

На правах рукописи

ЛЕДНЕВ ЕГОР МИХАЙЛОВИЧ

**ВЛИЯНИЕ ЛЕЙЦИНА И АЭРОБНЫХ НАГРУЗОК НА ЭКСПРЕССИЮ
IGF1 И КОЛЛАГЕНОВ
В ПОВРЕЖДЕННОЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.1.8. Травматология и ортопедия

1.5.5. Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре общей и специализированной хирургии факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Научные руководители:

ДУБРОВ Вадим Эрикович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и специализированной хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

ПОПОВ Даниил Викторович – доктор биологических наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией физиологии мышечной деятельности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

РАТЬЕВ Андрей Петрович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

МЕЛЬНИКОВ Андрей Александрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет спорта «ГЦОЛИФК»».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «24» июня 2024 года в 14:00 на заседании Диссертационного совета ПДС 0300.013 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6 и на сайте организации.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
Доктор медицинских наук, доцент

Призов Алексей Петрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования.

Скелетные мышцы, один из ключевых компонентов опорно-двигательного аппарата (ОДА) человека, обладают высокой пластичностью, выражающейся в быстром и выраженном снижении мышечного тонуса и силы, площади поперечного сечения волокон и синтеза белков, работоспособности, а также росту повреждаемости волокон как при повреждении мышц, так и в медицинской реабилитации (особенно у возрастных пациентов) после длительного ограничения нагрузки на конечность [Bamman M.M. et al., 1998; Crossland H. et al., 2019; Hackney K.J., Ploutz-Snyder L.L., 2012; Hortobágyi T. et al., 2000; Hvid L. et al., 2010; Narici M.V., Boer M.D De, 2011; Rudrappa S.S. et al., 2016; Yasuda T. et al., 2005]. Повреждения скелетной мышцы человека разделяют на патофизиологические (в результате прямой травмы, травмы без механического разрушения и при чрезмерной нагрузке; сопровождаются разрушением волокон, их деградацией и заживлением, приводят к стойкому снижению функции) и физиологические (возникают на фоне адекватной физической нагрузки, естественный обменный процесс в балансе с репарацией волокон, приводят к временной дисфункции) [Greising S.M. et al., 2020]. Эта проблема актуальна для людей со сниженными функциональными возможностями (при восстановлении после травм и постельного режима), людей со сниженной активностью и для людей с высокой ежедневной физической активностью.

В ходе восстановления после травм ОДА процесс реабилитации должен быть начат сразу после травмы [Asplin G. et al., 2017; Bayer M.L. et al., 2018; Bayer M.L. et al., 2017; Doherty C. et al., 2017; Stucki G. et al., 2005], однако до сих пор сохраняются трудности с определением оптимальных и безопасных режимов работы мышц: чрезмерная нагрузка на мышцу в ранний посттравматический период может привести не к восстановлению, а к усугублению проблемы и снижению ее функциональных возможностей.

Внеклеточный матрикс (ВКМ) скелетной мышцы является «каркасом» для волокон из коллагенов, гликопротеинов, протеогликанов и других веществ. Его функции – передача сокращений от мышечных волокон к сухожилию, депонирование сигнальных молекул, участвующих в биогенезе ВКМ, участие в репарации волокон после повреждений. Увеличение жесткостных свойств ВКМ может быть эффективно для снижения степени повреждения мышц.

Инсулиноподобный фактор роста 1 типа (IGF1) – один из ключевых регуляторов биогенеза ВКМ [Guzzoni V. et al., 2018]. На системном уровне основной источник IGF1 – печень, секретирующая его в кровоток под воздействием гормона роста (GH) [Shadrin I.Y. et al., 2016], имеются данные о росте уровня IGF1 в крови под действием лейцина и физических нагрузок и его снижении с возрастом [Durán R.V. et al., 2012; Guertin D.A., Sabatini D.M. 2007; Liu Z. et al., 2016; Norheim F. et al., 2011; Sadowski C.L. et al., 2001; Venken K. et al., 2005]. На тканевом уровне роль системного IGF1 снижается из-за связывания IGF-связывающими белками (IGFBPs), которые подавляют его активность, при этом растет роль локально секретируемого IGF1. На 2024 г. имеется крайне мало данных о влиянии внешних факторов (лейцин, физическая активность, возраст) на процесс местного синтеза IGF1.

Возможность управления экспрессией IGF1 и коллагенов в скелетной мышце и поиска безопасных и эффективных режимов физической активности определила актуальность темы исследования, поскольку эта оценка является важным шагом к пониманию возможностей активации биогенеза ВКМ для предотвращения повреждения мышц в процессе физической активности и восстановления после травм.

Цель работы

Оценить влияние лейцина и регулярных аэробных нагрузок на экспрессию *IGF1* и коллагенов в скелетной мышце человека после ее травматических и/или викарных повреждений.

Задачи исследования

1. Исследовать влияние лейцина на экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов в культуре человеческих миотуб.
2. Исследовать влияние приема лейцина в составе незаменимых аминокислот на экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов в скелетной мышце человека и ее повреждаемость при однократной физической нагрузке.
3. Исследовать влияние приема лейцина в составе незаменимых аминокислот на экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов в скелетной мышце человека при ее остром и хроническом повреждении на фоне регулярных аэробных нагрузок.
4. Выявить влияние регулярных аэробных упражнений на экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов и генов, связанных с ВКМ, в скелетной мышце человека.

Научная новизна исследования

1. Впервые в мире на модели первичных миотуб скелетной мышцы человека исследовано влияние инкубации с лейцином на экспрессию *IGF1*. Проведены эксперименты для изучения влияния длительного приема лейцина в составе незаменимых аминокислот на поврежденность мышечных мембран на фоне предельно высоких объемов аэробных физических нагрузок и при однократной нагрузке у нетренированных субъектов.
2. Впервые в эксперименте исследовано влияние безударных аэробных физических тренировок умеренной интенсивности на экспрессию *IGF1*, IGF1-зависимых генов, генов и белков ВКМ в скелетной мышце с применением высокопроизводительных широкозахватных методик и базы данных MatrisomeDB.

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследование механизмов и факторов, влияющих на уровень IGF1 и биогенез ВКМ в скелетной мышце человека, позволяет разработать

методологические подходы для снижения повреждаемости мышечных мембран, болевых ощущений и увеличения толерантности к физическим нагрузкам. Такие подходы могут быть использованы при лечении повреждений опорно-двигательного аппарата, последствий больших физических нагрузок или гипокинезии и для лиц, выполняющих предельно большие объемы физических нагрузок. На основании результатов исследования сформированы рекомендации по применению аэробных тренировок и лейцина в процессе лечения травм скелетных мышц и/или снижения их повреждений при повышенных уровнях физической нагрузки.

Методология и методы исследования

Методологической особенностью исследования является применение экспериментального подхода с использованием проб тканей скелетной мышцы добровольцев, полученных *in vivo*. Исследование основано на проведении экспериментов на первичной клеточной культуре миобластов и с участием здоровых добровольцев, принимавших аминокислоты, плацебо и/или выполнявших аэробные нагрузки разной интенсивности. В работе приняли участие практически здоровых 28 мужчин: 12 тренированных (аэробные нагрузки) молодых мужчин, 8 нетренированных молодых мужчин и 8 нетренированных мужчин среднего возраста. Используются методы: клеточный, физиологические методы, лучевая диагностика, молекулярно-биологические методы (биохимические показатели клеточных сред, крови и скелетной мышцы, ПЦР, РНК-секвенирование, вестерн-блоттинг и количественный панорамный масс-спектрометрический протеомный анализ). Для сопоставления полученных данных были применены критерии Вилкоксона, Манна-Уитни, коэффициент Спирмана, хи-квадрат (критерий согласия Пирсона) с поправкой на множественное сравнение Бонферрони, методы биоинформатического анализа на платформах Perseus (Институт биохимии Макса Планка), FASTQC (Vabraham Bioinformatics, Великобритания) с использованием рангового критерия Вилкоксона с поправкой на множественное сравнение Бенджамини-Хохберга.

Положения, выносимые на защиту

1. Стимуляция первичной культуры миотуб скелетной мышцы человека лейцином приводит к увеличению экспрессии мРНК *IGF1* и секреции IGF1 этими клетками *in vitro*.

2. Длительный прием (2,5 месяца и более) лейцина в составе незаменимых аминокислот на фоне регулярных аэробных нагрузок снижает повреждение скелетных мышц при травмах и физических нагрузках и активирует экспрессию IGF1.

Внедрение полученных результатов в практику

Использование аэробных безударных тренировок умеренной интенсивности, прием лейцина в составе незаменимых аминокислот внедрены в повседневную практику лечебных учреждений ГБУЗ «Государственная клиническая больница имени С.С. Юдина ДЗМ» и Медицинского научно-образовательного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность исследования подтверждается достаточным объемом выборки на каждом этапе исследования, подтвержденным методами статистики, применением объективных и современных лабораторных, инструментальных и статистических методов исследования.

Апробация работы проведена на заседании кафедры общей и специализированной хирургии ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова. Материалы работы представлены на следующих научных мероприятиях:

- XVII Конференция молодых ученых, специалистов и студентов, посвященная 100-летию со дня рождения академика О.Г. Газенко, 17.04.2018 г., Москва;

- 23 Ежегодный конгресс Европейского колледжа спортивных наук (23rd Annual Congress of the European College of Sport Science – ECSS), 04.07-07.07 2018 г., Дублин, Ирландия;
- 2-я научно-практическая конференция молодых специалистов медицинских организаций Департамента здравоохранения города Москвы «Актуальные вопросы неотложной медицины», 26.04.2019 г., Москва;
- XII Всероссийский симпозиум с международным участием, посвященный памяти заслуженного ученого Российской Федерации, профессора З.А. Подлубной «Биологическая подвижность / Biological Motility», 17.05-19.05 2019 г., Пушкино;
- XIX Конференция молодых ученых, специалистов и студентов, посвященная 60-летию первого полета человека в космос, 26.11.2021 г., Москва.

Публикация результатов исследования.

По теме диссертации опубликованы 6 работ, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК/РУДН (2) для публикаций соискателей ученой степени кандидата наук, в международных базах данных научной периодики Scopus и Web of Science (3), 1 тезис.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав (Обзор литературы, Материалы и методы исследования, Результаты), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Работа изложена на 109 страницах компьютерного текста, содержит 8 таблиц и 17 рисунков. Список литературы включает 157 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В эксперименте *in vitro* впервые удалось показать, что инкубация культуры первичных миотуб скелетной мышцы человека с лейцином в течение 24 ч привела к росту экспрессии изоформы мРНК *IGF1Ea* в 2,3 раза, изоформы мРНК *IGF1Ec* (*MGF*) в 3,3 раза и уровню секретируемого миотубами белка в 2,9 раза по сравнению с контролем (Рисунок 1).

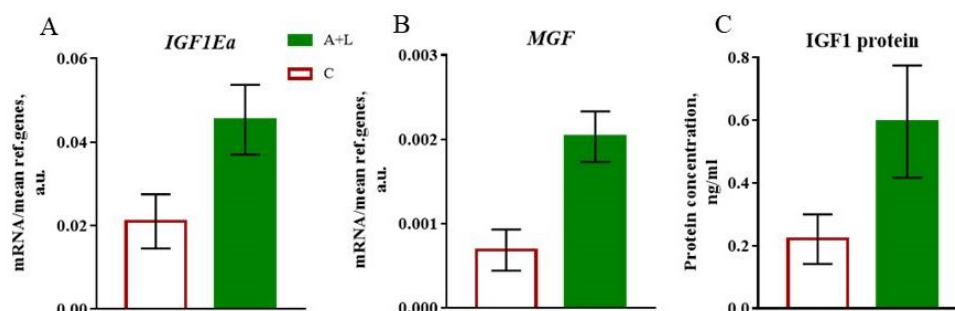


Рисунок 1 – Инкубация миотуб человека с лейцином увеличила экспрессию мРНК *IGF1Ea* и *MGF* и секрецию IGF1. Зеленые столбцы (A+L) – инкубация с лейцином и аргинином, красно-белые столбцы (C) – контрольная инкубация.

Результаты представлены в виде медиан с межквартильным разбросом

Экспрессия IGF1-зависимых генов (*COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *LOX*, *HMGCR*, *SREBF1*) не изменилась при инкубации миотуб с лейцином. Отсутствие роста экспрессии IGF1-зависимых генов может быть связано с особенностями клеточного метода (недостаточное время инкубации, отсутствие достаточного количества питательных веществ, аминокислот, ростовых факторов и т.д.).

Прием аминокислот добровольцами не привел к однонаправленным изменениям тощей и жировой массы тела и биохимических показателей крови и мочи, характеризующих азотный, холестериновый обмен и фильтрационную способность почек (Таблица 1).

Таблица 1 - Состав тела и биохимические показатели в крови и моче не изменились после 8 недель приема аминокислот ($P > 0,1$ для всех показателей). Представлены медианы и межквартильные разбросы

	Контроль		Аминокислоты	
	До	После	До	После
<i>Состав тела</i>				
Тошная масса, кг	51,46 (50,43-55,98)	52,64 (51,93-56,98)	53,83 (51,78-56,41)	54,32 (52,34-56,33)
Жировая масса, кг	20,10 (16,96-22,76)	19,70 (17,81-21,12)	18,02 (16,10-22,02)	18,16 (15,61-22,16)
<i>Биохимические показатели крови</i>				
Креатинин, мкМ	123 (114-131,1)	133,5 (114,8-148,6)	114 (112-125,1)	131,1 (118,9-140,5)
Мочевая кислота, мкМ	413 (305-427)	451 (343-456)	434,5 (424-442)	414 (374-449)
Мочевина, мМ	5,8 (5,4-6,1)	6,6 (5,6-7,9)	5,7 (5,4-6,5)	6,3 (5,8-7,3)
Холестерин, мМ	5,4 (5,3-5,6)	5,9 (5,4-6,2)	5,6 (5,2-5,9)	4,8 (4,5-5,2)
ЛПНП, мМ	2,4 (2,3-2,8)	2,7 (2,4-3,2)	2,9 (2,3-3,5)	2,7 (2,4-3,1)
ЛПВП, мМ	1,6 (1,4-1,7)	1,6 (1,5-1,7)	1,5 (1,4-1,6)	1,5 (1,4-1,5)
<i>Биохимические показатели мочи</i>				
Микроальбумин, мг/л	4,0 (3,3-4,9)	1,8 (1,7-2,1)	13,5 (10,1-16,0)	4,4 (3,1-4,7)

Несмотря на большое количество примененных методик (оценка повреждения мышечных мембран в тесте с эксцентрической нагрузкой, измерение удлинения глубокой фасции четырехглавой мышцы бедра, ПЦР в реальном времени и оценка биохимических показателей крови), прием аминокислот не оказал влияния на маркеры повреждаемости скелетных мышц (Рисунок 2), жесткость глубокой фасции латеральной головки четырехглавой мышцы бедра, уровень IGF1 в крови и экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов в мышце (Таблица 2).

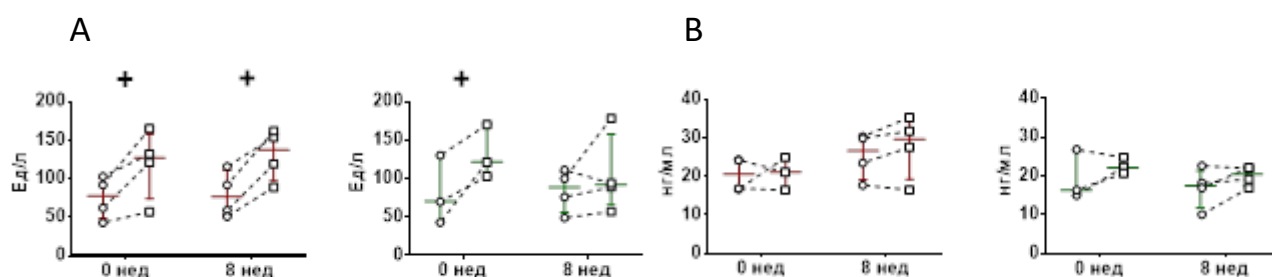


Рисунок 2 – отсутствие изменений уровней активности КФК и миоглобина в венозной крови после эксцентрической нагрузки в результате 8 недель приема аминокислот. Красный – контрольная, зеленый – экспериментальная группы. А – активность КФК, В – миоглобин. Представлены медиана, межквартильный разброс и индивидуальные данные (круги – до, квадраты – после нагрузки). + – однонаправленные изменения показателя у всех человек в группе.

Таблица 2 – рост экспрессии *IGF1Ec* (MGF) у всех добровольцев экспериментальной группы. Представлены медианы и межквартильные разбросы; + – однонаправленные изменения показателя у всех человек в группе

	Контроль		Аминокислоты	
	0 нед.	8 нед.	0 нед.	8 нед.
<i>Содержание гормонов в крови</i>				
IGF1, нг/мл	65,80 (60,36-70,28)	73,85 (67,22-78,22)	72,95 (69,94-75,87)	73,74 (69,71-77,14)
GH, пг/мл	77,77 (51,35-228,18)	87,43 (21,85-156,6)	84,77 (17,6-152,35)	464,93 (159,85-900,52)
Инсулин, пМ	42,70 (35,84-54,03)	35,97 (35,28-41,56)	46,99 (37,50-56,71)	37,86 (35,46-43,27)
<i>Экспрессия изоформ мРНК IGF1 в скелетной мышце</i>				
<i>IGF1Ea</i>	0,0009 (0,0007-0,0010)	0,0014 (0,0007-0,0027)	0,0006 (0,0004-0,0007)	0,0009 (0,0009-0,0012)
<i>IGF1Ec</i> (MGF)	0,000007 (0,000007-0,000009)	0,000020 (0,000011-0,000028)	0,000008 (0,000008-0,000008)	0,000014+ (0,000010-0,000017)
<i>Экспрессия генов коллагенов в скелетной мышце</i>				
<i>COL1A1</i>	0,00010 (0,00005-0,00011)	0,00001 (0,00001-0,00018)	0,00003 (0,00002-0,00003)	0,00002 (0,00001-0,00003)
<i>COL3A1</i>	0,0249 (0,0207-0,0274)	0,0412 (0,0345-0,1902)	0,0152 (0,0142-0,0157)	0,0256 (0,0219-0,0600)
<i>COL5A1</i>	0,0007 (0,0005-0,0007)	0,0002 (0,0002-0,0024)	0,0001 (0,0001-0,0005)	0,0003 (0,0003-0,0004)
<i>LOX</i>	0,00011 (0,00009-0,00012)	0,00018 (0,00011-0,00031)	0,00012 (0,00008-0,00045)	0,00008 (0,00008-0,000017)
<i>Экспрессия генов холестерина обмена в скелетной мышце</i>				
<i>HMGCR</i>	0,00040 (0,00036-0,00045)	0,0003 (0,0002-0,0005)	0,0007 (0,0006-0,0008)	0,0003 (0,0002-0,0003)
<i>SREBF1</i>	0,00006 (0,00004-0,00007)	0,00004 (0,00003-0,0007)	0,00003 (0,00003-0,00006)	0,00003 (0,00003-0,00006)

Абсолютная и относительная массы мышечной и жировой тканей, а также объем четырехглавой мышцы бедра не изменились после 10 недель тренировочных нагрузок с большой интенсивностью и объемом и не различались

между группами. Эффективность тренировок выразилась в росте скорости бега добровольцев обеих групп на пороге анаэробного обмена без увеличения потребления кислорода ($P=0,03$ для обеих групп на 6 неделе и в группе аминокислот на 10 неделе, Рисунок 3А). При этом на 6 неделе было значимое различие между контрольной и экспериментальной группами в изменении уровня миоглобина ($P=0,03$) и активности КФК ($P=0,03$ для экспериментальной группы и $P=0,02$ между группами на 6 неделе), что говорит о снижении базальной поврежденности мышечных мембран в экспериментальной группе (Рисунок 3В, 3С). Также прием аминокислот на фоне тренировок вызвал рост уровня IGF1 в крови в 1,5 раза ($P=0,03$) и тенденцию к росту экспрессии изоформы мРНК *IGF1Ea* в скелетной мышце ($P=0,06$, Рисунок 4).

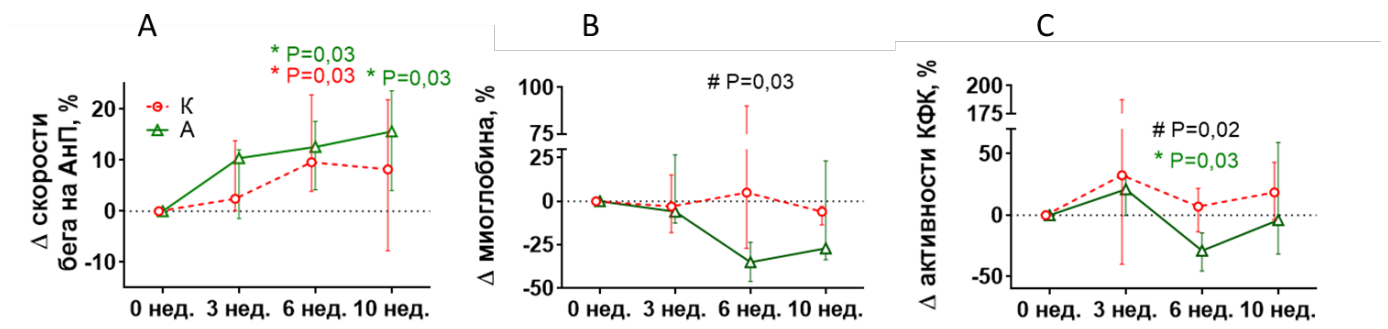


Рисунок 3 – изменение скорости бега добровольцев на пороге анаэробного обмена (А), уровня миоглобина (В) и активности КФК (С) в венозной крови. Здесь и далее зеленый цвет (А) – данные экспериментальной группы, красный цвет (К) – контрольной группы. Результаты представлены в виде медиан с межквартильным разбросом в начале эксперимента, через 3, 6 и 10 недель. * - отличие от начального уровня. # - различие между группами

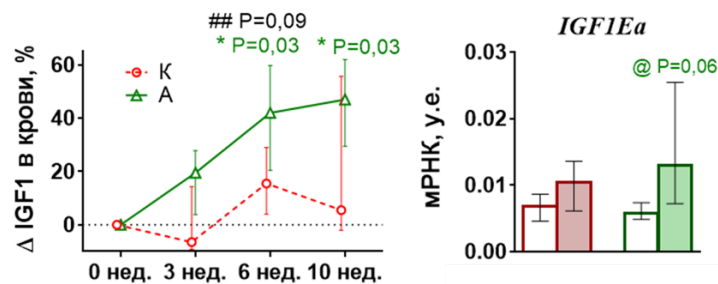


Рисунок 4 – Прием аминокислот в течение 10 недель на фоне аэробных тренировок увеличил базальный уровень IGF1 в крови и вызвал тенденцию к росту экспрессии изоформы мРНК *IGF1Ea* в скелетной мышце. Представлены

медианы с межквартильным разбросом. * - отличие от начального уровня. ## - тенденция к различию между группами. @ - отличие от начального уровня

При этом экспрессия IGF1-зависимых генов в объединенной группе добровольцев сильно коррелировала с экспрессией *IGF1Ea* в мышце и не коррелировала с уровнем IGF1 в крови (Рисунок 5). Таким образом, длительный прием незаменимых аминокислот на протяжении 10 недель с лейцином на фоне больших объемов аэробной нагрузки привел к выраженному увеличению уровня IGF1 в крови, небольшому росту уровня изоформы *IGF1Ea* в мышце, а также к снижению поврежденности мышечных мембран.

Сопоставление базальных уровней экспрессии изоформ *IGF1Ea* и *MGF* в скелетной мышце нетренированных добровольцев среднего возраста с молодыми тренированными добровольцами (Рисунок 6А) и с молодыми нетренированными добровольцами (Рисунок 6В) позволяет сделать вывод о наибольшем влиянии уровня физической активности на экспрессию *IGF1* в скелетной мышце.

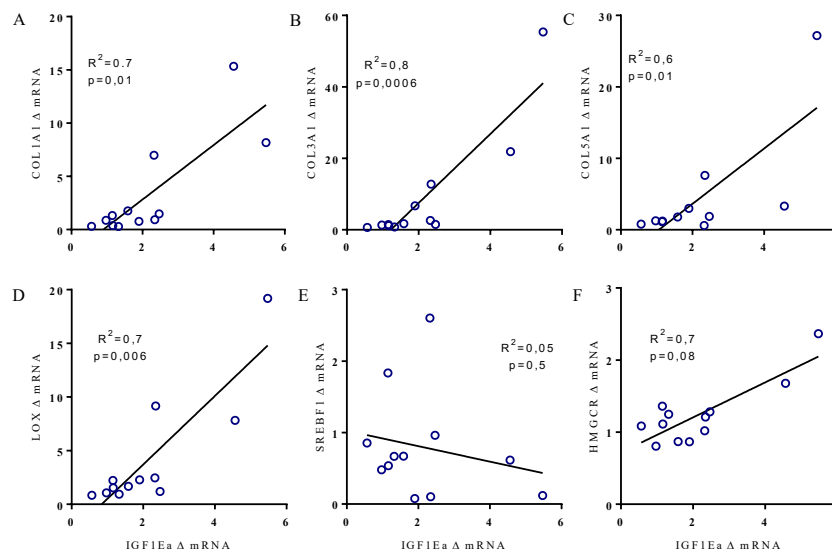


Рисунок 5 – сильные корреляции экспрессии IGF1-зависимых генов коллагенов *COL1A1* (A), *COL3A1* (B), *COL5A1* (C) и ВКМ-ассоциированных белков *LOX* (D) и *HMGCR* (F) с экспрессией изоформы мРНК *IGF1Ea* в скелетной мышце добровольцев (объединенная группа, n=12)

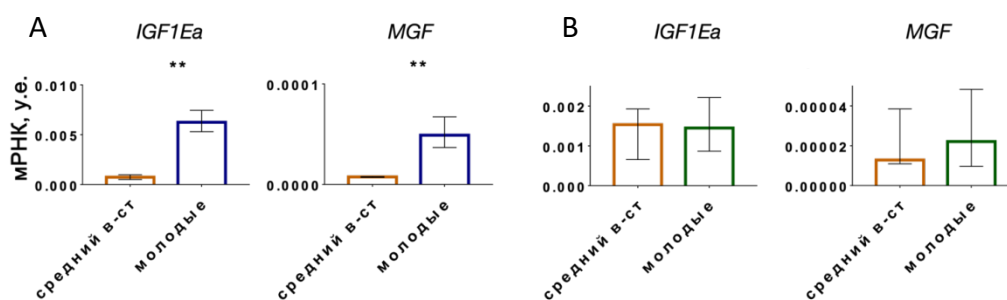


Рисунок 6 – экспрессия изоформ мРНК *IGF1* в скелетной мышце нетренированных лиц среднего возраста с тренированными (А) и нетренированными (В) молодыми лицами. ** - различие между группами, $P < 0,01$.

8 недель регулярных аэробных тренировок без ударных механических воздействий на мышцы умеренной интенсивности привели к увеличению содержания белков большого числа коллагенов, в том числе коллагенов 1 и 3 типа – занимающих 50% по массе всего ВКМ скелетной мышцы – в 1,7 и 2,2 раза, соответственно (Рисунок 7). Увеличение уровня белков в мышце происходило на фоне роста содержания мРНК генов практически всех представленных в скелетной мышце коллагенов. Тренировки привели к росту содержания мРНК гликопротеинов и протеогликанов, составляющих основное вещество ВКМ (Рисунок 8).

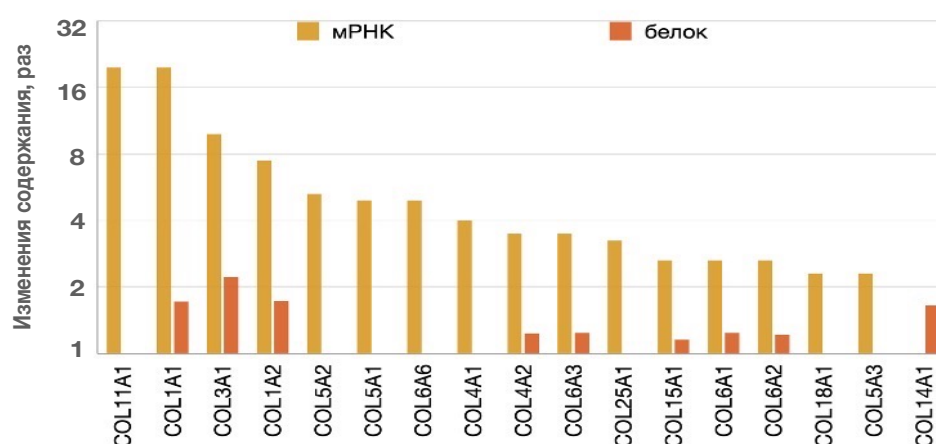


Рисунок 7 – рост содержания мРНК и белков коллагенов в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра в результате тренировок. $P_{adj} < 0,01$ и $0,05$ для мРНК и белков, соответственно

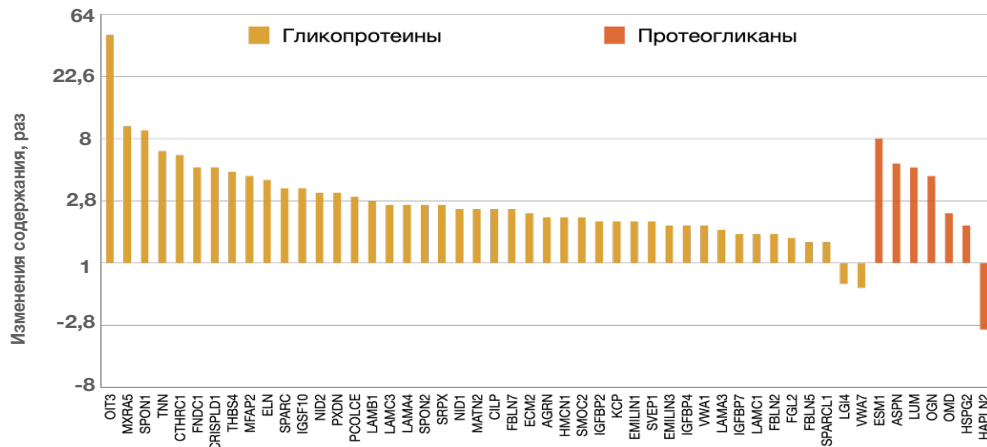


Рисунок 8 – рост содержания мРНК большинства гликопротеинов и протеогликанов в ВКМ скелетной мышцы добровольцев ($P_{adj} < 0,01$)

Среди энзиматических регуляторов, увеличивших содержание мРНК, выделяются подгруппы металлопротеиназ (ферменты, участвующие в расшивке связей между различными белками ВКМ), регуляторов коллагеновой сети (ферменты, участвующие в ремоделировании связей между коллагенами) и регуляторы сигнального пути IGF1 и регенерации тканей (Рисунок 9). Среди секретируемых факторов, которые увеличили содержание мРНК, выделяется подгруппа ростовых факторов, среди которых увеличили экспрессию не только *IGF1*, но и другие ростовые факторы (*MDK*, *PDGFD*, *HGF*, *INHBB*, *PDGFB*, *TGFB1*, *PGF*), активирующие биогенез ВКМ в скелетной мышце и других тканях (Рисунок 10).

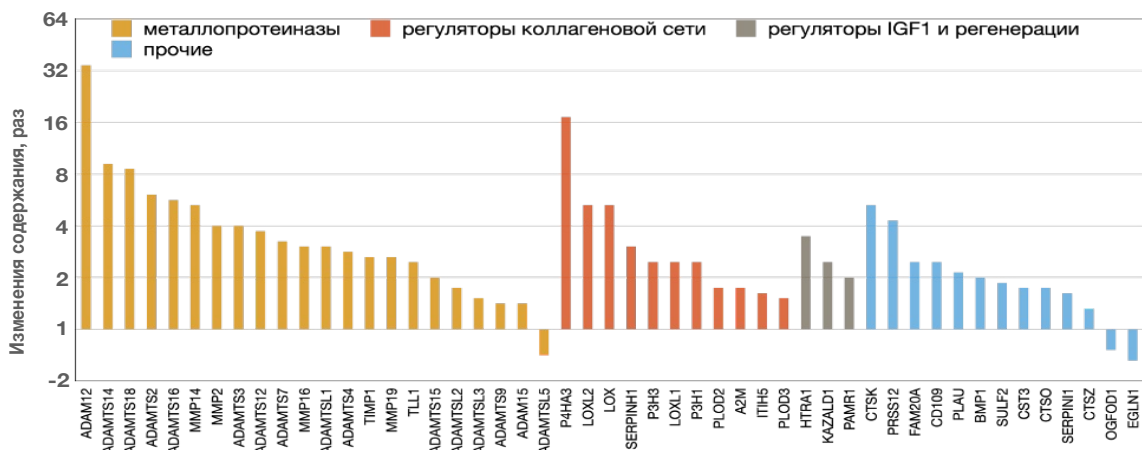


Рисунок 9 – изменение содержания мРНК энзиматических регуляторов ВКМ в результате тренировок ($P_{adj} < 0,01$)

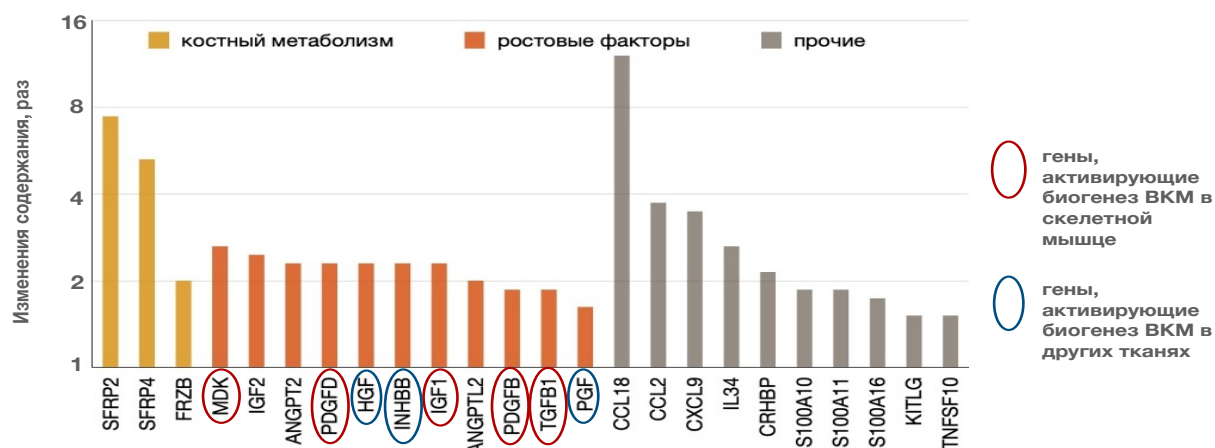


Рисунок 10 – изменения содержания мРНК секретируемых факторов в скелетной мышце после 8 недель тренировки ($P_{adj} < 0,01$)

Выводы

1. Стимуляция миотуб человека лейцином увеличивает экспрессию мРНК *IGF1* (изоформы *IGF1Ea* – в 2,3 раза, *MGF* – в 3,3 раза) и секрецию белка *IGF1* в 2,9 раза этими миотубами.

2. Прием лейцина в составе незаменимых аминокислот на протяжении 10 недель молодыми мужчинами на фоне больших объемов аэробных физических нагрузок, сопровождающихся विकарным повреждением скелетной мышцы, приводит к выраженному увеличению (42-47%, $P < 0,05$) базального уровня белка *IGF1* в крови и к небольшому росту ($P < 0,1$) уровня мРНК *IGF1Ea* в скелетной мышце, а также к снижению уровня маркеров хронической поврежденности мышечных мембран (29%, $P < 0,05$).

3. Прием лейцина в составе незаменимых аминокислот на протяжении 8 недель нетренированными мужчинами среднего возраста не оказывает значимого влияния на экспрессию *IGF1* на системном уровне и в скелетной мышце, а также на показатели, характеризующие поврежденность мышечных мембран (активность креатининфосфокиназы и уровень миоглобина в венозной крови) и жесткость скелетной мышцы (удлинение глубокой фасции латеральной головки четырехглавой мышцы бедра при изометрическом сокращении).

4. Регулярные аэробные физические нагрузки без воздействий, повреждающих внеклеточный матрикс, на протяжении 8 недель выражено увеличивают базальную экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов ($P_{adj} < 0,01$) (а также содержание наиболее представленных коллагенов 1 и 3 типа в 1,7 и 2,2 раза, соответственно, $P < 0,05$) в скелетной мышце, а также экспрессию множества генов энзиматических регуляторов и различных ростовых факторов, регулирующих биогенез внеклеточного матрикса. Ввиду отсутствия ударных воздействий на мышцу и повреждения ее внеклеточного матрикса такие нагрузки должны быть применимы при лечении пациентов с повреждениями элементов опорно-двигательного аппарата.

Практические рекомендации

1. В процессе лечения травм скелетных мышц нетренированных субъектов среднего и пожилого возраста, а также в периоде реабилитации лиц со сниженными функциональными возможностями для увеличения устойчивости скелетных мышц к нагрузкам рекомендуется применение регулярных аэробных нагрузок умеренной интенсивности, не приводящих к повторным травмам мышц и других элементов опорно-двигательного аппарата.

2. Субъектам со сниженными функциональными возможностями рекомендуются аэробные безударные тренировки (например, с использованием велоэргометра) с интенсивностью, не превышающей 70% от лактатного порога в капиллярной крови в 4 мМ.

3. Прием лейцина лицами среднего и пожилого возраста в период реабилитации неэффективен и поэтому не может быть рекомендован.

4. Молодым лицам с повреждениями скелетных мышц или риском предстоящих физических нагрузок для увеличения базальной жесткости мышечных мембран и снижения риска и выраженности повреждений скелетных мышц рекомендуется длительный (от 2 месяцев и больше) прием лейцина в дозировке 50 мг/кг массы тела в составе аминокислот.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ
ДИССЕРТАЦИИ**

1. Craig Pickering, Bruce Suraci, Ekaterina A. Semenova, Eugenia A. Boulygina, Elena S. Kostryukova, Nickolay A. Kulemin, Oleg V. Borisov, Sofya A. Khabibova, Andrey K. Larin, Alexander V. Pavlenko, Ekaterina V. Lyubaeva, Daniil V. Popov, Evgeny A. Lysenko, Tatiana F. Vepkhvadze, Egor M. Lednev, Agata Leońska-Duniec, Beata Pająk, Jakub Chycki, Waldemar Moska, Ewelina Lulińska-Kuklik, Marcin Dornowski, Adam Maszczyk, Ben Bradley, Adam Kana-Ah, Pawel Ciężczyk, Edward V. Generozov, Ildus I. Ahmetov. A genome-wide association study of sprint performance in elite youth football players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 33(9):2344–2351, 2019 **МБЦ**

2. Egor M. Lednev, Irina V. Kravchenko, Vladimir A. Furalyov, Evgeny A. Lysenko, Iulia S. Lemesheva, Alexandr A. Grushin, Vadim E. Dubrov, Olga L. Vinogradova, Daniil V. Popov. Effect of amino acids on igf1 gene expression in human myotubes and skeletal muscle. *Growth Hormone and IGF Research*, (53-54):101323, 2020. **МБЦ**

3. Леднев Е.М., Дубров В.Э., Попов Д.В. Незаменимые аминокислоты уменьшают хронические повреждения скелетных мышц. *Инновационная медицина Кубани*, 2022;(3):13-19. УДК 617.3. **МБЦ**

4. Леднев Е.М., Лысенко Е.А., Згода В.Г., Газизова Г.Р., Шагимарданова Е.И., Махновский П.А., Виноградова О.Л., Дубров В.Э., Попов Д.В. Восьминедельная аэробная тренировка активизирует биогенез внеклеточного матрикса в скелетной мышце человека. *Физиология человека*, 2023, 49(2):44-53. **ВАК/РУДН**

5. Маковский А.А., Леднев Е.М., Дубров В.Э., Калинин Е.Б., Кавалерский Г.М., Тельпухов В.И. Отдаленные результаты лечения повреждения сухожилий вращательной манжеты как следствия переднего вывиха плеча у пациентов средней и старших возрастных групп. *Кафедра травматологии и ортопедии*, 2023;3:52-64. **ВАК/РУДН**

Леднев Егор Михайлович

**Влияние лейцина и аэробных нагрузок на экспрессию IGF1 и коллагенов в поврежденной скелетной мышце человека
(экспериментальное исследование)**

В работе изучены влияние лейцина и физических нагрузок на повреждаемость скелетных мышц людей разного возраста и с различными функциональными возможностями. Проведены эксперименты с инкубацией клеточных культур первичных миотуб человека, 10-недельным приемом лейцина 8 нетренированными мужчинами среднего возраста, 10-недельным приемом лейцина на фоне предельных физических нагрузок с участием 12 тренированных молодых мужчин и 8-недельной аэробной тренировкой 7 нетренированных молодых мужчин. Лейцин снижает повреждаемость скелетных мышц у молодых лиц с предельными физическими нагрузками. У лиц среднего возраста применение лейцина для снижения повреждаемости мышц нецелесообразно. Показана эффективность аэробных тренировок для увеличения устойчивости мышц к повреждениям.

Lednev Egor Mikhailovich

**Effect of leucine and aerobic exercises on IGF1 and collagens expression in damaged human skeletal muscle
(experimental study)**

The influence of leucine and physical training on the damage to skeletal muscles of people of different age and with different functional capabilities was studied. Next experiments were carried out: the incubation of cell cultures of primary human myotubes, 10 weeks of leucine supplementation in 8 untrained adult men, 10 weeks of leucine supplementation by 12 young men with excessive level of physical work; 8-weeks aerobic training in 7 untrained young men. Leucine decreases muscle damage in young people with extreme physical exertion. In adult people, the use of leucine to reduce damage to skeletal muscles is ineffective. Aerobic training has been shown to be effective in increasing muscle resistance to injury.