

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-254

**НАКОПЛЕНИЕ ВНУТРИМИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ
ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ НЕ ОКАЗЫВАЕТ ВЛИЯНИЯ НА РАЗВИТИЕ
ПОВЫШЕННОЙ УТОМЛЯЕМОСТИ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ***

**THE ACCUMULATION OF INTRAMITOCHONDRIAL FORMATION
DURING FUNCTIONAL UNLOADING DOES NOT AFFECT THE DEVELOPMENT
OF INCREASED FATIGUE OF THE SOLEUS MUSCLE**

И. Д. Львова, Д. А. Сидоренко, С. А. Тыганов, К. А. Шарло

Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

I. D. Lvova, D. A. Sidorenko, S. A. Tyganov, K. A. Sharlo

Institute of Biomedical Problems RAS, Moscow

✉ irrrra1@yandex.ru

Аннотация

Предполагалось, что повышенная генерация АФК после первых суток функциональной разгрузки в *m. soleus* может привести к нарушению функций митохондрий и повышенной утомляемости мышцы. Выяснилось, что митохондриальные АФК на фоне 7-суточной функциональной разгрузки вносят вклад в накопление Ca^{2+} внутри митохондрий и окисление тропомиозина, но не оказывают существенного влияния на функциональные свойства *m. soleus* на фоне 7-суточной функциональной разгрузки.

Abstract

It was assumed that increased generation of ROS after the first day of functional unloading in *m. soleus* can lead to disruption of mitochondrial functions and increased muscle fatigue. It was found that mitochondrial ROS during a 7-day functional unloading contribute to the accumulation of Ca^{2+} inside mitochondria and tropomyosin oxidation, but do not have a significant effect on the functional properties of *m. soleus* against the background of 7-day functional unloading.

Известно, что уже после первых суток функциональной разгрузки митохондрии в камбаловидной мышце генерируют повышенное количество активных форм кислорода (АФК), и мы предположили, что при сохранении такого количества АФК на протяжении 7 суток у мышцы снижается устойчивость к утомлению. Избыток АФК может приводить к накоплению внутримитохондриального кальция [1], что, в свою очередь, может приводить к нарушению работы митохондрий и к повышенной утомляемости камбаловидной мышцы [2].

В рамках данной работы мы применили mito-ТЕМРО — препарат, снижающий содержание АФК в митохондриях, и проверили, сможет ли он предотвратить нарушение нормального функционирования митохондрий и повышение утомляемости мышцы.

Самцы крыс линии Wistar были случайным образом разделены на 3 экспериментальные группы по 16 животных в каждой: С — виварный контроль, 7HS — 7-суточная функциональная разгрузка с введением плацебо, 7HSM — 7-суточная функциональная разгрузка с ежедневным внутрибрюшинным введением миметика супероксиддисмутазы mito-ТЕМРО (1 мг/кг). Функциональная разгрузка моделировалась по методике Ильина — Новикова в модификации Morey — Holton [3, 4].

Через 7 дней эксперимента у крыс под наркозом (трибромэтанолом в 2-метил-2-бутаноле; 5 мл/кг веса 10%-го раствора) выделяли камбаловидную мышцу. Эвтаназия крыс осуществлялась методом нарушения целостности шейных позвонков под наркозом. Эксперимент был одобрен комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ ИМБП РАН. Индекс утомления определялся *ex vivo*: проводилась серия из 20 тетанических сокращений за одну минуту, с перерывом в 1 с между сокращениями. За индекс утомления брали силу сокращения после 20 повторений, деленную на максимальную силу сокращения, измеренную в течение всего теста. Внутримитохондриальный кальций определяли методом конфокальной микроскопии, используя окраску Rhod-2-AM (Invitrogen, США) с добавлением 0,001 % Pluronic. Также для оценки экспрессии мРНК параметров биогенеза митохондрий методом ПЦР-РВ из образцов ткани выделяли РНК и ДНК, а для оценки содержания окисленного тропомиозина была выделена тотальная белковая фракция.

* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 23-75-10048).

© И. Д. Львова, Д. А. Сидоренко, С. А. Тыганов, К. А. Шарло, 2024

Мы обнаружили, что индекс утомления камбаловидной мышцы был достоверно снижен относительно контроля как в группе 7HS, так и в группе с введением mito-TEMPO.

Интенсивность флуоресценции красителя внутримитохондриального кальция Rhod-2-AM в группе 7HS достоверно вдвое превышала значения группы С. При этом в группе 7HSM уровень интенсивности флуоресценции Rhod-2-AM был несколько ниже значений группы 7HS и не имел достоверных отличий ни от С, ни от 7HS.

После 7-суточной функциональной разгрузки доля окисленного тропомиозина достоверно выросла вдвое в сравнении с группой С. При этом в группе с введением mito-TEMPO уровень окисленного тропомиозина был достоверно ниже значений группы 7HS и не отличался от группы контроля.

Содержание мРНК ключевого регулятора биогенеза митохондрий PGC-1 α в группе 7HS было вдвое ниже значений группы С в обеих экспериментальных группах. Такие же результаты наблюдались и для экспрессии мРНК IV комплекса дыхательной цепи митохондрий, включая как те, чьи гены кодируются в ядерном геноме, так и те, чьи гены кодируются в митохондриальном геноме. Содержание митохондриальной ДНК достоверно снизилось на 70 % в обеих вывешенных группах в сравнении с контролем.

Таким образом, мы показали, что после 7-суточной функциональной разгрузки задних конечностей крыс в их камбаловидных мышцах происходит достоверный рост внутримитохондриального кальция и уровня окисления тропомиозина. Введение миметика супероксиддисмутазы mito-TEMPO на фоне 7-суточной функциональной разгрузки частично предотвращает рост содержания внутримитохондриального кальция и окисления тропомиозина, но не влияет на параметры биогенеза митохондрий и функциональные параметры мышцы.

Литература

1. Baev A. Y., Vinokurov A. Y., Novikova I. N. et al. Interaction of Mitochondrial Calcium and ROS in Neurodegeneration // Cells. 2022. Vol. 11.
2. Walkon L. L., Strubbe-Rivera J. O., Bazil J. N. Calcium Overload and Mitochondrial Metabolism // Biomolecules. 2022. Vol. 12.
3. Morey-Holton E., Globus R. K., Kaplansky A., Durnova G. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data // Adv. Space Biol. Med. 2005. Vol. 10. P. 7–40.
4. Novikov V. E., Ilyin E. A. Age-related reactions of rat bones to their unloading // Aviat Space Environ Med. 1981. Vol. 52. P. 551–553.