

## ВЛИЯНИЕ ДИНАМИЧЕСКИХ И СТАТИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА КОНЦЕНТРАЦИЮ МИОКИНОВ В ПЛАЗМЕ И НА СОДЕРЖАНИЕ НАТРИЯ И КАЛИЯ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ МЫШЕЙ

© 2021 Т.А. Кироненко<sup>1</sup>, К.Г. Милованова<sup>1</sup>, А.Н. Захарова<sup>1</sup>, С.В. Сидоренко<sup>2</sup>,  
Е.А. Климанова<sup>1,2</sup>, Е.Ю. Дьякова<sup>1</sup>, А.А. Орлова<sup>1</sup>, Е.С. Негоденко<sup>1</sup>,  
Ю.Г. Калининкова<sup>1</sup>, С.Н. Орлов<sup>1,2</sup>, Л.В. Капилевич<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
634050 Томск, Россия; электронная почта: kapil@yandex.ru

<sup>2</sup> Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет,  
119234 Москва, Россия; электронная почта: klimanova.ea@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.07.2020

После доработки 15.09.2020

Принята к публикации 29.10.2020

Модификация продукции цитокинов под влиянием физических нагрузок представляет значительный интерес, так как является перспективным путем коррекции процессов метаболизма как на клеточном, так и на системном уровнях. В работе изучено содержание IL-6, IL-8 и IL-15 в плазме и одновалентных катионов в скелетных мышцах у мышей спустя разное время после статических и динамических нагрузок с учетом предварительной тренировки. Динамические упражнения вызывают увеличение содержания IL-6 и снижение IL-15 в плазме нетренированных мышей, не влияя на концентрацию IL-8. У тренированных мышей эффекты однократной нагрузки на концентрацию IL-6 и IL-15 в плазме усиливались, также отмечалось снижение концентрации IL-8. В отличие от динамических, статические нагрузки оказывают аналогичное, но более выраженное влияние на концентрацию IL-6 и IL-15 в плазме. Однако концентрация IL-8 в ответ на статическую нагрузку существенно увеличивалась. Предварительные тренировки усиливали описанные реакции для всех изученных миокинов. Показано разнонаправленное влияние динамической нагрузки (плавание) на содержания внутриклеточного натрия (повышение) и калия (снижение) в *musculus soleus* мышцы. Впервые обнаружено, что аналогичное явление наблюдается при статической нагрузке (вис на сетке) в *musculus biceps* мышцы и достоверно не зависит от предварительной тренировки экспериментальных животных. Обсуждаются возможные механизмы, обеспечивающие регуляцию секреции цитокинов после физической нагрузки, в том числе  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -зависимый механизм запуска транскрипции генов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** физические нагрузки, миокины, ионы,  $Na^+/K^+$ -АТРаза, транскрипция, трансляция.

DOI: 10.31857/S0320972521030118

### ВВЕДЕНИЕ

Клетки скелетных мышц составляют важную часть опорно-двигательного аппарата, обеспечивая движение или сохранение позы организма. Эта их функция тесно сопряжена с процессами потребления и производства энергии [1]. Однако в последнее десятилетие внимание исследователей привлекла способность скелетных мышц продуцировать биологически активные вещества. Выяснилось [2–5], что на фоне физической активности происходит повышение содержания в плазме крови ряда цитокинов, в том числе IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-15, фактора некроза

опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и лейкемия-ингибирующего фактора (LIF). К настоящему времени сформировалась концепция об эндокринной функции скелетных мышц, а за веществами, продуцируемыми мышечными клетками при сокращении, закрепилось название «миокины». Установлено, что скелетные мышцы являются основным (хотя и не единственным) источником продукции IL-6, с чем связано возрастание его содержания в плазме крови после физической нагрузки [6]. Показано увеличение транскрипции матричной RNA (mRNA) IL-6 в ядрах мышечных клеток, выделенных из биоптатов мышц людей после выполнения однократного упражнения [7]. Кроме того, для изучения продукции миокинов мышечными клетками использовали культуры миобластов мышечной линии C2C12 и первичные человеческие миотубулы, которые подвергали электростимуля-

Принятые сокращения: EPS – электростимуляция; HIF – фактор, индуцируемый гипоксией; IL – интерлейкин; mRNA – матричная RNA.

\* Адресат для корреспонденции.

ции (EPS) [8–10]. При использовании такого подхода было показано, что через 24 ч после EPS в миотубулах человека происходит достоверное изменение транскрипции 183 генов, а также увеличение секреции IL-6, IL-8, хемокина CXCL1 и лейкемия-ингибирующего фактора [11]. Таким образом, скелетные мышцы как эндокринный орган способны продуцировать цитокины и другие пептиды [12]. По мнению многих исследователей, эти соединения могут быть классифицированы как миокины, которые оказывают различные физиологические эффекты на организм [13–15]. В то же время в литературе практически не описана зависимость продукции миокинов от характера (статическая и динамическая) и от интенсивности физических нагрузок.

В связи с многочисленными подтверждениями того факта, что именно сократительная активность мышечных клеток является пусковым механизмом продукции миокинов, внимание исследователей привлекла проблема механохимического сопряжения, то есть механизма, опосредующего образование и/или высвобождение этих молекул при возбуждении/сокращении миоцитов [16–18]. Существуют различные точки зрения, объясняющие возможные механизмы, однако наше внимание привлекает гипотеза, предполагающая ключевую роль изменения внутриклеточных концентраций одновалентных катионов в запуске продукции миокинов [17, 18].

В многочисленных исследованиях было показано, что как у человека, так и у экспериментальных животных интенсивные физические упражнения способствуют увеличению  $[Na^+]_i$  в 3–4 раза и уменьшению  $[K^+]_i$  до 50% в скелетных мышцах за счет активации ионных каналов, а также путем частичного ингибирования  $Na^+/K^+$ -АТФазы. Было также продемонстрировано, что выход  $K^+$  из мышечных клеток во время упражнений приводит к повышению  $[K^+]_i$  в интерстициальной жидкости скелетных мышц от 4–5 до 11–15 мМ. У людей интенсивные динамические и статические упражнения приводят к 2× повышению уровня  $[K^+]_i$  в венозной крови из-за его выхода из скелетных мышц, которые являются основным источником внутриклеточного  $K^+$  в организме [19–25].

В исследованиях Danilov et al. [26] было показано, что EPS клеток скелетной мускулатуры мышцей линии C2C12, широко используемой в качестве модели мышечных сокращений *in vitro*, приводила к диссипации трансмембранного градиента одновалентных катионов. Через 2 и 4 ч EPS внутриклеточное содержание  $Na^+$  увеличилось со 130 до 330 и 500 нмоль/мг белка, тогда как внутриклеточное содержание  $K^+$  снизилось с 1150 до 922 и 790 нмоль/мг белка соответствен-

но. Эти результаты согласуются с уменьшением  $[K^+]_i$  и увеличением  $[Na^+]_i$ , наблюдавшимися при тренировке скелетных мышц *in vivo* [27].

Увеличение внутриклеточного соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  является достаточным условием изменения транскрипции десятков универсальных и сотен тканеспецифических генов [28]. В ряде случаев эти изменения транскрипции не связаны с возможным приростом  $[Ca^{2+}]_i$ . Было показано, что в условиях гипоксии наблюдается увеличение соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ , что может быть достаточным условием для изменения транскриптома этих клеток [28]. Было обнаружено, что диссипация трансмембранного градиента одновалентных катионов, вызванная ингибированием  $Na^+/K^+$ -АТФазы, приводит к увеличению транскрипции генов *PTGS2* и *NR4A1* с помощью  $Ca^{2+}$ /кальмодулин-опосредованного фосфорилирования транскрипционного фактора, способного связывать CRE-последовательности ДНК (CREB), и опосредованного кальцинейрином дефосфорилирования ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT) соответственно [28]. В наших предыдущих работах [29–31] доказано влияние диссипации градиентов одновалентных катионов на экспрессию генов и продукцию миокинов.

Таким образом, можно считать установленным, что сократительная активность мышечных клеток сопровождается диссипацией градиентов одновалентных катионов. В свою очередь, изменение внутриклеточного содержания  $Na^+$  и  $K^+$  служит пусковым фактором изменения транскрипции генов [32–35].

Однако в литературе не описаны закономерности диссипации ионных градиентов в зависимости от характера и интенсивности физической нагрузки, а также от предварительной тренировки. В связи с этим целью исследования было выяснение характера влияния динамических и статических нагрузок на концентрацию миокинов в плазме крови и на содержание  $Na^+$  и  $K^+$  в скелетных мышцах мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве экспериментальных животных использовались половозрелые (8–12 недель) мышца-самцы линии C57Bl/6 массой 25–30 г (виварий НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга СО РАН, Томск, Россия). Для проведения исследования были сформированы группы для острого (нетренированные мыши) и хронического (тренированные мыши) экспериментов. Схема экспериментов и количество животных в каждой группе представлены на рис. 1.

**Схема эксперимента и количество животных в группах.** В остром эксперименте мышей контрольной группы (n = 5) не подвергали физической нагрузке, мышей экспериментальной группы разделяли на две подгруппы, каждую из которых подвергали воздействию однократной физической нагрузки одного из двух видов: динамическая нагрузка в виде принудительного плавания [36, 37] с отягощениями 5, 7,5 и 10% от массы тела (n = 60) и статическая нагрузка в виде вися на сетке [37] с аналогичными отягощениями (n = 60). Время нагрузки с 5%-ным грузом от массы тела составляло 60 мин, с 7,5%-ным грузом – 20 мин и с 10%-ным – 10 мин. В хроническом эксперименте всех мышей подвергали регулярной физической нагрузке (тренировке) в виде плавания [38] (n = 65) или вися на сетке (n = 65) (соответственно группе) в течение 4-х недель по 1 ч в день без отягощения. После этого мышей делили на две группы – контрольную (n = 10) и экспериментальную (n = 120). Исследование выполняли по той же схеме, что и в первом (остром) эксперименте.

Режимы хронических нагрузок подбирались на основании литературных данных, в частности работы Каркищенко с соавт. [39], в которой показано, что наиболее оптимальной модификацией теста Портсолта для оценки физической выносливости крыс является плавание животного с грузом 10% от массы тела. Использование груза более 15% приводит к быстрому утомле-

нию, а плавание с грузом менее 5% способствует обучению животных.

Умерщвление животных (методом декапитации) производили непосредственно после нагрузки, а также через 1, 5 и 24 ч. Кровь собирали непосредственно после декапитации в пробирки с гепарином (20 ед./мл). Центрифугирование образцов проводили в течение 11 мин при 2000 об./мин на Microfuge 16 Centrifuge («Beckman Coulter», Германия).

**Определение концентрации белков в плазме** производили методом иммуноферментного анализа (ИФА). Были использованы наборы для ИФА с антителами к соответствующим белкам: IL-6 Platinum ELISA Kit, IL-8 Platinum ELISA Kit («eBioscience», Австрия), а также RayBio® IL-15 ELISA Kit («RayBio®», США). Выбор белков для исследования был обусловлен литературными данными о продукции миокинов при физических нагрузках [2–8, 12], при стимуляции клеточной культуры миоцитов [10, 11], а также результатами наших исследований на спортсменах [17].

**Определения концентрации ионов Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup>.** Материалом для определения концентрации ионов служили мышцы, извлекаемые сразу же после декапитации; в зависимости от характера нагрузки извлекали 2 вида мышц: камбаловидную мышцу (*musculus soleus*) – у мышей, подвергавшихся нагрузке в виде плавания, и двуглавую мышцу (*musculus biceps*) – у мышей, подвергав-

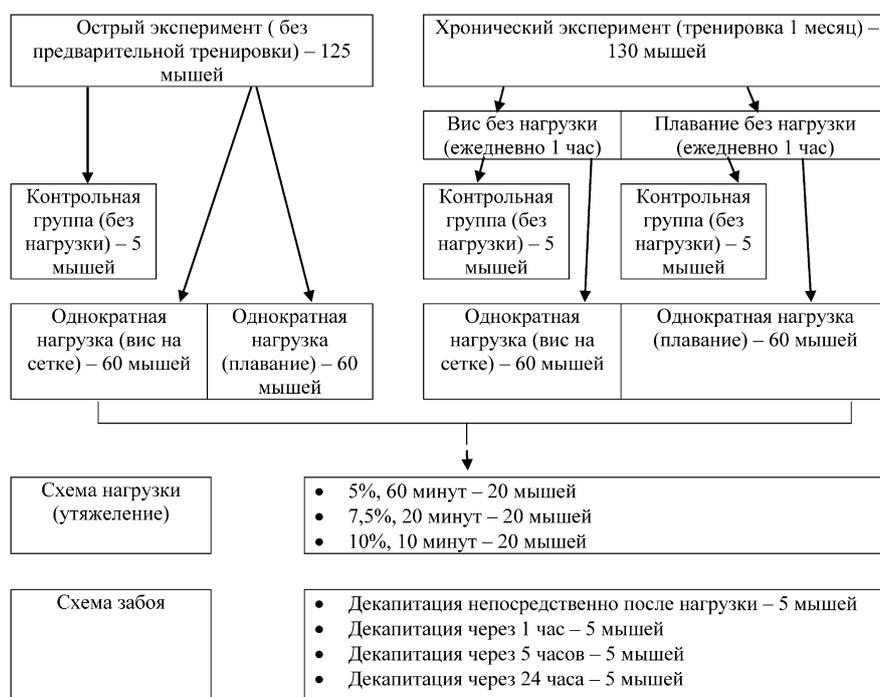


Рис. 1. Схема эксперимента и количество животных в группах

шихся нагрузке в виде виса на сетке. Образцы мышц для определения ионов забирали только непосредственно после нагрузки. Препарирование мышц проводили в PBS-буфере на льду, образцы помещали в промывочный раствор (100 мМ  $MgCl_2$ , 10 мМ Tris-HCl, pH 7,4) на льду и инкубировали в течение 15 мин, затем раствор меняли на свежий; данную процедуру повторяли 4 раза. Извлеченную мышцу взвешивали и разрезали на мелкие части, после чего помещали в микропробирку, содержащую 5%-ный раствор ТХУ, для полного извлечения ионов из ткани.

Через сутки содержимое микропробирки гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком, после чего дополнительно проводили ультразвуковую дезинтеграцию образцов с использованием «Bradson 450 Digital Sonifier» («Marshall Scientific», США) в течение 30 с при мощности 15% от максимальной амплитуды, процедуру повторяли 3 раза до полной гомогенности суспензии. Полученный образец центрифугировали при 18 000 g на лабораторной центрифуге «ELMI CM-50» («ELMI», Латвия) в течение 10 мин, супернатант перенесли в пробирку 1,5 мл для последующего измерения концентрации ионов. К осадкам добавляли лизирующий буфер, RIPA, содержащий коктейль ингибиторов протеаз («Sigma-Aldrich», USA). При определении концентрации белка использовали модифицированный метод Лоури.

Содержание  $Na^+$  и  $K^+$  в экстрактах ТХУ определяли методом пламенной атомно-абсорбционной спектрометрии с использованием спектрометра «Квант-2м1» («Кортек», Россия) со смесью пропан-воздух. Для калибровки использовали растворы KCl (0,5–4 мг/литр  $K^+$ ) и NaCl (0,05–2 мг/литр  $Na^+$ ), содержащие 5% ТХУ. Содержание  $Na^+$  и  $K^+$  каждой пробы нормализовали по мокрому весу соответствующей мышцы. Все растворы готовили с использованием дважды деионизованной воды.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистического анализа STATISTICA 8.0. Уровень значимости при проверке гипотезы принадлежности двух выборок к одной генеральной совокупности оценивали по Kruskal–Wallis ANOVA test. Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

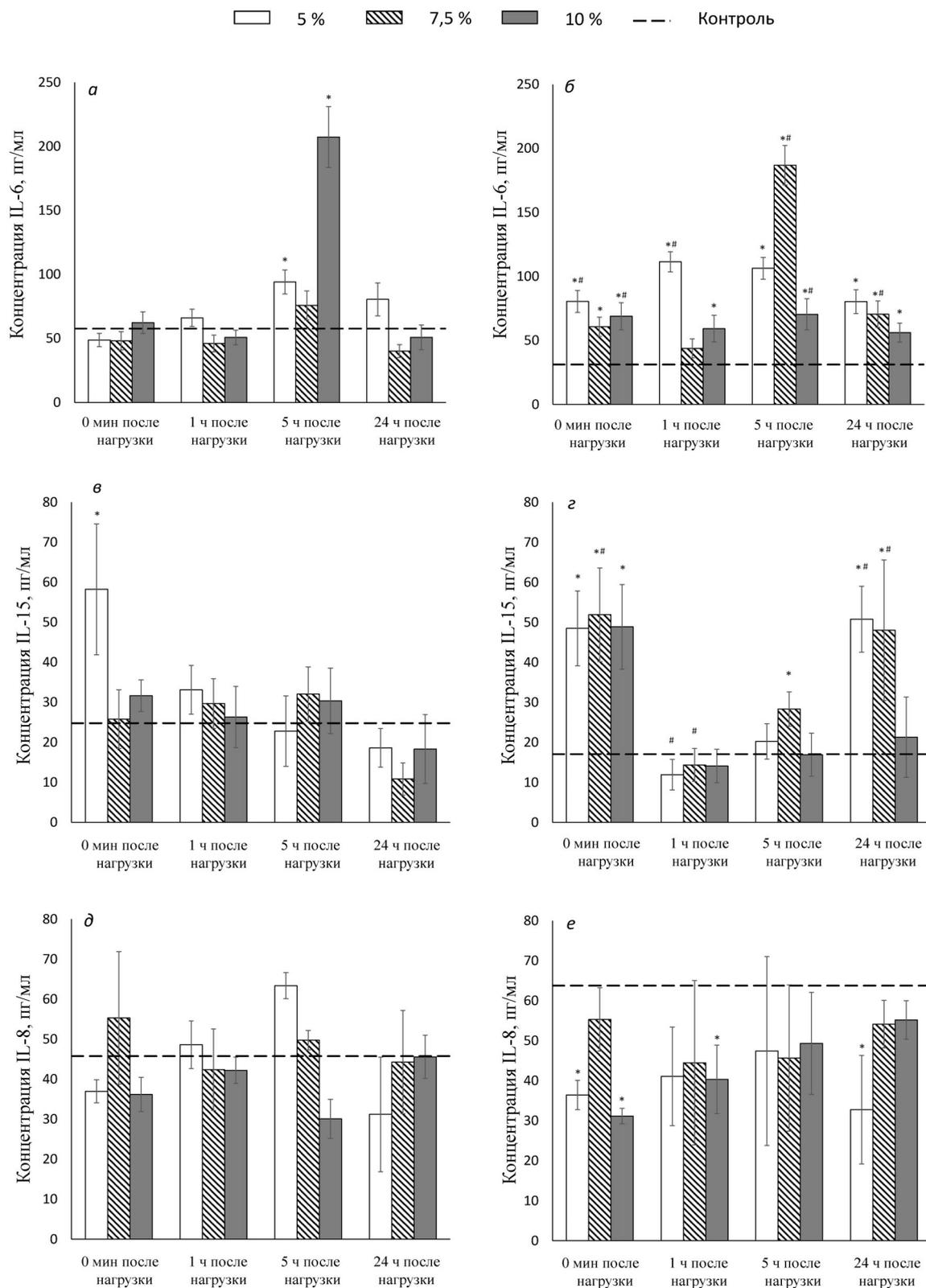
**Динамика содержания интерлейкинов в плазме у тренированных и нетренированных мышей.** На рис. 2 представлена динамика содержания интерлейкинов в плазме у тренированных и нетре-

нированных мышей в различные сроки после принудительного плавания. Продукция IL-6 у нетренированных животных усиливается через 5 ч после плавания (до  $207,3 \pm 23,7$  пг/мл по сравнению с  $57,64 \pm 9,36$  пг/мл в контроле,  $p < 0,01$ ) и пропорциональна степени утяжеления. Через 24 ч после плавания концентрация IL-6 в плазме возвращалась к исходным значениям. У тренированных животных исходный уровень данного цитокина в плазме ниже ( $33,8 \pm 8,1$  пг/мл против  $57,6 \pm 9,3$  пг/мл у нетренированных), однако прирост после плавания происходит практически сразу и достигает  $111,5 \pm 7,9$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), хотя второй пик его концентрации через 5 ч после плавания ( $106,3 \pm 8,5$  пг/мл,  $p < 0,05$ ) сохраняется и в этом случае. Известно, что IL-6 индуцирует расщепление и окисление жиров, он также принимает участие в поддержании гомеостаза глюкозы во время упражнений, поэтому его можно рассматривать как фактор, усиливающий энергообеспечение. Оказывая противовоспалительный эффект, IL-6 может ингибировать инсулинорезистентность, индуцированную фактором некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [40].

Концентрация IL-15 в плазме после принудительного плавания у нетренированных животных изменялась не столь значительно, снижение фиксировалось только через 24 ч (до  $10,8 \pm 4,0$  пг/мл,  $p < 0,01$ ) (рис. 2). Данное явление можно связать с эффектом компенсации, который наиболее выражен при первой нагрузке.

В группе мышей, подвергавшихся ежедневному плаванию в течение 4-х недель, на фоне исходно сниженной до  $17,1 \pm 4,6$  пг/мл ( $p < 0,01$ ) концентрации IL-15 в плазме ее увеличение непосредственно после плавания (до  $51,9 \pm 11,7$  пг/мл,  $p < 0,01$ ) сменялось выраженным падением до значений  $11,9 \pm 3,8$  пг/мл ( $p < 0,01$ ) через 1 ч и характеризовалось длительным процессом восстановления. IL-15 рассматривается как анаболический фактор, так как способен стимулировать рост мышц. Кроме того, IL-15 участвует в метаболизме липидов [36].

Концентрация IL-8 в плазме у нетренированных мышей не изменялась на фоне динамических нагрузок независимо от утяжеления (рис. 2). После 4-х недель ежедневных плавательных нагрузок фоновая концентрация данного интерлейкина возрастала до  $63,75 \pm 7,43$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). После однократной физической нагрузки у всех тренированных мышей мы наблюдали снижение концентрации IL-8 в плазме. Непосредственно после нагрузки это снижение было более выражено в группе с максимальным отягощением ( $63,75 \pm 7,43$  пг/мл в контроле (1),  $36,42 \pm 3,65$  пг/мл с отягощением 5% (2),  $55,30 \pm 7,91$  пг/мл с отягощением 7,5% (3),



**Рис. 2.** Концентрация интерлейкинов в плазме крови мышей после динамической нагрузки. *а, в и д* – Нетренированные животные, *б, г и е* – тренированные животные. Сверху указаны величины дополнительной нагрузки (утяжеления) в процентах от массы тела. Представлены средние значения  $\pm$  SEM (пг/мл). Обозначения: \*  $p_1 < 0,05$  – достоверность различий соответствующего показателя по сравнению с контролем; #  $p_2 < 0,05$  – достоверность различий между тренированными и нетренированными животными

31,16 ± 1,93 пг/мл с утяжелением 10% (4); (1–4) – здесь и далее обозначены номера групп, для которых ниже указан уровень значимости  $p$ );  $p_{1-2} < 0,01$ ;  $p_{1-3} < 0,05$ ;  $p_{1-4} < 0,01$ ;  $p_{2-3} < 0,01$ ;  $p_{2-4} < 0,05$ ;  $p_{3-4} < 0,01$ ).

На рис. 3 представлены данные об изменении содержания интерлейкинов в плазме у тренированных и нетренированных мышей в различные сроки после принудительной статической нагрузки (вис на сетке). Продукция IL-6 у нетренированных животных в этом случае достоверно усиливалась сразу после нагрузки, причем увеличение было пропорционально степени утяжеления.

Максимум концентрации достигался через 1–5 ч после нагрузки, к 24 ч наблюдалось значительное снижение, однако уровень IL-6 оставался несколько выше исходных значений. У тренированных животных исходный уровень данного цитокина в плазме был значительно ниже (12,58 ± 4,33 пг/мл против 57,6 ± 9,3 пг/мл – у нетренированных,  $p < 0,01$ ). Прирост после статических нагрузок в группе тренированных животных был выражен в меньшей степени.

Без утяжеления он регистрировался через 5 ч после нагрузки, с утяжелением – сразу после нагрузки. Максимум концентрации IL-6 в группе без утяжеления регистрировался через 5 ч после нагрузки и сохранялся на этом уровне до 24 ч, в группе с утяжелением 7,5% – через 1–5 ч, в группе с утяжелением 10% – через 5 ч. Через 24 ч после нагрузки концентрация IL-6 в плазме снижалась, а в группе с утяжелением 10% достигала фоновых значений (рис 2).

Концентрация IL-15 в плазме после статических нагрузок у нетренированных животных изменялась не столь значительно, сразу после нагрузки отмечалась тенденция к снижению концентрации данного цитокина, однако через час в группе без утяжеления она сменялась ростом – максимум достигался через 5 ч, после чего опять регистрировалось снижение – через 24 ч концентрация во всех группах была вдвое ниже исходного уровня (рис. 3).

В группе мышей, подвергавшихся ежедневным тренировочным статическим нагрузкам в течение 4-х недель, на фоне исходно сниженной до 14,27 ± 3,62 пг/мл ( $p < 0,05$ ) концентрации IL-15 в плазме отмечался ее прирост непосредственно после однократной нагрузки у всех мышей, но максимальным он был в группе без утяжеления. Однако уже через 5 ч после нагрузки концентрация IL-15 в плазме значительно снижалась, постепенно достигая фоновых значений (рис. 3).

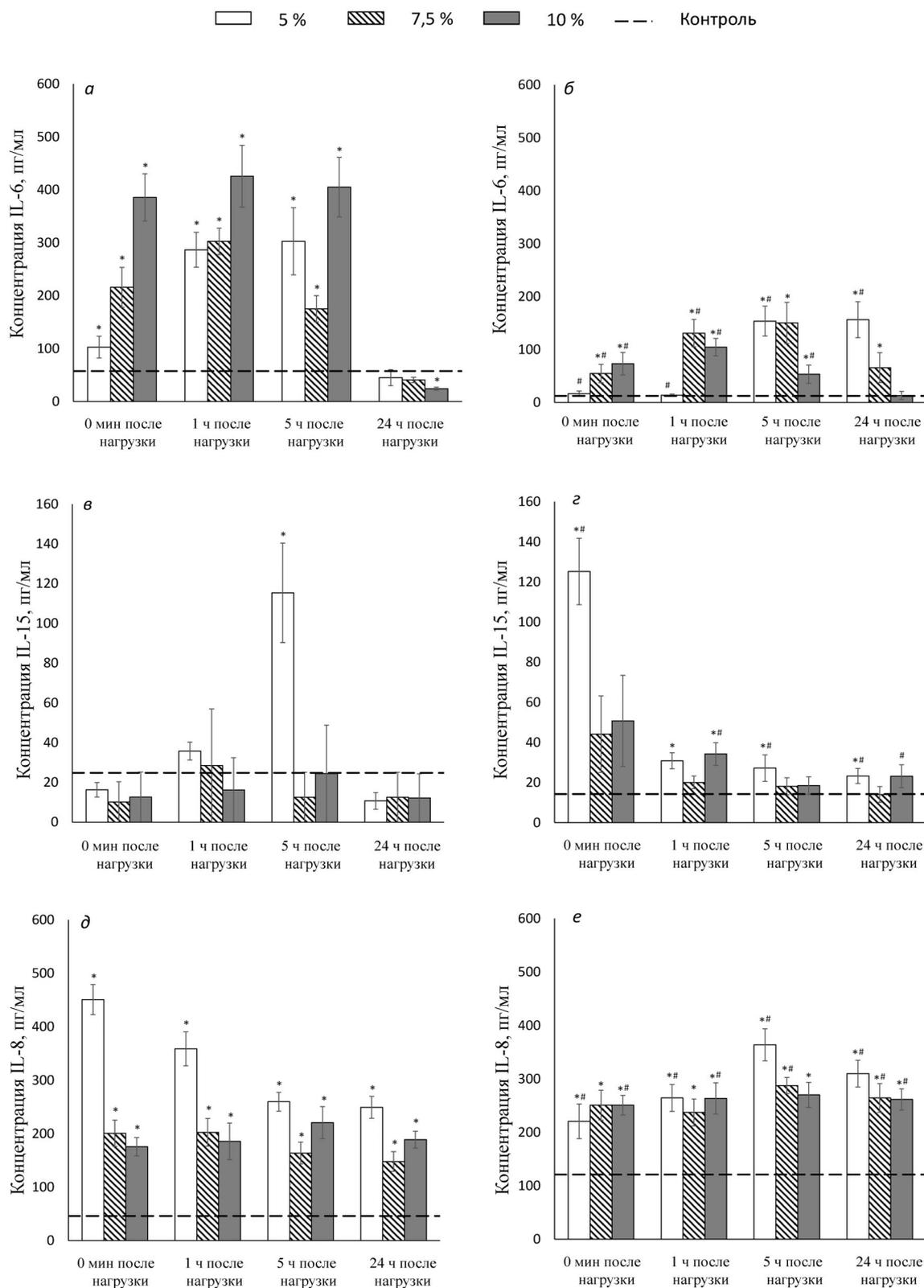
В отличие от динамических нагрузок, которые практически не влияли на концентрацию IL-8 в плазме у нетренированных мышей, сразу после статических нагрузок мы наблюдали вы-

раженный прирост концентрации данного цитокина в плазме у всех групп мышей, однако в группах с утяжелением он был выражен в меньшей степени. Максимум достигался сразу после нагрузок, и хотя через 5 ч отмечалось снижение концентрации, она оставалась существенно выше фоновых значений до 24 ч эксперимента (рис. 2). После 4-х недель ежедневных статических нагрузок фоновая концентрация данного интерлейкина в плазме возрастала до 120,95 ± 30,62 пг/мл ( $p < 0,001$ ) (рис. 3). После однократной статической нагрузки у всех тренированных мышей мы наблюдали существенный прирост концентрации IL-8 в плазме сразу после нагрузки, который не зависел от степени утяжеления. Повышенная концентрация сохранялась на прежнем уровне в течение 24 ч, в группе без утяжеления дополнительный прирост концентрации был зарегистрирован через 5 ч, в других группах такого не отмечалось.

**Исследование действия физической нагрузки на концентрацию одновалентных ионов в мышцах до и после нагрузки.** Проведя исследование действия физической нагрузки на концентрацию одновалентных ионов в мышцах до и после нагрузки, мы не обнаружили различий в содержании внутриклеточного  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в *m. soleus* и *m. biceps* животных контрольной группы. На рис. 4, а представлены значения внутриклеточного содержания  $\text{Na}^+$  в зависимости от характера и интенсивности нагрузки у тренированных и нетренированных мышей. Содержание внутриклеточного  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в группах нетренированных животных в состоянии покоя было ниже, чем у тренированных мышей. Хронические нагрузки динамического характера сопровождались возрастанием концентрации внутриклеточного  $\text{Na}^+$  в большей степени, чем статические. Влияние двух типов хронических нагрузок на концентрацию внутриклеточного  $\text{K}^+$  в клетках скелетных мышц не различалось.

Концентрация внутриклеточного  $\text{Na}^+$  в мышцах в группе тренированных животных, подвергавшихся динамической нагрузке с малыми утяжелениями, была выше, чем у тренированных животных. В то же время после нагрузки с утяжелением в 10% содержание ионов  $\text{Na}^+$  практически не изменялось. Сходные результаты были получены и в группе животных, подвергавшихся статическим нагрузкам.

Необходимо отметить, что содержание ионов  $\text{Na}^+$  у тренированных мышей было выше, чем у нетренированных. При этом содержание ионов  $\text{Na}^+$  у группы, подвергавшейся динамической нагрузке, численно выше по всем подгруппам, чем у группы, подвергавшейся статической нагрузке.



**Рис. 3.** Концентрация интерлейкинов в плазме крови мышей после статической нагрузки. *а, в и д* – Нетренированные животные, *б, г и е* – тренированные животные. Сверху указаны величины дополнительной нагрузки (утяжеления) в процентах от массы тела. Представлены средние значения  $\pm$  SEM (пг/мл). Обозначения: \*  $p_1 < 0,05$  – достоверность различий соответствующего показателя по сравнению с контролем; #  $p_2 < 0,05$  – достоверность различий между тренированными и нетренированными животными

Содержание внутриклеточного  $K^+$  в мышцах в группах нетренированных животных, подвергшихся однократной динамической или статической нагрузке, было ниже, чем у животных из контрольной группы (не подвергавшихся какой-либо нагрузке) (рис. 4, б). Существенное всего уровень  $K^+$  в мышцах снизился в подгруппе после нагрузки без утяжеления, в то время как наименьшее снижение произошло в подгруппе после нагрузки в 10%. Уменьшение содержания  $K^+$  в мышцах после статической нагрузки было выражено в большей степени, чем после динамической. Были выявлены статистически значимые различия в содержании ионов  $K^+$  в мышцах между группами нетренированных и тренированных животных, подвергшихся как динамической, так и статической нагрузке. Необходимо отметить, что содержание ионов  $K^+$  в мышцах у нетренированной группы снизилось сильнее, чем у тренированной.

Выраженное увеличение внутриклеточного соотношения  $Na_i^+/K_i^+$  в мышцах было зарегистрировано как после динамических, так и после статических нагрузок, причем при высоких величинах утяжеления оно было выражено в меньшей степени (рис. 4, в). Уровень внутриклеточного соотношения  $Na_i^+/K_i^+$  в мышцах в группе, подвергавшейся динамической нагрузке, выше, чем у группы, подвергавшейся статической нагрузке.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами результаты позволяют сделать три основных вывода. Во-первых, влияние статических и динамических нагрузок на содержание в плазме цитокинов значительно различается. Длительные динамические упражнения вызывают увеличение содержания ИЛ-6 в плазме нетренированных мышцей. Это согласуется с данными ряда публикаций [5, 6, 41], в которых исследовалось содержание ИЛ-6 в плазме у спортсменов – бегунов. В отличие от динамических, статические нагрузки оказывают выраженное влияние на концентрацию всех исследованных миокинов.

Во-вторых, как динамические, так и статические нагрузки по-разному влияют на содержание цитокинов в плазме крови нетренированных и тренированных животных. Так, в плазме у тренированных животных после динамической нагрузки наблюдался значительный прирост концентрации ИЛ-15 и снижение концентрации ИЛ-8, тогда как у нетренированных животных подобная реакция на однократную динамическую нагрузку отсутствовала. Эти факты можно объяснить адаптационными изменениями в ор-

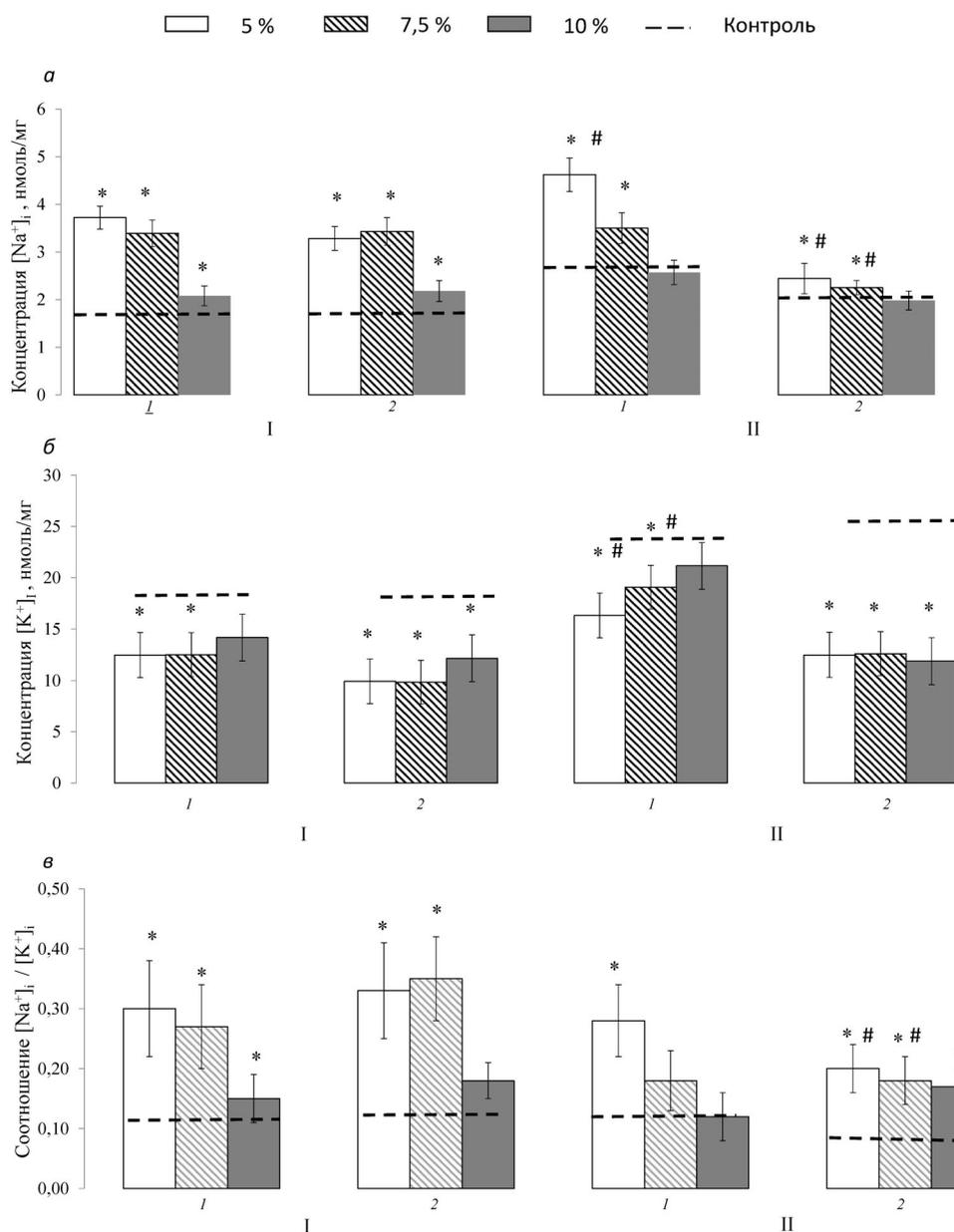
ганизме животных, вызванными регулярными физическими нагрузками [13, 42].

В-третьих, как динамические, так и статические нагрузки влияют на содержание одновалентных катионов в клетках скелетных мышц, вызывая увеличение внутриклеточного соотношения  $Na_i^+/K_i^+$ , однако при динамической нагрузке это эффект выражен в большей степени. При этом содержание внутриклеточного  $Na^+$  и  $K^+$  в группах нетренированных животных в состоянии покоя было ниже, чем у тренированных мышцей.

Особенности влияния динамической и статической нагрузки на продукцию миокинов у нетренированных и тренированных животных могут быть связаны с различиями в клеточном составе мышц. Скелетная мышца весьма гетерогенна – кроме миоцитов, она содержит целый ряд клеток – фибробласты, перициты, адипоциты, чей вклад в общий объем производства цитокинов изучен недостаточно [42]. Относительное содержание этих клеток, а также их воздействие на вызванную физической нагрузкой продукцию цитокинов может изменяться в результате регулярных физических нагрузок. В дополнение к гетерогенности ткани было показано, что скелетные миоциты могут быть подразделены на 3 различных фенотипа, каждый из которых имеет свои особенности биоэнергетических механизмов [43, 44].

Еще один фактор, обеспечивающий описанные различия, может быть связан с особенностями транскрипционных механизмов. Показано, что транскрипционные изменения при сокращении мышц наиболее выражены в быстро сокращающихся мышечных волокнах типа IIa [45], что также, несомненно, отражается на интенсивности продукции миокинов. Фактор, индуцируемый гипоксией 1 альфа (HIF-1 $\alpha$ ), cAMP- и  $Ca_i^{2+}$ -зависимые протеинкиназы, а также соотношение концентраций одновалентных катионов ( $[Na^+]_i/[K^+]_i$ ) обеспечивают передачу сигналов и участвуют в образовании транскрипционных связей в клетках скелетных мышц [31, 39, 46, 47]. HIF-1 $\alpha$  транслоцируется в ядро, где образует комплекс HIF-1 $\alpha$ /HIF-1 $\beta$  и триггеры транскрипции десятков генов, в том числе фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и эндотелиальной синтазы окиси азота (eNOS) [48]. Важно отметить, что в отличие от динамической нагрузки, статические нагрузки приводят к окклюзии кровеносных сосудов и локальной гипоксии, что сопровождается накоплением mRNA фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и эндотелиальной синтазы окиси азота в скелетной мышце крысы [49]. Однако роль этого пути в регулировании продукции цитокинов еще не изучена.

Возбуждение миоцитов сопровождается изменением трансмембранного градиента одно-



**Рис. 4.** Величины внутриклеточных концентраций  $\text{Na}^+$  (а),  $\text{K}^+$  (б) и соотношения  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (в) после динамической (1) и статической (2) нагрузки у нетренированных (I) и тренированных (II) мышей. Вверху указаны величины дополнительной нагрузки (утяжеления) в процентах от массы тела. Концентрация нормирована на влажный вес мышцы. Представлены средние значения  $\pm$  SEM. Обозначения: \*  $p_1 < 0,05$  – достоверность различий соответствующего показателя по сравнению с контролем; #  $p_2 < 0,05$  – достоверность различий между тренированными и нетренированными животными

лентных катионов вследствие притока  $\text{Na}^+$  и оттока  $\text{K}^+$  через потенциал-зависимые и  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительные ионные каналы. В некоторых типах клеток повышение соотношения  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  приводило к экспрессии mRNA ряда цитокинов, в том числе *IL-6* [50, 51]. Это позволяет предположить, что увеличение соотношения  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  является фактором, стимулирующим продукцию миокинов. Этот процесс может опосредоваться возрастанием концентрации  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в цитоплазме за счёт активации по-

тенциал-чувствительных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов и/или  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмена.

Ранее для оценки относительного вклада  $\text{Ca}_i^{2+}$ -опосредованного и  $\text{Ca}_i^{2+}$ -независимого сигнальных путей мы сравнили транскриптомные изменения при увеличении соотношения  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  в клетках, обеднённых  $\text{Ca}^{2+}$ , и обнаружили увеличение количества специфических  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$ -чувствительных генов [52]. Среди  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$ -чувствительных генов, активируемых независимо от наличия хелато-

ров  $\text{Ca}^{2+}$ , был обнаружен ген миокина, *IL-6*. Недавно также было выявлено, что внеклеточные хелаторы  $\text{Ca}^{2+}$  значительно увеличивают проницаемость мембраны для одновалентных ионов, что приводит к повышению внутриклеточного соотношения  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  [53]. Ранее мы также показали, что в клетках гладких мышц сосудов транскриптомные изменения, индуцированные гипоксией, по меньшей мере частично вызваны *HIF-1 $\alpha$* -независимыми,  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$ -опосредованными, транскрипционными связями [54].

Однако молекулярная природа сенсоров, посредством которых осуществляется регуляция процессов транскрипции и трансляции внутриклеточными  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , до сих пор остаётся предметом дискуссии [55]. В данном аспекте интересен тот факт, что увеличение соотношения  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  в цитоплазме клеток скелетных мышц при сокращении сопровождается увеличением активности  $\alpha 2 \text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы [56], которая способна частично нивелировать этот эффект благодаря высокому сродству этой изоформы фермента к  $[\text{Na}^+]_i$  [57].

Подводя итог сказанному, следует отметить, что спектр вырабатываемых миокинов зависит от характера нагрузок и уровня предварительной тренировки. Динамические и статические нагрузки по-разному влияют на содержание миокинов в плазме крови нетренированных и предварительно тренированных экспериментальных животных. Обнаруженные различия могут иметь в своей основе целый ряд механизмов. Клеточный состав скелетных мышц и фенотипические особенности мышечных волокон, изменяясь в результате регулярных тренировок, могут модифицировать процессы продукции

миокинов. Однако обнаруженное влияние физических нагрузок на диссипацию трансмембранных градиентов одновалентных катионов позволяет предположить, что определенную роль в этом могут играть  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$ -зависимые механизмы запуска транскрипции генов.

Модификация этих механизмов под влиянием физических нагрузок различного характера и интенсивности представляет значительный интерес, так как является перспективным путем воздействия на процессы метаболизма как на клеточном, так и на системном уровнях, что весьма актуально как для повышения спортивных результатов, так и для коррекции метаболических расстройств при целом ряде социально значимых заболеваний.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-15-10026-П).

**Благодарности.** Авторы приносят благодарность профессору Александру Чибалину (Каролинский Институт, Стокгольм, Швеция) за высказанные ценные идеи при обсуждении результатов.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждения, в котором проводились исследования, и утвержденным правовым актам РФ и международных организаций. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом биологического института Томского государственного университета (протокол № 32 от 19 декабря 2019 года).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frontera, W. R., and Ochala, J. (2015) Skeletal muscle: a brief review of structure and function, *Calcif. Tissue Int.*, **96**, 183-195, doi: 10.1007/s00223-014-9915-y.
2. Amano, Y., Nonaka, Y., Takeda, R., Kano, Y., and Hoshino, D. (2020) Effects of electrical stimulation-induced resistance exercise training on white and brown adipose tissues and plasma meteorin-like concentration in rats, *Physiol. Rep.*, **16**, e14540, doi: 10.14814/phy2.14540.
3. Drenth, J. P., Van Uum, S. M., Van Deuren, M., Pesman, G., Van der Ven-Jongekrijg, J., and Van der Meer, J. M. (1985) Endurance run increases circulation IL-6 and IL-1ra but downregulates *ex vivo* TNF-alpha and IL-1beta production, *J. Appl. Physiol.*, **79**, 1497-1503, doi: 10.1152/JAPPL.1995.79.5.1497.
4. Romagnoli, C., Zonefrati, R., and Sharma, P. (2020) Characterization of skeletal muscle endocrine control in an *in vitro* model of myogen, *Calcif. Tissue Int.*, **107**, 18-30, doi: 10.1007/s00223-020-00678-3.
5. Barbalho, S. M., Flato, U. A. P., Tofano, R. J., de Alvares Goulart, R., Guiguer, E. L., et al. (2020) Physical exercise and myokines, *Int. J. Molec. Sci.*, **21**, 3607, doi: 10.3390/ijms21103607.
6. Steensberg, A., van Hall, G., Osada, T., Sacchetti, M., Saltin, B., and Klarlund Pedersen, B. (2000) Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6, *J. Physiol.*, **529**, 237-242, doi: 10.1111/j.1469-7793.2000.00237.x.
7. Keller, C., Steensberg, A., Pilegaard, H., Osada, T., Saltin, B., et al. (2001) Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content, *FASEB J.*, **14**, 2748-2750, doi: 10.1096/fj.01-0507fje.
8. Nedachi, T., Fujita, H., and Kanzaki, M. (2008) Contractile C2C12 myotube model for studying exercise-inducible responses in skeletal muscle, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **295**, E1191-E1204, doi: 10.1152/ajpendo.90280.2008.
9. Lambernd, S., Taube, A., Schober, A., Platzbecker, B., Görgens, S. W., et al. (2012) Contractile activity of human skeletal muscle cells prevents insulin resistance by inhibiting pro-inflammatory signaling pathways, *Diabetologia*, **55**, 1128-1139, doi: 10.1007/s00125-012-2454-z.
10. Nikolic, N., Bakke, S. S., Kase, E.T., Rudberg, I., Halle, I. F., et al. (2012) Electrical pulse stimulation of cul-

- tured human skeletal muscle cells as an *in vitro* model of exercise, *PLoS One*, **7**, e33203, doi: 10.1371/journal.pone.0033203.
11. Scheler, M., Irmeler, M., Lehr, S., Hartwig, S., Staiger, H., et al. (2013) Cytokine response of primary human myotubes in an *in vitro* exercise model, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **305**, C877-C886, doi: 10.1152/ajpcell.00043.2013.
  12. Ahn, N., and Kim, K. (2020) Effects of aerobic and resistance exercise on myokines in high fat diet-induced middle-aged obese rats, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **17**, 2685, doi: 10.3390/ijerph17082685.
  13. Pedersen, B. K., and Febbraio, M. A. (2008) Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6, *Physiol. Rev.*, **88**, 1379-1406, doi: 10.1152/physrev.90100.2007.
  14. Iizuka, K., Machida, T., and Hirafuji, M. (2014) Skeletal muscle is an endocrine organ, *J. Pharmacol. Sci.*, **125**, 125-131, doi: 10.1254/jphs.14r02cp.
  15. Pedersen, B. K., and Febbraio, M. A. (2012) Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ, *Nat. Rev. Endocrinol.*, **8**, 457-465, doi: 10.1038/nrendo.2012.49.
  16. Laurens, C., Bergouignan, A., and Moro, C. (2020) Exercise-released myokines in the control of energy metabolism, *Front. Physiol.*, **11**, 91, doi: 10.3389/fphys.2020.00091.
  17. Kapilevich, L. V., Zakharova, A. N., Kabachkova, A. V., Kironenko, T. A., and Orlov, S. N. (2017) Dynamic and static exercises differentially affect plasma cytokine content in elite endurance- and strength-trained athletes and untrained volunteers, *Front. Physiol.*, **8**, 35, doi: 10.3389/fphys.2017.00035.
  18. Kapilevich, L. V., Kironenko, T. A., Zakharova, A. N., Kabachkova, A. V., and Orlov, S. N. (2017) Level of interleukins IL-6 and IL-15 in blood plasma of mice after forced swimming test, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **163**, 10-13, doi: 10.1007/s10517-017-3725-y.
  19. Jurkat-Rott, K., Fauler, M., and Lehmann-Horn, F. (2006) Ion channels and ion transporters of the transverse tubular system of skeletal muscle, *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **27**, 275-290, doi: 10.1007/s10974-006-9088-z.
  20. Sejersted, O. M., and Sjogaard, G. (2000) Dynamics and consequences of potassium shifts in skeletal muscle and heart during exercise, *Physiol. Rev.*, **80**, 1411-1481, doi: 10.1152/physrev.2000.80.4.1411.
  21. McDonough, A. A., Thompson, C. B., and Youn, J. H. (2002) Skeletal muscle regulates extracellular potassium, *Am. J. Physiol. Ren. Physiol.*, **282**, F967-F974, doi: 10.1152/ajprenal.00360.2001.
  22. McKenna, M. J., Bangsbo, J., and Renaud, J. M. (2008) Muscle K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, and Cl<sup>-</sup> disturbances and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump inactivation: implications for fatigue, *J. Appl. Phys.*, **104**, 288-295, doi: 10.1152/jappphysiol.01037.2007.
  23. Murphy, K. T., Nielsen, O. B., and Clausen, T. (2008) Analysis of exercise-induced Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> exchange in rat skeletal muscle, *Exp. Physiol.*, **93**, 1249-1262, doi: 10.1113/expphysiol.2008.042457.
  24. Cairns, S. P., and Lindinger, M. I. (2008) Do multiple ionic interactions contribute to skeletal muscle fatigue? *J. Physiol.*, **586**, 4039-4054, doi: 10.1113/jphysiol.2008.155424.
  25. Orlov, S. N., Koltsova, S. V., Kapilevich, L. V., Gusakova, S. V., and Dulin, N. O. (2015) KCC1 and NKCC2: the pathogenic role of cation-chloride cotransporters in hypertension, *Genes Dis.*, **2**, 186-196, doi: 10.1016/j.gendis.2015.02.007.
  26. Danilov, K., Sidorenko, S., Milovanova, K., Klimanova, E., Kapilevich, L., and Orlov, S. (2017) Electrical pulse stimulation decreases electrochemical Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> gradients in C2C12 myotubes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **493**, 875-878, doi: 10.1016/j.bbrc.2017.09.133.
  27. Farmawati, A., Kitajima, Y., Nedachi, T., Sato, M., Kanzaki, M., and Nagatomi, R. (2013) Characterization of contraction-induced IL-6 up-regulation using contractile C2C12 myotubes, *Endocr. J.*, **60**, 137-147, doi: 10.1507/endocrj.ej12-0316.
  28. Smolyaninova, L.V., Koltsova, S. V., Sidorenko, S. V., and Orlov, S. N. (2017) Augmented gene expression triggered by Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase inhibition: role of Ca<sup>2+</sup>-mediated and -independent excitation-transcription coupling, *Cell Calcium*, **68**, 5-13, doi: 10.1016/j.ceca.2017.10.002.
  29. Sidorenko, S., Klimanova, E., Milovanova, K., Lopina, O. D., Kapilevich, L. V., et al. (2018) Transcriptional changes in C2C12 myotubes triggered by electrical stimulation: role of Ca<sup>2+</sup>-mediated and Ca<sup>2+</sup>-independent signaling and elevated [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub> ratio, *Cell Calcium*, **76**, 72-86, doi: 10.1016/j.ceca.2018.09.007.
  30. Kapilevich, L. V., Kironenko, T. A., Zaharova, A. N., Kotelevtsev, Y. V., Dulin, N. O., and Orlov, S. N. (2015) Skeletal muscle as an endocrine organ: role of [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-mediated excitation-transcription coupling, *Genes Dis.*, **2**, 328-336, doi: 10.1016/j.gendis.2015.10.001.
  31. Lauritzen, H. P., Brandauer, J., Schjerling, P., Koh, H. J., Treebak, J. T., et al. (2013) Contraction and AICAR stimulate IL-6 vesicle depletion from skeletal muscle fibers *in vivo*, *Diabetes*, **62**, 3081-3092, doi: 10.2337/db12-1261.
  32. Kapilevich, L. V., Milovanova, K. G., Sidorenko, S. V., Fedorov, D. A., Kironenko, T. A., et al. (2020) Effect of dynamic and static loads on the concentration of sodium and potassium in murine skeletal muscles, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **169**, 1-4, doi: 10.1007/s10517-020-04811-y.
  33. Klimanova, E. A., Sidorenko, S. V., Tverskoi, A. M., Shiyani, A. A., Smolyaninova, L. V., et al. (2019) Search for intracellular sensors involved in the functioning of monovalent cations as secondary messengers, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1280-1295, doi: 10.1134/S0006297919110063.
  34. Shiyani, A. A., Sidorenko, S. V., Fedorov, D., Klimanova, E. A., Smolyaninova, L. V., et al. (2019) Elevation of intracellular Na<sup>+</sup> contributes to expression of early response genes triggered by endothelial cell shrinkage, *Cell. Physiol. Biochem.*, **53**, 638-647, doi: 10.33594/000000162.
  35. Smolyaninova, L. V., Shiyani, A. A., Kapilevich, L. V., Lopachev, A. V., Fedorova, T. N., et al. (2019) Transcriptional changes triggered by ouabain in rat cerebellum granule cells: role of α3- and α1-Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase-mediated signaling, *PLoS One*, **14**, e0222767, doi: 10.1371/journal.pone.0222767.
  36. Lukaszuk, B., Bialuk, I., Górski, J., Zajaczkiewicz, M., Winnicka, M. M., and Chabowski, A. (2012) A single bout of exercise increases the expression of glucose but not fatty acid transporters in skeletal muscle of IL-6 KO mice, *Lipids*, **47**, 763-772, doi: 10.1007/s11745-012-3678-x.
  37. Bagmetova, V. V., Krivitskaya, A. N., Tyurenkov, I. N., Berestovitskaya, V. M., and Vasilyeva, O. S. (2012) The influence of fenibut and its salt with succinic acid on animals' resistance to forced dynamic and static physical loads, *Fundament. Res.*, **4**, 243-246.
  38. Wasinski, F., Bacurau, R. F., Moraes, M. R., Haro, A. S., Moraes-Vieira, P. M., et al. (2013) Exercise and caloric restriction alter the immune system of mice submitted to a high-fat diet, *Mediators Inflamm.*, **2013**, 395672, doi: 10.1155/2013/395672.
  39. Karkishchenko, V. N., Kapanadze, G. D., Dengina, S. E., and Stankova, N. V. (2011) Development of technique of assessment of physical endurance of small laboratory animals for investigation of adaptogenic activity of some therapeutic drugs, *Biomeditsina*, **1**, 72-74.
  40. Gundersen, K. (2011) Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: the molecular pathways of exercise, *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, **86**, 564-600, doi: 10.1111/j.1469-185X.2010.00161.x.
  41. Fisher, C. P. (2006) Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exercise Immunol. Rev.*, **12**, 6-33.
  42. Peake, J. M., Gatta, P. D., Suzuki, K., and Nieman, D. C. (2015) Cytokine expression and secretion by skeletal mus-

- cle cells: regulatory mechanisms and exercise effects, *Exercise Immunol. Rev.*, **21**, 8-25.
43. Fitts, R. H., and Widrick, J. J. (1996) Muscle mechanics: adaptations with exercise-training, *Exerc. Sport. Sci. Rev.*, **24**, 427-473.
  44. Dyakova, E. Y., Kapilevich, L. V., Shylko, V. G., Popov, S. V., and Anfinogenova, Y. (2015) Physical exercise associated with NO production: signaling pathways and significance in health and disease, *Front. Cell Dev. Biol.*, **3**, 19, doi: 10.3389/fcell.2015.00019.
  45. Raue, U., Trappe, T. A., Estrem, S. T., Qian, H.-R., Helvering, L. M., et al. (2012) Transcriptomic signature of resistance exercise adaptations: mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults, *J. Appl. Physiol.*, **112**, 1625-1636, doi: 10.1152/jappphysiol.00435.2011.
  46. Kapilevich, L. V., D'Yakova, E. Yu., Nosarev, A. V., Zaitseva, T. N., Petlina, Z. R., et al. (2010) Effect of nano-disperse ferrite cobalt (CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) particles on contractile reactions in guinea pigs airways, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **149**, 70-72.
  47. Kovalev, I. V., Baskakov, M. B., Medvedev, M. A., Minochenko, I. L., Kilin, A. A., et al. (2007) Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl(-)-cotransport and chloride permeability of the cell membrane in mezonon and histamine regulation of electrical and contractile activity in smooth muscle cells from the guinea pig ureter, *Ros. Fiziol. Zh. Im. I.M. Sechenova*, **93**, 306-317.
  48. Ke, Q., and Costa, M. (2006) Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1), *Mol. Pharmacol.*, **70**, 1469-1480, doi: 10.1124/mol.106.027029.
  49. Rodriguez-Miguel, P., Lima-Cabello, E., Martinez-Florez, S., Almar, M., Cuevas, M. J., and González-Gallego, J. (2015) Hypoxia-inducible factor-1 modulates the expression of vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase induced by eccentric exercise, *J. Appl. Physiol.*, **118**, 1075-1083, doi: 10.1152/jappphysiol.00780.2014.
  50. Koltsova, S. V., Trushina, Y., Haloui, M., Akimova, O. A., Tremblay, J., et al. (2012) Ubiquitous [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-sensitive transcriptome in mammalian cells: evidence for [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>-independent excitation-transcription coupling, *PLoS One*, **7**, e38032, doi: 10.1371/journal.pone.0038032.
  51. Popov, D. V., Lysenko, E. A., Bokov, R. O., Volodina, M. A., Kurochkina, N. S., et al. (2018) Effect of aerobic training on baseline expression of signaling and respiratory proteins in human skeletal muscle, *Physiol. Rep.*, **6**, e13868, doi: 10.14814/phy2.13868.
  52. Popov, D. V., Makhnovskii, P. A., Shagimardanova, E. I., and Volodina, M. A. (2019) Contactile activity-specific transcriptome response to acute endurance exercise and training in human skeletal muscle, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **316**, E605-E614, doi: 10.1152/ajpendo.00449.2018.
  53. Koltsova, S. V., Tremblay, J., Hamet, P., and Orlov, S. N. (2015) Transcriptomic changes in Ca<sup>2+</sup>-depleted cells: role of elevated intracellular [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub> ratio, *Cell Calcium*, **58**, 317-324, doi: 10.1016/j.ceca.2015.06.009.
  54. Koltsova, S. V., Shilov, B., Burulina, J. G., Akimova, O. A., Mounisif, H., et al. (2014) Transcriptomic changes triggered by hypoxia: evidence for HIF-1 $\alpha$ -independent, [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-mediated excitation-transcription coupling, *PLoS One*, **9**, e110597, doi: 10.1371/journal.pone.0110597.
  55. Orlov, S. N., and Hamet, P. (2015) Salt and gene expression: evidence for [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-mediated signaling pathways, *Pflugers Arch.*, **467**, 489-498, doi: 10.1007/s00424-014-1650-8.
  56. Kravtsova, V. V., Petrov, A. M., Matchkov, V. V., Timonina, N. A., Zakyrganova, G. F., et al. (2016) Distinct  $\alpha$ 2 Na,K-ATPase membrane pool are differently involved in early skeletal muscle remodeling during disuse, *J. Gen. Physiol.*, **147**, 175-188, doi: 10.1085/jgp.201511494.
  57. Matchkov, V. V., and Krivoi, I. I. (2016) Specialized functional diversity and interactions of Na,K-ATPase, *Front. Physiol.*, **7**, 179, doi: 10.3389/fphys.2016.00179.

## INFLUENCE OF DYNAMIC AND STATIC LOADS ON THE CONCENTRATION OF MYOKINES IN PLASMA AND ON THE CONTENT OF SODIUM AND POTASSIUM IN THE SKELETAL MUSCLES OF MICE

T. A. Kironenko<sup>1</sup>, K. G. Milovanova<sup>1</sup>, A. N. Zakharova<sup>1</sup>, S. V. Sidorenko<sup>2</sup>,  
E. A. Klimanova<sup>1,2</sup>, E. Yu. Dyakova<sup>1</sup>, A. A. Orlova<sup>1</sup>, E. S. Negodenko<sup>1</sup>,  
Yu. G. Kalinnikova<sup>1</sup>, S. N. Orlov<sup>1,2</sup>, and L. V. Kapilevich<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> National Research Tomsk State University, 634050 Tomsk, Russia, E-mail: kapil@yandex.ru

<sup>2</sup> Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia; E-mail: klimanova.ea@yandex.ru

Modification of the production of cytokines under the influence of physical activity is of considerable interest, since it is a promising way of correcting metabolic processes at both the cellular and systemic levels. The content of IL-6, IL-8, and IL-15 in plasma and monovalent cations in skeletal muscle in mice was studied at different times after static and dynamic loads, taking into account their weighting and preliminary training. Long-term dynamic exercises cause an increase in the content of IL-6 and a decrease in IL-15 in the plasma of intact mice, without affecting the concentration. In trained mice, the effects of a single load on the concentration of IL-6 and IL-15 in plasma were enhanced, and a decrease in the concentration of IL-8 was also noted. Unlike dynamic, static loads have a similar, but more pronounced effect on the concentration of IL-6 and IL-15 in plasma. However, the concentration of IL-8 in response to static load increased significantly. Preliminary workouts reinforced the described reactions for all myokines studied. The multidirectional effect of the dynamic load (swimming) on the contents of intracellular sodium (increase) and potassium (decrease) in the *mouse soleus* was shown. It was found for the first time that a similar phenomenon is observed under static load (hanging on a grid) in *mouse biceps* mice and does not reliably depend on preliminary training of experimental animals. Possible mechanisms providing the regulation of cytokine secretion after exercise are discussed, including the [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-dependent mechanism for triggering gene transcription.

**Keywords:** physical activity, myokines, ions, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, transcription, translation