

А. Н. Шаповалов

## НЕАКТОМИОЗИНОВЫЕ СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СОСУДИСТОЙ ГЛАДКОМЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ СОКРАЩЕНИИ

*Изучен вклад неактомиозиновых сократительных механизмов в термомеханический ответ стенки аорты кролика. Установлено, что в формировании термондучированного сокращения стенки аорты участвуют три сократительных механизма: «соединительнотканый непосредованный», «соединительнотканый опосредованный» и актомиозиновый. Показано, что степень изменения жесткости мышечной ткани при сокращении может детерминироваться закономерностями и соотношениями, определяющими жесткость систем, состоящих из последовательно и параллельно соединенных элементов, а также степени активации и инактивации актомиозиновых и неактомиозиновых сократительных механизмов. Установлено, что неизменность жесткости мышечной ткани при сокращении является отличительным признаком неактомиозиновой природы ее сократительного ответа. Выдвинуто предположение о способности коллагена к гидролизу АТФ. Предложена реологическая модель сосудистой гладкомышечной ткани с учетом наличия в последней двух сократительных систем.*

**Введение.** В предыдущих исследованиях нами показано, что сокращение гладкомышечной ткани может обеспечиваться неактомиозиновыми («соединительноткаными») сократительными механизмами [1—5]. Сократительные ответы гладких мышц неактомиозиновой природы характеризуются отличительными, только им присущими, закономерностями изменений механических свойств гладкомышечной ткани [1, 2, 4]. С другой стороны, многие вопросы механики гладкомышечного сокращения в настоящее время не имеют удовлетворительного объяснения [6—10]. На сегодняшний день отсутствует также анализ возможного активного вклада соединительнотканного матрикса (СТМ) в механику сокращающихся гладких мышц. В связи с этим представляло интерес выяснить роль механической активности соединительнотканых структур в проявлениях известных закономерностей изменения механических характеристик гладкомышечной ткани при сокращении.

**Материалы и методы.** Поскольку самостоятельную ценность для нас представляло также детальное изучение вклада неактомиозиновых механизмов в термондучированные сокращения аорты, исследования проводили на сокращающихся под действием температуры вырезанных параллельно («продольных») и перпендикулярно («поперечных») большой оси сосуда полосках (размерами около  $10 \times 1$  мм) грудного участка аорты кролика. Использовали животных массой около 1,5 кг.

Вырезанные согласно методике [11] сосудистые полоски помещали в экспериментальную камеру, прикрепляли одним концом к задатчику механических деформаций «Миотон ЦА-012-3Д» (Центр Академический, Екатеринбург), другим — к датчику силы «Миотон ЦА-012-МТ» (производитель тот же) и растягивали до длины  $L_0$ , оптимальной для генерирования силы. При этом  $L_0 = 1,3 L_{нач}$ . Длину  $L_{нач}$  определяли в соответствии с [8]. После этого препарат при отсутствии внешних воздействий приходил в состояние внутреннего механического равновесия, находясь на протяжении 60 мин в растворе Кребса [2].

По истечении указанного времени исследовали механические реакции нативных полосок в ответ на медленное нагревание (длительность

нагревания раствора от 20—40 °С во всех опытах была неизменной и составляла 4 мин), далее при температуре 22 °С препараты подвергали 5-мин действию норадреналина ( $10^{-5}$ М). Через 15 мин после отмывания норадреналина раствором Кребса снова исследовали термомеханические реакции полосок, сначала нативных, затем (после процедуры денативации) — денативированных. Денативацию, т. е. полное и необратимое угнетение сократительной активности препаратов, производили в

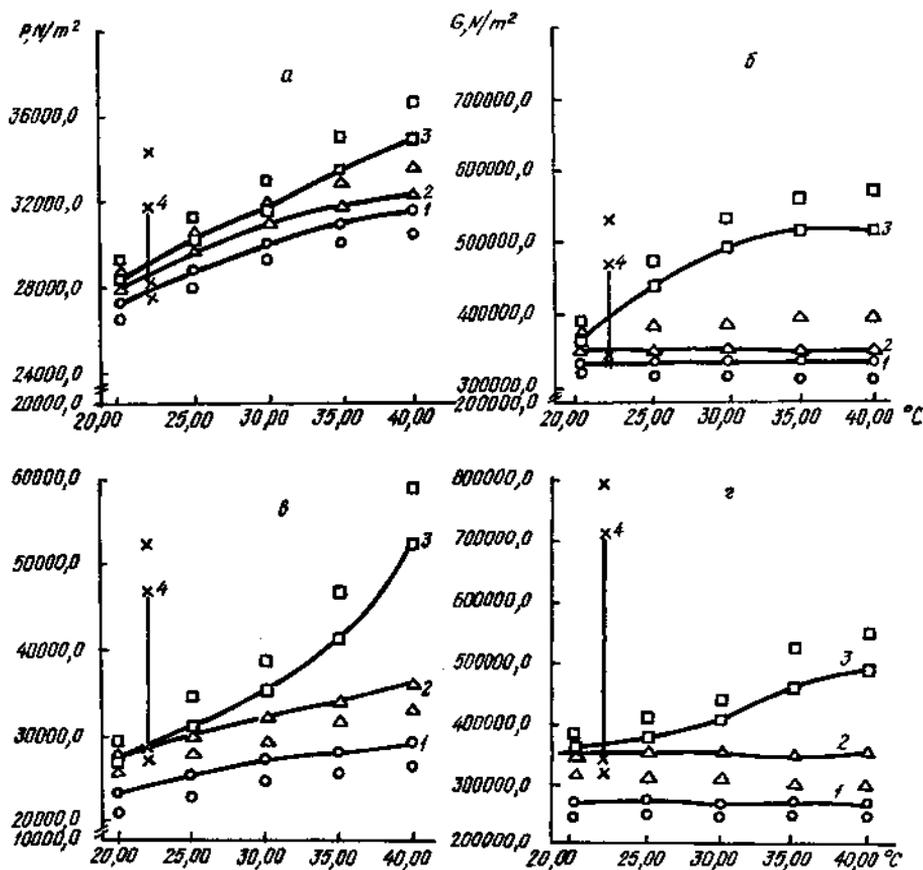


Рис. 1. Изменения под действием температуры механического напряжения ( $P$ ) и модуля Юнга ( $G$ ) изолированных «продольных» (а, б) и «поперечных» (в, г) полосок аорты кролика: 1 — нативных, не подвергавшихся действию норадреналина; 2 — денативированных; 3 — нативных полосок, подвергавшихся ранее действию норадреналина; 4 — амплитуда индуцированных норадреналином ( $10^{-5}$ М) сократительных ответов сосудистых полосок. Результаты представлены в виде средних арифметических величин с указанием доверительного интервала ( $P=0,05$ ,  $N=17$ ).

соответствии с процедурой, описанной в [2, 3]. Гиперкалиевый раствор получали эквимольной заменой в растворе Кребса 75 % NaCl на KCl. Все реактивы были производства «Sigma Chemical» (США).

При исследовании жесткости препаратов их подвергали действию синусоидальных колебаний частотой 30 Гц и амплитудой, равной 0,5 % от  $L_{нач}$  [7, 8].

Экспериментальную камеру термостатировали в пределах от 20 до 40 °С с помощью автоматического термостата, обеспечивающего точность контроля температуры раствора  $\pm 0,2$  °С.

Расчет генерируемого исследовавшимися полосками механического напряжения производили в соответствии с [12].

**Результаты и обсуждение.** Исследование «продольных» препаратов. Результаты исследований термомеханических ответов «продольных» полосок стенки аорты приведены на рис. 1 (а, б). Как следует из представленных данных, величины термомеханических отве-

тов нативных (кривая 1, рис. 1, а) и денативированных (кривая 2, рис. 1, а) сосудистых полосок с большой точностью совпадают между собой. Это означает, что и в стенке аорты кролика в продольном направлении, как ранее было показано для аорты морской свинки [1], практически вся непосредственная механическая термочувствительность обеспечивается соединительнотканым матриксом (а именно: трехмерной сетью фибрилл коллагенов I и III типа [1—3]). Об этом же дополнительно свидетельствует и определяющий (отличительный) признак «неактомиозиновых» сократительных реакций гладких мышц — неизменность жесткости мышечной ткани при сокращении (кривые 1, 2, рис. 1, б).

Возрастание амплитуды термоиндуцированного механического ответа полосок, предварительно подвергнутых воздействию норадреналина (кривая 3, рис. 1, а), может указывать на вовлечение в процесс генерирования механического напряжения дополнительного сократительного механизма. Кривая 3 (рис. 1, б) свидетельствует о возможной актомиозиновой природе этого дополнительного механизма, поскольку увеличение жесткости мышечной ткани при генерировании механического напряжения является ключевым признаком его актомиозиновой природы [7, 8, 13]. То обстоятельство, что амплитуда термомеханических реакций стенки аорты в продольном направлении (при изменении температуры в физиологических пределах) соизмерима с амплитудой ее максимального агонист-индуцированного сокращения (кривая 4, рис. 1, а), может указывать на физиологическую значимость подобных механических реакций сосудистой ткани.

Резюмируя, отметим, что термомеханические ответы сосудистой ткани 1 и 2 (рис. 1, а, б) являются по сути непосредственными реакциями соединительнотканых структур в ответ на действие фактора внешней среды; в формировании же термоиндуцированных ответов 3 и 4 (рис. 1, а, б) участвует также и актомиозиновая система гладкомышечных клеток.

Исследования «поперечных» препаратов. Результаты исследований термоиндуцированных сокращений «поперечных» полосок представлены на рис. 1 (в, г). Различия между параметрами термомеханических реакций 3 и 4 «поперечных» и «продольных» полосок (рис. 1, а, б и в, г) не носят, на наш взгляд, столь принципиального характера, как различия в соотношении между термоиндуцированными механическими ответами 1 и 2 (рис. 1, а, б и в, г) данных двух типов полосок. Сократительные реакции 1 и 2 (рис. 1, в) обеспечиваются неактомиозиновыми механизмами (неизменность жесткости ткани сосудистой стенки (кривые 1, 2, рис. 1, г) в ходе данных реакций это подтверждает); однако амплитуда термомеханической реакции 2 заметно превышает амплитуду термоиндуцированного сокращения 1 (рис. 1, в), представляющего собой, как уже упоминалось, непосредственную термомеханическую реакцию структур СТМ. Какой же неактомиозиновый сократительный механизм обеспечивает генерирование механического напряжения, составляющего разницу между напряжениями в сокращениях 1 и 2 (рис. 1, в)? Мы предположили, что в основе такого механизма лежит хемомеханическая реакция структур СТМ в ответ на действие специфического медиатора, выделяемого возбудимыми клетками сосудистой стенки под действием инотропных факторов. Данный сократительный механизм получил условное название «соединительнотканый опосредованный», тогда как механизм, обеспечивающий термомеханическую реакцию 1 (рис. 1, а, в), нами условно назван «соединительнотканый непосредственный».

Таким образом, имея в виду принятые нами условные обозначения, мы можем констатировать, что:

- 1) термомеханическая реакция 1 (рис. 1, в) обеспечивается «соединительнотканым непосредственным» сократительным механизмом;
- 2) термоиндуцированный ответ 2 (рис. 1, в) формируется двумя сократительными механизмами: «соединительнотканым непосредственным» и «соединительнотканым опосредованным»;

3) сокращение 3 (рис. 1, в) обеспечивается тремя контрактильными механизмами: «соединительнотканым непосредственным», «соединительнотканым опосредованным» и актомиозиновым.

Кроме того, по нашему мнению, любые индуцированные инотропными факторами сокращения гладкомышечной ткани связаны с активацией в большей или меньшей степени неактомиозиновых сократительных механизмов. Исходя из этого мы полагаем, что сократительный ответ 4 (рис. 1, в) обусловлен функционированием двух механизмов: «соединительнотканного опосредованного» и актомиозинового.

Причины неизменности жесткости мышечной ткани при сокращении, обеспечиваемом СТМ. Пред-

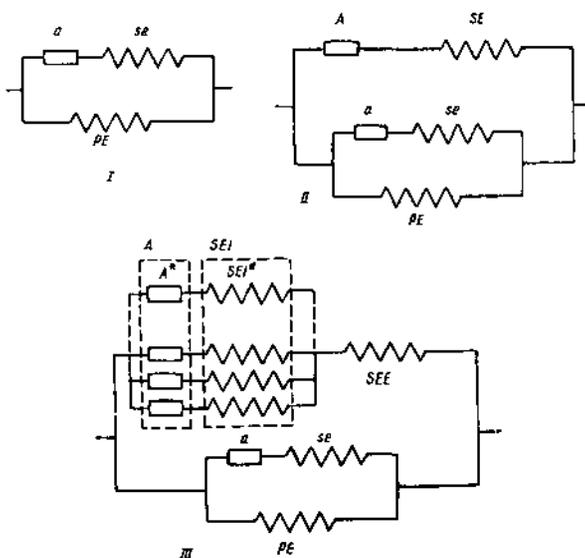


Рис. 2. Реологические модели: I — соединительнотканного матрикса (аналог трехэлементной механической модели Хилла для мышечной ткани), где: *a* — коллагеновый сократительный элемент; *se* — последовательная эластичность; *pe* — параллельная эластичность; II, III — гладкомышечной ткани, где: *A* — актомиозиновый сократительный элемент в целом; *SE* — последовательная эластичность; *A\** — единичный генерирующий механическое напряжение элемент; *SEI\** — единичная последовательная эластичность, находящаяся внутри миозиновой молекулы; *SEI* — последовательная эластичность, равная сумме всех единичных последовательных эластичностей, находящихся в миозиновых молекулах; *SEE* — последовательная эластичность, находящаяся вне сократительного элемента

лагаемое выше вычленение актомиозинового и неактомиозинового компонентов сокращения гладких мышц базируется исключительно на анализе изменений модуля Юнга сосудистой гладкомышечной ткани при генерировании механического напряжения. Насколько, однако, характер изменения жесткости гладких мышц может быть взаимосвязан с природой их молекулярных сократительных механизмов?

Известно, что увеличение жесткости мышечной ткани при сокращении однозначно интерпретируется как результат увеличения числа замкнутых актомиозиновых мостиков [7—10, 13].

Совершенно очевидным является и то обстоятельство, что генерирование механического напряжения любой однородной в отношении механических свойств молекулярной структурой за счет каких-либо собственных конформационных превращений может сопровождаться увеличением жесткости этой структуры. В молекулах появляются дополнительные межатомные связи, делающие их жестче, т. е. увеличивают силу, которую необходимо приложить извне для изменения степени «скрученности» этой молекулы [14]. Почему же в таком случае не наблюдаются изменения жесткости ткани при генерировании механического напряжения СТМ? Это явление, по всей видимости, объясняется тем, что СТМ представляет собой композит (аморфный полимер), в котором генерирующий механическое напряжение элемент — комплекс коллагенов I и III типов [1, 14], обладающий большой жесткостью ( $10^8$  Н/м<sup>2</sup> [15]), — погружен в значительно менее жесткую ( $3 \cdot 10^5$  Н/м<sup>2</sup> [15]) вязко-эластичную среду, состоящую из эластина и гликозаминогликанов [11, 15, 16].

Реологическую модель такого полимера можно условно представить в виде жесткого активного компонента  $a$  (рис. 2), параллельно и последовательно к которому присоединены пассивные эластичные элементы PE и  $se$  (рис. 2,  $a$ ). Модуль Юнга  $G^{**}$  всей системы равен:

$$G^{**} = \frac{G_a G_{se}}{G_a + G_{se}} + G_{PE}, \quad (1)$$

где  $G_a$ ,  $G_{se}$  и  $G_{PE}$  — модули Юнга соответственно активного элемента  $a$  и пассивных элементов  $se$ , PE.

Из формулы (1) со всей очевидностью следует, что при существующем различии значений  $G_a$  и  $G_{se}$  почти в три порядка [15] даже 100 %-е изменения величины  $G_a$  при постоянных  $G_{se}$ ,  $G_{PE}$  не приведут к сколь-либо заметным изменениям значений  $G^{**}$ . Общий модуль Юнга ( $G^{**}$ ) системы, т. е. СТМ, останется неизменным с точностью до тысячной доли процента.

Отметим, что реологическая модель (рис. 2,  $a$ ) почти полностью аналогична трехэлементной модели Хилла для мышечной ткани [17]. Заменяв в схеме на рис. 2,  $a$ , коллагеновый активный элемент на активный элемент актомиозиновый (как в модели Хилла) и учитывая, что жесткость находящихся в покое гладкомышечных клеток очень близка к таковой гликозаминогликанэластинного комплекса [15], можно легко понять (см. формулу (1)), что сокращения гладкомышечной ткани (предварительно находившейся в состоянии покоя), обеспечиваемые актомиозиновым комплексом гладкомышечных клеток, всегда будут сопровождаться увеличением жесткости гладких мышц (при этом мы исходим из известных данных о частичной локализации последовательного эластичного компонента в межклеточном матриксе [18]). Очевидно, если бы жесткость покоящихся гладкомышечных клеток значительно (на порядки) превышала жесткость последовательного эластичного элемента, то общая жесткость гладкомышечной ткани при сокращении всегда была бы практически неизменной так же, как и в случаях генерирования механического напряжения, обеспечиваемого СТМ гладких мышц. Основываясь на вышеизложенном, реологическую модель сосудистой гладкомышечной ткани можно представить в виде трехэлементной модели Хилла, которая вместо пассивного параллельного элемента содержит уже обсуждавшуюся аналоговую модель СТМ (рис. 2,  $II$ ). Общий модуль Юнга  $G^*$  такой системы с двумя активными элементами равен:

$$G^* = \frac{G_A G_{SE}}{G_A + G_{SE}} + \frac{G_a G_{se}}{G_a + G_{se}} + G_{PE}, \quad (2)$$

где  $G_A$ ,  $G_{SE}$  — модули Юнга соответственно сократительного элемента и последовательной эластичности.

Нелинейность соотношения ( $\Delta P/\Delta G$ ) при развитии сокращения гладкими мышцами. Из соотношения (2) следует, что при сокращении мышц может иметь место нелинейная зависимость между изменениями механического напряжения  $P$  и жесткости  $G^*$  мышечной ткани. В связи с этим логично предположить, что давно известный, но не имеющий окончательного объяснения эффект более быстрого увеличения жесткости мышечной ткани, чем генерируемого ею механического напряжения, в фазе развития сокращения обусловлен именно закономерностями сложения быстроизменяющейся жесткости актомиозинового сократительного элемента и не меняющейся жесткости последовательной эластичности (в соответствии с формулой (2)).

Для проверки данного предположения нами проведен опыт, схема которого изображена на рис. 3. Идея опыта состояла в следующем: если окончание нарастания жесткости гладких мышц, например, при  $K^+$ -индуцированном сокращении (несмотря на продолжающийся рост генерируемого механического напряжения) обусловлено маскирующим влиянием значительно уменьшившейся (по сравнению с возросшей жесткостью актомиозинового сократительного элемента) жесткости по-

следовательной эластичности, то индуцированное норадреналином на фоне калиевой контрактуры сокращение не должно вообще сопровождаться изменениями жесткости гладкомышечной ткани.

Однако результаты опыта (рис. 3) такое предположение не подтвердили. Жесткость сосудистой ткани в ходе индуцированного норадреналином на плато калиевой контрактуры сокращения существенно изменялась.

Каковы же причины нелинейности соотношения ( $\Delta P/\Delta G$ ) при развитии сокращения гладкими мышцами? Согласно существующей точке зрения, данное явление может быть обусловлено наличием сравнительно длительной паузы между фазами замыкания и генерирования механического напряжения в процессе «циклирования» актомиозиновых мостиков [7, 20]. Чтобы оценить, насколько подобное мнение может соответствовать действительности, необходимо проанализировать строение

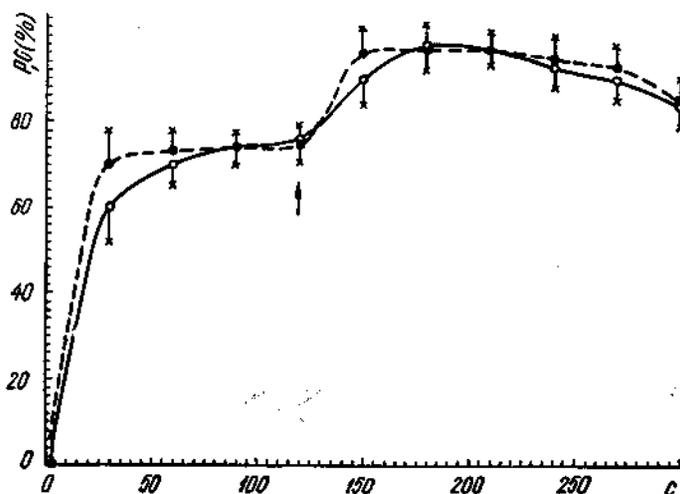


Рис. 3. Типичная зависимость между ростом механического напряжения ( $P$ ) и жесткостью ( $G$ ) ткани стенки аорты при развитии сокращения «поперечной» сосудистой полоской, сначала вызванного действием гиперкалиевого раствора, а затем — индуцированного действием норадреналина ( $10^{-5}$  М). За 100 % приняты изменения механического напряжения и жесткости препаратов при данной степени растяжения под действием норадреналина ( $10^{-5}$  М), которые составляли соответственно  $24 \cdot 10^4$  Н/м<sup>2</sup> и  $17 \cdot 10^5$  Н/м<sup>2</sup> ( $N=7$ )

и функционирование сократительного аппарата гладких мышц. Для нас в данном случае принципиальное значение имеет общее строение толстой протофибриллы и способ ее взаимодействия с актиновыми нитями. С целью упрощения (на наш взгляд, весьма оправданного, имея в виду уровень экспериментальной разработки вопроса) заменим понятие «актомиозиновый комплекс» на понятие «активные зоны», одна из которых соответствует активному центру на головке миозина, вторая — активному центру на актиновой нити. У «активных зон», обладающих минимальной механической подвижностью, постулируем наличие «тянуще-проталкивающих» свойств. В рамках такой «зонной» модели миозиновая протофибрилла представляет собой «зонально-активный» поршень, «активные зоны» которого поочередно взаимодействуют с «активными зонами» тонких нитей. При этом главное условие: все указанные взаимодействия по всей длине протофибриллы согласованы в пространстве и синхронизированы во времени; окончание фазы «проталкивания» в предыдущей зоне сопряжено с началом фазы «притягивания» в последующей зоне (структурно это обеспечивается известным порядком упаковки миозиновых молекул в толстых нитях [21]). Поскольку размеры «активных зон» на толстой протофибрилле близки к таковым миозиновой головки (приблизительно 20 нм), то каждый цикл взаимодействия между «активными зонами» на миозине и актине продвигал бы толстую

нить на расстояние, близкое к условно принятому «шагу мостика» [22]. В согласии с данной моделью, окончание генерирования механического напряжения предыдущими «активными зонами» есть условие начала взаимодействия последующих «активных зон». Наличие подобных закономерностей характерно и для «мостиковых» моделей [13, 23]. Однако данное условие совершенно исключает возможность объяснения нелинейности соотношения  $(\Delta P/\Delta G)$  при сокращении гладкомышечной ткани наличием длительной паузы между «замыканием» актомиозиновых мостиков (контактом «активных зон») и началом генерирования ими механического напряжения. Возможно, нелинейность соотношения  $(\Delta P/\Delta G)$  вызвана какими-то неучтенными нами изменениями суммы жесткостей единичных генерирующих механическое напряжение участков молекул миозина и последовательных эластичностей? Рассмотрим более подробно этот вопрос.

В строении толстой протофибриллы актомиозинового сократительного аппарата для нас принципиально то обстоятельство, что все мостики, содержащие и генерирующий механическое напряжение участок миозиновой молекулы, и последовательную эластичность, соединены между собой параллельно в пределах одного полусаркомера.

С учетом данного факта реологическую модель гладкомышечной ткани можно представить в виде схемы, изображенной на рис. 2 (III). В данной модели принципиальным является также и отсутствие общей последовательной эластичности для актомиозинового и неактомиозинового (коллагенового) сократительных аппаратов. Это обстоятельство однозначно определяется результатами опыта, описанного выше (рис. 3). Общая жесткость системы, изображенной на рис. 2 (III), вычисляется по формуле:

$$G = \frac{G_A [G_{SEI} G_{SEE} / (G_{SEI} + G_{SEE})]}{G_A + [G_{SEI} G_{SEE} / (G_{SEI} + G_{SEE})]} + [G_a G_{se} / (G_a + G_{se})] + G_{PE}, \quad (3)$$

где  $G_A$  — модуль Юнга сократительного элемента в целом, равный сумме модулей Юнга всех единичных генерирующих механическое напряжение элементов ( $A^*$ );  $G_{SEI}$  — модуль Юнга локализованной в сократительном элементе общей последовательной эластичности, равной сумме всех находящихся в актомиозиновых мостиках единичных последовательных эластичностей ( $SEI^*$ );  $G_{SEE}$  — модуль Юнга находящейся вне сократительного элемента последовательной эластичности.

*Последовательные эластичности и изменения модуля Юнга гладких мышц при сокращении.* Анализ реологической модели (рис. 2, III) строения актомиозинового сократительного аппарата и гладкомышечной ткани в целом позволяет выделить два момента, во многом определяющих закономерности изменения механических свойств гладких мышц при сокращении:

1) увеличение жесткости сократительного элемента в ходе сокращения в общем случае обеспечивается не только увеличением числа замкнувшихся мостиков, но и увеличением жесткости каждого единичного генерирующего механическое напряжение участка миозиновой молекулы;

2) последовательные эластичности гладкомышечной ткани могут быть разбиты на две существенно различные группы:

а) последовательные эластичности, соединенные с единичными генерирующими механическое напряжение участками миозиновых молекул и находящиеся в этих же молекулах. Поскольку все эти последовательные эластичные компоненты соединены между собой параллельно, то (при замкнувшихся мостиках) их общая жесткость равна арифметической сумме жесткостей всех данных последовательных эластичных элементов;

б) все остальные последовательные эластичности. В общем случае их общая жесткость будет вычисляться по формуле, определяющей

жесткость последовательно соединенных элементов, и не будет превышать величину жесткости самого эластичного элемента в данном множестве.

Приведенные выше два случая определяют соответственно и два основных варианта изменения жесткости гладкомышечной ткани:

1) вне сократительного элемента локализован последовательный эластичный компонент с модулем Юнга, соизмеримым по величине с модулем Юнга сократительного элемента в состоянии покоя. В этом случае (частично уже рассмотренном) в соответствии с соотношением (2) постоянная по величине эластичность будет «маскировать» слишком большие по амплитуде увеличения модуля Юнга сократительного элемента и, как следствие, максимальное увеличение жесткости мышечной ткани при сокращении никогда не превысит 100 %;

2) вне сократительного элемента локализована последовательная эластичность, модуль Юнга которой столь значительно превышает модуль Юнга сократительного элемента в состоянии покоя (на порядки), что ее можно условно считать ригидным, неэластичным компонентом. В этом случае абсолютные изменения жесткости мышечной ткани при сокращении полностью определяются увеличением жесткости сократительного элемента (относительные изменения будут зависеть и от величины модуля Юнга параллельного компонента), а поскольку последние могут существенно превышать 100 %, то и жесткость мышечной ткани в целом, следовательно, в общем случае может изменяться на значительно большую величину, чем 100 %. Конечные же пределы кратности увеличения жесткости мышечной ткани при сокращении в подобном случае, очевидно, могут быть различными в двух основных вариантах (при неизменности модуля Юнга параллельного элемента):

а) если модуль Юнга единичного генерирующего механическое напряжение участка миозиновой молекулы значительно (на порядки) превышает модуль Юнга находящейся в той же молекуле последовательной эластичности, то общая жесткость актомиозинового мостика полностью определяется неизменяющейся величиной данной последовательной эластичности. Увеличение же модуля Юнга мышечной ткани при сокращении будет прямо пропорциональным увеличению числа замкнувшихся актомиозиновых мостиков (поскольку жесткость системы параллельно соединенных элементов равна сумме жесткостей каждого из элементов, а мостики соединены именно параллельно друг другу);

б) в случае, если модуль Юнга единичного генерирующего механическое напряжение участка миозиновой молекулы соизмерим с величиной модуля Юнга находящейся в этой молекуле последовательной эластичности, общая жесткость актомиозинового мостика в элементарном двигательном акте может увеличиваться на величину до 100 %. Следовательно, увеличение жесткости мышечной ткани в процессе сократительного ответа в рассматриваемом варианте обеспечивается не только увеличением числа замкнувшихся мостиков (см. предыдущий пункт), но и увеличением модуля Юнга каждого из актомиозиновых мостиков, что в конечном итоге должно приводить к заметному росту кратности увеличения модуля Юнга мышц при сокращении; однако линейность соотношения ( $\Delta P/\Delta G$ ) в этом случае (в отличие от рассмотренного в пункте «а») может в известных пределах нарушаться.

Таким образом, нарушения линейности соотношения изменений жесткости и механического напряжения гладкомышечной ткани в процессе сократительного акта могут объясняться закономерностями зависимости между величиной общей жесткости системы последовательно соединенных элементов и изменяющейся жесткостью ее отдельного компонента (см. формулы 1—3) или, другими словами, нивелирующим влиянием последовательной эластичности (находящейся в миозиновой мо-

лекуле), «маскирующей» изменения жесткости генерирующего механического напряжение участка миозиновой молекулы.

Следствие 1: условия возможности генерирования механического напряжения гладкомышечной тканью без изменения жесткости последней. Очевидно, что данное явление (см. соотношения (1—3)) возможно в двух случаях:

1) если в покоящейся мышечной ткани модуль Юнга находящейся вне сократительного элемента последовательной эластичности оказывается несравнимо (на порядки) меньше модуля Юнга сократительного элемента. Однако в таком варианте эффективность генерирования механического напряжения мышцей в целом значительно ухудшается и данный случай можно отнести, скорее всего, к разряду патологических;

2) если сокращение развивается не из состояния покоя мышечной ткани, а из состояния, в котором значительная часть актомиозиновых мостиков оказалась в замкнутом положении и при этом увеличившаяся жесткость сократительного элемента стала несравнимо больше по величине, чем жесткость последовательной эластичности, находящейся вне актомиозиновых мостиков, т. е. данный случай (как и предыдущий) требует наличия последовательной эластичности вне сократительного элемента. Модуль Юнга последней должен быть близок к величине модуля Юнга сократительного элемента находящейся в состоянии покоя мышечной ткани. Однако, поскольку максимальное увеличение жесткости сократительного элемента при генерировании механического напряжения в состоянии покоя составляет величину всего около порядка, то изменения модуля Юнга мышечной ткани (обусловленные дополнительными изменениями модуля Юнга сократительного аппарата на фоне близкого к максимальному увеличению жесткости последнего) будут составлять всего единицы процентов.

Следствие 2: условия возможности «маскировки» изменения модуля Юнга сократительного элемента влиянием жесткости эластичных компонентов. Рассмотренные в предыдущем разделе условия возможности генерирования гладкомышечной тканью механического напряжения без изменения жесткости последней являются одновременно и условиями возможности «истинной маскировки» изменений модуля Юнга сократительного элемента влиянием жесткости эластичных компонентов. Однако под «маскировкой» изменений жесткости сократительного элемента часто подразумевают, что «маскировка» обусловлена влиянием параллельного эластичного компонента, обладающего значительной жесткостью при больших степенях растяжения гладкомышечной ткани [8, 9]. Данный тип «маскировки» носит «неистинный» характер, поскольку общая жесткость системы, состоящей из параллельно соединенных элементов, обязательно возрастает при увеличении жесткости одного из элементов (вследствие арифметического суммирования значений  $G$  всех элементов (формулы 1—3)). Очевидно, задача регистрации изменений модуля Юнга при сокращении растянутой до больших пределов гладкомышечной ткани может оказаться трудновыполнимой. В таком случае необходимо признать, что наблюдающаяся при больших растяжениях гладкомышечной ткани «маскировка» связанных с сокращением изменений жесткости сократительного элемента является «неистинной» и носит чисто технический характер.

*Нелинейность соотношения ( $\Delta P/\Delta G$ ) при сокращении гладкомышечной ткани и неактомиозиновые сократительные механизмы.* Отклонения от линейности соотношения ( $\Delta P/\Delta G$ ) наблюдаются не только в фазе развития сокращения, но и на других стадиях сократительной активности гладких мышц; при воздействии некоторых инотропных факторов и ингибиторов сокращения упомянутые отклонения могут достигать крайней степени выраженности [19]. Распространено мнение, что в общем случае данный эффект может определяться также и изменением величины механического напряжения, генерируемого каждым отдельным мостиком [8, 19].

На наш взгляд, нарушения линейности соотношения изменений механического напряжения и модуля Юнга гладкомышечной ткани в ходе сократительного ответа легко объясняются, если учесть наличие в последней двух различных по своим механическим свойствам сократительных аппаратов — актомиозинового и соединительнотканного (коллагенового), которые могут в неодинаковой степени активироваться или инактивироваться на различных стадиях контрактильной активности гладких мышц. О возможности влияния на соотношение ( $\Delta P/\Delta G$ ) в фазе развития сокращения активности соединительнотканного сократительного механизма свидетельствуют также экспериментальные данные о том, что вторая фаза нарастания механического напряжения в гладкомышечной ткани (называемая обычно «медленной» [24, 25]) обладает целым рядом свойств, присущих сокращению неактомиозиновой природы:

— рост механического напряжения не сопровождается увеличением жесткости гладких мышц [8];

— нарастание механического напряжения не зависит от роста степени фосфорилирования легких цепей миозина и концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  [9, 24, 25];

— эта фаза сопряжена с активацией протеинкиназы C, которая считается ответственной за инициирование «медленных» сокращений гладких мышц [9, 24—28].

Весьма важными также, по нашему мнению, являются экспериментальные данные о том, что инициация сокращения в сосудистой стенке сопровождается выделением эндотелием в межклеточный матрикс АТФ [29, 30]. В связи с этим, имея в виду накопившиеся экспериментальные свидетельства наличия неактомиозиновых сократительных механизмов в гладкомышечной ткани (в том числе одновременное исчезновение соединительнотканых механизмов при гипертензии [31], значительное уменьшение генерируемого гладкомышечной тканью механического напряжения (при сохранении неизменным уровня натяжения) после обработки коллагеназой [32], способность ангиотензина-II опосредованно вызывать сокращение трехмерного коллагенового геля [33]), логично предположить, что «соединительнотканый опосредованный» сократительный механизм, в основе которого лежат предденатурационные конформационные изменения коллагена (обеспечивающие «предколлапс» трехмерной полимерной сети соединительнотканых структур) [1, 2, 14], использует находящийся в межклеточном пространстве АТФ в качестве источника энергии для выполнения механической работы. Другими словами, коллаген должен обладать способностью к гидролизу АТФ.

**Резюмируя, перечислим основные результаты и положения настоящей работы:**

1. В формировании сократительного ответа стенки аорты могут принимать участие три сократительных механизма: «соединительнотканый неопосредованный» («СТНОП»), «соединительнотканый опосредованный» («СТОП») и актомиозиновый.

2. Непосредственная механическая термочувствительность стенки аорты кролика в направлении, параллельном большой оси сосуда, при отсутствии стимулирования агонистами обеспечивается практически на 100 % «СТНОП» сократительным механизмом, в направлении же, перпендикулярном большой оси сосуда, соотношение вкладов «СТНОП» и «СТОП» механизмов в термомеханическую чувствительность ткани стенки аорты составляет около 7 : 3.

3. Степень изменения жесткости мышечной ткани при сокращении может детерминироваться соотношениями (1—3), определяющими жесткость систем, состоящих из последовательно и параллельно соединенных элементов.

Неизменность жесткости мышечной ткани при сокращении является отличительным признаком неактомиозиновой природы ее сократительного ответа. Это утверждение обусловлено тем обстоятельством, что модуль Юнга последовательного эластичного компонента (физической

основой которого является преимущественно эластин-гликозаминогликановый комплекс) значительно (на порядки) меньше модуля Юнга сократительного элемента — коллагеновых фибрилл.

Увеличение жесткости мышечной ткани в процессе сокращения является отличительным признаком актомиозиновой природы ее сократительной реакции.

«Маскировка» изменений жесткости гладкомышечной ткани является «истинной», если она определяется последовательной эластичностью, и «неистинной» — если обуславливается параллельной эластичностью.

4. Упрощенную реологическую модель сосудистой гладкомышечной ткани с учетом наличия в последней двух сократительных механизмов можно представить в виде схемы, изображенной на рис. 2 (III). Общая жесткость такой системы вычисляется по формуле (3).

5. Наблюдаемые при сокращении гладкомышечной ткани отклонения от линейности в соотношении ( $\Delta P/\Delta G$ ) могут объясняться двумя обстоятельствами:

а) нелинейным соотношением между увеличением общей жесткости системы (актомиозинового мостика) и увеличением жесткости отдельного ее элемента (генерирующего механическое напряжение участка миозиновой молекулы) при условии, что в состоянии покоя модули Юнга обоих элементов системы соизмеримы;

б) неодинаковой степенью активации и инактивации актомиозиновых и неактомиозиновых сократительных механизмов на различных стадиях сокращения гладкомышечной ткани.

Автор выражает глубокую благодарность В. А. Ужвану и В. П. Стрижаку за помощь в эксперименте и обсуждение работы; М. Ф. Шубе и С. А. Хестанову — за ценные советы; Е. В. Вирко и А. А. Мищенко — за труд по оформлению рукописи, а также Госкомитету по науке и технике Украины за финансовую поддержку.

*А. М. Шаповалов*

#### НЕАКТОМИОЗИНОВІ СКОРОЧУВАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ ТА ЗМІНИ МЕХАНІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК СУДИННОЇ ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ СКОРОЧЕННІ

##### Резюме

Вивчено вклад неактомиозинових скорочувальних механізмів у термомеханічну відповідь стінки аорти кроля. Встановлено, що у формуванні термоіндукованого скорочення стінки аорти беруть участь три скорочувальні механізми: «сполучнотканинний неопосередкований», «сполучнотканинний опосередкований» і актомиозиновий. Показано, що ступінь зміни жорсткості м'язової тканини при скороченні може детермінуватися закономірностями і співвідношеннями, що зумовлюють жорсткість систем, які складаються із послідовно і паралельно сполучених елементів, а також ступенем активації та інактивации актомиозинових і неактомиозинових скорочувальних механізмів. Встановлено, що незмінність жорсткості м'язової тканини при скороченні є відмінною ознакою неактомиозинової природи її скорочувальної відповіді. Висунуто припущення про здатність колагена до гідролізу АТФ. Запропоновано реологічну модель судинної гладеньком'язової тканини з урахуванням наявності в останній двох скорочувальних систем.

*A. N. Shapovalov*

#### NON-ACTOMYOSINIC CONTRACTILE MECHANISMS AND THE CHANGES OF SMOOTH MUSCLE VESSEL TISSUE MECHANICAL CHARACTERISTICS

##### Summary

The contribution of non-actomyosinic contractile mechanisms to thermomechanical response of rabbit aorta wall was studied. It was established, that these contractile mechanisms take part in the formation of aorta wall thermoinduced contraction. They were

named «connective tissue non-mediated», «connective tissue mediated» and actomyosinic. It was shown that the extent of the muscle tissue stiffness changes during the contraction is determined by the correlation and conformities, which define the stiffness of systems consisting of the series and parallel connected elements and by the extent of activation and inactivation of actomyosinic and non-actomyosinic contractile mechanisms. It was established that the invariability of the muscle tissue stiffness during the contraction is the distinctive feature of its contractile response of non-actomyosinic nature.

The rheological model of smooth muscle vessel tissue with two contractile systems in it was suggested.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шаповалов А. Н., Шуба М. Ф., Миругенко В. И. Влияние температуры на оптические и механические свойства гладких мышц // Докл. АН СССР.—1989.—308, № 3.— С. 748—752.
2. Шаповалов А. Н., Шуба М. Ф. О «неактомиозиновом» компоненте сокращения сосудистой стенки // Физиол. журн. им. Сеченова.—1994.— № 2.— С. 59—67.
3. Шаповалов А. Н., Шаповалова И. В., Ужван В. А. и др. О природе термомеханических реакций сосудистой стенки // Там же.— С. 67—73.
4. Шаповалов А. Н., Шуба М. Ф. Синтетические аналоги диацилглицерола вызывают сокращение соединительнотканного матрикса стенки аорты // Докл. РАН.—1994.— 318, № 4.— С. 821—825.
5. Шаповалов А. Н., Шаповалова И. В., Шуба М. Ф. и др. Соединительная ткань генерирует механическое напряжение при сокращении сосудистой стенки, индуцированном фоболовым эфиром // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.—1994.— № 3.— С. 42—45.
6. Johansson B. Current problems in smooth muscle mechanics // *Experientia*.—1985.— 41.— P. 1017—1020.
7. Kamm K. E., Stull J. T. Activation of smooth muscle contraction. Relation between myosin phosphorylation and stiffness // *Science*.—1986.— 232.— P. 80—82.
8. Brozovich F. V., Morgan K. G. Stimulus-specific changes in mechanical properties of vascular smooth muscle // *Amer. J. Physiol.*—1989.— 257.— P. H1573—H1580.
9. Pawlowski J., Morgan K. Mechanisms of intrinsic tone in ferret vascular smooth muscle // *J. Physiol.*—1992.— 448.— P. 121—132.
10. Stephens N. L. The biophysics and biochemistry of smooth muscle contraction // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.*—1992.— 70.— P. 515—531.
11. Dobrin P. B. Mechanical properties of arteries // *Physiol. Rev.*—1978.— 58, N 2.— P. 397—480.
12. Signer H. A., Kamm K. E., Murphy R. A. Estimates of activation in arterial smooth muscle // *Amer. J. Physiol.*—1986.— 251.— P. 465—473.
13. Huxley A. F., Simmons R. M. Proposed mechanism of force generation in striated muscle // *Nature*.—1971.— 233.— P. 533—538.
14. Rigby B. J. Thermal transition in the collagenous tissue of poikilothermic animals // *J. Thermal Biol.*—1977.— 2.— P. 89—93.
15. Caro C. G. The mechanics of the circulation.—Oxford: Univ. press, 1978.— P. 100—130.
16. Alberts B. Molecular biology of the cell.—New York; London: Garland Publ. Inc., 1983.— Vol. 2.— P. 201—244.
17. Hill A. V. The abrupt transition from rest to activity in muscle // *Proc. Roy. Soc.*—1949.— 136.— P. 399—420.
18. Mulvany M., Warshaw D. The anatomical location of the series elastic component in rat vascular smooth muscle // *J. Physiol.*—1981.— 314.— P. 321—330.
19. Moreland S., Ciela G., Moreland S. Staurosporine decreases stiffness but not stress in endothelin-1-stimulated arterial muscle // *Amer. J. Physiol.*—1992.— 262.— P. C863—C969.
20. Cecchi G., Griffiths P. J., Taylor S. Muscular contraction: Kinetics of crossbridge attachment studied by high-frequency stiffness measurements // *Science*.—1982.— 217.— P. 70—72.
21. Squire J. The structural basis of muscular contraction.—New York; London, 1981.— P. 443—511.
22. Левицкий Д. И. Структурные особенности и функциональная роль молекул миозина. Структура и функции белков сократительных систем / Под ред. Г. П. Пянаева.— Л.: Наука, 1987.— С. 5—26.
23. Мирошниценко Н. С. Новая гипотеза о механизме мышечного сокращения // Докл. АН СССР.—1982.— 265, № 3.— С. 735—736.
24. Andrea J. E., Walsh M. P. Protein kinase C of smooth muscle // *Hypertes.*—1992.— 20.— P. 585—595.
25. Khalil R. A., Morgan M. P. Protein kinase C: A second E-C coupling pathway in vascular smooth muscle? // *News Physiol. Sci.*—1992.— 7.— P. 10—15.
26. Ohanian J., Heagerty A. M. Diacylglycerol metabolism in vascular smooth muscle // Resistance arteries, structure and function.—Amsterdam: Excerpta Medica, 1991.— P. 69—70.

27. *Ollerenshaw J.* Intracellular signalling in arteries and vascular smooth muscle cells in culture // *Ibid.*— P. 73—76.
28. *Law A.* Evidence for the possible existence of a direct and a cytosolic route of  $Ca^{2+}$  entry into agonist-sensitive internal  $Ca^{2+}$ -pool in arterial tissue during reilling // *Ibid.*— P. 96—100.
29. *Milner P.* Increased shear stress leads to differential release of endothelin and ATP from isolated endothelial cells from 4 and 12-month-old male rabbit aorta // *J. Vasc. Res.*— 1992.— 29.— P. 420—425.
30. *Dull R.* Mechanisms of flow-mediated signal transduction in endothelial cells: Kinetics of ATP surface concentration // *Ibid.*— P. 410—419.
31. *Шаповалов А. Н., Ужван В. А., Филиппов И. Б. и др.* Неактомиозиновый компонент термоминдуцированных сокращений сосудистой стенки при гипертензии // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины.*— 1994.— № 6.— С. 00—00.
32. *Cox mechanics of blood vessels; conduit arteries* // *Smooth muscle contraction* // Eds, N. Stephens, M. Dekker.— New York; Basel, 1984.— P. 405—425.
33. *Burges M. L.* Integrin-mediated collagen gel contraction by cardiac fibroblasts. Effects of angiotensin-II // *Circ. Res.*— 1994.— 74.— P. 291—298.

Киев, ун-т им. Тараса Шевченко  
Национальный биофизический центр

Получено 23.02.94