

супероксиддисмутазы и активности ферментов метаболизма глутатиона (глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) в экстрактах ткани, которые достигали значений, в 1,5-3 раза превышающих контрольные (рис. 3). Таким образом, в основе протекторного действия ПДТФ на эпителий роговицы лежит не только прямой антиоксидантный эффект этого соединения, но и ассоциированный запуск сигнальных механизмов, индуцирующих компенсаторное увеличение собственной антиоксидантной защиты ткани.

**Выводы.** В работе впервые продемонстрирована эффективность препарата 7,5 мкМ ПДТФ для профилактики повреждений роговицы в условиях общей анестезии. Показано, что профилактическое действие ПДТФ связано с подавлением ОС клеток роговицы с одновременным повышением как ее собственной антиоксидантной защиты. Полученные данные позволяют рассматривать премедикацию путем конъюнктивальных инстилляций ПДТФ в указанной дозировке в качестве перспективного подхода к профилактике ПССГ у пациентов при проведении различных процедур в условиях общей анестезии.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-15-00255).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Zernii E.Y. et al. // Biochemistry (Moscow) 2016. V. 81. P. 1549-57.*
2. *Зерный Е.Ю. и др. // Биомедицинская химия. 2016. № 62. С. 683-90.*
3. *Zernii E.Y., Baksheeva V.E., Yani E.V. et al // Curr. Med. Chem. 2017. In press.*
4. *Lukashev A.N. et al. // Prog. Mol. Biol. Trans. Sci. 2014. No 127. P. 251-65.*

#### СОДЕРЖАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 6 И 15 В ПЛАЗМЕ У МЫШЕЙ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

*Каплевич Л.В.<sup>1</sup>, Кироненко Т.А.<sup>1</sup>, Захарова А.Н.<sup>1</sup>, Кабачкова А.В.<sup>1</sup>,  
Милованова К.Г.<sup>1</sup>, Орлов С.Н.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Томский государственный университет, Томск, РФ

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
Москва, РФ

Исследования последних лет показали, что мышечные клетки способны высвобождать белки и пептиды, оказывающие влияние на функциональную активность клеток других тканей – миокины. [1]. Миокины обладают системным и местным эффектами, влияют на обмен веществ, регенерацию и/или мышечную гипертрофию и, вовлекаясь в межклеточную коммуникацию, являются важными факторами адаптации организма к нагрузке [2]. Ключевым триггером экспрессии миокинов является физическая нагрузка. В то же время анализ научной литературы свидетельствует об отсутствии систематических исследований, посвященных модификации параметров физической нагрузки на

продукцию миокинов. Цель данного исследования – изучить содержание ИЛ-6 и ИЛ-15 в плазме у мышей в различные сроки после принудительного плавания с учетом утяжеления и предварительной тренировки.

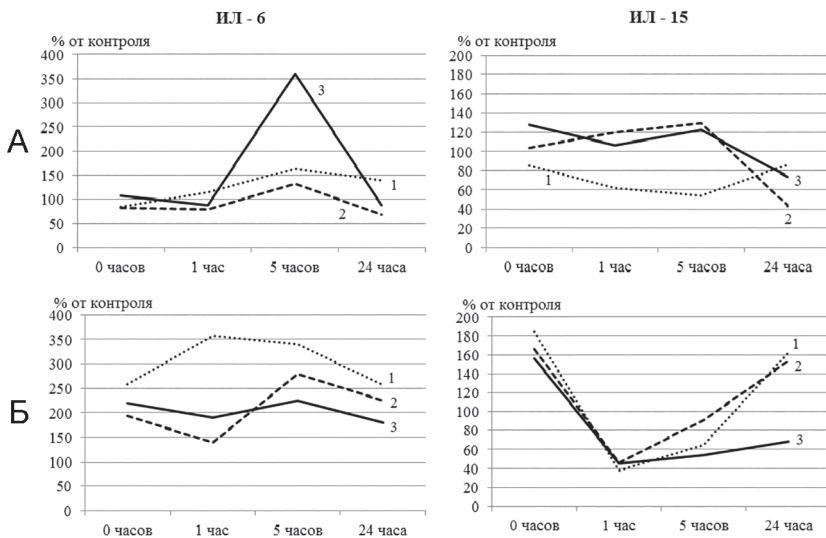
**Методика исследования.** Объектом исследования служили 8-12-недельные мыши линии C57Bl/6 весом 25-30 г. В остром эксперименте мыши контрольной группы ( $n = 10$ ) не подвергались физическим нагрузкам, мыши экспериментальной группы ( $n = 150$ ) подвергались воздействию принудительного плавания с отягощениями в 5%, 7,5% и 10% от массы тела. 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 – 15 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 ( $n = 10$ ) и экспериментальную ( $n = 150$ ). Исследование выполнялось по той же схеме, что и в первом (остром) эксперименте. Методы измерения содержания миокинов в плазме описаны нами ранее [3].

**Результаты исследования.** На рисунке 1 представлена динамика изменения содержания интерлейкинов в плазме у тренированных и нетренированных мышей соответственно в различные сроки после принудительного плавания. Продукция ИЛ-6 у нетренированных животных усиливается через 5 часов после плавания (до  $207,3 \pm 23,7$  пг/мл) и пропорциональна степени утяжеления, что позволяет расценивать данный цитокин как фактор энергообеспечения. Через 24 часа после плавания концентрация ИЛ-6 возвращалась к исходным значениям (таблица 1). У тренированных животных исходный уровень данного цитокина ниже ( $33,8 \pm 8,1$  пг/мл против  $57,6 \pm 9,3$  пг/мл у нетренированных,  $p < 0,01$ ), однако прирост после плавания происходит практически сразу и достигает  $111,5 \pm 7,9$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), что,

по-видимому, отражает возрастание его значения как фактора, способствующего обеспечению мышц энергией, хотя второй пик его концентрации через 5 часов после плавания ( $106,3 \pm 8,5$  пг/мл,  $p < 0,05$ ) сохраняется и в этом случае. ИЛ-6 индуцирует расщепление и окисление жира, а также принимает участие в поддержании гомеостаза глюкозы во время упражнений, ингибируя тем самым развитие инсулинорезистентности [4].

Концентрация ИЛ-15 после принудительного плавания у нетренированных животных изменялась не столь значительно, снижение фиксировалось только через 24 часа (до  $10,8 \pm 4,0$  пг/мл,  $p < 0,01$ ) (таблица 1). Данное явление можно связать с эффектом суперкомпенсации, который наиболее выражен при первой нагрузке. В группе мышей, подвергавшихся ежедневному плаванию в течении 4 недель, на фоне исходно сниженной до  $17,1 \pm 4,6$  пг/мл ( $p < 0,01$ ) концентрации ИЛ-15 ее прирост непосредственно после плавания (до  $51,9 \pm 11,7$  пг/мл,  $p < 0,01$ ) сменялся выраженным ее падением до

11,9 ± 3,8 пг/мл ( $p < 0,01$ ) через 1 час и длительным процессом восстановления. ИЛ-15 рассматривается как анаболический фактор, так как способен стимулировать рост мышц. Кроме того, ИЛ-15 оказался вовлеченным в метаболизм липидов [5].



**Рис. 1.** Динамика содержания ИЛ-6 в плазме у нетренированных (А) и тренированных (Б) мышей после принудительного плавания (утяжеление: 1 – 5%, 2 – 7,5%, 3 – 10%).

Описанные различия, могут быть связаны с различиями механизма регуляции транскрипции интерлейкинов. В мышечных клетках человека и экспериментальных животных длительные упражнения приводят к увеличению  $[Na^+]_i$  в 3-4 раза и снижению  $[K^+]_i$  на 50%, что сопровождается повышением  $[K^+]_i$  в плазме и межклеточной жидкости [6, 7]. Это позволяет предположить, что увеличение соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  является фактором, стимулирующим продукцию миокинов. В некоторых типах клеток повышение соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  приводило к экспрессии mRNA IL-6. Для оценки относительного вклада  $Ca^{2+}_i$  опосредованного и  $Ca^{2+}_i$ -независимого сигнальных путей мы сравнили транскриптомные изменения при увеличении соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  в клетках, обедненных кальцием, и обнаружили увеличение количества специфических  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -чувствительных генов. Среди  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -чувствительных генов, активируемых независимо от наличия хелатов  $Ca^{2+}$ , был обнаружен ген миокина IL-6. Мы также показали, что в клетках гладких мышц сосудов гипоксия-индуцированные транскриптомные изменения, по меньшей мере, частично вызваны HIF-1 $\alpha$ -независимыми,  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -опосредованными, транскрипционными связями [8].

**Таблица 1.** Концентрация ИЛ-6 и ИЛ-15 в плазме у мышей (пг/мл) в различные сроки после принудительного плавания.

Интерлейкины	ИЛ 6			ИЛ 15		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
<b>Без предварительной тренировки</b>						
До плавания	57,6±9,3			24,7±8,7		
Непосредственно после плавания	48,7±5,2	48,1±7,2	62,3±4,5 p <sub>6</sub> <0,05 p <sub>7</sub> <0,05	21,2 ± 2,6	25,7 ± 7,3	31,6 ± 3,9 p <sub>6</sub> <0,05 p <sub>6</sub> <0,05
1 час после плавания	66,0±6,7 p <sub>3</sub> <0,05	46,0±6,4 p <sub>6</sub> <0,05	50,7±5,7 p <sub>6</sub> <0,05	33,1 ± 6,0 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,05	29,6 ± 6,2	26,2 ± 7,6
5 часов после плавания	94,1±9,4 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,05 p <sub>4</sub> <0,01	75,7±11,9 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,05	207,3±23,7 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001 p <sub>7</sub> <0,001	27,7 ± 8,7	32,0 ± 6,8 p <sub>2</sub> <0,05	30,3 ± 8,2 p <sub>2</sub> <0,05
24 часа после плавания	49,0±8,1 p <sub>4</sub> <0,05 p <sub>5</sub> <0,01	40,1±5,0 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,01 p <sub>5</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,05	50,8±9,6 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>7</sub> <0,05	18,6 ± 4,8 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>5</sub> <0,05	10,8 ± 4,0 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,05	18,3 ± 8,9 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>5</sub> <0,05 p <sub>7</sub> <0,05
<b>После предварительной тренировки</b>						
До плавания	33,8±8,1 p <sub>1</sub> <0,01			17,1±4,6 p <sub>1</sub> <0,05		
Непосредственно после плавания	80,4±4,9 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001	60,6±7,5 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,05	68,7±10,6 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,05	48,4 ± 9,3 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001	51,9 ± 11,7 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001	48,8 ± 10,5 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001
1 час после плавания	111,5±7,9 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,05	43,7±7,6 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,05 p <sub>6</sub> <0,001	59,2±10,4 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,001 p <sub>7</sub> <0,05	11,9 ± 3,8 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,001	14,3 ± 4,1 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001	14,1 ± 4,2 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001
5 часов после плавания	106,3±8,5 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,05	86,9±15,4 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,05 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,01	70,4±12,1 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,05 p <sub>6</sub> <0,01	20,2 ± 4,4 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,01	28,3 ± 4,2 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,05	16,9 ± 5,3 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,05 p <sub>7</sub> <0,05
24 часа после плавания	80,3±9,3 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>5</sub> <0,05	70,5±10,3 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,05 p <sub>4</sub> <0,001	56,1±7,4 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,05 p <sub>6</sub> <0,05 p <sub>7</sub> <0,05	50,7 ± 8,2 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001	48,0 ± 7,5 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001	21,2 ± 5,3 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,001 p <sub>7</sub> <0,001

p<sub>1</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем без предварительной тренировки; p<sub>2</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем до плавания; p<sub>3</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем непосредственно после плавания; p<sub>4</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем через 1 час после плавания; p<sub>5</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем через 5 часов после плавания; p<sub>6</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем с утяжелением 5% от массы тела; p<sub>7</sub> – достоверность различий с соответствующим показателем с утяжелением 7,5% от массы тела.

**Заключение.** Таким образом, у нетренированных животных принудительное плавание сопровождается преимущественно усилением продукции ИЛ-6, однако данный эффект отсрочен до 5 часов, то есть вовлекается преимущественно на стадии восстановления. Со стороны ИЛ-15 имеет место незначительный прирост при плавании со значительным утяжелением, сменяющийся выраженным снижением через 24 часа после плавания. У тренированных животных на фоне более низких концентраций ИЛ-15 в покое фиксируется значительный прирост концентрации обоих интерлейкинов непосредственно после принудительного плавания. При этом высокий уровень ИЛ-6 сохраняется в течение суток, а концентрация ИЛ-15 значительно снижается уже через час после плавания, после чего постепенно восстанавливается до исходного уровня. Можно предполагать, что у нетренированных животных ИЛ-6 и ИЛ-15 преимущественно обеспечивают отсроченные эффекты принудительного плавания – восстановление потраченных энергоресурсов и эффект суперкомпенсации, тогда как после длительных тренировок возрастает их роль в обеспечении энергопотребностей мышц непосредственно в процессе работы.

Изменения продукции цитокинов на фоне принудительного плавания могут индуцироваться различными механизмами. В литературе имеются доказательства возможности прямой активации продукции цитокинов скелетными мышцами при физических нагрузках за счет окислительного стресса и образования активных форм кислорода [9]. Продукцию интерлейкинов так же можно связать с перестройкой транскрипционных механизмов в мышечных волокнах, сопряженных с кальций-зависимыми и кальций-независимыми путями внутриклеточной сигнализации [10]. Наибольший интерес в данном аспекте представляет механизм, связанный с изменением соотношения одновалентных катионов (натрия и калия) в цитоплазме. Как мы показали ранее [11], это соотношение является одним из регуляторов транскрипции и может быть задействован в миоцитах при длительных физических нагрузках.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Pedersen B.K., Akerström T.C.A., Nielsen A.R., Fischer C.P.* // J. Appl. Physiol. 2007. V. 103. P. 1093-8.
2. *Ahima R.S., Park H-K.* // Endocrinol. Metab. 2015. V. 30. № 3. P. 235-45.
3. *Kapilevich L.V., Zakharova A.N., Kabachkova A.V. et al.* // Front. Physiol. 2017. V. 8. P. 35.
4. *Щербakov В.И., Скосырева Г.А., Рябиченко Т.И.* // Бюлл. Сиб. Мед. 2012. № 3. С.173-8.
5. *Nielsen A.R., Pedersen B.K.* // Appl. Physiol. Nutr. Metab. 2007. V. 32. P. 833-9.
6. *McKenna M.J., Bangsbo J., Renaud J.M.* // J. Appl. Phys. 2008. V. 104. No 1. P. 288-95.

7. *Murphy K.T., Nielsen O.B., Clausen T.* // Exp. Physiol. 2008. V. 93. P. 1249-62.
8. *Koltsova S.V., Trushina Y., Haloui M. et al.* // PLoS ONE. 2012. V. 7. No 5. e38032.
9. *Ost M., Coleman V., Kasch J., Klaus S.* // Free Radic. Biol. Med. 2016. V. 98. P. 78-89.
10. *Каплевич Л.В., Кабачкова А.В., Захарова А.Н. и др.* // Успехи физиол. наук. 2016. Т. 47. № 2. С. 7-26.
11. *Kapilevich L.V., Kironenko T.A., Zaharova A.N. et al.* // Genes. Dis. 2015. V. 2. No 4. P. 328-36.

## ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ БЕЛОК-ЛИПИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ КАК СЛЕДСТВИЕ БЛОКАДЫ $Ca^{2+}$ КАНАЛОВ ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ

*Катаев А.А.<sup>1</sup>, Жерелова О.М.<sup>2</sup>, Грищенко В.М.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Институт биофизики клетки РАН, Пущино, РФ

<sup>2</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пущино, РФ

<sup>3</sup>Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, РФ

**Введение.** История исследования белок-липидных комплексов (например, HAMLET – Human Alpha lactalbumin Made LEthal to Tumor cells), обладающих противораковой активностью и селективностью действия, началась еще в 1995 г. С тех пор опубликовано более 300 экспериментальных работ, однако до сих пор не ясно, каков механизм цитотоксического действия комплексов на клетки-мишени. Протицируем одну из последних публикаций: «Previous studies mainly focused on cell apoptosis or autophagy, however, neither of the cell death pathway could clarify the anti-tumor mechanism of HAMLET» [1]. Тем не менее, за прошедшее время было установлено следующее [2]: 1. Эти комплексы на самом деле не имеют противораковой селективности. 2. Установлена цитотоксичность белок-липидных комплексов как для раковых, так и для здоровых клеток, для эритроцитов, бактерий и некоторых растительных клеток (гигантские водоросли семейства *Chara*). 3. Цитотоксичность комплексов обусловлена присутствием в них нескольких молекул олеиновой кислоты. 4. Белковая часть комплекса может быть представлена любым белком, который должен находиться в структурном состоянии «Molten globule». Белок является всего лишь контейнером для доставки олеиновой кислоты в клеточную мишень. 5. Действие комплексов индуцирует в мембранах клеток–мишеней неселективную ионную проводимость. Следует отметить, что многие из перечисленных выше экспериментальных фактов впервые были опубликованы в наших статьях [3-6].