

УДК: 577.24, 612.66, 612.67

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СНИЖЕНИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ВОЗРАСТА НА БИОГЕНЕЗ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА

© 2024 г. Н. С. Курочкина^{1,*}, Е. М. Леднев¹, М. А. Орлова¹, М. А. Виговский², В. Г. Згода³, Н. Е. Вавилов³, Т. Ф. Вепхвадзе¹, П. А. Махновский¹, О. А. Григорьева², Я. Р. Бородай², В. В. Филиппов², М. Ю. Высоких^{1,4}, А. Ю. Ефименко², Д. В. Попов¹

¹ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

²Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ФГБНУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия

⁴Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: nadia_sk@mail.ru

Поступила в редакцию 10.12.2023 г.

После доработки 29.05.2024 г.

Принята к публикации 06.06.2024 г.

Гипокинезия и старение вызывают выраженные нарушения функциональных возможностей и механических свойств скелетных мышц, а также ремоделирование внеклеточного матрикса (ВКМ). Цель исследования – изучить влияние хронического снижения двигательной активности и возраста на биогенез ВКМ в скелетной мышце. Для количественного масс-спектрометрического протеомного анализа и РНК-секвенирования были взяты биопсические пробы из *m. vastus lateralis* у 15 молодых здоровых добровольцев, 8 молодых и 37 пожилых пациентов с многолетним первичным остеоартрозом коленного/тазобедренного сустава – модель для изучения эффектов хронического снижения двигательной активности мышц. Было детектировано 1022 мРНК и 101 белок ВКМ и ассоциированных с ВКМ белков (матрисом). Было выявлено специфическое для пожилых и молодых пациентов (относительно молодых здоровых людей) увеличение экспрессии двух десятков высокопредставленных белков матрикса; при этом изменения экспрессии мРНК, кодирующих регуляторы матрикса (энзиматические регуляторы и секретируемые белки) были похожи. Сопоставление с предыдущими протеомными и транскриптомными данными показало, что описанные изменения матрикса заметно отличались от изменений, вызванных аэробной физической тренировкой у молодых здоровых людей, в частности, по экспрессии доминирующих белков ВКМ и особенно по экспрессии мРНК энзиматических регуляторов ВКМ и секретируемых белков. Сопоставление профилей изменений экспрессии этих регуляторных генов может быть полезно для поиска фармакологических мишеней для профилактики неблагоприятных изменений/активации биогенеза ВКМ при различных патологических состояниях/физической тренировке.

Ключевые слова: внеклеточный матрикс, матрикс, старение, гипокинезия, транскриптом, протеом.

DOI: 10.31857/S0131164624040063 **EDN:** VTJTHU

Внеклеточный матрикс (ВКМ) составляет до 10% массы скелетных мышц [1, 2] и играет ключевую роль в передаче усилия с сократительного аппарата скелетной мышцы на сухожилия и кости, сохранении целостности интенсивно сокращающихся/растягивающихся мышечных волокон, регуляции ремоделирования и регенерации поврежденной мышцы.

Возрастное снижение функциональных возможностей и массы скелетных мышц – это один из ключевых признаков старения. У пожилых людей наблюдается снижение окислительных возможностей скелетных мышц, их чувствительности к инсулину, а также работоспособности (выносливости) и силы, что негативно влияет на качество жизни [3–5]. Нужно отметить, что на фоне снижения

массы мышц происходят выраженные и комплексные изменения в их механических свойствах. Так, в состоянии покоя у пожилых людей наблюдается увеличение жесткости мышечно-сухожильного комплекса, происходящее за счет роста жесткости фасции (эпимизия) и на фоне снижения жесткости сухожилия [6]. Единичные работы обнаружили возрастное увеличение жесткости перимизия и эндомизия (внутримышечная жесткость) у человека [7] и мышцы [8], что может быть связано с увеличением содержания конечных продуктов гликирования [9] и/или концентрации белков ВКМ. У человека возрастное увеличение концентрации внутримышечного коллагена (включающего преимущественно коллаген 1 и 3 [2]) было отмечено в большинстве [7, 10–12], но не во всех исследованиях [13]. Необходимо отметить, что, несмотря на многолетнее изучение эффектов старения, данные о возраст-зависимом изменении экспрессии множества других генов, кодирующих белки мышечного ВКМ, представлены фрагментарно [14]. В частности, несколько работ изучали возрастные изменения протеома скелетной мышцы (*m. vastus lateralis*) человека [11, 15, 16], однако целенаправленное исследование белков ВКМ было выполнено только для мышцы (*m. soleus*) мыши [17].

Возрастные изменения мышечного ВКМ связаны с комплексным влиянием старения, хронического снижения двигательной активности, воспаления и других факторов. В настоящем исследовании изучали влияние хронического снижения двигательной активности и возраста на биогебез ВКМ в биопсических пробах *m. vastus lateralis* (т.е. эндомизий и перимизий). Для этого мы проанализировали протеомные и транскриптомные данные из предыдущего исследования [16] и сопоставили изменения экспрессии генов, кодирующих белки матрисома (около 300 белков ВКМ и 750 ассоциированных с ним белков), в *m. vastus lateralis* у 1) молодых людей с многолетним первичным остеоартрозом коленного/тазобедренного сустава относительно молодых здоровых людей и 2) пожилых людей с таким же диагнозом относительно молодого здорового контроля (комплексное влияние старения и хронического снижения двигательной активности). Первичный остеоартроз широко используется как модель для изучения влияния хронического снижения двигательной активности на мышцу бедра [18–21]. Список белков матрисома (коллагены, неколлагеновые гликопротеины, протеогликаны, а также ВКМ-аффилированные белки и секретлируемые факторы) был взят из базы данных *MatrisomeDB* [22]. Помимо этого, полученные результаты были сопоставлены с изменениями матрисома *m. vastus lateralis* молодых здоровых людей, вызванными 2-месячной аэробной тренировкой на велоэргометре и описанными ранее в работе [23].

МЕТОДИКА

Организация исследования. Как было описано нами в работе [16], в исследовании принимали участие 15 молодых здоровых добровольцев (УН; средний возраст и межквартильный разброс 35 [28–38] лет, М : Ж = 13 : 2), 37 пожилых (ОР; 72 [69–77] года, М : Ж = 5:32) и 8 молодых (УР; 39 [37–42] лет, М : Ж = 7 : 1) пациентов с многолетним симптоматическим первичным остеоартрозом коленного/тазобедренного сустава. Уровень физических возможностей добровольцев оценивали по опроснику SF-12 [24].

Биопсия мышечной ткани. Пробы мышечной ткани из *m. vastus lateralis* были взяты утром натощак (через 10–12 ч после последнего приема пищи). У молодых здоровых добровольцев биопсию проводили под местной анестезией (2 мл 2% лидокаина) с использованием модифицированной иглы Бергстрема с аспирацией; у пациентов – инцизионным методом во время операции по замене коленного/тазобедренного сустава. Все образцы помещали в буфер *Custodiol* (*Dr. Franz Köhler Chemie GmbH*, Германия) и обрабатывали через 10–15 мин после биопсии: удаляли видимые фрагменты соединительной и жировой ткани, замораживали в жидком азоте и хранили при температуре –80°C.

РНК-секвенирование и обработка данных. Пробо-подготовка и анализ данных описаны нами в работе [16]. Кратко, замороженные образцы мышечной ткани (~15 мг) лизировали в буфере *ExtractRNA* (*Evrogen*, Россия) с использованием механического гомогенизатора, суммарную РНК выделяли с помощью колонок с селективной сорбцией на кремниевой мембране (*RNeasy Mini Kit*, *Qiagen*, Германия). Концентрацию и целостность РНК оценивали с помощью флуориметрии (*Qubit 4*, *ThermoScientific*, США) и капиллярного электрофореза (*TapeStation*, *Agilent*, Германия) соответственно. Для приготовления библиотек использовали РНК с целостностью (индекс RIN) > 7. Цепь-специфичные библиотеки готовили с помощью набора *NEBNext Ultra II Directional RNA Library Preparation kit* (*NEB*, США) и секвенировали (75 нуклеотидов, с одного конца) со средней глубиной 66 млн прочтений на образец на секвенаторе *NextSeq 550* (*Illumina*, США). Исходные данные секвенирования доступны в репозитории *NCBI GEO*: GSE242202.

Качество секвенирования оценивали с помощью инструмента *FastQC* (версия 0.11.5). Прочтения низкого качества и адаптерные последовательности были удалены (инструмент *Timmomatic*, версия 0.36), затем прочтения были выровнены на первичную сборку генома GRCh38.p13. Уникальные выровненные прочтения подсчитывали для известных экзонов каждого гена с использованием пакета *Rsubread* (среда *R*) и аннотации *Ensembl* (*GRCh38.101*). Изменение экспрессии генов

оценивали методом *DESeq2* (анализ непарных образцов с поправкой Бенджамини-Хохберга). Гены, изменившие экспрессию, определяли как белок кодирующие гены (а также полиморфные псевдогены и транслируемые псевдогены) с $p_{adj} < 0.01$, изменением экспрессии $> 25\%$ и уровнем экспрессии > 1 TPM (транскриптов на миллион, инструмент *kallisto* v0.46.2).

Протеомный анализ и обработка данных. Пробоподготовка и анализ данных описаны нами в работе [16]. Кратко, замороженные образцы мышечной ткани (~10 мг) гомогенизировали в 140 мкл лизирующего буфера (5% додецилсульфат натрия, 0.1 М Трис и 0.1 М дитиотреитол pH 7.6), затем кипятили (95°C, 5 мин) и обрабатывали фокусированным ультразвуком (сонификатор *ME220*, *Covaris*, США). Алкилирование (20 mM йодацетамид, 15 мин) и гидролиз белка (2 ч при 47°C, трипсин и Lys-C, 1 : 15 и 1 : 30 соответственно, *Promega*, США) проводили на колонке *S-Trap* (*ProtiFi*, США). Пептиды (20 мкг) высушивали, ресуспендировали (100 mM бикарбонат триэтиламмония), метили изобарическими метками (*TMT 10-plex* или *16-plex*, *Thermo Scientific*, США) и затем объединяли.

Смесь меченых пептидов разделяли на 24 фракции по гидрофобности в основных условиях (ВЭЖХ *Agilent 1200* (*Agilent*, США)), затем фракции объединяли (1 и 13 и т.д. для получения 12 фракций). Каждую фракцию трижды анализировали с помощью ВЭЖХ *Ultimate 3000 RSLC nano system* (*Thermo Scientific*) и масс-спектрометра *Q Exactive HF-X* (*Thermo Scientific*) с использованием наноэлектроспрея в режиме положительной ионизации.

Поиск и идентификацию пептидов и белков проводили с использованием платформы *MaxQuant* (2.1.4.0; *Max Planck Institute of Biochemistry*) при настройках по умолчанию. Дальнейший анализ был проведен с использованием платформы *Perseus* (1.6.5; *Max Planck Institute of Biochemistry*). После фильтрации (удаления потенциальных контаминантов, обратных пептидов, пептидов, идентифицированных только по сайту) для дальнейшего анализа были отобраны белки, идентифицированные по > 1 пептиду (уникальный + “*razor*”) и присутствующие в $> 70\%$ образцов. Белки, изменившие экспрессию, определяли, используя однофакторный дисперсионный анализ с $q < 0.05$ (значение p с поправкой Бенджамини-Хохберга) и *post hoc* анализ (тест Тьюки; $p < 0.05$).

Определение генов ВКМ. Все детектированные нами мРНК/белки сопоставляли с базой данных *MatrisomeDB* [22], содержащей информацию о белках ВКМ: 44 коллагена, 195 неколлагенных гликопротеинов и 35 протеогликанов; а также о ВКМ-ассоциированных белках: 238 энзиматических регуляторов, 171 ВКМ-аффилированный белок и 344 секретируемых факторов.

Для генов, изменивших экспрессию, выявляли белки, потенциально взаимодействующие друг с другом. Сеть белок-белковых взаимодействий была построена с помощью базы данных *String* 12.0 (учитывали экспериментальные данные, литературные источники и базы данных) с использованием метода кластеризации *MCL*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние хронического снижения двигательной активности и возраста на физиологические показатели. В работе [16] мы показали, что хроническое снижение двигательной активности у пожилых (*OP* vs *YN*) и молодых людей (*YP* vs *YN*) снижает их физические возможности, и нарушает структуру мышечных волокон на продольном срезе (диаметр и форма волокон, смещение ядер от периферии волокна, инфильтрация иммунными клетками и увеличение расстояния между волокнами) (табл. 1). Помимо этого, у пожилых пациентов наблюдалось выраженное (в 2 раза) снижение размеров мышц бедра.

Влияние хронического снижения двигательной активности и возраста на экспрессию генов матрисома. В отличие от РНК-секвенирования, количественный панорамный масс-спектрометрический анализ позволяет детектировать только часть протеома (преимущественно наиболее высокопредставленные белки). Было детектировано ~10900 мРНК и 1899 белков (<https://doi.org/10.5281/zenodo.11386966>); среди них к ВКМ относилось 1022 и 101 соответственно (табл. 2). У пожилых пациентов относительно молодых здоровых добровольцев изменили (в основном увеличили) экспрессию 212 мРНК ($p_{adj} < 0.01$) и 20 белков ($p_{adj} < 0.05$) матрисома (табл. 2). Среди них к коллагенам относилось 2 белка и 18 мРНК, к гликопротеинам — 7 белков и 57 мРНК (3 мРНК снизили экспрессию), к протеогликанам — 2 белка и 12 мРНК, к энзиматическим регуляторам — 2 белка и 48 мРНК (16 мРНК снизили экспрессию), к секретируемым факторам — 2 белка и 49 мРНК (10 мРНК снизили экспрессию), а к ВКМ-аффилированным — 5 белков и 28 мРНК (4 мРНК снизили экспрессию). У молодых пациентов, относительно здорового контроля, 165 мРНК и 30 белков изменили (преимущественно увеличили) экспрессию (табл. 2), при этом эти изменения отличались от изменений, описанных ранее (круговые диаграммы на рис. 1). Из них к коллагенам относилось 11 мРНК, к гликопротеинам — 10 белков и 50 мРНК (2 мРНК снизили экспрессию), к протеогликанам — 7 мРНК, к энзиматическим регуляторам — 16 белков и 35 мРНК (3 мРНК снизили экспрессию), к секретируемым факторам — 2 белка и 40 мРНК (6 мРНК снизили экспрессию), а к ВКМ-аффилированным — 2 белка и 22 мРНК (6 мРНК снизили экспрессию).

В обеих группах пациентов повысилась экспрессия мРНК, кодирующих доминирующие белки ВКМ: коллаген 1 (*COL1A1*, *COL1A2* в группе *OP* и *COL1A2* в группе *YP*), коллаген 4 (*COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5* у *OP* и *COL4A1*, *COL4A2* у *YP*) и 6 (*COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* в обеих группах) (рис. 1, *A*). Однако эти изменения не привели к изменениям в концентрации их белковых продуктов. В обеих группах пациентов было отмечено увеличение концентрации основных компонентов базальной мембраны – различные субъединицы ламинина (LAMs), а в группе *OP* – содержание *COL4A2* (рис. 1, *B*).

Масс-спектрометрический протеомный анализ плохо подходит для детекции низкопредставленных

мышечных белков [25], среди которых присутствуют регуляторы биогенеза ВКМ: различные цитокины, ростовые факторы, металлопротеиназы и их ингибиторы. Поэтому большой интерес представляют данные по экспрессии мРНК, кодирующих эти белки. Возрастные изменения (*OP* vs. *YH*) в экспрессии этих мРНК оказались схожи с изменениями, возникающими при хроническом снижении двигательной активности (*YP* vs. *YH*) (рис. 2). При этом у молодых пациентов был отмечен ряд отличий, например повышение экспрессии *IL6* (один из ключевых воспалительных цитокинов) и *MSTN* (негативный регулятор мышечной массы).

Таблица 1. Влияние хронического снижения двигательной активности и возраста на размеры мышц бедра и нарушения структуры мышечных волокон *m. vastus lateralis*

Показатель	Молодые здоровые (<i>YH</i>)	Молодые пациенты (<i>YP</i>)	Пожилые пациенты (<i>OP</i>)
Возраст, лет	35 [28–38]	39 [37–42]	72 [69–77] ^{1***}
Индекс массы тела, кг/м ²	23.4 [21.8–24.3]	25.8 [25.7–29.8]	30 [27–33.6] ^{***}
Субъективная оценка физических возможностей (опросник <i>SF-12</i>), баллы	56.25 [53.8–57.64]	26.83 [20.5–29.7] [*]	22.95 [19.5–26.99] ^{***}
Площадь поперечного сечения мышц бедра, см ² /кг массы тела	1.96 [1.91–2.17]	1.6 [1.4–1.66]	1.23 [1.1–1.34] ^{***}
Доля добровольцев с нарушениями структуры мышечных волокон различной выраженности (нет/среднее/сильное)	0.875/0.125/0	0.22/0.44/0.33	0.09/0.73/0.18

Примечание: представлены медиана и межквартильный разброс. * и *** – изменения относительно *YH* при $p < 0.05$ и < 0.001 соответственно.

Таблица 2. Количество детектированных и изменивших концентрацию мРНК ($p_{adj} < 0.01$) и белков ($p_{adj} < 0.05$) в *m. vastus lateralis* у молодых (*YP*) и пожилых (*OP*) пациентов относительно молодого здорового контроля (*YH*)

Категория белков Matrisome	Количество белков в Matrisome	Детекти- ровано мРНК	Детекти- ровано белков	<i>OP</i> vs <i>YH</i> / <i>YP</i> vs <i>YH</i>			
				мРНК, увеличившие содержание	мРНК, снизившие содержание	Белки, увеличившие содержание	Белки, снизившие содержание
Коллагены	44	44	12	18/11	-/-	2/-	-/-
Гликопротеины	195	194	29	54/48	3/2	7/10	-/-
Протеогликаны	35	35	7	12/7	-/-	2/-	-/-
Регуляторы	238	238	30	32/32	16/3	2/16	-/-
Секретируемые факторы	344	342	8	39/34	10/6	2/2	-/-
ВКМ-аффили- рованные	171	169	15	24/16	4/6	5/2	-/-
Всего	1027	1022	101	179/148	33/17	20/30	-/-

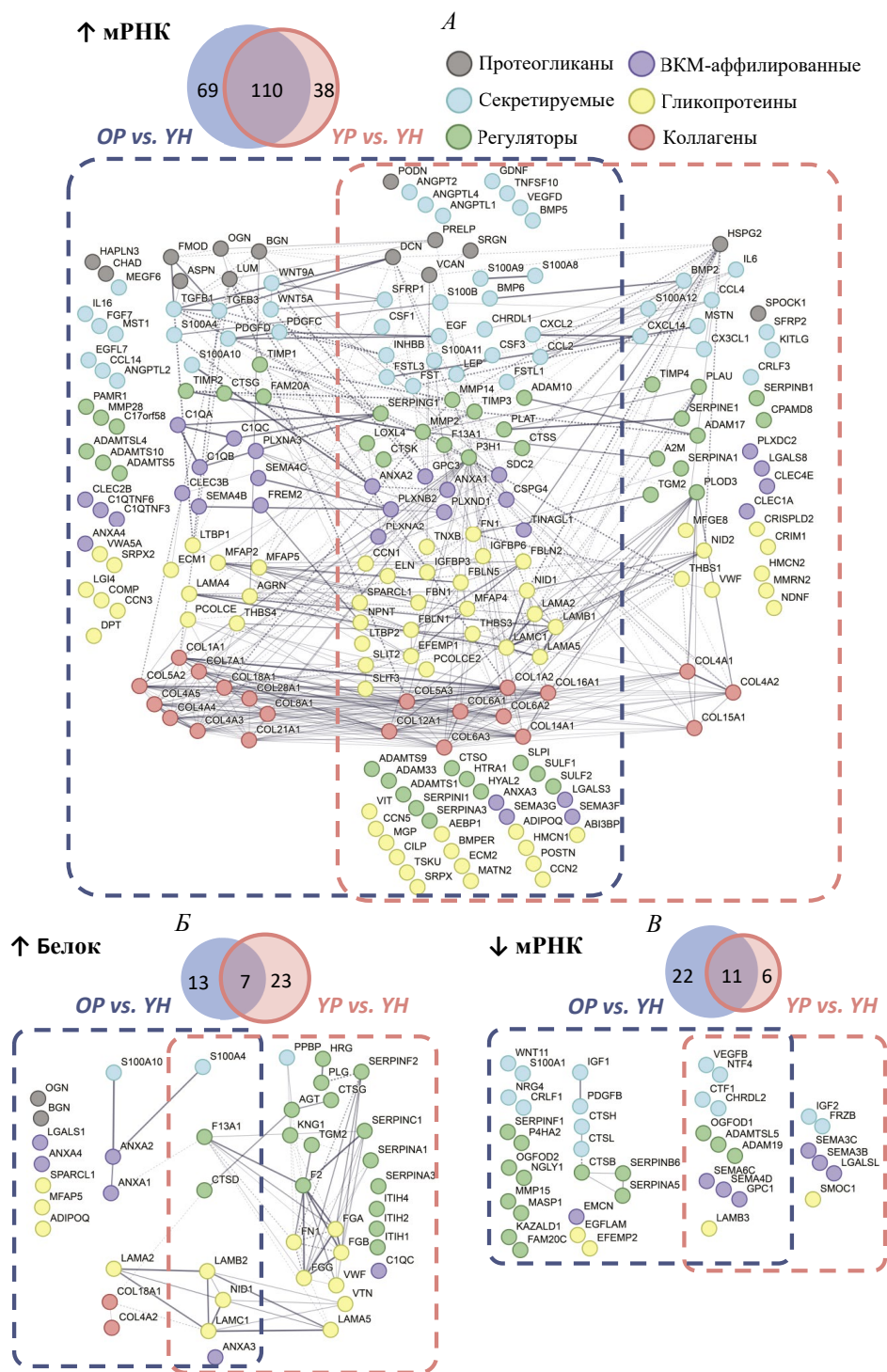


Рис. 1. Хроническое снижение двигательной активности у пожилых людей (*OP vs YH*) и молодых людей (*YP vs YH*) вызывают частично пересекающиеся между собой изменения в экспрессии мРНК ($p_{adj} < 0.01$) и белков ($p_{adj} < 0.05$) матрикса в *m. vastus lateralis*.
Количество общих и уникальных мРНК (*A* и *B*) и белков (*Б*) показано на пересекающихся и непересекающихся областях диаграмм. Линиями показаны потенциальные белок-белковые взаимодействия; толщина линий пропорциональна релевантности взаимодействия.

Сопоставление изменений, вызванных возрастом и снижением двигательной активности, с эффектами аэробной тренировки. Ранее мы показали, что 2-месячная аэробная тренировка на велоэргометре (т.е. без ударных нагрузок) выраженно активирует биогенез ВКМ: повышает концентрацию основных белков внутримышечного ВКМ (коллагены 1, 3, 4 и 6), экспрессию их мРНК, а также генов-регуляторов биогенеза ВКМ [23] (рис. 3, А, Б). Оказалось, что изменения в профиле экспрессии регуляторов биогенеза ВКМ выраженно отличаются от изменений, вызванных возрастом и снижением двигательной активности. Большинство мРНК цитокинов (*CCL18*, *CXCL9*), ростовых факторов (*IGF1*, *IGF2*, *PDGFB*, *HGF*, *PGF*, *MDK*) (рис. 2, А), ферментов, ремоделирующих ВКМ (изоформы лизилоксидазы (*LOX*), матриксные металлопротеиназы, белки семейства ADAM-протеиназы и ADAMTS-подобных белков, пролил-гидроксилазы *P4HA3* и *P3H3* и другие ферменты и их ингибиторы) (рис. 2, Б) повысили экспрессию после тренировки, но не изменили или даже снизили экспрессию у молодых и пожилых пациентов. При этом были найдены гены секретируемых факторов (*ANGPT2*, *INHBB*, *CCL2*, *S100A11*, *TNFSF10*) и регуляторов ВКМ (протеиназы *SULF2*, *SERPIN1*, *P3H1*, *ADAMTS9*,

HTRA1, катепсины *CTSK*, *CTSO*, металлопротеиназы *MMP2*, *MMP14*), сопоставленно изменяющие экспрессию после тренировки и у пациентов обеих групп (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании мы впервые оценили влияние хронического снижения двигательной активности и возраста на экспрессию мРНК и белков внеклеточного матрикса в скелетной мышце человека и сопоставили эти изменения с изменениями, вызванными 2-месячной аэробной тренировкой. Оказалось, что с возрастом (комплексное влияние старения и хронического снижения двигательной активности) в биопсических пробах *m. vastus lateralis* увеличивается содержание высокопредставленных белков матрикса (рис. 1, Б), что согласуется с возрастными изменениями матрикса в целой *m. soleus* мышцы [17]. Так, в обоих исследованиях было обнаружено увеличение содержания одной из субъединиц коллагена 4 (*COL4A2*) и 18 (*COL18A1*), ламинина *LAMA2*, кальций-связывающих белков семейства *S100* (*S100A4* и *S100A10*) и ряда аннексинов (*ANXA1*, -2, -3, -4), относящихся к ВКМ-аффилированным белкам. При этом не

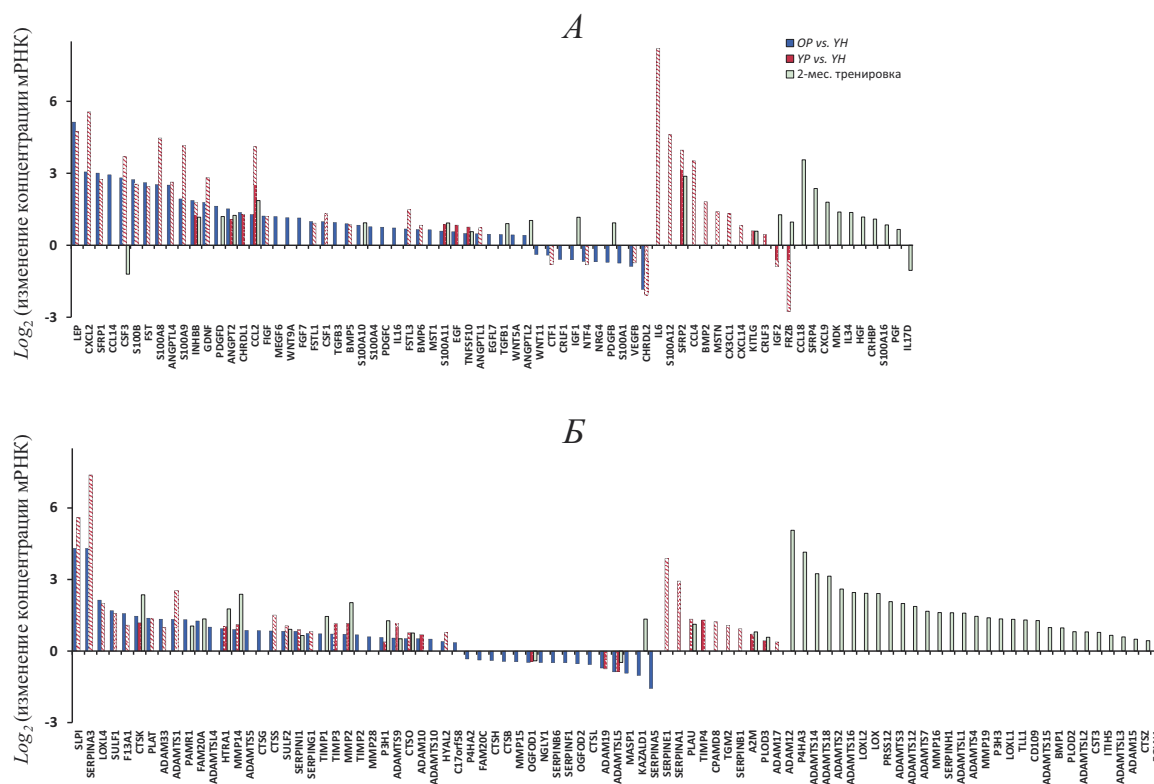


Рис. 2. Изменения профиля экспрессии мРНК секретируемых факторов (А) и энзиматических регуляторов ВКМ (Б) в *m. vastus lateralis* при хроническом снижении двигательной активности у пожилых (OP vs YH) и молодых людей (YP vs YH) и после 2-месячной аэробной тренировки. Представлены только значимые изменения ($p_{adj} < 0.01$) в виде $\log_2$.

выявлено увеличение содержания коллагена 1 и 3, составляющих половину мышечного ВКМ [2]. Эти данные согласуются с отсутствием возрастных изменений содержания коллаген-специфичной аминокислоты гидроксипролина (ВЭЖХ с флуориметрией) в *m. vastus lateralis* людей [13], но противоречат протеомному [11] и гистологическим исследованиям, показавшим увеличение содержания общего коллагена [12] и коллагенов 1 и 3 [7, 10]. Интересно то, что мы обнаружили возрастное увеличение экспрессии мРНК, кодирующих коллаген 1A1, 1A2, 3 и фибронектин 1 (доминирующие белки мышечного ВКМ [2]), без изменения содержания

их белков (рис. 1, А и Б). Известно, что в мышцах старых крыс выражено (в разы) падает скорость синтеза коллагенов, что ведет к преобладанию деградации коллагена над синтезом [26]; это может объяснять отсутствие корреляции между изменением содержания доминирующих белков ВКМ и их мРНК в нашем исследовании. Одновременно с этим мы обнаружили возрастное увеличение содержания коллагена 4A2 и нескольких субъединиц ламинина (LAMs) — основных гликопротеиновых компонентов базальной мембраны, что согласуется с возрастными изменениями, обнаруженными в мышцах мышей [17], крыс [27, 28] и человека [12].

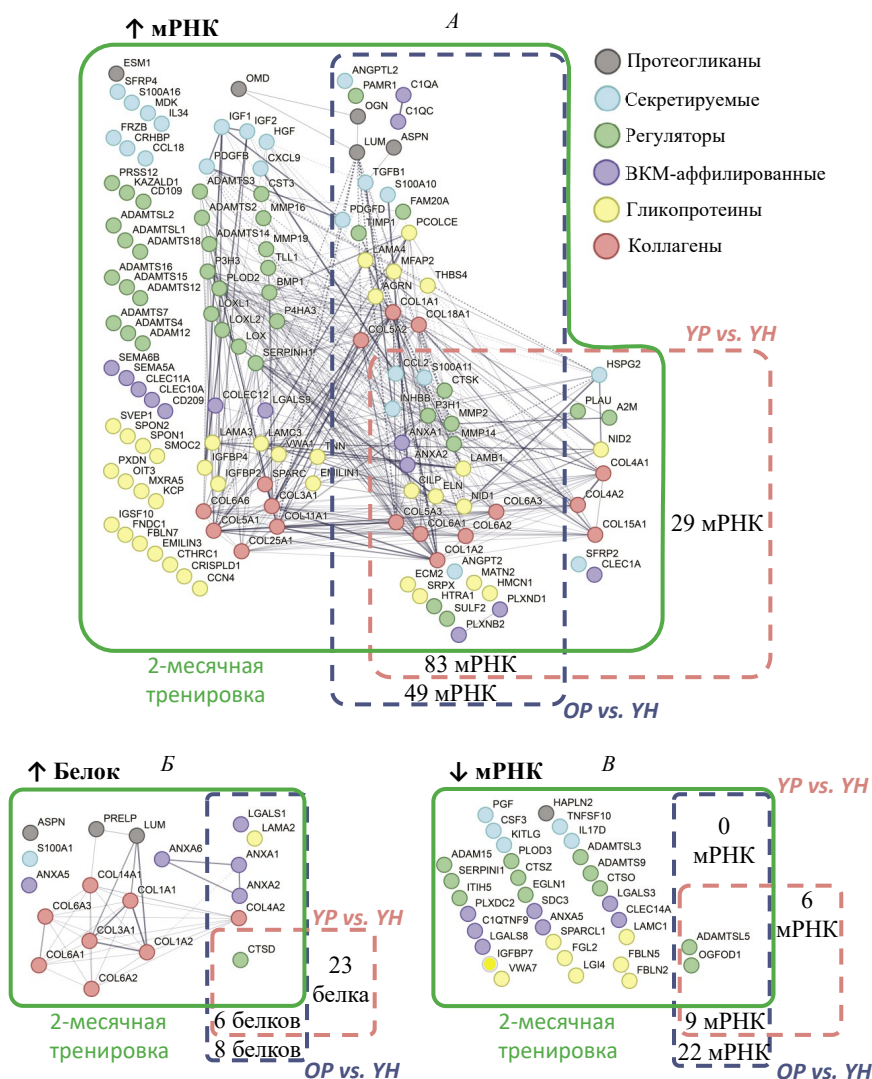


Рис. 3. Изменения экспрессии генов, кодирующих мРНК ($p_{adj} < 0.01$) и белки ($p_{adj} < 0.05$) матрикса, в *m. vastus lateralis* после 2-месячной аэробной тренировки значительно отличаются от изменений, вызванных хроническим снижением двигательной активности у пожилых (OP vs YH) и молодых людей (YP vs YH).

Количество общих и уникальных мРНК (А и В) и белков (Б) показано на пересекающихся и непересекающихся областях диаграмм. Линии показаны потенциальные белок-белковые взаимодействия; толщина линий пропорциональна релевантности взаимодействия.

Ранее мы показали, что снижение двигательной активности и сопутствующее хроническое воспаление являются ключевыми факторами возрастного изменения транскриптомного и протеомного профилей в *m. vastus lateralis* человека [16]. Однако изменения экспрессии высокопредставленных белков матрикса у пожилых и молодых пациентов относительно молодых здоровых людей различались (рис. 1, Б). В отличие от возрастных изменений (*OP* vs *YH*), у молодых пациентов (*OP* vs *YH*) не наблюдалось увеличение содержания коллагена 4A2, а также кальций-связывающих белков (аннексины (ANXA) 1, 2, 4, S100A10 и SPARCL1), но было увеличено содержание ингибиторов сериновых эндопептидаз (AGT, HRG, ITIH1, 2, 4, SERPINA1, A3, C1, F2) и регуляторов системы комплемента и коагуляции (F2, FGA, -B, -G, HRG, KNG1, PLG, VTN и VWF). Важно то, что у молодых пациентов (как и у пожилых пациентов) была увеличена концентрация ламинина (рис. 1, Б), что согласуется с эффектами длительной (60 сут) гипокинезии [29]. Данные о влиянии иммобилизации и длительной гипокинезии на коллаген в мышцах животных и человека достаточно противоречивы, что частично связано с методическими особенностями его измерения [14]. Отсутствие изменений концентрации основных коллагенов ВКМ (1 и 3) в нашей работе (рис. 1, Б) может быть объяснено тем, что многомесячное снижение двигательной активности у молодых пациентов, в отличие от более коротких периодов гипокинезии [29], вызывает пропорциональное снижение содержания основных мышечных коллагенов и саркомерных белков, составляющих основную часть мышцы.

Хроническое снижение двигательной активности и возрастные изменения вызывают ремоделирование ВКМ, имеющее общие и специфические черты: профили экспрессии мРНК, кодирующих ключевые регуляторы ВКМ – цитокины, факторы роста и энзиматические регуляторы ВКМ, похожи у молодых и пожилых пациентов. При этом для молодых пациентов характерно выраженное увеличение экспрессии воспалительных цитокинов (*IL6*, *CCL4*, *CXCL14*, *CX3CL1*), миостатина – негативно-го регулятора мышечной массы, ингибитора металлопептидаз *TIMP4*, ряда ингибиторов пептидаз (*A2M*, *SERPINA1*, *SERPINE1* и *SERPINB1*), а также ферментов, участвующих в ремоделировании ВКМ (*TGM2* и *PLOD3*).

Регулярные физические нагрузки, также как и хроническое снижение двигательной активности и возраст, являются мощным стимулом для ремоделирования ВКМ [14]. При сопоставлении полученных результатов с нашими предыдущими данными [23] было выявлено что, в отличие от снижения двигательной активности и возраста, 2-месячная аэробная тренировка на велоэргометре (без ударных нагрузок) увеличивает концентрацию

доминирующих мышечных коллагенов (1A1-2, 3A1, 4A2 и 6A1-3) (рис. 3, Б) и экспрессию генов, кодирующих воспалительные цитокины (*CCL18*, *CXCL9*, *IL34*), а также *FRZB* и ростовые факторы (рис. 2), являющиеся важными регуляторами биогенеза ВКМ (*HGF* [30, 31], *IGF1* [32] и -2 [33], *MDK* [34, 35], *PDGFB* [36] и *PGF* [37]). Следует отметить, что некоторые другие регуляторы ВКМ однонаправленно изменяли экспрессию при всех воздействиях, что указывает на их универсальную роль в регуляции ремоделирования ВКМ: увеличивали экспрессию *ANGPT2* и *INHBB* – регуляторы биогенеза ВКМ в скелетной мышце [38], а также цитокины *CCL2* и *TNFSF10*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые было сопоставлено влияние хронического снижения двигательной активности у пожилых и молодых людей на экспрессию генов, кодирующих белки внутримышечного матрикса (ВКМ и ассоциированные с ним белки). Было показано, что эти воздействия вызывают специфическое увеличение экспрессии двух десятков высокопредставленных белков матрикса, не включающих доминирующие белки ВКМ (коллаген 1, 3 и др.). В литературе представлены противоречивые данные по изменению содержания этих белков при старении и гипокинезии, что говорит о необходимости более детального изучения этого вопроса. При этом изменения экспрессии мРНК, кодирующих белки матрикса, различались в меньшей степени, чем для белков, в частности для энзиматических регуляторов ВКМ и секретируемых белков, включающих ростовые факторы-потенциальные регуляторы биогенеза ВКМ.

Описанные изменения матрикса выражено отличались от изменений, вызванных аэробной физической тренировкой у молодых людей, в частности, по экспрессии доминирующих белков ВКМ, и особенно по экспрессии мРНК энзиматических регуляторов ВКМ и секретируемых белков. Сопоставление профилей изменений экспрессии этих регуляторных генов может быть полезно для поиска фармакологических мишеней для профилактики неблагоприятных изменений/активации биогенеза ВКМ при различных патологических состояниях/физической тренировке.

Финансирование работы. Работа выполнена в рамках гранта РНФ (грант № 21-15-00405) и государственного задания МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва). Масс-спектрометрические измерения выполнены на оборудовании ЦКП "Протеом человека" на базе НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича (Москва).

Соблюдение этических стандартов. Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены Локальным этическим комитетом МНОЦ Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (Москва), протокол № 2/20 от 16.03.2020 г.

Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Вклад авторов в публикацию. А.Ю. Ефименко, Д.В. Попов — дизайн исследования, администрирование проекта. В.Г. Згода, А.Ю. Ефименко, Д.В. Попов — разработка методологии. Н.С. Курочкина, Е.М. Леднев, М.А. Орлова, М.А. Виговский, В.Г. Згода, Н.Е. Вавилов, Т.Ф. Вепхвадзе, П.А. Махновский, О.А. Григорьева, Я.Р. Бородай, В.В. Филиппов, М.Ю. Высоких, А.Ю. Ефименко, Д.В. Попов — проведение исследования, анализ. П.А. Махновский, Д.В. Попов — создание ресурсов. Е.М. Леднев, П.А. Махновский, Д.В. Попов — работа с данными. Н.С. Курочкина, Е.М. Леднев, Д.В. Попов — подготовка рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kjaer M.* Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading // *Physiol. Rev.* 2004. V. 84. № 2. P. 649.
2. *McKee T.J., Perlman G., Morris M., Komarova S.V.* Extracellular matrix composition of connective tissues: a systematic review and meta-analysis // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 10542.
3. *Campisi J., Kapahi P., Lithgow G.J. et al.* From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing // *Nature.* 2019. V. 571. № 7764. P. 183.
4. *Lopez-Otin C., Blasco M.A., Partridge L. et al.* Hallmarks of aging: An expanding universe // *Cell.* 2023. V. 186. № 2. P. 243.
5. *Furrer R., Handschin C.* Drugs, clocks and exercise in ageing: hype and hope, fact and fiction // *J. Physiol.* 2023. V. 601. № 11. P. 2057.
6. *Marcucci L., Reggiani C.* Increase of resting muscle stiffness, a less considered component of age-related skeletal muscle impairment // *Eur. J. Transl. Myol.* 2020. V. 30. № 2. P. 8982.
7. *Pavan P., Monti E., Bondi M. et al.* Alterations of extracellular matrix mechanical properties contribute to age-related functional impairment of human skeletal muscles // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 11. P. 3992.
8. *Wood L.K., Kayupov E., Gumucio J.P. et al.* Intrinsic stiffness of extracellular matrix increases with age in skeletal muscles of mice // *J. Appl. Physiol.* 2014. V. 117. № 4. P. 363.
9. *Olson L.C., Redden J.T., Schwartz Z. et al.* Advanced glycation end-products in skeletal muscle aging // *Bioengineering (Basel).* 2021. V. 8. № 11. P. 168.
10. *Fede C., Fan C., Pirri C. et al.* The Effects of Aging on the Intramuscular Connective Tissue // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 19. P. 11061.
11. *Ubaida-Mohien C., Lyashkov A., Gonzalez-Freire M. et al.* Discovery proteomics in aging human skeletal muscle finds change in spliceosome, immunity, proteostasis and mitochondria // *Elife.* 2019. V. 8. P. e49874.
12. *Nederveen J.P., Joannis S., Thomas A.C.Q. et al.* Age-related changes to the satellite cell niche are associated with reduced activation following exercise // *FASEB. J.* 2020. V. 34. № 7. P. 8975.
13. *Haus J.M., Carrithers J.A., Trappe S.W., Trappe T.A.* Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2007. V. 103. № 6. P. 2068.
14. *Mavropalias G., Boppart M., Usher K.M. et al.* Exercise builds the scaffold of life: muscle extracellular matrix biomarker responses to physical activity, inactivity, and aging // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2023. V. 98. № 2. P. 481.
15. *Murgia M., Toniolo L., Nagaraj N. et al.* Single muscle fiber proteomics reveals fiber-type-specific features of human muscle aging // *Cell. Rep.* 2017. V. 19. № 11. P. 2396.
16. *Kurochkina N.S., Orlova M.A., Vigovskiy M.A. et al.* Age-related changes in human skeletal muscle transcriptome and proteome are more affected by chronic inflammation and physical inactivity than primary aging // *Aging. Cell.* 2024. № 4. P. e14098.
17. *Lofaro F.D., Cisterna B., Lacavalla M.A. et al.* Age-related changes in the matrisome of the mouse skeletal muscle // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 19. P. 10564.
18. *Suetta C., Aagaard P., Magnusson S.P. et al.* Muscle size, neuromuscular activation, and rapid force characteristics in elderly men and women: effects of unilateral long-term disuse due to hip-osteoarthritis // *J. Appl. Physiol.* 2007. V. 102. № 3. P. 942.
19. *Callahan D.M., Miller M.S., Sweeny A.P. et al.* Muscle disuse alters skeletal muscle contractile function at the molecular and cellular levels in older adult humans in a sex-specific manner // *J. Physiol.* 2014. V. 592. № 20. P. 4555.
20. *Callahan D.M., Tourville T.W., Miller M.S. et al.* Chronic disuse and skeletal muscle structure in older adults: sex-specific differences and relationships to contractile function // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2015. V. 308. № 11. P. 932.

21. Miller M.S., Callahan D.M., Tourville T.W. et al. Moderate-intensity resistance exercise alters skeletal muscle molecular and cellular structure and function in inactive older adults with knee osteoarthritis // J. Appl. Physiol. 2017. V. 122. № 4. P. 775.
22. Shao X., Taha I.N., Clauser K.R. et al. MatrisomeDB: the ECM-protein knowledge database // Nucleic Acids. Res. 2020. V. 48. № D1. P. D1136.
23. Леднев Е.М., Лысенко Е.А., Згода В.Г. и др., Восьминедельная аэробная тренировка активирует биогенез внеклеточного матрикса в скелетной мышце человека // Физиология человека. 2023. Т. 49. № 2. С. 44.
24. Ware J., Jr., Kosinski M., Keller S.D. A 12-Item Short-Form Health Survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity // Med. Care. 1996. V. 34. № 3. P. 220.
25. Попов Д.В., Виноградова О.Л., Згода В.Г. Подготовка образцов скелетной мышцы человека для протеомных исследований с использованием изотопической метки iTRAQ // Молекулярная биология. 2019. Т. 53. № 4. С. 685.
26. Mays P.K., McAnulty R.J., Campa J.S., Laurent G.J. Age-related changes in collagen synthesis and degradation in rat tissues. Importance of degradation of newly synthesized collagen in regulating collagen production // Biochem. J. 1991. V. 276. № 2. P. 307.
27. Kanazawa Y., Ikegami K., Sujino M. et al. Effects of aging on basement membrane of the soleus muscle during recovery following disuse atrophy in rats // Exp. Gerontol. 2017. V. 98. P. 153.
28. Kovanen V., Suominen H., Risteli J., Risteli L. Type IV collagen and laminin in slow and fast skeletal muscle in rats--effects of age and life-time endurance training // Coll. Relat. Res. 1988. V. 8. № 2. P. 145.
29. Thot G.K., Berwanger C., Mulder E. et al. Effects of long-term immobilisation on endomysium of the soleus muscle in humans // Exp. Physiol. 2021. V. 106. № 10. P. 2038.
30. Gonzalez M.N., de Mello W., Butler-Browne G.S. et al. HGF potentiates extracellular matrix-driven migration of human myoblasts: involvement of matrix metalloproteinases and MAPK/ERK pathway // Skelet. Muscle. 2017. V. 7. № 1. P. 20.
31. Karalaki M., Fili S., Philippou A., Koutsilieris M. Muscle regeneration: cellular and molecular events // In Vivo. 2009. V. 23. № 5. P. 779.
32. Heinemeier K.M., Mackey A.L., Doessing S. et al. GH/IGF-I axis and matrix adaptation of the musculotendinous tissue to exercise in humans // Scand. J. Med. Sci. Sports. 2012. V. 22. № 4. P. e1.
33. Torrente Y., Bella P., Tripodi L. et al. Role of insulin-like growth factor receptor 2 across muscle homeostasis: Implications for treating muscular dystrophy // Cells. 2020. V. 9. № 2. P. 441.
34. Ikutomo M., Sakakima H., Matsuda F., Yoshida Y. Midkine-deficient mice delayed degeneration and regeneration after skeletal muscle injury // Acta. Histochem. 2014. V. 116. № 2. P. 319.
35. Jones J.C., Kroscher K.A., Dilger A.C. Reductions in expression of growth regulating genes in skeletal muscle with age in wild type and myostatin null mice // BMC. Physiol. 2014. V. 14. P. 3.
36. Duffy F.J., Jr., Seiler J.G., Gelberman R.H., Hergueter C.A. Growth factors and canine flexor tendon healing: initial studies in uninjured and repair models // J. Hand. Surg. Am. 1995. V. 20. № 4. P. 645.
37. Chen C.P., Yang Y.C., Su T.H. et al. Hypoxia and transforming growth factor-beta 1 act independently to increase extracellular matrix production by placental fibroblasts // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2005. V. 90. № 2. P. 1083.
38. Arai K.Y., Nishiyama T. Developmental changes in extracellular matrix messenger RNAs in the mouse placenta during the second half of pregnancy: possible factors involved in the regulation of placental extracellular matrix expression // Biol. Reprod. 2007. V. 77. № 6. P. 923.

REFERENCES

1. Kjaer M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading // Physiol. Rev. 2004. V. 84. № 2. P. 649.
2. McKee T.J., Perlman G., Morris M., Komarova S.V. Extracellular matrix composition of connective tissues: a systematic review and meta-analysis // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 1. P. 10542
3. Campisi J., Kapahi P., Lithgow G.J. et al. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing // Nature. 2019. V. 571. № 7764. P. 183.
4. Lopez-Otin C., Blasco M.A., Partridge L. et al. Hallmarks of aging: An expanding universe // Cell. 2023. V. 186. № 2. P. 243.
5. Furrer R., Handschin C. Drugs, clocks and exercise in ageing: hype and hope, fact and fiction // J. Physiol. 2023. V. 601. № 11. P. 2057.
6. Marcucci L., Reggiani C. Increase of resting muscle stiffness, a less considered component of age-related skeletal muscle impairment // Eur. J. Transl. Myol. 2020. V. 30. № 2. P. 8982.
7. Pavan P., Monti E., Bondi M. et al. Alterations of extracellular matrix mechanical properties contribute to age-related functional impairment of human skeletal muscles // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 11. P. 3992.
8. Wood L.K., Kayupov E., Gumucio J.P. et al. Intrinsic stiffness of extracellular matrix increases with age in skeletal muscles of mice // J. Appl. Physiol. 2014. V. 117. № 4. P. 363.

9. Olson L.C., Redden J.T., Schwartz Z. *et al.* Advanced glycation end-products in skeletal muscle aging // *Bioengineering* (Basel). 2021. V. 8. № 11. P. 168.
10. Fede C., Fan C., Pirri C. *et al.* The Effects of Aging on the Intramuscular Connective Tissue // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 19. P. 11061.
11. Ubaida-Mohien C., Lyashkov A., Gonzalez-Freire M. *et al.* Discovery proteomics in aging human skeletal muscle finds change in spliceosome, immunity, proteostasis and mitochondria // *Elife*. 2019. V. 8. P. e49874.
12. Nederveen J.P., Joannis S., Thomas A.C.Q. *et al.* Age-related changes to the satellite cell niche are associated with reduced activation following exercise // *FASEB. J.* 2020. V. 34. № 7. P. 8975.
13. Haus J.M., Carrithers J.A., Trappe S.W., Trappe T.A. Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2007. V. 103. № 6. P. 2068.
14. Mavropalias G., Boppart M., Usher K.M. *et al.* Exercise builds the scaffold of life: muscle extracellular matrix biomarker responses to physical activity, inactivity, and aging // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2023. V. 98. № 2. P. 481.
15. Murgia M., Toniolo L., Nagaraj N. *et al.* Single muscle fiber proteomics reveals fiber-type-specific features of human muscle aging // *Cell. Rep.* 2017. V. 19. № 11. P. 2396.
16. Kurochkina N.S., Orlova M.A., Vigovskiy M.A. *et al.* Age-related changes in human skeletal muscle transcriptome and proteome are more affected by chronic inflammation and physical inactivity than primary aging // *Aging. Cell.* 2024. № 4. P. e14098.
17. Lofaro F.D., Cisterna B., Lacavalla M.A. *et al.* Age-related changes in the matrisome of the mouse skeletal muscle // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 19. P. 10564.
18. Suetta C., Aagaard P., Magnusson S.P. *et al.* Muscle size, neuromuscular activation, and rapid force characteristics in elderly men and women: effects of unilateral long-term disuse due to hip-osteoarthritis // *J. Appl. Physiol.* 2007. V. 102. № 3. P. 942.
19. Callahan D.M., Miller M.S., Sweeny A.P. *et al.* Muscle disuse alters skeletal muscle contractile function at the molecular and cellular levels in older adult humans in a sex-specific manner // *J. Physiol.* 2014. V. 592. № 20. P. 4555.
20. Callahan D.M., Tourville T.W., Miller M.S. *et al.* Chronic disuse and skeletal muscle structure in older adults: sex-specific differences and relationships to contractile function // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2015. V. 308. № 11. P. 932.
21. Miller M.S., Callahan D.M., Tourville T.W. *et al.* Moderate-intensity resistance exercise alters skeletal muscle molecular and cellular structure and function in inactive older adults with knee osteoarthritis // *J. Appl. Physiol.* 2017. V. 122. № 4. P. 775.
22. Shao X., Taha I.N., Clauser K.R. *et al.* MatrisomeDB: the ECM-protein knowledge database // *Nucleic. Acids. Res.* 2020. V. 48. № D1. P. D1136.
23. Lednev E.M., Lysenko E.A., Zgoda V.G. *et al.* Eight-week aerobic training activates extracellular matrix biogenesis in human skeletal muscle // *Human Physiology*. 2023. V. 49. № 2. P. 129.
24. Ware J., Jr., Kosinski M., Keller S.D. A 12-Item Short-Form Health Survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity // *Med. Care*. 1996. V. 34. № 3. P. 220.
25. Popov D.V., Vinogradova O.L., Zgoda V.G. Preparation of human skeletal muscle samples for proteomic analysis with isobaric iTRAQ labels // *Mol. Biol.* 2019. V. 53. № 4. P. 606.
26. Mays P.K., McAnulty R.J., Campa J.S., Laurent G.J. Age-related changes in collagen synthesis and degradation in rat tissues. Importance of degradation of newly synthesized collagen in regulating collagen production // *Biochem. J.* 1991. V. 276. № 2. P. 307.
27. Kanazawa Y., Ikegami K., Sujino M. *et al.* Effects of aging on basement membrane of the soleus muscle during recovery following disuse atrophy in rats // *Exp. Gerontol.* 2017. V. 98. P. 153.
28. Kovanen V., Suominen H., Risteli J., Risteli L. Type IV collagen and laminin in slow and fast skeletal muscle in rats--effects of age and life-time endurance training // *Coll. Relat. Res.* 1988. V. 8. № 2. P. 145.
29. Thot G.K., Berwanger C., Mulder E. *et al.* Effects of long-term immobilisation on endomysium of the soleus muscle in humans // *Exp. Physiol.* 2021. V. 106. № 10. P. 2038.
30. Gonzalez M.N., de Mello W., Butler-Browne G.S. *et al.* HGF potentiates extracellular matrix-driven migration of human myoblasts: involvement of matrix metalloproteinases and MAPK/ERK pathway // *Skelet. Muscle*. 2017. V. 7. № 1. P. 20.
31. Karalaki M., Fili S., Philippou A., Koutsilieris M. Muscle regeneration: cellular and molecular events // *In Vivo*. 2009. V. 23. № 5. P. 779.
32. Heinemeier K.M., Mackey A.L., Doessing S. *et al.* GH/IGF-I axis and matrix adaptation of the musculotendinous tissue to exercise in humans // *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 2012. V. 22. № 4. P. e1.
33. Torrente Y., Bella P., Tripodi L. *et al.* Role of insulin-like growth factor receptor 2 across muscle homeostasis: Implications for treating muscular dystrophy // *Cells*. 2020. V. 9. № 2. P. 441.
34. Ikutomo M., Sakakima H., Matsuda F., Yoshida Y. Midkine-deficient mice delayed degeneration and regeneration after skeletal muscle injury // *Acta. Histochem.* 2014. V. 116. № 2. P. 319.

35. Jones J.C., Kroscher K.A., Dilger A.C. Reductions in expression of growth regulating genes in skeletal muscle with age in wild type and myostatin null mice // BMC. Physiol. 2014. V. 14. P. 3.
36. Duffy F.J., Jr., Seiler J.G., Gelberman R.H., Hergueter C.A. Growth factors and canine flexor tendon healing: initial studies in uninjured and repair models // J. Hand. Surg. Am. 1995. V. 20. № 4. P. 645.
37. Chen C.P., Yang Y.C., Su T.H. et al. Hypoxia and transforming growth factor-beta 1 act independently to increase extracellular matrix production by placental fibroblasts // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2005. V. 90. № 2. P. 1083.
38. Arai K.Y., Nishiyama T. Developmental changes in extracellular matrix messenger RNAs in the mouse placenta during the second half of pregnancy: possible factors involved in the regulation of placental extracellular matrix expression // Biol. Reprod. 2007. V. 77. № 6. P. 923.

The Effect of Long-Term Physical Disability and Aging on Extracellular Matrix Biogenesis in Human Skeletal Muscle

N. S. Kurochkina^{a, *}, E. M. Lednev^a, M. A. Orlova^a, M. A. Vigovskiy^b, V. G. Zgoda^c,
N. E. Vavilov^c, T. F. Vepkhvadze^a, P. A. Makhnovskii^a, O. A. Grigorieva^b, Y. R. Boroday^b,
V. V. Philippov^b, M. Yu. Vyssokikh^{a, d}, A. Yu. Efimenko^b, D. V. Popov^a

^a*Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia*

^b*Medical Research and Educational Center of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^c*Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia*

^d*Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^{*}*E-mail: nadia_sk@mail.ru*

Physical inactivity and aging cause significant impairments in the functionality and mechanical properties of skeletal muscles, as well as remodeling of the extracellular matrix (ECM). We aimed to study the effect of long-term inactivity and age on the biogenesis of ECM in skeletal muscle. For quantitative mass spectrometry-based proteomic analysis and RNA sequencing, biopsy samples were taken from *m. vastus lateralis* in 15 young healthy volunteers, 8 young and 37 elderly patients with long-term primary osteoarthritis of the knee/hip joint – which is a model for studying the effects of inactivity on muscles. We detected 1022 mRNAs and 101 ECM and associated proteins (matrisome). An increase in the expression of two dozen highly abundant matrisome proteins, specific to elderly and young patients (in relation to young healthy people), was detected; however, changes in the expression of mRNA encoding matrisome regulators (enzymatic regulators and secreted proteins) were similar. Comparison with previous proteomic and transcriptomic data showed that the changes in the matrisome that we described differed markedly from the changes caused by aerobic physical training in young healthy people, in particular, in the expression of the dominant ECM proteins and, especially, in the expression of mRNA of ECM enzymatic regulators and secreted proteins. Comparison of the changes in the expression profiles of these regulatory genes may be useful for identifying pharmacological targets for the prevention of adverse changes/activation of ECM biogenesis under various pathological conditions/physical training.

Keywords: extracellular matrix, matrisome, aging, disuse, transcriptome, proteome.