

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

© С.Г. Щербак^{1,2}, С.В. Макаренко^{1,2}, Т.А. Камилова², А.С. Голота², А.М. Сарана^{1,3}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Городская больница № 40 Курортного административного района, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ Комитет по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Статья посвящена анализу современного состояния регенеративно-реабилитационного лечения повреждений скелетных мышц, возможностям восстановления функций мышечной ткани, утраченных в результате старения, травм или болезней. Изучение молекулярно-генетических основ механотрансдукции и механотерапии позволит идентифицировать гены и молекулы, уровни экспрессии которых могут служить биомаркерами эффективности регенеративно-реабилитационных мероприятий. Эти механизмы представляют собой потенциальные терапевтические мишени для стимуляции регенерации скелетных мышц. Основное внимание в статье обращается на выбор индивидуального подхода как при проведении фундаментальных научных исследований, так и при разработке программ реабилитации. Все это позволит значительно улучшить результаты лечения пациентов.

Ключевые слова: скелетные мышцы; реабилитация; регенерация; физиотерапия; механотрансдукция; механотерапия; молекулярно-генетический механизм.

Для цитирования: Щербак С.Г., Макаренко С.В., Камилова Т.А., Голота А.С., Сарана А.М. Регенеративная реабилитация повреждений скелетных мышц. *Клиническая практика*. 2021;12(4): 51–65. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract70873>

Поступила 07.03.2021

Принята 01.06.2021

Опубликована 03.06.2021

REGENERATIVE REHABILITATION OF SKELETAL MUSCLE DAMAGES

© S.G. Scherbak^{1,2}, S.V. Makarenko^{1,2}, T.A. Kamilova², A.S. Golota², A.M. Sarana^{1,3}

¹ Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

² Saint-Petersburg City Hospital No 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russian Federation

³ Health Committee of Saint Petersburg, Saint Petersburg, Russian Federation

The article is devoted to the analysis of the current state of regenerative and rehabilitative treatments of skeletal muscles, the possibilities of restoring the functioning of tissue lost due to aging, injuries or diseases. The study of the molecular genetic basis of mechanotransduction and mechanotherapy will allow the identification of genes and molecules, the expression levels of which can serve as biomarkers of the effectiveness of regenerative-rehabilitation measures. These mechanisms are potential therapeutic targets for stimulating of regeneration of skeletal muscles. The focus of the article is on the choice of an individual approach, both when conducting basic scientific research and developing rehabilitation programs. All this will significantly improve patient outcomes.

Keywords: skeletal muscle; rehabilitation; regeneration; physiotherapy; mechanotransduction; mechanotherapy; molecular genetic mechanism.

For citation: Scherbak SG, Makarenko SV, Kamilova TA, Golota AS, Sarana AM. Regenerative Rehabilitation of Skeletal Muscles Damages. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(4):51–65. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract70873>

Submitted 07.03.2021

Revised 01.06.2021

Published 03.06.2021

ВВЕДЕНИЕ. РЕГЕНЕРАТИВНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ

Регенеративная реабилитация является новой областью исследований, которая стремится объединить регенеративную медицину с реабилитационной медициной. Реабилитационные стратегии усиливают регенеративные свойства как эндогенных, так и трансплантированных клеток путем стимуляции клеточных механотрансдуктивных путей. Концепция влияния биофизических сигналов на функцию стволовых клеток и регенерацию тканей непосредственно связана с реабилитационной медициной — клинической областью, которая объединяет физические стимулы и функциональные результаты. Применение стандартных реабилитационных подходов — лечебная физкультура, растяжение, электростимуляция, мобилизация и вытяжение суставов, ультразвук и модуляция температуры ткани под воздействием тепла или льда — основано на клинических данных о том, что стимулы на тканевом или организменном уровне могут улучшать функциональные результаты после травмы и в состоянии заболевания. Раннее начало программы упражнений обычно применяется для ускорения регенерации и восстановления функций после острого повреждения скелетных мышц. Физическая терапия имеет множество косвенных медиаторов, таких как секреция факторов роста, усиление васкуляризации и модуляция воспалительных каскадов, значимых для регенерации тканей. Регенеративную реабилитацию можно рассматривать как подход трансляционной механобиологии, в которой механические сигналы направляют дифференцировку и функционирование клеток с помощью реабилитационных процедур. Однако физические стимулы, которые приводят к функциональным улучшениям, недостаточно охарактеризованы на уровне таких ключевых параметров, как время после операции или травмы, частота, интенсивность и продолжительность воздействия [1].

Завершение проекта «Геном человека» в 2003 году ознаменовало рождение персонализированной терапии во всех областях медицины, в том числе физиотерапии. Реакции пациентов на реабилитационные вмешательства, как известно, неодинаковы, несмотря на сходство нарушений. Знание генетических вариаций поможет физиотерапевтам лучше понять индивидуальные различия, влияющие на реакцию организма на лечение и на общее самочувствие пациентов. Обеспечение терапевтов этим инструментом для страти-

фикации отдельных пациентов усилит эффект терапии.

МЕХАНОТЕРАПИЯ. МЕХАНОТРАНСДУКЦИЯ

Определение механотерапии, предложенное W.R. Thompson и соавт. [2], как «любое вмешательство, которое использует механические силы с целью изменения молекулярных путей и индукции клеточного ответа, усиливающего рост, моделирование, ремоделирование или восстановление тканей», подчеркивает полисистемную иерархию структур (молекулы–клетки–ткани), которая реагирует на механические сигналы. Сжимающие, растягивающие и сдвиговые силы взаимодействуют друг с другом, чтобы организовать сложный и строго регулируемый ряд событий, которые в конечном итоге направляют экспрессию генов в клетке. Почти все исследованные типы клеток (остеобласты, хондроциты, миообласты, фибробласты, мезехимальные стволовые клетки и др.) демонстрируют значимые ответы на биомеханические стимулы.

Механотрансдукция как преобразование механических стимулов в клеточный и молекулярный ответ представляет собой основной компонент адаптивной способности тканей в ответ на механические раздражители и подразумевает наличие в клетке механизма для восприятия сигнала. К механическим стимулам относятся напряжение, сжатие и сдвиг, гидростатическое давление, вибрация и движение жидкости параллельно клеточной мембране. Клеточный механочувствительный механизм — это передача сигналов по оси внеклеточный матрикс–интегрин–цитоскелет. Рецепторы клеточной поверхности получают и передают биохимические и механические сигналы, влияющие на адгезию, миграцию, морфологию, пролиферацию, дифференцировку стволовых клеток, внутриклеточную сигнальную трансдукцию и обмен компонентов матрикса через эффекторные белки и транскрипционные факторы. К механочувствительным рецепторам относятся интегрины, рецепторы факторов роста и активированные растяжением ионные каналы. Трансмембранные рецепторы интегрины соединяются вне клетки с белками внеклеточного матрикса (ВКМ) и внутри клетки с цитоскелетом, создающим динамический баланс между противодействующими силами сжатия и растяжения. Любое изменение соотношения сил в ВКМ, к которому прикреплена клетка, приводит к нарушению клеточного гомеостаза. Результирующие конформационные изменения цитоскелета изме-

няют структуру хроматина и модулируют транскрипционную активность генов посредством взаимодействий между интегринами и сигнальными молекулами. Нарушение механического гомеостаза одной клетки может быть перенесено в соседние клетки через кадгерин-содержащие адгезионные комплексы [2].

Поскольку существует множество механосенсорных механизмов, существует также множество сигнальных путей, которые клетка использует для генерации биохимического ответа. Многие из путей перекрываются, имея общие сигнальные молекулы. Мембранные рецепторы взаимодействуют друг с другом, создавая перекрестные сигналы между внутриклеточными сигнальными каскадами, влияя на структуру и функцию цитоскелета, передавая сигнал от поверхности клетки к конечной эффекторной точке (транслокация транскрипционных факторов в ядро для генетической регуляции), повышая или понижая уровень генетической активности. Выбор между ростом, дифференцировкой и гибелью клеток регулируется этими связями. Синтезированные в результате белки с определенной функциональной специфичностью являются основными факторами в поведении клеток. Весь этот молекулярный процесс от сигнальной трансдукции, транскрипции и трансляции до транспорта белка реагирует на механическое возмущение [3].

ИНТЕГРАЦИЯ ЗНАНИЙ О МЕХАНОТРАНСДУКЦИИ В РЕГЕНЕРАТИВНУЮ РЕАБИЛИТАЦИЮ

Механотрансдукция лежит в основе механотерапии, а механотерапия — одна из самых больших групп вмешательств в физиотерапии. Понимая механические раздражители, на которые лучше всего реагируют мышечные клетки, и механизмы, которые эти клетки используют для преобразования механических сигналов в молекулярные реакции, физиотерапевты могут усиливать реакцию клеток на механические раздражители. Конечным результатом может быть аддитивное или синергическое ускорение регенерации тканей и восстановление функций у людей, получающих регенеративную терапию. В физиотерапии обычно используются внешние или внутренние механические стимулы с целью получения клеточного и молекулярного ответа [2].

По мере разработки новых биологически активных соединений и молекул, влияющих на механочувствительные пути, возникает необходимость

исследовать их комбинированные эффекты. Например, клинические испытания I–II фазы терапии моноклональными антителами LY2495655 против миостатина — негативного регулятора массы скелетных мышц взрослого человека показали, что это лечение увеличивает мышечную массу и может улучшить функциональные показатели мышечной силы. Связываясь с рецептором активина IIb, антитело LY2495655 ингибирует активацию сателлитных клеток и синтез мышечного белка, а также пролиферацию и дифференцировку миоцитов, способствует превращению миоцитов в образующие рубец миофибробласты, вместо миоцитов. Член суперсемейства трансформирующих факторов роста бета (transforming growth factor β , TGF- β) миостатин участвует в механотрансдукции скелетных мышц, при этом физическая активность и механическая нагрузка подавляют миостатиновый сигнал, высвобождая ингибитор миостатина фоллистатин. Ингибирование миостатинового сигналинга стимулирует синтез мышечного белка, увеличивает мышечную массу и активирует функции скелетных мышц [4]. Таким образом, фармакологическое ингибирование миостатина усиливает регенерацию и функциональное восстановление скелетных мышц, которая может быть дополнительно ускорена с помощью соответствующей механотерапии.

К неблагоприятным эффектам комбинации механотерапии с биологически активными соединениями относятся быстрое увеличение внутриклеточной концентрации кальция, индукция экспрессии циклооксигеназы-2 и высвобождение простагландина E2 в клетках скелетных мышц. Ингибирование этого раннего сигнального каскада путем введения блокаторов кальциевых каналов или нестероидных противовоспалительных препаратов до начала механотерапии может отрицательно влиять на адаптивные реакции. У лиц, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты до тренировки, наблюдалось ослабление адаптивного ответа костей, мышц и сухожилий [2].

Физические упражнения могут давать различные эффекты у генетически разных людей. Генетические факторы связаны с сердечно-легочными, сердечно-сосудистыми и скелетно-мышечными показателями, а также с реакциями на тренировки. Генетический полиморфизм детерминирует физическую активность и реакцию на физическую нагрузку. В скелетных мышцах человека дифференциально экспрессируются ~800 генов, регули-

руемых с помощью аэробных тренировок. Например, ген *RUNX1* (runt-related transcription factor 1) участвует в эритропоэзе, ген *SOX9* (SRY-box 9) — в восприятии парциального давления кислорода, ген *PAX3* (paired box 3) реагирует на окислительный стресс, т.е. участвуют в процессах, непосредственно связанных с молекулярным кислородом. Ответ транскриптома на тренировки на выносливость обнаруживает связь между регуляторными элементами ДНК и молекулярным кислородом. С/Т-полиморфизм гена *MC4R* (melanocortin-4 receptor), который играет роль в энергетическом гомеостазе, связан с физической активностью. Носители С-аллеля более физически активны и переносят более высокую физическую нагрузку, чем лица с генотипом Т/Т. Экспрессия гена *FHL1* (four and a half LIM domains 1), кодирующего молекулу интегринового сигналинга, выше у лиц с высоким уровнем ответа, чем у лиц с низким уровнем, после выполнения программы тренировок. Изменения экспрессии гена *FHL1* ассоциированы с изменениями метаболизма инсулина, вызванными тренировкой. У носителей -308А аллеля гена фактора некроза опухоли альфа *TNFA* (tumor necrosis factor- α) работоспособность повышается в результате ежедневного подъема по лестнице в течение 6 мес в большей степени, чем у гомозигот по -308G-аллелю [5].

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ И СКЕЛЕТНАЯ МЫШЦА

Механотрансдукция играет ключевую роль в регуляции синтеза белка, баланса кальция, сократимости и массы мышечной ткани. Миофибриллы, которыми заполнена мышечная клетка, способны отличать хроническое продольное напряжение, вызывающее рост в длину, от хронической функциональной или резистивной перегрузки, которая вызывает поперечную гипертрофию [3]. Во время неиспользования мышц при иммобилизации, невесомости и постельном режиме возникает атрофия скелетных мышц, в которую вовлечены многие молекулярные процессы, включая пути, влияющие на воспаление, функцию митохондрий, обмен белка, ремоделирование ВКМ и аутофагию. У здоровых добровольцев, подвергнутых иммобилизации, время восстановления приблизительно равно продолжительности неиспользования мышцы. После ортопедической травмы восстановление часто является неполным, несмотря на интенсивные реабилитационные вмешательства, со значительными межиндивиду-

альными различиями в ответах на реабилитационное лечение, что вынуждает группировать пациентов на «отвечающих» (респондеров) и «не отвечающих» (нереспондеров). У пациентов с высоким и низким ответом на реабилитацию есть отчетливые молекулярные отличия. В когортном исследовании пациентов с травмой лодыжки количественно оценили влияние иммобилизации (минимум на 4 нед) и последующей 6-недельной реабилитации на размер мышц и идентифицировали молекулярные пути, связанные с мышечной чувствительностью. Более высокая степень изменения размеров мышц наблюдалась у пациентов-респондеров (уровень ответа 20,5%) по сравнению с нереспондерами (уровень ответа 2,5%). Анализ транскрипции выявил большее количество дифференциально экспрессируемых генов у респондеров по сравнению с нереспондерами (с большей выраженностью изменений на острой стадии реабилитации в обеих группах) и основные молекулярные пути, по-разному затронутые в группах, включая гены, участвующие в митохондриальной функции, обмене белков, передаче интегриновых сигналов и воспалении. Это исследование подтвердило, что степень атрофии мышц из-за иммобилизации и степень восстановления при тренировках связаны с молекулярной сетью ремоделирования, которая может использоваться для оценки и прогнозирования клинических результатов реабилитации [6].

Быстрая потеря миофибриллярного белка в период неиспользования мышцы обусловлена временным снижением синтеза белка с последующим увеличением его деградации. Гены, регулирующие обмен белков, включая белки теплового шока, и гены, участвующие в деградации белков, описаны как один из основных путей, вовлеченных в атрофию мышц. И наоборот, увеличение нервно-мышечной активности (например, во время силовых тренировок) вызывает увеличение содержания белка, количества миоцитов, размера миофибрилл и мышечной силы. Регенерация мышц является сложным процессом, требующим скоординированного взаимодействия между миогенными клетками-предшественниками, цитокинами, факторами роста, синтезом белка, капиллярным морфогенезом и ВКМ. Гены и молекулярные пути, действующие в энергетическом обмене, воспалении, деградации белков, ремоделировании ВКМ и сосудистой сети, участвуют в мышечных реакциях на силовые тренировки [6].

Разные молекулярные сигнатуры в мышцах респондеров и нереспондеров при иммобилизации и реабилитации

У респондеров во время иммобилизации (до реабилитации) дифференциально экспрессируются 3313 гена, а у нереспондеров — только 1710, в середине реабилитации — 4124 и 3138, после реабилитации — 2627 и 1693 генов соответственно. Большее количество дифференциально экспрессируемых генов выявлено у респондеров по сравнению с нереспондерами как на стадии иммобилизации, так и на стадии реабилитации. Пациенты, которые ответили на иммобилизацию уменьшением мышечной массы, продемонстрировали изменения митохондриальной функции, обмена белков и BMP (bone morphogenic protein)-сигналинга. Единственным общим путем между группами пациентов является путь деградации (убиквитинирования) белка, причем большинство генов разные в каждой группе. Убиквитин-протеасомальный протеолиз является основной системой расщепления дол-

гоживущих белков скелетных мышц. Многие гены в пути убиквитинирования дифференциально экспрессируются в группах с высоким и низким уровнем ответа. У респондеров во время реабилитации показана более низкая экспрессия этих генов, хотя значимыми изменения были только в середине реабилитации, а также более сильная активация интегринового сигналинга. Некоторые сигнальные пути показали специфическую активацию только в одной из групп. Активация ILK-сигналинга (integrin-linked kinase) наблюдается только у респондеров. Пути, вовлеченные в антигенную презентацию и Fcγ-рецепторопосредованный фагоцитоз в макрофагах и моноцитах, активированы в середине реабилитации только у респондеров, тогда как путь передачи сигналов от актинового цитоскелета — только в группе с низким ответом (таблица) [6].

Анализ дифференциально экспрессируемых генов показал, что молекулярные пути, активированные в течение всего процесса иммобилизации–реабилитации, весьма различны в группах ре-

Таблица / Table

Сигнальные пути, затронутые во время иммобилизации и реабилитации [6]
Signaling pathways affected during immobilization and rehabilitation [6]

	Респондеры	Нереспондеры
Иммобилизация	Окислительное фосфорилирование (66)	GM-CSF сигналинг (15)
	Митохондриальная дисфункция (55)	Убиквитинирование белков (40)
	Биосинтез убихинона (33)	Глиомоспецифичный сигналинг* (18)
	Убиквитинирование белков (64)	FAK сигналинг (17)
	BMP сигналинг (25)	CXCR4 сигналинг (24)
Острая фаза реабилитации (3 нед)	Убиквитинирование белков (84)	Митохондриальная дисфункция (45)
	Fcγ-рецептор-опосредованный фагоцитоз в макрофагах и моноцитах (31)	Окислительное фосфорилирование (44)
	ILK сигналинг (50)	Сигналинг актинового цитоскелета (55)
	Интегриновый сигналинг (51)	Интегриновый сигналинг (49)
	Антигенная презентация (15)	Биосинтез убихинона (22)
Хроническая фаза реабилитации (6 нед)	Молекулярные механизмы рака* (58)	Митохондриальная дисфункция (23)
	ILK сигналинг (35)	Интегриновый сигналинг (30)
	Клатринопосредованный эндоцитоз (31)	Сигналинг эфринового рецептора (24)
	Интегриновый сигналинг (35)	HMGB1 сигналинг (16)
	Убиквитинирование белков (43)	Рас сигналинг (17)

Примечание. * Хотя названия путей обычно прямо указывают на их биологические функции, связанный с раком путь может участвовать в регуляции клеточного роста и выживания. В скобках указано число дифференциально экспрессируемых генов.

Note. * Although pathway names usually indicate their biological functions directly, cancer-related pathways may be involved in the regulation of cell growth and survival. The number of differentially expressed genes is indicated in parentheses.

спондеров и нереспондеров. Идентифицированы специфические молекулярные сети (сигнатуры), связанные с высокой и низкой чувствительностью к иммобилизации и реабилитации. Супрессия митохондриальных генов и генов, регулирующих обмен белков, — основное изменение при мышечной атрофии, вызванной иммобилизацией. В процессе реабилитации наиболее активированы гены фоллистатина (в 2,5 раза) и *Noggin* (в 2,1 раза). Фоллистатин — позитивный регулятор мышечной массы, ингибитор миостатина, *Noggin* — ингибитор BMP-сигналинга, который подавляет преждевременную дифференцировку сателлитных клеток (резидентных стволовых клеток мышц) и способствует регенерации [6].

Среди дифференциально экспрессируемых генов — группа генов, кодирующих белки теплового шока (*heat shock protein*), экспрессия которых подавлена у лиц с высоким уровнем ответа, но не изменена у нереспондеров. Некоторые белки теплового шока, включая HSP70 и HSP90, активируются в мышцах в ответ на физическую нагрузку и могут улучшить их регенерацию. Белки HSP40 и HSP105 играют роль в атрофии мышц, вероятно, за счет увеличения деградации белка убиквитин-протеасомной системой. Как белки теплового шока, так и гены деградации белков оказались критически важными для регенерации и ремоделирования мышц.

Во время острой фазы реабилитации наиболее важные клеточные пути у респондеров — те, которые участвуют в мышечных реакциях на силовые тренировки, включая гены в сигнальных путях протеинкиназы ILK (*integrin linked kinase*). Интегрин-ILK-сигналинг играет критическую роль при гипертрофии как сердечной, так и скелетных мышц. У респондеров активированы 6 интегринов, которые участвуют в ангиогенезе — основном процессе, влияющем на ремоделирование скелетных мышц во время регенерации и гипертрофии мышц, или мышечной дифференцировке. Интегрин- $\alpha 4$ опосредует BMP-активированный ILK-сигналинг. Скелетные мышцы экспрессируют высокие уровни ILK в миотендиновых соединениях и костмерах (внесаркомерный цитоскелет), которые стабилизируют миотендиновые соединения и защищают мышцы от повреждений. ILK функционирует как молекулярный адаптер, связывающий интегрины с актиновым цитоскелетом и регулирующий полимеризацию актина. Отсутствие активной ILK приводит к мышечной дистро-

фии. Активация интегрин-ILK-сигнальных путей, свидетельствующая о ремоделировании мышц и ангиогенезе, является молекулярной сигнатурой ремоделирования в ответ на физическую нагрузку только у респондеров [6].

Воспаление, включая клеточную инфильтрацию и продукцию специфических цитокинов, играет ключевую роль в регенерации и гипертрофии мышц в ответ на острые физические нагрузки. Активация генов и сигнальных путей, связанных с воспалением, в группе пациентов с высоким уровнем ответа идентифицированы только в острой фазе реабилитации. Воспалительные реакции не обнаружены во время поздней фазы реабилитации. Таким образом, активация воспалительных путей в начале реабилитации оказалась уникальной молекулярной характеристикой группы с высоким уровнем ответа.

Молекулярная сигнатура слабых респондеров во время острой фазы реабилитации вместо воспаления и ремоделирования ВКМ указала на продолжение митохондриальной дисфункции. Митохондриальный дефект остается главным даже на поздней стадии реабилитации и, видимо, является причиной слабой реакции этих пациентов на реабилитацию. Анализ экспрессии, основанный на реакции пациентов на иммобилизацию и реабилитацию, позволил сделать два основных вывода. Во-первых, результаты тренировок положительно коррелируют со степенью транскриптомных изменений: слабая адаптация к физическим нагрузкам соответствует меньшим изменениям генной экспрессии в биоптатах мышц. Во-вторых, сигнатуры людей с различной чувствительностью к иммобилизации и реабилитации отличаются по активации путей, контролирующей функции митохондрий, обмен белков и ремоделирование мышц [6]. Авторы предполагают, что транскриптомные сигнатуры экспрессии мышечных генов могут иметь прогностическую ценность относительно результатов реабилитации после атрофии скелетных мышц, развившейся от их неиспользования.

Саркопения — прогрессирующая возрастная потеря мышечной массы и силы/функции — один из наиболее заметных коррелятов старения, отличающийся на клиническом уровне биологический возраст от хронологического. Связь между отсутствием физической активности, недостаточным потреблением энергии и белка и плохим состоянием мышц у пожилых людей позволяет предположить, что физические упражнения и специальные

пищевые добавки могут дать существенный терапевтический эффект против саркопении. Процесс старения сопровождается мультисистемными нарушениями, которые истощают гомеостатическую способность организма в целом. Это состояние имеет многофакторное происхождение и включает в себя образ жизни, триггеры заболевания и возрастные биологические изменения (хроническое воспаление, аномалии митохондрий, потеря нервно-мышечных соединений, снижение количества/функции сателлитных клеток и гормональные изменения). Признание саркопении как основной детерминанты неблагоприятных последствий для здоровья вызвало попытки разработать меры по остановке мышечного старения [7].

Физическая активность является анаболическим стимулом синтеза мышечного белка. Лейцин — основной пищевой регулятор анаболизма мышечного белка, благодаря его способности активировать рапамициновый сигнальный путь (mTOR) и ингибировать протеасомы. У пожилых людей снижается мышечный анаболизм низких доз незаменимых аминокислот (<10 г), более высокие дозы (10–15 г, в том числе по меньшей мере 3 г лейцина) достаточны для индукции анаболического ответа, сравнимого с таковым у молодых людей. Именно поэтому для улучшения здоровья мышц в пожилом возрасте рекомендуется потреблять источники белка с более высокой пропорцией высококачественных белков, богатых лейцином (например, постное мясо, соевые бобы, арахис и чечевица) [8], а также легкоусвояемые белковые добавки [7].

Синергия между физическими упражнениями и диетой может бороться с саркопенией во многих аспектах. Под физической активностью понимается любой уровень активности скелетных мышц, приводящий к увеличению расхода энергии. Упражнения, напротив, являются запланированной, структурированной, повторяющейся деятельностью, направленной на улучшение физической формы. Физическая активность и физические упражнения — наиболее эффективные меры по содействию здоровому старению [9], которые смягчают вредные проявления старения, в том числе нарушение чувствительности к инсулину, дисфункцию митохондрий, ускорение апоптоза миоцитов и воспаление [10]. А.М. Martone и соавт. [7] суммировали имеющиеся данные о положительном влиянии поведенческих вмешательств на саркопению. Среди различных видов тренировок низкоинтенсивные упражнения на выносливость увеличи-

вают эффективность аэробной тренировки за счет улучшения окислительной способности скелетных мышц и сердечно-сосудистой функции. Увеличение капиллярности мышц позволяет соответствовать большим запросам на митохондриальный поток кислорода. Во время упражнений на выносливость наблюдается увеличение мышечного митохондриального компартмента, особенно у нетренированных людей, площадь поперечного сечения мышечного волокна при этом практически не зависит от этого типа тренировки. Упражнения с высокой нагрузкой, напротив, влияют как на площадь поперечного сечения волокна, так и на мышечную функцию (силу и мощность), главным образом за счет увеличения количества и размера быстро сокращающихся волокон (типов IIA и IIX). В ответ на различные протоколы упражнений мышечные клетки модулируют экспрессию специфических белков, относящихся к биогенезу и функции митохондрий, таких как PGC-1 α (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator-1 alpha) и белок mFABP, связывающий мышечные жирные кислоты [10]. В частности, PGC-1 α , активируя несколько факторов транскрипции, организует митохондриальный биогенез, в то время как mFABP участвует в утилизации жирных кислот для митохондриальной продукции энергии [7].

Активация сателлитных клеток представляет собой адаптацию к хроническим физическим нагрузкам. Включение новых ядер из сателлитных клеток в мышечные волокна увеличивает число «мионуклеарных доменов» (анатомических и функциональных единиц, состоящих из мионуклеуса и окружающей саркоплазмы) и, следовательно, площадь поперечного сечения волокна. Активация сателлитных клеток зависит от ряда факторов, включая возраст, статус питания, а также тип и интенсивность физических упражнений. Во время физических упражнений миофибриллы секретируют гормоны и медиаторы воспаления, способные активировать сателлитные клетки, увеличивая количество ядер, включенных в мышечные волокна [7].

Снижение системного воспаления является дополнительным механизмом, благодаря которому упражнения положительно влияют на физиологию мышц. Физические упражнения (аэробные упражнения и силовые тренировки) снижают циркулирующие уровни медиаторов воспаления у пожилых людей [11]. Такая адаптация коррелирует с увеличением мышечной массы и физической ра-

ботоспособности [12]. Таким образом, регулярные физические упражнения положительно влияют на физиологию мышц за счет локальных и системных воздействий. Комбинация упражнений с потреблением белка, по-видимому, является наиболее вероятной стратегией увеличения мышечной массы, силы и физической работоспособности у ослабленных пожилых индивидов и спортсменов [13].

Проект «Sarcopenia and physical frailty in older people: multicomponent treatment strategies» (SPRINTT) спланирован для предоставления клиницистам доказательств, необходимых для продвижения практических стратегий для пожилых людей с риском физической инвалидизации. SPRINTT является крупнейшим клиническим исследованием для проверки эффективности мультимодальной стратегии по предотвращению инвалидизации пожилых людей с физической слабостью и саркопенией. Питательный компонент SPRINTT разработан с целью получить максимальную пользу от физической активности и направлен на достижение ежедневного потребления энергии 25–30 ккал/кг массы тела и среднего ежедневного потребления белка не менее 1,0–1,2 г/кг массы тела [14]. Мышечная масса контролируется сложным взаимодействием множества факторов, тем не менее динамический баланс между синтезом белка и его расщеплением является его главной детерминантой. Сохранение мышечной массы и функций признано в качестве важнейшего фактора, способствующего здоровому старению и улучшению качества жизни. Именно поэтому саркопения представляет собой идеальную цель для вмешательств, направленных на предотвращение или отсрочку возникновения связанных со здоровьем негативных событий в пожилом возрасте [7].

Объемная мышечная потеря (ОМП) приводит к замене сократительной скелетной мышцы патологической фиброзной тканью, неспособной сокращаться, хроническому функциональному дефициту и инвалидности [15]. Функциональная способность после ОМП продолжает снижаться со временем, что может быть связано с гетерогенностью травм и распространенностью множественных сопутствующих ОМП повреждений, таких как перелом [16]. ОМП могут быть вызваны продолжительным коматозным состоянием, повреждением периферических нервов или нервных путей, поэтому техникой реабилитации в этих случаях является прерывистая электростимуляция мышечных волокон, оставшихся после травмы. Она способствует

моторной и сенсорной реиннервации и регенерации после повреждения нерва благодаря нейротрофинам мозга. Пассивные двигательные упражнения без весовой нагрузки, которые не основаны на функционально иннервированных мышечных волокнах, и прерывистую электростимуляцию проводят в условиях больницы [17]. В ограниченном числе тематических исследований ОМП и доклинических модельных исследований на грызунах продемонстрировано полезное функциональное ремоделирование скелетных мышц с помощью бега в качестве метода физической терапии [18, 19].

S.M. Greising и соавт. [17] предположили, что раннее вмешательство после ОМП увеличит эндогенную регенеративную и окислительную способность мышечной ткани, остающейся после повреждения. Они разработали экспериментальный протокол реабилитации, основанный на движении пассивного диапазона (сгибании голеностопа на 20° от нейтрального положения в обоих направлениях) и прерывистой электростимуляции, чтобы понять генетический и функциональный ответ ткани, остающейся после ОМП. Взрослые мышцы перенесли ~20%-ную одностороннюю ОМП мышц задней конечности и были рандомизированы в группу реабилитации или в группу без лечения. Через 4 мес ОМП представляла собой 51%-ный дефицит крутящего момента. Относительная мышечная масса подошвенного сгибателя была на 18% больше по сравнению с состоянием через 1 мес. Ранняя реабилитация не влияла на массу тела. Реабилитация с использованием электростимуляции привела к функциональным улучшениям, но не смогла полностью сгладить связанные с ОМП функциональные дефициты. Наблюдается положительная связь между числом сеансов реабилитации и субмаксимальным моментом вращения подошвенной мышцы-сгибателя вокруг лодыжки. Пассивный крутящий момент при сгибании на 20° (когда мышцы подошвенного сгибателя пассивно сопротивляются растяжению) оценивали для определения жесткости мышц. Через 4 мес ОМП проявлялась более чем в трехкратном увеличении пассивной жесткости, но ранняя реабилитация ослабила этот эффект. Независимо от времени, пассивный крутящий момент мышц подошвенного сгибателя после реабилитации с помощью тренировки и прерывистой электростимуляции уменьшился наполовину. Несмотря на отмеченные улучшения в мышцах голеностопного сустава после реабилитации, отложение коллагена и фиброзное отложение остались неизменными.

Уровни потребления кислорода в волокнах вблизи участка повреждения были на 25% ниже, чем в волокнах контралатеральной неповрежденной конечности. Это свидетельствует о ранее неопisanном нарушении при ОМП, которое отражает метаболическую дезадаптацию, устойчивую к исследованным реабилитационным подходам [17].

Острый генетический ответ на ОМП. Чтобы исследовать клеточные механизмы патофизиологии повреждений ОМП, в течение 3; 7 или 14 дней после повреждения оценивали изменения транскрипции воспалительных, нейрогенных, фиброгенных, миогенных и метаболических генов. Обнаружены 30 дифференциально экспрессируемых генов в поврежденной ОМП конечности по сравнению с неповрежденной конечностью. Большинство исследованных генов были значительно активированы, экспрессия генов *Mstn* (myostatin), *Slc2a4* (solute carrier family 2, adenine nucleotide translocator, member 4) и *Ppargc1a* (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha) снижена. Экспрессия миогенных, метаболических и воспалительных генов была значительно повышена на 3-й день по сравнению с 7-м и 14-м днями после травмы. Некоторые фиброгенные и нейрогенные гены (*Mmp9*, *Col3a1*, *Fbxo32*, *Tgfb β 3* и *Nrg1*) были значительно повышены на 3-й день по сравнению с 14-м днем. Экспрессия воспалительных генов, связанная с ОМП, по меньшей мере в 4 раза увеличена на 3-й день по сравнению с 7-м и 14-м днями, хотя воспаление было значительно усилено и в поздних временных точках [17].

Острый генетический ответ на реабилитацию. Чтобы определить, как ранняя реабилитация может изменить паттерн экспрессии генов, связанный с ОМП, анализировали экспрессию генов икроножной мышцы у мышей, которые прошли раннюю реабилитацию (пассивные движения + прерывистая электростимуляция). После реабилитации наблюдалось значительное снижение экспрессии воспалительных (*Il33*, *Tnf*, *Il4*, *Cxcr3*, *Cxcl1*, *Ccl5*, *Ccl2*) и метаболических (*Akt2*, *Prkaa1*, *Pparfcla*, *Sk2a4*) генов. Это говорит о том, что ранняя реабилитация может смягчить острый дезадаптивный ответ на ОМП, что, вероятно, связано с улучшением функции и пассивной жесткости мышц [17].

Современные методы регенеративной медицины и реабилитации для пациентов с ОМП не показали значимого восстановления мышечной силы или функции конечностей. Основным фактором, ограничивающим реабилитацию, является остав-

шаяся после травмы мышечная ткань, ее способность к адаптации и/или способность восстанавливаться после травмы. У пациентов, перенесших ОМП, реабилитация часто начинается после того, как в мышце развился значительный фиброз, который препятствует функциональному улучшению. Пассивные движения и электрическую стимуляцию можно начинать рано после ОМП. Наиболее значимые результаты заключаются в том, что раннее начало пассивной двигательной терапии ослабляло вызванное травмами увеличение жесткости мышц, но не улучшало активную мышечную функцию, и что комбинация ранней пассивной двигательной терапии с электростимуляцией нервной системы улучшила активную функцию мышц, но не ослабила увеличение жесткости, и при этом аннулировала способность пассивной двигательной терапии предотвращать повреждение, вызванное повышением жесткости мышц. Известно, что фиброз скелетных мышц препятствует заживлению и регенерации, изменяет микросреду и нарушает архитектуру мышечной ткани. Возможно, фиброзная реакция после травмы ограничивает успех реабилитации и/или оказывает воздействие на оставшуюся мышечную ткань. Поскольку фиброзная ткань заполняет пустоту, оставленную ОМП, авторы предположили, что ранняя двигательная терапия, отдельно или в сочетании с электростимуляцией, уменьшит отложение коллагена и жесткость фиброзной ткани. Заметное положительное влияние двигательной терапии на снижение жесткости подтверждает эту гипотезу, однако различий между реабилитационными группами по содержанию общего коллагена в поврежденной конечности не обнаружено (т.е. электростимуляция не повлияла) [17].

Метаболическая способность скелетных мышц в большинстве случаев восстанавливается после травмы. В частности, во время нормальных регенеративных процессов биогенез митохондрий сопровождает восстановление мышц после травмы для удовлетворения энергетических потребностей. Такие травмы, как ОМП, представляют собой невосстановимое повреждение, при котором мышца имеет ограниченный регенеративный потенциал и теряет способность к восстановлению [20]. Митохондриальная функция подавлена у мышей с ОМП по сравнению с полностью неповрежденными мышцами, однако заметных различий в митохондриальной функции между поврежденными и контралатеральными неповрежденными мышцами не обнаружено. ОМП индуцирует острое

и хроническое системное воспаление — ключевой компонент патогенного ответа, который, если его не лечить, может снизить эффективность реабилитационного и восстановительного лечения. Рост соединительной ткани, регулируемый экспрессией генов семейства *TGF1B*, усиливается через 1 нед после ОМП, а через 2 нед происходит индукция миогенных и воспалительных генов [21]. Уникальной для ОМП является продолжительность индукции воспалительных генов, более длительная по сравнению с обычными эндогенно заживающими повреждениями [22, 23]. Ранняя реабилитация ослабляет эту воспалительную реакцию. Хотя оставшаяся после ОМП ткань благоприятно адаптируется к ранней реабилитации, метаболическая пластичность мышцы ограничена. Ограниченная или утраченная подвижность, плохая метаболическая функция и слабое системное воспаление после ОМП могут способствовать развитию или обострению метаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний [17].

Травма скелетных мышц в виде ОМП находится в центре внимания регенеративной терапии из-за отсутствия эффективных подходов для восстановления структуры и/или функции. Только трансплантация стволовых клеток или только физическая терапия дают скромное улучшение результата. Однако добавление физической активности (на беговой дорожке) к биоскаффолдам со стволовыми клетками заметно улучшило функциональное восстановление [19]. Комбинированный подход привел к уменьшению фиброза, улучшению структуры и биомеханики, усиленной васкуляризации и иннервации новой мышечной ткани [1]. Когда для заживления мышечного повреждения используются стволовые клетки, механическая активация с помощью упражнений способствует пролиферации трансплантированных клеток и более эффективному восстановлению поврежденной мышцы. Когда скаффолды для ОМП комбинируют со стволовыми клетками, упражнения увеличивают иннервацию тканеинженерного конструкта. Использование роботизированных платформ для мониторинга мышечной недостаточности и индивидуальных тренировок в процессе лечения может улучшить восстановление и общие двигательные характеристики [24, 25].

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАБИЛИТАЦИИ

Эпигенетические механизмы представляют собой связь между окружающей средой и функцией

гена и определяют изменение экспрессии генов, не изменяя основную последовательность ДНК. Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК и взаимодействие РНК–микроРНК, могут быть измерены и сопровождать клиническую оценку для измерения эффективности различных вмешательств, включая лечебную физкультуру. Эпигенетические механизмы следует изучать и использовать для продвижения основанного на молекулярных механизмах клинического мышления и разработки новых методов лечения и реабилитации. Эпигенетические маркеры могут использоваться для идентификации и оценки механизмов, позволяющих адаптировать реабилитационное лечение к каждому пациенту.

Эпигенетические процессы можно классифицировать на 3 основные категории:

- 1) модификации гистонов и ремоделирование хроматина;
- 2) метилирование ДНК;
- 3) ингибирование генной экспрессии некодирующими РНК (нкРНК).

Метилирование ДНК — наиболее изученная эпигенетическая модификация, при которой ДНК-метилтрансферазы добавляют в ДНК метильные группы, препятствующие связыванию транскрипционных факторов и экспрессии генов [26].

Механизмом, вызывающим молчание генов, является интерференция нкРНК — циркулирующих РНК, которые не служат для кодирования функциональных белков. Они могут препятствовать транскрипции, связывать и деградировать те молекулы РНК, которые обычно транслируются в белки. Семейство нкРНК включает в себя микроРНК, малые интерферирующие РНК и длинные некодирующие РНК. Эпигенетические механизмы тесно взаимосвязаны. Например, метилирование ДНК может препятствовать транскрипции нкРНК, которая заставила бы замолчать определенный ген. В этом случае метилирование ДНК приведет к усилению, а не снижению экспрессии этого гена. МикроРНК могут таргетировать гистондеацетилазы — ферменты, которые удаляют ацетильные группы из гистоновых белков, влияя таким образом на структуру хроматина [27].

Эпигенетика и физические упражнения. Физические упражнения вызывают изменения в метилировании ДНК более чем в 350 генах скелетных мышц [28, 29]. Большинство из них оказались деметилированными после упражнений. Эти изменения более выражены у пожилых людей [29]. Физическая

нагрузка вызывает эпигенетические изменения в нескольких областях центральной нервной системы. Один сеанс упражнений на беговой дорожке снижает деацетилирование гистонов способом, аналогичным действию ингибиторов гистондеацетилаз, связанных с повышенной возбудимостью нейронов. Эти результаты могут объяснить хорошо известный гипоалгезический эффект физических упражнений [26]. Выяснилось, что мышцы имеют эпигенетическую память, которая влияет на их рост. Несколько недель силовых тренировок увеличивают мышечную массу и снижают уровень метилирования многих генов. Некоторые из этих генов остаются гипометилированными в течение нескольких недель после окончания тренировки, даже если размер мышц вернулся к исходному. После второго периода тренировки (через 8 нед после окончания первого) многие гены показывают еще более быстрое деметилирование [30]. Это, по-видимому, означает, что короткая укрепляющая программа эпигенетически стимулирует мышцы и способствует лучшей реакции на последующие программы тренировок.

Ингибирование гистондеацетилаз способствует экспрессии нейротрофического фактора BDNF (brain-derived neurotrophic factor), который осуществляет связь между физическими упражнениями и функциями мозга. Экспрессия BDNF увеличивается после физической активности, опосредует синоптическую пластичность и улучшает когнитивные функции. Однако уровни BDNF повышены в сыворотке и плазме пациентов с фибромиалгией. Дальнейшее их повышение после тренировки может, таким образом, объяснить ухудшение симптомов, наблюдаемое у некоторых пациентов с хронической болью. Механизм двойного действия BDNF не получил объяснения. У пациентов с фибромиалгией найдены несколько по-разному метилированных участков в гене *BDNF*, контролирующем синаптическую передачу сигналов и возбудимость нейронов. Возможно, разные эпигенетические механизмы по-разному кодируют экспрессию или функции BDNF в разных регионах (например, в центральной нервной системе и периферических нервах) [26].

У здоровых людей регулярная физическая активность связана с повышением метилирования гена провоспалительного цитокина TNF и снижением метилирования гена противовоспалительно-го интерлейкина-10 (IL-10) [31]. Это подтверждает, что физическая активность играет положительную роль в регуляции воспаления. Метилирова-

ние всего генома снижено в биоптатах скелетных мышц, полученных у здоровых малоподвижных мужчин и женщин после острой физической нагрузки. Упражнения индуцировали дозозависимую экспрессию белков PGC-1 α (proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 α), PDK4 (pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4) и PPAR- δ (peroxisome proliferator-activated receptor delta), а также выраженное гипометилирование промоторов соответствующих генов. Активация генов, связанная с динамическим изменением метилирования ДНК в скелетных мышцах, означает, что гипометилирование ДНК является ранним событием в индуцированной сокращением мышц активации генов. Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что как однократная нагрузка, так и регулярная физическая активность вызывают изменения в генах, которые регулируют ноцицептивные процессы, страх и стрессовые реакции, а также патофизиологию невропатий и хронических заболеваний. Физическая активность действует аналогично множеству лекарств, которые таргетируют множество механизмов на разных уровнях одновременно [26].

Эпигенетика предоставляет биологические маркеры, которые можно использовать для измерения биологических эффектов таких широко используемых методов лечения, как физическая активность и физические упражнения. Сочетание клинических оценок с измерением эпигенетических маркеров расширит понимание этих вмешательств. Эпигенетические маркеры могут обеспечить новые лекарственные мишени.

МикроРНК (miR) регулируют экспрессию мРНК на посттранскрипционном уровне, связываются с мРНК-мишенями и дестабилизируют и/или деградируют их, что приводит к снижению трансляции. Выявлена значительная роль микроРНК в пластичности скелетных мышц [32] и межиндивидуальной вариативности адаптивного мышечного ответа на силовые тренировки [33].

Для скрининга ответа на силовые тренировки молодые мужчины выполняли упражнения на тренажере для сгибания рук. После скрининга участники с сильным (респондеры) и слабым (нереспондеры) ответом провели 12-недельные силовые тренировки на сгибание и разгибание колена. Упражнения увеличили площадь поперечного сечения двуглавой мышцы плеча, четырехглавой мышцы и подколенных сухожилий. Анализ экспрессии 800 микроРНК в биоптатах мышцы *vastus lateralis*

до и через 3 ч после тренировки обнаружил 17 miR (особенно 23b-3p, 26a-5p, 32-5p, 148b-3p и 376a-3p), дифференциально экспрессирующихся у респондеров и нереспондеров на исходном уровне, 23 miR (особенно let-7a-5p, 95, 148a-3p 376a -3p) и 26 miR (особенно 30d-5p и 376a-3p) — после острых и хронических силовых тренировок соответственно, что указывает на участие микроРНК в адаптации скелетных мышц к тренировкам. Уровень экспрессии miR-95 снижался после физической нагрузки только у респондеров [33]. Этот результат согласуется с результатами D.A. Rivas и соавт. [34], которые показали, что уровень экспрессии miR-95-3p снижается после тренировки у молодых, но не у старых участников. E. Zacharewicz и соавт. [35] исследовали экспрессию 754 микроРНК и обнаружили изменение уровней экспрессии 13 miR, регулирующих белковый синтез в мышцах, после острых силовых тренировок как у молодых, так и пожилых участников.

Известно, что некоторые факторы, влияющие на чувствительность мышц к тренировкам, изменяют базовую экспрессию miRNA. Например, старение обычно ассоциируется со сниженной способностью вызывать мышечную гипертрофию в ответ на силовые тренировки, и у пожилых людей наблюдается сниженная экспрессия микроРНК по сравнению с молодыми [34]. Например, экспрессия miR-26a-5p снижается у лиц старшего возраста по сравнению с молодыми людьми [33]. В исследованиях влияния хронических силовых тренировок на экспрессию микроРНК в скелетных мышцах продемонстрировано снижение экспрессии miR-1 и miR-133b у пожилых людей [36]. Экспрессия miR-29 с возрастом повышается в скелетных мышцах и изменяет уровни экспрессии маркеров миогенеза, роста мышц и старения (уровни IGF-1 и p85a снижаются, уровни SA-βgal, p16Ink4A и p53 повышаются) [37]. Это означает, что снижение экспрессии miR-29a после силовых тренировок положительно влияет на скелетные мышцы, а повышение способствует потере мышечной массы и старению. MiR-136-5p и miR-376a-3p дифференциально экспрессируются на исходном уровне и после острых и хронических силовых тренировок. Эти микроРНК могут способствовать адаптивной изменчивости скелетных мышц в ответ на силовые упражнения [33].

МАРКЕРЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Клетки периферической крови являются доступной средой, в которой можно визуализировать

вызванные физическими упражнениями изменения глобальной генной экспрессии. Идентифицирована сигнатура моноклеарных клеток периферической крови, представленная изменениями генной экспрессии в ответ на стандартный протокол тренировок на выносливость, в частности генетические классификаторы изменчивости поглощения кислорода (VO_2). У нетренированных людей дифференциально экспрессируются 211 транскриптов, связанных в основном с иммунной функцией, клеточным циклом, развитием и ростом [38]. Тренировки на выносливость способствуют системной адаптации, которая приводит к активации аэробного метаболического пути в мышечных клетках и в конечном итоге к лучшему усвоению кислорода. Будучи тренируемым фенотипом, индивидуальный максимальный прирост VO_2 имеет значительный генетический вклад (~47%) и широкий диапазон ответа на тренировки у людей со сходными фенотипическими характеристиками. Индивиды с высоким и низким ответом VO_2 на тренировку имеют разные паттерны экспрессии мышечных генов. Анализ дифференциально экспрессируемых генов моноклеарных клеток периферической крови показал, что активация острого воспалительного ответа напрямую зависит от интенсивности упражнений. Эффект тренировок ослабляет активность связанных с воспалением транскрипционных сетей, что согласуется со снижением воспаленного состояния, о котором свидетельствует снижение уровней маркеров воспаления TNF-α и IL-6 в сыворотке крови и экспрессии провоспалительных генов, кодирующих рецепторы RAGE (receptors for advanced glycation end-product), субъединицу NADPH-оксидазы p47phox, iNOS, MCP-1 и NF-κB p65.

После интенсивной физической нагрузки происходит высвобождение бесклеточной ДНК и микроРНК из различных тканей в циркуляцию. Упражнения активируют экспрессию генов с выраженной противовоспалительной функцией *ARG1*, *SOCS3*, *DUSP1*, *ORM*, *IRAK3* и *GJB6* [39]. Изучая динамику регуляторных сетей микроРНК-мРНК во время физической нагрузки и последующего периода восстановления, A.G. Tonevitsky и соавт. [40] обнаружили дифференциально экспрессируемые микроРНК и их известные мРНК-мишени. Полученные данные свидетельствуют о том, что miR-21-5p регулирует мРНК *TGFBR3*, *PDGFD* и *PPM1L*, miR-24-2-5p — *MYC* и *KCNJ2*, а miR-27a-5p — *ST3GAL6*. Мишенями miR-181a-5p являются гены *ROPN1L* и *SLC37A3* [40].

Все эти мРНК участвуют в ответе на физические нагрузки, включая иммунную функцию, апоптоз, мембранный транспорт белков и регуляцию транскрипции.

Молекулярные классификаторы физической нагрузки включают в себя ряд некодирующих молекул, которые могут быть связующими элементами различных транскрипционных сетей. Некодирующие РНК (нкРНК) являются регуляторами транскрипции в многочисленных биологических процессах, включая иммунный ответ и адаптацию, вызванную тренировкой. Среди дифференциально экспрессируемых микроРНК, контролирующих сети мРНК в клетках крови в ответ на острые физические нагрузки, идентифицированы miR-21-5p (зрелая форма miR-21), miR-223, miR-29c, miR-let-7f-1 и miR-233. Уровни циркулирующих miR-21 и miR-223 повышаются после одной тренировки на выносливость. Анализ мРНК, регулируемых miR, показал активацию тренировки реакций, связанных с иммунитетом/воспалением (гибель клеток, стрессовый ответ, пролиферация, убиквитиноповрежденный протеолиз). MiR-21 активирует NF-κB-TLR-сигналинг, что приводит к повышенной секреции провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF-α. Активированы также все малые ядерные РНК, что указывает на усиление биогенеза рибосомальной РНК при острой физической нагрузке [38].

Таким образом, мононуклеарные клетки периферической крови несут важную геномную информацию, выступая в качестве биосенсоров системной среды, и содержат транскрипционную сигнатуру из 211 транскриптов, реагирующую на тренировку, которая может быть связана с контролем и восстановлением иммунной функции, синтеза белка, клеточного цикла, развития и роста. Кроме того, базовая транскрипционная сигнатура (98 транскриптов) связана с изменениями VO_2 , что указывает на причинно-следственные связи между геномными взаимодействиями и фенотипическим ответом на тренировки [38]. Транскрипционные изменения в клетках периферической крови совпадают с основными механизмами, потенциально контролирующими физиологическую адаптацию, вызванную тренировкой. Одним из преимуществ улучшения состояния здоровья при хронических упражнениях легкой и средней интенсивности является улучшение иммунной функции. Клеточный сигналинг и связь между физической нагрузкой и клеточными реакциями на нее все еще далеки от полной оценки. Знание этих основополагающих

механизмов позволит разработать оптимальные протоколы реабилитации для улучшения результатов лечения пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение молекулярно-генетических основ механотрансдукции и механотерапии позволит идентифицировать гены и молекулы, уровни экспрессии которых могут служить биомаркерами эффективности регенеративно-реабилитационных мероприятий. Эти знания дадут возможность оптимизировать программы терапии, выбрать правильное направление упражнений и других реабилитационных воздействий, чтобы улучшить состояние пациентов, ускорить восстановление дефектов и травм и не нанести вреда пациентам. Связь между механическими сигналами, механотрансдукцией и экспрессией генов только недавно стала объектом экспериментальных исследований. Регенеративная реабилитация может многое предложить в области ортопедии. Воздействие механических сил оказывает позитивное влияние на заживление и регенерацию. Для разработки программ реабилитации для конкретных пациентов необходима интеграция фундаментальных научных открытий, чтобы расширить понимание механики на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях, что в конечном итоге приведет к улучшению результатов лечения. Ранняя мобилизация и реабилитация, начатая в условиях стационара при различных клинических состояниях, приводит к сокращению времени госпитализации и улучшению функции. Однако точных данных о дозировании механической нагрузки на заживающую ткань с адекватной частотой, продолжительностью, величиной и типами нагрузок недостаточно для получения оптимального результата.

Экспрессия генов является механизмом динамического контроля физиологических процессов. Физиологические адаптации к стрессовым стимулам тренировочных упражнений отражают молекулярные изменения, отчасти объясняемые изменениями в экспрессии генов. Дифференциальная регуляция различных типов клеток генерирует молекулярную сигнатуру специфических транскриптов. Уточнение биологической роли геномных маркеров тренировок помогает проследить связь с физиологическими изменениями и описать фенотип тренированности. Нарушения механотрансдукции способствуют развитию мышечной дистрофии и саркопении. Идентификация

молекул, участвующих в механотрансдукции, может выявить новые мишени для терапевтического вмешательства при расстройствах механотрансдукции и стимуляции регенерации костно-мышечных тканей. Фармакологические средства для «таргетирования» механочувствительных реакций могут повысить эффективность соответствующей механотерапии, что приведет к синергическому усилению анаболического стимула по сравнению с только фармакологическим вмешательством и только механотерапией.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. С.Г. Щербак, А.С. Голота — написание текста статьи; С.В. Макаренко, А.М. Сарана — написание и редактирование текста статьи; Т.А. Камилова — поисково-аналитическая работа, обсуждение и редактирование текста статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. S.G. Shcherbak, A.S. Golota — manuscript writing; S.V. Makarenko, A.M. Sarana — revision and manuscript writing; T.A. Kamilova — literature search and analysis, scientific editing. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

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

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rando TA, Ambrosio F. Regenerative rehabilitation: applied biophysics meets stem cell therapeutics. *Cell Stem Cell*. 2018; 22(3):306–309. doi: 10.1016/j.stem.2018.02.003
- Thompson WR, Scott A, Loghmani MT, et al. Understanding mechanobiology: physical therapists as a force in mechanotherapy and musculoskeletal regenerative rehabilitation. *Phys Ther*. 2016;96(4):560–569. doi: 10.2522/ptj.20150224
- Dunn SL, Olmedo ML. Mechanotransduction: relevance to physical therapist practice—understanding our ability to affect genetic expression through mechanical forces. *Phys Ther*. 2016;96(5): 712–721. doi: 10.2522/ptj.20150073
- Becker C, Lord SR, Studenski SA, et al. Myostatin antibody (LY2495655) in older weak fallers: a proof-of-concept, randomized, phase 2 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(12):948–957. doi: 10.1016/S2213-8587(15)00298-3
- Curtis CL, Goldberg A, Kleim JA, Wolf SL. Translating genomic advances to physical therapist practice: a closer look at the nature and nurture of common diseases. *Physical Therapy*. 2016;96(4):570–580. doi: 10.2522/ptj.20150112
- Chen YW, Gregory C, Ye F, et al. Molecular signatures of differential responses to exercise trainings during rehabilitation. *Biomed Genet Genom*. 2017;2(1). doi: 10.15761/BGG.1000127
- Martone AM, Marzetti E, Calvani R, et al. Exercise and protein intake: a synergistic approach against sarcopenia. *Biomed Res Int*. 2017;2017:2672435. doi: 10.1155/2017/2672435
- Landi F, Calvani R, Tosato M, et al. Protein intake and muscle health in old age: from biological plausibility to clinical evidence. *Nutrients*. 2016;8(5):295. doi: 10.3390/nu8050295
- World Health Organization. Global Recommendations on Physical Activity for Health. Geneva, Switzerland: WHO; 2010. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44399/1/9789241599979_eng.pdf
- Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. *Cell Metabolism*. 2016;23(6):1034–1047. doi: 10.1016/j.cmet.2016.05.007
- Bowen TS, Schuler G, Adams V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2015;6(3):197–207. doi: 10.1002/jcsm.12043
- Nunes PR, Barcelos LC, Oliveira AA, et al. Effect of resistance training on muscular strength and indicators of abdominal adiposity, metabolic risk, and inflammation in postmenopausal women: controlled and randomized clinical trial of efficacy of training volume. *Age*. 2016;38(2):40. doi: 10.1007/s11357-016-9901-6
- Facer-Childs E, Brandstaetter R. The impact of circadian phenotype and time since awakening on diurnal performance in athletes. *Current Biology*. 2015;25(4):518–522. doi: 10.1016/j.cub.2014.12.036
- Marzetti E, Calvani R, Cesari M, et al. Operationalization of the physical frailty & sarcopenia syndrome: rationale and clinical implementation. *Transl Med UniSa*. 2016;13:29–32.
- Corona BT, Rivera JC, Greising SM. Inflammatory and physiological consequences of debridement of fibrous tissue after volumetric muscle loss injury. *Clin Transl Sci*. 2018;11(2):208–217. doi: 10.1111/cts.12519
- Rivera JC, Corona BT. Muscle-related disability following combat injury increases with time. *US Army Med Dep J*. 2016;30–34.
- Greising SM, Warren GL, Southern WM, et al. Early rehabilitation for volumetric muscle loss injury augments endogenous regenerative aspects of muscle strength and oxidative capacity. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018;19(1):173. doi: 10.1186/s12891-018-2095-6
- Aurora A, Roe JL, Corona BT, Walters TJ. An acellular biologic scaffold does not regenerate appreciable de novo muscle tissue in rat models of volumetric muscle loss injury. *Biomaterials*. 2015;67:393–407. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.07.040
- Quarta M, Cromie M, Chacon R, et al. Bioengineered constructs combined with exercise enhance stem cell-mediated treatment of volumetric muscle loss. *Nat Commun*. 2017;8:15613. doi: 10.1038/ncomms15613
- Corona BT, Wenke JC, Ward CL. Pathophysiology of volumetric muscle loss injury. *Cells Tissues Organs*. 2016;202(3-4): 180–188. doi: 10.1159/000443925

21. Garg K, Ward CL, Rathbone CR, Corona BT. Transplantation of devitalized muscle scaffolds is insufficient for appreciable de novo muscle fiber regeneration after volumetric muscle loss injury. *Cell Tissue Res.* 2014;358(3):857–873. doi: 10.1007/s00441-014-2006-6
22. Hurtgen BJ, Ward CL, Garg K, et al. Severe muscle trauma triggers heightened and prolonged local musculoskeletal inflammation and impairs adjacent tibia fracture healing. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2016;16(2):122–134.
23. Sadtler K, Estrellas K, Allen BWD. Developing a pro-regenerative biomaterial scaffold microenvironment requires T-helper 2 cells. *Science.* 2016;352(6283):366–370. doi: 10.1126/science.aad9272
24. Lai S, Panarese A, Lawrence R, et al. A murine model of robotic training to evaluate skeletal muscle recovery after injury. *Med Sci Sport Exerc.* 2017;49(4):840–847. doi: 10.1249/MSS.0000000000001160
25. Gottardi R, Stoddart MJ. Regenerative rehabilitation of the musculoskeletal system. *J Am Acad Orthop Surg.* 2018;26(15):e321–e323. doi: 10.5435/JAAOS-D-18-00220
26. Polli A, Ickmans K, Godderis L, Nijs J. When environment meets genetics: a clinical review of the epigenetics of pain, psychological factors, and physical activity. *Arch Phys Med Rehabil.* 2019;100(6):1153–1161. doi: 10.1016/j.apmr.2018.09.118
27. Bianchi M, Renzini A, Adamo S, Moresi V. Coordinated actions of microRNAs with other epigenetic factors regulate skeletal muscle development and adaptation. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):E840. doi: 10.3390/ijms18040840
28. Denham J, Marques FZ, O'Brien BJ, Charchar FJ. Exercise: putting action into our epigenome. *Sports Med.* 2014;44(2):189–209. doi: 10.1007/s40279-013-0114-1
29. Brown WM. Exercise-associated DNA methylation change in skeletal muscle and the importance of imprinted genes: a bioinformatics meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2015;49(24):1568–1578. doi: 10.1136/bjsports-2014-094073
30. Seaborne RA, Strauss J, Cocks M, et al. Human skeletal muscle possesses an epigenetic memory of hypertrophy. *Sci Rep.* 2018;8(1):1898. doi: 10.1038/s41598-018-20287-3
31. Horsburgh S, Robson-Ansley P, Adams R, Smith C. Exercise and inflammation-related epigenetic modifications: focus on DNA methylation. *Exerc Immunol Rev.* 2015;21:26–41.
32. Kirby TJ, Chaillou T, McCarthy JJ. The role of microRNAs in skeletal muscle health and disease. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2015;20:37–77.
33. Ogasawara R, Akimoto T, Umeno T, et al. MicroRNA expression profiling in skeletal muscle reveals different regulatory patterns in high and low responders to resistance training. *Physiol Genomics.* 2016;48(4):320–324. doi: 10.1152/physiolgenomics.00124.2015
34. Rivas DA, Lessard SJ, Rice NP, et al. Diminished skeletal muscle microRNA expression with aging is associated with attenuated muscle plasticity and inhibition of IGF-1 signaling. *FASEB J.* 2014;28(9):4133–4147. doi: 10.1096/fj.14-254490
35. Zacharewicz E, Della Gatta P, Reynolds J, et al. Identification of microRNAs linked to regulators of muscle protein synthesis and regeneration in young and old skeletal muscle. *PLoS One.* 2014;9(12):e114009. doi: 10.1371/journal.pone.0114009
36. Zhang T, Birbrair A, Wang ZM, et al. Improved knee extensor strength with resistance training associates with muscle specific miRNAs in older adults. *Exp Gerontol.* 2015;62(1):7–13. doi: 10.1016/j.exger.2014.12.014
37. Hu Z, Klein JD, Mitch WE, et al. MicroRNA-29 induces cellular senescence in aging muscle through multiple signaling pathways. *Aging.* 2014;6(3):160–175. doi: 10.18632/aging.100643
38. Dias RG, Silva MS, Duarte NE, et al. PBMCs express a transcriptome signature predictor of oxygen uptake responsiveness to endurance exercise training in men. *Physiol Genomics.* 2015;47(2):13–23. doi: 10.1152/physiolgenomics.00072.2014
39. Abbasi A, Hauth M, Walter M, et al. Exhaustive exercise modifies different gene expression profiles and pathways in LPS-stimulated and un-stimulated whole blood cultures. *Brain Behav Immun.* 2014;39:130–141. doi: 10.1016/j.bbi.2013.10.023
40. Tonevitsky AG, Maltseva DV, Abbasi A, et al. Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. *BMC Physiol.* 2013;13:9. doi: 10.1186/1472-6793-13-9

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Щербак Сергей Григорьевич, д.м.н., профессор;
адрес: Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

Соавторы:

Макаренко Станислав Вячеславович, ассистент кафедры; e-mail: st.makarenko@gmail.com;
eLibrary SPIN: 8114-3984;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1595-6668>

Камилова Татьяна Аскарровна, к.б.н.;
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

Голота Александр Сергеевич, к.м.н., доцент;
e-mail: golotaa@yahoo.com;
eLibrary SPIN: 7234-7870;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Сарана Андрей Михайлович, к.м.н.;
e-mail: asarana@mail.ru; eLibrary SPIN: 7922-2751;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3198-8990>

AUTHOR'S INFO

The author responsible for the correspondence:

Sergey G. Scherbak, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
address: 7/9 Universitetskaya nab., 199034, Saint Petersburg, Russia; e-mail: b40@zdrav.spb.ru;
eLibrary SPIN: 1537-9822;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

Coauthors:

Stanislav V. Makarenko, Assistant Lecturer;
e-mail: st.makarenko@gmail.com;
eLibrary SPIN: 8114-3984;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1595-6668>

Tatyana A. Kamilova, Cand. Sci. (Biol.);
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

Alexander S. Golota, MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor;
e-mail: golotaa@yahoo.com;
eLibrary SPIN: 7234-7870;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Andrey M. Sarana, MD, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: asarana@mail.ru; eLibrary SPIN: 7922-2751;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3198-8990>