

**Роль паннексиновых каналов в регуляции сигнальных путей в скелетной мышце при трехсуточной функциональной разгрузке**

**Научный руководитель – Немировская Татьяна Леонидовна**

**Зарилова Ксения Асхатовна**

*Аспирант*

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт  
медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*E-mail: katsu.no.himitsu@gmail.com*

При функциональной разгрузке мышц происходит накопление макроэргических фосфатов и  $Ca^{2+}$  в клетке. Мы полагаем, что последующий выход АТФ во внеклеточное пространство может запускать клеточный сигнальный каскад через активацию P2Y2/PI3K/IP3R, приводящий к активации транскрипционных факторов, участвующих в регуляции мышечного фенотипа. Для проверки гипотезы мы блокировали паннексиновые каналы (пропускающие АТФ из мышцы), что должно привести к изменению экспрессии ЕЗ-лигаз. 24 самца крыс линии Wistar случайным образом были распределены на 3 группы по 8 крыс в каждой гр.: контроль (К), 3-суточное вывешивание (В) и 3-суточное вывешивание с введением ингибитора паннексиновых каналов пробенецида (50 мг/кг в день, перорально при помощи зонда) (ВП). M. soleus немедленно выделена, взвешена, заморожена в жидком азоте и затем хранилась при  $-85^{\circ}C$ . Определение методом RT-PCR мРНК паннексина показало повышение его экспрессии в группе ВП по сравнению с группами К и В на 43% и 44% соответственно, что может являться компенсаторной реакцией на ингибирование каналов. Измеряли содержание АТФ набором для колориметрического определения. Обнаружено накопление АТФ в группах В и ВП (+32% и +51% соответственно) по сравнению с гр.К ( $p < 0,05$ ). Уровень экспрессии ЕЗ-лигаз MuRF1 и Atrogin-1 был повышен в гр. В по сравнению с гр. К (на 65% и 58% соответственно,  $p < 0,05$ ). В гр. ВП это повышение было гораздо меньше и составляло только +16% и +21% ( $p < 0,05$ ) соответственно к группе К ( $p < 0,05$ ) и было ниже на 49% и 37% ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем в группе В. Определение белков проводили методом вестерн-блоттинга. Содержание фосфорилированного белка эукариотического фактора элонгации 2 (p-eEF2/t-eEF2) было достоверно выше в группе В (на 126% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с гр. К, а в группе ВП от него не отличалось, что может указывать на предотвращение ингибирования процесса элонгации в гр. ВП. Содержание белка киназы p-P70S6K/t-P70S6K, который активно участвует в процессе трансляции было выше на 52% в гр. ВП относительно гр. К и на 51% относительно гр. В ( $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о повышении синтеза белка в группе ВП. Содержание белка p-AMPK/t-AMPK в группе ВП на 191% выше, чем в гр. К ( $p < 0,05$ ), и на 206% выше, чем в группе В ( $p < 0,05$ ). Белки t-mTOR, p-4EBP1/t-4EBP1, t-PGC1a, t-Calpain 1 и t-IP3R в группах В и ВП не отличались от групп контроля. Вывод: ингибирование паннексиновых каналов приводит к снижению экспрессии ЕЗ-лигаз MuRF1 и Atrogin-1, улучшению работы маркёров анаболического сигналинга P70S6K и p-eEF2/t-eEF2 при 3х-дневной функциональной разгрузке *m. soleus* крыс.

Работа выполнена при финансировании гранта РФФИ № 20-015-00138

**Источники и литература**

- 1) Buvinic S. et al. ATP released by electrical stimuli elicits calcium transients and gene expression in skeletal muscle // Journal of Biological Chemistry. 2009. № 50 (284). P. 34490–34505.

- 2) Casas M., Buvinic S., Jaimovich E. ATP signaling in skeletal muscle: From fiber plasticity to regulation of metabolism // *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 2014. № 3 (42). P. 110–116.
- 3) Jagoe R.T. et al. What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy? // *Nature Cell Biology*. 2019. № 3 (33). P. 345–357.
- 4) Jørgensen R., Merrill A.R., Andersen G.R. The life and death of translation elongation factor 2. // *Biochem Soc Trans*. 2006. № 34 (1). P. 1–6.
- 5) Van Dyke J.M., Bain J.L., Riley D.A. Stretch-activated signaling is modulated by stretch magnitude and contraction. *Muscle & Nerve*. 2014. № 49 (1). P. 98–107.