

УДК 612.744.14

Молекулярные механизмы изменения мышечного тонуса в условиях космического полета и при его моделировании

Б. С. Шенкман^{1*}, А. К. Цатурян², И. М. Вихлянец³, И. Б. Козловская¹, А. И. Григорьев¹¹ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, 123007 Россия²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт механики, Москва, 119192 Россия³Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Московская обл., Пущино, 142290 Россия

*E-mail: bshenkman@mail.ru

Поступила в редакцию 06.04.2020

Принята к печати 04.08.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.10953

РЕФЕРАТ В условиях как реальной (космический полет), так и моделируемой невесомости у человека наблюдается значительная потеря мышечной жесткости (атония) уже в первые дни воздействия. Этот феномен связывают с инактивацией медленных двигательных единиц и называют рефлекторной атонией. Однако в конце XX века появилось много данных о том, что даже изолированная мышца и изолированное волокно обладают функционально значимой жесткостью. Эта собственная жесткость мышцы (*intrinsic stiffness*) определяется как активным компонентом, т.е. способностью формировать некоторое количество актомиозиновых связей (поперечных мостиков) при растяжении и сокращении, так и молекулами структурных белков цитоскелета и внеклеточного матрикса, способными оказывать механическое сопротивление как при растяжении мышцы/волокна, так и при их сокращении. В обзоре рассмотрены основные изменения собственной мышечной жесткости в условиях гравитационной разгрузки. Проанализированы данные, полученные в экспериментах с использованием моделей «сухой» иммерсии (с участием добровольцев) и вывешивания задних конечностей (на лабораторных грызунах). Обсуждаются результаты и гипотезы, касающиеся возможного уменьшения вероятности образования поперечных мостиков в атрофирующейся мышце вследствие увеличения межфиламентного расстояния. Приведены данные, свидетельствующие о деградации ряда ключевых белков саркомерного цитоскелета (титина, небулина и др.) в условиях гравитационной разгрузки. Представлены возможные механизмы изменения структуры коллагена во внеклеточном матриксе постуральной мышцы и его роль в снижении собственной жесткости мышцы. Рассмотрены механизмы снижения собственной мышечной жесткости и роль этого снижения в процессе развития атрофических изменений мышц.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА скелетная мышца, гравитационная разгрузка, атония, вывешивание задних конечностей, «сухая» иммерсия, жесткость мышцы, собственная жесткость, пассивная жесткость, цитоскелет, белки саркомерного цитоскелета, титин, коллаген.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ППС – площадь поперечного сечения; Akt – протеинкиназа B; GSK3 β – киназа гликогенсинтазы 3 β ; HSP – белки теплового шока; 17-ААГ – 17-(аллиламино)-17-диметоксигельданамицин.

ВВЕДЕНИЕ

Загадочные механизмы поддержания и снижения мышечного тонуса всегда привлекали внимание физиологов. Под тонусом обычно понимают фоновое механическое напряжение мышцы, создающее биомеханическую основу для выполнения целенаправленных движений. Изменение тонуса можно оценивать по изменению жесткости мышцы. О рефлекторном управлении тонусом известно давно.

Спорным вопросом долгое время оставалось существование молекулярно-клеточных механизмов поддержания тонуса, присущих самой мышце.

При использовании тензометрических и виброметрических методов оценки поперечной жесткости мышц человека *in vivo* Козловская и соавт. [1], а также Григорьев и соавт. [2] показали, что в условиях как реальной (космический полет), так и моделируемой невесомости наблюдается значительная потеря

мышечной жесткости уже в первые дни воздействия. Этот феномен получил название гипогравитационной атонии. Такая потеря жесткости оказалась связанной, прежде всего, с изменениями работы двигательных единиц (ДЕ) мышц экстензоров, т.е. с инактивацией пула медленных ДЕ в условиях гравитационной разгрузки [3, 4] (рис. 1). Эти представления подтверждаются и рядом наблюдений, свидетельствующих о значительном снижении или полном прекращении электрической активности постуральной камбаловидной мышцы крысы при устранении опоры как в условиях наземного эксперимента с антиортостатическим вывешиванием задних конечностей, так и в реальной невесомости при полете по параболе Кеплера [5–8]. Поэтому можно считать, что потеря жесткости в значительной степени обусловлена инактивацией медленных мышечных волокон, поддерживающих фоновую механическую активность мышц даже в покое на Земле, что, в свою очередь, и отражается на жесткостных параметрах мышцы *in vivo*. Этот компонент жесткости можно назвать рефлекторным (рис. 2).

Существуют ли собственные периферические механизмы снижения жесткости мышцы при ее инактивации?

В конце XX века появилось много данных о том, что даже изолированная мышца и изолированное (и пермеабилезированное) волокно обладают функционально значимой жесткостью, которая постепенно утрачивается после прекращения сократительной активности. Эта собственная жесткость мышцы (*intrinsic stiffness*, рис. 2) определяется как активным компонентом, т.е. способностью формировать некоторое количество актомиозиновых связей (поперечных мостиков) при растяжении и сокращении, так и «параллельным упругим/эластичным компонентом», т.е. молекулами структурных белков цитоскелета и внеклеточного матрикса, способными оказывать механическое сопротивление как при растяжении мышцы/волокна, так и при их сокращении (рис. 3).

Жесткость – это приращение механического напряжения, т.е. растягивающей силы, отнесенной к площади поперечного сечения, в ответ на деформацию (относительное удлинение) мышечных волокон. Поскольку мышечная клетка, особенно активированная, проявляет не только упругие, но и вязкоупругие свойства, результат определения жесткости зависит от метода измерения. Различают динамическую, или мгновенную жесткость, которую можно измерить, прикладывая очень быструю деформацию, и статическую жесткость, которую характеризуют уровнем напряжения, установившегося через длительное время после окончания изменения длины. Используют ступенчатое, «пилообразное», или синусоидальное изменение длины мышцы. В первом случае дли-

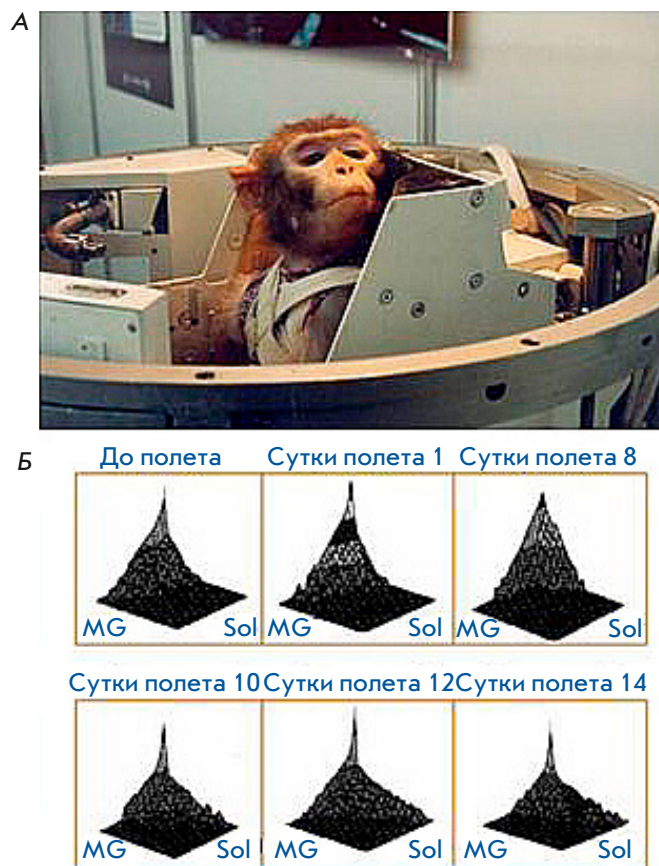


Рис. 1. Изменения порядка рекрутирования *m. gastrocnemius* (MG) и *m. soleus* (Sol) обезьян при выполнении задачи удержания груза в космическом полете. В камбаловидной мышце (*m. soleus*) до 95% волокон составляют медленные волокна. В икроножной мышце (*m. gastrocnemius*) число медленных волокон не превышает 40–50%, остальные волокна быстрые. Регистрация активности этих двух мышц при удержании рычага в капсуле биоспутника (А) обнаружила, что до полета это движение выполняется в основном *m. soleus* (Б). В полете же картина мышечной активности изменялась от дня ко дню: активность *m. soleus* снижалась, а *m. gastrocnemius* возрастала, так что в конце полета заданное движение выполнялось почти исключительно *m. gastrocnemius*

ну мышцы меняют скачком, длительность которого в лучших экспериментальных установках составляет около 0.1 мс, что позволяет определить мгновенную жесткость. Во втором случае длину мышцы меняют по линейному закону, что позволяет непосредственно получать диаграмму деформация–напряжение. Синусоидальная, или гармоническая, деформация позволяет наилучшим образом использовать имеющееся оборудование для достижения максимального временного разрешения. Поскольку диаграмма растяжения мышцы имеет нелинейный характер, то даже для растяжений в единицы процентов раз-

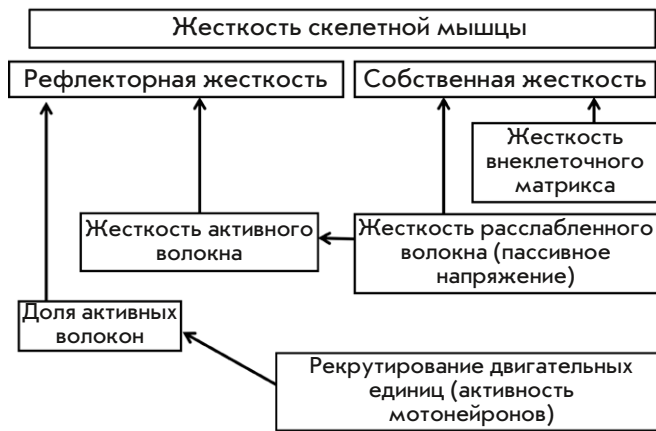


Рис. 2. Физиологическая классификация жесткостных свойств скелетных мышц

личают касательную и секущую, или хордовую жесткость. Активная жесткость интактной мышцы может быть обусловлена фоновой электрической импульсацией, а в изолированной мышце связана либо с наличием надпороговой концентрации ионов кальция, вызывающей частичную активацию тропонин-тропомиозиновой регуляторной системы, либо с дефектами этой системы, например, с частичной потерей тропониновых комплексов, в результате чего даже в отсутствие ионов кальция некоторые регуляторные единицы оказываются активированными. Устранить активный компонент жесткости можно добавлением блеббистатина – специфического блокатора миозина II, который свободно проникает в клетку через сарколемму [9], связывается с миозином и блокирует его переход в состояние прочного связывания с актином [10]. Аккуратно измерить активный компонент жесткости можно применяя достаточно быстрое растяжение со скоростями деформации по крайней мере в несколько длин мышцы в секунду. В противном случае жесткость оказывается недооцененной из-за релаксации напряжения. Поскольку пассивная жесткость не линейна, необходимо регистрировать всю кривую удлинение–напряжение (растягивающую силу, отнесенную к площади поперечного сечения).

В обзоре рассмотрены основные данные об изменении собственной мышечной жесткости в условиях гравитационной разгрузки, выражающейся, прежде всего, в глубокой инактивации ряда мышц. Речь пойдет о данных, полученных главным образом в условиях безопорности, т.е. в экспериментах с использованием моделей «сухой» иммерсии (с участием добровольцев) (рис. 4) и вывешивания задних конечностей (на лабораторных грызунах) (рис. 5). Будут также обсуждены гипотетические механизмы снижения собственной мышечной жесткости и роль этого снижения в процессе развития атрофических изменений мышц.

Основные гипотетические факторы собственной мышечной жесткости

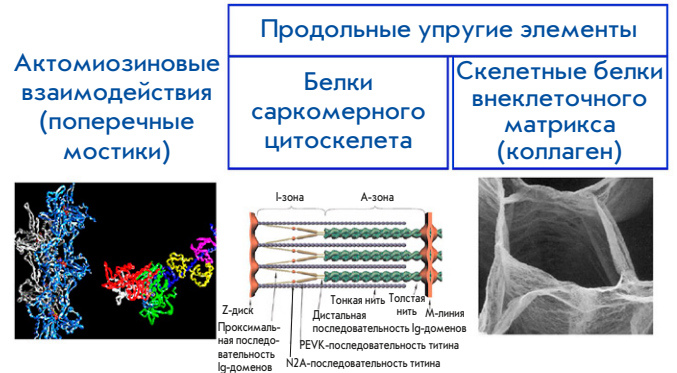


Рис. 3. Основные гипотетические факторы, ассоциированные с собственной жесткостью мышцы

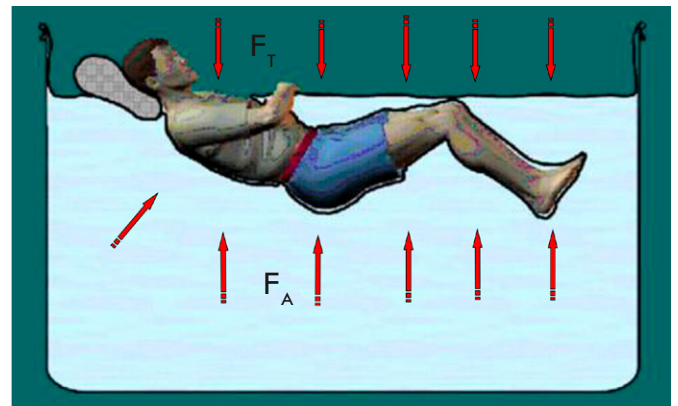


Рис. 4. Экспериментальная модель «сухая» иммерсия. При погружении в воду результирующая сила гидростатического давления (Архимедова сила – F_A) уравновешивает силу тяжести (F_T). Однако эта сила распределена по всей поверхности тела, поэтому давление на каждую единицу поверхности тела оказывается намного меньше, чем сила реакции опоры в положении стоя, сидя или лежа

Перед тем как перейти непосредственно к рассмотрению обсуждаемой проблемы, имеет смысл кратко охарактеризовать упомянутые экспериментальные подходы.

«Сухая» иммерсия – модель, разработанная в 70-е годы в России [11], предполагает полное погружение испытуемого в воду в открытой ванне. При этом поверхность тела испытуемого отделена от воды водонепроницаемой пленкой, свободно покрывающей поверхность воды и бортики ванны, а в воздушной среде остается только голова испытуемого (рис. 4).

Вывешивание задних конечностей [12, 13] остается одной из самых распространенных стандартных моделей микрогравитации на лабораторных грызунах. Животное подвешивается к потолку клетки либо за хвост, либо за кожу спины, либо с помощью

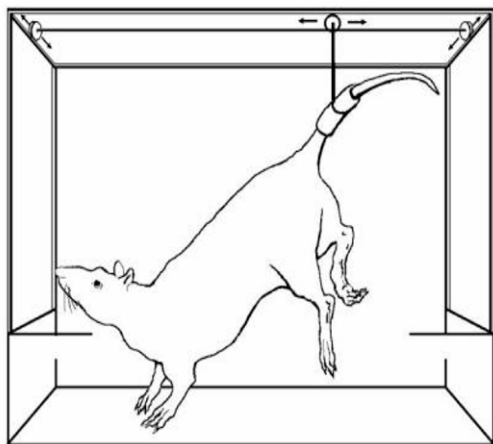


Рис. 5. Экспериментальная модель «вывешивание задних конечностей». При отрыве стопы животного от субстрата опорные афференты инактивируются, что приводит к состоянию опорной разгрузки

тканевого жилета так, чтобы передние конечности опирались на грунт, задние не касались его, находясь под углом 30–40 градусов от пола (рис. 5). При правильном использовании модели животное может свободно передвигаться по клетке. Уровень кортикостерона, указывающего на степень стрессированности животного, редко превышает уровень интактного грызуна виварного контроля [14].

ПАССИВНАЯ И АКТИВНАЯ ЖЕСТКОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ МЫШЦ И ВОЛОКОН ПРИ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ

К настоящему времени известно, что при гравитационной разгрузке происходит существенное снижение как пассивной, так и активной жесткости мышц и волокон. Так, в экспериментах группы Goubel показано, что пассивное напряжение (passive tension) постуральной *m. soleus* крысы значительно снижается после 3–4-недельного вывешивания [15]. Уже в первых работах эти авторы приписывали снижение «последовательного эластического компонента» как активным механизмам (поперечным мостикам), так и пассивным (по их мнению, преимущественно сухожильным) элементам. Однако снижение passive tension после 14-суточного вывешивания обнаружено и у одиночных пермеабилитированных волокон *m. soleus* [16]. Причем это снижение, как показало специальное исследование с устранением влияния актомиозиновых связей, может считаться преимущественно следствием снижения относительного содержания титина, эластичного белка цитоскелета. Временной ход изменений динамической жесткости полностью активированных мышечных волокон в условиях моделируемой гравитационной разгрузки (вывешивания) был исследован

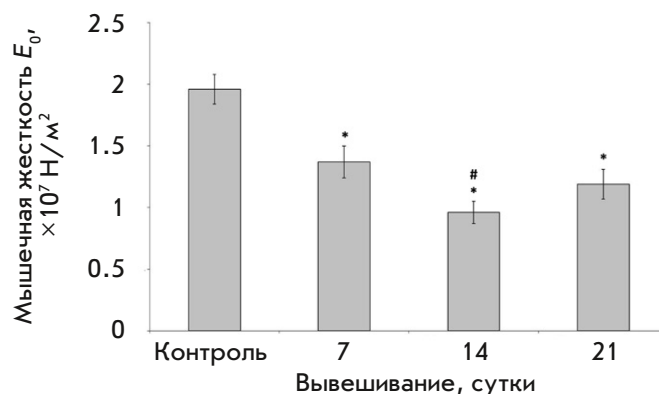


Рис. 6. Изменения динамического модуля упругости Юнга (показателя жесткости) полностью активированных пермеабилитированных волокон *m. soleus* крысы при вывешивании задних конечностей [17] в течение 7, 14 и 21 суток. * — достоверное отличие от группы виварного контроля ($p < 0.05$), # — достоверное отличие от группы 7-суточного вывешивания ($p < 0.05$)

McDonald и Fitts [17]. Показано, что снижение модуля Юнга уже после 7 суток разгрузки составило 30%, а после 2 недель вывешивания значение модуля Юнга было в половину меньше, чем у контрольных животных (рис. 6). Интересно, что после 3 недель его значение оставалось таким же, как и после 2 недель разгрузки. В лаборатории одного из авторов настоящего обзора методом атомной силовой микроскопии оценивали поперечную жесткость пермеабилитированных волокон *m. soleus* крысы при вывешивании. При исследовании этим методом сократительного аппарата (после устранения мембранных структур с помощью детергента) удалось установить, что поперечная жесткость миофибриллярного аппарата на участке от М-линии до Z-диска статистически значимо снижалась на 35% только на третий (но не на первый) день вывешивания. Далее интенсивность снижения была ниже, но к 12 суткам вывешивания поперечная жесткость была ниже уровня контроля на 68% [18]. Поперечная жесткость в зоне Z-диска уже на 3 суток вывешивания снизилась более чем в 2 раза и продолжала снижаться далее. Интересно, что при измерении поперечной жесткости сократительных структур волокна, активированного высокой концентрацией ионов Ca^{2+} (pCa 4.2), снижение жесткости после вывешивания было существенно более выраженным – почти двукратным на участке между Z-диском и М-линией после 3 суток воздействия, и более 63% после 12 суток. При этом следует отметить, что поскольку у интактного животного жесткость активированного волокна была почти в 2 раза больше, чем расслабленного волокна, то снижение жесткости активированного волокна, выраженной в абсолютных значениях, было существенно более глубоким. Аналогичные данные

получены в эксперименте с участием добровольцев на *m. soleus* человека после 7 суток «сухой» иммерсии [19]. При рассмотрении этих данных приходится учитывать ограниченные возможности метода атомной силовой микроскопии, который не позволяет оценивать сопротивление материала в продольном измерении, а также оценивать жесткость целого волокна, а тем более целой мышцы, так как глубина проникновения кантилевера ограничена.

Итак, известные к настоящему времени данные не ставят под сомнение снижение собственной (intrinsic) продольной и поперечной, динамической и статической, пассивной и активной жесткости мышцы, ее волокон и их компонентов при моделируемой гравитационной разгрузке млекопитающих. В то же время неясными остаются молекулярные механизмы, определяющие это снижение жесткости.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЖЕСТКОСТЬ МЫШЦЫ: ПОПЕРЕЧНЫЕ МОСТИКИ

Известно, что пассивную жесткость мышцы в условиях растяжения определяют как поперечные мостики [20–22], так и цитоскелетные (титин, небулин, обскурин, миозинсвязывающий С-белок) и регуляторные белки, которые, во-первых, составляют пассивный параллельный упругий компонент мышцы [23, 24], а, во-вторых, влияют на вероятность образования поперечных мостиков [25–28].

На жесткость целой мышцы или пучков ее волокон влияют и компоненты межволоконного матрикса, в частности коллагеновые фибриллы [29]. Недавно было показано, что жесткость внеклеточного матрикса существенно больше, чем у изолированных волокон [30]. Интересно проследить, какое влияние на эти белки оказывает гравитационная разгрузка. Известно, что пассивная жесткость имеет более высокие значения у мышц с преобладанием волокон, экспрессирующих тяжелые цепи миозина медленного типа [15]. Поэтому следовало бы ожидать, что в условиях гравитационной разгрузки жесткость должна снизиться при прочих равных условиях вследствие изменения характера экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина в сторону преобладания экспрессии быстрых изоформ [31, 32].

Понятно, что вероятность формирования поперечных мостиков выше, если в миофибрилярном аппарате поддерживается оптимальное межфиламентное расстояние (interfilament spacing). При уменьшении относительного количества нормально организованных актиновых филаментов (без нарушений структуры) межфиламентное расстояние должно увеличиваться, а вероятность образования поперечных мостиков снижаться. В работах группы Fitts и Riley показано, что после 14-суточного вывешивания крыс

[33], 17-суточной постельной гипокинезии и 17-суточного космического полета в камбаловидной мышце человека уменьшается количество актиновых филаментов и наблюдается укорочение некоторых из них [34–36]. Такие изменения сопровождаются снижением максимальной силы и мощности сокращения одиночных пермеабелизованных волокон, а также их кальциевой чувствительности. Обнаруженный феномен может иметь прямое отношение к снижению активной жесткости мышечных волокон. Причина таких изменений до сих пор не установлена. Ранее мы обнаружили снижение содержания белка тонких нитей небулина в *m. soleus* крыс после 7–14-суточного вывешивания [37, 38]. Не исключено, что причиной «выпадения» актиновых филаментов может быть снижение относительного содержания небулина. В то же время, как недавно установлено, в генетически атрофированной мышце уменьшается количество прочных и увеличивается количество слабых актомиозиновых связей при изометрическом сокращении (по данным ЭПР) [39]. В недавнем эксперименте с применением эффективного и специфического ингибитора миозина II блеббистатина нами показано, что на фоне вывешивания задних конечностей крысы блеббистатин оказывает одинаковое влияние на пассивную жесткость камбаловидной мышцы как взятой у интактного животного, так и у животного после 3 суток гравитационной разгрузки на фоне уже сниженной пассивной жесткости. Эти результаты заставляют предположить, что возможное изменение характеристик того небольшого числа поперечных мостиков, которые образуются в покоящейся мышце после гравитационной разгрузки, не влияет на ее пассивную жесткость [40]. Однако не исключено, что увеличение межмиофиламентного расстояния, уменьшение количества тонких филаментов и изменение характеристик поперечных мостиков в условиях разгрузки и гипогравитационной атрофии могут существенно сказываться на активной динамической жесткости. Этот вопрос остается важным для будущих исследований.

САРКОМЕРНЫЕ БЕЛКИ И МЫШЕЧНАЯ ЖЕСТКОСТЬ

Из белков саркомерного цитоскелета наибольший интерес вызывает титин, вклад которого в определение пассивной жесткости мышечных волокон признается очень существенным [23, 41]. Несколько доменов гигантской молекулы титина в большей или меньшей степени обладают свойствами пружины и могут сжиматься и растягиваться (рис. 7). Снижение относительного содержания титина в условиях антиортостатического вывешивания впервые обнаружено Christine Kasper в 2000 году [42]. Аналогичные данные получены в лаборатории Лилльского университета в 2002 году [16]. В том же году нами обнаружено

снижение содержания титина-1 (T1) и увеличение содержания его протеолитического фрагмента T2 в камбаловидной мышце крысы после 14-суточного вывешивания [43]. Если учитывать, что титин является одним из компонентов «параллельного упруго-эластического компонента», определяющего величину снижающейся при разгрузке пассивной жесткости волокна, то можно было ожидать либо снижения содержания этого белка, либо увеличения его эластичности (compliance) уже после 2–3 суток вывешивания (когда уже наблюдается снижение пассивной жесткости мышцы). Однако оказалось, что это не совсем так. Goto и соавт. не обнаружили изменений содержания коннектина (титина-1) после 3 суток вывешивания [44]. При этом оказалось, что после такого вывешивания упругий участок молекулы титина, расположенный между Z-дисксом и N2A-доменом (включая пружинный участок PEVK), не только не увеличивает свою эластичность, но теряет ее, проявляя менее эластичные свойства [44]. В последнее время эти данные получили объяснение в работе Nishikawa и соавт. [45], в которой показано, что при повышении уровня ионов кальция в волокне (а именно это и происходит при гравитационной разгрузке [46–48]) в районе домена N2A происходит жесткое сцепление молекулы титина со структурами тонкого филамента. В 2008 году нами в *m. soleus* крыс после 3 суток вывешивания также не обнаружено снижения содержания N2A-изоформы титина-1, характерной для скелетных мышц [49]. Значимое снижение содержания титина-1 зарегистрировано нами после 7 суток вывешивания [50]. Недавно в лаборатории одного из авторов настоящего обзора выявили статистически значимое увеличение экспрессии титина в камбаловидной мышце крысы в течение 3 суток экспозиции в условиях разгрузки (вывешивание задних конечностей) [51]. Не исключено, что такое увеличение экспрессии компенсирует распад части молекул титина, что и приводит к отсутствию видимых изменений его содержания. Интересно, что после 7 суток вывешивания уровень экспрессии титина не превышает контрольный [50], что позволяет зарегистрировать снижение содержания титина на этом временном интервале, вероятно, за счет его повышенного кальцийзависимого протеолиза.

Таким образом, есть большие основания считать, что деструкция титина и небулина при экспозиции животного более 3 суток в условиях моделируемой гравитационной разгрузки может внести существенный вклад в снижение пассивной жесткости мышцы. Однако вопрос о том, могут ли изменения в этих белках быть связаны с изменениями жесткостных свойств разгруженной мышцы в ранний период разгрузки (до 3 суток), остается открытым. Нельзя исключить того,

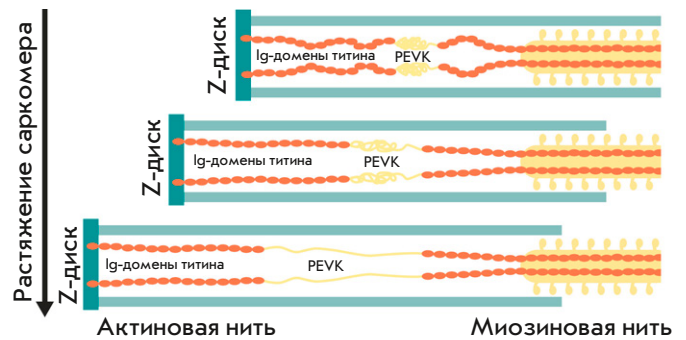


Рис. 7. Пружинные свойства (растяжимость) домена PEVK молекулы титина

что вклад в изменение жесткости молекулы титина и соответственно мышцы в целом в ранний период разгрузки может внести изменение степени фосфорилирования этого белка. Это предположение не лишено оснований. Известно, что фосфорилирование /дефосфорилирование PEVK- и N2B-последовательностей титина сердечной мышцы изменяют жесткостные свойства молекул, что приводит к изменению обусловленной титином пассивной жесткости кардиомиоцитов и мышцы в целом [52]. Эти изменения, в свою очередь, играют важную роль в регуляции сократительной активности миокарда. Известны данные о фосфорилировании титина скелетных мышц [53, 54]. Роль этой посттрансляционной модификации в изменении жесткостных свойств молекулы титина не ясна, но на основании данных об уменьшении уровня фосфорилирования PEVK-участка молекулы титина в *m. vastus lateralis* крыс после 15 мин физической нагрузки (бег на тредбане) высказано предположение о роли этих изменений в снижении обусловленной титином пассивной жесткости [54]. Обсуждается роль гипофосфорилирования титина в снижении жесткостных свойств его молекул и ухудшении сократительной способности диафрагмы крысы после 18 ч механической разгрузки (механической вентиляции легких), приведшей к атрофии этой мышцы [55–57]. В наших исследованиях обнаружено увеличение общего уровня фосфорилирования T1 и T2 в *m. gastrocnemius* мышцей после 30-суточного космического полета, что сопровождалось снижением содержания T1 [58]. Снижение содержания титина и небулина в условиях гравитационной разгрузки будет, несомненно, приводить к уменьшению пассивной жесткости, развиваемой молекулами титина при растяжении, и жесткости мышцы в целом. Однако при этом нельзя исключить как снижения, так и увеличения жесткостных свойств молекулы титина в зависимости от фосфорилирования разных участков его молекулы.

Нельзя исключить и гипотезу, связывающую процесс распада некоторых белков цитоскелета (предположительно влияющих на жесткость мышцы) с фос-

фосфорилированием специфических сайтов их молекул. Эта гипотеза получила недавно подтверждение в исследованиях механизмов распада десмина (межмиофибрилярного и межмиофиламентного цитоскелетного белка). В работе группы Cohen показано, что процесс убиквитинирования и кальпаинзависимой деполимеризации десмина запускается фосфорилированием молекулы десмина хорошо известной киназой GSK3 β [59]. Известно, что эта киназа может ингибироваться негативным фосфорилированием киназой Akt-1 [60] и NO-зависимой киназой гуанилатциклазного каскада [61]. Таким образом, фосфорилирование/дефосфорилирование десмина могут влиять как на содержание этого белка, так и на изменение собственной жесткости мышцы.

Большое значение для формирования поперечных мостиков имеет уровень фосфорилирования легких цепей миозина, прежде всего в волокнах быстрого типа. Фосфорилирование легких цепей миозина, осуществляемое киназой легких цепей, способствует формированию поперечных мостиков и увеличению кальциевой чувствительности пермеабилizированных волокон [62, 63]. Однако в начале этого века было показано, что, как это ни парадоксально, при моделируемой гравитационной разгрузке (модели вывешивания задних конечностей) уровень фосфорилирования легких цепей миозина в *m. soleus* крысы повышается, а не понижается [64]. Таким образом, повышение уровня фосфорилирования легких цепей миозина в условиях гравитационной разгрузки в некоторой степени может компенсировать падение мышечной жесткости, обусловленное увеличением межмиофиламентного расстояния, уменьшением количества тонких филаментов и снижением содержания эластичного белка саркомерного цитоскелета титина.

Важнейшую роль при формировании поперечных мостиков играет миозинсвязывающий С-белок. Будучи фосфорилированным (по трем сайтам) он выполняет каркасную (scaffold) роль при замыкании актомиозиновой связи [65]. Однако нам не удалось найти данных, описывающих состояние этого белка при разгрузке. То же самое можно сказать и о таком важном саркомерном белке, как обскурин.

Что касается телетонина, замыкающего в Z-диске соседние титиновые нити и поэтому играющего важную роль в поддержании структуры и целостности Z-диска, а также целостности титинового цитоскелета, то в работе группы Taillandier показано, что при вывешивании крыс наблюдается убиквитинирование и распад этого белка в *m. soleus* [66]. Интересно, что содержание этого белка существенно снижается уже после 3 суток вывешивания [40].

В лаборатории одного из авторов настоящего обзора обнаружено, что гравитационная разгрузка приво-

дит к деградации альфа-актинина-2 – характерного белка Z-диска [67]. Эта деградация становится статистически значимой только после 7 суток вывешивания. Интересно, что содержание альфа-актинина-3 в камбаловидной мышце крысы при вывешивании снижается на 20% уже после 3 суток экспозиции [40]. Не исключено, что уменьшение содержания альфа-актининов-2 и -3 может приводить в определенной степени к дезинтеграции Z-диска, что, в свою очередь, может обусловить нарушение стабильности межфиламентного расстояния и снизить вероятность формирования поперечных мостиков, и будет, очевидно, способствовать снижению активной жесткости мышцы. Следует также обратить внимание и на то, что альфа-актинины, как и телетонин, выполняют функцию «заякоривания» титина в Z-диске [68]. И их деструкция может привести к дезинтеграции всего саркомерного цитоскелета и снижению всех жесткостных характеристик мышечного волокна.

Коллаген

Пассивная жесткость внеклеточного матрикса и соединительной ткани скелетных мышц является важным компонентом жесткости целой мышцы. Эта жесткость существенно превышает пассивную жесткость мышечных волокон и имеет ярко выраженный нелинейный характер [30, 69, 70]. Основным фактором, определяющим механические свойства внеклеточного матрикса и соединительной ткани мышцы, – количество и свойства (количество гидроксипролиновых поперечных сшивок) коллагеновых фибрилл. В скелетной мышце локализованы несколько изоформ коллагена, однако наибольший вклад в механические свойства мышцы вносят коллагены I и III [71]. При этом коллаген III характеризуется меньшей жесткостью и большей эластичностью (рис. 8).

Вклад коллагена в пассивную жесткость целой мышцы несомненен, однако, насколько деструкция или пониженный синтез коллагена в условиях разгрузки влияют на снижение жесткостных параметров в настоящее время неясно. Несмотря на прогрессирующее увеличение объема соединительной ткани в условиях гравитационной разгрузки [72, 73], увеличения содержания коллагена в мышце в этих условиях не регистрируют [74]. Более того, после 7-суточного космического полета в камбаловидной, подошвенной и некоторых других мышцах задней конечности крысы наблюдали значительное снижение содержания коллагена [75]. Аналогичные данные получены при иммобилизации камбаловидной мышцы в укороченном состоянии [76]. При моделировании гравитационной разгрузки методом вывешивания задних конечностей крыс анализ содержания мРНК коллагенов типа I и III обнаруживает выраженное

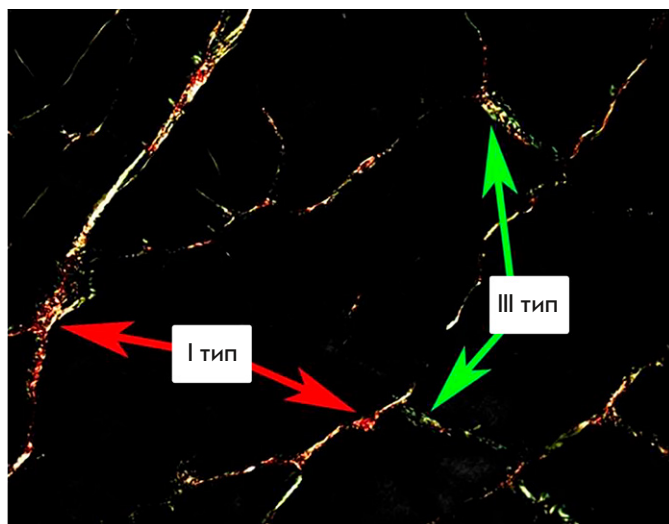


Рис. 8. Изоформы коллагена-I (красный) и коллагена-III (зеленый) на срезе камбаловидной мышцы человека. Окраска пикросириусом красным. Поляризационная микроскопия

снижение экспрессии на 3 сутки эксперимента [77], которое сменялось восстановлением до контрольного уровня к 7 суткам. В свою очередь, экспрессия мРНК коллагена III в камбаловидной мышце снижается после 7 суток вывешивания [78]. В то же время в преимущественно быстрой *m. gastrocnemius* выявлено значительное снижение экспрессии всех мышечных изоформ коллагена после 3-недельного вывешивания [79]. Однако определение экспрессии коллагена в *m. vastus lateralis* и *m. soleus* человека после 90-суточной постельной гипокинезии не выявило никаких достоверных изменений [80]. После 14-суточного вывешивания наблюдали интересный феномен: сдвиг соотношения экспрессии коллагена типа I (более жесткой изоформы) и коллагена типа III (более эластичной изоформы) в пользу коллагена типа III [81]. Каким образом этот феномен может влиять на жесткостные характеристики мышцы не установлено. Из сказанного понятно, что состояние коллагенов в постуральной мышце в условиях гравитационной разгрузки изучено недостаточно, поэтому трудно судить об их роли в процессе снижения пассивной жесткости мышцы при разгрузке.

Молекулярные механизмы снижения собственной жесткости мышцы

Итак, имеющиеся в настоящее время данные позволяют связывать собственную жесткость мышцы главным образом с состоянием белков саркомерного цитоскелета. Поэтому мы рассматриваем здесь те представления о механизмах снижения жесткости инактивированной мышцы, которые основаны на знаниях о распаде этих белков.

Известно, что деградация ряда цитоскелетных белков, в частности титина, осуществляется с помощью цистеиновых кальцийзависимых протеаз кальпаинов [82]. В этой работе Murphy показано, что обработка раствором μ -кальпаина препарата пермеабелизованного волокна приводила к резкой потере пассивного напряжения, т.е. жесткости. При этом наблюдался интенсивный распад титина. Роль кальпаинов в условиях гравитационной разгрузки интенсивно изучали в последние годы. Так, показано, что активность кальпаина (правда, измеренная в лизате на фоне супрафизиологической концентрации ионов кальция) значительно повышается в первые дни вывешивания, при этом наблюдается интенсивный распад его субстрата десмина [18, 83–85]. Интересно, что активация кальпаина сопряжена со структурными нарушениями Z-диска в мышечном волокне [86]. Нами обнаружено, что предотвращение избыточного накопления ионов кальция в мышечном волокне с помощью кальцийсвязывающего агента или блокатора дигидропиридиновых кальциевых каналов (нифедипина) приводит к снижению активности μ -кальпаина [85]. Интересно и то, что блокада кальциевых каналов приводит к снижению экспрессии мРНК μ -кальпаина, повышенной в условиях разгрузки [87].

Все эти данные свидетельствуют о высокой активности кальпаина в условиях разгрузки, что должно способствовать интенсивному распаду цитоскелетных и регуляторных белков саркомера и снижению жесткости мышцы. И действительно, применение специфического ингибитора кальпаина PD150606 позволило не только предотвратить распад белков цитоскелета, стабилизирующих титин (альфа-актинин-2 и телетонин), но и снижение пассивной жесткости камбаловидной мышцы [40].

Среди эндогенных ингибиторов кальпаина называют кальпастатин и оксид азота. У мышцей со сверхэкспрессией кальпастатинного гена отсутствовали атрофические изменения при вывешивании [88]. Однако у нормальных животных в условиях вывешивания экспрессия кальпастатина снижается [84]. В настоящее время, к сожалению, неизвестны физиологические, зависящие от уровня мышечной активности, механизмы, приводящие к изменению экспрессии кальпастатина. Другой эндогенный ингибитор кальпаина – оксид азота [89], продукция которого находится в зависимости от сократительной активности мышечного волокна [90]. В условиях разгрузки продукция оксида азота снижается [91]. При этом повышение уровня оксида азота в атрофирующейся мышце с помощью введения *L*-аргинина позволяет предотвратить распад ряда цитоскелетных белков и несколько уменьшить выраженность атрофии мышцы [91]. Недавно нами получены данные, свидетельствующие о предотвраще-

нии распада титина в условиях гравитационной разгрузки при введении *L*-аргинина [50]. Таким образом, можно предположить, что снижение уровня оксида азота в условиях гравитационной разгрузки является фактором, способствующим снижению жесткости мышцы в результате кальпаинзависимого распада белков цитоскелета.

Другая группа факторов, противодействующих протеолизу белков цитоскелета, – белки теплового шока (HSP), активирующие работу нейрональной NO-синтазы и обеспечивающие целостность титина [92, 93]. Дегградация сократительных белков может быть усилена при разрушении белков теплового шока HSP90 и 70, концентрация которых в мышцах обычно очень высока. Однако при гравитационной разгрузке на фоне атрофии их уровень падает на 50–70% [94, 95]. Некоторые авторы полагают, что сниженная экспрессия HSP в мышцах при разгрузке может иметь существенное значение для их атрофии. На фоне гравитационной разгрузки удалось резко увеличить уровень экспрессии белков HSP90 и HSP70 при использовании стимулятора 17-ААГ [96], который предотвращал увеличение содержания кальпаина и интенсификацию убиквитинирования белков. Активное взаимодействие HSP90 с нейрональной NO-синтазой, его протективное действие по отношению к молекуле титина позволяют предполагать, что снижение его экспрессии в условиях гравитационной разгрузки может иметь отношение к снижению жесткости мышцы.

Несмотря на то что большинство авторов согласны с тем, что белки внеклеточного матрикса, в частности изоформы коллагена, вносят существенный вклад в определение собственной пассивной жесткости мышцы, изменения этих белков при разгрузке изучены гораздо хуже, чем изменения белков саркомерного цитоскелета. Поэтому изучение механизмов регуляции экспрессии коллагенов в зависимости от сократительной активности мышцы находится в самом начале пути. Главное здесь – выяснение механизма функционально-зависимого ингибирования экспрессии коллагена фиброгенными клетками соединительной ткани межволоконного матрикса скелетной мышцы. При исследовании этого вопроса большой интерес представляет функция микроРНК-206 (miR-206). Недавно показали, что на фоне активации сателлитных клеток повышенная экспрессия и секреция miR-206 (в виде экзозом) приводит к ингибированию экспрессии коллагена в фиброгенных клетках соединительной ткани в межволоконном пространстве скелетной мышцы [97]. Интересно, что при вывешивании задних конечностей мышшей наблюдается увеличение содержания miR-206 в сыворотке крови [98]. Возможно, что снижение содержания коллагена при разгрузке связано с изменениями экспрессии и транспорта этого

вида микроРНК. Пока крайне мало сообщений об экспрессии и везикулярной секреции miR-206 на фоне гравитационной разгрузки. Будущие исследования покажут, какие механизмы в действительности регулируют содержание коллагена в мышце и его жесткость в условиях разгрузки.

РОЛЬ ОПОРНОЙ АФФЕРЕНТАЦИИ В ПОДДЕРЖАНИИ ЖЕСТКОСТНЫХ СВОЙСТВ ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ

Прямое влияние опорной афферентации на двигательные функции человека было впервые показано в совместном советско-кубинском эксперименте на борту советского космического аппарата. В этом эксперименте применили механическую стимуляцию опорных зон стопы [99]. Впоследствии в экспериментах с «сухой» иммерсией использовали модифицированные устройства, позволяющие проводить длительные сеансы опорной стимуляции. В этих исследованиях, в частности, обнаружено, что опорная стимуляция на фоне иммерсии позволяет поддерживать нормальный уровень электрической активности и рефлекторной поперечной жесткости *m. soleus* [100].

В наших экспериментах применяли следующий режим стимуляции опорных зон стопы: ежедневное воздействие с давлением на стопу 40 кПа. Стимуляцию проводили в течение 6 ч по 20 мин в начале каждого часа в режимах естественной локомоции: медленной (75 шаг/мин) – 10 мин и быстрой (120 шаг/мин) – 10 мин. В *m. soleus* после 7-суточной иммерсии с применением опорной стимуляции не обнаружено значимого уменьшения ППС мышечных волокон медленного типа и сколько-нибудь заметных сдвигов в процентном соотношении волокон, экспрессирующих медленные и быстрые изоформы тяжелых цепей миозина [101]. Таким образом, развитие атрофии было предотвращено без применения интенсивных беговых или специальных резистивных нагрузок. С помощью опорной стимуляции удалось предотвратить снижение максимального изометрического напряжения и кальциевой чувствительности пермеабилizированных волокон [19, 101, 102]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что мышечная активность, индуцированная стимуляцией опорных афферентов, позволяет избежать нарушений процессов формирования поперечных мостиков.

Что касается исследований поперечной жесткости миофибриллярного аппарата (атомная силовая микроскопия с предобработкой пермеабилizированных волокон Тритоном X-100), то в расслабленных волокнах после применения опорной стимуляции на фоне 7-суточной иммерсии достоверное снижение жесткости (на 30%) обнаружено только в плоскости Z-диска. Во всех остальных зонах саркомера поперечная жесткость не отличалась статистически зна-

чимо от предыммерсионных значений [19]. В активированных волокнах (при pCa 4.2) применение опорной стимуляции не позволило полностью предотвратить снижение жесткости, однако в разных зонах саркомера оно колебалось в пределах 15–25%. Таким образом, снижение жесткости активированного волокна было значительно менее выражено после опорной стимуляции по сравнению со значениями после пребывания в «чистой» иммерсии [19]. Вероятно, мышечная активность позволила сохранить почти неизменными показатели жесткости миофибриллярного аппарата как за счет предотвращения нарушений в формировании поперечных мостиков, так и за счет предотвращения распада белков саркомерного цитоскелета. Последнее предположение подкрепляется данными о содержании титина и небулина в *m. soleus* человека, полученными с применением опорной стимуляции на фоне пребывания в условиях «сухой» иммерсии. У испытуемых группы опорной стимуляции на фоне иммерсии содержание титина и небулина показывало лишь небольшую тенденцию к снижению, тогда как в группе «чистой» иммерсии снижение достигало 40% [101, 102]. Снижение содержания десмина также не наблюдали при действии опорной стимуляции. Так как распад упомянутых цитоскелетных белков обычно приписывают действию μ -кальпаина, то не исключено, что мышечная активность, индуцированная афферентной стимуляцией, инициирует эндогенный механизм ингибирования кальпаина. Такой механизм может быть связан с поддержанием высокой активности синтазы оксида азота, который известен как эндогенный ингибитор активности кальпаина (см. выше). В нашем исследовании механическая стимуляция опорных зон стопы позволила не только избежать снижения содержания синтазы оксида азота нейронального типа, но и несколько повысить ее содержание по сравнению с предыммерсионным уровнем [103]. Дальнейшие исследования покажут, насколько верны наши предположения о механизме, посредством которого опорная афферентация, обеспечивая постоянный (хотя и низкий) уровень активности постуральной *m. soleus*, позволяет поддерживать нормальное состояние цитоскелета и системы мобилизации актомиозинового мотора.

ЖЕСТКОСТЬ И РАЗВИТИЕ АТРОФИИ

Жесткость скелетных мышц является не только механической основой антигравитационной устойчивости организма млекопитающего, но и неотъемлемым компонентом системы механотрансдукции, т.е. процесса трансформации механической альтерации структур мышечного волокна в метаболический сигнал, контролирующий процессы экспрессии генов, синтеза и распада белка. В течение ряда лет

в многочисленных публикациях (например, [104]) обсуждался вопрос о возможной сигнальной роли титина. Однако долгое время экспериментальные данные, подтверждающие такие предположения, почти не публиковались. Единственным свидетельством сигнальной роли титина было перемещение в мышечное ядро E3-убиквитин-лигазы MuRF2, связанной с киназным участком M-домена молекулы титина, при денервации *m. gastrocnemius* [105]. Кроме того, этим же коллективом авторов показано увеличение АТФазной активности и фосфорилирования киназного центра титина при растяжении молекулы титина *in vitro* [106].

Вопросы о том, каким образом киназный домен титина, локализованный в области M-линии саркомера и участвующий в димеризации молекул титина, связанных с двумя соседними миозиновыми нитями, может служить механосенсором, и какой именно механический сигнал он воспринимает, оставались открытыми. Была высказана гипотеза о том, что этот домен может служить сенсором разупорядочивания миозиновых нитей, и именно нарушение структуры саркомера запускает синтез саркомерных белков [107]. Эта гипотеза основана на математической модели механики саркомера, в которой также учтен вклад некоторых внесаркомерных цитоскелетных белков M-линии, в первую очередь, обскурина. Предположение об участии обскурина в стабилизации толстых нитей в саркомерах получило позднее подтверждение в экспериментах с летательными мышцами дрозофил с нокаутом гена, кодирующего обскурин [108].

Недавно в экспериментах с денервированной полудиафрагмой мышцы сопоставляли сигнальные свойства мышц мышцей двух мутантных линий, различающихся повышенной и пониженной жесткостью молекулы титина. Денервационная атрофия в этом эксперименте преодолевалась с помощью механического растяжения мышцы, стимулирующего анаболические процессы. Оказалось, что анаболический эффект растяжения более выражен у мышцей с повышенной жесткостью титина [109]. Согласно этому сообщению, анаболический сигнал в этом случае передавался с помощью специального белка с «анкириновым повтором», связанного с титином. Этот белок освобождался от связи с титином и поступал в мышечные ядра при растяжении. Предполагается, что он мог стимулировать экспрессию генов, контролирующих анаболические процессы в волокне. Так механический сигнал мышечного растяжения мог трансформироваться в химический сигнал, стимулирующий синтез белка.

Основываясь на многочисленных данных об анаболических эффектах растяжения, эксцентрической

и в целом резистивной нагрузки, ряд авторов считают, что источником мышечной атрофии при гравитационной разгрузке является не прекращение сократительной активности волокна, а снижение «напряжения», т.е. нагрузочности, резистивности мышечного сокращения [11, 110]. Этот вывод подкрепляется, прежде всего, результатами экспериментов с непрерывной низкочастотной электростимуляцией на фоне вывешивания [110–112]. В этих экспериментах не удалось добиться даже частичного предотвращения атрофии камбаловидной мышцы. Интересно, что если использовать не непрерывную, а повторную электростимуляцию, то можно предотвратить не только снижение мышечной массы, но и снижение пассивной жесткости мышцы [113–115]. В исследованиях с 7-суточной иммерсией и механостимуляцией опорных афферентов нам удалось, не создавая дополнительного напряжения в камбаловидной мышце, добиться значительного снижения степени атрофии [6, 101]. В экспериментах с кратковременным (1–3 суток) вывешиванием задних конечностей крыс применение механостимуляции опорной поверхности стопы животного позволило полностью избежать повышения экспрессии протеолитических ферментов и частично предотвратить снижение интенсивности синтеза белка [116]. Поэтому можно предположить, что, по крайней мере, на начальном этапе разгрузки, сократительная активность, вызываемая активацией опорных афферентов, противодействуя распаду жесткой цитоскелетной сети и преодолевая ее «внутреннюю резистивность», позволяет частично или полностью предотвратить развитие мышечной атрофии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, известные к настоящему времени факты свидетельствуют о том, что

- собственная жесткость мышц конечностей человека и грызунов, поперечная и продольная, динамическая и статическая, закономерно снижается уже в течение первой недели экспозиции в условиях безопорности; наиболее интенсивно снижается жесткость зоны Z-диска;

- это снижение сопровождается снижением содержания белков саркомерного цитоскелета как гигантских – титина и небулина, так и белков Z-диска, стабилизирующих титиновые филаменты; при этом вклад изменений характера актомиозиновых взаимо-

действий в снижение жесткости при гравитационной разгрузке не представляется существенным;

- распад цитоскелетных белков осуществляется кальпаинами, представителями семейства кальций-зависимых цистеиновых протеаз, регуляция работы которых обусловлена работой синтазы оксида азота и некоторых белков теплового шока;

- активация мышечных сокращений в условиях работы механизма опорной афферентации приводит к снижению интенсивности распада цитоскелетных белков и поддержанию уровня жесткости мышцы, приближенного к нативному;

- собственная жесткость мышцы и работа белков цитоскелета являются необходимым условием предотвращения атрофии мышц при их бездействии.

Современное состояние вопроса о молекулярных механизмах снижения пассивной жесткости постральной мышцы в условиях моделируемой гравитационной разгрузки оставляет нерешенными ряд важнейших проблем:

- за счет изменения каких компонентов саркомера (поперечных мостиков, гигантских белков цитоскелета или минорных и регуляторных белков) происходит снижение жесткости изолированной мышцы на разных сроках пребывания животного в условиях гравитационной разгрузки;

- какие процессы приводят к распаду или инактивации саркомерных белков в условиях разгрузки;

- какую роль в этих процессах играет снижение мощности защитных механизмов;

- влияют ли белки межволоконного матрикса (прежде всего коллагены) на процессы снижения жесткости изолированной мышцы;

- каковы механизмы влияния белков цитоскелета на сигнальные механизмы регуляции анаболических процессов в волокне, и сказывается ли на работе этих механизмов снижение собственной жесткости мышцы.

Поиск ответов на эти вопросы – задачи будущих исследований. ●

*Работа поддержана Программой
фундаментальных исследований
ГНЦ РФ ИМБП РАН (госзадание) Тема 65.3.*

*Авторы выражают глубокую благодарность
М.В. Кушенко за помощь в подготовке рукописи
к печати.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kozlovskaya I., Dmitrieva I., Grigorieva L., Kirenskaya A., Kreydich Yr. // Stance and Motion. / Eds Gurfinkel V.S., Ioffe M.Ye., Massion J. N.Y.: Plenum Press, 1988. P. 37–48.
2. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90. № 5. С. 508–521.
3. Киренская А.В., Козловская И.Б., Сирота М.Г. // Физиол. человека. 1986. Т. 12. № 1. С. 617–632.
4. Roy R.R., Hodgson J.A., Aragon J., Day M.K., Kozlovskaya I., Edgerton V.R. // J. Gravit. Physiol. 1996. V. 3. № 1. P. 11–15.
5. Alford E.K., Roy R.R., Hodgson J.A., Edgerton V.R. // Exp. Neurol. 1987. V. 96. № 3. P. 635–649.

6. Kawano F, Nomura T, Ishihara A., Nonaka I., Ohira Y. // *Neuroscience*. 2002. V. 114. № 4. P. 1133–1138.
7. Kawano F, Ishihara A., Stevens J.L., Wang X.D., Ohshima S., Horisaka M., Maeda Y., Nonaka I., Ohira Y. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004. V. 287. № 1. P. 76–86.
8. De-Doncker L., Kasri M., Picquet F., Falempin M. // *J. Exp. Biol.* 2005. V. 208. № 24. P. 4585–4592.
9. Farman G.P., Tachampa K., Mateja R., Cazorla O., Lacampagne A., de Tombe P.P. // *Pflugers Arch.* 2008. V. 455. № 6. P. 995–1005.
10. Allingham J.S., Smith R., Rayment I. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2005. V. 12. № 4. P. 378–379.
11. Shulzhenko E.B., Vil-Vilyams I.F. // *Kosm. Biol. Aviakosm.* 1976. V. 10. P. 82–84.
12. Novikov V.E., Ilyin E.A. // *Aviat. Space Environ. Med.* 1981. V. 52. № 9. P. 551–553.
13. Morey-Holton E.R., Globus R.K. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2002. V. 92. № 4. P. 1367–1377.
14. Tyganov S.A., Mochalova E.P., Belova S.P., Sharlo K.A., Rozhkov S.V., Vilchinskaya N.A., Paramonova I.I., Mirzoev T.M., Shenkman B.S. // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. Article #1252. doi: 10.3389/fphys.2019.01252
15. Canon F., Goubel F. // *Pflugers Arch.* 1995. V. 429. № 3. P. 332–337.
16. Toursel T., Stevens L., Granzier H., Mounier Y. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2002. V. 92. № 4. P. 1465–1472.
17. McDonald K.S., Fitts R.H. // *J. Appl. Physiol.* 1995. V. 79. № 5. P. 1796–1802.
18. Ogneva I.V. // *J. Appl. Physiol.* 2010. V. 109. P. 1702–1709.
19. Ogneva I.V., Ponomareva E.V., Altaeva E.G., Fokina N.M., Kurushin V.A., Kozlovskaya I.B., Shenkman B.S. // *Acta Astronaut.* 2011. V. 68. P. 1478–1485.
20. Granzier H.L., Wang K. // *Biophys. J.* 1993. V. 65. № 5. P. 2141–2159.
21. Campbell K.S., Lakie M. // *J. Physiol.* 1998. V. 510. № 3. P. 941–962.
22. Whitehead N.P., Weerakkody N.S., Gregory J.E., Morgan D.L., Proske U. // *J. Physiol.* 2001. V. 533. № 2. P. 593–604.
23. Granzier H.L., Irving T.C. // *Biophys. J.* 1995. V. 68. № 3. P. 1027–1044.
24. Irving T., Wu Y., Bekyarova T., Farman G.P., Fukuda N., Granzier H. // *Biophys. J.* 2011. V. 100. № 6. P. 1499–1508.
25. Muhle-Goll C., Habeck M., Cazorla O., Nilges M., Labeit S., Granzier H. // *J. Mol. Biol.* 2001. V. 313. № 2. P. 431–447.
26. Cazorla O., Vassort G., Garnier D., Le Guennec Y. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999. V. 31. № 6. P. 1215–1227.
27. Kensler R.W., Harris S.P. // *Biophys. J.* 2008. V. 94. № 5. P. 1707–1718.
28. Ottenheijm C.A., Granzier H., Labeit S. // *Front. Physiol.* 2012. V. 3. P. 37.
29. Ducomps C., Mauriège P., Darche B., Combes S., Lebas F., Doutreloux J.P. // *Acta Physiol. Scand.* 2003. V. 178. № 3. P. 215–224.
30. Marcucci L., Bondi M., Randazzo G., Reggiani C., Natali A.N., Pavan P.G. // *PLoS One*. 2019. V. 14. № 1. P. e0224232.
31. Baldwin K.M., Haddad F., Pandorf C.E., Roy R.R., Edgerton V.R. // *Front. Physiol.* 2013. V. 4. P. 284.
32. Shenkman B.S. // *Acta Naturae*. 2016. V. 8. № 4 (31). P. 47–59.
33. Riley D.A., Bain L., Romatowski J.G., Fitts R.H. // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2005. V. 288. № 2. P. 360–365.
34. Riley D.A., Bain J.L., Thompson J.L., Fitts R.H., Widrick J.J., Trappe S.W., Trappe T.A., Costill D.L. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2002. V. 92. № 2. P. 817–825.
35. Riley D.A., Bain J.L., Thompson J.L., Fitts R.H., Widrick J.J., Trappe S.W., Trappe T.A., Costill D.L. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2000. V. 88. № 2. P. 567–572.
36. Riley D.A., Bain J.L., Thompson J.L., Fitts R.H., Widrick J.J., Trappe S.W., Trappe T.A., Costill D.L. // *Muscle Nerve*. 1998. V. 21. № 10. P. 1280–1289.
37. Shenkman B.S., Litvinova K.S., Nemirovskaya T.L., Podlubnaya Z.A., Vikhlyantsev I.M., Kozlovskaya I.B. // *J. Gravit. Physiol.* 2004. V. 11. № 2. P. 111–114.
38. Подлубная З.А., Вихлянцев И.М., Мухина А.М., Немировская Т.Л., Шенкман Б.С. // *Биофизика*. 2004. Т. 49. № 3. С. 424–429.
39. Galazzo L., Nogara L., LoVerso F., Polimeno A., Blaauw B., Sandri M., Reggiani C., Carbonera D. // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2019. V. 316. № 5. P. 722–730.
40. Petrova L.O., Tyganov S.A., Mirzoev T.M., Tsaturyan A.K., Kozlovskaya I.B., Shenkman B.S. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2018. V. 481. P. 205–207.
41. Linke W.A. // *Annu. Rev. Physiol.* 2018. № 80. P. 389–411.
42. Kasper C.E., Xun L. // *Biol. Res. Nurs.* 2000. V. 2. № 2. P. 107–115.
43. Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L., Belozerova I.N., Vikhlyantsev I.M., Matveeva O.A., Staroverova K.S., Podlubnaya Z.A. // *J. Gravit. Physiol.* 2002. V. 9. № 1. P. 139–140.
44. Goto K., Okuyama R., Honda M., Uchida H., Akema T., Ohira Y., Yoshioka T. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2003. V. 94. № 3. P. 897–902.
45. Nishikawa K.C., Monroy J.A., Uyeno T.E., Yeo S.H., Pai D.K., Lindstedt S.L. // *Proc. Biol. Sci.* 2012. V. 279. № 1730. P. 981–990.
46. Ingalls C.P., Warren G.L., Armstrong R.B. // *J. Appl. Physiol.* 1999. V. 87. № 1. P. 386–390.
47. Ingalls C.P., Wenke J.C., Armstrong R.B. // *Aviat. Space Environ. Med.* 2001. V. 72. № 5. P. 471–476.
48. Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L. // *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 2008. № 29. P. 221–230.
49. Пономарева Е.В., Кравцова В.В., Качаева Е.В., Алтаева Э.Г., Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., Кривой И.И., Шенкман Б.С. // *Биофизика*. 2008. Т. 53. № 6. С. 1087–1094.
50. Ulanova A.D., Gritsyna Y.V., Salmov N.N., Lomonosova Y.N., Belova S.P., Nemirovskaya T.L., Shenkman B.S., Vikhlyantsev I.M. // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. Article # 1221.
51. Уланова А.Д., Грицына Ю.В., Жалимов В.К., Бобылёва Л.Г., Белова С.П., Немировская Т.Л., Шенкман Б.С., Вихлянцев И.М. // *Биофизика*. 2019. Т. 64. № 5. С. 854–860.
52. Linke W.A., Hamdani N. // *Circ. Res.* 2014. V. 114. № 6. P. 1052–1068.
53. Krüger M., Linke W.A. // *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 2006. V. 27. № 5–7. P. 435–444.
54. Müller A.E., Kreiner M., Kötter S., Lassak P., Bloch W., Suhr F., Krüger M. // *Front. Physiol.* 2014. № 5. P. 449.
55. Ottenheijm C.A., van Hees H.W., Heunks L.M., Granzier H. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2011. № 300. P. 161–166.
56. van Hees H.W., Schellekens W.J., Andrade Acuña G.L., Linkels M., Hafmans T., Ottenheijm C.A., Granzier H.L., Scheffer G.J., van der Hoeven J.G., Dekhuijzen P.N., Heunks L.M. // *Intensive Care Med.* 2012. № 38. P. 702–709.
57. van der Pijl R.J., Granzier H.L., Ottenheijm C.A. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2019. № 317. P. 167–176.
58. Ulanova A., Gritsyna Y., Vikhlyantsev I., Salmov N., Bobylev A., Abdusalamova Z., Rogachevsky V., Shenkman B., Podlubnaya Z. // *Biomed. Res. Int.* 2015. V. 2015. P. 104735.
59. Aweida D., Rudesky I., Volodin A., Shimko E., Cohen S. // *J. Cell. Biol.* 2018. V. 217. № 10. P. 3698–3714.
60. Harwood A.J. // *Cell*. 2015. № 105. P. 821–824.
61. Drenning J.A., Lira V.A., Simmons C.G., Soltow Q.A., Sellman J.E., Criswell D.S. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2008.

- № 294. P. 1088–1095.
62. Szczesna D., Zhao J., Jones M., Zhi G., Stull J., Potter J.D. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2002. V. 92. № 4. P. 1661–1670.
63. Ryder J.W., Lau K.S., Kamm K.E., Stull J.T. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 28. P. 20447–20454.
64. Bozzo C., Stevens L., Toniolo L., Mounier Y., Reggiani C. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2003. V. 285. № 3. P. 575–583.
65. Ackermann M.A., Kontrogianni-Konstantopoulos A. // *Front. Physiol.* 2013. V. 4. P. 391.
66. Heng A.E., Ventadour S., Jarzaguet M., Pouch-Pélessier M.N., Guezennec C.Y., Bigard X., Attaix D., Taillandier D. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2008. V. 40. № 11. P. 2544–2552.
67. Мирзоев Т.М., Шенкман Б.С., Ушаков И.Б., Огнева И.В. // *ДАН.* 2012. Т. 44. № 2. С. 216–218.
68. Grison M., Merkl U., Kostan J., Djinić-Carugo K., Rief M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017. V. 114. № 5. P. 1015–1020.
69. Wood L.K., Kayurov E., Gumucio J.P., Mendias C.L., Claflin D.R., Brooks S.V. // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2014. V. 117. № 4. P. 363–369.
70. Meyer L. // *J. Biomech.* 2011. V. 44. № 4. P. 771–773.
71. Kovanen V. // *Exerc. Sport Sci. Rev.* 2002. V. 30. № 1. P. 20–25.
72. Belozeroва I.N., Shenkman B.S., Mazin M.G., Leblanc A. // *J. Gravit. Physiol.* 2001. V. 8. № 1. P. 71–72.
73. Шенкман Б.С., Белозерова И.Н., Матвеева О.А., Мазин М.Г., Немировская Т.Л., Киселева Е.В., Козловская И.Б. // *Биол. мембраны.* 2003. V. 20. № 1. P. 77–86.
74. Matsumoto T., Ono T., Ishikura H., Aihara K., Sato Y., Tashaka A., Umei N., Tsumiyama W., Oki S. // *J. Phys. Ther. Sci.* 2017. № 29. P. 1192–1195.
75. Martin T.P. // *Cell Tissue Res.* 1988. № 254. P. 251–253.
76. Ahtikoski A.M., Koskinen O.A., Virtanen P., Kovanen V., Takala T.E.S. // *Acta Physiol. Scand.* 2001. № 172. P. 131–140.
77. Hirose T., Nakazato K., Song H., Ishii N. // *J. Appl. Physiol.* 2008. № 104. P. 170–177.
78. Heinemeier K.M., Olesen J.L., Haddad F., Schjerling P., Baldwin K.M., Kjaer M. // *J. Appl. Physiol.* 2009. № 106. P. 178–186.
79. Kaasik P., Riso E.M., Seene T. // *Int. J. Sports Med.* 2011. № 32. P. 247–253.
80. Nielsen R.O., Schjerling P., Tesch P., Stål P., Langberg H. // *Muscles, Ligaments Tendons J.* 2015. V. 5. № 4. P. 305–309.
81. Miller T.A., Lesniewski L.A., Muller-Delp J.M., Majors A.K., Scalise D., Delp M.D. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001. № 281. P. 1710–1717.
82. Murphy R.M., Verburburg E., Lamb G.D. // *J. Physiol.* 2006. V. 576. № 2. P. 595–612.
83. Enns D.L., Belcastro A.N. // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006. № 84. P. 601–609.
84. Enns D.L., Raastad T., Ugelstad I., Belcastro A.N. // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2007. V. 100. № 4. P. 445–455.
85. Алтаева Э.Г., Лысенко Л.А., Канцерова Н.П., Немова Н.Н., Шенкман Б.С. // *ДАН.* 2010. Т. 433. № 1. С. 138–141.
86. Ma X.W., Li Q., Xu P.T., Zhang L., Li H., Yu Z.B. // *Mol. Cell. Biochem.* 2011. V. 354. № 1–2. P. 171–180.
87. Белова С.П., Ломоносова Ю.Н., Шенкман Б.С., Немировская Т.Л. // *ДАН.* 2015. Т. 260. № 1. С. 98–101.
88. Tidball J.G., Spencer M.J. // *J. Physiol.* 2002. V. 545. № 3. P. 819–828.
89. Michetti M., Salamino F., Melloni E., Pontremoli S. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995. № 207. P. 1009–1014.
90. Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L., Lomonosova Y.N. // *Front. Physiol.* 2015. № 6. P. 298.
91. Ломоносова Ю.Н., Каламжуров Г.Р., Бугрова А.Е., Шевченко Т.Ф., Карташкина Н.Л., Лысенко Е.А., Швеиц В.И., Немировская Т.Л. // *Биохимия.* 2011. Т. 6. № 5. С. 699–710.
92. Senf S.M., Dodd S.L., McClung J.M., Judge A.R. // *FASEB J.* 2008. V. 22. № 11. P. 3836–3845.
93. Voelkel T., Andresen C., Unger A., Just S., Rottbauer W., Linke W.A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1833. № 4. P. 812–822.
94. Ishihara A., Fujino H., Nagatomo F., Takeda I., Ohira Y. // *J. Physiol. Sci.* 2008. V. 8. № 6. P. 413–417.
95. Lawler J.M., Song W., Kwak H.B. // *Muscle Nerve.* 2006. № 33. P. 200–207.
96. Lomonosova Y.N., Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L. // *FASEB J.* 2012. № 26. P. 4295–4301.
97. Fry C.S., Kirby T.J., Kosmac K., McCarthy J.J., Peterson C.A. // *Cell Stem Cell.* 2017. № 20. P. 1–14.
98. Wang F., Wang J., He J., Li W., Li J., Chen S., Zhang P., Liu H., Chen X. // *BioMed. Res. Internat.* 2017. V. 2017. P. 8361237.
99. Эрнандес-Корво Р., Козловская И.Б., Крейдич Ю.В., Мартинес-Фернандес С., Рахманов А.С., Фернандес-Пон Е., Миненко В.А. // *Космич. биол. авиакосмич. мед.* 1983. Т. 17. № 2. С. 37–44.
100. Shenkman B.S., Kozlovskaya I.B. // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. Article # 187.
101. Shenkman B.S., Podlubnaya Z.A., Vikhlyantsev I.M., Litvinova K.S., Udaltsov S.N., Nemirovskaya T.L., Lemesheva Yu.S., Mukhina A.M., Kozlovskaya I.B. // *Biophysics.* 2004. № 49. P. 807–815.
102. Litvinova K.S., Vikhlyantsev I.M., Kozlovskaya I.B., Podlubnaya Z.A., Shenkman B.S. // *J. Gravit. Physiol.* 2004. № 11. P. 131–132.
103. Moukhina A.M., Shenkman B.S., Blottner D., Nemirovskaya T.L., Lemesheva Y.N., Püttmann B., Kozlovskaya I.B. // *J. Gravit. Physiol.* 2004. № 11. P. 137–138.
104. Kötter S., Andresen C., Krüger M. // *Biol. Chem.* 2014. V. 395. № 11. P. 1341–1352.
105. Lange S., Xiang F., Yakovenko A., Vihola A., Hackman P., Rostkova E., Kristensen J., Brandmeier B., Franzen G., Hedberg B., et al. // *Science.* 2005. V. 308. № 5728. P. 1599–1603.
106. Puchner E.M., Alexandrovich A., Kho A.L., Hensen U., Schäfer L.V., Brandmeier B., Gräter F., Grubmüller H., Gaub H.E., Gautel M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 36. P. 13385–13390.
107. Shabarchin A.A., Tsaturyan A.K. // *Biomech. Model. Mechanobiol.* 2010. V. 9. № 2. P. 163–175.
108. Katzemich A., Kreisko N., Alexandrovich A., Elliott C., Schock F., Leonard K., Sparrow J., Bullard B. // *J. Cell. Sci.* 2012. V. 125. P. 3367–3379.
109. van der Pijl R., Strom J., Conijn S., Lindqvist J., Labeit S., Granzier H., Ottenheijm C. // *J. Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2018. V. 9. № 5. P. 947–961.
110. Falempin M., Mounier Y. // *Acta Astronaut.* 1998. № 42. P. 489–501.
111. Leterme D., Falempin M. // *Pflugers Arch.* 1994. V. 426. № 1–2. P. 155–160.
112. Dupont E., Cieniewski-Bernard C., Bastide B., Stevens L. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011. V. 300. № 2. P. 408–417.
113. Canon F., Goubel F., Guezennec C.Y. // *Eur. J. Appl. Physiol.* 1998. № 77. P. 118–124.
114. Guo B.S., Cheung K.K., Yeung S.S., Zhang B.T., Yeung E.W. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 1. P. e30348.
115. Zhang B.T., Yeung S.S., Yue Liu, Wang H.H., Wan Y.M., Ling S.K., Zhang H.Y., Li Y.H., Yeung E.W. // *BMC Cell Biol.* 2010. V. 11. P. 87.
116. Tyganov S.A., Mochalova E.P., Belova S.P., Sharlo K.A., Rozhkov S.V., Vilchinskaya N.A., Paramonova I.I., Mirzoev T.M., Shenkman B.S. // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. P. 1252.