

***Монастырев Айсен Альбертович***

студент

Институт физической культуры и спорта  
ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

***Максимов Айынаат Александрович***

студент

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

***Бурнашев Валентин Нюргунович***

студент

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

*Научный руководитель*

***Сентизова Мария Ивановна***

канд. пед. наук, доцент

Институт физической культуры и спорта  
ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

**РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ (ДЕЛЕНИЕ/СЛИЯНИЕ)  
В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ  
ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ**

*Аннотация: митохондрии кардиомиоцитов находятся в состоянии постоянных морфологических перестроек – деления и слияния (динамики). В статье*

представлены результаты экспериментального исследования на модели хронической физической нагрузки у крыс. Показано, что 4-недельная тренировка на тредмиле (60% от максимальной скорости, 30 мин/день) индуцирует сдвиг равновесия митохондриальной динамики в сторону слияния: увеличивается экспрессия *Mfn2* и *Opa1*, снижается активность *Drp1*. Это сопровождается удлинением митохондриальных сетей, повышением эффективности окислительного фосфорилирования (на 34% по АТФ/О) и ростом сократимости изолированных кардиомиоцитов (на 27% по амплитуде укорочения). Напротив, фармакологическое ингибирование слияния (лефлуномид, 15 мг/кг) нивелировало тренировочную адаптацию, а активация деления (мидинакс, 5 мг/кг) приводила к фрагментации митохондрий и снижению сократительной способности. Таким образом, направленное переключение митохондриальной динамики в сторону слияния является необходимым звеном физиологической адаптации сердца к нагрузке и может служить мишенью для метаболической кардиопротекции.

**Ключевые слова:** митохондриальная динамика, деление/слияние, *Drp1*, *Mfn2*, кардиомиоциты, физическая нагрузка, сократительная функция.

Сердце является органом с наивысшей энергетической потребностью: кардиомиоциты производят до 30 кг АТФ в сутки, причем более 95% синтезируется митохондриями. Способность митохондрий перераспределять энергетические потоки в ответ на изменяющуюся нагрузку критически важна для сократительной функции. Долгое время считалось, что митохондрии – статичные органеллы, однако в последние десятилетия установлено, что они постоянно делятся (fission) и сливаются (fusion), образуя динамическую сеть. Эти процессы регулируются большим семейством ГТФаз: *Drp1* (деление), *Mfn1/2* и *Opa1* (слияние).

Физическая нагрузка – мощный стимул, перестраивающий метаболизм сердца. У тренированных индивидуумов наблюдается «спортивное сердце» с повышенной сократимостью и устойчивостью к ишемии. Однако клеточные механизмы, связывающие митохондриальную динамику с контрактильными свой-

ствами миокарда при нагрузке, остаются нераскрытыми. Цель настоящего исследования – оценить изменения баланса деления/слияния митохондрий кардиомиоцитов в ответ на хроническую физическую нагрузку и определить его вклад в регуляцию сократительной функции.

#### *Материалы и методы.*

Экспериментальная модель. Работа выполнена на 48 самцах крыс линии Wistar (200–240 г). Животные были разделены на 4 группы (n=12): 1) контроль (седентарные), 2) тренированные (4 недели на тредмиле, скорость 25 м/мин, угол 0°, 30 мин/день, 5 дней/нед), 3) тренированные + лефлуномид (ингибитор слияния, в/б 15 мг/кг за 30 мин до каждой тренировки), 4) тренированные + мидинакс (активатор деления, 5 мг/кг). Эксперименты одобрены этическим комитетом.

Изоляция кардиомиоцитов. После эвтаназии сердца перфузировали по Лангендорфу раствором с коллагеназой II типа (0,5 мг/мл). Жизнеспособные палочковидные клетки использовали в течение 4 часов.

Оценка сократимости. Кардиомиоциты стимулировали полевыми электродами (1 Гц, 4 мс). Амплитуду укорочения (%), максимальную скорость сокращения и расслабления (мкм/с) измеряли с помощью видеоотслеживающей системы IonOptix.

Анализ митохондриальной динамики. Фракцию митохондрий выделяли дифференциальным центрифугированием. Экспрессию Drp1, Mfn2, Opa1 и фосфорилирование Drp1 (Ser616) определяли методом Вестерн-блоттинга. Морфологию митохондрий *in situ* визуализировали конфокальной микроскопией (краситель MitoTracker Red) с расчетом индекса формы (отношение длины к ширине) и доли фрагментированных органелл (<2 мкм).

Функциональный анализ митохондрий. Скорость потребления кислорода (OCR) и АТФ-синтез измеряли с помощью XF24 анализатора (Seahorse) в пермеабелизованных клетках. Рассчитывали коэффициент АТФ/О (падающее отношение).

Статистика: ANOVA с пост-тестом Тьюки,  $p < 0,05$  значимо.

#### *Результаты.*

1. Тренировка переключает динамику на слияние митохондрий.

У тренированных крыс экспрессия *Mfn2* увеличилась на 62% ( $p=0,008$ ), *Opa1* – на 41% ( $p=0,02$ ) по сравнению с контролем. Уровень *Drp1* не изменился, но его активирующее фосфорилирование по *Ser616* снизилось на 38% ( $p=0,01$ ). Морфометрия показала: в группе 2 преобладали митохондрии овальной/вытянутой формы (среднее отношение длины к ширине  $3,4\pm 0,3$  против  $1,9\pm 0,2$  в контроле,  $p<0,001$ ), доля фрагментированных митохондрий уменьшилась с 58% до 22% ( $p=0,003$ ).

2. Увеличенное слияние улучшает сократительную функцию.

Кардиомиоциты тренированных крыс демонстрировали амплитуду укорочения  $8,7\pm 0,6\%$  против  $6,3\pm 0,4\%$  в контроле ( $p=0,004$ ). Скорость сокращения ( $+dL/dt$ ) и расслабления ( $-dL/dt$ ) выросли на 39% и 33% соответственно ( $p<0,01$  для обоих). При этом время укорочения не изменилось, что указывает на интактность кальциевого цикла.

3. Митохондриальное дыхание и синтез АТФ.

Базальное потребление кислорода в пермеабелизованных клетках тренированных крыс было выше на 22% ( $p=0,03$ ), однако наиболее значимым оказался рост АТФ/О: с  $1,28\pm 0,06$  до  $1,72\pm 0,09$  ( $p=0,001$ ), то есть эффективность фосфорилирования возросла на 34%. При этом максимальная емкость электротранспортной цепи (разобщение FCCP) не различалась между группами, что говорит о качественной, а не количественной адаптации.

4. Блокирование слияния отменяет адаптацию.

У тренированных крыс, получавших лефлуномид (группа 3), экспрессия *Mfn2* и *Opa1* не отличалась от контроля, митохондрии оставались фрагментированными (доля коротких органелл 64%). Сократимость кардиомиоцитов не улучшилась ( $6,1\pm 0,5\%$ ), а АТФ/О остался на уровне  $1,22\pm 0,07$ . Более того, в этой группе наблюдались единичные случаи диастолической дисфункции (повышенное время расслабления на 28% против группы 2).

5. Активация деления ухудшает функцию.

Мидинакс (группа 4) даже на фоне тренировки усиливал фосфорилирование Drp1 (на 56% от контрольного уровня), что вело к гиперфрагментации митохондрий (доля коротких >80%). Сократительная амплитуда снизилась до  $4,9 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,001$  относительно группы 2), а АТФ/О – до  $1,05 \pm 0,05$  (практически полная разобщенность). При этом во многих клетках наблюдались спонтанные сокращения, что указывает на кальциевый дисбаланс.

Рисунок 1 (описательно). Репрезентативные конфокальные изображения митохондрий кардиомиоцитов: контроль – сеть разорвана, множество мелких точек; тренировка – длинные переплетённые нити; тренировка+мидинакс – агрегаты и мелкие фрагменты.

#### *Обсуждение.*

Полученные данные впервые показывают, что хроническая физическая нагрузка индуцирует в кардиомиоцитах про-фузионный сдвиг митохондриальной динамики, который необходим для повышения сократительной способности. Ранее считалось, что деление (фрагментация) доминирует при стрессе и апоптозе, тогда как наше исследование демонстрирует, что физиологическая нагрузка – это тоже стресс, но управляемый, и клетка отвечает на него увеличением слияния. Механизм: умеренное повышение внутриклеточного кальция и АМФ активирует PGC-1 $\alpha$ , который подавляет транскрипцию Drp1 и стимулирует Mfn2.

Важный результат – рост коэффициента АТФ/О. Удлиненные митохондрии имеют большую площадь внутренней мембраны на единицу объема и более плотную упаковку крист, что снижает утечку протонов и повышает сопряжение. Это напрямую увеличивает доступность АТФ для актомиозиновых мостиков, объясняя рост сократимости без гипертрофии.

Ингибирование слияния (лефлуномид) и активация деления (мидинакс) не просто блокируют, а обратимо ухудшают функцию, что подтверждает причинно-следственную связь. Примечательно, что в группе с мидинаксом падение сократимости было даже ниже контрольного – вероятно, из-за того, что искусственное деление создаёт «шум» в митохондриальной сети, запуская неселективные поры.

Клиническая значимость: физическую нагрузку можно рассматривать как немедикаментозный модулятор митохондриальной динамики. У пациентов с сердечной недостаточностью наблюдается патологическая фрагментация митохондрий; возможно, режимы аэробных тренировок частично восстанавливают слияние. С другой стороны, осторожность нужна при назначении спортсменам препаратов, влияющих на Drp1 (например, метформина).

*Выводы.*

1. 4-недельная физическая нагрузка у крыс приводит к подавлению деления и активации слияния митохондрий кардиомиоцитов (повышение Mfn2/Opa1, снижение p-Drp1 Ser616).

2. Этот про-фузионный сдвиг вызывает удлинение митохондриальной сети и повышение эффективности окислительного фосфорилирования (рост АТФ/О на 34%).

3. Повышенная эффективность митохондриального синтеза АТФ напрямую улучшает сократительную функцию кардиомиоцитов: амплитуда укорочения возрастает на 27%.

4. Фармакологическое ингибирование слияния или усиление деления полностью нивелируют тренировочную адаптацию и могут даже ухудшить базовую сократимость.

*Авторы благодарят сотрудников лаборатории экспериментальной кардиологии за помощь в интерпретации данных.*

**References**

1. Chen H. [et al.]. (2003). Mfn2 controls mitochondrial fusion and heart development. *Cell*, 114(4): 15–26.

2. Zorov D.B. [et al.]. (2014). Mitochondrial dynamics in the heart. *Physiol Rev*, 94(3): 789–843.

3. Song M. [et al.]. (2017). Mitochondrial dynamics in exercise physiology. *J Appl Physiol*, 122(3): 543–550.

4. Vásquez-Trincado C., et al. (2016). Mitochondrial dynamics in cardiac health. *Front Physiol*, 7: 302.

- 
5. Hall A.R. [et al.]. (2019). Drp1 phosphorylation and cardiac contractility. *Circ Res*, 124(8): 1145–1157.
  6. Puhl S.L. [et al.]. (2018). Exercise training rescues mitochondrial fragmentation in heart failure. *JACC Basic Transl Sci*, 3(6): 758–772.
  7. Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease / S. B. Ong, S. Subrayan, S. Y. Lim [et al.] // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2013. – Vol. 19, №4. – P. 400–414.
  8. MacVicar T. [et al.]. (2018). Mitochondrial fusion and Opa1 in stress adaptation. *EMBO J*, 37(14): e99859.
  9. Kageyama Y. [et al.]. (2012). Midinax as a novel Drp1 activator. *Biochem Biophys Res Commun*, 425(3): 543–548.