

ФИЗИОЛОГИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

РОЛЬ СТРЕТЧ-АКТИВИРУЕМЫХ КАНАЛОВ В РЕАЛИЗАЦИИ
mTORC1 СИГНАЛИНГА В ИЗОЛИРОВАННОЙ *m. soleus* КРЫСЫ
В ОТВЕТ НА МЕХАНИЧЕСКИЙ СТИМУЛ ПОСЛЕ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ

© Т. М. Мирзоев, С. А. Тыганов, Б. С. Шенкман

Институт медико-биологических проблем РАН,
Москва, Россия
E-mail: tmirzoev@yandex.ru

Цель исследования состояла в выявлении роли стретч-активируемых ионных каналов (SAC) в проведении механического сигнала к ключевому анаболическому пути mTORC1/p70S6k в камбаловидной мышце (*m. soleus*) крысы после 7-суточной функциональной разгрузки задних конечностей. Функциональная разгрузка мышц задних конечностей осуществлялась методом антиортостатического вывешивания (hindlimb suspension, HS). Крысы были разделены на 4 группы: 1) C (виварный контроль), 2) C+Gd (контрольные животные, мышца которых инкубировалась с GdCl₃ — ингибитором SAC), 3) HS (функциональная разгрузка в течение 7 суток), 4) HS+Gd (группа 7-суточного антиортостатического вывешивания с последующей инкубацией мышцы с GdCl₃). После окончания антиортостатического вывешивания изолированные камбаловидные мышцы крыс были подвергнуты серии эксцентрических сокращений (ЭС). В ответ на серию ЭС мышцы интактных животных наблюдалось увеличение фосфорилирования ключевых маркеров mTORC1-сигналинга: p70S6k и pS6. Степень механоиндуцированного прироста уровня фосфорилирования данных белковых маркеров была достоверно снижена примерно в одинаковой степени в группе «чистого» вывешивания (HS) и в группе вывешивания с блокатором SAC (HS+Gd) по сравнению с приростом в мышце животных интактного контроля. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что снижение механозависимого ответа сигнального пути mTORC1 в *m. soleus* крысы после 7-суточной функциональной разгрузки может быть связано с инактивацией стретч-активируемых ионных каналов.

Ключевые слова: камбаловидная мышца, эксцентрические сокращения, антиортостатическое вывешивание, SAC, mTORC1, p70S6k, 4E-BP1.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 2. С. 217—225. 2018

T. M. Mirzoev, S. A. Tyganov, B. S. Shenkman. THE ROLE OF STRETCH-ACTIVATED CHANNELS IN mTORC1 SIGNALING IN RAT *m. soleus* IN RESPONSE TO A MECHANICAL STIMULUS FOLLOWING HINDLIMB UNLOADING. Institute of Bio-medical Problems of the RAS, Moscow, Russia, e-mail: tmirzoev@yandex.ru.

The purpose of the study was to identify the role of stretch-activated ion channels (SAC) in the transition of a mechanical signal to the key anabolic mTORC1/p70S6k pathway in rat soleus muscle after 7-day hindlimb unloading (hindlimb suspension, HS). Wistar male rats were divided into 4 groups: 1) C (vivarium control), 2) C+Gd (control animals, soleus muscle of which was incuba-

ted with $GdCl_3$, a SAC inhibitor), 3) HS (hindlimb suspension for 7 days), 4) HS+Gd (7-day hindlimb suspension and subsequent incubation of soleus muscle with $GdCl_3$). After HS, isolated soleus muscles were subjected to a bout of eccentric contractions (EC). Using Western-blotting, we determined the phosphorylation levels of the key markers of mTORC1 signaling: p70S6k, rpS6, 4E-BP1. In response to EC there was a significant decrease in the phosphorylation status of anabolic markers vs. control in both HS group and HS+Gd group. The obtained results allowed us to conclude that a decline in mechano-dependent response of mTORC1 signaling in rat soleus after 7-day hindlimb unloading may be associated with the inactivation of stretch-activated ion channels.

Key words: soleus muscle, eccentric contractions, hindlimb unloading, SAC, mTORC1, p70S6k, 4E-BP1.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 2. P. 217—225. 2018

Скелетная мышца, обладая свойством пластичности, способна изменять свой метаболизм в ответ на внешние механические сигналы. Так, механические сигналы в виде резистивной нагрузки приводят к увеличению интенсивности синтеза белка и гипертрофии мышечных волокон. В то же время, когда скелетная мышца длительное время не подвергается механической стимуляции, происходит снижение синтеза белка, увеличение его распада, что ведет к мышечной атрофии [9]. Таким образом, основную роль в механической регуляции мышечной массы играют изменения в синтезе белка. Ключевым регулятором синтеза белка в мышечном волокне является протеинкиназа mTORC1. Основными субстратами данного фермента являются рибосомальная киназа p70 (p70S6k) и белок, связывающий фактор инициации трансляции 4E (4E-BP1) [8]. Оба субстрата mTORC1 играют важную роль в активации трансляции мРНК посредством фосфорилирования таких регуляторов трансляции, как рибосомальный белок S6 (rpS6), факторы инициации трансляции 4E (eIF4E) и 4B (eIF4B), киназа элонгационного фактора 2 (eEF2k) и др. [11]. Несмотря на то что связь между механическими сигналами и регуляцией синтеза белка в мышце установлена давно, молекулярные механизмы, осуществляющие преобразование внешних механических сигналов во внутриклеточные молекулярные события (механотрансдукция), изучены недостаточно. При этом внутриклеточные механизмы, вовлеченные в реализацию механического сигнала в атрофированной скелетной мышце млекопитающих, до последнего времени совершенно не исследовались. Недавно в нашей лаборатории было впервые показано прогрессивное снижение активации mTORC1 и интенсивности синтеза белка в изолированной камбаловидной мышце (*m. soleus*) крысы в ответ на серию эксцентрических сокращений после на фоне функциональной разгрузки задних конечностей [1, 16]. При этом было установлено, что снижение анаболического ответа не было связано с потерей силы камбаловидной мышцы. Данное обстоятельство дало основание предположить, что снижение анаболического ответа с течением функциональной разгрузки могло быть обусловлено нарушением механосенсорных структур мышечного волокна. Важнейшую роль механосенсоров в мышечном волокне играют стретч-активируемые ионные каналы (stretch-activated ion channels, SAC), которые участвуют в поддержании электролитного гомеостаза и передаче сигнала [21, 22]. В связи с этим цель настоящего исследования заключалась в проверке гипотезы о роли SAC в проведении механического сигнала к анаболическому пути mTORC1 в *m. soleus* крысы после 7-суточной функциональной разгрузки задних конечностей. Для этого использовался известный ингибитор стретч-активируемых ионных каналов — соль гадолиния ($GdCl_3$) [7].

МЕТОДИКА

Животные и антиортостатическое вывешивание. В эксперименте использовались самцы крыс линии Вистар массой 225 ± 10 г, которые были случайным образом разделены на 4 группы (по 7 животных в каждой группе): 1) С (вивар-

ный контроль), 2) C+Gd (контрольные животные, мышца которых инкубировалась с $GdCl_3$ — ингибитором SAC), 3) HS [группа 7-суточного антиортостатического вывешивания (hindlimb suspension) в течение 7 суток], 4) HS+Gd (группа 7-суточного антиортостатического вывешивания с последующей инкубацией мышцы с $GdCl_3$). После введения летальной дозы авертина (750 мг/кг) из правой задней конечности выделялась камбаловидная мышца (*m. soleus*), которая затем подвергалась эксцентрическим сокращениям. Из левой задней конечности также выделялась *m. soleus*, которая оставалась интактной (не подвергалась эксцентрическим сокращениям). Животных содержали в виварных условиях, получали стандартный корм и воду *ad libitum*. В исследовании использовалась общепринятая модель антиортостатического вывешивания, позволяющая имитировать эффекты гипогравитации, вызывая атрофию мышц задних конечностей грызунов [17]. Все процедуры с животными были одобрены Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ — ИМБП РАН (протокол № 444 от 28.03.2017 г.).

Эксцентрические сокращения (ЭС) изолированной камбаловидной мышцы. Данная методика основана на протоколе, изложенном в работе [18]. Выделенная из крысы камбаловидная мышца помещалась в раствор Кребса—Ханзеляйта (мМ): 120 NaCl, 4.8 KCl, 25 $NaHCO_3$, 2.5 $CaCl_2$, 1.2 KH_2PO_4 , 2 $MgSO_4$, 5 Heps с постоянной перфузией карбогеном (95 % O_2 + 5 % CO_2) и поддержанием температуры на уровне 37 °С. В качестве ингибитора SAC использовалась соль гадолиния — $GdCl_3$ (20 мкМ), которая добавлялась в среду с изолированной *m. soleus*. Камбаловидная мышца крысы присоединялась шелковыми нитками за сухожилия одним концом к динамометру/генератору усилия, а другим к неподвижному фиксатору. Затем для мышцы с помощью серии одиночных (0.5 мс) сокращений подбирались оптимальная длина, при которой развивалась наибольшая сила (L_0). Эксцентрические сокращения осуществлялись с помощью стимуляции электрическим полем (80 В 50 Р_у в течение 3 с). Во время стимуляции мышца растягивалась на 15 % от L_0 (время растяжения и возврата на прежнюю длину — 50 мс) [4]. Каждое сокращение сопровождалось 10-секундным перерывом, во время которого мышца находилась при L_0 . Измерения параметров сокращения и растяжения мышцы проводились в непрерывном режиме с частотой 2000 Гц с использованием DMC/DMA software (Aurora Scientific, Канада). Схематическое изображение одного цикла ЭС представлено на рис. 1. После окончания 30-минутной серии сокращений мышца оставалась в указанном растворе еще в течение 30 мин, после чего немедленно замораживалась в жидком азоте. Мышца другой конечности (интактная) находилась в перфузируемом растворе в течение 60 мин и не подвергалась сокращениям. Показатели максимального тетанического сокращения нормировались на площадь поперечного сечения мышцы (отношение веса мышцы к оптимальной длине, умноженной на плотность мышцы — 1.07 г/см³) [10].

Вестерн-блоттинг для определения содержания маркеров сигнального пути mTORC1. С помощью криостата делали срезы мышечной ткани *m. soleus* толщиной 20 мкм, которые затем помещали в охлажденный RIPA Lysis Buffer System (с добавлением 0.5M EDTA 24 мкл/мл; Na_3VO_4 20 мкл/мл; DTT 4 мкл/мл; PMSF 20 мкл/мл; аprotинин 5 мкл/мл; лейпептин 5 мкл/мл; пепстатин А 5 мкл/мл; Phosphatase Inhibitor Cocktail В 40 мкл/мл) из расчета 130 мкл буфера на одну пробу. Затем проводили гомогенизацию и центрифугирование (в течение 15 мин, при температуре +4 °С и 12 000 об/мин). После этого отбирали надосадочную жидкость и определяют концентрацию белка на спектрофотометре UV-2450 (Shimadzu, Япония), измеряя поглощение на длине волны 595 нм. Концентрация белка в пробах рассчитывалась по калибровочной кривой. Электрофорез по методу Лэммли проводили в 10%-ном разделяющем полиакриламидном геле в мини-системе Bio-Rad (США) в течение часа при силе тока 17 мА на один гель. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану (Bio-Rad, США) осуществляли в системе mini Trans-Blot (Bio-Rad, США) в течение 2 ч при температуре +4 °С и посто-

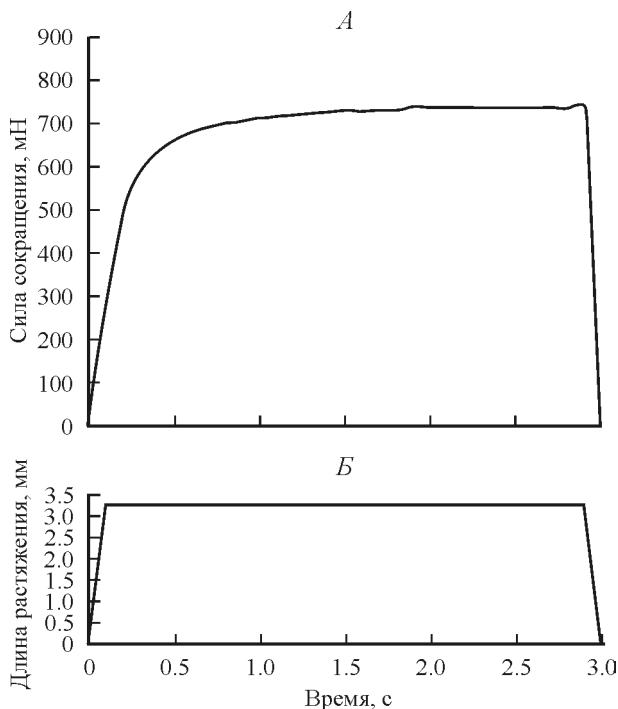


Рис. 1. Схематичное изображение тетанического эксцентрического сокращения, полученное с помощью датчика силы (А) и датчика длины (Б).

янном напряжении 100 В. Затем для проверки равной загрузки белка на все дорожки нитроцеллюлозная мембрана красилась краской Ponceau S. После этого мембрану отмывали от Ponceau S и блокировали в 4%-ном растворе сухого молока в PBST (PBS + 0.1 % Tween 20) при комнатной температуре в течение часа. Далее проводили инкубацию (в течение 15 ч, +4 °С) с первичными антителами против p-p70S6k (Thr 389) и p70S6k с разведением 1:1000 (Cell Signaling, США), p-4E-BP-1 (Thr37/46) и 4E-BP1 с разведением 1:1000 (Cell Signaling, США), p-рpS6 (Ser240/244) и рpS6 с разведением 1:1000 (Cell Signaling, США), а также моноклональными антителами Anti-GAPDH (Abm, Канада) в разведении 1:10 000. После этого отмывали мембраны в PBST 5 раз по 5 мин. Затем мембраны инкубировали в течение часа с биотинилированными вторичными антителами goat anti-rabbit (Santa Cruz, США) в разведении 1:1000. Для выявления GAPDH использовали вторичные антитела goat anti-mouse в разведении 1:20 000 Kit (Bio-Rad, США). Далее проводили отмывку в PBST 5 раз по 5 мин. Белковые полосы выявляли на мембране с помощью Star TM Substrate Kit (Bio-Rad, США). Анализ белковых полос проводили с использованием блот-сканера C-Di-Git (LI-COR Biotechnology, США) и соответствующей программы Image Studio Digits.

Статистическая обработка. Данные представлены как средние значения \pm стандартная ошибка ($M \pm SE$). Достоверность различий между группами определяли с использованием ANOVA. Достоверность между интактной мышцей и мышцей, подвергшейся эксцентрическим сокращениям, была установлена с помощью парного *t*-критерия. Достоверными считали отличия с уровнем значимости $p < 0.05$.

Вес тела животных и масса камбаловидной мышцы (*m. soleus*)

Группа	Масса животного, г	Масса <i>m. soleus</i> , мг	Масса <i>m. soleus</i> / Масса тела, мг/г
C	225.5 ± 16	96.2 ± 8	0.43 ± 0.03
C + Gd	219.8 ± 28	98.2 ± 17	0.44 ± 0.04
HS	226.6 ± 18	69.2 ± 8*	0.31 ± 0.03*
HS + Gd	235.6 ± 23	83.6 ± 12*	0.35 ± 0.03*

Примечание. * Достоверное отличие от групп C и C + Gd, $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Масса животных и отношение массы камбаловидной мышцы к массе тела животного. Результаты по динамике сухой массы камбаловидной мышцы и отношению «масса *m. soleus*/масса крысы» представлены в таблице. Из таблицы видно, что масса животных между группами достоверно не различалась. При этом как абсолютная масса *m. soleus*, так и нормированная к массе тела достоверно снизилась в группах с 7-суточным антиортостатическим вывешиванием относительно контроля (см. таблицу).

Статус фосфорилирования основных маркеров активности *mTORC1*. Степень фосфорилирования маркера активности *mTORC1* — рибосомальной киназы р70 (р70S6k) — в мышцах, которые подверглись серии ЭС, достоверно ($p < 0.05$) снизилась как в группе C+Gd, так и в группах с антиортостатическим вывешиванием (HS и HS+Gd) относительно группы C на 24.4, 26 и 24 % соответственно (рис. 2). Фосфорилирование субстрата р70S6k — рибосомального белка S6 (rpS6)

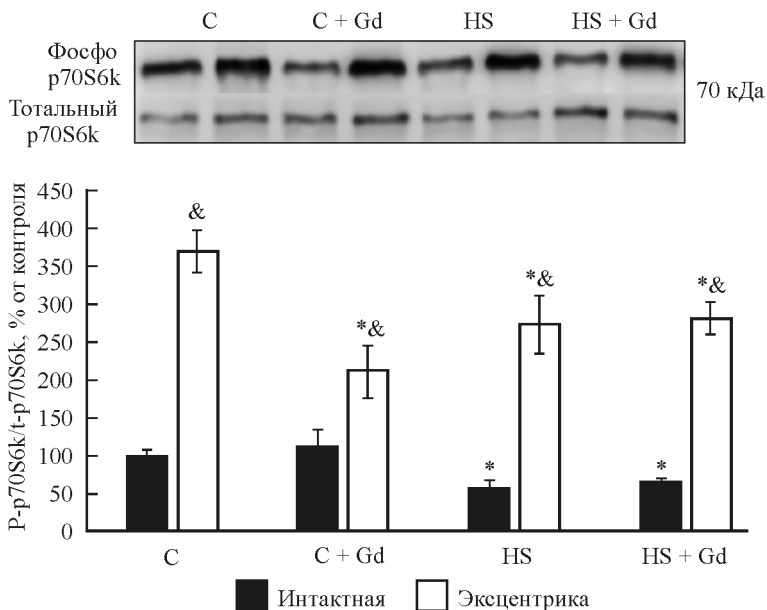


Рис. 2. Уровень фосфорилирования р70S6k. Данные представлены в виде средних значений ± стандартная ошибка средней.

Над гистограммой представлены соответствующие иммуноблоты. * Достоверное отличие от контрольных групп (C и C+Gd) ($p < 0.05$); & достоверное отличие интактной мышцы от мышцы после серии эксцентрических сокращений ($p < 0.05$).

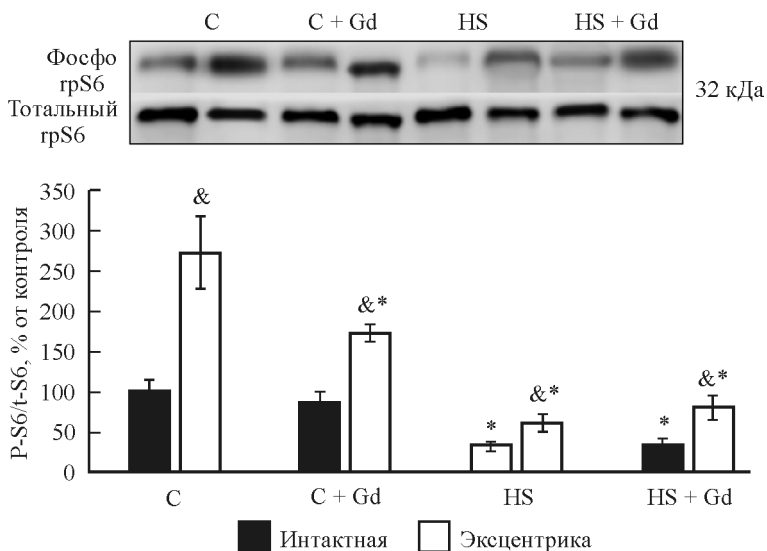


Рис. 3. Уровень фосфорилирования gpS6. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартная ошибка средней.

Над гистограммой представлены соответствующие иммуноблоты. * Достоверное отличие от контрольных групп (C и C+Gd) ($p < 0.05$); & достоверное отличие интактной мышцы от мышцы после серии эксцентрических сокращений ($p < 0.05$).

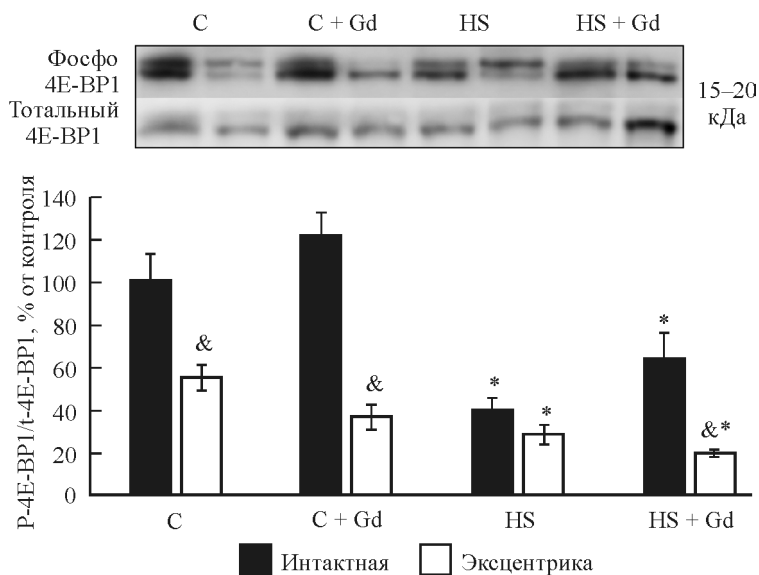


Рис. 4. Уровень фосфорилирования 4E-BP1. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартная ошибка средней.

Над гистограммой представлены соответствующие иммуноблоты. * Достоверное отличие от контрольных групп (C и C+Gd) ($p < 0.05$); & достоверное отличие интактной мышцы от мышцы после серии эксцентрических сокращений ($p < 0.05$).

по Ser 240/244 в *m. soleus* после ЭС также было достоверно ($p < 0.05$) снижено в группах C+Gd (-21 %), HS (-77.6 %) и HS+Gd (-74 %) относительно этого показателя у животных виварного контроля (рис. 3). Схожие изменения уровня фосфорилирования наблюдались и для второго ключевого субстрата mTORC1 — белка 4E-BP1. Так, после серии ЭС в *m. soleus* фосфорилирование 4E-BP1 достоверно ($p < 0.05$) снизилось по сравнению с аналогичным показателем виварного контроля во всех экспериментальных группах: C+Gd (-20 %), HS (-47.6 %) и HS+Gd (-64.5 %) (рис. 4).

В интактных мышцах, которые не подвергались серии ЭС, уровень фосфорилирования ключевых белков, регулирующих инициацию трансляции, был достоверно снижен по сравнению с контролем в группах HS и HS+Gd. В частности, фосфорилирование p70S6k достоверно ($p < 0.05$) снизилось в группах HS (-43 %) и HS+Gd (-37 %) относительно контроля (рис. 2). Фосфорилирование rpS6 было также снижено относительно группы C в группах с антиортостатическим вывешиванием (HS и HS+Gd) на 68 % и 65 % соответственно ($p < 0.05$) (рис. 3). Функциональная разгрузка также привела к достоверному снижению ($p < 0.05$) степени фосфорилирования 4E-BP1 относительно контроля: -60 % в группе HS и -47 % в группе HS+Gd (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Цель настоящего исследования заключалась в проверке гипотезы о роли стретч-активируемых каналов (SAC) в проведении механического сигнала (в виде ЭС *ex vivo*) к внутриклеточному анаболическому пути mTORC1 в атрофированной *m. soleus* крысы.

Данные о влиянии антиортостатического вывешивания грызунов на фосфорилирование мишеней mTORC1 (p70s6k, rpS6, 4E-BP1) в интактной *m. soleus* (мышца, которая не подвергалась ЭС, а находилась в растворе) в целом согласуются с ранее полученными результатами других исследователей [3, 5, 6, 12]. В ответ на серию ЭС в контрольной *m. soleus* произошло достоверное увеличение уровня фосфорилирования p70S6k и rpS6. Этот результат полностью согласуется с предшествующими данными как нашей лаборатории [16], так и других исследователей [2, 18, 20]. Интересно, что в отличие от p70S6k и rpS6 степень фосфорилирования 4E-BP1 в ответ на серию ЭС была снижена по сравнению с интактным контролем. Эти данные согласуются с работой S. Ato и соавт. (2016), в которой было показано, что в икроножной мышце крысы сразу после ЭС уровень фосфорилирования 4E-BP1 был достоверно ниже, чем в контрольной (интактной) мышце, в то же время фосфорилирование p70S6k и rpS6 было достоверно выше по сравнению с контрольной мышцей [2]. По-видимому, 30 мин после ЭС было недостаточно для того, чтобы вызвать гиперфосфорилирование 4E-BP1 в ответ на механический сигнал.

Ранее было показано, что применение ингибиторов SAC (гадолиния и стрептомицина) приводило к снижению деполяризации мембраны волокон скелетных мышц [14], уменьшению фосфорилирования протеинкиназы В (АКТ) и p70S6k в передней большеберцовой мышце (*m. tibialis anterior*) [20], а также снижению степени гипертрофии *m. tibialis anterior* крысы при эксцентрической тренировке [15]. Результаты, полученные в настоящем исследовании, согласуются с ранее полученными в нашей лаборатории данными о том, что антиортостатическое вывешивание в течение 1, 3 и 7 суток приводит к прогрессивному снижению анаболического ответа (фосфорилирование мишеней mTORC1 и интенсивность синтеза белка) в ответ на ЭС *ex vivo* в камбаловидной мышце крысы [1, 16]. Примечательно, что нормированная к площади поперечного сечения средняя сила сокращения *m. soleus* после 7-суточной функциональной разгрузки достоверно не отличалась от контроля [16], это позволяет сделать вывод о том, что снижение ответа

mTORC1 не было связано с потерей удельного напряжения камбаловидной мышцей. В связи с этим в рамках настоящего исследования было важно оценить роль стретч-активируемых каналов, являющихся важными механосенсорами мышечного волокна. Достоверное снижение уровня фосфорилирования ключевых мишеней mTORC1 в изолированной камбаловидной мышце крысы в ответ на серию ЭС наблюдалось как в группе HS, так и в группе HS+Gd. Данный факт может свидетельствовать о том, что сама по себе функциональная разгрузка задних конечностей привела к инактивации SAC и снижению активности mTORC1, вследствие чего применение ингибитора механочувствительных каналов не привело к дальнейшему изменению анаболического ответа на серию ЭС.

В настоящее время молекулярные механизмы, с помощью которых сигнал от SAC передается к mTORC1, остаются малоизученными. В литературе есть данные, что в механозависимой активации mTORC1 непосредственно принимает участие фосфатидная кислота, которая синтезируется при помощи ζ -изоформы диацилглицеролкиназы (DGK- ζ) [23]. Также есть данные о том, что mTORC1 сигналинг может активироваться в ответ на увеличение внутриклеточной концентрации кальция в мышечном волокне [13, 24]. При этом увеличение концентрации ионов кальция в скелетной мышце в ответ на серию ЭС может быть опосредовано работой стретч-активируемых каналов [19]. Однако выявление точных молекулярных механизмов, ответственных за передачу механического сигнала от SAC к mTORC1, потребует дальнейших исследований.

Обобщая результаты настоящего исследования, можно заключить, что снижение активности mTORC1 в ответ на механическую стимуляцию камбаловидной мышцы крысы *ex vivo* после 7-суточной функциональной разгрузки могло быть связано с инактивацией стретч-активируемых каналов и торможением активации сигнального пути mTORC1-p70S6k.

Исследование выполнено в рамках проекта РФФИ № 16-34-60055 мол_а_дк.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Тыганов С. А., Петрова И. О., Мирзоев Т. М., Шенкман Б. С. Изменение синтеза белка в изолированной *m. soleus* крысы в ответ на эксцентрическую нагрузку на фоне антиорто статического вывешивания. Авиакосмич. и экологич. медицина. 2017. (В печати).
- [2] Ato S., Makanae Y., Kido K., Fujita S. Contraction mode itself does not determine the level of mTORC1 activity in rat skeletal muscle. *Physiol. Rep.* 4(19): pii: e12976. 2016.
- [3] Bajotto G., Sato Y., Kitaura Y., Shimomura Y. Effect of branched-chain amino acid supplementation during unloading on regulatory components of protein synthesis in atrophied soleus muscles. *Eur. J. Appl. Physiol.* 111(8): 1815—1828. 2011.
- [4] Burry M., Hawkins D., Spangenburg E. E. Lengthening contractions differentially affect p70s6k phosphorylation compared to isometric contractions in rat skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* 100: 409—415. 2007.
- [5] Cannavino J., Brocca L., Sandri M., Bottinelli R., Pellegrino M. A. PGC1- α over-expression prevents metabolic alterations and soleus muscle atrophy in hindlimb unloaded mice. *J. Physiol.* 592(20): 4575—4589. 2014.
- [6] Dupont E., Cieniewski-Bernard C., Bastide B., Stevens L. Electrostimulation during hindlimb unloading modulates PI3K-AKT downstream targets without preventing soleus atrophy and restores slow phenotype through ERK. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300: 408—417. 2011.
- [7] Franco A., Winegar B. D., Lansman J. B. Open channel block by gadolinium ion of the stretch-inactivated ion channel in mdx myotubes. *Biophys. J.* 59: 1164—1170. 1991.
- [8] Glass D. J. Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Natl. Cell. Biol.* 5: 87—90. 2003.
- [9] Goldberg A. L., Etlinger J. D., Goldspink D. F., Jablecki C. Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Med. Sci. Sports.* 7(3): 185—198. 1975.

[10] Gollnick P. D., Timson B. F., Moore R. L., Riedy M. Muscular enlargement and number of fibers in skeletal muscles of rats. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.* 50: 936—943. 1981.

[11] Goodman C. A. The role of mTORC1 in regulating protein synthesis and skeletal muscle mass in response to various mechanical stimuli. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 166: 43—95. 2014.

[12] Gwag T., Lee K., Ju H., Shin H., Lee J. W., Choi I. Stress and signaling responses of rat skeletal muscle to brief endurance exercise during hindlimb unloading: a catch-up process for atrophied muscle. *Cell. Physiol. Biochem.* 24: 537—546. 2009.

[13] Ito N., Ruegg U. T., Kudo A., Miyagoe-Suzuki Y., Takeda S. Activation of calcium signaling through Trpv1 by nNOS and peroxynitrite as a key trigger of skeletal muscle hypertrophy. *Natl. Med.* 19(1):101—106. 2013.

[14] McBride T. A., Stockert B. W., Gorin F. A., Carlsen R. C. Stretch-activated ion channels contribute to membrane depolarization after eccentric contractions. *J. Appl. Physiol.* 88(1): 91—101. 2000.

[15] McBride T. A. Stretch-activated ion channels and c-fos expression remain active after repeated eccentric bouts. *J. Appl. Physiol.* 94: 2296—2302. 2003.

[16] Mirzoev T. M., Tyganov S. A., Petrova I. O., Shenkman B. S. The realization of a mechanical signal during gravitational unloading: The response of mTORC1 targets to eccentric contractions. *Biophysics.* 61(5): 779—784. 2016.

[17] Morey-Holton E., Globus R. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *J. Appl. Physiol.* 92: 1367—1377. 2002.

[18] O'Neil T. K., Duffy L. R., Frey J. W., Hornberger T. A. The role of phosphoinositide 3-kinase and phosphatidic acid in the regulation of mammalian target of rapamycin following eccentric contractions. *J. Physiol.* 587: 3691—3701. 2009.

[19] Sonobe T., Inagaki T., Poole D. C., Kano Y. Intracellular calcium accumulation following eccentric contractions in rat skeletal muscle in vivo: role of stretch-activated channels. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 294(4): 1329—1337. 2008.

[20] Spangenburg E. E., McBride T. A. Inhibition of stretch-activated channels during eccentric muscle contraction attenuates p70S6k activation. *J. Appl. Physiol.* 100(1): 129—135. 2006.

[21] Yeung E. W., Allen D. G. Stretch-activated channels in stretch-induced muscle damage: role in muscular dystrophy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 31: 551—556. 2004.

[22] Yeung E. W., Whitehead N. P., Suchyna T. M., Gottlieb P. A., Sachs F., Allen D. G. Effects of stretch-activated channel blockers on $[Ca^{2+}]_i$ and muscle damage in the mdx mouse. *J. Physiol.* 562: 367—380. 2005.

[23] You J. S., Lincoln H. C., Kim C. R., Frey J. W., Goodman C. A., Zhong X. P., Hornberger T. A. The role of diacylglycerol kinase ζ and phosphatidic acid in the mechanical activation of mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling and skeletal muscle hypertrophy. *J. Biol. Chem.* 289(3): 1551—1563. 2014.

[24] Zanou N., Schakman O., Louis P., Ruegg U. T., Dietrich A., Birnbaumer L., Gailly P. Trpc1 ion channel modulates phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway during myoblast differentiation and muscle regeneration. *J. Biol. Chem.* 287(18): 14 524—14 534. 2012.

Поступила 7 XII 2017