

УДК 612.13+612.73

С. А. Берштейн, М. И. Гуревич, А. И. Соловьев

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СОКРАЩЕНИЯ СОСУДИСТЫХ ГЛАДКИХ МЫШЦ И РОЛЬ ТРАНСЛОКАЦИИ Ca^{2+} В РАЗВИТИИ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ НА ИЗМЕНЕНИЯ ОКСИГЕНАЦИИ

Данные о том, что сниженная оксигенация приводит к релаксации, а избыточная, напротив, к сокращению гладких мышц резистивных сосудов, еще недавно интенсивно дискутировавшиеся, в настоящее время можно считать прочно установленными. Все больше сторонников приобретает точка зрения, что изменения оксигенации сосудистых гладких мышц являются одним из ведущих детерминантов рабочей и реактивной гиперемии [73]. Однако механизмы сократительных реакций сосудистых гладких мышц на изменения их оксигенации пока не установлены.

1. *Молекулярные механизмы взаимодействия сократительных белков сосудистых гладких мышц.* Как известно, сокращения сосудистых гладких мышц (СГМ) происходят в результате того, что взаимодействующие нити актина и миозина гидролизуют АТФ и при этом «скользят» относительно друг друга, приводя к продольному укорочению волокон. Процесс этот, как и в поперечнополосатых мышцах, регулируется концентрацией Ca^{2+} в миоплазме, однако механизм такой регуляции в гладких мышцах (ГМ) существенно отличается.

Еще в начале 40-х годов было установлено [34], что Ca^{2+} вовлечен в сопряжение возбуждения с мышечным сокращением. Механизм же участия Ca^{2+} в этом сопряжении оставался неясным до середины 60-х годов, пока не была опубликована работа [21], результаты которой указывали, что основным звеном такого механизма является тропонин-тропомиозиновая система поперечнополосатых мышечных волокон. В интактной покоящейся мышце эта система тормозит активность АТФазы актомиозина, но ее влияние устраняется, когда Ca^{2+} связывается с тропонином-С. Был сделан вывод, что роль Ca^{2+} не сводится к непосредственной активации АТФазы, а состоит в устранении торможения ее активности тропонин-тропомиозиновой системой. Поскольку тропомиозин и тропонин входят в состав тонких нитей актина, эту систему обозначили как актин-зависимую или как регуляторную систему тонких нитей.

В том же году были опубликованы данные, указывающие на идентичную зависимость сокращений глицинеризированных скелетных мышц и СГМ от концентрации Ca^{2+} в миоплазме, и на этом основании высказывалось мнение, что механизм участия Ca^{2+} в активации сократительных белков аналогичен в обоих типах мышц [26]. Однако этому противоречит одно существенное обстоятельство. Тропонин, служащий посредником участия Ca^{2+} в регуляции сокращений поперечнополосатых мышц, в тонких нитях ГМ обнаружить не удается [33]. Следовательно, в ГМ должна существовать иная белковая система, выполняющая ту же функцию, либо такая система не локализована в нитях актина. Большинством исследователей предпочтение отдавалось второй точке зрения, ибо такой прецедент был известен: было установлено, что сокращения мышц моллюсков регулируются миозин-зависимой системой [42]. Последующие исследования [65] показали, что функциональным компонентом этой системы является легкая цепь миозина, так как после разрушения последней (обработкой 10 ммоль

ЭГТА) миозин мышц моллюсков активировался актином в отсутствие Ca^{2+} . Восстановлению в этих условиях зависимости от концентрации Ca^{2+} способствовало, как оказалось, не только добавление легкой цепи миозина мышц моллюсков, но и добавление легкой цепи, экстрагированной из ГМ, тогда как легкая цепь миозина поперечнополосатых мышц таким свойством не обладала. Это способствовало заключению, что не только в мышцах моллюсков, но и в ГМ млекопитающих легкая цепь тормозит активацию миозина актином и что этот эффект устраняется Ca^{2+} .

В отличие от мышц моллюсков, в которых фосфорилирование легкой цепи миозина не влияет на участие последней в регуляции АТФазной активности, в ГМ млекопитающих миозин-зависимая система функционирует только после фосфорилирования легкой цепи. Это подтверждают результаты многих исследований и в том числе выполненных на СГМ [20 и др.]. Установлено также, что фосфорилирование легкой цепи миозина осуществляется киназа, являющаяся специфическим для ГМ ферментом [13] с молекулярным весом 130 000 дальтон. Эта миозинкиназа не активна, пока не связывается с кальмодулином — белком с низким молекулярным весом порядка 16 500 дальтон, обнаруженным практически во всех тканях и являющимся посредником регуляции Ca^{2+} активности аденилатциклазы, фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов, АТФазы мембранны эритроцитов и др. Кальмодулин обладает четырьмя участками связывания Ca^{2+} с K_d около $2,5 \cdot 10^{-6}$ моль. После заполнения Ca^{2+} более половины из них, кальмодулин подвергается конформационному переходу и связывается с миозинкиназой, активируя последнюю. Это происходит, когда концентрация Ca^{2+} в миоплазме повышается сверх 10^{-7} моль. Образуемый кальмодулином и миозинканазой активный комплекс фосфорилирует легкую цепь миозина, запуская тем самым взаимодействие актина с миозином, вследствие чего развивается сокращение клетки. Когда концентрация Ca^{2+} в миоплазме вновь снижается до 10^{-7} моль, происходит диссоциация комплекса кальмодулина с киназой миозина и последняя инактивируется, а содержащиеся в ГМ Ca^{2+} -независимые фосфатазы дефосфорилируют легкую цепь миозина. Взаимодействие актина с миозином становится невозможным и наступает расслабление ГМ [54]. Однако, после того, как Эбashi и соавт. [22] обнаружили в ГМ мускульного желудка цыплят белковый компонент пативного актомиозина с молекулярным весом 80000 дальтон, была выдвинута точка зрения [49], что посредником активации Ca^{2+} АТФазы актомиозина ГМ служит этот белок, названный лейотонином, в сочетании с тропомиозином.

Лейотонин состоит из двух фракций: лейотонина-А и лейотонина-С. Последний, как и кальмодулин, является Ca^{2+} -связывающим белком, но может быть заменен кальмодулином только вместе с лейотонином-А, без которого активация АТФазы актомиозина не наступает [53]. Поскольку при наличии Ca^{2+} лейотонин полностью активирует АТФазу смеси миозина, актина и тропомиозина, лишь слабо фосфорилируя при этом миозин, опосредуемый лейотонином механизм обозначают как регуляторную систему тонких нитей. Предполагается, что в покое активность АТФазы актомиозина ГМ тормозится лейотонин-тропомиозиновой системой. При повышении концентрации Ca^{2+} в миоплазме сверх 10^{-7} моль лейотонин-С связывает Ca^{2+} , и тормозящее влияние лейотонин-тропомиозиновой системы устраняется.

Строгого экспериментального обоснования такого механизма в СГМ пока нет. К тому же есть проблема, связанная со стехиометрией лейотонина. Так установлено, что в тонких нитях клеток ГМ содержится всего одна молекула лейотонина на 10 молекул тропомиозина, а соотношение молекул тропомиозина к актину составляет 1:3. Выказывается предположение, что посредником в регуляции Ca^{2+} активности АТФазы актомиозина СГМ могут служить обе системы — миозин-зависимая и актин-зависимая [73].

Описанные в общих сокращениях и независимо от того, как действуют, их активность

2. Источники и механизмы сокращения и независимо от того, как действуют, их активность

Таблица 1. Распределение ионов в миоплазме клеток ГМ.

Ион	Концентрация	
	внутриклеточной	наружной
Na^+	134—150	5—6,10 ⁻³
K^+	5—6,10 ⁻³	134—146
Cl^-	134—146	1,2·10 ⁻³
Ca^{2+}	1,2·10 ⁻⁷	1,2·10 ⁻³

Как установлено, миоплазма создается не ионами Na^+ , K^+ и Cl^- , а браны клеток ГМ даются такое неравнотом ионов против их

Вопрос о механизме дискуссионным является вопросом, почему клетки Na^+ по электронному Ca^{2+} , подобно ионам Ca^{2+} в миоплазме после блокады Na^+ , приобретают СГМ способствует увеличению концентрации ионов Mg^{2+} в миоплазме. Исключение, это не исключается также, что участвует в механизме, который стоит еще решить, это связанный с 10^{-7} моль, которое обусловлено свойствами плазматической мембраны.

Изменения трансмембранных потенциалов приводят к этому повышению ионов, что усиливается сокращением системы потенциалов [31]. В ГМ одних коронарных сосудов

Описанные в общей форме представления о молекулярных механизмах сокращения и расслабления СГМ свидетельствуют о том, что независимо от того, какие белковые регуляторные системы в них участвуют, их активность определяется концентрацией Ca^{2+} в миоплазме.

2. Источники и механизмы изменения концентрации Ca^{2+} в миоплазме клеток СГМ. В настоящее время существуют веские доказательства в пользу того, что источниками ионизированного кальция, поступающего в миоплазму клеток СГМ, являются внеклеточный Ca^{2+} и Ca^{2+} , связываемый внутри клеток. В соответствии с этим, регуляция концентрации Ca^{2+} в миоплазме должна осуществляться: а) плазматической мембраной, деполяризация и стимуляция хеморецепторов которой активирует в ней кальциевые каналы, и б) внутриклеточно, распределением Ca^{2+} между связывающими его органеллами и миоплазмой.

Таблица 1. Распределение ионов, проницаемость и электрохимические градиенты [по 50]

Ион	Концентрация, моль		Проницаемость, 10^{-8} см/с	Электрохимические градиенты, мВ
	внеклеточная	внутриклеточная		
Na^+	$134-150 \cdot 10^{-3}$	$12-26 \cdot 10^{-3}$	$0,15-1,0$	+ (46-67)
K^+	$5-6 \cdot 10^{-3}$	$156-198 \cdot 10^{-3}$	$1,4-4,5$	- (89-95)
Cl^-	$134-146 \cdot 10^{-3}$	$48-66 \cdot 10^{-3}$	$1,5-3,0$	- (20-30)
Ca^{2+}	$1,2 \cdot 10^{-3}$	10^{-7}	настолько низка, что не поддается измерению	+ 114

Как установлено, трансмембранный разность электрических потенциалов создается неравномерным вне- и внутриклеточным распределением Na^+ , K^+ и Cl^- , обусловливаемым различной проницаемостью мембраны клеток ГМ для каждого из этих ионов (табл. 1). Поддерживается такое неравномерное распределение энергозависимым транспортом ионов против их электрохимических градиентов.

Вопрос о механизмах выведения Ca^{2+} из клеток СГМ пока остается дискуссионным. Одни полагают, что ему способствует вход в клетки Na^+ по электрохимическому градиенту с обменом трех Na^+ на один Ca^{2+} , подобно $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмену, функционирующему в миокардиоцитах [16]. Другие, не обнаружив увеличения концентрации Ca^{2+} в миоплазме после блокады ouabainом Na^+/K^+ насоса, устрашающей градиент Na^+ , придерживаются мнения, что выведению Ca^{2+} из клеток СГМ способствует Mg -зависимая АТФаза, локализованная в плазматической мемbrane [50]. Эту точку зрения подкрепляют данные об увеличении концентрации Ca^{2+} при истощении ресурсов АТФ [29] и о выделении из микросомальных фракций ГМ Ca^{2+} -транспортирующей, Mg^{2+} -зависимой АТФазы, способствующей поглощению Ca^{2+} [57]. Не исключается также, что в экструзии Ca^{2+} из клеток СГМ, возможно, участвует сочетание нескольких механизмов [36]. Эту проблему предстоит еще решить, но есть основания полагать, что низкая, не превышающая 10^{-7} моль, концентрация Ca^{2+} в миоплазме клеток СГМ в порядке обусловлена свойствами слабо проницаемой для Ca^{2+} ($0,02$ пмоль \times $\text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) плазматической мембраны [17] и наличием механизма активного выведения Ca^{2+} из клеток.

Изменения трансмембранный разности электрических потенциалов клеток приводят к увеличению проницаемости мембран для Ca^{2+} . При этом повышается внутриклеточная концентрация Ca^{2+} и соответственно усиливается сократительная активность ГМ. В СГМ выявлены две системы потенциалозависимой активации сократительного состояния [31]. В ГМ одних сосудов (воротная вена, брыжеечные сосуды, часть коронарной сосудистой сети и др.) после достижения пороговых зна-

чений деполяризации мембран клеток генерируются потенциалы действия (ПД), за которыми следуют фазные сокращения. Амплитуда и частота последних прямо коррелируют с амплитудой и частотой ПД. При существенном росте частоты ПД возможна интеграция фазных сокращений с образованием так называемых зубчатого или слитного тонуса и, следовательно, создаваемое таким механизмом напряжение сосудистой стенки является прерывистым по своей природе. Систему активации сокращений СГМ, связанную с генерацией ПД, обозначили как «фазную» или «Р-систему». Предполагается, что роль этой системы сводится главным образом к регуляции срочных и кратковременных изменений сосудистого тонуса.

В настоящее время большинство исследователей признают, что фаза деполяризации ПД обусловлена, как и в пейсмекерных клетках миокарда, главным образом поступлением Ca^{2+} в клетки СГМ извне. Кальциевая природа ПД доказывается [32, 66 и др.] тем, что: а) антагонисты Ca^{2+} (верапамил, метоксиверапамил, нифедипин), блокирующие вход Ca^{2+} в клетки, подавляет генерацию ПД в ГМ; б) ПД в ГМ не зависят от внеклеточной концентрации Na^+ ; в) применение тетродотоксина в дозах, блокирующих натриевые каналы, не влияет на генерацию ПД в ГМ. С учетом Ca^{2+} природы ПД в СГМ, можно полагать, что источником повышения концентрации Ca^{2+} в миоплазме, необходимого для реализации фазных сокращений СГМ, служат преимущественно внеклеточные ионы кальция. Согласно современным представлениям о механизмах кальциевой проницаемости возбудимых мембран, в СГМ, обладающих «фазной» системой активации сокращений, внеклеточный Ca^{2+} поступает в миоплазму по кальциевым каналам, управляемым ПД. Их также обозначают как быстрые потенциалозависимые инактивирующиеся каналы [10].

В ГМ легочной артерии, аорты, сонной артерии и других магистральных артерий ПД обычно не регистрируются. Клетки ГМ этих сосудов реагируют на повышение внеклеточной концентрации K^+ и некоторые физиологически активные вещества постепенно развивающейся или градуальной деполяризацией и формированием непрерывистого тонического сокращения. Амплитуда и продолжительность такого сокращения СГМ прямо коррелирует с уровнем и длительностью градуальной деполяризации мембран их клеток. Основная роль в генезе градуальной деполяризации мембран клеток СГМ придается увеличенному входящему току Na^+ и Cl^- [12], а отсутствие ПД связывают с одновременным оттоком K^+ , так как под влиянием тетраэтиламмония (ТЭА), угнетающего выходящий ток K^+ , клетки СГМ, в которых ПД обычно не регистрируются, начинают генерировать ПД [3]. Система активации сокращений СГМ, связанная с градуальной деполяризацией, обозначена как «тоническая» или «Т-система». Предполагается, что роль этой системы важна для длительного поддержания сосудистого тонуса.

Участие внеклеточных Ca^{2+} в формировании тонического сокращения не вызывает сомнений. Поступают они в цитоплазму, как полагают, по кальциевым каналам мембранны, управляемым постепенно развивающейся деполяризацией. Эти каналы называют медленными потенциалозависимыми и неинактивирующими, т. е. стационарно открытыми [10, 11]. Основываясь на этом, автор полагает, что Ca^{2+} , поступающий по этим каналам, обусловливает сократительную активность СГМ, формирующую базальный тонус сосудов. Поскольку базальный тонус сосудов, как известно, представляет собой долю напряжения сосудистых стенок, сохраняющуюся после устранения нейрогенных и гуморальных влияний, единственным из известных пока источников деполяризации мембран клеток СГМ в таких условиях может быть растяжение стенок сосудов трансмуральным давлением. Для признания этой точки зрения необходимо располагать данными о количественной зависимости между уровнем трансмурального давления и степенью деполяризации мембран клеток СГМ.

Еще в 1958 г. бстю деполяризованные сохраняют способность холином) сокращению же, ГМ некоторыгируют на катехолам без изменений трансмуральных клеток ГМ. Такой механизм в СГМ описан и поэзия» [63].

Если в активации клеточных ионы Ca^{2+} , осуществляясь по разным. Эти каналы симмыми [10, 11].

Таким образом, вых каналов в плазматической мембране лируется трансмембранный потенциал [52], что на каждые 10–50 кальциево-40 мВ (для потенциала около 30 тысяч). Трансмембранные каналы, но способны преимущественно возрастают папаверина (верапамина) (дилтиазем), бранное перемещение количества и кинетика являются также некоторым обусловлено связанный.

После удаления ЭГТА, сократительная способность К⁺ практически не меняется в условиях реакции Стэнзин II, гистамином, которым ослабление сосудов заметно отменяется. Более значительные изменения в бескальциевом растворе сокращающиеся ресурсы Ca^{2+} лимитированы внеклеточных источников инкубационных холин сохраняются скольких десятков минут.

Показано также, что кальциевые ГМ, приводящие к сокращению. Цинаризин оказывает влияния на предварительно действующую среду ГМ бывает на добавление мил, как правило, эндоцитоза.

Антагонисты С-акетат) и лантан-ванные повышение на сокращения, эффективно и проявляются.

Физiol. журн., 1985, т. 31, № 4

Еще в 1958 г. было показано [63], что висцеральные ГМ, полностью деполяризованные повышением внеклеточной концентрации K^+ , сохраняют способность реагировать на стимуляцию (например, ацетилхолином) сокращением. Такая способность присуща и СГМ [64]. К тому же, ГМ некоторых сосудов (например, легочной артерии) реагируют на катехоламины тоническим сокращением, развивающимся без изменений трансмембранных электрического потенциала мембран клеток ГМ. Такой механизм сопряжения возбуждения с сокращением в СГМ описан и получил наименование «фармакомеханической связи» [63].

Если в активации сокращений таким механизмом участвуют внеклеточные ионы Ca , то поступление последних в миоплазму должно осуществляться по кальциевым каналам, управляемым хеморецепторами. Эти каналы называют хемочувствительными потенциалонезависимыми [10, 11].

Таким образом, существует по меньшей мере три типа кальциевых каналов в плазматической мемbrane клеток СГМ, которыми регулируется трансмембранный приток Ca^{2+} извне. Приводятся данные [52], что на каждый μm^2 поверхности мышечной клетки приходится от 10 до 50 кальциевых каналов с порогом активации от -30 до -40 мВ (для потенциалозависимых каналов) и пропускной способностью около 30 тыс. ионов в секунду. Эти каналы относительно селективны, но способны участвовать и в транспорте Na^+ , доля которых существенно возрастает при применении хелаторов Ca^{2+} . Производные папаверина (верапамил), дигидропиридинов (нифедипин), бензотиазепина (дилтиазем) и пиперазина (лидофлазин) блокируют трансмембранное перемещение Ca^{2+} , благодаря оказываемому ими влиянию на количество и кинетику кальциевых каналов. Блокаторами входа Ca^{2+} являются также неорганические ионы: La^{3+} , Co^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{3+} , эффект которых обусловлен их способностью замещать внеклеточный и поверхностно связанный Ca^{2+} или «закупоривать» кальциевые каналы.

После удаления Ca^{2+} из инкубационной среды и добавления в нее ЭГТА, сократительные реакции СГМ на повышение внеклеточной концентрации K^+ практически полностью подавляются. Однако в тех же условиях реакции СГМ на норадреналин, адреналин, серотонин, ангиотензин II, гистамин мускариновые агонисты сохраняются, хотя и с некоторым ослаблением их выраженности [38], степень которого в разных сосудах заметно отличается. В ГМ некоторых сосудов сохраняется более 60 % реакции, тогда как в других ослабление сократительной реакции более значительно [39, 47]. Чем продолжительней СГМ инкубируются в бескальциевой среде, тем больше снижается их способность реагировать сокращением. Это связывают с тем, что внутриклеточные ресурсы Ca^{2+} лимитированы и должны периодически пополняться из внеклеточных источников [58]. Есть, однако, данные, что в бескальциевых инкубационных средах реакции СГМ на норадреналин и ацетилхолин сохраняются без существенных изменений на протяжении нескольких десятков минут [18].

Показано также, что в бескальциевых инкубационных средах артериальные ГМ, предварительно деполяризованные высокой концентрацией внеклеточного K^+ , реагируют на адреналин тоническим сокращением. Цинаризин, блокирующий поступление Ca^{2+} в клетки, не оказывает влияния на эти сокращения. Когда же тонические сокращения предварительно деполяризованных и инкубировавшихся в бескальциевой среде ГМ брызгачной и легочной артерий воспроизводятся в ответ на добавление в среду инкубации Ca^{2+} , то цинаризин или верапамил, как правило, эти сокращения угнетают [30].

Антагонисты Ca^{2+} SKF-525 A (β -диэтил-аминоэтилдифенил-пропил-акетат) и лантан подавляют тонические сокращения ГМ аорты, вызванные повышением внеклеточной концентрации K^+ , однако их влияние на сокращения, вызываемые норадреналином, значительно менее эффективно и проявляется в полном объеме после более продолжитель-

ного действия антагонистов Ca^{2+} или при применении более высоких их концентраций [70]. После обработки сосудистых препаратов лантаном, сокращения, вызываемые повышением внеклеточного K^+ , сочетаются с увеличением внутриклеточного содержания ^{45}Ca , но этого не наблюдают в процессе реакций СГМ на норадреналин [68].

Верапамил, Д-600 (метоксиверапамил) и нимодипин (аналог нифедипина) также оказывают значительно более выраженный угнетающий эффект на тонические сокращения СГМ, вызываемые повышением концентрации внеклеточного K^+ , чем на сокращения, вызываемые норадреналином [15] или серотонином [67]. Даже сократительные реакции ГМ коронарных и базилярной артерий собаки на α -адреномиметики, обусловливаемые, как полагают, преимущественно внеклеточным Ca^{2+} , примерно в 10 раз менее чувствительны к блокаторам входа Ca^{2+} (Д-600, SKF-525 А), чем сокращения, вызываемые повышением концентрации внеклеточного K^+ [71].

Исключение составляет пожалуй лишь амрионон, способность которого блокировать вход Ca^{2+} в клетки ГМ была недавно показана. Этот антагонист Ca^{2+} достаточно эффективно ослабляет сокращения ГМ, вызываемые норадреналином [48]. Возможно, это связано с тем, что эффект антагонистов Ca^{2+} , как полагают, обусловливается также влиянием, оказываемым ими на внутриклеточные перемещения Ca^{2+} [61].

Совсем недавно использование прокaina (5 ммол/), блокирующего высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо, позволило получить убедительное доказательство того, что в СГМ функционирует механизм выделения Ca^{2+} из внутриклеточных источников, запускаемый ионами Ca , поступающими извне [44].

Экспериментально установлено, что в клетках СГМ структурами, депонирующими Ca^{2+} , являются плазматическая мембрана, саркоплазматический ретикулум, митохондрии и оболочка ядра [55]. Полагают, что внутриклеточный фонд Ca^{2+} состоит по меньшей мере из двух фракций: а) более лабильной (быстро высвобождаемой), которая локализована в структурах с низким сродством к Ca^{2+} и чувствительна к действию норадреналина, ацетилхолина и гистамина; б) более прочно связанный (медленно высвобождаемой), локализованной в структурах с высоким сродством к Ca^{2+} и чувствительной к действию динитрофенола [40, 41]. Первую из них содержит плазматическая мембрана и саркоплазматический ретикулум, а вторую — митохондрии и оболочка ядра [55]. Не исключено, что лабильная фракция участвует преимущественно в формировании кратковременных сократительных реакций, а медленно высвобождаемая — в сочетании с входящим в клетки Ca^{2+} — в развитии устойчивых изменений напряжения СГМ [50].

Таким образом, в развитии сокращений СГМ, вызываемых медиаторами и другими физиологическими активными веществами, наряду с внеклеточным Ca^{2+} , значительная роль принадлежит высвобождению Ca^{2+} , депонированного внутри клеток. Только сокращения СГМ, развивающиеся в ответ на повышение внеклеточной концентрации K^+ , в полном объеме обусловливаются активацией сократительного механизма ионами Ca , поступающими извне. В этой связи так называемая калиевая контрактура не может быть признана адекватной моделью для выяснения вопроса о роли внутриклеточного Ca^{2+} в сопряжении возбуждения с сокращением в СГМ, поскольку ее полная зависимость от внеклеточного Ca^{2+} является для СГМ в большей мере исключением, чем правилом. В силу этого исследования с использованием этой модели создают преувеличенное впечатление о решающей роли внеклеточного Ca^{2+} в формировании сократительных реакций СГМ.

3. Механизмы расслабления СГМ. К расслаблению СГМ приводит, как отмечалось ранее, снижение концентрации Ca^{2+} в миоплазме до 10^{-7} моль. Проблема сводится к выяснению механизмов, обусловливающих снижение концентрации Ca^{2+} в миоплазме клеток СГМ. Как и в миокардиоцитах, в клетках СГМ таких механизмов несколько.

Деполяризация же по потенциалозависимости вызывает выходящим током проницаемости для Ca^{2+} и с ростом проницаемости стимуляцию градиульяции Ca^{2+} в цитословом триггер выхода деполяризующего ионной деполяризации механизма зависимых кальциевых Ca^{2+} из клетки это должно.

Есть, однако, данный ток СГМ вслед за которым не более 1/3 от сокращения. Эта роль депонирования СГМ. Показано, что мимикацией β -адренорецептора и при этом между уровнем количественной и в цАМФ ингибиторами фосфорилирующей среду цАМФ, лаксирующий эффект в просомах СГМ позволил газовысасывающую аккумуляцию, которая отвечала за завершение инкубации с концентрацией цАМФ в.

Основываясь на предположении [45], что влияние путем слабления, подобного снижению активности аденин-приводит к увеличению гуляторной субъединицы фосфатной группы АТФ-бран — так называемой АТФазе. Последняя, называемая Ca^{2+} . Полагают и выведение СГМ.

Этим участия цАМФ усиливается. Так известно, что зависимого фосфорилируется тем самым, что ступающая при этом тенсификация Na^+/Ca^{2+} чиной расслабления чае, когда киназа легкость образовывает руясь на этом, сделав в клетках СГМ цАМФ способствует активированию фосфорилируя киназ комплекса кальмодула, имея Ca^{2+} в концентрации в кальмодуле, что цАМФ тормозит четание с цАМФ-зависимостью тонического напряжения.

4. Роль транспортеров

Деполяризация мембраны, способствующая входу Ca^{2+} в клетку по потенциалозависимым кальциевым каналам, сама по себе лимитируется выходящим током K^+ , который увеличивается вслед за ростом проницаемости для Ca^{2+} (в клетках, генерирующих ПД), или одновременно с ростом проницаемости для Ca^{2+} (в клетках, реагирующих на стимуляцию градуальной деполяризацией). Следовательно, рост концентрации Ca^{2+} в цитоплазме может рассматриваться как непосредственный триггер выходящего тока K^+ [72]. После прекращения действия деполяризующего стимула такой механизм может служить причиной деполяризации мембран клеток СГМ и инактивации потенциалозависимых кальциевых каналов. В сочетании с активным выведением Ca^{2+} из клетки это должно привести к расслаблению СГМ.

Есть, однако, данные [69], что количество Ca^{2+} , выводимое из клеток СГМ вслед за их сокращением в ответ на норадреналин, составляет не более 1/3 от содержания Ca^{2+} в миоплазме, поддерживавшего такое сокращение. Это расценивают как указание на значительную роль депонирования Ca^{2+} внутриклеточными структурами в расслаблении СГМ. Показано также, что расслабление СГМ, вызываемое стимуляцией β -адренорецепторов, сочетается с повышением уровня цАМФ, и при этом между уровнем цАМФ и степенью расслабления существует количественная и временная корреляция [25]. Повышение уровня цАМФ ингибиторами фосфодиэстеразы, а также добавлением в инкубационную среду цАМФ или ее дигутирил дериватов потенцирует релаксирующий эффект β -адrenomиметиков [60]. Исследования на микросомах СГМ позволили установить, что цАМФ способна повысить энергозависимую аккумуляцию ими Ca^{2+} на 49 % [27]. При этом наблюдалась отчетливая зависимость связывания Ca^{2+} от содержания цАМФ в среде инкубации с максимальной выраженностью связывания при концентрации цАМФ в диапазоне от 5 до 10 мкмоль.

Основываясь на приведенных фактах и учитывая, что цАМФ оказывает влияние путем активации цАМФ-зависимой протеинкиназы [45], представляется вероятным существование в СГМ механизма расслабления, подобного предложенному для миокардиоцитов: повышение активности аденилатциклазы, вызываемое β -адrenomиметиками, приводит к увеличению содержания цАМФ, которая, соединяясь с регуляторной субъединицей протеинкиназы, катализирует транслокацию фосфатной группы АТФ к белковому субстрату субклеточных мембран — так называемой Ca^{2+} -транспортирующей, Mg^{2+} -зависимой АТФазе. Последняя, будучи фосфорилированной, обусловливает связывание Ca^{2+} . Полагают, что сходный цАМФ-зависимый механизм усиливает и выведение Ca^{2+} из клеток [44].

Этим участие цАМФ в расслаблении СГМ, по-видимому, не ограничивается. Так известно, что описанный выше механизм цАМФ-зависимого фосфорилирования способен активировать Na^+/K^+ АТФазу и усиливать тем самым трансмембранный транспорт Na^+ и K^+ [59]. Наступающая при этом благодаря повышению натриевого градиента интенсификация $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменного механизма может также быть причиной расслабления СГМ. Недавно обнаружено [19], что в том случае, когда киназа легкой цепи миозина сама фосфорилирована, ее способность образовывать комплекс с кальмодулином подавляется. Базируясь на этом, сделано заключение [13], что увеличение содержания в клетках СГМ цАМФ, вызываемое стимуляцией β -адренорецепторов, способствует активированию цАМФ-зависимой протеинкиназы, которая, фосфорилируя киназу легкой цепи миозина, блокирует образование комплекса кальмодулин-миозинкиназа, несмотря на наличие в миоплазме Ca^{2+} в концентрации, достаточной для заполнения мест его связывания в кальмодулине. Это заключение подтверждают данные о том, что цАМФ тормозит фосфорилирование легкой цепи миозина, а в сочетании с цАМФ-зависимой протеинкиназой существенно снижает уровень тонического напряжения скинированных ГМ [37].

4. Роль транслокации Ca^{2+} в формировании реакций СГМ на из-

менения их оксигенации. Существуют веские предпосылки для предположения, что зависимость сократительной активности СГМ от уровня их оксигенации может быть опосредована влиянием изменений оксигенации на механизмы поступления Ca^{2+} в цитоплазму из внеклеточных и (или) внутриклеточных источников.

Во-первых, выраженность и динамика сократительных реакций СГМ, как это установлено, в итоге обусловливаются концентрацией Ca^{2+} в миоплазме гладкомышечных клеток. Во-вторых, удаление Ca^{2+} из инкубационного раствора или добавление в него блокаторов кальциевой проницаемости мембран приводят подобно снижению уровня

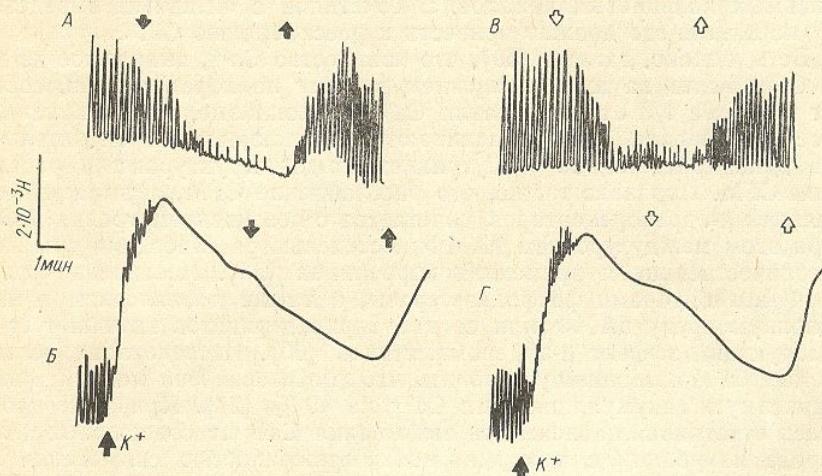


Рис. 1. Влияние снижения напряжения кислорода в перфузате со 147 до 30 мм рт. ст. (со 191 до 39 гПа) (*A*, *B*) и удаления Ca^{2+} из перфузата (*B*, *G*) на ритмические фазы (*A*, *B*) и вызванные повышением внеклеточной концентрации K^+ до 60 ммол/л тонические (*B*, *G*) сокращения ГМ воротной вены.

Темные стрелки — начало и конец перфузии буферным раствором со сниженным напряжением кислорода. Светлые стрелки — начало и конец перфузии бескальциевым буферным раствором.

оксигенации СГМ к отчетливому подавлению их ритмических сокращений (рис. 1). В-третьих, клетки тонических ГМ, обладающие сравнительно большим объемом саркоплазматического ретикулума и сохраняющие в бескальциевой среде, хотя и ограниченное время, способность сокращаться, реагируют на снижение оксигенации только после предварительного повышения уровня поддерживаемого ими напряжения. Клетки же фазных СГМ, обладающие в несколько раз меньшим объемом саркоплазматического ретикулума и прекращающие в бескальциевой среде присущие им ритмические сокращения, реагируют на снижение оксигенации без предшествующей дополнительной их активации. Вполне очевидно, таким образом, что одним из механизмов расслабления СГМ при снижении их оксигенации является, по-видимому, торможение транспорта Ca^{2+} в миоплазму из внеклеточных источников.

В пользу такого заключения свидетельствуют результаты выполненных нами исследований. Так показано, что после обусловленного снижением уровня оксигенации инкубационного раствора расслабление ГМ воротной вены, предварительно сокращенных повышением внеклеточной концентрации K^+ , эффект блокады кальциевой проницаемости мембранны верапамилом (10^{-5} моль) или нифедипином (10^{-6} моль) проявляется в дополнительном снижении тонического напряжения не более чем на 10—15 % (рис. 2). Напротив, после предшествующей блокады кальциевых каналов мембранны верапамилом или нифедипином снижение уровня оксигенации инкубационного раствора не оказывает на СГМ присущего ему релаксирующего эффекта.

Наряду с этим, нами установлено [7], что гипероксигенация СГМ, воспроизведенная повышением напряжения кислорода в инкубацион-

ном растворе до 400—четливое стимулирующееся как в увеличении (ГМ воротной в напряжения фазных (всегда ГМ, предварительно со-точного K^+ или норадреином ловливается ростом капи-бранны клеток СГМ, т. циевых каналов. Предв-

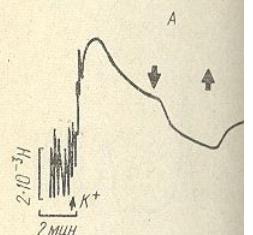


Рис. 2. Влияние снижения на
(с 191 до 39 гПа) (*A*) и эф-
фекты кальциевого тока на то-
шением внекл.
Темные стрелки — начало и конец
лордса. Светлые стрел-

памила или нифедипина
ление фазных сокращен-
ского напряжения до 10
ждает это. Некоторый п-
пероксигенацию сохраня-
ция из перфузата, обес-
ферный раствор 1 ммол
из внутриклеточных ист-

По нашим данным, компенсирует прогрессирующее снижение повышение вдвое концентрации ионов аргументом в пользу гипероксигенации СГМ на механизмы мобилизации внутриклеточных ионов Ca^{2+} .

В этой связи существуют результаты исследований о влиянии факторов на проницаемости мембран клеток, которые обладают способностью увеличивать проницаемость мембран клеток СГМ путем приведение в действие модифицированного физического повышения соотношения фосфат/протеин, что добавление в перфузат приводит к выраженной гипертонии, проявляющейся в 180 % и сочетающейся с гипотензией в среднем на 25 %. В это время давление падает от 147 до 30 мм рт. ст. Это явление, известное как «врожденное тормозящее действие».

ном растворе до 400—500 мм рт. ст. (520—650 гПа), оказывает отчетливое стимулирующее сократительную активность влияние, проявляющееся как в увеличении амплитуды и частоты ритмических сокращений (ГМ воротной вены), так и в дополнительном приросте уровня напряжения фазных (воротная вена) и тонических (аорта) сосудистых ГМ, предварительно сокращенных повышением концентрации внеклеточного K^+ или норадреналином. Эффект гипероксигенации СГМ обуславливается ростом кальциевой проницаемости плазматической мембраны клеток СГМ, т. е. увеличением числа функционирующих кальциевых каналов. Предварительное действие антагонистов Ca^{2+} (верапамила

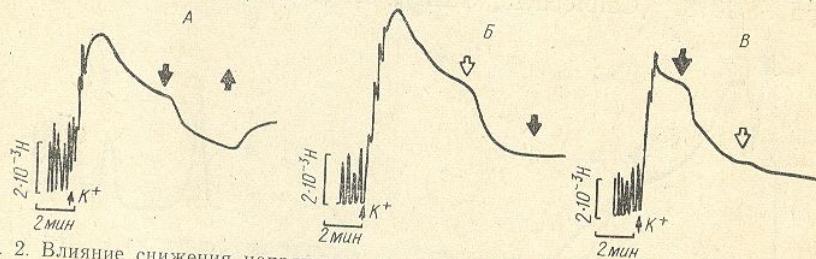


Рис. 2. Влияние снижения напряжения кислорода в перфузате со 147 до 30 мм рт. ст. (со 191 до 39 гПа) (А) и эффект предшествующей этому (Б) и последующей (В) блокады кальциевого тока на тонические сокращения ГМ воротной вены, вызванные повышением внеклеточной концентрации K^+ до 60 ммол/л. Темные стрелки — начало и конец перфузии буферным раствором со сниженным напряжением кислорода. Светлые стрелки — добавление в перфузат верапамила (10^{-5} моль/л).

памила или нифедипина), практически полностью исключающее усиление фазных сокращений и снижающее амплитуду прироста тонического напряжения до 10 % ее первоначальной выраженности, подтверждает это. Некоторый прирост тонического напряжения в ответ на гипероксигенацию сохраняется даже после полного удаления ионов кальция из перфузата, обеспечиваемого добавлением в лишенный Ca^{2+} буферный раствор 1 ммоль/л ЭГТА. Это указывает на мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных источников.

По нашим данным, гипероксигенация ГМ воротной вены заметно компенсирует прогрессирующее угнетение сократительной активности, вызываемое снижением содержания Ca^{2+} в перфузате до 2 мкмоль, а повышение вдвое концентрации Ca^{2+} в перфузате заметно не сказывается на выраженности подавления сократительной активности, вызываемого снижением оксигенации. Это служит, по-видимому, еще одним аргументом в пользу того, что сократительные эффекты гипероксигенации СГМ обусловливаются соответствующими влияниями на механизмы мобилизации внеклеточного и (или) депонированного внутриклеток Ca^{2+} .

В этой связи существенный интерес представляют не только результаты исследований с использованием антагонистов Ca^{2+} , но и данные о влиянии факторов, способствующих повышению кальциевой проницаемости мембран клеток СГМ. Недавно было показано [8], что такой способностью обладают фосфолипидные везикулы (липосомы), которые увеличивают кальциевую проницаемость плазматических мембран клеток СГМ путем специфической активации кальциевых каналов вследствие модификации их фосфолипидного окружения и неспецифического повышения проницаемости для Ca^{2+} вследствие изменения соотношения фосфолипиды/холестерин в мембранах. Оказалось, что добавление в перфузат липосом (10 мкг/мл) из фосфатидилсерина приводит к выраженной активации миогенной автоматии ГМ воротной вены, проявляющейся в увеличении амплитуды фазных сокращений до 180 % и сочетающейся с повышением уровня тонического напряжения в среднем на 25 %. В этих условиях снижение оксигенации перфузата со 147 до 30 мм рт. ст. (191—39 гПа) оказывает заметно менее существенное тормозящее влияние на фазные сокращения и вызыва-

ет на 15—25 % менее значительную релаксацию ГМ, предварительно сокращенных избытком внеклеточного K^+ . При этом латентный период реакций на снижение оксигенации отчетливо удлиняется.

Известно также, что некоторые ионофоры обладают способностью, образуя комплекс с Ca^{2+} , транспортировать его через плазматическую мембрану и высвобождать затем в цитоплазме [9]. Наиболее сродством к Ca^{2+} обладает ионофор А 23187 [56]. Указанные свойства позволяют использовать ионофор А 23187 для моделирования повышенной кальциевой проницаемости плазматических мембран клеток СГМ. Перфузия буферным раствором, содержащим 10^{-6} моль ионофора А 23187 (Calbiochem, США), сопровождалась отчетливым (в

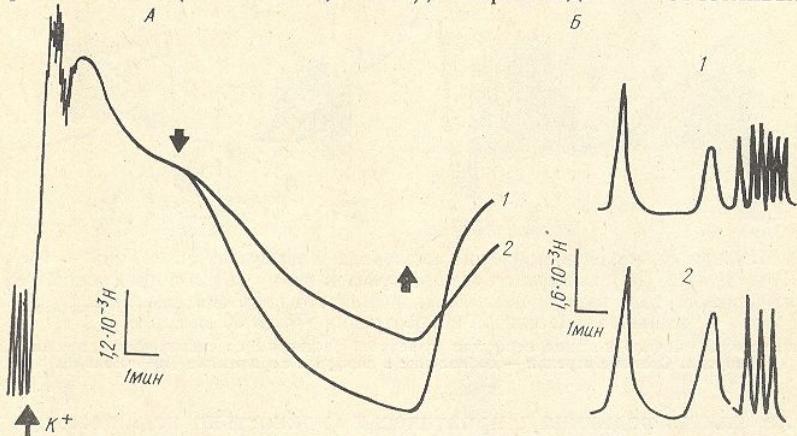


Рис. 3. Влияние снижения напряжения кислорода в перфузате со 147 до 30 мм рт. ст. (со 191 до 39 гПа) на тонические сокращения, вызванные повышением внеклеточной концентрации K^+ до 60 мкмоль/л (A) и ритмические фазные сокращения (B) ГМ воротной вены до (1) и после (2) добавления в перфузат кальциевого ионофора А 23187 (10^{-6} моль/л).

Стрелками обозначены начало и конец перфузии буферным раствором со сниженным напряжением кислорода.

среднем на 40—60 %) приростом амплитуды ритмических фазных сокращений ГМ воротной вены. При этом постоянная времени расслабления в каждом фазном сокращении заметно возрастила (с 10 до 15 с), что свидетельствует о накоплении Ca^{2+} в миоплазме гладкомышечных клеток. В этих условиях релаксирующее влияние снижения оксигенации перфузата на ГМ воротной вены, предварительно сокращенные избытком K^+ , оказывается значительно менее выраженным (рис. 3).

Прямыми доказательством влияния уровня оксигенации СГМ на кальциевую проницаемость мембран гладкомышечных клеток служат данные об изменениях поступления ^{45}Ca внутрь клеток при снижении их оксигенации. На препаратах аорты, ГМ которой относятся к тоническому типу и реагируют на снижение оксигенации только после повышения (норадреналином или увеличением концентрации внеклеточного K^+) уровня поддерживаемого ими напряжения, было показано [23, 24], что в условиях, когда снижение оксигенации не приводит к релаксации ГМ, т. е. без предварительной их активации, поступление ^{45}Ca внутрь клеток возрастает более чем вдвое. Напротив, когда создаются условия, при которых снижение оксигенации ГМ сопровождается их расслаблением, т. е. после предварительной их активации, поступление ^{45}Ca внутрь клеток уменьшается примерно вдвое. Исследования, выполненные нами на препаратах воротной вены, гладким мышцам которой исходно присуща миогенная автоматия, позволили путем сопоставления внутриклеточного накопления радиоактивного кальция установить, что угнетение фазных сокращений, наступающее после снижения оксигенации перфузата со 147 до 30 мм рт. ст. (191—39 гПа) уже на 3-й минуте, сочетается с уменьшением поступления ^{45}Ca внутрь гладкомышечных клеток более, чем на 40 % (табл. 2).

В связи с этим стабилизация Ca^{2+} в перфузате дает амплитуда ритмических сокращений их оксигенации автоматии или угнетенных (избытком внеклеточного K^+). Причина этого, нужно п

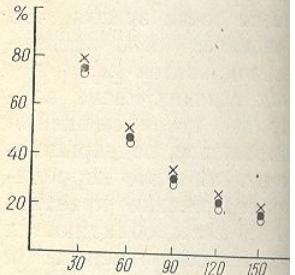


Рис. 4. Изменения амплитуды тонической концентрации K^+ до 60 мкмоль/л в фазе со 147 до 30 мм рт. ст. (до 191—39 гПа).

Темные кружочки — нормальный раствор Кребса; крестики — раствор Кребса с сокращением в %

Рис. 5. Влияние АТФ, креатинфосфорилазы на снижение оксигенации ГМ воротной вены. График А — изменения амплитуды тонических сокращений ГМ воротной вены при снижении концентрации K^+ (60 мкмоль/л) до (a) и после (b). По вертикали — амплитуда сокращения в %. График Б — изменения выраженности сокращений ГМ воротной вены (1 — до, 2 — после застрихованных сокращений) и после (защищенных сокращений) в % к максимальному при добавлении раствора со сниженным напряжением кислорода.

СГМ резко падает эффектом снижения содержанием Ca^{2+} из-за кальциевую проницаемости мембран клеток.

Основываясь на данных о влиянии АТФ, креатинфосфорилазы на тоническое сокращение ГМ воротной вены, было показано, что для тонического сокращения ГМ воротной вены, предварительно сокращенного избытком K^+ , характерно снижение амплитуды сокращения в % к максимальному при снижении концентрации K^+ (60 мкмоль/л) до (a) и после (b). По вертикали — амплитуда сокращения в %. График Б — изменения выраженности сокращений ГМ воротной вены (1 — до, 2 — после застрихованных сокращений) и после (защищенных сокращений) в % к максимальному при добавлении раствора со сниженным напряжением кислорода.

Таким образом, совокупность данных свидетельствует о том, что угнетение фазных сокращений ГМ воротной вены, предварительно сокращенного избытком K^+ , характерно для тонического сокращения ГМ воротной вены, предварительно сокращенного избытком K^+ .

В связи с этим становится ясным, почему увеличение концентрации Ca^{2+} в перфузате до 5 ммоль, при котором заметно увеличивается амплитуда ритмических фазных сокращений ГМ воротной вены, тем не менее практически не оказывается на выраженности эффекта снижения их оксигенации, т. е. не уменьшает степени угнетения миогенной автоматии или амплитуды релаксации предварительно сокращенных (избытком внеклеточного K^+) ГМ воротной вены (рис. 4). Причина этого, нужно полагать, в том, что при снижении оксигенации

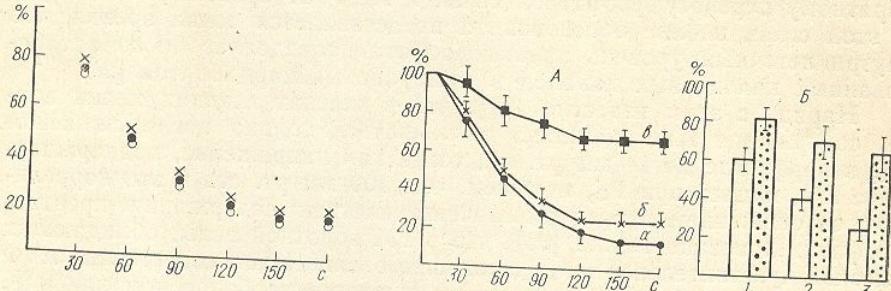


Рис. 4. Изменения амплитуды тонического сокращения, вызванного повышением внеклеточной концентрации K^+ до 60 ммоль/л, при снижении напряжения кислорода в перфузате со 147 до 30 мм рт. ст. (со 191 до 39 гПа).

Темные кружочки — нормальный раствор Кребса; светлые — гиперкальциевый (5 ммоль/л) раствор Кребса; крестики — раствор Кребса с добавлением $1,3 \cdot 10^{-4}$ моль/л АТФ. По вертикали — амплитуда сокращения в % к максимальному; по горизонтали — время в с.

Рис. 5. Влияние АТФ, креатинфосфата и Ca^{2+} , заключенных в липосомы, на релаксирующий эффект снижения оксигенации (P_{O_2} —30 мм рт. ст. или 39 гПа) ГМ воротной вены. *A* — изменения амплитуды тонического сокращения, вызванного повышением внеклеточной концентрации K^+ (60 ммоль/л) до (a) и после добавления в буферный раствор АТФ (б) и креатинфосфата (в). По вертикали — амплитуда сокращения в % к максимальному; по горизонтали — время в с. *B* — изменения выраженности сократительных реакций на электрическую стимуляцию до (светлые столбики) и после (заштрихованные столбики) добавления Ca^{2+} . По вертикали — амплитуда сокращений в % к максимальной при нормоксии; по горизонтали — длительность перфузии буферным раствором со сниженным напряжением кислорода: 1 — третья минута, 2 — шестая, 3 — девятая.

СГМ резко падает эффективность инкубации в растворе с повышенным содержанием Ca^{2+} из-за уменьшения в этих условиях кальциевой проницаемости мембран клеток СГМ.

Основываясь на данных об эффективном использовании липосом для трансмембранных переноса Ca^{2+} [5, 14], А. И. Соловьевым (совместно с А. В. Стефановым) была предпринята попытка скомпенсировать, заключенными в липосомы ионами Са, эффект снижения оксигенации СГМ. Оказалось, что инкубация препаратов воротной вены в буферном растворе, содержащем липосомы из стеариламина с включенным в них Ca^{2+} (суммарно 2 ммоль), хотя и не предотвращала подавления ритмических сокращений, вызываемого снижением оксигенации, но значительно (в среднем в 2 раза) уменьшала степень снижения уровня тонического напряжения, предварительно создаваемого повышением внеклеточной концентрации K^+ , и почти в полном объеме сохраняла амплитуду сократительной реакции ГМ на стимуляцию толчками постоянного тока (рис. 5, Б).

Таким образом, совокупность представленных данных убедительно свидетельствует в пользу того, что одним из механизмов, обусловливающих зависимость сократительной активности СГМ от уровня их оксигенации, служат изменения кальциевой проницаемости клеточных мембран. Тем не менее, интимные процессы, лежащие в основе измене-

Таблица 2. Динамика накопления ^{45}Ca в сосудистых гладких мышцах при снижении оксигенации перфузата (в распадах·мин $^{-1}$ ·мг $^{-1}$ сырой массы · 10 3)

	3 мин	5 мин	10 мин
P_{O_2} 147 мм рт. ст. (191 гПа)			
	$3,8 \pm 0,5$	$5,4 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,3$
P_{O_2} 30 мм рт. ст. (39 гПа)			
	$2,2 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,4$	$3,8 \pm 0,3$

ний проницаемости мембран клеток СГМ для Ca^{2+} в таких условиях, пока не ясны.

Есть данные [4], что для поддержания кальциевого канала мембранные в активированном (открытом) состоянии его функциональная группировка (белок) должна быть фосфорилирована вследствие цАМФ-зависимой протеинкиназной реакции. Установлено также, что в миокардиоцитах используемый с этой целью пул АТФ является, в основном, продуктом креатинфосфокиназных реакций, способствующих обратному переносу фосфатной связи к АДФ от креатинфосфата [6]. В этой связи вполне обоснованной представляется точка зрения, что внутриклеточный уровень креатинфосфата определяет число активированных кальциевых каналов в мембране миокардиоцитов [2].

Наряду с этим известно [51], что в клетках гладких мышц аорты содержание АТФ начинает уменьшаться только после снижения P_{O_2} в перфузате до 14 мм рт. ст., тогда как напряжение, поддерживающее ГМ, падает при P_{O_2} меньшем, чем 100 мм рт. ст., и это коррелирует со снижением в гладкомышечных клетках содержания креатинфосфата. Показано также [35], что в ГМ воротной вены, обладающих высокой чувствительностью к снижению оксигенации, содержание АТФ даже в условиях полной аноксии уменьшается не более чем на 30 %, но при этом содержание креатинфосфата падает почти в 4 раза. Согласно данным, полученным нами совместно с А. В. Стефановым, ни создание избытка АТФ ($1,3 \cdot 10^{-4}$ моль) в инкубационном растворе, ни добавление в него липосом с включенной в них в такой же дозе АТФ (с целью обеспечения ее трансмембранных транспорта) не оказали заметного влияния на сократительный эффект снижения оксигенации инкубационного раствора со 147 до 30 мм рт. ст. 191—39 гПа (рис. 5, A). В то же время добавление в инкубационный раствор 5—10 ммоль креатинфосфата (непосредственно или заключенного в липосомы) отчетливо предотвращает эффект снижения оксигенации: степень ослабления миогенной автоматии и выраженности релаксации ГМ воротной вены, предварительно сокращенных избыtkом внеклеточного K^+ , оказываются в этих условиях примерно вдвое менее существенными (рис. 5, A).

Приведенные факты склоняют к точке зрения, что в клетках СГМ, как и в миокардиоцитах, проницаемость плазматической мембраны для Ca^{2+} (т. е. количество в ней активированных кальциевых каналов) лимитируется внутриклеточным уровнем креатинфосфата. Это позволяет по аналогии с механизмом, функционирующим в миокардиоцитах, полагать, что уменьшение содержания креатинфосфата в клетках СГМ, обусловленное, в частности, снижением их оксигенации и сопутствующим ослаблением окислительного фосфорилирования, является фактором, тормозящим интенсивность креатинфосфокиназных реакций, необходимую для обеспечения резерва АТФ, энергия гидролиза которой расходуется на фосфорилирование функциональных группировок (белков) кальциевых каналов мембранны. В итоге число активированных кальциевых каналов при снижении оксигенации гладкомышечных клеток должно уменьшиться, что, согласно рассмотренным выше механизмам, лежащим в основе зависимости активации сократительных белков от концентрации Ca^{2+} в миоплазме, неизбежно приведет к падению сократительной способности СГМ.

Изменения проницаемости плазматических мембран для Ca^{2+} не являются единственным механизмом релаксации СГМ при снижении их оксигенации. Об этом свидетельствуют результаты исследований, недавно выполненных нами на химически сконсервированных ГМ воротной вены [1]. Оказалось, что снижение оксигенации приводит к существенному уменьшению (в среднем на 60 %) выраженности сократительных реакций сконсервированных СГМ, несмотря на неизменное содержание Ca^{2+} в миоплазме. Этот эффект не связан также с недостатком макроэргов, так как содержание АТФ в миоплазме поддерживалось на достаточно высоком уровне. Такого рода данные позволили предположить, что релаксирующее влияние снижения оксигенации СГМ может быть

обусловлено также и убелков к Ca^{2+} .

Обнаруженный нам цАМФ (в среднем вдвое) связывает уменьшения гладкомышечных клеток мембранные фосфорилирование.

Таким образом, ре. СГМ может быть обусловлено Ca^{2+} , но и влиянием на Ca^{2+} .

1. Берштейн С. А., Соловьев А. И. Окисгенации сконсервированных миокардиоцитов. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
2. Гендивилене В. И., Нарушение сократительных свойств гладкомышечных клеток. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
3. Гурковская А. В. Влияние гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
4. Костюк П. Г., Дорошенко А. И. Влияние гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
5. Марголис Л. Б., Нейфау А. И. Физиология гладкомышечных клеток. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
6. Розенштрух Л. В., Саксыкис А. И. Влияние гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
7. Соловьев А. И. О механизмах действия гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
8. Стефанов А. В., Соловьев А. И. Влияние гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
9. Шляжене А. С., Станкевич А. И. Влияние гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
10. Шуба М. Ф. Пути и механизмы регуляции окисгенации гладкомышечных клеток. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
11. Шуба М. Ф. Механизмы регуляции окисгенации гладкомышечных клеток. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
12. Шуба М. Ф., Тараненко В. А. Влияние гладкомышечных клеток на окисгенацию миокарда. — В кн.: Кальций и миокард. М., 1984.
13. Adelstein R. S., Eisenberg D. M. Calcium-activated protein kinase reaction. — Ann. Rev. Biochem. 1979, 48, p. 721—752.
14. Baily G., Sperelakis N. Effect of calcium on electrical activity of heart muscle. — J. Physiol. 1979, 295, p. 675—688.
15. Bolton T. B. Mechanisms of action of adrenalin on heart muscle. — Physiol. Rev. 1979, 59, p. 103—132.
16. Caroni P., Reinlib L., Caroli J. Calcium-activated protein kinase in heart sarcolemma. — J. Physiol. 1979, 295, p. 689—704.
17. Casteels R., van Breemen C. Calcium-activated protein kinase in guinea-pig taenia coli. — Pflügers Arch. 1979, 373, p. 395—402.
18. Casteels R., Reamaekers L. Calcium-activated protein kinase in smooth muscle. — J. Physiol. 1979, 295, p. 705—718.
19. Conti M. A., Adelstein R. S. Calcium-activated protein kinase. — Ann. Rev. Biochem. 1979, 48, p. 721—752.
20. Dillon P. F., Aksoy M. O., Karpowicz S. Calcium-activated protein kinase in arterial smooth muscle. — J. Physiol. 1979, 295, p. 719—732.
21. Ebashi S., Kodama A. A new protein kinase in heart muscle. — J. Biochem. 1965, 58, p. 101—108.
22. Ebashi S., Toyo-oka T., Nakamura T. Calcium-activated protein kinase in heart muscle. — J. Biochem. 1965, 58, p. 109—116.
23. Ebraig A. B. Influence of calcium on contraction of the aorta. — Experientia 1982, 38, p. 101—104.

обусловлено также и уменьшением чувствительности сократительных белков к Ca^{2+} .

Обнаруженный нами впоследствии отчетливый рост содержания цАМФ (в среднем вдвое) в СГМ при снижении их оксигенации позволяет связать уменьшение чувствительности сократительных белков гладкомышечных клеток с возможным в этих условиях цАМФ-зависимым фосфорилированием киназы легкой цепи миозина.

Таким образом, релаксирующий эффект снижения оксигенации СГМ может быть обусловлен не только изменениями транслокации Ca^{2+} , но и влиянием на чувствительность сократительных белков СГМ к Ca^{2+} .

Список литературы

1. Берштейн С. А., Соловьев А. И., Базилок О. В. Релаксирующий эффект снижения оксигенации склерированных сосудистых гладких мышц, не связанный с изменениями концентрации Ca^{2+} в миоплазме.—Физiol. журн., 1983, 29, № 6, с. 744—746.
2. Гендивене В. И., Нарушевич Э. В. Влияние креатинфосфата на длительность потенциалов действия и силу сокращений миокарда лягушки при гипоксии.—Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1982, 92, № 3, с. 3—5.
3. Гурковская А. В. Влияние тетраэтиламмония на электрофизиологические свойства гладкомышечных клеток легочной артерии.—Там же, 1977, 87, № 2, с. 134—136.
4. Костюк П. Г., Дорошенко П. А., Мартынюк А. Е. Исследование метаболической зависимости активности кальциевых каналов соматической мембранны нервной клетки.—Биол. мембранны, 1984, 1, № 1, с. 18—26.
5. Марголис Л. Б., Нейфах А. Л. Взаимодействие липосом с клетками. Липосомы с жидкокристаллической мембраной.—Успехи соврем. биологии, 1982, 93, вып. 2, с. 214—229.
6. Розенштраух Л. В., Сакс В. А., Ундрювиас А. И. и др. Роль креатинфосфокиназных реакций в регуляции силы сокращения миокарда желудочка сердца лягушки.—Физiol. журн. СССР, 1977, 63, № 5, с. 681—688.
7. Соловьев А. И. О механизмах стимуляции сократительной активности сосудистых гладких мышц при их гипероксигенации.—Физiol. журн., 1984, 30, № 4, с. 444—449.
8. Стефанов А. В., Соловьев А. И. Влияние липосом на электрическую и сократительную активность сосудистых гладких мышц.—Докл. АН СССР, 1983, 273, № 1, с. 227—230.
9. Шляжене А. С., Станкевич А. П. Амиды дикарбоновых кислот как ионофоры кальция.—В кн.: Кальций в сердечно-сосудистой системе. Каунас, 1982, с. 112—119.
10. Шуба М. Ф. Пути и механизмы трансмембранных входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения.—Физiol. журн., 1981, 27, № 4, с. 533—541.
11. Шуба М. Ф. Механизмы сопряжения возбуждения—сокращения в сосудистых гладких мышцах.—В кн.: Кальций в сердечно-сосудистой системе. Каунас, 1982, с. 24—60.
12. Шуба М. Ф., Тараненко В. М. Механизм возбуждающего действия норадреналина и адреналина на гладкомышечные клетки порталой вены.—Нейрофизиология, 1970, 2, № 6, с. 643—653.
13. Adelstein R. S., Eisenberg E. Regulation and kinetics of the actin-myosin-ATP interaction.—Ann. Rev. Biochem., 1980, 49, N 3, p. 921—956.
14. Bkaily G., Sperelakis N., Elishalom J., Barenholz Y. Effect of Na^+ - or Ca^{2+} -filled liposomes on electrical activity of cultured heart cells.—Amer. J. Physiol., 1983, 245, N 5, p. H756—H762.
15. Bolton T. B. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle.—Physiol. Rev., 1979, 59, N 6, 606—718.
16. Caroni P., Reinlib L., Carofoli E. Change movements during the $\text{Na}^+ \cdot \text{Ca}^{2+}$ exchange in heart sarcolemmal vesicles.—Proc. Natl. Acad. Sci., 1980, 77, N 4, p. 6354—6358.
17. Casteels R., van Bremen C. Active and passive fluxes across cell membranes of the guinea-pig taenia coli.—Pflügers Arch., 1975, 359, N 2, p. 197—207.
18. Casteels R., Reamaeers L., Suzuki H. Calcium-independent contraction of vascular smooth muscle.—J. Physiol., 1981, 313, N 4, 33P—34P.
19. Conti M. A., Adelstein R. S. Phosphorylation by cyclic adenosine 3':5' monophosphate-dependent protein kinase regulates myosin light chain kinase.—Federat. Proc., 1980, 39, N 7, p. 1569—1573.
20. Dillon P. F., Aksay M. O., Driska S. P. et al. Myosin phosphorylation and the cross-bridge cycle in arterial smooth muscle. Multiple control systems.—Science, 1981, 211, N 2, p. 495—497.
21. Ebashi S., Kodama A. A new protein factor promoting aggregation of tropomyosin.—J. Biochem., 1965, 58, N 1, p. 107—198.
22. Ebashi S., Toyo-oka T., Nonomura Y. Gizzard troponin.—Ibid., 1975, 78, N 5, p. 859—861.
23. Ebēigbe A. B. Influence of hypoxia on contractility and calcium uptake in rabbit aorta.—Experientia, 1982, 38, N 8, p. 935—937.

24. Ebeigbe A. B., Jennet S., Pickard J. D. Effect of hypoxia on calcium uptake by stimulated and unstimulated vascular smooth muscle.—J. Physiol., 1980, 300, N 3, 18P—19P.
25. Ericsson E., Lundholm L. Adrenergic β -receptor activity and cyclic AMP metabolism in vascular smooth muscle: variations with age.—Mech. Ageing. Dev., 1975, 4, N 1, p. 1—6.
26. Filo R. S., Bohr D. E., Rüegg J. C. Glycerinated skeletal and smooth muscle: calcium and magnesium dependence.—Science, 1965, 147, N 8, p. 1581—1583.
27. Fitzpatrick D. F., Szentivanyi A. Stimulation of calcium uptake into aortic microsomes by cyclic AMP-dependent protein kinase.—Arch. Pharmacol., 1977, 298, N 2, p. 255—257.
28. Gabella G. Cellular structures and electrophysiological behavior. Fine structure of smooth muscle.—Philos. Trans. Roy. Soc., London, 1973, 265, N 1, p. 7—16.
29. Godfraind T. Calcium influx and receptor-response coupling.—In: New perspect. on calcium antagonists. Baltimore: Williams—Wilkins, 1981, p. 59—81.
30. Godfraind T., Kaba A. The role of calcium in the action of drugs on vascular smooth muscle.—Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 1972, 196, Suppl., p. 35—49.
31. Golenhofen K. Theory of P- and T-systems for calcium activation in smooth muscle.—In: Physiology of smooth muscle. New York: Raven, 1976, p. 91—97.
32. Golenhofen K., Hermstein N., Lammeli E. Membrane potential and contraction of vascular smooth muscle (portal vein) during application of noradrenaline and high potassium, and selective inhibitory effects of proveratril (verapamil).—Microvasc. Res., 1973, 5, N 1, p. 73—80.
33. Hartshorne D. J., Gorecka A. Biochemistry of the contractile proteins of smooth muscle.—In: The cardiovascular system. Bethesda, 1980, p. 93—120. (Handbook of physiology / Amer. Physiol. Soc.; Vol. 11).
34. Heilbrun L. V. The action of calcium on muscle protoplasm.—Physiol. Zool., 1940, 13, N 1, p. 88—94.
35. Hellstrand P., Johansson B., Norberg K. Mechanical, electrical and biochemical effects of hypoxia and substrate removal on spontaneously active vascular smooth muscle.—Acta physiol. scand., 1977, 100, N 1, p. 69—83.
36. Hirata M., Itoh T., Kuriyama H. Effects of external cations on calcium efflux from single cells of the guinea-pig taenia coli and porcine coronary artery.—J. Physiol., 1981, 310, N 2, p. 321—336.
37. Hoar P. E., Kerrick W. G. L., Casside P. S. Chicken gizzard: Relation between calcium-activated phosphorylation and contraction.—Science, 1979, 204, N 3, p. 503—506.
38. Johansson B., Somlyo A. P. Electrophysiology and excitation contraction coupling.—In: The cardiovascular system. Bethesda, 1980, p. 301—323. (Handbook of physiology / Amer. Physiol. Soc.; Vol. 11).
39. Jones A. W. Content and fluxes of electrolytes.—In: The cardiovascular system. Bethesda, 1980, p. 253—299. (Handbook of physiology / Amer. Physiol. Soc.; Vol. 11).
40. Karaki H., Weiss G. B. Effects of stimulatory agents on mobilization of high and low affinity site ^{45}Ca in rabbit aortic smooth muscle.—J. Pharmacol. Exp. Ther., 1980, 213, N 3, p. 450—455.
41. Keatinge W. R., Warren P. J. Calcium dependence of potassium efflux reduced by noradrenaline in sheep carotid arteries.—J. Physiol., 1979, 287, N 4, 30P—31P.
42. Kendrick-Jones J., Lehman W., Szent-Gyorgyi A. G. Regulation in molluscan muscles.—J. Mol. Biol., 1970, 54, N 2, p. 313—326.
43. Kuriyama H., Ito Y., Suzuki H. Effect of membrane potential on activation of contraction in various smooth muscles.—In: In: Excitation-contraction coupling in smooth muscle. Amsterdam: Elsevier : North Holland, 1977, p. 25—35.
44. Kuriyama H., Ito Y., Suzuki H. et al. Factors modifying contraction relaxation cycle in vascular smooth muscles.—Amer. J. Physiol., 1982, 243, N 4, p. H641—H662.
45. Langan T. A. Protein kinases and protein kinase substrates.—Adv. Cycl. Nucl. Res., 1973, 3, N 1, p. 99—153.
46. (Lehniger A. L. 1972) Ленинджер А. Биохимия.—М.: Мир, 1976.—957 с.
47. Mangel A. W., Nelson D. O., Rabovsky J. L. et al. Depolarisation-induced contractile activity of smooth muscle in calcium-free solution.—Amer. J. Physiol., 1982, 242, N 1, C36—C40.
48. Meisheri K. D., Palmer R. F., Van Breemen C. The effects of amrinone on contractility Ca^{2+} uptake, and cAMP in smooth muscle.—Eur. J. Pharmacol., 1980, 61, N 1, p. 159—165.
49. Mikawa T., Toyo-oka T., Nonomura Y. et al. Essential factor of gizzard «troponin» fraction.—J. Biochem., 1977, 81, N 2, p. 273—275.
50. Movsesian M. A. Calcium physiology in smooth muscle.—Progr. Cardiovasc. Dis., 1982, 25, N 3, p. 211—224.
51. Namm D. H., Zucker I. L. Biochemical alterations caused by hypoxia in the isolated rabbit aorta.—Circulat. Res., 1973, 32, N 4, p. 464—470.
52. Nayler W. G. The heterogeneity of the slow channel blockers (calcium antagonists).—Eur. J. Cardiol., 1983, 3, N 4, c. 391—400.
53. Nonomura Y., Ebashi S. Calcium regulatory mechanism in vertebrate smooth muscle.—Biochem. Res., 1980, 1, N 1, p. 1—14.
54. Pato M. D., Adelstein R. S. Dephosphorylation of the 20000—dalton light chain of myosin by two different phosphates from smooth muscle.—J. Biol. Chem., 1980, 255, N 6, p. 6535—6538.
55. Popescu I. M. Cytochemical muscle.—In: Excitation-conversation: North Holland, 1977, 1.
56. Pressman B. C. Properties Proc., 1973, 32, N 6, p. 1698—
57. Raeymakers L., Hasselbach formation and phosphate tu J. Biochem., 1981, 116, N 2, p.
58. Rubianyi B., Kovach A. G. rabbit uterus.—Acta physiol.
59. Scheid C. R., Honeyman T. smooth muscle.—Nature, 197
60. Seidel C. L., Schnarr R. L. adrenergic receptor stimulat
61. Shurch J., Zsoter T. T. C. J. Physiol. Pharmacol., 1980,
62. Somlyo A. P., Somlyo A. strukture and function.—In vol. 3, p. 165—183.
63. Somlyo A. P., Somlyo A. V. biochemistry and biophysics
64. Somlyo A. V., Woo C. Y. hormone action on vascula p. 705—714.
65. Szent-Gyorgyi A. V. Calcium 15, N 5, p. 707—723.
66. Tomita T. Electrophysiolog. Mol. Biol., 1975, 30, N 1, p. 1
67. Towart R. The selective infaral vascular smooth musc Res., 1981, 48, N 5, p. 650—65
68. Van Breemen C. Transmem p. 333—334.
69. Van Breemen C. Calcium r le.—J. Physiol., 1977, 272, N
70. Van Breemen C., Farinas I rabbit aorta studied by the flux.—Circulat. Res., 1972, 3
71. Van Breemen C., Siegel B. nary artery.—Ibid., 1980, 46,
72. Walsh J. V., Singer J. J. Ca^{2+} -activation of K^+ -condi siol., 1980, 239, N 1, p. C182—
73. Webb R. C., Bohr D. Regu Cardiovasc. Dis., 1981, 24, N

Ин-т физиологии им. А. А. Богданова УССР, Киев

55. Popescu I. M. Cytochemical study of the intracellular calcium distribution in smooth muscle.— In: Excitation-contraction coupling in smooth muscle. Amsterdam: Elsevier : North Holland, 1977, p. 13—23.
56. Pressman B. C. Properties of ionophores with broad range cation selectivity.— Fed. Proc., 1973, 32, N 6, p. 1698—1703.
57. Raeymackers L., Hasselbach W. Ca^{2+} -uptake, Ca^{2+} -ATP-ase activity, phospho-protein formation and phosphate turnover in a microsomal fraction of smooth muscle.— Eur. J. Biochem., 1981, 116, N 2, p. 373—378.
58. Rubianyi B., Kovach A. G. The nature of transmembrane calcium exchange in the rabbit uterus.— Acta physiol. Acad. sci. hung., 1980, 56, N 2, p. 393—400.
59. Scheid C. R., Honeyman T. W., Fay F. S. Mechanism of β -adrenergic relaxation of smooth muscle.— Nature, 1979, 277, N 1, p. 32—36.
60. Seidel C. L., Schnarr R. L., Sparks H. V. Coronary artery cyclic AMP content during adrenergic receptor stimulation.— Amer. J. Physiol., 1975, 229, N 2, p. 265—269.
61. Shurch J., Zsoter T. T. Calcium antagonistic drugs. Mechanism of action.— Can. J. Physiol. Pharmacol., 1980, 58, N 2, p. 254—265.
62. Somlyo A. P., Somlyo A. V., Ashton F. T. et al. Vertebrate smooth muscle: Ultrastructure and function.— In: Cell motility. New York: Cold Spring Harbor, 1976, vol. 3, p. 165—183.
63. Somlyo A. P., Somlyo A. V. Vascular smooth muscle. I. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics.— Pharmacol. Rev., 1968, 20, N 1, p. 197—272.
64. Somlyo A. V., Woo C. Y., Somlyo A. P. Effect of magnesium on posterior pituitary hormone action on vascular smooth muscle.— Amer. J. Physiol., 1966, 210, N 5, p. 705—714.
65. Szent-Gyorgyi A. V. Calcium regulation of muscle contraction.— Biophysics, 1975, 15, N 5, p. 707—723.
66. Tomita T. Electrophysiology of mammalian smooth muscle.— Progr. Biophys. and Mol. Biol., 1975, 30, N 1, p. 185—203.
67. Towart R. The selective inhibition of serotonin-induced contractions of rabbit cerebral vascular smooth muscle by calcium-antagonistic dihydropyridines.— Circulat. Res., 1981, 48, N 5, p. 650—657.
68. Van Breemen C. Transmembrane calcium transport.— Blood vessels, 1975, 12, N 2, p. 333—334.
69. Van Breemen C. Calcium requirement for activation of intact aortic smooth muscle.— J. Physiol., 1977, 272, N 2, p. 317—329.
70. Van Breemen C., Farinas B. R., Gerba D. et al. Excitation-contraction coupling in rabbit aorta studied by the lanthanum method for measuring cellular calcium influx.— Circulat. Res., 1972, 30, N 1, p. 44—45.
71. Van Breemen C., Siegel B. The mechanism of α -adrenergic activation of dog coronary artery.— Ibid, 1980, 46, N 2, p. 426—429.
72. Walsh J. V., Singer J. J. Penetration-induced hyperpolarization as evidence for Ca^{2+} -activation of K^+ -conductance in isolated smooth muscle cells.— Amer. J. Physiol., 1980, 239, N 1, p. C182—C189.
73. Webb R. C., Bohr D. Regulation of vascular tone, molecular mechanisms.— Progr. Cardiovasc. Dis., 1981, 24, N 3, p. 213—242.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 28.12.84