

Сведения о выполненных работах в 2020 году  
по проекту «**Механизмы метаболического контроля в скелетных мышцах:  
новые пути коррекции метаболического синдрома**»,  
поддержанному Российским научным фондом  
Соглашение № 19-15-00118

Руководитель Чибалин Александр Валерьевич, канд. биол. наук

В результате применения жировой диеты у мышей было выявлено формирование избыточной массы тела. У возрастных мышей при жировой диете отмечалось увеличение массы сердца и печени, чего не регистрировалось в группе молодых животных. Как и предполагалось, в наибольшей степени масса возрастала масса жировой ткани, и она же эффективно снижалась на фоне тренировок, у молодых животных это снижение было более выражено.

К 4-й неделе эксперимента у экспериментальной группы возрастных мышей снизилась степень усвоения глюкозы. Через 15 минут после углеводной нагрузки у мышей экспериментальной группы уровень глюкозы в крови достиг максимума – 123 % от первоначального значения. Через 30 минут показатель глюкозы крови начал снижаться, опустившись до 93 % от первоначального значения. В контрольной группе показатель глюкозы достиг максимума к 30 минуте, и к 120 минуте был больше первоначального значения на 12 %, в отличие от показателя глюкозы на 120 минуте у экспериментальной группы – 22 % от показателя натощак. У молодых мышей такой эффект регистрировался только к 12-й неделе. К 16-й неделе эксперимента у всех групп мышей отмечались четкие признаки снижения усвоения глюкозы, однако в возрастной группе они были выражены существенно выше.

Концентрация инсулина в плазме крови экспериментальных мышей на 12-ой недели до введения глюкозы составила 1,39 нг/мл. У мышей контрольной группы – 0,96 нг/мл. После введения глюкозы концентрация инсулина у экспериментальной группы возросла до 2,47 нг/мл, а у контрольной до 1,17 нг/мл. Эти значения отличаются более чем в 2 раза (рис. 16 Приложения).

Полученные результаты свидетельствуют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения (масса тела более, чем на 25 % выше, чем в контрольной группе), гипергликемии, снижению толерантности к глюкозе и гиперинсулинемии. Все это свидетельствует об адекватности разработанной экспериментальной модели заболеванию диабетом 2 типа. Критериями адекватности модели, таким образом, можно считать следующие: динамика массы тела; гипергликемия; результаты теста на толерантность к глюкозе, в том числе величину площади под кривой концентрации глюкозы при глюкозотолерантном тесте (AUC).

В то же время высокая концентрация инсулина в крови животных экспериментальной группы свидетельствует о том, что нарушения сформировались только со стороны мышечной ткани, тогда как чувствительность  $\beta$ -клеток поджелудочной железы к глюкозе сохраняется. Это позволяет сделать заключение об

относительной адекватности разработанной модели - моделируются нарушения со стороны мышечной ткани, но не поджелудочной железы. Возможно, для формирования резистентности к глюкозе со стороны  $\beta$ -клеток поджелудочной железы требуется больший срок.

Созданная модель может быть особенно полезна в широкой области исследований резистентности к инсулину, диабета и ожирения, она позволит обеспечить лучшее понимание патогенеза, а также может быть использована для экспериментальной проверки эффектов терапевтических вмешательств.

На 12-ой неделе мышцы начали подвергаться физическим нагрузкам на беговой дорожке. Масса мышечной ткани, питающихся жировым кормом и подвергающихся нагрузкам, начала снижаться по сравнению с мышцами, не подвергающимися нагрузкам. Масса тела мышечной контрольной группы с нагрузками и без нагрузок на 12-ой неделе различалась на 2 %, к концу эксперимента стала различаться на 3 %. Обе группы имели массу нормальную для данного возраста. На 16-й неделе тренировок отмечалось достоверное снижение массы тела во всех группах тренирующихся молодых мышечных животных. В группах возрастных мышечных животных так же отмечалось достоверное снижение массы тела, но в меньшей степени, чем у молодых животных.

Концентрация инсулина в плазме крови экспериментальных мышечных животных на 16-ой неделе до введения глюкозы составила 2,68 нг/мл. У мышечных животных, подвергающихся нагрузкам из экспериментальной группы – 1,20 нг/мл. После введения глюкозы концентрация инсулина у экспериментальной группы возросла до 3,60 нг/мл, а у экспериментальной с нагрузками всего лишь до 2,03 нг/мл. Эти значения отличаются на 78%. Сравнивая контрольные группы с нагрузками и без, можно отметить повышенный уровень инсулина у группы с нагрузками по сравнению с контрольной группой без нагрузок – на 30% до введения глюкозы и на 50% после.

К 16-ой неделе скорость усвоения глюкозы у мышечных животных без нагрузок из экспериментальной группы увеличилась по сравнению с мышцами без нагрузок, которые питаются жировым кормом. Физические нагрузки в значительной степени (но не полностью) устраняли эти нарушения, при этом эффект физических нагрузок на усвоение глюкозы был более выражен в группе возрастных мышечных животных. Гипогликемическая фаза косвенно отражает скорость выработки инсулина и чувствительность тканей к данному гормону. Пролонгация этой фазы характерна для сахарного диабета 2-го типа, что и наблюдалось у мышечных животных экспериментальной группы в данном исследовании.

При исследовании концентрации миокинов в гомогенате скелетных мышц экспериментальных животных (NAP3, IL15, LIF, IL6) были получены следующие данные:

У молодых мышечных животных, питающихся обычным кормом (контрольная группа), концентрация NAP3 выше во всех группах, относительно мышечных животных, которые находились на диете с высоким содержанием жиров (экспериментальная группа). В подгруппе мышечных животных, не подвергавшихся физической нагрузке, разница составляет 36 %. В группе мышечных животных, подвергавшихся физической нагрузке в утреннее время,

разница составляет 10 %; в вечернее время – 35 %; с чередованием физической нагрузки утром/вечером – 33 %.

У возрастных мышей, питающихся обычным кормом, разница наблюдается в подгруппах, подвергавшихся физическим нагрузкам в вечернее время и с чередованием утро/вечер, относительно этих же подгрупп на диете с высоким содержанием жира. Показатели выше в среднем на 20 %. В остальных группах (контроль и утренние тренировки) разница незначительная – менее 5 %.

Различие концентрации IL15 у молодых мышей между контрольной и экспериментальной группами:

В контрольной группе мышей, не подвергавшихся физической нагрузке показатель выше на 17%, чем у экспериментальной группы.

Физическая нагрузка в утреннее время и с чередованием утро/вечер способствовала увеличению концентрации IL15 в экспериментальной группе – на 11 % и 8 % показатель выше, чем в контрольной.

В группах с нагрузками в вечернее время разница незначительная: контрольная группа – 36,66 пг/мг; экспериментальная группа – 35,18 пг/мг.

Уровень концентрации IL15 в мышцах у возрастных мышей преобладает в контрольной группе, за исключением мышей, которые подвергались физической нагрузке в утреннее время (в экспериментальной группе показатель на 20 % выше).

Значительное увеличение наблюдается в контрольной группе, не подвергавшихся физической нагрузке – на 170 % концентрация выше, чем в экспериментальной группе.

В контрольных группах, занимающихся в вечернее время и с чередованием утро/вечер – концентрация выше в среднем на 25% относительно экспериментальной группы.

У молодых мышей концентрация IL1F в мышцах выше в экспериментальной группе во всех подгруппах. Значительное увеличение наблюдается в подгруппе, подвергавшихся физической нагрузке в вечернее время – на 62 %. В остальных подгруппах в среднем выше на 27 %, чем в контрольной.

У возрастных мышей уровень концентрации во всех группах практически равномерен – разница в среднем составляет менее 10 %.

У молодых мышей концентрация IL6 значительно выше в контрольной группе мышей, подвергавшихся физической нагрузке в утреннее время – на 50 % и с чередованием утро/вечер – 101%, относительно экспериментальной группы.

У возрастных мышей ситуация обратная, уровень концентрации выше в экспериментальной группе, чем в контрольной. Причем колоссальная разница наблюдается в подгруппе, которая подвергалась физическим нагрузкам в вечернее время – 333 %. И также в подгруппе с чередованием утро/вечер – на 89 % концентрация выше, чем в контрольной группе.

Жировая диета способствовала повышению содержания ионов натрия в мышцах и снижению соотношения натрий/калий. После физических нагрузок наблюдался так же прирост содержания ионов калия в мышечных клетках, в результате чего соотношение концентраций ионов натрий/калий значительно возрастало.

Можно предположить, что регуляция функционирования клеток скелетной мускулатуры в ответ на увеличение соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  опосредована увеличением  $[Ca^{2+}]_i$  как следствие активации потенциал-чувствительных  $Ca^{2+}$  каналов и/или  $Na^+/Ca^{2+}$  обмена. Молекулярная природа  $Ca^{2+}$ -независимых сенсоров, вовлеченных в регуляцию транскрипции и трансляции внутриклеточным  $Na^+$  и  $K^+$ , соответственно, остается неизвестной.

В связи с выявленным изменением трансмембранного градиента одновалентных катионов в мышечных клетках были проведены исследования Na-K-АТФ-азы. Активность скелетных мышц сильно регулирует Na.K-АТФазу, и эта регуляция может включать вызванную физической нагрузкой модуляцию содержания и фосфорилирования FXD1. FXD1 действует как тормоз для Na, K-АТФазы, тогда как фосфорилирование устраняет этот тормоз и увеличивает активность насоса за счет увеличения средства внутриклеточных  $Na^+$  сайтов.

Таким образом, наши данные свидетельствуют, что снижение электрогенной активности  $\alpha 2$ -Na, K-АТФазы в концевых пластинах Vla / J и mdx является, по крайней мере, частично, результатом снижения содержания в мембране  $\alpha 2$ -Na, K-АТФазы. Чтобы оценить другие факторы, которые могут быть вовлечены в ингибирование активности  $\alpha 2$ -Na.K-АТФазы в мышцах, мы исследовали содержание белка FXD1 и его связь с  $\alpha 2$ -Na, K-АТФазой. FXD1 – это вспомогательная субъединица, которая в избытке присутствует в скелетных мышцах и действует как тканеспецифический регулятор Na.K-АТФазы. В нашем исследовании общее содержание FXD1 снизилось в мышцах как у мышей Vla / J, так и у мышей ntdx, что можно рассматривать как адаптивную реакцию, активирующую фермент. Таким образом, FXD1 может быть важным игроком в адаптации скелетных мышц к двигательной патологии, но необходимы дальнейшие эксперименты для подтверждения этого.