

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ ИЗОФОРМ Са-АТФАЗЫ САРКОЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА (SERCA) В ВОЛОКНАХ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ И МОНГОЛЬСКОЙ ПЕСЧАНКИ В ХОДЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ

© Э. Г. Алтаева, И. В. Огнева, Б. С. Шенкман

*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва;
электронный адрес: iogneva@yandex.ru*

Показано, что у монгольской песчанки концентрация ионов кальция в волокнах камбаловидной мышцы возрастает в 1-е сут гравитационной разгрузки в 4.5 раза по сравнению с контролем, у крысы — в 2.8 раза, сохраняясь в течение 3 сут, а через 12 сут снижается, но остается выше уровня контроля. При этом базальный уровень кальция в контроле у песчанки ниже, чем у крысы, и как следствие его изменение в 1-е сут разгрузки больше. Возможно, именно этот факт приводит к тому, что изменения изоформного состава мышечного волокна у песчанки проявляются раньше: достоверный сдвиг соотношения волокон, содержащих быстрые и медленные изоформы кальциевой помпы в быструю сторону, отмечается уже в 1-е сут, а волокон, экспрессирующих соответствующие изоформы тяжелых цепей миозина (МНС), — через 3 сут функциональной разгрузки. При этом у крыс аналогичные изменения отмечаются лишь на 7-е сут. Через 12 сут у обоих видов имеет место тенденция к возвращению к уровню контроля, более выраженная у песчанки.

Ключевые слова: мышечное волокно, гравитационная разгрузка, базальный уровень кальция, SERCA.

Известно, что основной постуральной мышцей является камбаловидная мышца, вклад которой поддержание позы млекопитающих является доминирующим. И как следствие этого именно в камбаловидной мышце происходят наиболее выраженные атрофические изменения в условиях снижения гравитационной нагрузки (Oganov, Potarov, 1976).

Реализация атрофической программы осуществляется на клеточном уровне — на уровне мышечных волокон. Причем ее запуск осуществляется, согласно современным представлениям, путем последовательной активации протеолитических систем, в первую очередь системы кальцийзависимых протеаз — кальпаинов (Kandarian, Stevenson, 2002), активность которых возрастает уже в течение 1-х сут гравитационной разгрузки (Enns et al., 2007). Нами показано, что увеличение базальной концентрации ионов кальция непосредственно приводит к активации цитоплазматической фракции кальпаинов (Shenkman et al., 2009). Известно, что в условиях гравитационной разгрузки имеет место увеличение базального уровня содержания ионов кальция в миоплазме мышечных волокон в отсутствие сократительной активности. Недавно нами показано, что в камбаловидной мышце крыс это накопление происходит уже в течение 1-х сут (Ogneva et al., 2009), ранее были опубликованы данные о накоплении ионов кальция в постуральных мышцах мышей через 2 сут (Ignalls et al., 1999, 2001) и через 3 сут у крыс (Пономарева и др., 2008). Однако динамика такого накопления до сих пор остается малоизученной.

В то же время остается неясным и механизм поступления ионов кальция в волокно при гравитационной разгрузке. Его источником могут служить структуры саркоплазматического ретикулума, о чем свидетельствуют данные о возможности утечки кальция из этих структур и об увеличении экспрессии рианодиновых рецепторов ретикулума при гравитационной разгрузке (Yoshioka et al., 1996; Bastide et al., 2000). Избыточный кальций может проникать в миоплазму из внеклеточного пространства через потенциалзависимые кальциевые каналы, вероятность открывания которых возрастает в условиях стационарной подпороговой деполяризации мембраны. Последнее подтверждается тем, что применение нифедипина, селективного блокатора кальциевых каналов L-типа, препятствует повышению концентрации Ca^{2+} внутри волокон *m. soleus* через 3 и 14 сут вывешивания (Мухина и др., 2006; Кривой и др., 2008).

С другой стороны, основную роль в снижении уровня кальция, в том числе и в условиях сократительной активности, играет кальциевая АТФаза саркоэноплазматического ретикулума — SERCA. Две изоформы этого фермента экспрессируются в мышечной ткани, в медленных мышцах — SERCA IIa, в быстрых — SERCA I. Известно, что в ходе гравитационной разгрузки имеет место сдвиг миозинового фенотипа в «быструю» сторону, т. е. уменьшается доля волокон, экспрессирующих «медленную» изоформу тяжелых цепей миозина (МНС), и увеличивается доля волокон, экспрессирующих «быструю» изоформу тяжелых цепей миозина (МНСII) после примерно 1 нед

пребывания в условиях микрогравитации (Booth, Kelso, 1973; Desplanches et al., 1990; Caiozzo et al., 1996). Примерно в эти же сроки происходит и изменение изоморфного состава SERCA (Peters et al., 1999; Shenkman et al., 2005). Однако неясно, происходят эти события согласованно или же изменения какого-либо из этих параметров проявляются раньше. Ответы на эти вопросы могли бы помочь пониманию фундаментальных механизмов формирования адаптационного ответа при длительном нахождении в микрогравитации.

С возобновлением полетов российских биоспутников появился новый объект гравитационной физиологии — монгольская песчанка *Meriones unguiculatus*. Проведенные после 12-суточного космического полета исследования показали, что сдвиг миозинового фенотипа у этих животных не столь значительный по сравнению с крысами в полетах и при моделировании гравитационной разгрузки аналогичной длительности (Липец и др., 2009). Это может быть обусловлено либо некоторой временной задержкой процесса, либо, наоборот, более ранней компенсацией и последующим формированием адаптационного ответа.

Полученные по результатам космического эксперимента данные свидетельствуют о несколько иной динамике реакции на условия микрогравитации у песчанки по сравнению с крысой. Учитывая вышеприведенные данные (Ingalls et al., 1999, 2001; Пономарева и др., 2008; Ogneva et al., 2009) о том, что накопление ионов кальция является одним из самых ранних проявлений гипогравитационного синдрома, необходимо исследовать динамику этого накопления у песчанки, с тем чтобы выявить возможную роль особенностей водно-солевого обмена в развитии негативных последствий пребывания в невесомости. Весьма небольшое количество работ посвящено исследованию кальциевой АТФазы саркоплазматического ретикулума в условиях снижения силы тяжести как фундаментального воздействия на клетку. Вместе с тем именно регуляция изоформ этого фермента приводит к изменению базальной концентрации кальция и как следствие — к изменению активности кальпаинов и модулирует кальцийзависимые сигнальные процессы в клетке.

Таким образом, целью нашего исследования являлось определение динамики накопления ионов кальция и изменения изоформ Са-АТФазы (SERCA) в волокнах камбаловидной мышцы крысы и монгольской песчанки в ходе моделирования гравитационной разгрузки различной длительности.

Материал и методика

Использовали 40 половозрелых самцов крыс породы Wistar (180—220 г), которые были разделены на 5 групп: контроль, группа 1-суточного вывешивания (1-HS), группа 3-суточного вывешивания (3-HS), группа 7-суточного вывешивания (7-HS) и группа 12-суточного вывешивания (12-HS). Аналогичным образом были разделены и 40 половозрелых (возраста 2 мес) самцов монгольской песчанки *Meriones unguiculatus* (40—50 г). Контрольную группу животных содержали в стандартных виварных условиях, давая воду ad libitum. Антиортостатическое вывешивание задних конечностей с целью моделирования гравитационной разгрузки проводили по стандартной методике Ильина—Новикова в модификации (Morey-Holton et al., 2005).

Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем РАН.

Определение изменения концентрации кальция в одиночных мышечных волокнах. Выделенную камбаловидную мышцу помещали в раствор Рингера (126 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 2 мМ CaCl₂, 1 мМ MgCl₂, 12 мМ NaHCO₃, 1 мМ NaH₂PO₄, 11 мМ глюкозы, pH 7.4, 2.5 мМ АТФ) в течение 30 мин отмывали от крови. Затем в течение 40 мин инкубировали при 37 °С в скинирующем растворе (2.5 мМ АТФ, 20 мМ морфолинопропансульфоново́й кислоты, 2.5 мМ ацетата магния, 170 мМ пропионата калия, 5 мМ K₂-EGTA), смешанном в соотношении 1 : 1 с 4%-ным раствором формалина. Затем мышцу промывали раствором Рингера и выделяли изолированные мышечные волокна, которые помещали на предметные стекла и инкубировали в растворе флуоресцентного кальцийсвязывающего зонда Fluo-4AM, рабочая концентрация которого составляла 5 мкМ (Molecular Probes, США), способного проникать через клеточную мембрану. Часть волокон, помещенных на другое стекло, инкубировали в фосфатном буфере, pH 7.0 (негативный контроль). После этого анализировали интенсивность флуоресценции одиночных скинированных волокон с помощью флуоресцентного микроскопа (Leica, Германия), оснащенного цифровой фотокамерой DC 300F (Leica, Германия). Анализ изображений проводили с помощью компьютерной системы Quantimet-500 (Leica, Германия). Уровень кальция в волокне оценивали по интенсивности флуоресценции и выражали в условных единицах (усл. ед.). Следует отметить, что подобная методика выделения мышцы (от сухожилия до сухожилия) и ее фиксации позволяет предотвратить как проникновение внеклеточного кальция внутрь волокон, так и его вытекание из мышечных клеток в ходе их выделения, что дает возможность оценивать нативное относительное содержание ионов кальция в мышечных волокнах.

Иммуногистохимический анализ мышечных срезов, окрашенных моноклональными антителами против SERCA I и SERCA II и против МНС I и МНС II. Поперечные криостатные срезы мышечной ткани толщиной 10 мкм высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем срезы помещали в PBS (pH 7.2) на 10 мин при комнатной температуре. Поперечные моноклональные антитела против SERCA II (Sigma, США) разводили в PBS в соотношении 1 : 200, SERCA II (Novocastra Lab, США) разводили в PBS в соотношении 1 : 100. Инкубацию с первичными антителами проводили во влажной камере при 37 °С в течение 1 ч. Для окрашивания против миозинов в качестве первичных тел раскапывали моноклональные антитела против МНС I и МНС II (Novocastra Lab, США), которые одинаково разводили в PBS в соотношении 1 : 40. Инкубацию проводили также во влажной камере при 37 °С в течение 1 ч. После этого препараты промывали в PBS 3 раза по 5 мин. Далее на препараты раскапывали вторичные FITC-конъюгированные антитела (Sigma, США), которые разводили в PBS в соотношении 1 : 100. Инкубацию с вторичными антителами проводили также во влажной камере при комнатной температуре в темном месте в течение 1 ч. Вновь промывали препараты в PBS 3 раза по 5 мин и заключали в среду Mounting Medium (Sigma, США) под покровное стекло. Препараты фотографировали при 20-кратном увеличении объектива, в зеленой части спектра (длина волны 540 нм) флуоресцентным микро-

Таблица 1

**Динамика накопления ионов кальция и изменения изоформ SERCA и тяжелых МНС
в волокнах камбаловидной мышцы монгольской песчанки
в ходе моделирования гравитационной разгрузки различной длительности**

Параметр	Группа				
	контроль	1-НС	3-НС	7-НС	12-НС
Содержание ионов Ca ²⁺ , усл. ед.	1.09 ± 0.28	4.9 ± 0.6 ^a	4.2 ± 0.9 ^a	1.8 ± 0.2 ^б	2.14 ± 0.27 ^б
Доля волокон, экспрессирующих SERCA IIa (медленную изоформу), %	67 ± 1	59 ± 2 ^a	51 ± 2 ^a	53 ± 3 ^a	65 ± 2
Доля волокон, экспрессирующих SERCA I (быструю изоформу), %	20 ± 2	30 ± 1 ^a	37 ± 3 ^a	35 ± 2 ^a	27 ± 1 ^б
Доля гибридных волокон экспрессирующих SERCA IIa и I, %	13 ± 2	11 ± 1	13 ± 2	14 ± 2	8 ± 1 ^б
Доля волокон, экспрессирующих МНС I (медленную изоформу), %	67 ± 4	68 ± 2	55 ± 3 ^a	64 ± 2	68 ± 2
Доля волокон, экспрессирующих МНС II (быструю изоформу), %	22 ± 2	23 ± 3	36 ± 2 ^a	32 ± 2 ^б	31 ± 2 ^б
Доля гибридных волокон, экспрессирующих МНС I и II, %	12 ± 3	10 ± 2	9 ± 2	4 ± 1 ^a	2 ± 1

^a P < 0.01, ^б P < 0.05.

скопом фирмы Leica (Германия), снабженного цифровой видеокамерой Leica DC 300F. Подсчет числа волокон, экспрессирующих ту или иную изоформу МНС, проводили по фотографиям с помощью программного обеспечения Leica. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Origin 6.0.

Результаты

Крыса. Результаты проведенного исследования показывают, что изменение базальной концентрации ионов кальция в волокнах камбаловидной мышцы крысы (табл. 1) происходит уже в 1-е сут: его относительное содержание увеличивается в 2.8 раза по сравнению с контролем. Через 3 сут гравитационной разгрузки уровень каль-

Таблица 2

**Динамика накопления ионов кальция и изменения изоформ SERCA
и тяжелых цепей миозинов (МНС) в волокнах камбаловидной мышцы крысы
в ходе моделирования гравитационной разгрузки различной длительности**

Параметр	Группа				
	контроль	1-НС	3-НС	7-НС	12-НС
Содержание ионов Ca ²⁺ , усл. ед.	1.8 ± 0.3	5.0 ± 0.7 ^a	4.7 ± 0.9 ^a	3.3 ± 0.6 ^б	2.8 ± 0.5 ^б
Доля волокон, экспрессирующих SERCA IIa (медленную изоформу), %	69.4 ± 1.8	69.5 ± 1.3	67.4 ± 2.8	58.8 ± 1.6 ^a	65.0 ± 1.3 ^б
Доля волокон, экспрессирующих SERCA I (быструю изоформу), %	21.3 ± 1.6	23 ± 3	16.7 ± 1.5	30 ± 3 ^a	25.8 ± 1.5 ^a
Доля гибридных волокон экспрессирующих SERCA IIa и I, %	10.7 ± 2.0	8.8 ± 1.3	16.3 ± 2.4	14.9 ± 2.8	22 ± 3 ^a
Доля волокон, экспрессирующих МНС I (медленную изоформу), %	74.3 ± 2.4	70.0 ± 2.5	71.6 ± 1.1	65.8 ± 2.6 ^a	61.6 ± 2.8 ^a
Доля волокон, экспрессирующих МНС II (быструю изоформу), %	21.1 ± 2.0	25.1 ± 2.5	16.9 ± 1.8	29 ± 4 ^a	30 ± 3 ^a
Доля гибридных волокон, экспрессирующих МНС I и II, %	5.4 ± 0.9	5.8 ± 1.2	8.3 ± 2.6	3.7 ± 1.2	8.0 ± 2.1

^a P < 0.01, ^б P < 0.05, в P < 0.1 по сравнению с контролем.

ция остается столь же высоким, как и в 1-е. Через 7 сут концентрация ионов кальция снижается на 34 % по сравнению со значением в 1-е сут, а через 12 — на 44 %, оставаясь, тем не менее, в 1.6 раза выше, нежели в контроле.

В то же время изменение изоформного состава МНС и кальциевой помпы становится достоверным лишь через 7 сут гравитационной разгрузки. Так, имеет место сдвиг миозинового фенотипа в быструю сторону: содержание «медленной» изоформы МНС I уменьшается на 8.5 %, а «быстрой» — увеличивается, при этом число гибридных волокон, экспрессирующих обе изоформы, МНС, не меняется.

Аналогично изменениям миозинового фенотипа происходят и изменения процентного соотношения волокон, экспрессирующих «быструю» и «медленную» изоформы кальциевой помпы саркоэноплазматического ретикула. Однако в этом случае имеет место тенденция к возвращению к уровню контроля через 12 сут разгрузки за счет увеличения доли гибридных волокон.

Монгольская песчанка. Результаты приведены в табл. 2. Динамика изменения базальной концентрации ионов кальция в волокнах камбаловидной мышцы песчанки в условиях гравитационной разгрузки схожа с таковой у крыс. Однако в 1-е сут происходит более значительное увеличение содержания ионов кальция — в 4.5 раза по сравнению с виварным контролем. При этом через 12 сут оно снижается и превышает контрольное значение менее чем в 2 раза, аналогично таковому показателю у крысы.

Несмотря на то что динамика изменения концентрации кальция в целом схожа у крысы и монгольской песчанки, изменения изоформного состава как МНС, так и кальциевой помпы происходят по-разному. Так, у песчанки в 1-е сут доля волокон, экспрессирующих медленную изоформу SERCA II, падает на 8 % по сравнению с контролем ($P < 0.01$), а через 3 сут разгрузки — на 16 %. Аналогично растет доля волокон, содержащих SERCA I. Через 12 сут разгрузки соотношение волокон возвращается к уровню контроля, хотя содержание волокон, экспрессирующих SERCA I, остается несколько выше, но в основном за счет уменьшения числа гибридных волокон.

При этом если у крысы изменения изоформного состава кальциевой помпы и МНС происходят синхронно, то у песчанки значимый сдвиг миозинового фенотипа отмечается через 3 сут гравитационной разгрузки. Причем доля волокон, экспрессирующих медленную изоформу МНС, снижается на короткое время: через 3 сут оно меньше контрольного значения на 12 %, однако уже через 7 сут не отличается. При этом увеличение числа волокон, экспрессирующих МНС II, через 3 сут разгрузки растет за счет уменьшения числа волокон, содержащих МНС I, а через 7 и 12 сут — за счет уменьшения числа гибридных волокон.

Обсуждение

Полученные в ходе исследования результаты, отражающие изменение базальной концентрации ионов кальция в одиночных волокнах камбаловидной мышцы крысы и песчанки в ходе гравитационной разгрузки, свидетельствуют о том, что динамика является сходной у этих видов. Максимальное увеличение базальной концентрации ионов кальция имеет место уже через 1 сут гравитационной разгрузки, причем у крыс в 2.8, а у песчанок в 4.5 раза

по сравнению с контролем, что вполне согласуется с нашими предыдущими результатами (Ogneva et al., 2009), а также данными литературы (Ingalls et al., 1999, 2001; Пономарева и др., 2008). Причем у песчанок концентрация кальция в контроле меньше, нежели у крыс, и в сочетании с вероятно большей осмолярностью их интерстициальной среды это может свидетельствовать о наличии у них и более высокого электрохимического градиента для ионов кальция на мембране мышечного волокна в норме.

Следует отметить, что определяли относительное изменение базальной концентрации ионов кальция, которая в контрольных условиях (отсутствие сократительной активности на фоне земного притяжения) составляет примерно 10^{-7} М. При сокращении происходит выброс ионов кальция из саркоплазматического ретикула и его концентрация достигает 10^{-4} М, причем активация сократительной активности имеет место уже при концентрации кальция 10^{-6} М (Stevens et al., 1993). Поскольку мы оценивали изменения базального содержания ионов кальция в ходе гравитационной разгрузки и отсутствия сократительной активности волокон, можно полагать, что изменения базальной концентрации кальция были в пределах от 100 нМ до 1 мкМ.

Высокий уровень кальция сохраняется вплоть до 3-х сут вывешивания, и существенно снижается к 12-м сут, хотя и остается выше контрольного как у крысы, так и у монгольской песчанки. Механизм такой динамики неясен. Возможно, снижение концентрации ионов кальция в ходе разгрузки обусловлено изменением скорости работы систем электромеханического сопряжения, в частности системы удаления кальция — SERCA.

Данные проведенного эксперимента показывают, что у крысы сдвиг изоформного состава миозинов в камбаловидной мышце происходит действительно только через 7 сут гравитационной разгрузки, что было показано ранее (Booth, Kelso, 1973; Desplanches et al., 1990; Caiozzo et al., 1996). При этом имеет место и сдвиг соотношения изоформ кальциевых помп SERCA I и SERCA IIa в сторону более быстрой SERCA I, что вполне согласуется с данными других авторов (Peters et al., 1999; Shenkman et al., 2005). Через 12 сут разгрузки в волокнах камбаловидной мышцы крысы имеет место тенденция к возвращению соотношения изоформ кальциевой помпы к уровню контроля, в то время как миозиновый фенотип остается измененным.

Аналогичные данные, полученные при исследовании камбаловидной мышцы монгольской песчанки, свидетельствуют о том, что сдвиг миозинового фенотипа в «быструю» сторону имеет место через 3 сут гравитационной разгрузки, а изменение соотношения быстрой и медленной изоформ кальциевой помпы отмечается уже в течение 1-х сут, т. е. даже раньше, чем изменение миозинового состава. Максимум фенотипических изменений мышечных волокон у песчанки отмечается на 3-и сут в отличие от крысы, где основные изменения отмечаются через 7 сут. Кроме того, отличие от контроля у песчанки через 12 сут разгрузки менее выражено, нежели у крысы.

При этом следует отметить, что изменение нервной активации в условиях гравитационной разгрузки было одинаковым для крысы и песчанки, что обеспечивала стандартизация условий антиортостатического вывешивания задних конечностей и одинаковый выбор исследуемой мышцы — *m. soleus*. Тем не менее динамика изменений изоформного состава мышечных волокон у монгольской песчанки представляется более быстрой, нежели у

крысы. Возможно, это связано с большим градиентом изменения концентрации ионов кальция в волокнах камбаловидной мышцы у песчанки по сравнению с крысой в связи с измененным водно-солевым балансом, что приводит к более ранней активации факторов, обуславливающих экспрессию быстрых изоформ МНС и кальциевой помпы. Постепенное снижение концентрации кальция в волокне в ходе гравитационной разгрузки приводит к уменьшению этого градиента и динамике в сторону контрольного уровня. Однако полной элиминации ионов кальция из цитоплазмы мышечного волокна не происходит. Возможно, это связано с уменьшением уровня экспрессии кальциевой помпы, т. е. ее количества, возможно с недостатком АТФ, вызванным, например, уменьшением числа митохондрий или снижением их АТФ-синтезирующей функции. Возможно также и постоянное поступление кальция в мышечное волокно. При этом остается неясным, достаточно ли уровня кальция, имеющегося в волокнах через 12 сут разгрузки, для перманентной активации протеолитических систем или же атрофические изменения к этому сроку достигли своего максимума и сформировавшийся ионный состав является адаптивным к разгрузке.

Динамика изменения содержания ионов кальция в ходе гравитационной разгрузки у крысы и монгольской песчанки схожа, максимум накопления достигается через 1—3 сут, а через 12 сут снижается, но остается выше уровня контроля. При этом базальный уровень кальция в контроле у песчанки ниже, чем у крысы, и как следствие его изменение в 1-е сут разгрузки больше. Возможно, именно этот факт приводит к тому, что изменения изоформного состава мышечного волокна у песчанки проявляются раньше: сдвиг соотношения быстрой и медленной изоформы кальциевой помпы отмечается уже в 1-е сут, а МНС — через 3 сут функциональной разгрузки. При этом у крыс аналогичные изменения отмечаются лишь через 7 сут. Через 12 сут у обоих видов имеет место тенденция к возвращению к уровню контроля, более выраженная у песчанки.

Авторы выражают благодарность Е. В. Пономаревой и В. А. Курушину за помощь в проведении экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Отделения биологических наук РАН (6006/4).

Список литературы

- Кривой И. И., Кравцова В. В., Алтаева Э. Г., Кубасов И. В., Прокофьев А. В., Драбкина Т. М., Никольский Е. Е., Шенкман Б. С. 2008. Снижение электрогенного вклада Na-K-АТФазы и мембранного потенциала покоя как возможный механизм накопления ионов кальция в волокнах m. soleus крысы при кратковременной гравитационной разгрузке. *Биофизика*. 53 (6) : 1051—1057.
- Литец Е. Н., Пономарева Е. В., Огнева И. В., Вихлянец И. М., Карадулева Е. В., Карташкина Н. Л., Кузнецов С. Л., Поддубная З. А., Шенкман Б. С. 2009. Сократительные характеристики волокон и цитоскелетные белки мышц задних конечностей монгольских песчанок после космического полета. *Авиакосмич. и экологич. мед.* 43 (3) : 34—39.
- Мухина А. М., Алтаева Э. Г., Немировская Т. Л., Шенкман Б. С. 2006. Роль кальциевых каналов L-типа в накоплении Ca^{2+} в волокнах m. soleus крысы и изменении соотношения изоформ миозина и SERCA при гравитационной разгрузке. *Рос. физиологич. журн. им. И. М. Сеченова*. 92 (11) : 1285—1295.
- Пономарева Е. В., Кравцова В. В., Качаева Е. В., Алтаева Э. Г., Вихлянец И. М., Поддубная З. А., Кривой И. И., Шенкман Б. С. 2008. Сократительные свойства изолированной m. soleus и ее скинированных волокон на ранних этапах гравитационной разгрузки: факты и гипотезы. *Биофизика*. 53 (6) : 1087—1094.
- Bastide B., Conti A., Sorrentino V., Mounier Y. 2000. Properties of ryanodine receptor in rat muscles submitted to unloaded conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 270 : 442—447.
- Booth F. W., Kelso J. R. 1973. Effect of hind-limb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle. *Pflugers Arch.* 342 : 231—238.
- Caiozzo V. J., Haddad F., Baker M. J., Herrick R. E., Prietto N., Baldwin K. M. 1996. Microgravity-induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 81 : 123—132.
- Desplanches D., Mayet M. H., Ilyina-Kakueva E. I., Sempore B., Flandrois R. 1990. Skeletal muscle adaptation in rats flown on Cosmos 1667. *J. Appl. Physiol.* 68 : 48—52.
- Enns D. L., Raastad T., Ugelstad I., Belcastro A. N. 2007. Calpain/calpastatin activities and substrate depletion patterns during hindlimb unweighting and reweighting in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* 100 : 445—455.
- Ingalls C. P., Warren G. L., Armstrong R. B. 1999. Intracellular Ca^{2+} transients in mouse soleus muscle after hindlimb unloading. *J. Appl. Physiol.* 87 : 386—390.
- Ingalls C. P., Wenke J. C., Armstrong R. B. 2001. Time course changes in $[Ca^{2+}]_i$, force and protein content in hindlimb-suspended mouse soleus muscles. *Aviat. Space Environ. Med.* 72 : 471—476.
- Kandarian S. C., Stevenson E. J. 2002. Molecular events in skeletal muscle during disuse atrophy. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 30 : 111—116.
- Morey-Holton E., Globus R. K., Kaplansky A., Durnova G. 2005. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data. *Adv. Space Biol. Med.* 10 : 7—40.
- Oganov V. S., Potapov A. N. 1976. On the mechanisms of changes in skeletal muscles in the weightless environment. *Life Sci. Space Res.* 14 : 137—143.
- Ogneva I. V., Kurushin V. A., Altaeva E. G., Ponomareva E. V., Shenkman B. S. 2009. Effect of short-time gravitation unloading on rat and Mongolian gerbil muscles. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 30 : 261—265.
- Peters D. G., Mitchell-Felton H., Kandarian S. C. 1999. Unloading induces transcriptional activation of the sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase 1 gene in muscle. *Amer. J. Physiol.* 276 : 1218—1225.
- Shenkman B. S., Kachaeva E. V., Altaeva E. G., Bondareva L. A., Kantserova N. P., Nemova N. N. 2009. Signaling mechanisms, involved in the regulation of proteolysis in rat soleus during gravitational unloading. In: *Book of Abstracts, 17th IAA Human in space Symposium*. Moscow. 118.
- Shenkman B. S., Moukhina A. M., Litvinova K. S., Nemirovskaya T. L. 2005. Non-uniform shifts in mhc and serca isoform patterns in unloaded rat soleus. Effects of Ca-binding agent. *J. Gravit. Physiol.* 12 : 119—120.
- Stevens L., Holy X., Mounier Y. 1993. Functional adaptation of different rat skeletal muscle to weightlessness. *Amer. J. Physiol.* 264 : 770—776.
- Yoshioka T., Shiota T., Tazoe T., Yamashita-Goto K. 1996. Calcium movement of sarcoplasmic reticulum from hindlimb suspended muscle. *Acta astronautica*. 38 : 209—212.

DYNAMICS OF CALCIUM LEVELS AND CHANGES SERCA CONTENT
IN MUSCLE FIBERS OF RATS AND MONGOLIAN GERBILS DURING HIND LIMB UNLOADINGS
OF VARIOUS DURATION

E. G. Altaeva, I. V. Ogneva, B. S. Shenkman

SSC RD Institute for Biomedical problems RAS, Moscow;
e-mail: iogneva@yandex.ru

In this study, it was shown that calcium levels in the fibers of *m. soleus* of Mongolian gerbils after one day of unloading increased four and a half times in comparison with the control. In rats, the situation differed: 2.8 times increase after the 1st day of hypogravity persisted until the 3rd day and then calcium levels slightly decreased to the 12th day. However, the base concentrations of calcium in the control group of gerbils were significantly lower than in control rats, thus there was larger shift of this parameter during the first day. Probably, this was the reason for an earlier start of the protein phenotype shift in gerbils: statistically significant increase in the number of fibers with «fast» SERCA isoforms was detected after one day of unloading and therefore slow-to-fast shift in myosin phenotype was observed on the 3rd day of unloading. The same changes in rat muscle could be detected only after the 7th and the 12th day, respectively. In both species, there was a tendency to restore their initial parameters to the 12th day but in gerbils it was much more intensive.

Key words: muscle fiber, gravitational unloading, resting calcium level, SERCA.
