (цитокины, связывающиеся с рецептором gp130 или CD130) – IL-6 (другое обозначение у человека IL6 (ген IL6)) и LIF (ген LIF) [7];
- подсемейство цитокинов, связывающихся с рецепторами CD122 и CD132 – интерлейкин 15 (другие обозначения у человека IL-15, IL15 (генIL15)) [38];

- хемокины подсемейства CXC (цитокины размером от 8 до 10 кДа) – CXCL1 (другие обозначения у человека GRO-alpha, MGSA, NAP-3 (ген CXCL1), у мыши – Gm1960 (ген Cxcl3)), CXCL8 (другие обозначения у человека IL-8, NAP-1 (ген IL8)) [46];
- суперсемейство TGF-beta/BMP (трансформирующий фактор роста костного морфогенетического белка) – миостатин или фактор роста и дифференцировки 8 (myostatin, growth differentiation factor 8, GDF8 (ген MSTN)), который связывается с рецепторами ACVR2B (activin type II receptor, активиновый рецептор II типа) [6, 11];
- семейство простагландинов – PGE2 – группа стероидных гормонов, образующихся из арахидоновой кислоты под действием циклооксигеназы (COX) и PGE-синтазы;
- COX или простагландин-эндопероксид синтаза (prostaglandin-endoperoxide synthase, PTGS) фермент, катализирующий первые две стадии синтеза Pg и необходимый для формирования PGG2 (обеспечение стереоспецифичности), представляет собой гомодимер из идентичных гликопротеинов (576 и 581 а.к.);
- эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) – это одна из NO-синтаз человека, кодируемая геном NOS3, состоящая из оксигеназного и редуктазного доменов [9].

### 3. Миокины и их эффекты

#### 3.1 ИЛ-6

Исследования показали, что скелетные мышцы могут продуцировать и экспрессировать цитокины, принадлежащие к разным семействам. Таким образом, скелетная мышца способна высвобождать несколько видов миокинов. Этот список включает в себя ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-15 и др., а сократительная активность играет важную роль в регуляции экспрессии этих цитокинов в скелетной мышце [37].

С момента открытия ИЛ-6, высвобождающийся из сокращающейся скелетной мышцы, накопилось достаточное количество доказательств, что ИЛ-6 оказывает влияние на метаболизм. Оказалось, что ИЛ-6 высвобождаемый скелетной мышцей соответствует критерию физической нагрузки, а, следовательно, такой класс цитокинов должен называться «миокинами» [37].

Одним из первых цитокинов, который был предложен в качестве миокина, был ИЛ-6. Предложение это было сделано Pedersen и соавт. в 2003. В 2000 году было замечено, что уровень ИЛ-6 увеличивается в плазме во время физических упражнений [32], дальнейшие исследования показали, что ИЛ-6, высвобожденный скелетной мышцей, играет важную роль в метаболических процессах [29]. Позднее было обнаружено, что продукция ИЛ-6 сильно увеличивается во время тренировочного процесса, когда уровень гликогена сильно снижается, это можно объяснить, как возможную реакцию мышечной ткани на конкретный метаболический запрос [41]. ИЛ-6 продуцируется и I и II типом волокон в ответ на мышечное сокращение [41, 24]. В скелетных мышцах ИЛ-6 активируется AMPK и/или PI3-киназой, увеличивая потребление глюкозы и окисление жиров. При высвобождении в кровоток, ИЛ-6 достигает печени (рис.1), где повышает продукцию глюкозы во время физических упражнений, а в жировой ткани усиливает липолиз [19]. В результате, эффекты ИЛ-6, продуцируемого скелетной мышцей, местного

и общего характера, увеличивают доступность энергетических субстратов для сокращения мышц [31].

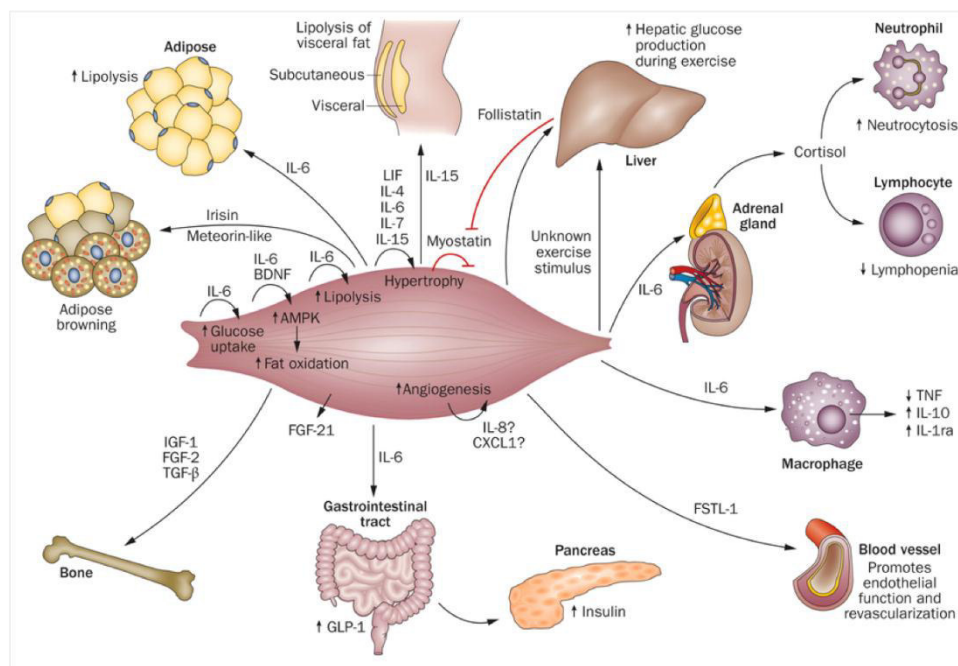


Image from Benatti FB, Pedersen BK. Nat Rev Rheumatol. 2014 Nov 25. doi: 10.1038/nrrheum.

Рисунок 1 – Эффекты ИЛ-6, продуцируемый скелетными мышцами, на органы и ткани

IL-6 относится к провоспалительным цитокинам. Это одна из его функций, когда его выработка осуществляется моноцитами и макрофагами в ответ на инфекционные раздражители. Однако, сократительно-индуцированная продукция IL-6 скелетными мышцами, возникает в отсутствии других воспалительных медиаторов, главным образом, таких как: IL-10 и TNF-α. Это указывает на то, что продукция ИЛ-6 в ответ на физическую нагрузку, не является воспалительным процессом. Наоборот, физические упражнения повышают уровень противовоспалительных цитокинов: IL-1ra, IL -10 и растворимого TNF-R - естественный ингибитор TNF-α [29].

Во время упражнений IL-6 может обладать и противовоспалительным действием, так как данные указывают на то, что этот миокин способен подавлять синтез IL-1 и TNF-α [14] и стимулировать продукцию IL-1ra и IL-10 [15].

В заключение можно сказать, что физическая активность стимулирует продукцию IL-6, препятствует системному воспалению и регулирует метаболизм глюкозы и липидов через механизмы, описанные выше.

### **3.2 ИЛ-15**

ИЛ-15 представляет собой гликопротеид с молекулярной массой 14-15 кДа. Относится к провоспалительным цитокинам. Ил-15 играет важную роль в созревании и пролиферации Т-, В- и NK-клеток. Более конкретно, ИЛ-15 увеличивает цитотоксичность CD8<sup>+</sup> Т-клеток и необходим для активации NK-клеток [44]. Благодаря способности ИЛ-15 привлекать Т-клетки CD8<sup>+</sup> и NK-клетки в сторону локализации опухоли, ИЛ-15 был определен в качестве противоопухолевого цитокина [45, 43].

Помимо воздействия на Т- и NK-клетки, ИЛ-15 влияет на другие компоненты иммунной системы. Так, например, ИЛ-15 защищает нейтрофилы от апоптоза, модулирует фагоцитоз и стимулирует секрецию ИЛ-8 и ИЛ-1R. Связываясь со специфическим рецептором ИЛ-15Ra, активизирует Jak1/Jak3/Stat5 сигнальные пути (рис.2) [39, 22].

ИЛ-15 оказывает свое влияние не только на клетки крови, но и воздействует на другие клетки организма, включая миоциты, адипоциты, кератиноциты, эндотелиальные и нервные клетки. Выявлено, что ИЛ-15 экспрессируется в скелетных мышцах человека, и способен оказывать анаболический эффект на скелетные мышцы как *in vivo*, так и *in vitro*, а также принимает участие в снижении массы жировой ткани [35]. А также способствует дифференциации мышечных клеток [13, 33, 5].

Обнаружено, что уровень мРНК ИЛ-15 в скелетной мышце человека увеличивался после силовых тренировок [18]. Было сделано предположение, что ИЛ-15 может накапливаться в мышцах, как следствие регулярных тренировок.

Обнаружена отрицательно обратная связь между концентрацией ИЛ-15 и запасом жировой ткани в организме человека [10].

Установлено, что повышенный уровень циркулирующего в крови ИЛ-15 у мышей приводит к значительному сокращению жира и повышению содержания костного минерала, без существенного затрагивая мышечной массы тела или уровня других цитокинов [28]. Возможно, что секреция ИЛ-15 из мышечной ткани может оказывать влияние на висцеральную жировую ткань конкретно через эндокринный механизм [30].

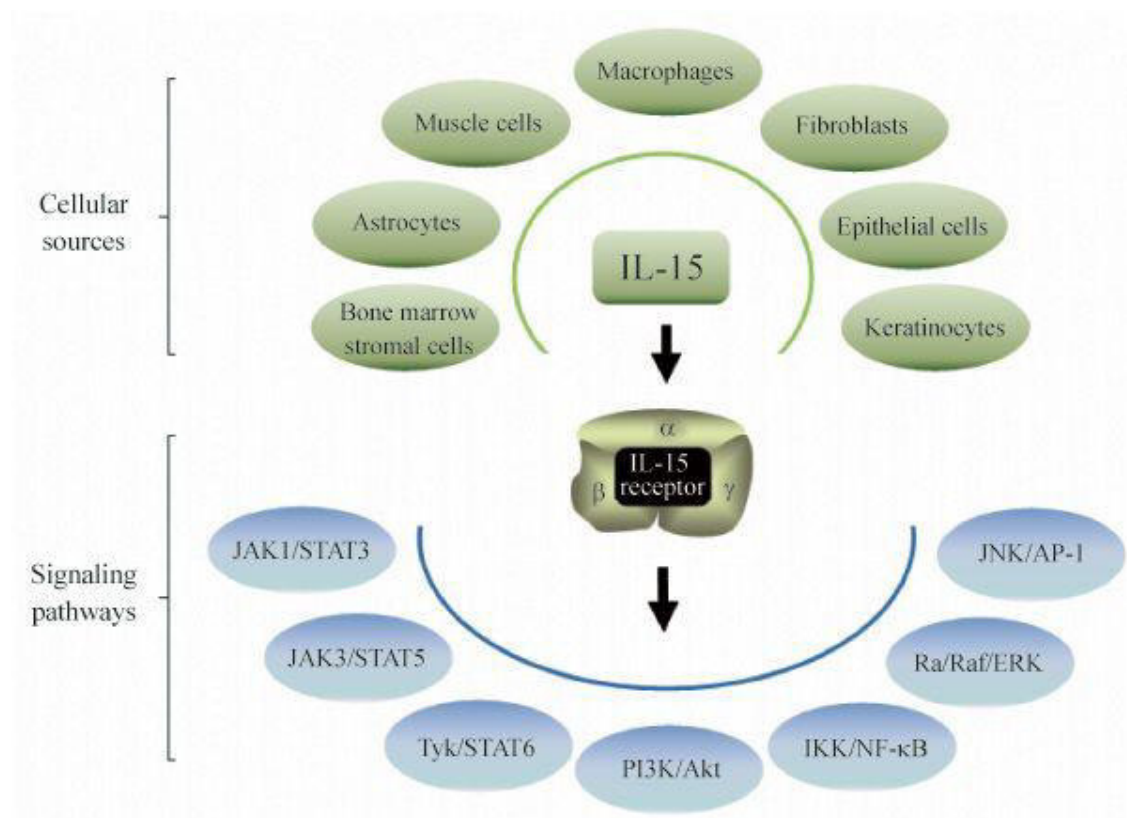


Рисунок 2 – Продукция ИЛ-15 различными клетками и активация сигнальных путей через ИЛ-15R

(<http://journal.hep.com.cn/fmd/EN/Y2015/V9/I2/139>)

### 3.3 ИЛ-8

ИЛ-8 относится к хемокинам подсемейства СХС с молекулярной массой 8,8 кДа. Обладает провоспалительными свойствами. ИЛ-8 может вызывать миграцию нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов к очагам воспаления [26]. В нейтрофилах ИЛ-8 индуцирует изменения формы, приводит к дыхательному взрыву, в результате чего происходит высвобождение супероксид-аниона и перекиси водорода [11]. ИЛ-8 участвует в широком

спектре физиологических и патологических процессов, в том числе: в иммунной защите против бактериальной инфекции, в ангиогенезе, атеросклерозе и аутоиммунных заболеваний кожи, костей и суставов [21].

Высокая продукция ИЛ-8, продуцируемый скелетными мышцами в момент сокращения, наблюдается локально, а высвобождение его из мышцы осуществляется порциями. Это свидетельствует о том, что ИЛ-8 оказывает аутокринный и паракринный эффект, то есть воздействует на саму мышцу и на близ лежащие ткани [16]. Однако, повышение концентрации ИЛ-8 в плазме крови наблюдается в ответ на утомительные тренировки, например, после длительного бега, который включает эксцентрические мышечные сокращения [29].

Функция производимого мышцами ИЛ-8 является стимуляция ангиогенеза. Хемотаксические эффекты ИЛ-8 осуществляются через CXCR1 (рецептор), в то время как CXCR2, отвечает за выраженные микрососудистые нарушения эндотелиальных клеток, и является рецептором, ответственным за ИЛ-8-индуцированный ангиогенез [40, 25]. Экспрессия рецептора CXCR2 ИЛ-8 усиливается в скелетной мышце человека после концентрических упражнений, а увеличение CXCR2 белка проявляется не только в мышечных волокнах, но в большей степени в эндотелии сосудов, предполагая, что он может играть определенную роль в ангиогенезе [20]. ИЛ-8-сигнализация способствует запуску ангиогенных реакций в клетках эндотелия, увеличивает пролиферацию и выживание эндотелиальных и опухолевых клеток, а также усиливает миграцию раковых клеток, эндотелиальных клеток и проникновение нейтрофилов в места локализации опухоли.

Высокая локальная продукция ИЛ-8 в сокращающейся скелетной мышце осуществляется только кратковременными выпусками, что не приводит увеличению концентрации ИЛ-8 в плазме крови, и свидетельствует о том, что ИЛ-8, продуцируемый мышцами, не оказывает системных эффектов. Однако, вполне вероятно, что ИЛ-8, вырабатываемый мышечными волокнами,

оказывает свое действие на местном уровне и играет важную роль в ангиогенезе [30].

Физические нагрузки разной интенсивности приводят к запуску большого количества биохимических, молекулярных и генетических механизмов, лежащих в основе адаптационных реакций организма на физиологический стресс. Процессы адаптации организма к физическим нагрузкам различного характера связаны с изменениями нервной и гуморальной регуляции, адекватной перестройкой центральной и периферической гемодинамики и пр. Таким образом, физическая нагрузка оказывает как непосредственное влияние на скелетную мускулатуру, так и системное воздействие на организм, что во многом опосредовано продукцией миокинов. Как следствие, миокины считаются одними из важных факторов в поддержании гомеостаза и адаптации мышц к физической нагрузке [7].

## ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### 2.1. Дизайн исследования

Объектом исследования служили половозрелые (8 - 12-недельные) мыши линии C57Bl/6 весом 25-30 г. В остром эксперименте мыши контрольной группы (n=6) не подвергались физическим нагрузкам, мыши экспериментальной группы (n=96) подвергались воздействию плавания с отягощениями в 5%, 7,5% и 10% от массы тела (рис.3). Для мышей с грузом 5% от массы тела время плавания составляло 60 мин, для мышей с грузом 7,5% от массы тела - 20 мин, и при 10% от массы тела - 10 мин. В хроническом эксперименте все мыши подвергались регулярным физическим нагрузкам (тренировка) в виде плавания в течение 4 недель по 1 часу в день без отягощения. После этого мыши делились на две группы – контрольную (n=6) и экспериментальную (n=96). Исследование выполнялось по той же схеме (рис.4), что и в первом (остром) эксперименте.

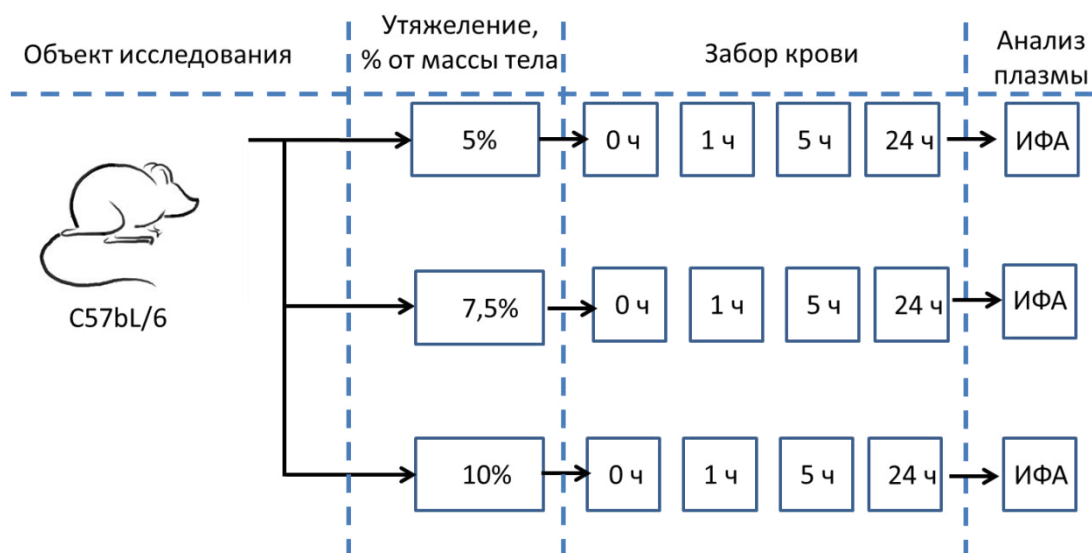


Рисунок 3 - Дизайн проведения острого эксперимента

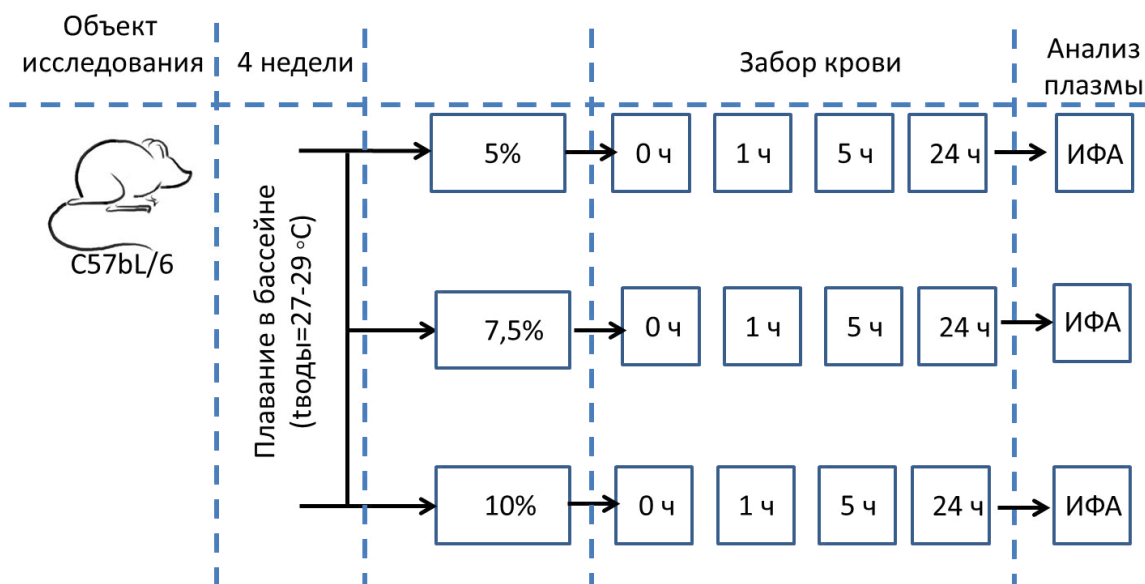


Рисунок 4 - Дизайн проведения хронического эксперимента

Забивка животных (методом декапитации) производилась сразу после нагрузки и в различные сроки после ее завершения – 1, 5 и 24 часа. Кровь собиралась непосредственно после декапитации в пробирки с гепарином (20 ед/мл). Центрифугирование образцов проводилось сразу после забора крови в течение 11 мин при 2000 об/мин. Плазма хранилась в замороженном виде при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  не более месяца.

## 2.2 Анализ плазмы крови

Концентрации интерлейкинов в плазме крови мышей определялись иммуноферментным методом с помощью набора Platinum ELISA (eBioscience, Австрия) и Cloud-Clone Corp. (US) (табл.2). Принцип метода заключается в следующем: на дне лунки располагаются анти-мышинные АТ к ИЛ-6 (ИЛ-8 или ИЛ-15) как представлено на рисунке 5.



Рисунок 5 – Анти-мышинные АТ, расположенные на дне лунки планшета

Мышиный ИЛ-6 (ИЛ-8 или ИЛ-15), присутствующий в исследуемом образце или стандарте, связывается с антителами, адсорбированные на дне микролунки. Последующее добавление биотин конъюгата анти-мышинного ИЛ-6 (ИЛ-8, ИЛ-15) приводит к связыванию с мышинным ИЛ-6 (ИЛ-8, ИЛ-15), который захвачен первыми антителами (рис.6).



Рисунок 6 – Первая инкубация после добавления пробы или стандарта в лунку

После инкубации несвязанный биотин конъюгат анти-мышинного АТ к ИЛ-6 (ИЛ-8, ИЛ-15) удаляется во время промывки. Добавление стрептавидина HRP (рис.7) приводит к связыванию биотин-конъюгированных анти-мышинных АТ ИЛ-6 (ИЛ-8, ИЛ-15).

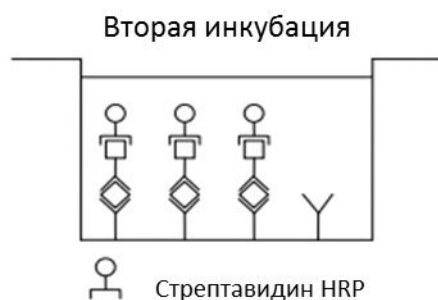


Рисунок 7 – Вторая инкубация после добавления стрептавидин HRP

При последующей инкубации несвязанный стрептавидина HRP удаляется во время шага промывки. Добавление раствора с субстратом приводит к связыванию с HRP на дне микролунки (рис.8).



Рисунок 8 – Третья инкубация после добавления субстрата

Окрашенность итогового продукта формируется пропорционально количеству мышинового ИЛ-6 (ИЛ-8, ИЛ-15), представленного в пробе или стандарте. Реакция прекращается после добавления кислоты.

Измерение оптической плотности выполнялось на микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм.

### 2.3 Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистического анализа STATISTICA 8.0.

Алгоритм работы в программе в случае выбора непараметрического критерия сравнения:

– независимых данных: Statistics (верхнее меню) → Nonparametrics Comparing two independent samples (variables) (OK) → Variables: (выбор интересующих количественных выборочных данных) → Whitney U-test-matched pairs test (получение таблицы расчетной статистики сравнения).

В полученных таблицах нам важна величина  $p$  в сравнении с критическим уровнем 0,05. Если  $p \leq 0,05$  – свидетельствует об отсутствии различий. Это связано с особенностями выдвижения статистических гипотез при использовании данного критерия сравнения. Для удобства использования итоговых таблиц расчетной статистики предусмотрено выделение красным цветом значений  $p \leq 0,05$ .

## ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 Динамика содержания интерлейкинов в плазме крови мышей после однократной нагрузки

#### 3.1.1 Динамика содержания ИЛ-6 в плазме после однократной нагрузки

На рисунке 9 представлена диаграмма изменения продукции ИЛ-6 в зависимости от времени после однократной нагрузки в течение 1 часа с утяжелением в 5% от массы тела. Значительное увеличение концентрации ИЛ-6 в плазме крови у мышей наблюдается через 5 часов ( $94,07 \pm 9,41$  пг/мл,  $p < 0,05$ ) и через 24 часа после нагрузки ( $80,51 \pm 12,91$  пг/мл,  $p < 0,05$ ).

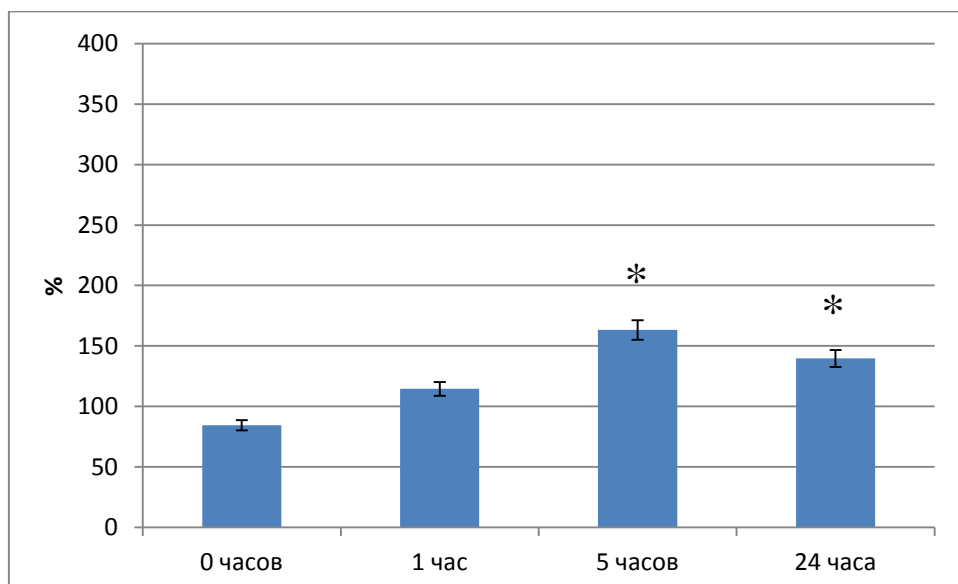


Рисунок 9 - Изменение продукции ИЛ-6 после нагрузки с утяжелением 5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Изменение концентрации ИЛ-6 при однократной нагрузке в течение 20 мин с грузом 7,5% от массы тела животных представлено на рисунке 10. Статистически значимые различия наблюдались через 1 час ( $46,03 \pm 6,48$  пг/мл,  $p < 0,05$ ), через 5 часов ( $75,75 \pm 11,30$  пг/мл,  $p < 0,05$ ) и через сутки после нагрузки ( $40,15 \pm 5,02$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Однако, уровень ИЛ-6 в плазме крови у мышей после нагрузки с 7,5% утяжелением через 5 часов и 24 часа ниже на

33% и 73% соответственно по сравнению с концентрацией ИЛ-6 в плазме после нагрузки с 5%. Возможно, что на продукцию ИЛ-6 влияет длительность нагрузки.

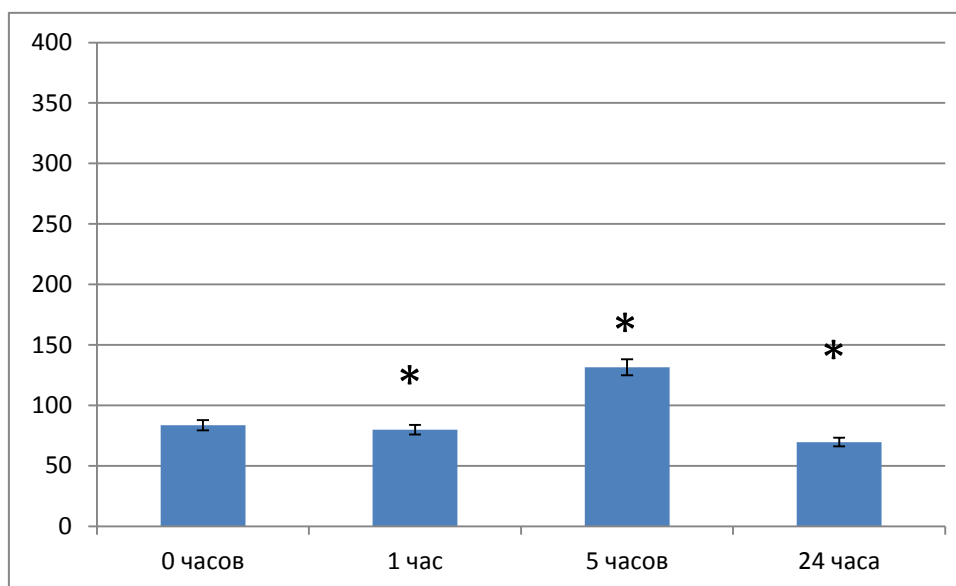


Рисунок 10 - Изменение продукции ИЛ-6 после нагрузки с утяжелением 7,5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Изменение ИЛ-6 в различные промежутки времени с 10% утяжелением после нагрузки представлены на рисунке 11. Время плавания с 10% грузом составляло 10 мин. Значительное увеличение концентрации ИЛ-6 наблюдалось после 5 часов после нагрузки ( $207,3 \pm 23,74$ ,  $p < 0,05$ ). Сразу после нагрузки, через 1 час и через 24 часа статистически значимых различий не наблюдалось.

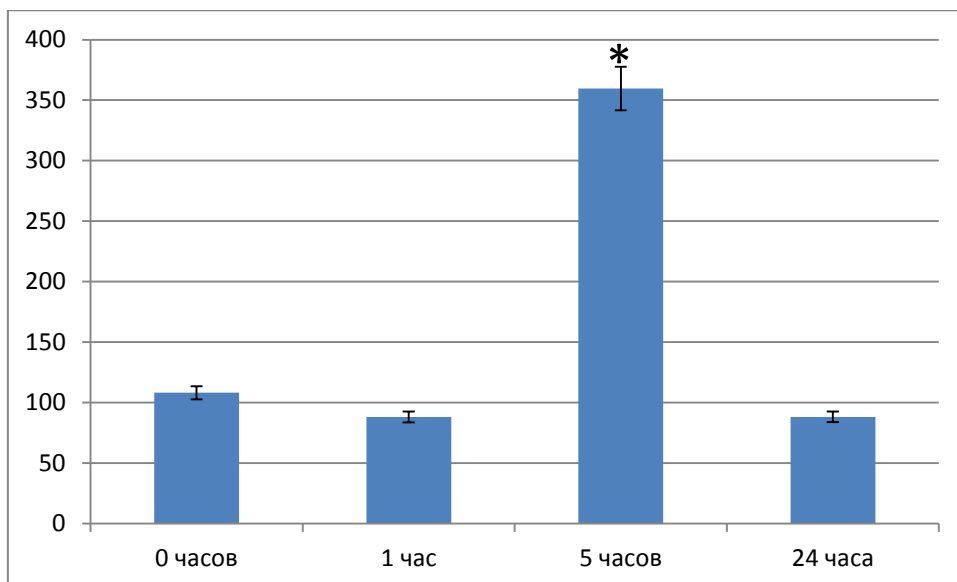


Рисунок 11 - Изменение продукции ИЛ-6 после нагрузки с утяжелением 10% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Проведя сравнительный анализ временного интервала и утяжеления на содержание ИЛ-6 в плазме крови у мышей после однократной нагрузки с различными утяжелениями (рис.12), через 5 часов концентрация ИЛ-6 наибольшая, особенно после плавания с 10% грузом.

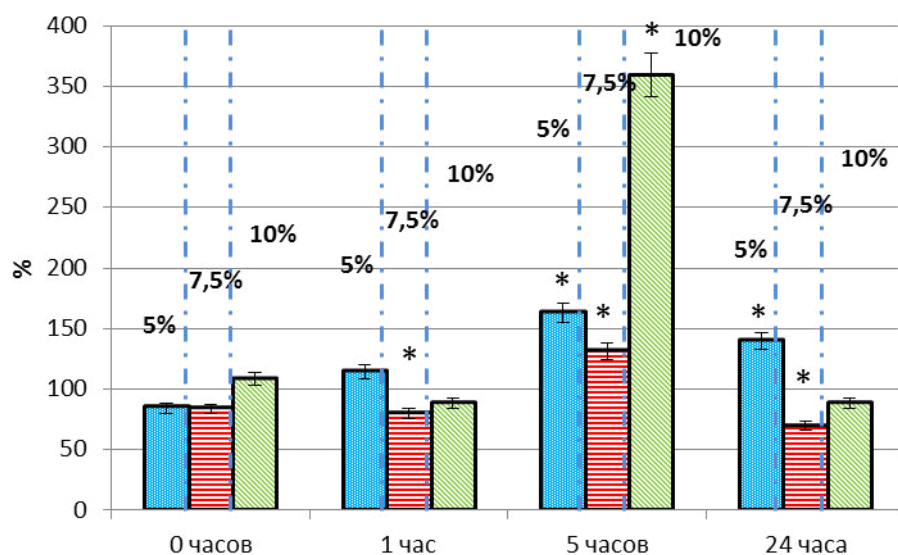


Рисунок 12 – Оценка влияния времени и утяжеления на содержание ИЛ-6 в плазме после однократной нагрузки

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Увеличение концентрации ИЛ-6 является критерием физической нагрузки. Как один из факторов повышения уровня ИЛ-6 происходит при снижении гликогена [41], следовательно, через 5 часов запрос на восстановление гликогена максимальный.

### 3.1.2 Динамика содержания ИЛ-15 в плазме после однократной нагрузки

Изменение содержания ИЛ-15 в плазме крови у мышей в определенные промежутки времени после плавания в течение 60 минут с 5% утяжелением представлено на рисунке 13. Увеличение концентрации ИЛ-15 в плазме крови наблюдалось сразу после нагрузки ( $58,22 \pm 16,35$ ,  $p < 0,05$ ) относительно контроля (таблица 1).

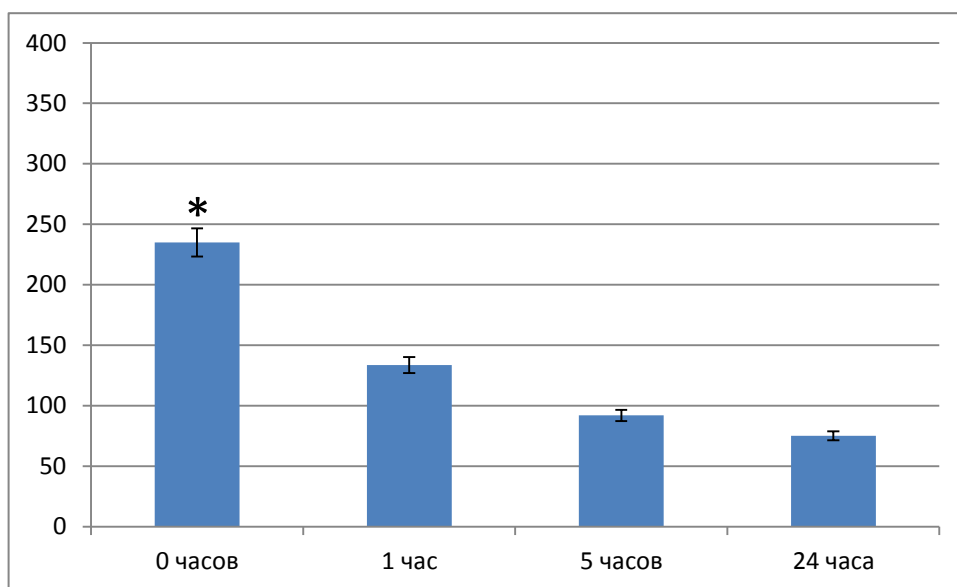


Рисунок 13 - Изменение продукции ИЛ-15 после нагрузки с утяжелением 5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Динамика содержания ИЛ-15 в плазме у мышей после плавания в течение 20 минут с 7,5% утяжелением представлена на рисунке 14. Статистически значимых различий не наблюдалось сразу после нагрузки, через 1 час и через 5 часов (таблица 1). Через 24 часа уровень ИЛ-15 в плазме после нагрузки снизился на 26 % относительно контроля ( $p < 0,05$ ).

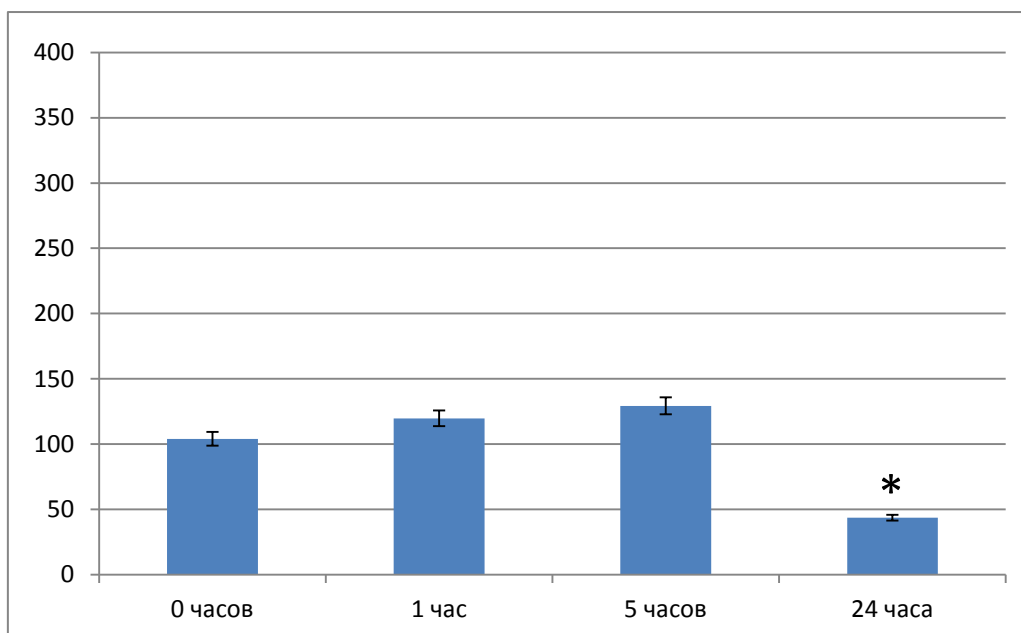


Рисунок 14 - Изменение продукции ИЛ-15 после нагрузки с утяжелением 7,5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Уровень ИЛ-15 в плазме у мышей после нагрузки с утяжелением 10% (время плавания составляло 10 минут) поддерживался на одном уровне. Однако статистически значимых различий не наблюдалось (рис.15). Следовательно, можно сделать вывод, что интенсивность физической нагрузки не оказало влияния на продукцию ИЛ-15.

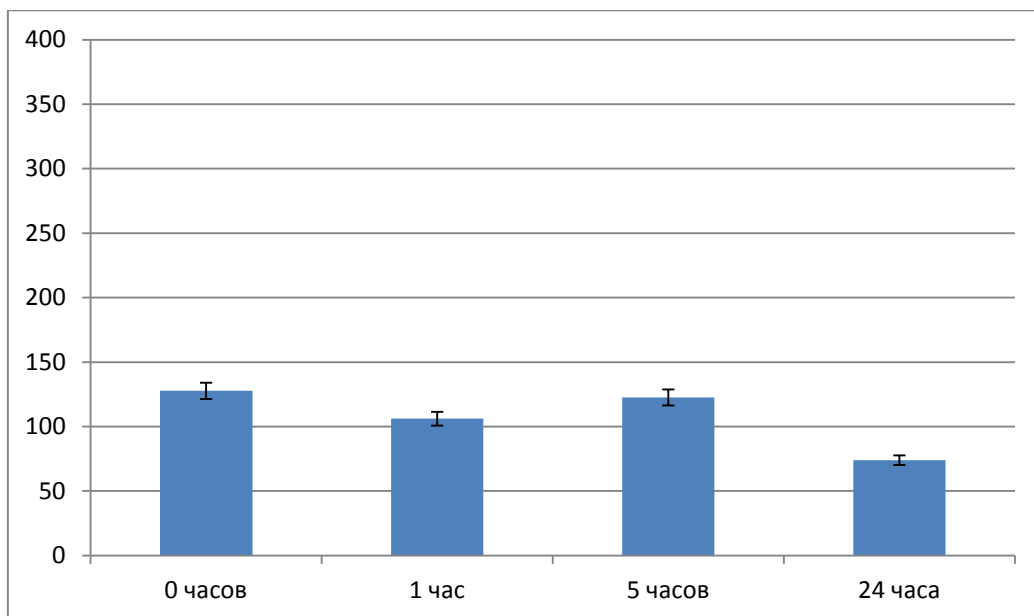


Рисунок 15 - Изменение продукции ИЛ-15 после нагрузки с утяжелением 10% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

Проанализировав полученные результаты по ИЛ-15, можно сказать, что значительные изменения наблюдаются сразу после 60 минут плавания с 5% грузом (рис.16).

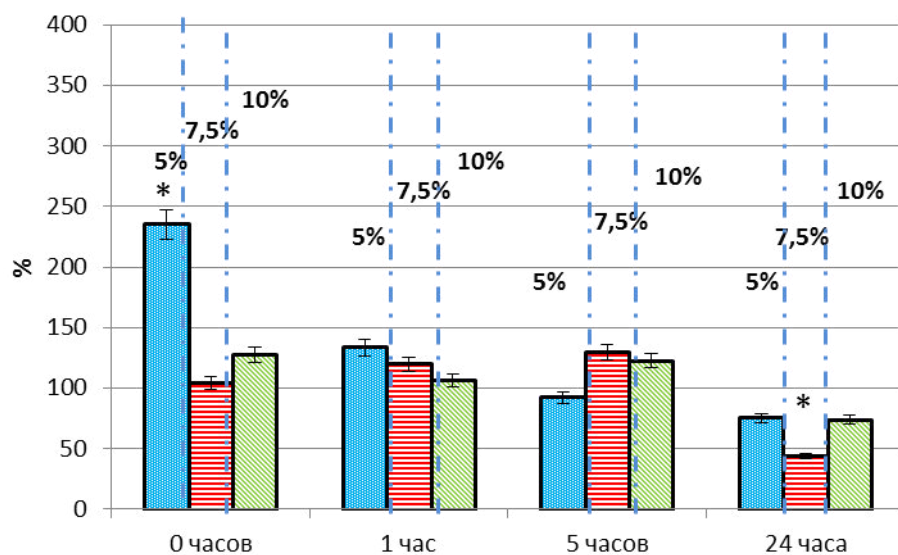


Рисунок 16 – Оценка влияния времени и утяжеления на содержание ИЛ-15 в плазме после однократной нагрузки

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

### 3.1.3 Динамика содержания ИЛ-8 в плазме после однократной нагрузки

Изменение содержания ИЛ-8 в плазме крови у мышей после плавания в течение 60 минут с 5% утяжелением представлен на рисунке 17. Статистически значимых различий не выявлено.

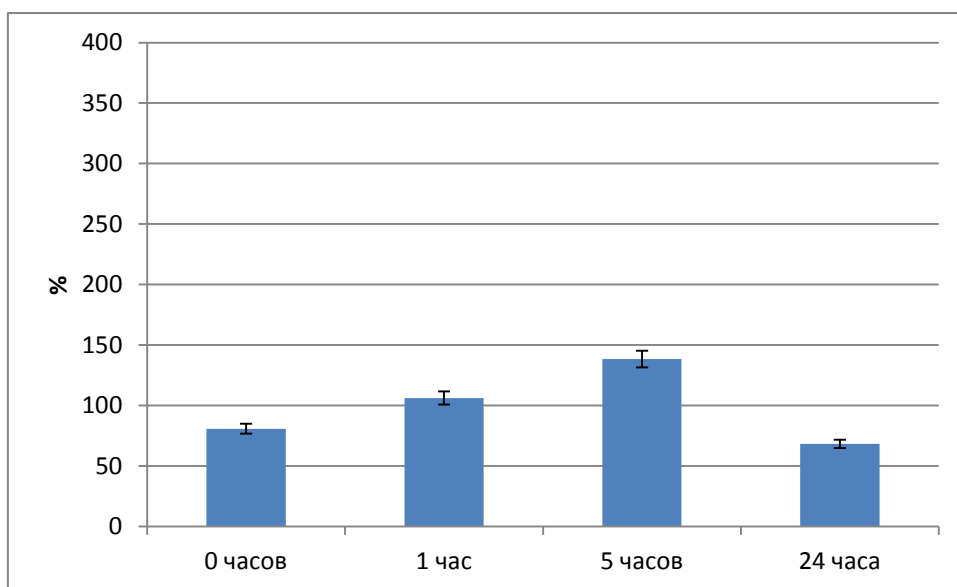


Рисунок 17 - Изменение продукции ИЛ-8 после нагрузки с утяжелением 5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

Динамика содержания ИЛ-8 в плазме у мышей после плавания в течение 20 минут с 7,5% утяжелением представлена на рисунке 18. Статистически значимых различий не наблюдалось (таблица 1).

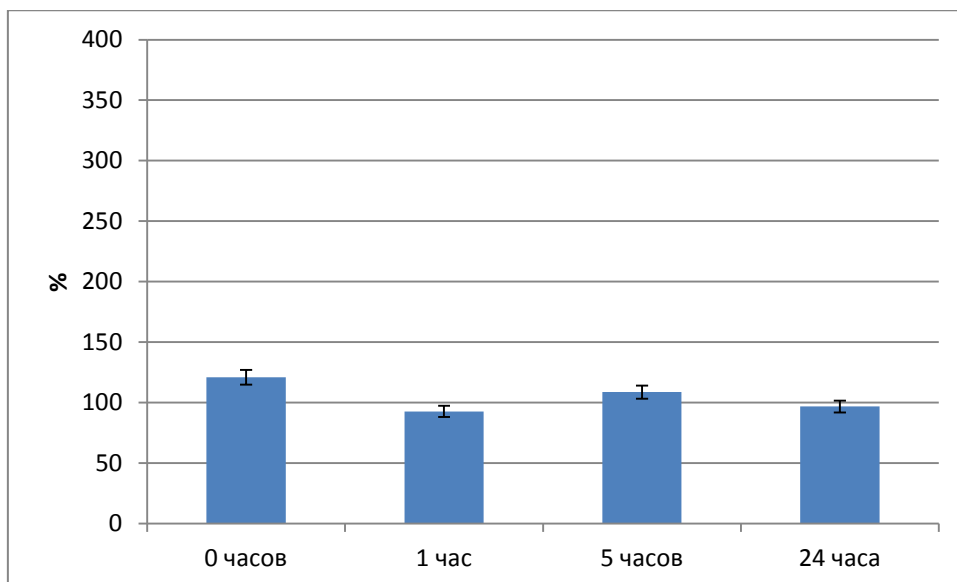


Рисунок 18 - Изменение продукции ИЛ-8 с утяжелением 7,5% от массы тела после нагрузки. Данные представлены в % относительно контроля

Уровень ИЛ-8 в плазме у мышей после нагрузки с утяжелением 10% (время плавания составляло 10 минут) поддерживался на одном уровне. Однако статистически значимых различий не наблюдалось (рис.19).

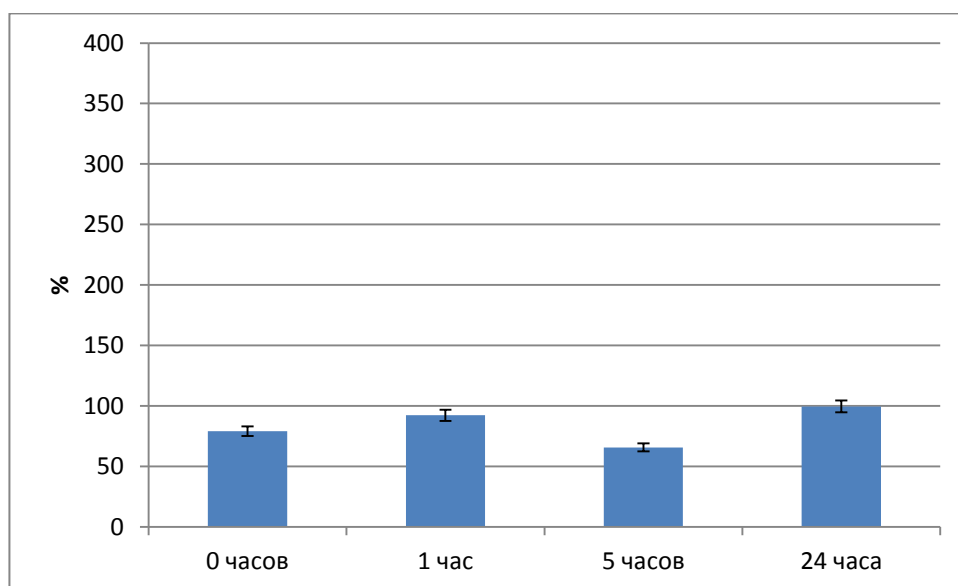


Рисунок 19 - Изменение продукции ИЛ-8 после нагрузки с утяжелением 10% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

Анализ данных по ИЛ-8 показал, что однократная нагрузка различной интенсивности не влияет на изменение концентрации ИЛ-8. Однако можно

сказать, что уровень ИЛ-8 в общем кровотоке не повышается, по причине локального воздействия на скелетную мышцу.

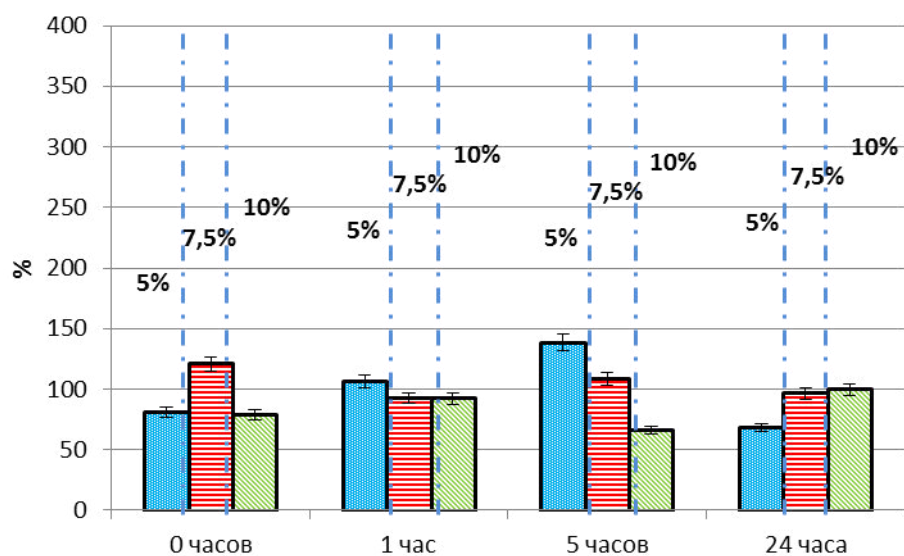


Рисунок 20 – Оценка влияния времени и утяжеления на содержание ИЛ-8 в плазме после однократной нагрузки

### 3.2 Динамика содержания интерлейкинов в плазме крови у тренированных животных после однократной нагрузки

#### 3.2.1 Динамика содержания ИЛ-6 в плазме у тренированных животных

Уровень ИЛ-6 в плазме крови у тренированных мышей после нагрузки в течение 60 минут с 5% утяжелением (рис. 21) был выше относительно контроля во все исследуемые временные промежутки (табл.1).

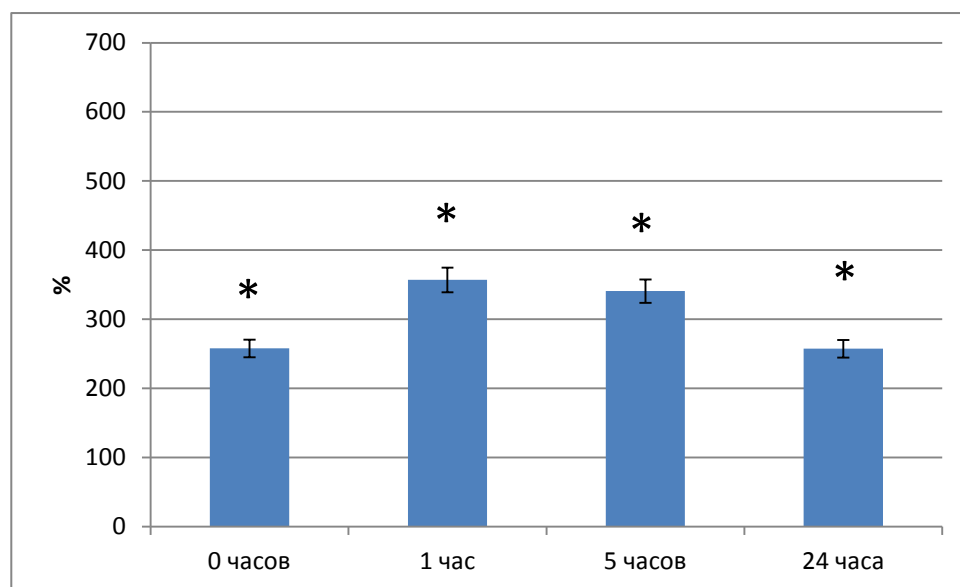


Рисунок 21 - Изменение продукции ИЛ-6 в плазме после нагрузки с утяжелением 5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Уровень ИЛ-6 в плазме крови у тренированных мышей после нагрузки в течение 20 минут с 7,5% утяжелением представлен на рисунке 22. Значение ИЛ-6 сразу после нагрузки возросло примерно в 2 раза, но максимум концентрации наблюдался через 5 часов (табл.1).

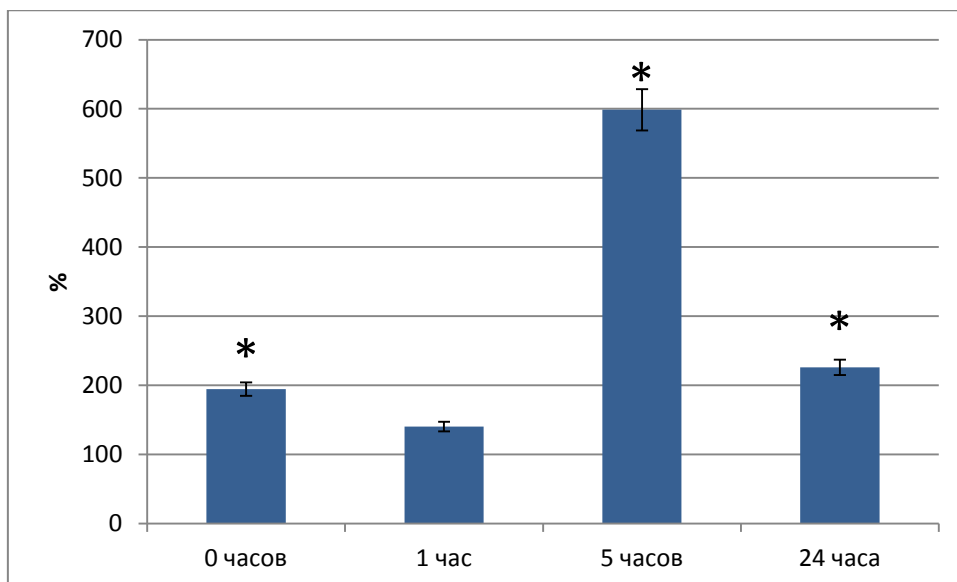


Рисунок 22 - Изменение продукции ИЛ-6 после нагрузки с утяжелением 7,5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Содержание ИЛ-6 после нагрузки в течение 10 минут с 10% утяжелением (рис.23) было выше относительно контроля примерно в 2 раза во все временные промежутки (табл.1).

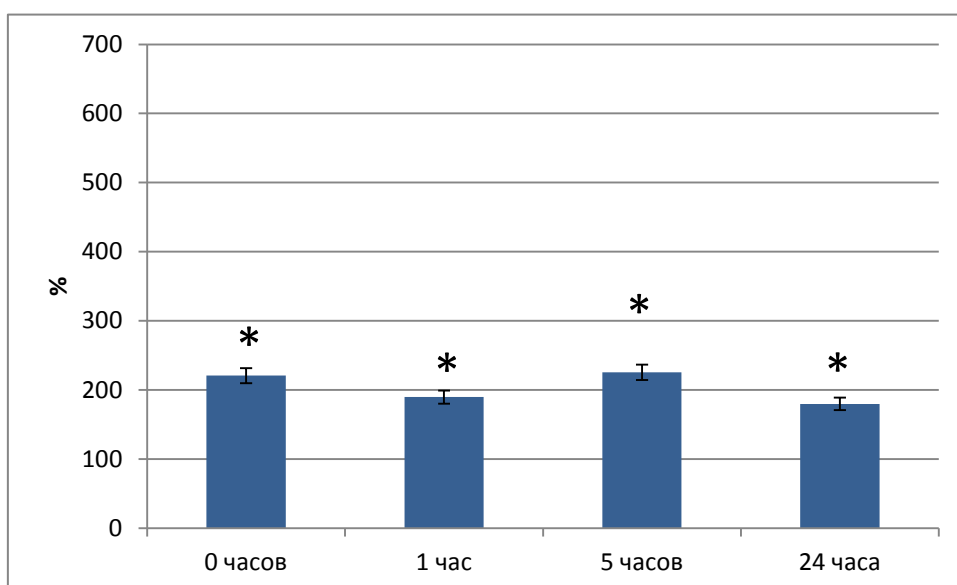


Рисунок 23- Изменение продукции ИЛ-6 после нагрузки с утяжелением 10% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Сводная диаграмма зависимости ИЛ-6 от времени и утяжеления у тренированных животных (рис.24). Уровень ИЛ-6 у тренированных животных выше по сравнению с нетренированными животными.

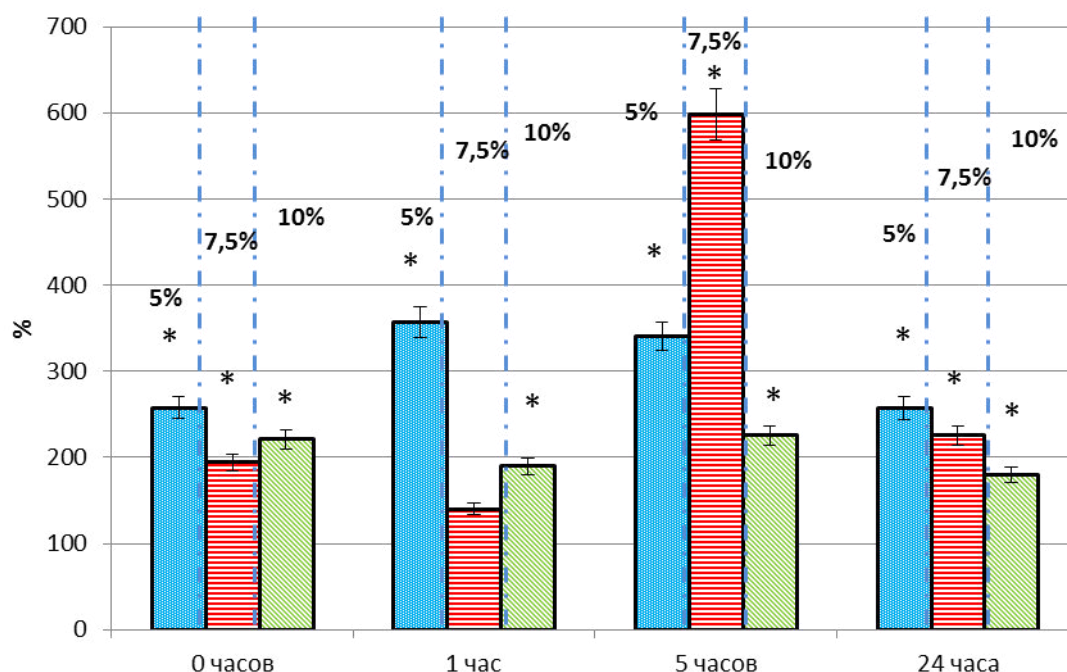


Рисунок 24 – Оценка влияния времени и утяжеления на содержание ИЛ-6 в плазме крови у тренированных животных после однократной нагрузки

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

### 3.2.2 Динамика содержания ИЛ-15 в плазме у тренированных животных

Динамика содержание ИЛ-15 в плазме крови у тренированных мышей в течение 4-х недель после нагрузки в течение 60 минут с 5% утяжелением представлена на рисунке 25. Уровень ИЛ-15 сразу после нагрузки увеличился в 2,8 раза относительно контроля, затем через 1 часа снизился на 30%, через 5 часов не изменялся, а через 24 часа увеличился в 3 раза.

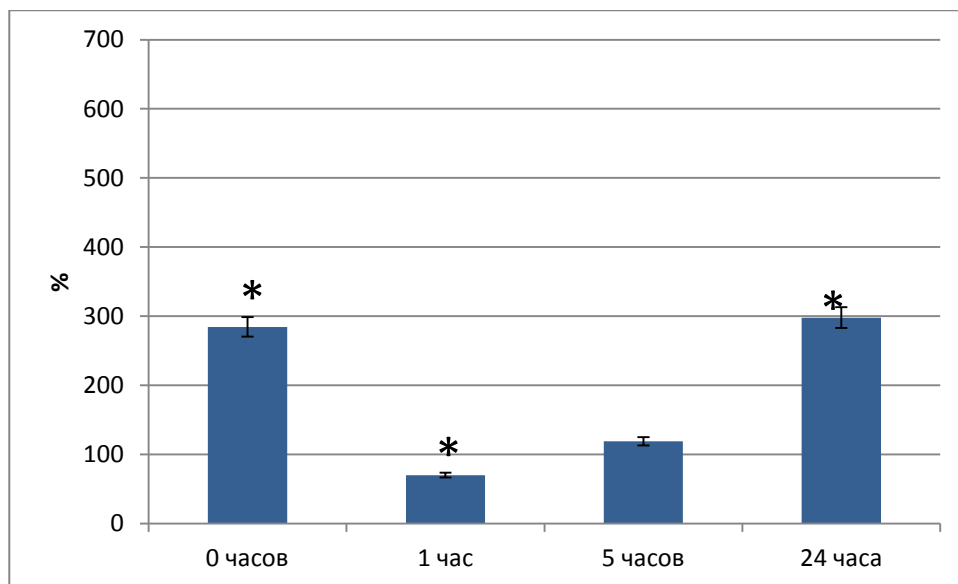


Рисунок 25 - Изменение продукции ИЛ-15 после нагрузки с утяжелением 5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Аналогичная тенденция наблюдается после нагрузки в течение 20 минут с 7,5% утяжелением (рис.26).

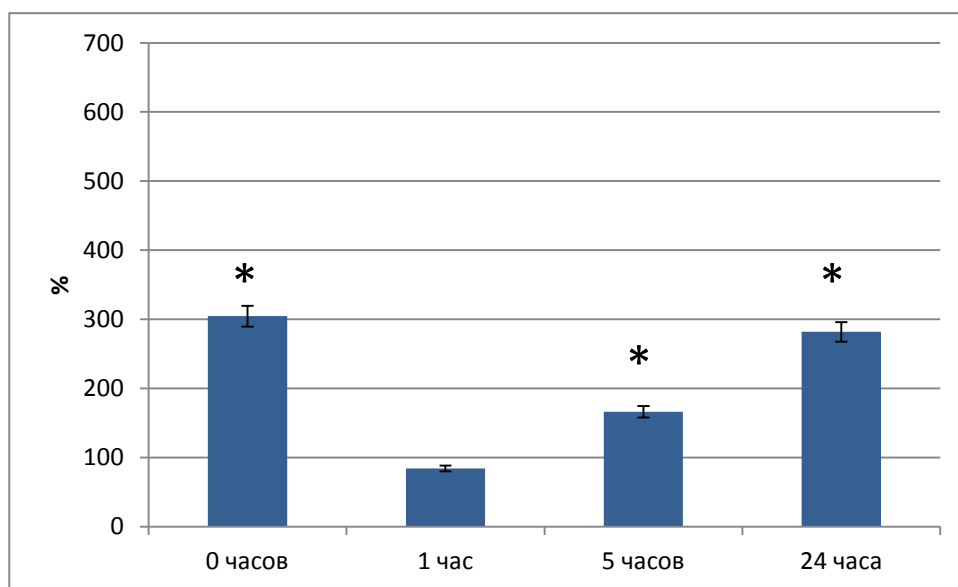


Рисунок 26 - Изменение продукции ИЛ-15 после нагрузки с утяжелением 7,5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Содержание ИЛ-15 после нагрузки в течение 10 минут с 10% утяжелением (рис.27) увеличился примерно в 3 раза, в остальные промежутки времени статистически значимых различий не наблюдалось.

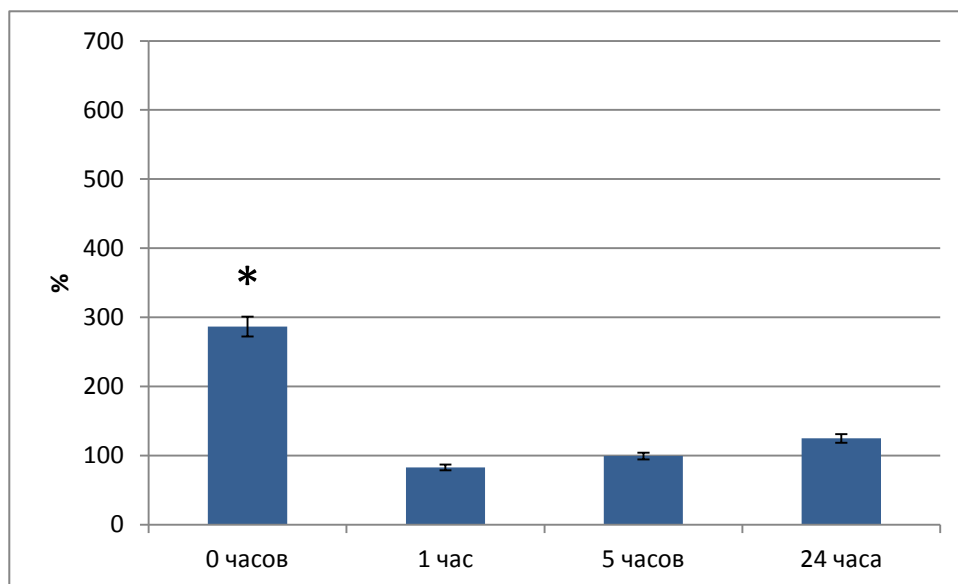


Рисунок 27- Изменение продукции ИЛ-15 после нагрузки с утяжелением 10% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Общая диаграмма влияния утяжеления на продукцию ИЛ-15 в плазме крови в различные временные промежутки у тренированных животных после однократной нагрузки.

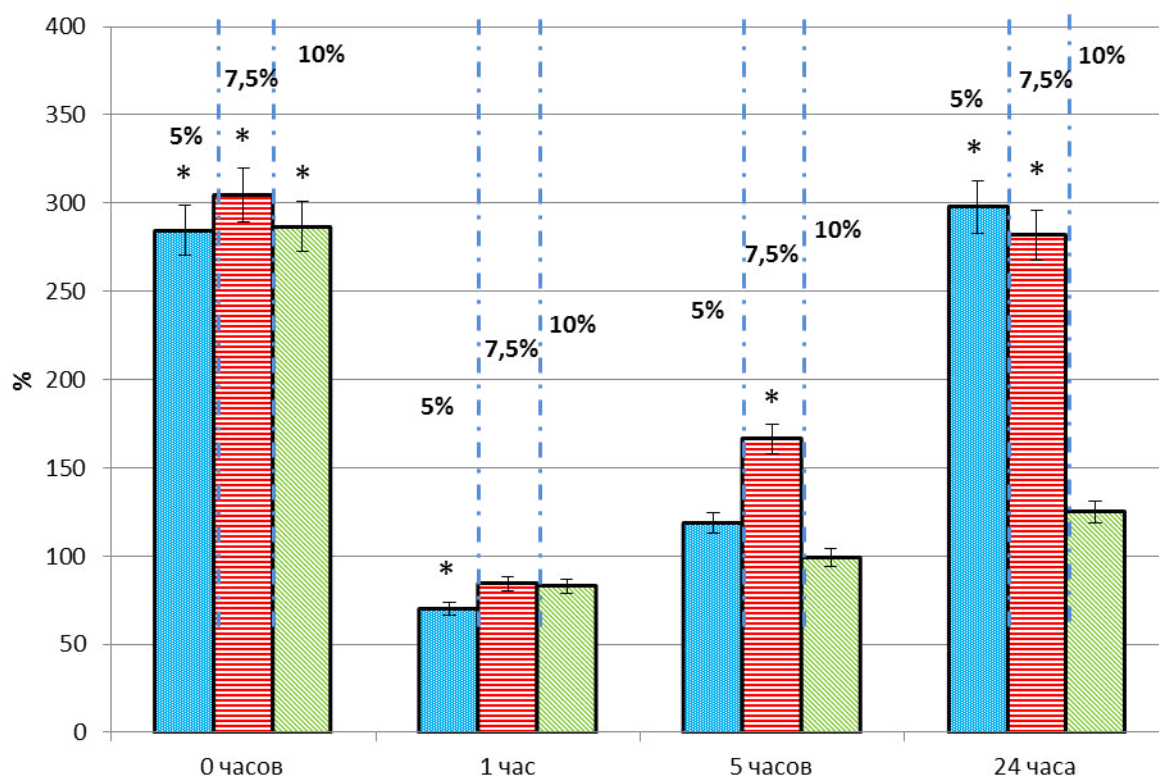


Рисунок 28 – Оценка влияния времени и утяжеления на содержание ИЛ-15 в плазме крови у тренированных животных после однократной нагрузки

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

### 3.2.3 Динамика содержания ИЛ-8 в плазме у тренированных животных

Изменение уровня ИЛ-8 в плазме крови у тренированных мышей после нагрузки в течение 60 минут с 5% утяжелением представлена на рисунке 29. Относительно контроля уровень ИЛ-8 ниже.

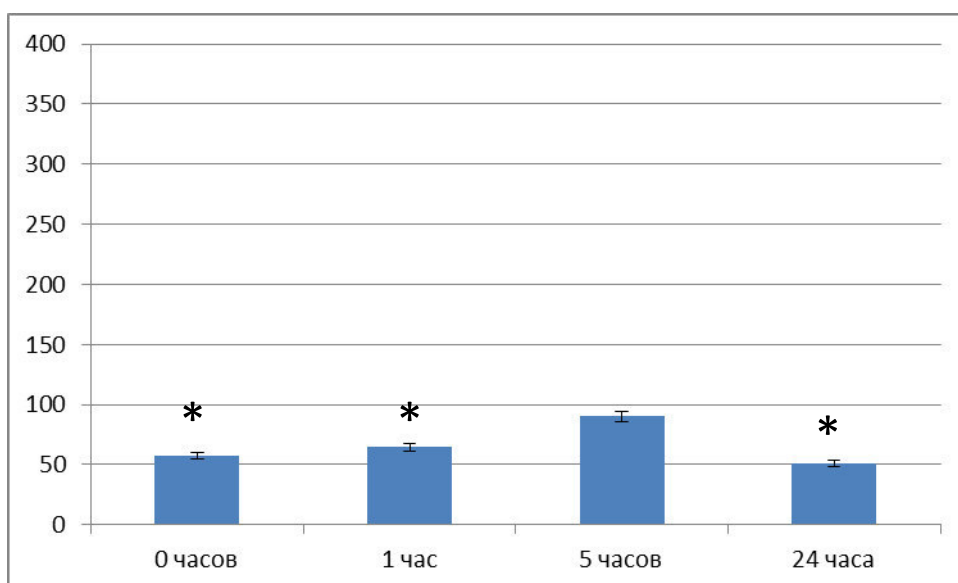


Рисунок 29 - Изменение продукции ИЛ-8 после нагрузки с утяжелением 5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

После нагрузки в течение 20 минут с 7,5% утяжелением концентрация ИЛ-8 аналогична картине с 5% утяжелением (рис.30). Это может говорить о том, что интенсивность нагрузки не повлияла на продукцию ИЛ-8.

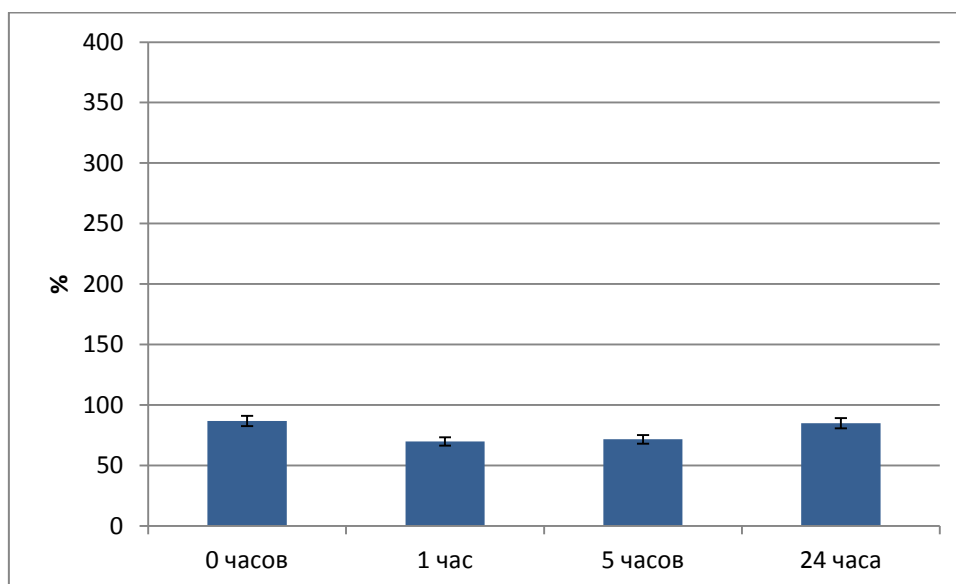


Рисунок 30 - Изменение продукции ИЛ-8 после нагрузки с утяжелением 7,5% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля

Содержание ИЛ-8 после нагрузки в течение 10 минут с 10% утяжелением (рис.31) по динамике схоже с 5% и 7,5% утяжелениями.

Однако, концентрация ИЛ-8 через 5 часов повысилась (табл.1), что может свидетельствовать о влиянии интенсивности на продукцию данного интерлейкина.

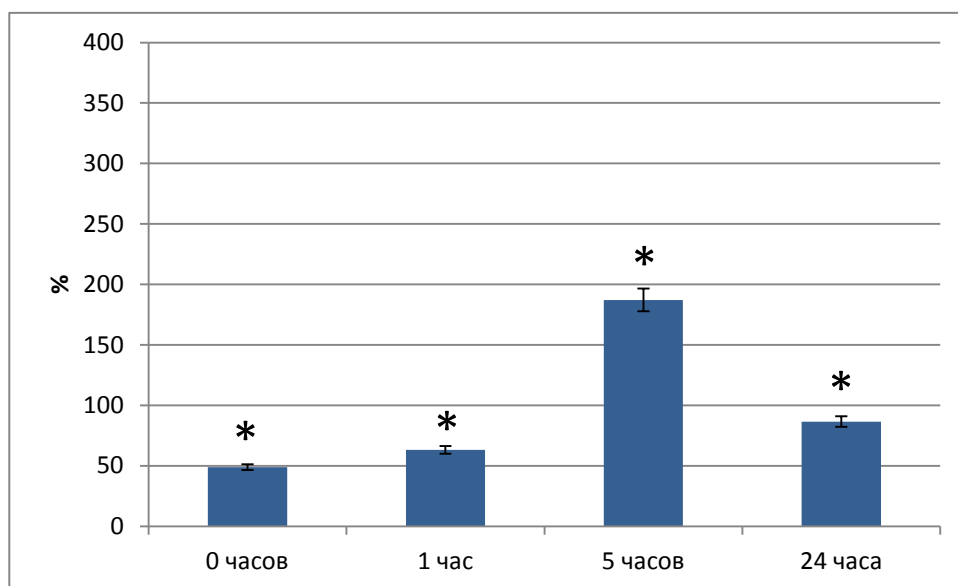


Рисунок 31 - Изменение продукции ИЛ-8 после нагрузки с утяжелением 10% от массы тела. Данные представлены в % относительно контроля.

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

Общая диаграмма влияния утяжеления 5%, 7,5% и 10% от массы тела на продукцию ИЛ-8 в плазме крови в различные временные промежутки у тренированных животных после однократной нагрузки.

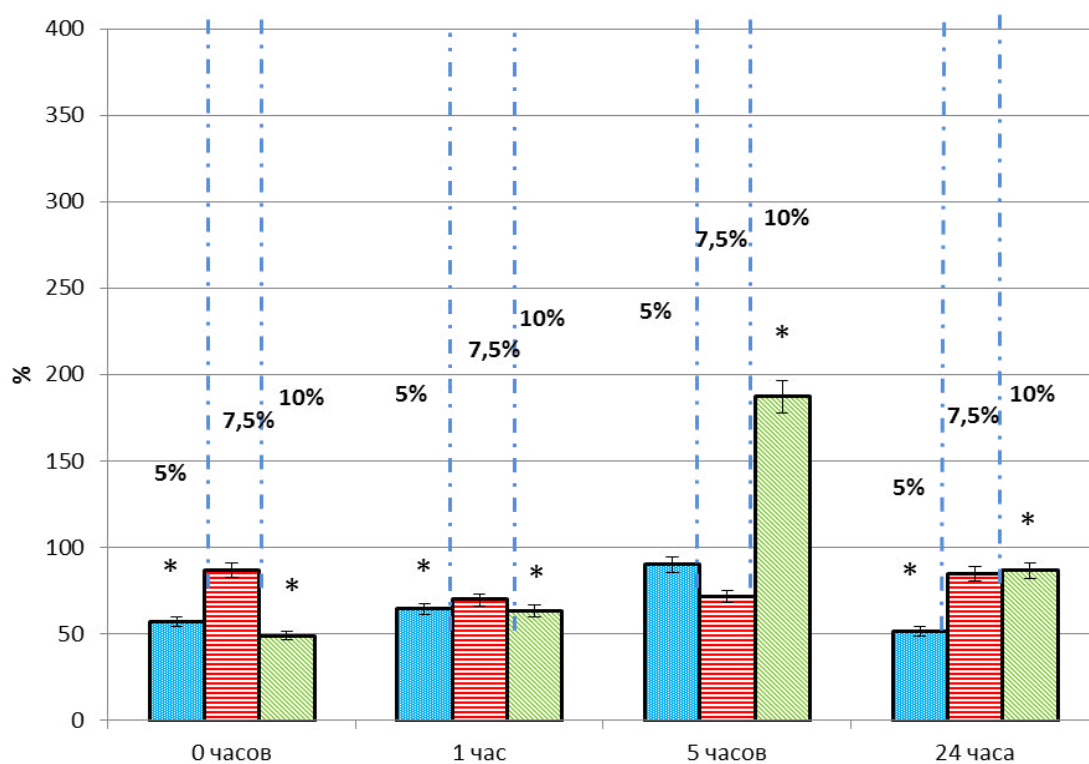


Рисунок 31 – Оценка влияния времени и утяжеления на содержание ИЛ-8 в плазме крови у тренированных животных после однократной нагрузки

\* - достоверность различий с контролем,  $p < 0,05$

## **ВЫВОДЫ**

1. Скелетные мышцы при сокращении способны продуцировать специфические белки и пептиды (миокины), которые оказывают эндокринный, аутокринный и паракринный эффекты.

2. Продукция ИЛ-6 в большей степени зависит от интенсивности нагрузки, тогда как продукция ИЛ-15 – от ее длительности. Содержание ИЛ-8 не зависело ни от интенсивности нагрузки, ни от времени плавания.

3. Предварительная 4х-недельная тренировка оказала влияние на продукцию миокинов: уровень ИЛ-6 у тренированных животных выше во все временные промежутки по сравнению с нетренированными животными; концентрация ИЛ-15 возрастала через 24 часа после нагрузки, ИЛ-8 - через 5 часов после нагрузки.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бондаренко А.Е., Ворочай В.В., Солошик Т.А. Физиология спорта: культура: практ. пособ. для студ. высш. учеб. заведений, осуществляющих образоват. деят. по специальности 03020 – Физическая культура // Мин–во обр. РБ, УО ГГУ им. Ф. Скорины. – 2010. 86 с.
2. Гелецкий В.М. Теория физической культуры и спорта: учебное пособие / Красноярск: ИПК СФУ, 2008. 342 с.
3. Дубровский В.И. Спортивная медицина: Учеб. для студ. высш. учеб. заведений // 2-е изд., доп. –М.: ВЛАДОС, 2002. 512 с.
4. Зимкин Н.В., Коробков А.П. Физиологические основы физической культуры и спорта //М.: ФиС, 2003. – 279с.
5. Интерлейкин-15 и его роль в иммунном воспалении / Е.А. Собко и др. // Бюллетень. 2015. №57. С.113-118.
6. Секреторная функция скелетных мышц: механизмы продукции и физиологические эффекты миокинов / Капилевич Л.В. и др. // Успехи физиологических наук. 2016. 47. № 2. С.7–26.
7. Симбирцев А.С., Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. 2004. № 3. С. 16–22.
8. Холодов Ж.К., Кузнецов В.С. Теория и методика физического воспитания и спорта: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. // М.: Издательский центр «Академия». 2000. 480 с.
9. Alderton W.K., Cooper C.E., R.G. Knowles Nitric oxide synthases : structure, function and inhibition // Biochemical Journal. 2001. V.615. p.593–615.
10. Association between IL-15 and obesity: IL-15 as a potential regulator of fat mass / Nielsen A.R. et al. // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2008. 93. P.4486-93.

11. Baggiolini M., Dewald B., Moser B. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines—CXC and CC chemokines // *Advances in Immunology*. 1994. no.55. p.97–179.
12. Brandt C., Pedersen B. K. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2010. 520. P.258.
13. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor / K.H. Grabstein et al. // *Science*. 1994. Vol.264. №5161. P.965-968.
14. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF / Schindler R. et al. // *Blood*. 1990. №75. p.40–47.
15. Effects of physical exercise on inflammatory markers of atherosclerosis / Pinto A. et al. // *Current Pharmaceutical Design*. 2012. 18(28). p.4326-4349.
16. Exercise induces interleukin-8 expression in human skeletal muscle / Akerstrom T.C. et al. // *Journal of Physiology*. 2005. P.507–516.
17. Expression of interleukin-15 in human skeletal muscle effect of exercise and muscle fibre type composition / Nielsen A. R. et al. // *Journal of Physiology*. 2007. № 584. p.305–312.
18. Expression of interleukin-15 in human skeletal muscle effect of exercise and muscle fibre type composition / Nielsen A.R. et al. // *Journal of Physiology*. 2007. 584. P.305–312.
19. Febbraio M. A., Pedersen B. K. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles // *FASEB Journal*. 2002. №16. p.1335–1347.
20. Glund S., Krook A. Role of interleukin-6 signalling in glucose and lipid metabolism // *Acta Physiologica (Oxf)*. 2008. 192. P. 37–48.
21. Harada A., Mukaida N., Matsushima K. Interleukin 8 as a novel target for intervention therapy in acute inflammatory diseases // *Molecular Medicine Today*. 1996. No.2. p.482–489.

22. IL-15 regulates migration, invasion, angiogenesis and genes associated with lipid metabolism and inflammation in prostate cancer / K. Rohena-Rivera et al. // PLoS ONE. 2017. 12(4). P.e0172786.
23. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans / A. Steensberg et al. // The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2003. №285. p.433–437.
24. Immunohistochemical detection of interleukin-6 in human skeletal muscle fibers following exercise / Penkowa M. et al. // FASEB Journal. 2003. №17. p.2166–2168.
25. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis / Koch A.E. et al. // Science. 1992. 258. P.1798–1801.
26. Interleukin-8: novel roles in human airway smooth muscle cell contraction and migration / V. Govindaraju et al. // American Journal of Physiology. 2006. Vol. 291. no.5. p.C957-C965.
27. Muscle-derived expression of the chemokine CXCL1 attenuates diet-induced obesity and improves fatty acid oxidation in the muscle / Pedersen L. et al. // The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2012. V.302. №7. P. 831–840.
28. Oversecretion of interleukin-15 from skeletal muscle reduces adiposity / Quinn L.S. et al. // American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism. 2009. 296. P.E191–E202.
29. Pedersen B. K., Febbraio M. A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 // Physiological Reviews. 2008. № 88. p.1379–1406.
30. Pedersen B.K., Muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines // Journal of Applied Physiology. 2009. 107 (4). p.1006-1014.
31. Pratesi A., Tarantini M., Di Bari F. Skeletal muscle: an endocrine organ // Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism. 2013. №10. p.11–14.

32. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6 / A. Steensberg et al. // Journal of Physiology. 2000. №529. p.237–242.
33. Quinn L.S., Haugk K.L., Grabstein K.H. Interleukin-15: a novel anabolic cytokine for skeletal muscle // Endocrinology. 1995. Vol.136. №8. P.3669–3672.
34. Role of myokines in exercise and metabolism / Pedersen B.K. et al. // Journal of Applied Physiology. 2007. vol.103. no.3. p.1093–1098.
35. Role of myokines in exercise and metabolism / Pedersen B.K. et al. // Journal of Applied Physiology. 2007. 103. P.1093–1098.
36. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? / B. K. Pedersen et al. // Journal of Muscle Research and Cell Motility. 2003. № 24 p.113–119.
37. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? / Pedersen B. K. et al. // Journal of Muscle Research and Cell Motility. 2003. № 24. p.113–119.
38. Steel J.C., Waldmann T.A., Morris J.C. Interleukin-15 biology and its therapeutic implications in cancer // Trends Pharmacology Science. 2013. V.33. № 1 p.35–41.
39. Steel J.C., Waldmann T.A., Morris J.C. Interleukin-15 biology and its therapeutic implications in cancer // Trends in Pharmacological Sciences. 2012. Vol.33. P.35–41.
40. The effect of diabetes on endothelin, interleukin-8 and vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis in rats / E.L. Bek et al. // Clinical Science (Lond). 2002. 48. P.424S–429S.
41. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content / C. Keller et al. // FASEB Journal. 2001. №15. p.2748–2750.
42. Upregulation of circulating IL-15 by treadmill running in healthy individuals: is IL-15 an endocrine mediator of the beneficial effects of endurance exercise? / Y. Tamura et al. // Endocrine Journal. 2011. V.58. № 3. P. 211–215.

43. Vaccination with tumor cells expressing IL-15 and IL-15R $\alpha$  inhibits murine breast and prostate cancer / J.C. Morris et al. // Gene Therapy. 2014. 21. P.393-401.
44. Waldmann T.A. Interleukin-15 in the treatment of cancer // Expert Review of Clinical Immunology. 2014. 10(12). P.1689-1701.
45. Wu Z., Xu Y. IL-15R  $\alpha$ -IgG1-Fc enhances IL-2 and IL-15 anti-tumor action through NK and CD8<sup>+</sup> T cells proliferation and activation // The Journal of Molecular Cell Biology. 2010. ;2(4). P.217-222.;
46. Zlotnik A., Yoshie O. The chemokine superfamily revisited // Immunity. 2012. V. 36. P.705–716.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица 1 - Концентрация интерлейкинов в плазме крови мышей

| ИЛ-6 (X±m, пг/мл)      |                                              |                                              |                                              |                                                                      |                                                                       |                                                                      |
|------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
|                        | Острый                                       |                                              |                                              | Хронический                                                          |                                                                       |                                                                      |
|                        | 5%                                           | 7,5%                                         | 10%                                          | 5%                                                                   | 7,5%                                                                  | 10%                                                                  |
| Контроль               | 57,64±9,36                                   |                                              |                                              | 31,24±8,18                                                           |                                                                       |                                                                      |
| 0 мин после нагрузки   | 48,72±5,22<br>(n=6)                          | 48,13±7,22<br>(n=6)                          | 62,31±8,44<br>(n=6)                          | 80,49±8,59<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)  | 60,67±7,52<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)   | 68,92±10,62<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)                         |
| 1 час после нагрузки   | 66,04±6,71<br>(n=6)                          | 46,03±6,48<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)  | 50,76±5,71<br>(n=6)                          | 111,48±7,95<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6) | 43,79±7,51<br>(n=6)                                                   | 59,27±10,41<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6) |
| 5 часов после нагрузки | 94,07±9,41<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)  | 75,75±11,30<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6) | 207,3±23,74<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6) | 106,39±8,57<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)                         | 186,98±15,46<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6) | 70,43±12,15<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6) |
| 24 часа после нагрузки | 80,51±12,91<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6) | 40,15±5,02<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)  | 50,83±9,64<br>(n=6)                          | 80,35±9,33<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)                          | 70,55±10,30<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)  | 56,12±7,45<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)                          |
| ИЛ-15 (X±m, пг/мл)     |                                              |                                              |                                              |                                                                      |                                                                       |                                                                      |
|                        | Острый                                       |                                              |                                              | Хронический                                                          |                                                                       |                                                                      |
|                        | 5%                                           | 7,5%                                         | 10%                                          | 5%                                                                   | 7,5%                                                                  | 10%                                                                  |
| Контроль               | 24,78±8,72                                   |                                              |                                              | 17,05±4,62                                                           |                                                                       |                                                                      |
| 0 мин после нагрузки   | 58,22±16,35<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6) | 25,78±7,32<br>(n=6)                          | 31,65±3,95<br>(n=6)                          | 48,49±9,36<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)                          | 51,91±11,70<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)  | 48,87±10,57<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6) |
| 1 час после нагрузки   | 33,11±6,09<br>(n=6)                          | 29,68±6,22<br>(n=6)                          | 26,30±7,64<br>(n=6)                          | 11,94±3,83<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)  | 14,36±4,11<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)                           | 14,11±4,19<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)                          |
| 5 часов после нагрузки | 22,78±8,80<br>(n=6)                          | 32,04±6,80<br>(n=6)                          | 30,36±8,20<br>(n=6)                          | 20,26±4,44<br>(n=6)                                                  | 28,35±4,29<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)                           | 16,92±5,35<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)                          |
| 24 часа после нагрузки | 18,61±4,83<br>(n=6)                          | 10,81±4,02<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>(n=6)  | 18,31±8,63<br>(n=6)                          | 50,79±8,23<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)  | 48,04±17,55<br>p <sub>1</sub> <0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05<br>(n=6)  | 21,30±10,03<br>(n=6)                                                 |

| ИЛ-8 ( $\bar{X} \pm m$ , пг/мл) |                            |                            |                           |                                            |                            |                                                             |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------------|
|                                 | Острый                     |                            |                           | Хронический                                |                            |                                                             |
|                                 | 5%                         | 7,5%                       | 10%                       | 5%                                         | 7,5%                       | 10%                                                         |
| Контроль                        | 45,77 $\pm$ 14,02          |                            |                           | 63,75 $\pm$ 7,43                           |                            |                                                             |
| 0 мин<br>после<br>нагрузки      | 36,97 $\pm$ 2,87<br>(n=6)  | 55,30 $\pm$ 16,55<br>(n=6) | 36,17 $\pm$ 4,28<br>(n=6) | 36,42 $\pm$ 3,65<br>$p_1 < 0,05$<br>(n=6)  | 55,30 $\pm$ 7,91<br>(n=6)  | 31,16 $\pm$ 1,93<br>$p_1 < 0,05$<br>(n=6)                   |
| 1 час<br>после<br>нагрузки      | 48,60 $\pm$ 5,93<br>(n=6)  | 42,38 $\pm$ 10,17<br>(n=6) | 42,20 $\pm$ 3,28<br>(n=6) | 41,08 $\pm$ 12,32<br>$p_1 < 0,05$<br>(n=6) | 44,47 $\pm$ 20,53<br>(n=6) | 40,32 $\pm$ 8,56<br>$p_1 < 0,05$<br>(n=6)                   |
| 5 часов<br>после<br>нагрузки    | 63,36 $\pm$ 3,25<br>(n=6)  | 49,74 $\pm$ 2,45<br>(n=6)  | 30,06 $\pm$ 4,88<br>(n=6) | 57,44 $\pm$ 23,60<br>(n=6)                 | 45,65 $\pm$ 18,27<br>(n=6) | 119,33 $\pm$ 32,75<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>(n=6) |
| 24 часа<br>после<br>нагрузки    | 31,20 $\pm$ 14,33<br>(n=6) | 44,26 $\pm$ 12,90<br>(n=6) | 45,56 $\pm$ 5,41<br>(n=6) | 32,75 $\pm$ 13,56<br>$p_1 < 0,05$<br>(n=6) | 54,12 $\pm$ 5,93<br>(n=6)  | 55,17 $\pm$ 4,82<br>$p_1 < 0,05$<br>(n=6)                   |

$p_1$ - достоверность различий соответствующего показателя с контролем;

$p_2$ - достоверность различий между тренированными и нетренированными животными.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица 2 – последовательность проведения иммуноферментного анализа

| ИЛ-6      |                                                                                                                                                                                                                       |                 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| №,<br>п/п | Действие                                                                                                                                                                                                              | Время инкубации |
| 1.        | Добавить 100 мкл <b>Capture Ab.</b> Инкубировать при 4 °С.                                                                                                                                                            | 12 часов (ночь) |
| 2.        | Удалить жидкость из каждой лунки. Промыть промывающим раствором в объеме 300 мл при помощи промывочного устройства или вручную. Повторить цикл промывки 3 раза. По окончании промывки удалить жидкость.               |                 |
| 3.        | Добавить 200 мкл <b>Assay Diluent</b> в каждую лунку. Инкубировать при 20-25 °С.                                                                                                                                      | 1 час           |
| 4.        | Удалить раствор и промыть лунки промывающим раствором в объеме 300 мл при помощи промывочного устройства или вручную. Повторить цикл промывки 3 раза. По окончании промывки удалить жидкость.                         |                 |
| 5.        | Определить лунки для стандарта и пробы. Приготовить 8 лунок для стандарта. Добавить 100 мкл в каждую лунку приготовленного стандарта и пробы в остальные свободные лунки. Накрыть пленкой. Инкубировать при 20-25 °С. | 2 часа          |
| 6.        | Промыть лунки (шаг 4). Цикл промывки повторить 5 раз.                                                                                                                                                                 |                 |
| 7.        | Добавить 100 мкл <b>Working Detector</b> в каждую лунку. Инкубировать при 20-25 °С.                                                                                                                                   | 1 час           |
| 8.        | Промыть лунки (шаг 4). Цикл промывки повторить 7 раз.                                                                                                                                                                 |                 |
| 9.        | Добавить 100 мкл <b>Substrate Solution</b> в каждую лунку. Инкубировать при 20-25 °С в темноте.                                                                                                                       | 30 мин          |
| 10.       | Добавить 100 мкл <b>Stop Solution</b> в каждую лунку. Немедленно измерить оптическую плотность на микропланшетном фотометре при длине волны равной 450 нм.                                                            |                 |

| ИЛ-8, ИЛ-15 |                                                                                                                                                                                                                    |                 |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| №,<br>п/п   | Действие                                                                                                                                                                                                           | Время инкубации |
| 1.          | Определить лунки для стандарта и пробы. Приготовить 8 лунок для стандарта. Добавить 100 мкл в каждую лунку приготовленного стандарта и пробы в остальные свободные лунки. Накрыть пленкой. Инкубировать при 37 °С. | 2 часа          |
| 2.          | Удалить жидкость из каждой лунки. Не мыть.                                                                                                                                                                         |                 |
| 3.          | Добавить 100 мкл <b>Reagent A</b> в каждую лунку. Накрыть пленкой. Инкубировать при 37 °С.                                                                                                                         | 1 час           |
| 4.          | Удалить раствор и промыть лунки промывающим раствором в объеме 350 мл при помощи промывочного устройства или вручную. Повторить цикл промывки 3 раза. По окончании промывки удалить жидкость.                      |                 |
| 5.          | Добавить 100 мкл <b>Reagent B</b> в каждую лунку. Накрыть пленкой. Инкубировать при 37 °С.                                                                                                                         | 30 мин          |
| 6.          | Промыть лунки (шаг 4). Цикл промывки повторить 5 раз.                                                                                                                                                              |                 |
| 7.          | Добавить 90 мкл <b>Substrate Solution</b> в каждую лунку. Накрыть пленкой. Инкубировать при 37 °С.                                                                                                                 | 15-20 мин       |
| 8.          | Добавить 50 мкл <b>Stop Solution</b> в каждую лунку.                                                                                                                                                               |                 |
| 9.          | Немедленно измерить оптическую плотность на микропланшетном фотометре при длине волны равной 450 нм.                                                                                                               |                 |

Введите текст:

...или загрузите файл:

Кироненко ТА \_диссертация (13.06).docx

Выбрать файл...

Укажите год публикации: 2017 ▼

Выберите коллекции

|                         |                        |                        |
|-------------------------|------------------------|------------------------|
| Все                     |                        |                        |
| Рефераты                | Википедия              | Российские журналы     |
| Авторефераты            | Российские конференции | Энциклопедии           |
| Иностранные конференции | Иностранные журналы    | Англоязычная википедия |
| PubMed                  |                        |                        |

Анализировать

Проверить по расширенному списку коллекций системы Руконтекст (<http://text.rucont.ru/like>)

Год публикации: 2017.

Оценка оригинальности документа - 95.36%

Процент условно корректных заимствований - 0.0%

Процент некорректных заимствований - 4.64%

Просмотр заимствований в документе

Время выполнения: 10 с.

Документы из базы

Источники заимствования

В списке литературы  
Источники  
Заимствования

**1. Реферат: Краткая характеристика функциональной активности человека**  
(<http://www.bestreferat.ru/files/82/bestreferat-313982.docx>)

Год публикации: 2016. Тип публикации: реферат.  
<http://www.bestreferat.ru/files/82/bestreferat-313982.docx>  
(<http://www.bestreferat.ru/files/82/bestreferat-313982.docx>)  
Показать заимствования (7)

3.93%

**2. Реферат: Взаимосвязь физической и умственной деятельности**  
(<http://www.bestreferat.ru/files/37/bestreferat-107337.docx>)

Год публикации: 2016. Тип публикации: реферат.  
<http://www.bestreferat.ru/files/37/bestreferat-107337.docx>  
(<http://www.bestreferat.ru/files/37/bestreferat-107337.docx>)  
Показать заимствования (5)

3.47%

