

УДК 611.73

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЫШЦ ГОЛЕНИ КРЫСЫ ПРИ ВЛИЯНИИ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ, ТЕНОТОМИИ И ДЕНЕРВАЦИИ

© 2025 г. Д. Э. Сабирова^{a, b, *}, А. А. Шадрина^b, А. А. Еремеев^a,
А. Е. Хайруллин^c, Т. В. Балтина^a

^aКазанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420008 Россия

^bНаучно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория Сириус, 354340 Россия

^cКазанский государственный медицинский университет, Казань, 420012 Россия

*e-mail: sabirova.dianka@list.ru

Поступила в редакцию 15.04.2025

После доработки 18.05.2025

Принята к публикации 20.05.2025

Атрофия скелетных мышц может развиваться под влиянием различных факторов, связанных с их неиспользованием, таких как иммобилизация, денервация или пребывание в условиях микрогравитации. Целью работы являлось проведение морфологической и функциональной оценки камбаловидной, икроножной и передней большеберцовой мышц в моделях неиспользования у крыс. Крысы случайным образом были распределены на контрольную группу и группы, подвергшиеся денервации, тенотомии и антиортостатическому вывешиванию (АОВ). В ходе экспериментов было выявлено уменьшение диаметра мышечных волокон во всех экспериментальных группах. При тенотомии происходило снижение иммуноэкспрессии дистрофина. При АОВ уровень дистрофина снижался, однако к 35 сут наблюдалось восстановление в икроножной и передней большеберцовой мышцах, тогда как в камбаловидной уровень продолжал падать. После денервации содержание дистрофина также снижалось, но затем возрастало, достигая у камбаловидной мышцы контрольных значений к 35 сут. Уровень нейрональной NO-синтазы достоверно снижался во всех экспериментальных группах. Влияние денервации и тенотомии приводят к выраженным изменениям сократительной функции камбаловидной мышцы у крысы.

Ключевые слова: мышечная атрофия, дистрофин, нейрональная NO-синтаза, антиортостатическое вывешивание, денервация, тенотомия

DOI:

ВВЕДЕНИЕ

Скелетные мышцы обладают выраженной пластичностью, позволяющей им структурно и функционально адаптироваться к различным условиям внешней среды для обеспечения оптимальной сократительной активности и энергетического метаболизма [1]. Уровень функциональной нагрузки (как повышенной, так и сниженной) оказывает прямое влияние на мышечный фенотип, вызывая соответствующие изменения в метаболических процессах, в экспрессии белков, в морфологических характеристиках мышечных волокон [2–4].

Хроническая механическая нагрузка приводит к увеличению массы скелетных мышц

и укрупнению мышечных волокон, а длительная механическая разгрузка приводит к значительному уменьшению мышечной массы и площади поперечного сечения мышечных волокон [5]. Атрофия скелетных мышц может развиваться под влиянием различных факторов, связанных с их неиспользованием, таких как иммобилизация, денервация или пребывание в условиях микрогравитации. Кроме того, к мышечной атрофии могут приводить возрастные изменения, недостаточное питание и нарушения гормонального баланса [6–8]. На микроструктурном уровне мышечная атрофия характеризуется нарушением белкового гомеостаза, снижением образования гликогена, а также метаболическими сдвигами [9, 10]. Мышечная атрофия приводит

к ухудшению качества жизни, ограничению подвижности и потере самостоятельности.

Несмотря на клиническую значимость, механизмы атрофии скелетных мышц изучены недостаточно, а существующие методы лечения остаются малоэффективными. Это делает разработку новых антиатрофических стратегий одной из приоритетных задач современной медицины.

Целью работы являлось проведение морфологической и функциональной оценки камбаловидной, икроножной и передней большеберцовой мышц в моделях неиспользования у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовались особи нелинейных 184 лабораторных крыс массой 170–200 г. Все эксперименты были выполнены с соблюдением биоэтических норм и одобрены ЛЭК ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» протокол № 53 от 26.02.2025 г. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялись в соответствии с принципами Базельской декларации, требованиями Директивы Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 г. по защите животных, используемых для научных целей и инструкциях ARRIVE [Directive 2010/63/UE, 2010].

Для анальгезии использовали комбинированный внутримышечный наркоз с использованием золетила (0.5 мг/кг, Zoletil 50 Virbac, Франция) и ксилазала инъекционного (0.05 мл/кг–0.5 мл/кг, Xylazalum, Биогель, Беларусь). Дозировку подбирали в соответствии с весом экспериментального животного.

Крысы случайным образом были распределены на четыре группы. Первая группа животных подверглась денервации ($n = 55$), вторая – тенотомии ($n = 55$), третья – антиортостатическому вывешиванию (АОВ, $n = 57$), четвертая – контрольная группа ($n = 17$), не подвергалась вмешательствам.

Животных ($n = 15$ из каждой группы) для гистологической и иммуногистохимической обработки выводили из эксперимента на 7, 14 и 35 сут путем декапитации на гильотине и последующей перфузией 60 мл натрий-фосфатным буфером (Servicebio, Москва), а затем 50 мл 10% забуференным формалином (Сигма-Мед, Москва). Оставшихся животных выводили из эксперимента на 7 и 50 сут для изучения сократительных параметров камбаловидной мышцы крыс, вызванных электрической стимуляцией.

Тенотомию мышц задней левой конечности у крыс проводили путем иссечения Ахиллова сухожилия. Ахиллово сухожилие было аккуратно отрезано от дистальной части, прикрепленной к пяточной кости, к проксимальной части на 3 мм длиной без повреждения нерва и кровоснабжения [11].

Денервацию проводили путем пережатия седалищного нерва по методике С. De Angelis (1994). Для этого у животных в асептических условиях на отпрепарированный седалищный нерв накладывали зажим типа «москит» на 40 с (в результате часть нервных волокон может сохранить свои свойства и обеспечить проведение возбуждения); протяженность раздавленного участка – 2 мм; место пережатия – на 1.5–2 см выше коленного сустава; затем рана послойно зашивалась [12].

В качестве модели гравитационной разгрузки задних конечностей использовали метод АОВ по Е.Р. Morey-Holton в модификации Е.А. Ильина и В.Е. Новикова [13, 14] (рис. 1). Перед АОВ животное усыплялось. Хвост обрабатывали антисептическим средством, обматывали гипоаллергенным дышащим пластырем примерно на две трети, чтобы защитить кожу и избежать повреждений хвоста. На пластырь крепили клейкую упругую полосу и устанавливали дополнительные бандажи лейкопластыря, чтобы сформировать ручку, за которую животное подвешивается

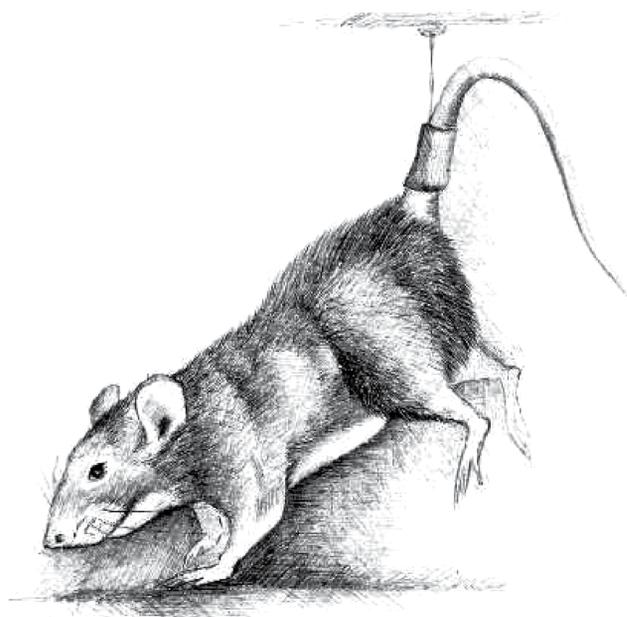


Рис. 1. Антиортостатическое вывешивание задних конечностей у крысы, схематическое изображение.

таким образом, чтобы задние конечности не касались поверхности. Угол наклона к поверхности пола 30° . Животное помещали в специальную клетку размером $25 \times 25 \times 30$ см с открытой верхней частью. Хвост фиксировали на специальном штыре с кольцом для свободного перемещения животного в клетке. Передняя стенка клетки была сделана из оргстекла и позволяла осуществлять постоянное наблюдение за животным.

Для гистологического исследования камбаловидной (КМ), икроножной (ИМ) и передней большеберцовой мышц (ПБМ) фиксировали в 10% забуференном формалине, заливали в парафин и изготавливали серийные поперечные срезы толщиной 4–5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Гематоксилин Майера, НПФ Абрис+, Санкт-Петербург). Окрашенные срезы заключали в бальзам. Препараты анализировали на световом микроскопе с увеличением $40\times$.

Для определения повреждения дистрофина и нейрональной NO-синтазы (nNOS) на микроскопе использовали иммуногистохимические методы, которые основаны на использовании антител, специфически связывающихся с дистрофином и nNOS. Криостатные поперечные серийные срезы КМ, ИМ и ПБМ окрашивали первичными моноклональными антителами к дистрофину при температуре $+4^\circ\text{C}$ (1:100, Anti-Dystrophin mouse) в течение 12 ч. После чего использовали вторичные антитела (1:200 Anti-mouse 488), конъюгированные с флуорохромом в течение 1 ч при комнатной температуре. Для подтверждения специфичности связывания антител с соответствующими белками для негативного контроля препараты инкубировали с вторичными антителами без предшествующей инкубации с первичными антителами. Отсутствие окрашивания в контрольных экспериментах указывает на специфичность связывания антител с соответствующими пептидами. Анализ криостатических срезов проводили на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 780 (Carl Zeiss, Германия), оснащенный соответствующим набором светофильтров, объективом с увеличением $20\times$.

Для автоматического расчета морфологических параметров была разработана программа [15]. Отметим использованные подходы для определения основных характеристик. Так, входное изображение размером N на M точек представляет собой трехмерный массив (1):

$$M = \{m_{ijk}\}, i = 1 \div N, j = 1 \div M, k = 1 \div 3, \quad (1)$$

где индексы i, j отвечают за координату на изображении, а индекс k – за цвет.

Кодирование цвета изображений было выполнено в системе RGB (красный, зеленый и синий каналы).

На первом шаге обработки изображение переводилось в скалярное пространство (аналог оттенков серого) по формуле (2):

$$Y = \alpha R + \beta G + \gamma B, \quad (2)$$

где коэффициенты α, β, γ определялись в зависимости от природы изображения.

Полученное изображение было преобразовано в бинарный формат методом Отцу [16], а затем методом водораздела определялись замкнутые подобласти [17]. Таким образом, первоначальное изображение было преобразовано в сегментированный набор данных (3):

$$M^* = \{m^*_{ij}\}, i = 1 \div N, j = 1 \div M, m^*_{ij} \in C \subset \mathbb{Z}_+ \quad (3)$$

где C – множество целых чисел, где 0 – пустота, а число больше 0 – номер кластера.

Затем для каждого кластера проводился подсчет морфологических параметров. В первую очередь, это площадь кластера, которая определялась по формуле (4):

$$A(k) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M M^*(i, j) \cdot \omega(k), \quad (4)$$

где индекс k – это номер кластера, а функция ω – это бинарное окно, которое равно 1, когда индексы i, j лежат внутри кластера, и равна 0 – когда i, j – вне кластера.

Координата центра масс тогда можно определить по формуле (5):

$$r(k) = \frac{1}{A(k)} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M x \cdot M^*(i, j) \cdot \omega(k), \quad (5)$$

где x – координата точки в кластере.

Для оценки эллиптичности кластера рассчитывался следующий параметр (6):

$$C(k) = \frac{4\pi A(k)}{P(k)^2}, \quad (6)$$

где $P(k)$ – периметр кластера.

Значение эллиптичности равно одному – значит, что кластер – окружность, значение эллиптичности равно менее одного – значит, что кластер вытянут в некотором направлении.

Эквивалентный диаметр кластера определяется выражением (7):

$$D(k) = \sqrt{\frac{4\pi A(k)}{\pi}}. \quad (7)$$

Для проведения анализа сократительных свойств мышц животных обескровливали и выделяли КМ с культями нервов, которые были помещены во всасывающий электрод оригинальной конструкции [18]. Мионевральные препараты фиксировали за сухожильные концы, после погружали в резервуары объемом 10 мл, заполненные раствором Кребса (состав в мМ): 118.0 NaCl, 4.75 KCl, 2.5 CaCl₂, 24.8 NaHCO₃, 1.18 KH₂PO₄, 1.18 MgSO₄·7H₂O, 11 глюкоза, pH 7.4.

Электростимуляцию проводили с помощью сакшн-электрода. Культя нерва выделенной мышцы помещалась в сакшн-электрод оригинальной конструкции. Для раздражения использовали электростимулятор Digitimer MultiStimul D330 (Англия). Мышцы стимулировали в течение 2 мин прямоугольными импульсами амплитудой 3 В, продолжительностью 0.5 мс при частоте 0.1 Гц. Сила сокращений мышц регистрировалась датчиком двигательной активности Linton FCG-01 (Англия), аналоговый сигнал преобразовывался системой сбора данных Biopack MP100MSW (США). Все полученные в течение 2 мин ответы (12 сократительных ответов)

усредняли и обрабатывали как один результат. Пример записи и параметры сигнала приведены на рис. 2. Все параметры представлены в процентах от значения в начале эксперимента.

Изначальная нагрузка на мионевральные препараты составляла 1 г. После получасовой адаптации мышечных препаратов к среде дважды с интервалом в 5 мин производили оценку стабильности сократительных ответов.

Для анализа сократительных свойств статистическую обработку данных проводили с помощью программы SPSS Statistics. Проверку соответствия полученных данных нормальному распределению проводили с помощью критерия Колмогорова. Для гистологического анализа использовали ANOVA с использованием программы Original Lab. Рассчитывали средние арифметические анализируемых параметров и стандартную ошибку. Статистическую значимость наблюдаемых изменений оценивали с помощью критерия Стьюдента для независимых и попарно сопряженных выборок. Различия рассматривали как значимые при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние антиортостатического вывешивания, тенотомии и денервации на диаметр мышечных волокон в камбаловидной, икроножной и передней большеберцовой мышцах крысы

На 7 сут после АОВ количественный анализ выявил сокращение диаметра мышечных волокон во всех изучаемых мышцах по сравнению с контрольными значениями (рис. 3а).

Показано, что при АОВ диаметр мышечных волокон КМ уменьшался к 7 сут до $67.6 \pm 4.0\%$ от контроля ($p < 0.05$), после чего на 14 и 35 сут сохранялось значительное снижение — до $62.8 \pm 3.0\%$ ($p < 0.05$) и $59.6 \pm 1.6\%$ ($p < 0.05$) соответственно относительно контрольных значений. Параллельно в других исследуемых мышцах наблюдалась аналогичная динамика, однако наибольшие изменения были у волокон КМ.

Многочисленные исследования демонстрируют, что воздействие реальной или смоделированной микрогравитации приводит к выраженной атрофии скелетных мышц, характеризующейся значительной потерей мышечной массы (до 37% за первую неделю космического полета [19]), снижением сократительной силы, изменением экспрессии генов и фенотипического состава мышечных волокон, а также

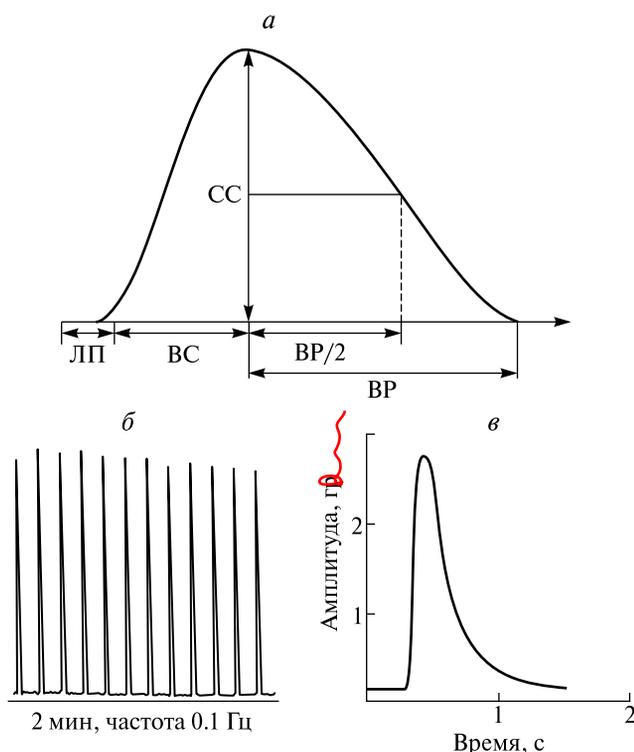


Рис. 2. а – Схема регистрации сократительных параметров. СС – сила сокращения, ЛП – латентный период, ВС – время сокращения, ВР – время расслабления, ВР/2 – время полурасслабления; б – запись пачки вызванных сокращений; в – вид одиночных сократительных ответов камбаловидной мышцы.

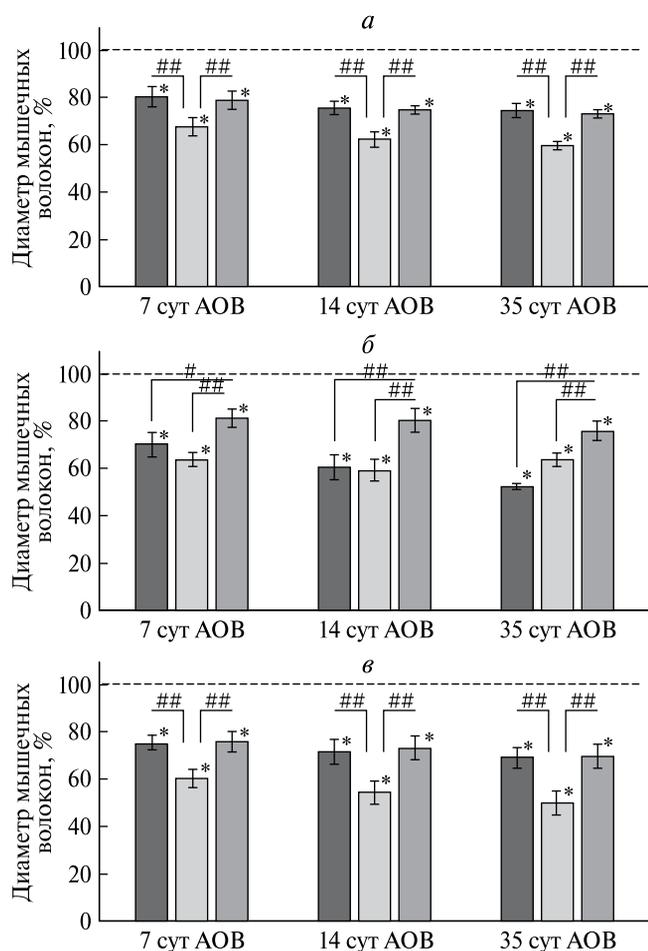


Рис. 3. Диаметр мышечных волокон в икроножной (черный), камбаловидной (светло-серый) и передней большеберцовой (серый) мышцах у крыс на 7, 14 и 35 сут после антиортоstaticкого вывешивания (АОВ) (а), тенотомии (б) и денервации (в) относительно интактных мышц (100%). * $p < 0.01$ – значимые отличия значений исследуемой мышцы по отношению к интактной, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ – значимые отличия значений между разными группами мышц.

угнетением регенеративной функции сателлитных клеток [20]. Наблюдается избирательная уязвимость различных типов мышц – мышцы разгибатели и «медленные» мышцы атрофируются быстрее, чем «быстрые» [21]. Патологический процесс развивается поэтапно: в течение первой недели преобладает снижение синтеза белка, тогда как при более длительном воздействии (9–15 сут) активируется протеолиз миофибрилл, достигая максимальной выраженности [22].

Результаты количественного анализа выявили достоверное уменьшение диаметра мышечных волокон на 7 сут после тенотомии во всех исследуемых мышцах по сравнению с контрольными значениями: у ИМ – до $70.8 \pm 5.0\%$ ($p < 0.05$),

у КМ – до $64.4 \pm 3.0\%$ ($p < 0.05$), у ПБМ – до $82.2 \pm 3.8\%$ ($p < 0.05$) (рис. 3б). На 14 и 35 сут эксперимента наблюдалось прогрессирующее сокращение диаметра мышечных волокон. Наиболее значительные изменения были выявлены в ИМ и КМ. К концу эксперимента диаметр их волокон снизился до $52.9 \pm 1.1\%$ ($p < 0.05$) и $64.4 \pm 3.0\%$ ($p < 0.05$) от исходных значений соответственно. Степень уменьшения диаметра поперечного сечения волокон ПБМ оказалась достоверно меньше ($p < 0.01$), чем в ИМ и КМ.

Снижение количества мио ядер при мышечной атрофии, вызванной неиспользованием, объясняется комбинированным действием окислительного стресса и активацией процессов программированной клеточной деградации. Накопление активных форм кислорода (АФК) играет ключевую роль в этом процессе, стимулируя экспрессию протеолитических ферментов (кальпаина и каспазы 3), участвующих в деградации мышечных белков и апоптозе [23], а также активацию аутофагии – регулируемого процесса разрушения цитоплазматических белков и органелл, не относящихся к миофибриллам [24]. Таким образом, АФК опосредуют комплексный протеолитический ответ, включающий как апоптоз, так и аутофагию, что в совокупности приводит к редукции мио ядер в условиях сниженной мышечной активности.

При проведении количественного анализа после денервации наблюдали уменьшение диаметра мышечных волокон всех исследуемых мышц на 7 сут относительно контроля с максимальным снижением в КМ до $60.9 \pm 3.8\%$ ($p < 0.05$) относительно контрольных значений (рис. 3в). На 14 и 35 сут наибольшее уменьшение диаметра мышечных волокон также было отмечено в КМ до $54.9 \pm 5.3\%$ ($p < 0.05$) и $50.5 \pm 5.1\%$ ($p < 0.05$) соответственно от контроля.

Денервация мышц запускает каскад молекулярных событий, приводящих к ускоренной атрофии мышечных волокон. Ключевым звеном этого процесса является активация убиквитин-протеасомной системы (УПС) деградации белков, опосредованная индукцией убиквитин-лигазы, атрогина-1 (MAFbx) [25]. Механизм развития атрофии включает подавление сигнального пути фосфоинозитид 3-киназа/протеин киназа В (PI3K/AKT), что приводит к активации транскрипционных факторов семейства Forkhead box класса O (FoxO), в частности FOXO3. Конститутивно активный FOXO3 связывается с промоторной областью атрогина-1, вызывая его интенсивную экспрессию и последующую активацию

протеолиза [26]. Таким образом, денервация инициирует FOXO3-зависимую транскрипцию атрогина-1, что в конечном итоге приводит к выраженной деградации мышечных белков и развитию атрофии.

Исследования подтверждают, что при денервации мышечные волокна I типа (медленные) подвергаются более значительной атрофии по сравнению с волокнами II типа (быстрыми) [27]. В быстрых мышечных волокнах наблюдается более интенсивная активация АКТ, что способствует подавлению УПС-опосредованного протеолиза и уменьшению деградации мышечных белков. В медленных мышечных волокнах денервация не вызывает активации АКТ-сигнального пути, что обуславливает более интенсивную УПС-опосредованную деградацию белков. Однако в этих волокнах включается альтернативный компенсаторный механизм через активацию гамма-коактиватора 1 альфа рецептора, активирующего пролифератор пероксисом (PGC1 α), который частично нивелирует атрофические процессы [28].

Влияние антиортостатического вывешивания, тенотомии и денервации на уровень иммуноэкспрессии белка дистрофина в камбаловидной, икроножной и передней большеберцовой мышцах крысы

Дистрофин, выполняющий важную структурную функцию в поддержании целостности мышечных волокон, был выявлен с помощью иммунофлуоресценции во всех исследуемых мышцах контрольных крыс.

При проведении количественного анализа показано, что на 7 и 14 сут после АОВ во всех исследуемых мышцах было выявлено достоверное снижение содержания дистрофина по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$) (рис. 4а). На 35 сут было отмечено снижение иммунофлуоресценции дистрофина в КМ ($p < 0.05$), в ИМ и ПБМ достоверных отличий относительно контрольных значений не наблюдалось. Однако в течение эксперимента содержание дистрофина изменялось по-разному в исследуемых мышцах. Относительно уровня иммунофлуоресценции дистрофина на 7 сут, к 14 сут в ИМ и ПБМ было выявлено увеличение содержания дистрофина на 13.5 и 12.3%, тогда как в КМ произошло снижение на 13% ($p < 0.05$). На 35 сут экспериментальные различия в содержании дистрофина между мышцами усилились. В ИМ и ПБМ относительно 7 сут наблюдали увеличение на 18.9 ($p < 0.05$)

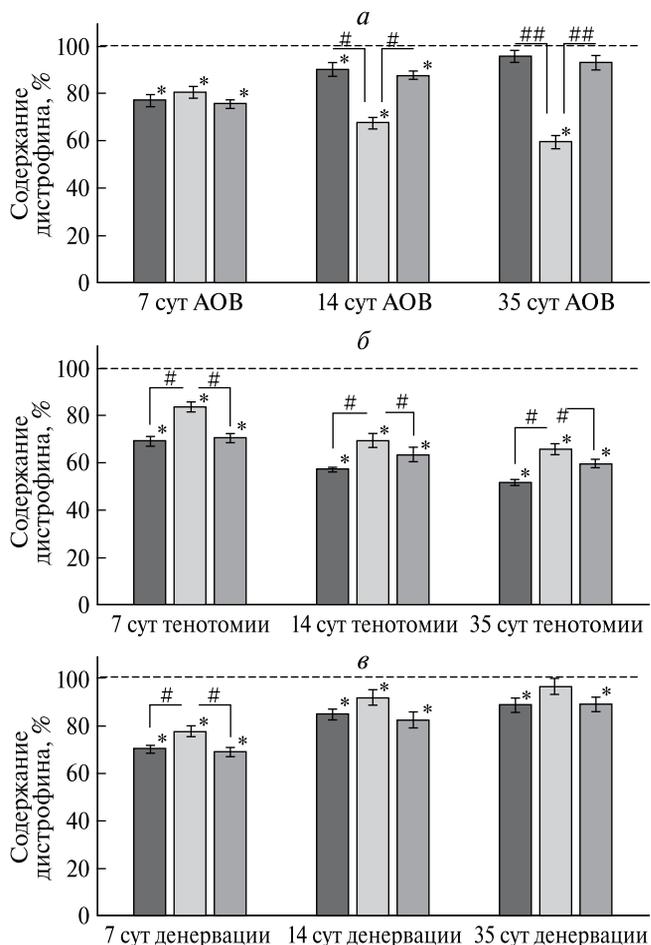


Рис. 4. Содержание дистрофина в икроножной (черный), камбаловидной (светло-серый) и передней большеберцовой (серый) мышцах у крыс на 7, 14 и 35 сут после антиортостатического вывешивания (АОВ) (а), тенотомии (б) и денервации (в) относительно диаметра волокон интактных мышц (100%). * $p < 0.05$ – значимые отличия значений исследуемой мышцы по отношению к интактной, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ – значимые отличия значений между разными группами мышц.

и 17.8% ($p < 0.05$) соответственно и уменьшение содержания дистрофина в КМ на 21.1% ($p < 0.01$).

Эти данные согласуются с литературными источниками, свидетельствующими о сниженном содержании дистрофина в быстро сокращающихся мышечных волокнах и повышенном – в медленно сокращающихся [29]. Кроме того, известно, что при АОВ в быстрых мышцах снижена экспрессия убиквитин-лигаз (MuRF1, атрогин-1) и фактора роста β (TGF β 1/Smad3), тогда как в медленных волокнах наблюдается противоположная тенденция [30], что объясняет выявленные различия в динамике содержания дистрофина на между исследуемыми мышечными группами.

При количественной оценке на протяжении всего эксперимента после тенотомии интенсивность иммунофлуоресценции дистрофина была ниже по сравнению с контрольными показателями ($p > 0.05$) (рис. 4б). К 14 и 35 сут после тенотомии в исследуемых мышцах (ИМ, КМ, ПБМ) наблюдалось прогрессирующее снижение интенсивности иммунофлуоресценции дистрофина на 14 сут после тенотомии на 12.1, 14.1, 6.9%, на 35 сут – на 17.6, 18.8, 11% соответственно относительно 7 сут. КМ демонстрировала более высокое содержание дистрофина по сравнению с ИМ и ПБМ, при этом разница между последними не достигала статистической значимости ($p > 0.05$).

Полученные результаты свидетельствуют о развитии дегенеративных процессов в мышечной ткани экспериментальных животных. Тенотомия вызывает нарушение целостности сарколеммы и снижение мембранной локализации дистрофина [29], что приводит к каскаду патологических изменений: уменьшению фосфорилирования дистрофина, ослаблению его связи с β -дистрогликаном, последующему фосфорилированию тирозиновых остатков в β -дистрогликане и его протеасомной деградации [31]. Параллельно наблюдается активация атрофических процессов, проявляющаяся в усиленной экспрессии генов матриксных металлопротеиназ и компонентов лизосомального пути деградации [32], регуляция которых осуществляется через транскрипционный фактор FOXO3 [33]. Важную роль в этом процессе играют протеолитические системы – активация кальпаинов, обеспечивающих деструкцию миофиламентов, и каспаз, что в совокупности приводит к прогрессирующей потере мышечной массы [34].

Через 7 и 14 сут после денервации по результатам иммунофлуоресцентного анализа отмечалось снижение уровня дистрофина относительно значений интактных животных ($p > 0.05$) (рис. 4в). Однако по сравнению с 7 сут, к 14 сут эксперимента интенсивность иммунофлуоресценции дистрофина возросла на 14.8% в ИМ, на 14.7% в КМ и на 13.7% в ПБМ. К 35 сут после денервации наблюдалось дальнейшее увеличение экспрессии на 19.4% в КМ, 18.9% в ИМ и на 20.5% в ПБМ относительно 7 сут без достоверных различий ($p > 0.05$) между исследуемыми мышцами. При этом на 35 сут относительно контроля достоверное снижение иммунофлуоресценции дистрофина отметили в волокнах ИМ ($p > 0.05$) и ПБМ ($p > 0.05$), в КМ содержание дистрофина было близко к контрольным значениям.

Малые GTP-азы (например, гомолог онкогена вируса саркомы крыс Харви (H-Ras), гомолог семейства белков Ras A (RhoA) и гомолог белка контроля деления клетки 42 (Cdc42)) играют ключевую роль в регуляции клеточных процессов при мышечной атрофии. Эти сигнальные молекулы участвуют в дифференцировке скелетных мышц, контролируя экспрессию ключевых миогенных факторов – MyoD и миогенина, что может опосредованно влиять на уровень дистрофина [29]. При денервации активируются различные внутриклеточные сигнальные каскады, включая JNK-зависимое фосфорилирование c-Jun и других регуляторных белков, участвующих в контроле апоптоза, клеточного гомеостаза и процессов гипертрофии. Эти изменения могут объяснять наблюдаемое увеличение содержания дистрофина [35]. Таким образом, перестройка GTP-зависимых сигнальных путей представляет собой важный механизм адаптации мышечной ткани в условиях денервации.

Влияние антиортостатического вывешивания, тенотомии и денервации на уровень иммуноэкспрессии nNOS в камбаловидной, икроножной и передней большеберцовой мышцах крысы

При АОВ на 7, 14 и 35 сут эксперимента было выявлено статистически значимое снижение интенсивности иммунофлуоресценции nNOS в исследуемых мышцах ($p < 0.05$) (рис. 5а). К 35 сут эксперимента при АОВ наблюдали снижение интенсивности окрашивания в КМ на 15%, ИМ на 12% и ПБМ на 14% по сравнению со значениями с 7 сут. Наибольшее снижение содержания nNOS было выявлено в КМ, где значения достоверно отличались как от других исследуемых мышц, так и от контрольных показателей ($p < 0.05$).

Известно, что nNOS демонстрирует преимущественную локализацию в быстросокращающихся мышечных волокнах, что указывает на ключевую регуляторную роль NO в энергетическом метаболизме мышечной ткани [36]. В условиях атрофии, вызванной АОВ, наблюдается транслокация nNOS с сарколеммы в цитоплазму, в то время как другие компоненты дистрофин-гликопротеинового комплекса сохраняют свою мембранную локализацию [37]. Данное перераспределение nNOS приводит к изменению продукции NO и последующей активации FOXO/E3-зависимого пути убиквитин-лигаз, что стимулирует экспрессию атрофин-ассоциированных генов, включая MuRF1

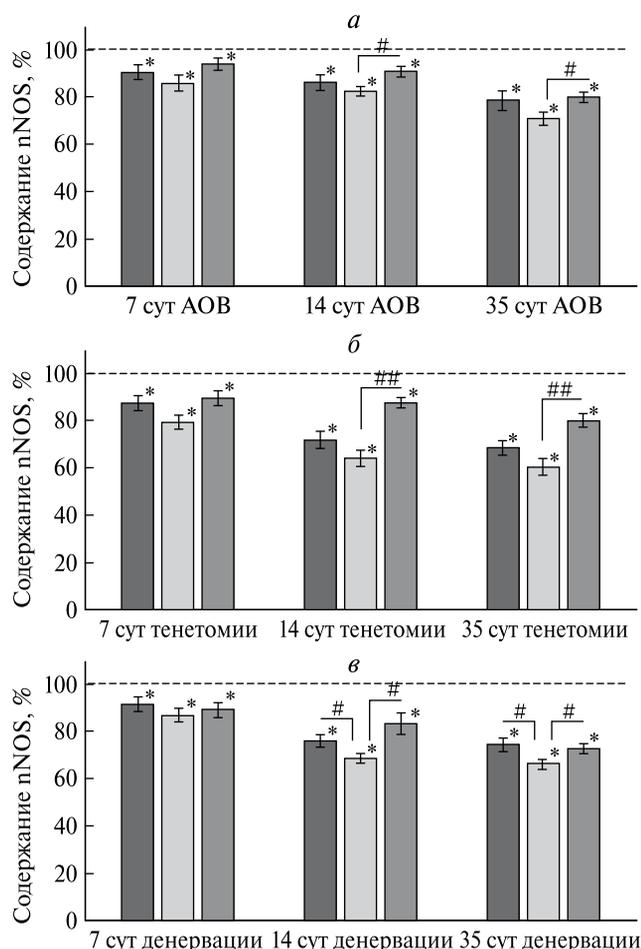


Рис. 5. Содержание nNOS в икроножной (черный), камбаловидной (светло-серый) и передней большеберцовой (серый) мышцах у крыс на 7, 14 и 35 сут после антиортоstaticкого вывешивания (АОВ) (а), тенотомии (б) и денервации (в) относительно диаметра волокон интактных мышц (100%). * $p < 0.05$ – значимые отличия значений исследуемой мышцы по отношению к интактной, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ – значимые отличия значений между разными группами мышц

и атрогин-1/MAFbx [38]. Эти молекулярные изменения лежат в основе развития мышечной атрофии при разгрузочных воздействиях.

Результаты иммунофлуоресцентного анализа показали достоверное снижение экспрессии nNOS во всех исследуемых мышцах на протяжении всего эксперимента после тенотомии относительно контрольных значений (рис. 5б). К 35 сут после тенотомии наблюдали достоверное снижение иммунофлуоресценции nNOS относительно 7 сут: в КМ и ИМ – на 19.1% ($p < 0.05$), в ПБМ – на 9.5%, что свидетельствует о наибольшей выраженности изменений в КМ и ИМ по сравнению с ПБМ ($p < 0.05$).

Полученные результаты говорят о дегенеративных изменениях мышечной ткани в исследуемой группе животных. Многочисленные исследования, включая модели с вывешиванием задних конечностей и денервацией у грызунов, демонстрируют характерную делокализацию nNOS из сарколеммы в цитоплазму [39]. Этот процесс может объясняться конформационными изменениями в центральном домене дистрофина, содержащем nNOS-связывающий участок, который структурно перестраивается под механическим воздействием [40], что приводит к ослаблению связывания с nNOS [41]. Ключевую роль в этом процессе играют компоненты дистрофин-гликопротеинового комплекса (ДГК): дистрофин и синтрофин непосредственно участвуют в локализации nNOS через специфические связывающие домены [42], тогда как саркогликаны и бигликаны, не связанные с nNOS напрямую, также обеспечивают стабильность этого комплекса [43]. Таким образом, правильная локализация nNOS зависит от структурной целостности всего ДГК, и нарушение любого из его компонентов приводит к делокализации фермента и последующим патологическим изменениям в мышечной ткани.

После денервации на 7, 14 и 35 сут у крыс было выявлено снижение уровня nNOS по данным иммунофлуоресцентного анализа во всех исследуемых мышечных группах относительно контрольных значений (рис. 5в). По сравнению с 7 сут, к 14 сут после денервации во всех исследуемых мышцах наблюдалось прогрессирующее снижение иммунофлуоресценции nNOS: в ИМ на 15.7%, КМ на 18% и ПБМ на 16%. На 35 сут выявили максимальное снижение иммунофлуоресценции nNOS относительно 7 сут в ИМ, КМ и ПБМ на 19.1, 20.2 и 20% соответственно. Максимальное снижение произошло в КМ относительно ИМ и ПБМ ($p < 0.05$). При этом наиболее выраженное снижение экспрессии nNOS отмечалось в КМ, где различия с другими мышечными группами были статистически значимыми ($p < 0.05$).

Наблюдаемые дегенеративные изменения в мышечной ткани экспериментальных животных связаны с ключевой ролью nNOS в патогенезе мышечной атрофии. Исследования демонстрируют, что делокализация nNOS из сарколеммы в цитозоль активирует каскад атрофических процессов. Этот процесс усиливает сигнальный путь FOXO, приводя к гиперэкспрессии FOXO1a и FOXO3a [37], также стимулирует УПС через повышение экспрессии атрогин-1 [44]. Этот механизм объясняется

увеличением цитозольной фракции nNOS при ее делокализации, что подтверждается корреляцией между уровнем цитозольного nNOS и экспрессией FOXO3a [37]. Кроме того, снижение мембранной локализации nNOS ухудшает регуляцию сосудистого тонуса и метаболических процессов в мышцах, что приводит к нарушению кровоснабжения и снижению регенераторного потенциала мышечной ткани [41]. Таким образом, дислокация nNOS представляет собой центральное звено в патогенезе атрофии при денервации, запуская как протеолитические процессы, так и нарушения микроциркуляции.

Влияние антиортостатического вывешивания, тенотомии и денервации на сократительные параметры мышечных волокон в камбаловидной мышце крысы

Полученные результаты показали, что денервация, тенотомия и АОВ наибольшее влияние оказывают на КМ. Исследование сократительных параметров КМ проводили на 7 сут, так как именно в этот период начинают проявляться первые атрофические изменения в мышцах. На 14 и 35 сут изменений не наблюдалось, однако на 50 сут были выявлены достоверные изменения в сократительных параметрах КМ по сравнению с контрольными значениями.

При измерении силы сокращения КМ на 7 сут во всех экспериментальных группах наблюдали достоверные отличия от контроля ($p < 0.05$) (рис. 6а). При АОВ и денервации на 7 сут выявили увеличение силы сокращения мышечных волокон, составившее относительно контрольных значений 119.5 ± 7.3 ($p < 0.05$) и $126.2 \pm 11.0\%$ ($p < 0.0001$) соответственно. Волокна КМ в группе крыс, подвергшихся тенотомии, демонстрировали меньшее значение силы сокращения ($p < 0.0001$) по сравнению с контролем, составившее $53.7 \pm 12.9\%$. На 50 сут значительные отличия от контроля ($p < 0.0001$) наблюдали только в группе крыс с тенотомией. На 50 сут при тенотомии значения силы сокращения мышечных волокон составили $58.2 \pm 16.0\%$ ($p < 0.0001$). В остальных экспериментальных группах значения силы сокращения КМ достоверно не отличались от контроля ($p > 0.05$). Результаты демонстрируют, что тенотомия вызывает наиболее существенные нарушения сократительных свойств мышц, что подтверждает ключевую роль мышечно-сухожильного соединения в обеспечении нормальной функций мышц. Нарушение целостности этой связи приводит к выраженному функциональному дефициту [45].

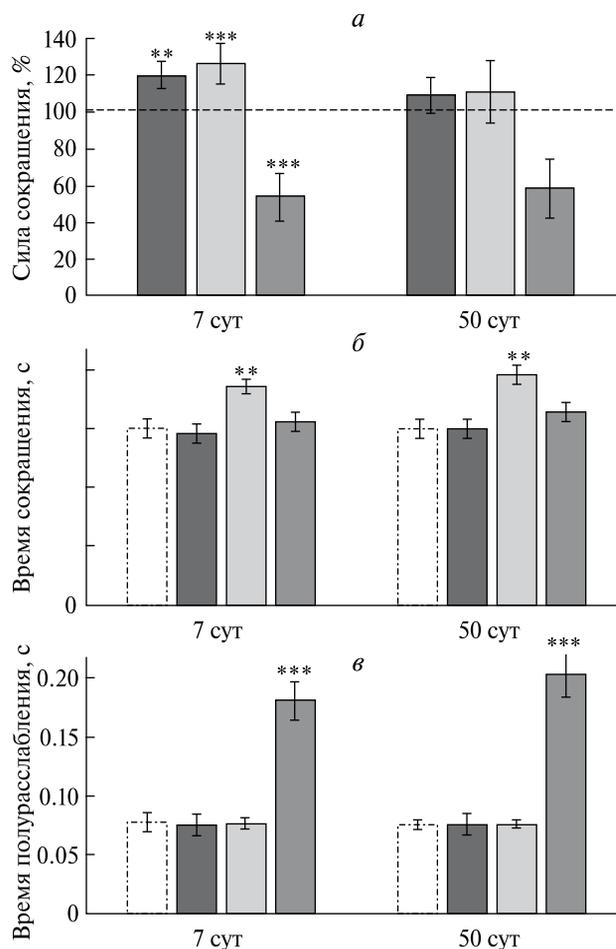


Рис. 6. Сила сокращения (а), время сокращения (б) и время полурасслабления (в) камбаловидной мышцы (КМ) у крыс после антиортостатического вывешивания (АОВ) (черный), денервации (светло-серый) и тенотомии (серый) на 7 и 50 сут, контроль (белый). ** $p < 0.05$, *** $p < 0.0001$ — значимые отличия значений по отношению к интактным животным.

При снижении функциональной нагрузки наблюдается уменьшение мышечного объема, сопровождающееся сокращением количества миофиламентов и снижением числа поперечных мостиков, что в конечном итоге приводит к ослаблению сократительной способности мышц. Мышцы млекопитающих демонстрируют значительную адаптивную способность в ответ на изменения уровня сократительной активности, доступности субстрата и условий окружающей среды [46]. Важным компонентом такой адаптации являются переходы между типами мышечных волокон, происходящие как при физических тренировках, так и при малой подвижности. Эти преобразования сопровождаются изменениями в экспрессии сократительных белков, среди

которых наиболее значимым считается переключение между изоформами тяжелых цепей миозина, определяющее функциональные свойства миофибрилл [46].

На 7 и 50 сут достоверное увеличение времени сокращения КМ было выявлено только в группе крыс с денервацией ($p < 0.05$) (рис. 6б). При денервации на 7 сут значение времени сокращения составило 0.091 ± 0.003 с ($p < 0.05$), на 50 сут – 0.095 ± 0.006 с ($p < 0.05$). В остальных экспериментальных группах время сокращения КМ у крысы не имело достоверных отличий от контроля ($p > 0.05$).

Данные демонстрируют значительное влияние полного нарушения нервного контроля на сократительную функцию КМ у крыс. Увеличение времени мышечного сокращения свидетельствует о значительных изменениях биомеханических характеристик мышечной ткани, которые развиваются вследствие утраты нервного контроля, последующей структурной реорганизации мышечных волокон. В результате атрофии изменение времени мышечного сокращения связывают с изменением экспрессии изоформ миозина [47] и уменьшением расстояния между актиновыми и миозиновыми филаментами [48].

После тенотомии на 7 и 50 сут наблюдали достоверное увеличение времени полурасслабления, составившее относительно контрольных значений 0.181 ± 0.016 с ($p < 0.0001$) и 0.203 ± 0.019 с ($p < 0.0001$) соответственно (рис. 6в). В остальных экспериментальных группах время полурасслабления КМ не имело достоверных отличий от контроля ($p > 0.05$).

Тенотомия вызывает значительные изменения релаксационных свойств мышц через структурные изменения в саркоплазматическом ретикулуме и составе мышечных белков [49]. Сократительная способность мышечной ткани зависит от концентрации внутриклеточного кальция (Ca^{2+}) – его повышение вызывает сокращение скелетных мышц [50]. Однако в атрофированных мышцах нарушается работа кальциевых каналов, что приводит к изменению поглощения и высвобождения Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума и, как следствие, влияет на время полурасслабления мышечных волокон [50].

ВЫВОДЫ

Антиортостатическое вывешивание, денервация и тенотомия вызывают уменьшение диаметра мышечных волокон в исследуемых мышцах задней конечности крыс.

Тенотомия вызывает значительное снижение иммуоэкспрессии дистрофина в камбаловидной, икроножной и передней большеберцовой мышцах. При АОВ также происходит снижение содержания дистрофина относительно контрольных значений. Однако по сравнению с 7 сут уровень дистрофина при АОВ к 35 сут повышается у икроножной и передней большеберцовой мышц, а у камбаловидной мышцы снижение усиливается. Денервация вызывает снижение уровня дистрофина, однако в динамике от 7 к 35 сут его содержание увеличивается, вплоть до достижения контрольных значений иммуоэкспрессии у камбаловидной мышцы.

Антиортостатическое вывешивание, денервация и тенотомия вызывают достоверное снижение уровня нейрональной NO-синтазы в икроножной, камбаловидной и передней большеберцовой мышцах у крыс.

Антиортостатическое вывешивание задних конечностей вызывает увеличение сократительной силы камбаловидной мышцы на 7 сут, которое не сохраняется к 50 сут. Денервация и тенотомия приводят к выраженным изменениям сократительной функции камбаловидной мышцы у крысы, которые находятся в прямой корреляции с развитием атрофических процессов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Соответствие принципам этики. Все эксперименты были выполнены с соблюдением биоэтических норм и одобрены ЛЭК ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» протокол № 53 от 26.02.2025 г.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках программы «Стратегическое академическое лидерство Казанского федерального университета» (ПРИОРИТЕТ-2030).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pette D., Vrbová G. 2017. The Contribution of neuromuscular stimulation in elucidating muscle plasticity revisited. *Eur. J. Transl. Myol.* **27** (1), 6368.
2. Kalyani R.R., Corriere M., Ferrucci L. 2014. Age-related and disease-related muscle loss: The effect of diabetes, obesity, and other diseases. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2** (10), 819–829.
3. Atherton P.J., Greenhaff P.L., Phillips S.M., Bodine S.C., Adams C.M., Lang C.H. 2016. Control of skeletal muscle atrophy in response to disuse: Clinical/preclinical contentions and fallacies of evidence. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **311** (3), 594–604.

4. Oikawa S.Y., Holloway T.M., Phillips S.M. 2019. The impact of step reduction on muscle health in aging: protein and exercise as countermeasures. *Front. Nutr.* **6**, 75.
5. Booth F.W., Gollnick P.D. 1983. Effects of disuse on the structure and function of skeletal muscle. *Med. Sci. Sports Exerc.* **15**, 415–420.
6. Jackman, R.W., Kandarian S.C. 2002. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **287** (3), 834–843.
7. Mirzoev T.M. 2020. Skeletal muscle recovery from disuse atrophy: Protein turnover signaling and strategies for accelerating muscle regrowth. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 7940.
8. Sartori R., Romanello V., Sandri M. 2021. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: Implications in health and disease. *Nat Commun.* **12** (1), 330.
9. Michael K. 2000. Relationship of skeletal muscle atrophy to functional status: A systematic research review. *Biol. Res. Nurs.* **2**, 117–131.
10. Xi S., Yue S. 2003. Research progress of disuse muscle atrophy. *Chin. J. Clin. Rehabil.* **7**, 710–714.
11. Baltina T.V., Ereemeev A.A., Pleshchinskii I.N. 2006. The state of the contralateral neuromotor apparatus of the rat in conditions of unilateral tenotomy. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* **36** (4), 385–389.
12. De Angelis C., Scarfo C., Falcinelli M., Perna E., Reda E., Ramacci M.T., Angelucci L. 1994. Acetyl-L-carnitine prevents agedependent structural alterations in rat peripheral nerves and promotes regeneration following sciatic nerve injury in young and senescent rats. *Exp. Neurol.* **128**, 103–114.
13. Morey-Holton E.R. 1979. Spaceflight and bone turnover: correlation with a new rat model of weightlessness. *BioScience.* **29**, 168–172.
14. Ильин Е.А., Новиков В.Е. 1980. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами. *Косм. биол. и авиакосм. мед.* **14** (3), 79–80.
15. Саченков О.А., Семенова Е.В., Федянин А.О., Смирнова В.В., Балтина Т.В. 2022. Свидетельство о государственной регистрации ПЭВМ № 2022661168 Программа для анализа гистологических изображений мышечной ткани.
16. Otsu N. 1979. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Trans. Sys. Man. Cyber J.* **9**, 62–66.
17. Meyer F. 1994. Topographic distance and watershed lines. *Signal Processing.* **38**, 113–125.
18. Гришин С.Н., Хайруллин А.Е., Зиганшин А.У., Ефимова Д.В. 2023. Патент на полезную модель № 216564 U1 Российская Федерация, МПК А61N 1/04, G09B 23/28. Всасывающий культя нерва электрод для электрической стимуляции: № 2022131919; заявл. 07.12.2022; опубл. 14.02.2023, заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.
19. Fitts R.H., Riley D.R., Widrick J.J. 2000. Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* **89**, 823–839.
20. Bonanni R., Cariati I., Marini M., Tarantino U., Tancredi V. 2023. Microgravity and musculoskeletal health: What strategies should be used for a great challenge? *Life (Basel).* **13** (7), 1423.
21. Ohira Y., Jiang B., Roy R.R., Oganov V., Ilyina-Kakueva E., Marini J.F., Edgerton V.R. 1992. Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* **73** (2), 51–57.
22. Phillips S.M., McGlory C. 2014. Cross Talk proposal: The dominant mechanism causing disuse muscle atrophy is decreased protein synthesis. *J. Physiol.* **592**, 5341–5343.
23. Powers S.K. 2014. Can antioxidants protect against disuse muscle atrophy? *Sports medicine.* **44** (2), 155–165.
24. Sandri M., Sandri C., Gilbert A., Skurk C., Calabria E., Picard A., Walsh K., Schiaffino S., Lecker S.H., Goldberg A.L. 2004. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell.* **117** (3), 399–412.
25. Jagoe R.T., Goldberg A.L. 2001. What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* **4** (3), 183–190.
26. Guo A., Li K., Tian H.C., Fan Z., Chen Q.N., Yang Y.F., Yu J., Wu Y. X., Xiao Q. 2021. FGF19 protects skeletal muscle against obesity-induced muscle atrophy, metabolic derangement and abnormal irisin levels via the AMPK/SIRT-1/PGC- α pathway. *J. Cell Mol. Med.* **25** (7), 3585–3600.
27. Macpherson P.C., Wang X., Goldman D. 2011. Myogenin regulates denervation-dependent muscle atrophy in mouse soleus muscle. *J. Cell Biochem.* **112** (8), 2149–2159.
28. Gao H., Li Y.F. 2018. Distinct signal transductions in fast- and slow-twitch muscles upon denervation. *Physiol. Rep.* **6** (4), 13606.
29. Chockalingam P.S., Cholera R., Oak S.A., Zheng Y., Jarrett H.W., Thomason D.B. 2002. Dystrophin-glycoprotein complex and Ras and Rho GTPase signaling are altered in muscle atrophy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **288**, 500–511.
30. Zhang P., Li W., Liu H., Li J., Wang J., Li Y., Chen X., Yang Z., Fan M. 2014. Dystrophin involved in the susceptibility of slow muscles to hindlimb unloading via concomitant activation of TGF- β 1/Smad3 signaling and ubiquitin-proteasome degradation in mice. *Cell Biochem. Biophys.* **70** (2), 1057–1067.

31. Swiderski K., Brock C.J., Trieu J., Chee A., Thakur S.S., Baum D.M., Gregorevic P., Murphy K.T., Lynch G.S. 2021. Phosphorylation of ERK and dystrophin S3059 protects against inflammation-associated C2C12 myotube atrophy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **320** (6), 956–965.
32. Bialek P., Morris C., Parkington J., St Andre M., Owens J., Yaworsky P., Seeherman H., Jelinsky S.A. 2011. Distinct protein degradation profiles are induced by different disuse models of skeletal muscle atrophy. *Physiol. Genomics.* **43** (19), 1075–1086.
33. Zhao J., Brault J.J., Schild A. 2007. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metab.* **6** (6), 472–483.
34. Fareed M.U., Evenson A.R., Wei W., Menconi M., Poylin V., Petkova V., Pignol B., Hasselgren P.O. 2006. Treatment of rats with calpain inhibitors prevents sepsis-induced muscle proteolysis independent of atrogen-1/MAFbx and MuRF1 expression. *Am. J. Physiol. Regul. Integr.* **290** (6), 1589–1597.
35. Aby K., Antony R., Eichholz M., Srinivasan R., Li Y. Enhanced pro-BDNF-p75NTR pathway activity in denervated skeletal muscle. 2021. *Life Sci.* **286**, 20067.
36. Baum O., Aaldijk D., Engeli A.L., Spree M., Summermatter S., Handschin C., Zakrzewicz A. 2018. Relation of nNOS isoforms to mitochondrial density and PGC-1 α expression in striated muscles of mice. *Nitric Oxide.* **77**, 35–43.
37. Suzuki N., Motohashi N., Uezumi A., Fukada S., Yoshimura T., Itoyama Y., Aoki M., Miyagoe-Suzuki Y., Takeda S. 2007. NO production results in suspension-induced muscle atrophy through dislocation of neuronal NOS. *J. Clin. Invest.* **117** (9), 2468–2476.
38. Gomes M.D., Lecker S.H., Jagoe R.T., Navon A., Goldberg A.L. 2001. Atrogen-1, a muscle-specific Fox box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98** (25), 14440–14445.
39. Lawler J., Kunst M.M., Hord J.M. 2014. EUK-134 ameliorates nNOS μ translocation and skeletal muscle fiber atrophy during short-term mechanical unloading. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp Physiol.* **306** (7), 470–482.
40. Orr A.W., Helmke B.P., Blackman B.R., Schwartz M.A. 2006. Mechanisms of mechanotransduction. *Dev. Cell.* **10** (1), 11–20.
41. Ломоносова Ю.Н., Каламкаров Г.Р., Бугрова А.Е., Шевченко Т.Ф., Карташкина Н.Л., Лысенко Е.А., Шенкман Б.С., Немировская Т.Л. 2012. Роль NO-синтазы в регуляции белкового метаболизма растянутой m. Soleus крыс при функциональной нагрузке. *Биохимия.* **77** (2), 256–266.
42. Brenman J.E., Chao D.S., Xia H., Aldape K., Bretz D.S. 1995. Nitric oxide synthase complexed with dystrophin and absent from skeletal muscle sarcolemma in Duchenne muscular dystrophy. *Cell.* **82** (5), 743–752.
43. Ohlendieck K., Swandulla D. 2021. Complexity of skeletal muscle degeneration: multi-systems pathophysiology and organ crosstalk in dystrophinopathy. *Pflugers Arch.* **473** (12), 1813–1839.
44. Foletta V.C., White L.J., Larsen A.E., Léger B., Russell A.P. 2011. The role and regulation of MAFbx/atrogen-1 and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Pflugers Arch.* **461** (3), 325–335.
45. McDonald K.S., Fitts R.H. 1993. Effect of hindlimb unweighting on single soleus fiber maximal shortening velocity and ATPase activity. *J. Appl. Physiol.* **74** (6), 2949–2957.
46. Flück M., Hoppeler H. 2003. Molecular basis of skeletal muscle plasticity – from gene to form and function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **146**, 159–216.
47. Gong H.M., Ma W., Regnier M., Irving T.C. 2022. Thick filament activation is different in fast- and slow-twitch skeletal muscle. *J. Physiol.* **600** (24), 5247–5266.
48. Ma W., Lee K.H., Yang S., Irving T.C., Craig R. 2019. Lattice arrangement of myosin filaments correlates with fiber type in rat skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **151** (12), 1404–1412.
49. Wilkinson D.J., Piasecki M., Atherton P.J. 2018. The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. *Ageing Res. Rev.* **47** (4), 123–123.
50. Pierantozzi E., Szentesi P., Paolini C., Dienes B. 2022. Impaired intracellular Ca²⁺ dynamics, M-band and sarcomere fragility in skeletal muscles of obscurin KO mice. *Int. J. Mol. Sci.* **23** (3), 1319.

Morphofunctional Evaluation of Rat Leg Muscles under the Influence of Hindlimb Unloading, Tenotomy, and Denervation

D. E. Sabirova^{1,2}, A. A. Shadrina², A. A. Ereemeev², A. E. Khairullin³, T. V. Baltina¹

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, 420008 Russia

²Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, 354340 Russia

³Kazan State Medical University, Kazan, 420012 Russia

*e-mail: sabirova.dianka@list.ru

Skeletal muscle atrophy can develop under the influence of various factors related to their disuse, such as immobilization, denervation, or exposure to microgravity. The aim of this work was to conduct a morphological and functional assessment of skeletal muscles in disuse models in rats. The rats were randomly assigned to a control group and groups that underwent denervation, tenotomy, and hindlimb unloading. During the experiments, a decrease in the diameter of muscle fibers was revealed in all experimental groups. During tenotomy, there was a decrease in dystrophin immunosuppression. During hindlimb unloading, the dystrophin level decreased, but by day 35, recovery was observed in the gastrocnemius and anterior tibial muscles, while in the soleus it continued to fall. After denervation, the dystrophin content also decreased, but then increased, reaching control values for the soleus muscle by day 35. The level of neuronal NO-synthase significantly decreased in all experimental groups. The effects of denervation and tenotomy lead to pronounced changes in the contractile function of the soleus muscle in rats, which are in direct correlation with the development of atrophic processes.

Keywords: muscle atrophy, dystrophin, neuronal NO-synthase, hindlimb unloading, denervation, tenotomy