

ВЛИЯНИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ СУБМАКСИМАЛЬНОЙ МОЩНОСТИ

© 2019 г. Е. Н. Ермолаева^{1*}, С. Л. Сашенков¹, С. А. Кантюков¹,
В. И. Петухова¹, В. П. Яковлева²

*E-mail: ermen33@mail.ru

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия;

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет физической культуры», Челябинск, Россия

Поступила: 23.05.2019. Принята: 28.06.2019

Физическая нагрузка моделировалась в эксперименте на 42 белых беспородных крысах. Хроническая физическая нагрузка субмаксимальной мощности моделировалась ежедневным плаванием в течение 30 минут – 21 день: первые семь дней животные плавали без груза в течение 30 минут, следующие две недели с грузом 2% от массы тела. На 9, 15 и 21 день эксперимента животные подвергались дополнительно максимальной физической нагрузке: плавали в течение 4-х минут с грузом массой 20% от веса тела. Церулоплазмин вводился на 1, 4 и 7 сутки физической нагрузки, в суммарной дозе 60 мг/кг массы тела. Забор крови проводился на 9, 15 и 21 сутки эксперимента. В условиях эксперимента на крысах показано, что хроническая физическая нагрузка субмаксимальной мощности приводит к активации функциональной активности лейкоцитов и повышению выработки ИЛ-6 на 15, 21 сутки и ИЛ-4 на 21 сутки эксперимента. Введение церулоплазмина при физических нагрузках субмаксимальной мощности нивелирует повышенные уровни цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-4) и приводит их к контрольным показателям.

Ключевые слова: физическая нагрузка, церулоплазмин, интерлейкин-6, интерлейкин-4

DOI: 10.31857/S102872210007243-2

Адрес: 454092 Челябинск, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ермолаева Елена Николаевна.

E-mail: ermen33@mail.ru

Авторы:

Ермолаева Е. Н., к. м. н., доцент кафедры нормальной физиологии имени академика Ю. М. Захарова ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Сашенков С. Л., д. м. н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии имени академика Ю. М. Захарова ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Кантюков С. А., к. м. н., доцент кафедры биохимии имени Р. И. Лифшица ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Петухова В. И., к. м. н., ст. преподаватель кафедры нормальной физиологии имени академика Ю. М. Захарова ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Яковлева В. П., к. б. н., доцент кафедры теории и методики оздоровительных технологий и физической культуры Востока ФГБОУ ВО Урал ГУФК, Челябинск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Следствием чрезмерных физических нагрузок может быть повреждение, из-за нарушений ма-

кро- и микрогемодинамики, формирования гипоксии, наличия синдрома ишемия-реперфузия, миграции лейкоцитов в работающие мышцы, нарастания катаболических процессов и другие. Миогенный лейкоцитоз у спортсменов является временным, его величина напрямую связана с интенсивностью усилий (более выраженный в ответ на максимальную нагрузку), и наоборот [1]. Реакция лейкоцитов на физическую нагрузку является стереотипной: концентрация нейтрофилов увеличивается во время и после тренировки, а содержание лимфоцитов возрастает во время физических упражнений и может снизиться ниже нормальных значений после длительной физической работы. В ответ на лейкоцитарную реакцию и мышечную активность должна быть усилена продукция цитокинов, которые обладают мультифакторным действием: обеспечивают процессы межсистемного взаимодействия, отражают иммунный статус организма спортсмена и адаптацию к физическим нагрузкам. Проис-

ходит и активация острофазового ответа, в крови повышается концентрация белков острой фазы, в частности, церулоплазмينا. Церулоплазмин (ЦП) – медьсодержащий гликопротеин альфа-2-глобулиновой фракции сыворотки крови обладает мультифакторным действием на клетки крови при различных физиологических и патологических состояниях организма.

Цель работы: выявить влияние ЦП на продукцию про- и противовоспалительных цитокинов при ХФН субмаксимальной мощности

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на 42 половозрелых белых беспородных крысах массой 180–200 гр. Все исследования выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Параметры крови определяли после физической нагрузки различной интенсивности. ХФН умеренной мощности – ежедневное плавание в течение 30 минут без груза. ХФН субмаксимальной мощности – первые семь дней животные плавали без груза в течение 30 минут, следующие две недели с грузом 2% от массы тела. Забор крови производили на 9, 15, 21 сутки через 15–20 минут после дополнительной максимальной физической нагрузке: плавали в течение 4-х минут с грузом массой 20% от веса тела. нагрузке. Церулоплазмин (ЦП) вводился на 1, 4 и 7 сутки физической нагрузке, в суммарной дозе 60 мг/кг массы тела, что составляет 50% от его физиологического уровня в сыворотке крови. Контрольная группа – интактные крысы. Интерлейкины 6 и 4 определяли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов Rat IL-6, Rat IL-4 фирмы «Platinum ELISA» (Австрия). Результаты обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики: применяли критерий Манна-Уитни; определяли основную тенденцию изменений (тренд) и коэффициент аппроксимации.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При ХФН субмаксимальной мощности регистрируется постепенное повышение ИЛ-6 на 15 сутки на 42%, на 21 сутки – 84%. Возрастание ИЛ-4 на 17,4% отмечается на 21 день эксперимента при ХФН субмаксимальной мощности (Таблица 1).

Физическая нагрузка вызывает повышение в крови провоспалительного цитокина ИЛ-6, возрастание которого приводит к удовлетворению

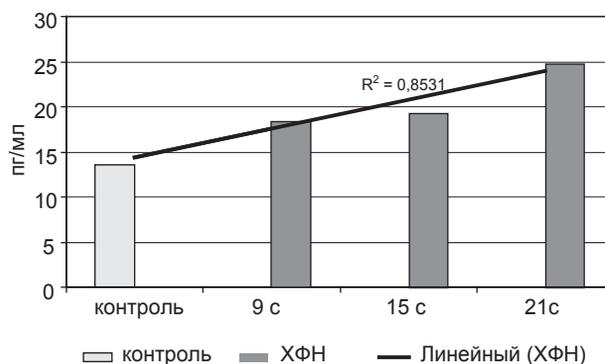


Рисунок 1. Влияние ЦП на изменение концентрации ИЛ-6 при ХФН субмаксимальной мощности

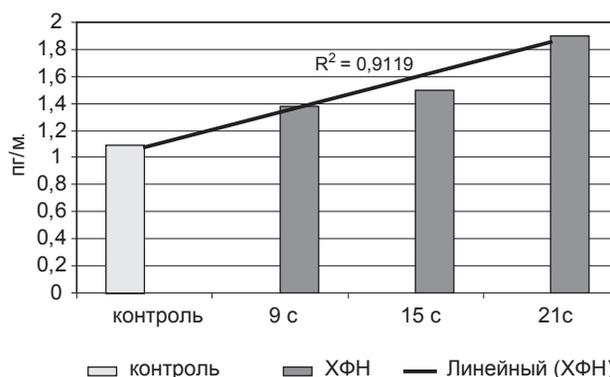


Рисунок 2. Влияние ЦП на изменение концентрации ИЛ-4 при ХФН субмаксимальной мощности

высоких энергетических требований. Закономерный рост уровня ИЛ 6 при хронической физической нагрузке субмаксимальной мощности подтверждается восходящей линией тренда с высоким коэффициентом аппроксимации $R^2=0,85$ (Рисунок 1). Постепенное повышение ИЛ-6 при ХФН субмаксимальной мощности, можно рассматривать как механизм адаптации к нагрузке.

Несмотря на отсутствие достоверных отклонений уровня ИЛ-6 при ХФН субмаксимальной мощности на 9 и 15 сутки эксперимента линия тренда с высоким коэффициентом аппроксимации $R^2=0,91$ подтверждает его закономерное повышение в динамике нагрузки (Рисунок 2). Повышение концентрации цитокина ИЛ-4 относительно контроля регистрируется лишь на 21 сутки эксперимента, что можно расценивать как фактор, способствующий устранению повреждений, вызванных интенсивной физической деятельностью.

Под действием ЦП уровень ИЛ-6 и ИЛ-4 не превышает контрольных значений во все сроки эксперимента, происходит нормализация повы-

Таблица 1. Влияние ЦП на изменение концентрации ИЛ-6, ИЛ-4 при хронической физической нагрузке субмаксимальной мощности

Группы сравнения	Контроль (n=6)	Опыт (животные, подвергшиеся хронической физической нагрузке)		
		9 сутки (n=6)	15 сутки (n=6)	21 сутки (n=6)
Интерлейкин-6, пг/мл				
ХФН	13,59±1,83	18,42±2,61	19,34±0,99*	24,89±2,59*
ХФН+ЦП		16,23±2,03	17,21±0,69	19,52±2,82
Интерлейкин-4, пг/мл				
ХФН	1,096±0,16	1,38±0,14	1,51±0,15	1,902±0,32*
ХФН+ЦП		1,23±0,12	1,18±0,16	1,28±0,12

Примечание: * – достоверность различий по критерию Манна-Уитни с интактными животными

шенных значений цитокинов на 21 сутки ХФН субмаксимальной мощности (Таблица 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ряде исследований лейкоцитоз интерпретируется как указание на повреждение скелетных мышц при интенсивной физической нагрузке [2]. Нейтрофилы обуславливают иммунный ответ во время физических упражнений через синтез нейроэндокринных медиаторов, кортикотропин релизинг-факторов, интерлейкинов, свободных радикалов. Их производство резко возрастет во время физических упражнений [3, 4]. Макрофаги играют определенную роль в санации очага повреждения – переход от про- к противовоспалительному фенотипу в регенерирующей мышце; предотвращают апоптоз миоцитов; секретируют цитокины и факторы роста для активации миобластов, ангиогенеза [5]. Макрофаги последовательно управляют миогенезом во время репарации поврежденных скелетных мышц. В ответ, скелетная мышца постоянно адаптируется путем изменения в экспрессии генов и стабильности белка, влияющих на ее физиологические функции и массу. В раннем периоде провоспалительные макрофаги удаляют разрушенные клетки и синтезируют цитокины, которые играют ключевую роль в регуляции пролиферации, миграции и дифференциации клеток-сателлитов (миогенных клеток-предшественников). В дальнейшем вторжение противовоспалительных макрофагов способствует восстановлению тканей и уменьшению воспаления. Эта система обеспечивает эффективный механизм регенерации после острой травмы [2].

Дополнительным источником ИЛ-6 могут быть клетки скелетной мускулатуры, которые секретируют до 10–35% от его уровня в циркуляции. Секреция ИЛ-6 определяется интенсивностью нагрузки: при езде на велосипеде при 40% максимальном потреблении кислорода (умеренная нагрузка) уровень ИЛ-6 остается неизменным, а при нагрузке с 60% максимальным потреблением кислорода (интенсивная нагрузка) – повышается в 2,5 раза. Повышение ИЛ-6 следует рассматривать не только с точки зрения повреждения и формирования воспалительного ответа, но и участия в иных физиологических и метаболических процессах. В печеночных и жировых клетках ИЛ-6 приводит к повышенному выделению носителей энергии: глюкозы и жирных кислот, а в клетках скелетной мускулатуры – к их усвоению и утилизации. ИЛ-6 в мышечных клетках не только усиливает усвоение энергетического носителя, но и стимулирует оксидацию жирных кислот [6]. По-видимому, метаболическое действие цитокина реализуется путем его воздействия на регуляторные внутриклеточные комплексы, а также за счет разнонаправленного изменения чувствительности к инсулину. Доказательством действия ИЛ-6 на метаболизм являются исследования в опытах на мышцах, у которых индуцировали генетический дефект этого цитокина – Knockout (КО) модели. В условиях отсутствия ИЛ-6 в организме существенно повышался вес животных и особенно содержание жира [7]. У этих животных были зарегистрированы повышение базального уровня глюкозы и нарушение ее усвояемость, что можно оценить как развитие инсулинрезистентности. Такие мышцы с дефицитом ИЛ-6 не

способны к длительным физическим нагрузкам, во время тренировки у них нарушается усвоение кислорода [8]. Таким образом, можно сделать вывод, что ИЛ-6 необходим для обеспечения чувствительности организма к инсулину и обеспечения энергетических процессов в работающих органах (скелетной мускулатуре). ИЛ-6 способствует также долгосрочной адаптации к физическим нагрузкам, которая заключается в новообразовании митохондрий и изменении состава мышечных волокон. Было высказано предположение, что именно ИЛ-6 является гипотетическим «фактором тренировки» [9].

Интерлейкин-4, представляет собой плеiotропный цитокин, который играет важную роль в борьбе с воспалением. Основными производителями ИЛ-4 являются Т-клетки, тучные клетки и нейтрофилы. Было показано, что и другие клетки, такие как, мышечные клетки, гепатоциты, фибробласты способны продуцировать ИЛ-4. В ряде исследований было показано, что ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-4RA и ИЛ-13Ra1 присутствуют в скелетных мышцах и увеличивают свою концентрацию после силовых тренировок [10]. Повреждения мышечных волокон становятся триггерами и запускают высвобождение противовоспалительных цитокинов [11]. ИЛ-4 приводит к устранению повреждений мышц, вызванных физической нагрузкой. Последние исследования показывают, что ИЛ-4 способствует росту мышечных клеток, и что этот цитокин действует как промигранционный агент для миогенных клеток. При отсутствии ИЛ-4 или рецепторов к ИЛ-4 происходит снижение мышечной массы и количества ядер в мышечных клетках [12]. Таким образом, увеличение содержания ИЛ-4 после утомительной тренировки может быть важным для роста и восстановления мышечных волокон.

Введение ЦП приводит к нормализации повышенных уровней цитокинов. Таким образом, ЦП, являясь основным антиоксидантом плазмы крови, оказал свое антирадикальное действие и снизил продукцию цитокинов нейтрофилами. Согласно, современным представлениям, ЦП является мультиферментом. ЦП может регулировать ПОЛ, как перехватчик супероксидного анион – радикала и гипохлорита [13]. ЦП обладает СОД активностью, но в отличие от СОД функционирует в крови [14]. Он восстанавливает O_2 с помощью пары Si^{2+} до H_2O , перехватывает свободные кислородные радикалы и предохраняет липидосодержащие структуры

от повреждения [15]. ЦП оказывает выраженное антиоксидантное действие, нормализуя функциональное состояние лейкоцитов и их способность продуцировать интерлейкины 4 и 6.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, при хронической физической нагрузке субмаксимальной мощности на 21 сутки в крови повышается уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6 и противовоспалительного цитокина ИЛ-4. Возрастание ИЛ-6 приводит к удовлетворению высоких энергетических требований организма при физических нагрузках. Повышение цитокина ИЛ-4 можно расценивать как фактор, способствующий устранению повреждений, вызванных интенсивной физической деятельностью. Под действием ЦП, как антиоксиданта, нормализуется функциональное состояние лейкоцитов и их способность продуцировать цитокины: уровень ИЛ-6 и ИЛ-4 не превышает контрольных значений во все сроки эксперимента, происходит нормализация повышенных значений цитокинов при ХФН субмаксимальной мощности на 21 сутки эксперимента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Tossige-Gomes R., Ottone V. O., Oliveira P. N. et al.* Leukocytosis, muscle damage and increased lymphocyte proliferative response after an adventure sprint race. *Braz J Med Biol Res*, 2014, 47(6), 492–498.
2. *Tidball J. G.* Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration. *Compr Physiol*, 2011, 1(4), 2029–2062.
3. *Ермолаева Е. Н., Кривохижина Л. В., Мезенцева Е. А.* Изменение лейкоцитарных индексов при хронической физической нагрузке. *Российский иммунологический журнал*, 2015, 9(18), 2(1), 60–62. [*Ermolaeva E. N., Krivokhizhina L. V., Mezentseva E. A.* Influence of physical activity of different intensity on the level of interleukins 6, 4. *Russian Immunological Journal*, 2015, 9(18), 2(1), 60–62.]
4. *Kakanis M. W., Peake J., Brenu E. W. et al.* The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev*, 2010, 16, 119–137.
5. *Dias R., Frollini A. B., Brunelli D. T. et al.* Immune parameters, symptoms of upper respiratory tract infections, and training-load indicators in volleyball athletes. *Int J Gen Med*, 2011, 4, 837–844.
6. *Hojman P., Brolin C., Nørgaard-Christensen N. et al.* IL-6 released from muscles during exercise is stimulated by lactate-dependent protease activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 316(5), 940–947.
7. *Xu Y., Zhang Y., Ye J.* IL-6: a potential role in cardiac metabolic homeostasis. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9), 2474.
8. *Gudiksen A., Schwartz C. L., Bertholdt L. et al.* Lack of skeletal muscle IL-6 affects pyruvate dehydrogenase

- activity at rest and during prolonged exercise. PLoS One, 2016, 11(6), 0156460.
9. Serrano A. L., Baeza-Raja B., Perdiguer E. et al. Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. *Cell Metabolism*, 2008, 7(1), 33–44.
 10. Prokopchuk O., Liu Y., Wang L. et al. Skeletal muscle IL-4, IL-4Ralpha, IL-13 and IL-13Ralpha1 expression and response to strength training. *Exerc Immunol Rev*, 2007, 13, 67–75.
 11. Rosa Neto J. C., Lira F. S., Oyama L. M. et al. Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in dipose tissue in rats. *Eur J Appl Physiol*, 2009, 106(5), 697–704.
 12. Hoier B., Nordborg N., Andersen S. et al. Pro- and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. *J Physiol*, 2012, 590(3), 595–606.
 13. Мжельская Т. И. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутациях генов, регулирующих обмен меди и железа (обзор). Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2000, 130(8), 124–133. [*Mzhelskaya T. I. Biological functions of ceruloplasmin and their deficiency mutations in genes regulating copper metabolism and iron (review). Bulletin of experimental biology and medicine*, 2000, 130(8), 124–133.]
 14. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Caeruloplasmin and the superoxide radical. *Lancet*, 1982, 2, 556–559.
 15. Sergeev A. G., Pavlov A. R., Revina A. A. et al. The mechanism of interaction of ceruloplasmin with superoxide radicals. *Int J Biochem*, 1993, 25(11), 1549–1554.

INFLUENCE OF CERULOPLASMIN ON CYTOKINE PRODUCTION DURING CHRONIC PHYSICAL LOADS OF SUBMAXIMAL POWER

© 2019 E. N. Ermolaeva^{1*}, S. L. Sashenkov¹, S. A. Kantuykov¹, V. I. Petuhova¹, V. P. Jakovleva²

*E-mail: ermen33@mail.ru

¹FSBEI of Higher Education “South Ural State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia;

²FSBEI of Higher Education “Ural State University of Physical Culture”, Chelyabinsk, Russia

Received: 23.05.2019. Accepted: 28.06.2019

Exercise was modeled in an experiment on 42 white mongrel rats. Chronic physical exercise submaximal power was modeled by daily swimming for 30 minutes—21 days: the first seven days the animals swam without load for 30 minutes, the next two weeks with a load of 2% of body weight. On the 9th, 15th and 21st day of the experiment, the animals were additionally subjected to maximum exercise: they swam for 4 minutes with a weight of 20% of their body weight. Ceruloplasmin was administered on the 1st, 4th and 7th day of physical activity, in a total dose of 60 mg/kg body weight. Blood sampling was carried out on the 9th, 15th and 21st day of the experiment. Under the experimental conditions in rats, it was shown that chronic physical exertion of submaximal power leads to the activation of the functional activity of leukocytes and an increase in the production of IL-6 by 15, 21 days and IL-4 by 21 days of the experiment. The introduction of ceruloplasmin during physical exertion of submaximal power levels out elevated levels of cytokines (IL-6, IL-4) and leads them to control indicators.

Key words: exercise, ceruloplasmin, interleukin-6, interleukin-4

Authors:

Ermolaeva E. N., ☒ PhD, associate professor, Department of Normal Physiology named after academician Yu. M. Zakharova, South Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

454092 Chelyabinsk, South Ural State Medical University, Ministry of health of Russia. Phone: +79823143962.

E-mail: ermen33@mail.ru

Sashenkov S. L., MD, professor, head of the Department of Normal Physiology named after academician Yu. M. Zakharova South Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

Kantuykov S. A., PhD, associate professor, Department of biological chemistry named after R. Lifshits, South Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

Petuhova V. I., PhD, senior lecturer, Department of Normal Physiology named after academician Yu. M. Zakharova, South Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

Jakovleva V. P., PhD, associate professor, Department of Theory and Methods of Healthy Technologies and Physical Culture of the East, Ural State University of Physical Culture, Chelyabinsk, Russia.