

Insulinooporność jest czynnikiem ryzyka cukrzycy typu 2, dyslipidemii, nadciśnienia, chorób układu krążenia, chorób neurodegeneracyjnych, niektórych nowotworów. Najczęściej związana jest z otyłością. Mięśnie szkieletowe są główną tkanką odpowiedzialną za insulinozależny wychwyty glukozy, w stanie insulinooporności wychwyty glukozy przez mięśnie jest obniżony. Siedzący tryb życia jest jedną z głównych przyczyn upośledzenia działania insuliny. Aktywność fizyczna wywiera korzystny efekt w zapobieganiu chorobom związanym z insulinoopornością. Istnieją jednak duże różnice w indywidualnej odpowiedzi metabolicznej (zmianie wrażliwości tkanek na insulinę) na regularny wysiłek fizyczny.

Podstawową cechą mięśni szkieletowych jest zdolność do wykonywania skurczów, określana jako kurczliwość mięśni. Kluczową rolę w inicjowaniu skurczu mięśni odrywa jon wapnia. Może on także stymulować wychwyty glukozy przez mięśnie niezależnie od skurczu, regulować ekspresję genów oraz biogenezę mitochondriów. W mięśniach, zawartość wapnia w cytozolu jest determinowana głównie poprzez jego przepływ pomiędzy cytozolem a retikulum sarkoplazmatycznym. W naszych wstępnych badaniach wykazaliśmy, że geny związane z wewnątrzkomórkowym przepływem wapnia wykazują zmniejszoną ekspresję w mięśniach szkieletowych osób z niską wrażliwością tkanek na insulinę. Pomimo związku z wapniem, rola tych genów w regulowaniu kurczliwości i metabolizmu mięśni szkieletowych, a także działania insuliny, pozostaje nieznana.

Wysunęliśmy hipotezę, że czynniki związane z wewnątrzkomórkowym przepływem wapnia mogą regulować kurczliwość mięśni szkieletowych, wrażliwość na insulinę oraz indywidualną odpowiedź metaboliczną na regularny wysiłek fizyczny. Obniżona ekspresja zidentyfikowanych przez nas genów może wiązać się ze zmniejszoną kurczliwością mięśni, rozwojem insulinooporności, a także z osłabioną odpowiedzią metaboliczną na wysiłek.

**Celem projektu** jest ocena roli genów związanych z wewnątrzkomórkowym przepływem wapnia w regulacji kurczliwości mięśni szkieletowych, wrażliwości na insulinę oraz odpowiedzi metabolicznej na regularny wysiłek fizyczny.

Planujemy zbadać 60 osób, 20 z prawidłową masą ciała i prawidłową tolerancją glukozy, 20 osób z otyłością i prawidłową tolerancją glukozy oraz 20 osób z otyłością i nieprawidłową tolerancją glukozy. Grupy zostaną dobrane pod względem wieku i płci. Tylko osoby, które wyrażą pisemną zgodę na udział w badaniu po przeczytaniu pisemnej informacji dla ochotników, zostaną włączone do badania. Wrażliwość na insulinę zostanie zmierzona metodą klamry hiperinsulinemicznej normoglikemicznej. Zostanie wykonana biopsja mięśnia obszernego bocznego uda: w spoczynku oraz 12-tygodniowym po regularnym treningu (tlenowy trening interwałowy o dużej intensywności oraz ciągły wysiłek tlenowy o umiarkowanej intensywności). Część materiału z biopsji zostanie wykorzystana do przeprowadzania hodowli komórkowych i oceny wychwyty glukozy w rozwiniętych miotubach przed i po treningu.

Planujemy również przeprowadzić hodowlę linii mioblastów C2C12, z wyciszeniem badanych genów. W części rozwiniętych miotub wykonamy stymulację elektryczną. Miotuby będą badane w warunkach bez wyciszenia oraz z wyciszeniem genu, a także bez stymulacji i po stymulacji. Zostanie zmierzony wychwyty glukozy przez komórki. Badane białka, kanały wapniowe oraz rozwój sarkomeru zostaną ocenione w mikroskopii konfokalnej, w miotubach, a także próbkach mięśni pobranych od ochotników. Ponadto, w każdym badanych warunkach, przeprowadzimy analizę ekspresji genów (RNA-seq oraz qPCR), a także białek (Western blot oraz ko-immunoprecypitacja). W ostatnim etapie badania zbadamy niezależną grupę ochotników (n=12), przeprowadzona zostanie hodowla komórek satelitarnych mięśni szkieletowych z części materiału pobranego w czasie biopsji w celu potwierdzenia wyników uzyskanych na mioblastach.

Planowany projekt pozwoli na zbadanie roli nowych czynników w patogenezie insulinooporności mięśni szkieletowych, a także w modulowaniu odpowiedzi metabolicznej na wysiłek fizyczny. Uzyskane wyniki mogą zwiększyć nasze rozumienie molekularnych mechanizmów prowadzących do osłabienia działania insuliny w mięśniach, a także przyczynić się do znalezienia nowych punktów uchwytu dla zapobiegania i leczenia chorób związanych z insulinoopornością.