

ЛИТЕРАТУРА

1. Medicines from Animal Cell Culture. Editors: Glyn Stacey, John Davis, UK, 2007, p. 569-587.
2. Animal Cell Technology: From Biopharmaceuticals to Gene Therapy. Edited by Leda R. Castilho, Angela Maria Moraes, Elisabeth F. P. Augusto, Michael Butler, UK&USA, 2008, p. 349-372.
3. Basic principles of cell culture/R. Ian Freshney, 2005, pp. 115-129.

ВЛИЯНИЕ ДОЗИРОВАННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА БЕЛКОВЫЙ ПРОФИЛЬ БЕЛОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС

¹Надольник Л. И., ²Янцевич А. В., ¹Шуриберко А. В.,
¹Чумаченко С. С., ³Флоурис А.

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН
Беларуси,

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

³Центр науки и технологий Тессали, Трикала, Греция

Введение. Проблема избыточной массы тела чрезвычайно актуальна в настоящее время; значительно вырос интерес к вопросам регуляции метаболизма белых адипоцитов, а также механизмам дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в различные типы адипоцитов (белые, бурые, бежевые), поиску способов и средств влияния на эти процессы [1, 2]. Это важно в связи с достаточно хорошо подтвержденными фактами о роли жировой ткани в патогенезе ожирения, инсулинорезистентности, диабета, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Особый интерес здесь может представлять физическая нагрузка, учитывая её роль в активации различных метаболических процессов, включая эффективное использование энергетических субстратов.

Цель работы: оценить влияние ежедневной дозированной физической нагрузки на белковый профиль белой жировой ткани крыс.

Методы исследования. Исследования выполнены на самцах крыс массой 250-270 г. Влияние физической нагрузки на функцию белой жировой ткани (БеЖТ) изучалось на модели добровольного бега крыс в тредбане; 6 групп: бег 4 недели, контроль 4 недели; бег 8 недель, контроль 8 недель; бег 8 недель + восстановительный период

8 недель, контроль 16 недель. Продолжительность физической нагрузки повышалась еженедельно от 10 до 60 минут, скорость бега – от 8 до 20 м/мин. Пробоподготовка включала трипсинолиз проб БеЖТ в течение 16 ч при температуре 37°C. Для выделения пептидов использовали твердофазную экстракцию с использованием картриджей SampliQ C18 (EC). Для разделения смеси пептидов использовали колонку ZORBAX Extend-C18 (2.1x50 мм, 1.8 мкм) (подвижная фаза А – 0.2% раствор муравьиной кислоты в воде; подвижная фаза В – 0.2% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле). Для детекции использовали масс-спектрометрический детектор Q-TOF 6550 с источником ионизации электроспрей (APESI) квадрупольно-времяпролетным масс-анализатором. Для идентификации белков данные обрабатывали в программном пакете Spectrum Mill (Agilent).

Результаты и их обсуждение. После 4 и 8 недель дозированной физической нагрузки обнаружено, что в БеЖТ крыс повысилась концентрация общего белка. После бега в течение 4 недель – на 36,09% по сравнению с группой контроль 4 недели, а после 8 недель – на 43,09% ($p=0,013824$). Через 16 недель уровень белка у крыс контрольной и опытной групп не различался.

При анализе белкового профиля БеЖТ идентифицировано 1098 белков. Физическая нагрузка приводила к значительному изменению профиля белков БеЖТ, обнаружено повышение экспрессии/концентрации белков, появление новых белков, отсутствующих в БеЖТ группы контроль, или их исчезновение. После 4 недель физической нагрузки в БеЖТ выявлено более 400 белков, экспрессия/концентрация 66 из них увеличилась значимо. После 8 недель физической нагрузки в БеЖТ повысилась концентрация 434 белков, из них 86 наиболее значимо. Через 16 недель в БеЖТ повысилась концентрация 381 белка, из них – 49 значимо. Повышение экспрессии большого количества белков подтверждает наличие механизмов регуляции метаболической активности БеЖТ при физической активности.

Данные протеомного анализа свидетельствуют, что концентрация ряда хорошо известных цитоплазматических белков не изменялась в БеЖТ крыс, бежавших на протяжении всего эксперимента – *Malate dehydrogenase, cytoplasmic*, *Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)]*, *cytoplasmic*, *L-lactate dehydrogenase*, *Pyruvate kinase*, *Glycerol-3-phosphate dehydrogenase*

[NAD(+)], Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Pyruvate kinase PKM, Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic.

Вместе с тем под действием физической нагрузки в БеЖТ увеличивалась экспрессия/концентрация митохондриальных белков, что может быть следствием как повышения их функции, так и (наиболее вероятно) увеличения количества митохондрий в БеЖТ: *Malate dehydrogenase, mitochondrial, Aconitate hydratase, mitochondrial, Citrate synthase, mitochondrial, ATP synthase subunit alpha, mitochondrial, ADP/ATP translocase 2, Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-3, NADH-cytochrome b5 reductase 3* – белки, связанные с циклом ТКК, синтезом АТФ, функцией цитохрома b5. Выявлено снижение экспрессии *NADPH:adrenodoxin oxidoreductase, mitochondrial;* (фермент митохондриального P450), *Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial;* *Adenylate cyclase type 1* (цАМФ опосредованный сигналинг).

Повышение количества митохондрий в белых адипоцитах можно рассматривать не только как признак активации аэробного гликолиза, но и как признак появления в БеЖТ бежевых адипоцитов, которые (в отличие от белых) характеризуются высоким содержанием митохондрий. Наибольший интерес представляют белки, которые прямо или косвенно могут быть связаны с процессами «браунинга», дифференцировки/дедифференцировки белых адипоцитов в бежевые или бурые.

Анализ большого пула полученных данных протеома БеЖТ выявил следующие закономерности, связанные с действием физической нагрузки:

- Повышение содержания белков, ответственных за внутриклеточное распределение митохондрий и митохондриальную регуляцию, деполяризацию митохондрий, снижение активности GDF-азы и активацию сигнальных путей CaMKK / AMPK (*Protein Lrrk2, 6 kDa heat shock protein, mitochondrial*).

- Повышение содержания белков кальциевых каналов (*Ryanodine receptor 2, Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase2*).

- Повышение содержания белка раннего регулятора адипогенеза, который работает как кофактор транскрипции СЕВР, контролируя экспрессию PPAR γ и, вероятно, других проадипогенных генов (*Protein Zfp638*).

- Повышение содержания белков регуляции дифференцировки жировых клеток, регуляции трансмембранных сигнальных систем, регуляции метаболизма триглицеролов (*Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-3*).

- Повышение содержания белков, ответственных за ингибирование деградации липидных капель, что связано с ингибированием дифференцировки преадипоцитов в белые адипоциты (*FAS-associated factor 2*).

- Повышение экспрессии белков, ответственных за термогенез, запуск механизмов ответа на холод, активацию бета-окисления митохондриальных жирных кислот и снижение биосинтеза жирных кислот, температурный гомеостаз (*Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial*).

- Повышение содержания белков, связанных с термогенезом – позитивная регуляция термоиндуцированного холода, активация бета-окисления митохондриальных жирных кислот, ненасыщенных жирных кислот (*2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial, isoform CRA_a*).

- Повышение содержания белков, ответственных за метаболизм глюкозы и гликолитические процессы (*Similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Alpha-1,4 glucan phosphorylase, Phosphoglycerate kinase1*).

- Повышение содержания белков, ответственных за глюконеогенез, гликолиз (*Triosephosphate isomerase*).

- Повышение содержания белков, связанных с активацией энергетического метаболизма, активацией сигнальных путей, снижением аппетита (*Leptin receptor*).

- Повышение содержания белков, связанных с негативной регуляцией секреции адипонектина (*Rab11 family-interacting protein 1*).

Выводы. Впервые проведено исследование влияния дозированной физической нагрузки на протеом белой жировой ткани крыс. Установлено, что при ежедневной дозированной физической нагрузке в БеЖТ повышается экспрессия/концентрация большого количества белков. Из этого множества важно отметить белки, которые связаны с активацией утилизации глюкозы и жирных кислот, что характеризует активацию энергетического метаболизма, и белки, связанные с митохондриальным генезом, адипогенезом, дифференцировкой адипоцитов, ингибированием дифференцировки адипоцитов в белые, запуском и регуляцией термогенеза, что

предполагает активацию процессов браунинга в БеЖТ при физической нагрузке. Кроме того, важно отметить повышение концентрации рецептора лептина и белка Rab11 family-interacting protein 1, снижающего секрецию адипонектина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang W. Control of brown and beige fat development / W. Wang, P. Seale // *Molecular Cell Biology*. – 2016. – Vol. 17. – P. 691–702.
2. Moseti, D. Molecular regulation of adipogenesis and potential anti-adipogenic bioactive molecules / D. Moseti, A. Regassa, W.-K. Kim // *Int. J. Mol. Sci.* –2016. – Vol. 17. – 124 p.

КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ДИАБЕТЕ II ТИПА У САМОК И САМЦОВ КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ

¹Надольник Л. И., ¹Полубок В. Ч., ¹Лупачик С. В., ²Лис Р. Е.,
²Дорошенко Е. М., ¹Мороз В.Л.

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН
Беларуси,

²УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Введение. Сахарный диабет 2 типа характеризуется развитием многочисленных осложнений, затрагивающих кровеносные сосуды (микро- и макроангиопатии), периферическую нервную систему (полинейропатии), печень (неалкогольный стеатогепатит), почки (нефропатия), зрительную систему (ретинопатия и катаракта). В патогенез сахарного диабета и его осложнений вовлечено множество механизмов: наработка продуктов неферментативного гликозилирования (AGE)/рецепторов к ним (RAGE); стресс эндоплазматического ретикулума; активация сорбитолового пути, поли-(АДФ рибоза) полимеразы, 12/15-липоксигеназы и гемоксигеназы-1. Отсюда огромные затраты на лечение как самого заболевания, так и его осложнений, что далеко не всегда приводит к хорошим результатам. В связи с этим приоритетным направлением научных исследований является поиск методов профилактики и коррекции сахарного диабета 2 типа и его осложнений.