

Весенняя сказка, или Погоня за тонусом

Доктор биологических наук
Б.С.Шенкман

«Spring Tale» в переводе с английского — весенняя сказка. Два года назад вполне серьезная статья под таким названием была опубликована в одном из серьезнейших научных журналов, «Proceedings of National Academy of Sciences». О чем она, пусть останется маленькой интригой до конца рассказа.

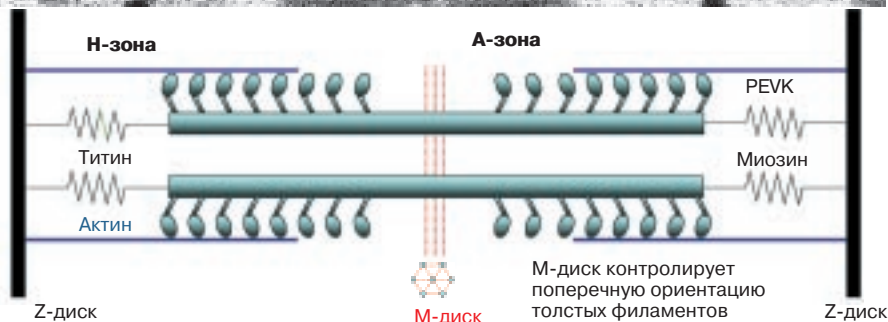
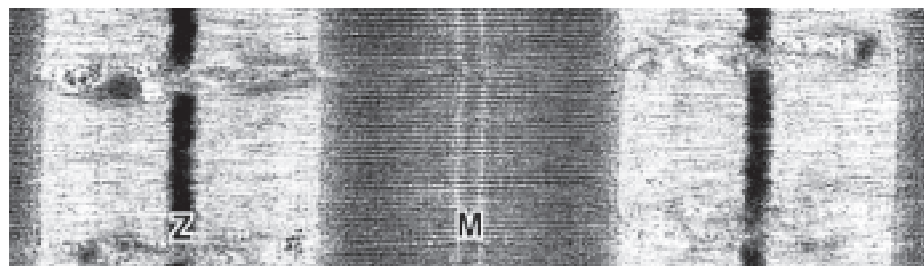
Со знаменитыми людьми лучше всего общаться в командировке. Эту простую истину я давно усвоил и часто пользуюсь расслабленным состоянием знаменитости для того, чтобы разговорить человека и, что греха таить, получить массу интересной информации. И вот как-то в Японии, в автобусе, по дороге к очередной достопримечательности, мне довелось беседовать с одним из наших ветеранов-космонавтов. Рассказав мне о дюжине нештатных ситуаций, о сложностях межличностных отношений на борту станции «Мир» (надо сказать, в весьма тактичной форме), мой собеседник начал расхваливать отечественную систему профилактики, то есть мер, направленных на предотвращение неприятных последствий невесомости. Пропев заслуженные дифирамбы нашей системе физических тренировок на борту, космический долгожитель не преминул дать мне ценные указания относительно того, чем должна заниматься моя лаборатория. «А заниматься тебе надо мышечным тонусом! С ним пока ничего не получается. Ты знаешь, уже в первый день после приземления, когда выяснилось, что со здоровьем у меня все в порядке, я заметил что-то неладное с моей икроножной мышцей — висит, как (яркое и образное сравнение моего собеседника придется опустить). И так было еще целых две недели! А ведь я бегал вокруг профилактория в Звездном городке каждый день. Но стоит сесть или лечь — висит!»

Как это бывает с самыми обычными вещами, что такое мышечный тонус, знает каждый и не знает никто. Великие физиологи всех времен и народов задумывались над ним, врачи-клиницисты тщательно классифицировали разные виды тонуса и его нарушений. Несмотря на это, о механизмах, поддерживающих слабое, но постоянное напряжение мышц в обычных условиях, почти ничего не известно. А ведь атония — то есть отсутствие тонуса — это проблема не только космической медицины. Огромное количество пациентов неврологических и травматологических клиник страдают этим недугом, сопутствующим многим тяжелым заболеваниям.

1
Сухая иммерсия



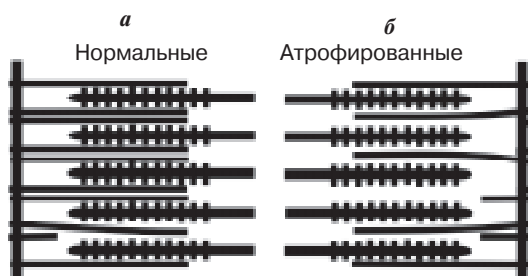
2
Электронная
микрофотография
и схема саркомера



Какова же все-таки природа тонуса?

На страницах «Химии и жизни» мы уже рассказывали, что мышцы млекопитающих состоят из быстрых и медленных волокон. В первых синтезируются преимущественно «быстрые» изоформы одного из двух основных мышечных белков — миозина, во вторых — «медленные». Медленные волокна в большинстве мышц человека и животных в большей степени приспособлены к длительной работе на выносливость, а быстрые волокна лучше развивают большую скорость и мощность сокращений. Гены, кодирующие медленные и быстрые варианты миозина, есть в каждой клетке человека. Почему же тогда в одних волокнах синтезируются (экспрессируются) одни цепи, а в других — другие?

Исчерпывающего ответа на этот вопрос пока нет. Однако известно, что медленные волокна контролируются малыми мотонейронами спинного мозга, образуя вместе с ними медленные двигательные единицы (ДЕ), быстрые — большими мотонейронами, образуя быстрые ДЕ. При этом частота импульсации, скорость проведения импульса по нервному волокну и — самое главное — чувствительность к внешним командам оказываются совершенно разными для различных двигательных единиц. Медленные ДЕ более чувствительны. Достаточно очень слабого центрального сигнала для того, чтобы запустить эту медленно и долго работающую систему. Многие ученые считают, что именно постоянное слабое напряжение медленных ДЕ в покоящейся мышце и создает тот минимальный механический фон, который мы назы-



3
Толстые и тонкие филаменты в норме (а) и у астронавтов после полета (б)



ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

ваем мышечным тонусом. Часто медленные волокна (особенно в опорных, поддерживающих вертикальную позу мышцах) даже называют тоническими, то есть обеспечивающими тонус. Надо сказать, что такой ответ на вопрос о природе тонуса вполне справедлив. Только можно ли считать его исчерпывающим?

В грозные дни августа 1991 года меня пригласила в свою лабораторию в Институте медико-биологических проблем замечательный человек и оригинальный исследователь Инесса Бенедиктовна Козловская. Сама она пришла в космическую физиологию из классической советской нейрофизиологии в конце 70-х годов. И сразу столкнулась с удивительными явлениями, совершенно невозможными в обычной «земной» физиологии. Во-первых — атония, во-вторых — резкое снижение скорости и точности выполнения самых простых движений в невесомости, в-третьих, ... — перечислять можно до бесконечности.

Как изучать эти явления? Исследования в космосе, конечно, важны, уникальны, многое дают для науки, но не отвечают самым элементарным лабораторным требованиям. Ученого на борту нет. Ход эксперимента контролируют в лучшем случае через телевизионные каналы, в худшем — это вообще невозможно, когда станция уходит за пределы радиовидимости. Прелести такого контроля я вкусил, когда в центре управления наблюдал на мониторе за поведением обезьяны на борту биоспутника. На моих глазах и, конечно, при полной моей беспомощности обезьяна сжевала покрытие пульта, сделанное из алюминиевой фольги, — и таким образом эксперимент по исследованию ее поведения был блистательно завершен. Наконец, мы хотим исследовать чистое действие невесомости, а какое же оно чистое, если врачи требуют от космонавтов постоянного выполнения физических упражнений — для поддержания сохранности тех же самых мышц и других систем организма. Нельзя ведь нарушить клятву Гиппократу, даже во имя науки!

Приходится работать в наземных экспериментальных моделях. Одна из

таких моделей — так называемая сухая иммерсия (рис. 1). Добровольца помещают в маленький, но достаточно глубокий бассейн с водой. Его кожа изолирована от воды непроницаемой тканью, чтобы избежать раздражения. В таком положении человек может находиться несколько дней. Мировой рекорд, установленный в начале 70-х годов советскими исследователями, составил 53 дня. Мы обычно ограничиваемся семидневными экспериментами. В воде человек находится почти в невесомости, по крайней мере, не имеет твердой опоры.

И вот профессор Козловская вместе со своей аспиранткой Аней Киренской (сейчас Анна — известный нейрофизиолог и заведует лабораторией) записывают электрическую активность двигательных единиц трехглавой мышцы голени, когда человек удерживает педаль с силой всего лишь 20% от максимальной. До иммерсии доброволец выполняет движение за счет активности медленных двигательных единиц. После иммерсии они молчат. Но движение выполняется! Каким же образом? Работают быстрые волокна. В обычных условиях это совершенно невозможно. Для выполнения таких движений нужен очень небольшой сигнал, который воспринимается только медленными чувствительными двигательными единицами. Однако они не работают. Центр посылает новый, усиленный сигнал — и так до тех пор, пока его не «услышат» быстрые мотонейроны. А вот жесткость мышцы, ее упругость, то есть те свойства, по которым мы судим о мышечном тонусе, в то же самое время резко снижены — мышца висит! Что ж, можно, по крайней мере, предположить, что именно постоянная, хотя и очень низкая активность медленных волокон (и малых мотонейронов) обеспечивает необходимую механическую упругость ткани — то есть тонус. А когда человек оказывается без опоры, в невесомости, медленные двигательные единицы отключаются и тонус падает. Проблема решена?

Развитие науки порой напоминает ход детективного сюжета. Вслед за верхним пластом истины открываются все новые и новые загадки, на которые раньше просто не обращали внимания.

Во-первых, что делать с теми 14 днями после космического полета, во время которых, несмотря на нормальные земные условия (обеспечивающие активность медленных двигательных единиц) и даже физические упражнения, мышца висит? Во-вторых, атоничная мышца не просто теряет механическую жесткость, она теряет эластичность, способность растягиваться и возвращаться к исходной длине.

Давно заметили, что мышца обладает ярко выраженными свойствами пружины. Какие же клеточные механизмы отвечают за это?

Главный мотор мышечного волокна — специальные структуры миофибриллы, состоящие из чередующихся тонких и толстых нитей (рис. 2). Главный опорный элемент, связывающий их, — это так называемая Z-полоска: диск, состоящий из жестких белковых структур. Участок миофибриллы, заключенный между двумя Z-полосками, называется саркомером. Участок толстой нити, находящийся в середине саркомера, содержит основной мышечный белок — миозин, головки которого выступают из толстых нитей наружу. Второй важнейший мышечный белок — актин, входит в состав тонкой нити. Между актином и миозином на тонких нитях располагается сложный белковый комплекс, способный легко связываться с ионами кальция. Когда в пространстве между нитями резко повышается концентрация кальция, его ионы связываются с этим комплексом, и он отодвигается, освобождая место для взаимодействия актина и миозина. Миозиновая головка соединяется с актином, расщепляет АТФ, получая энергию для сокращения, и изменяет угол наклона: тонкая нить скользит, втягиваясь в пространство между толстыми нитями, и тянет за собою Z-полоску. Длина саркомера уменьшается, волокно сокращается, мышца работает. Не исключено, что в обычных условиях покоя, когда нервный импульс к волокну не поступает, а ионы кальция находятся в своих резервуарах, какое-то очень небольшое количество миозиновых головок все-таки работает, поддерживая упругость и напряжение волокна.

Эта гипотеза, объясняющая происхождение тонуса покоя, была выдвинута еще в 70-е годы и в целом удов-



4

При вывешивании крыс один из фрагментов титина исчезает, толстые филаменты не растягиваются

ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

летворяла всех исследователей. Что же касается атонии, то вполне можно себе представить, что по тем или иным причинам (например, вследствие деформации или атрофии тонких нитей) в невесомости или при мышечных заболеваниях расстояние между нитями увеличивается и вероятность образования связей уменьшается. Открытия последних лет, сделанные при исследовании мышц американских астронавтов, вполне подтверждают эту гипотезу (рис. 3). Однако даже при полном отсутствии АТФ в системе, когда взаимодействие актина и миозина невозможно, мышечные волокна остаются упруго-эластическими. Значит, есть еще какие-то «пружины», которые сжимаются при активном мышечном сокращении и некоторое время сохраняют упругость.

Теперь пора вернуться к началу нашего рассказа. Статья, которую опубликовал солидный PNAS, называлась «Spring Tale» — весенняя сказка. Весенняя сказка? Но ведь это игра слов! «The spring» — это еще и пружина. Значит, «Сказка о пружине». О какой же внутримышечной пружине идет речь в статье?

Еще в 80-е годы в мышечной ткани был обнаружен гигантский цитоскелетный белок титин (от слова «титан»). Японские авторы, которым и принадлежит основная честь открытия и первых исследований структуры этого белка, назвали его также коннектин (то есть связывающий, соединяющий). Если в названии «титин» подчеркиваются размеры этого белка, то второе название учитывает его расположение внутри саркомера и функцию (рис. 2). Титин входит в состав толстых нитей, служит каркасом для миозиновых молекул и соединяет их с Z-полоской. Очень скоро после открытия титина было сделано другое открытие чрезвычайной важности. В составе его молекулы был найден замечательный фрагмент, расположенный как раз между миозином и Z-полоской. Этот фрагмент обладает свойствами пружины, может растягиваться и сжиматься, запасать механическую энергию при взаимодействии актина и миозина и освобождать ее.

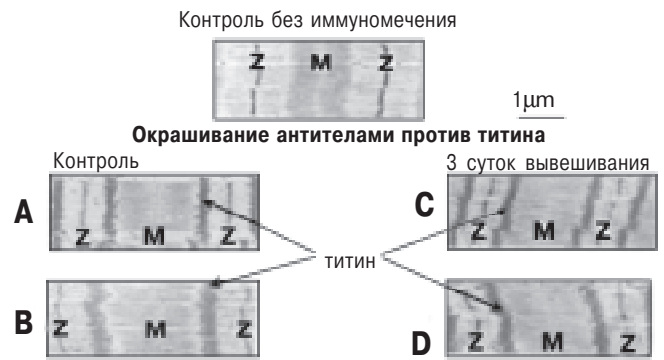
На одной из конференций в Пущино я узнал, что хорошо мне известная лаборатория Института теоретической

и экспериментальной биофизики, возглавляемая Зоей Александровной Подлубной, уже несколько лет анализирует титин при различных состояниях мышц. Мы очень быстро договорились о сотрудничестве, и в Пущино отправился наш посланец с замороженными пробами мышечной ткани крыс. До того мы две недели вывешивали у этих животных задние лапы — весьма популярная экспериментальная модель, имитирующая невесомость (см. «Химию и жизнь», 2003, № 2).

Очень скоро были получены первые результаты. Оказалось, что относительное содержание титина в такой «разгруженной» мышце значительно снизилось. В том же 2002 году несколько раньше, чем это сделали мы, такие же результаты опубликовали наши французские коллеги из Лилльского университета. Значит, в невесомости содержание титина, обеспечивающего упругость и эластичность волокна, снижается, что и приводит к почти полной их утрате (помните, как у космонавта икроножная мышца висела?). Очевидно, после полета должно пройти еще какое-то время (вероятно, две недели), чтобы содержание этого пружинного белка восстановилось бы тонус.

Мы с И.Б.Козловской много раз обсуждали эти интереснейшие факты. И при этих обсуждениях она всегда вспоминала о том, что, судя по ее результатам, жесткость мышц снижается уже в первые часы имитируемой невесомости (например, иммерсии у человека). Что же происходит в это время с внутриклеточной пружинкой?

Первым на этот вопрос попробовал ответить японский исследователь Катсумаса Гото. Его статья была опубликована в апреле прошлого, 2003 года. (Я специально обращаю внимание на даты — насколько стремительно продвигаются исследования. Это гонка!) На рисунке 4 хорошо видны его результаты. Используя антитела, он поместил тот участок молекулы титина, который находится как раз между пружинным фрагментом и миозином (рис. 4А). Затем он растянул мышечное волокно на фиксированную длину. У нормальной «земной» крысы расстояние между Z-по-



лоской и меткой значительно увеличилось (рис. 4В). Понятно, пружина растянулась. Затем он сделал то же самое с волокном крысы, подвергнутой имитируемой невесомости всего в течение трех суток (рис. 4С, 4D). Измеряемое расстояние не меняется. Пружина не растягивается! Она потеряла свою эластичность уже на второй день эксперимента. Интересно, что при этом количество титина еще не успело уменьшиться.

Интересно, какие же таинственные процессы, заставляющие титин сначала резко изменить свои свойства, а затем подвергнуться распаду, происходят в мышечном волокне при исчезновении силы земного тяготения?

Однако гонка продолжается! Летом прошлого года в лаборатории Инессы Бенедиктовны прошел очередной эксперимент с иммерсией человека. Часть наших добровольцев просто погрузилась в бассейн на семь дней, а другие испытуемые сочетали погружение с механической стимуляцией стопы. Специальный башмак с пневматическим приводом, оказывая давление на стопу, имитировал нормальную ходьбу. Что же с тонусом? У «чисто иммерсионной» группы он, конечно, упал, уменьшилась даже сила одиночных волокон, измеренная в нашей лаборатории. А башмак, восстанавливая нормальную опору, позволял поддерживать и тонус, и силу мышечных волокон. Мы, конечно, поделились материалом с нашими друзьями из Пущино и с нетерпением ждали их результатов. И вот приходит электронная почта. Впервые у человека при имитации невесомости уже через семь суток обнаружено уменьшение содержания титина на 30%. А в группе с башмаком ничего не происходит! Сохраняется титин — сохраняется тонус.

Конечно, многое еще неясно. Захватывающая погоня за тонусом еще далека от своего завершения. К ней присоединятся многие исследователи, применят новые, поражающие воображение методы анализа. Результатов очень ждут космонавты, которые после полета не всегда могут нормально ходить, больные в неврологических отделениях и травмированные люди.