

НЕ ТАКІ Й ГЛАДЕНЬКІ М'ЯЗИ

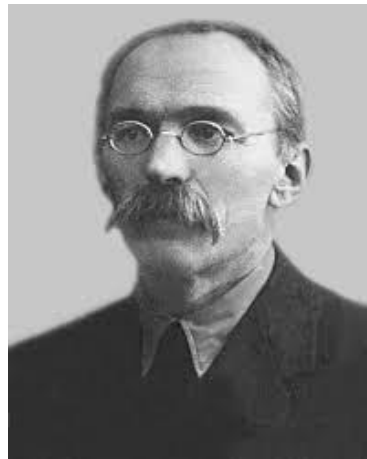
к.б.н., ас. Мороз Олеся Федорівна кім.254

olesia.moroz@knu.ua

Рідна тема для кафедри

https://drive.google.com/drive/folders/1cXusH7k-bv4m50O_G0rhD-Xnrwp7ELVo

- Дослідження біофізики гладеньких м'язів вже кілька десятиліть є провідним напрямком для кафедри. П.Г. Богач започаткував на базі кафедри і відділу біофізики напрямок фундаментальних досліджень, пов'язаний з вивченням клітинних, трансмембранних і молекулярних механізмів м'язового скорочення. (1961-1966),
- Ідеї Д.С. Воронцова, П.Г.Богача, М.Ф. Шуби, продовжені його учнями, зокрема О.В. Жолосом, вже на іншому методологічному рівні зараз розгорнулись цілою школою дослідників, які працюють в Україні, Великобританії, США.
- Наукова значимість результатів наших науковців є дуже істотною: встановлено незалежність скорочення ГМК від іонів Na (1962-1965), виявлено електричний контакт та кабельні властивості ГМ (1961-1966), GPCR регуляція іонних струмів в ГМ (1991-), опис властивостей CICR в ГМК (1990-ті рр)



SECOND KIEV SYMPOSIUM "SMOOTH MUSCLE PHYSIOLOGY AND BIOPHYSICS" OCTOBER 28-31, 2003, KIEV, UKRAINE

Excitation-contraction coupling in gastrointestinal and other smooth muscles

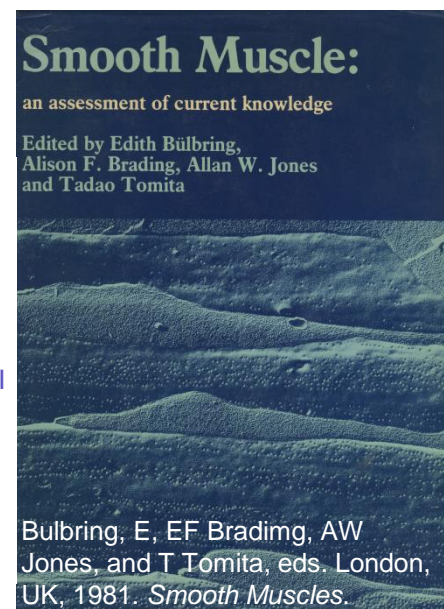
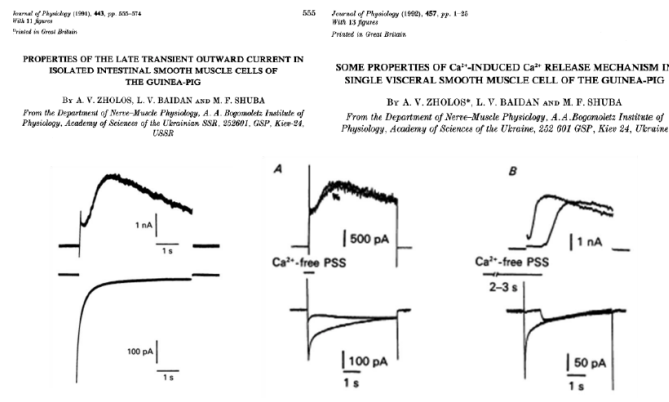
TB Bolton, SA Prestwich, AV Zholos... - Annual review of ..., 1999 - annualreviews.org

• Abstract The main contributors to increases in $[Ca^{2+}]_i$ and tension are the entry of Ca^{2+} through voltage-dependent channels opened by depolarization or during action potential (AP) or slow-wave discharge, and Ca^{2+} release from store sites in the cell by the action of ...
☆ 99 Cited by 269 Related articles All 8 versions

Muscarinic receptor subtypes controlling the cationic current in guinea-pig ileal smooth muscle

AV Zholos, TB Bolton - British journal of pharmacology, 1997 - Wiley Online Library

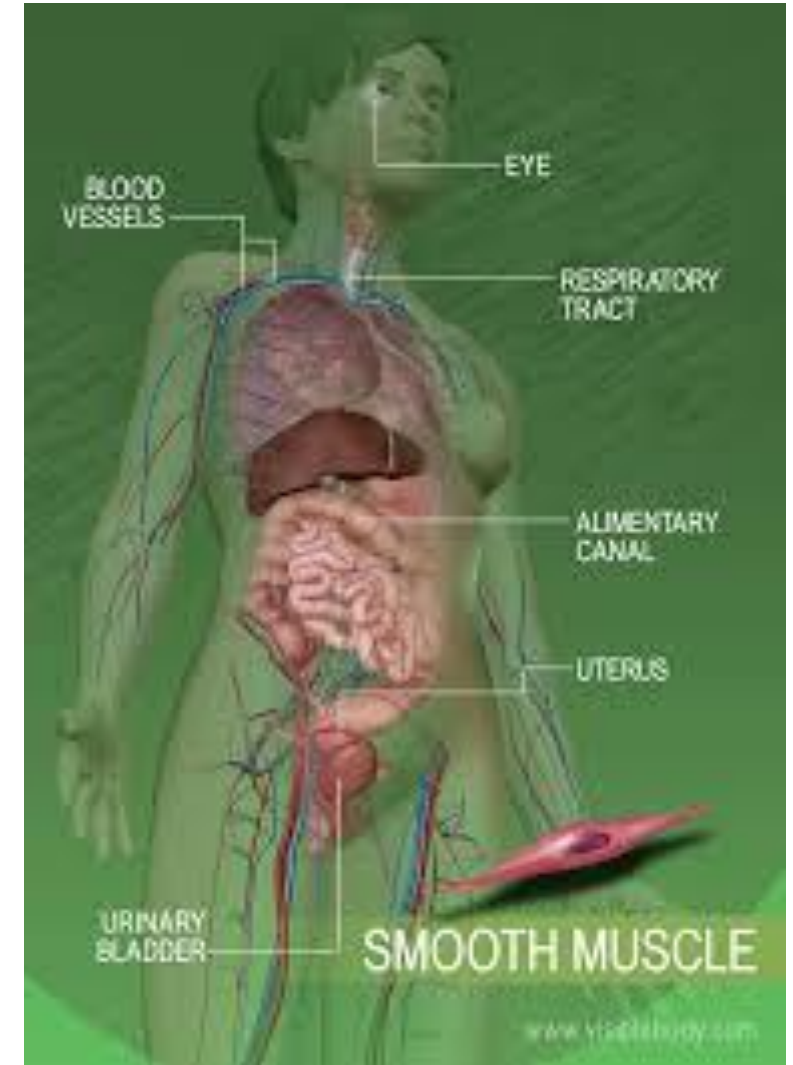
1 The effects of muscarinic antagonists on cationic current evoked by activating muscarinic receptors with the stable agonist carbachol were studied by use of patch-clamp recording techniques in guinea-pig single ileal smooth muscle cells. 2 Ascending concentrations of ...
☆ 99 Cited by 104 Related articles All 7 versions



Contributors	
T. B. Bolton Senior Lecturer in Pharmacology, St George's Hospital Medical School, London	J. G. Hardman Professor and Chairman, Department of Pharmacology, Vanderbilt University, School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA
Alison F. Brading University Lecturer in Pharmacology, South Parks Road, Oxford	Mollie E. Holman Professor of Physiology, Monash University, Victoria, Australia
Edith Bülbring Emeritus Professor in Pharmacology, Department of Physiology, Parks Road, Oxford	A. W. Jones Assistant Professor in Physiology, University of Missouri (Columbia), Missouri, USA
G. Burnstock Professor of Anatomy and Head of the Department of Anatomy and Embryology, University College London	C. T. Kirkpatrick Lecturer in Physiology, The Queen's University of Belfast
R. Casteels Professor of Physiology at the Laboratorium voor Fysiologie, Campus Gasthuisberg, University of Leuven, Belgium	H. Kuriyama Professor of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan
G. Gabella Reader in Cytology, Department of Anatomy and Embryology, University College London	H. Ohashi Associate Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Agriculture, Gifu University, Kakamigahara, Japan
M. D. Gershon Professor and Chairman, Department of Anatomy, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York, USA	M. F. Shuba Professor of Physiology, Head of Department of Nerve-muscle Physiology, Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, USSR
K. Golenhofen Professor of Physiology, Institute of Physiology, University of Marburg, Deutschhausstrasse, Marburg, W. Germany	Nils O. Sjöstrand Senior Lecturer in Physiology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden
	T. Tomita Professor in Physiology, School of Medicine, University of Nagoya, Japan

Розташування в тілі та функції ГМ

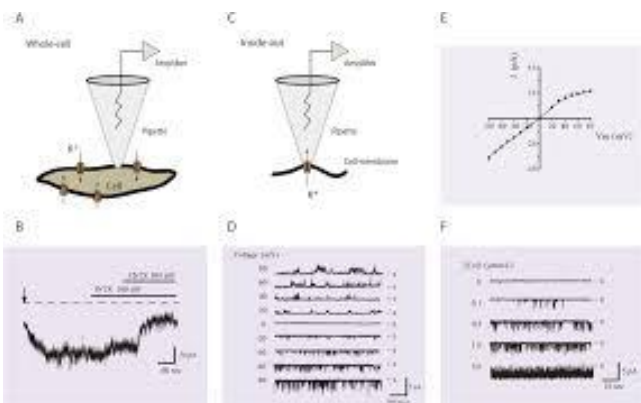
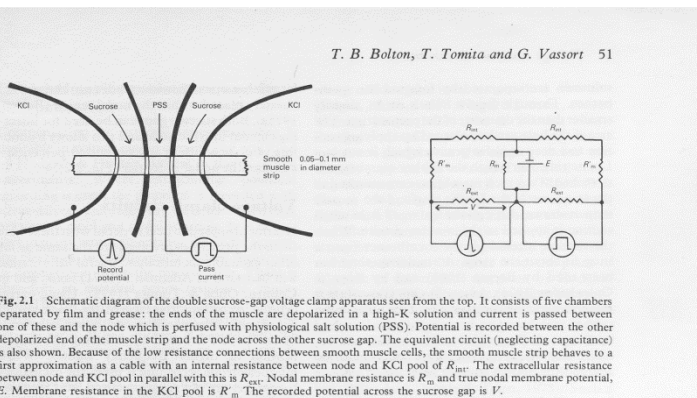
- Вистилають порожнисті органи (трубки), утворюючи шари (листки) в їх стінках: ШКТ, повітроносні шляхи, кровоносні судини, матка, сечовий міхур, кавернозні тіла клітора та пеніса.
- При скороченні ГМ вміст просувається або ж ГМК змінюють діаметр трубки, впливаючи на рух вмісту.
- Кріпляться до волосків шкіри, забезпечуючи їх піднімання
- Приєднані до кришталика, змінюють його кривизну
- Є в структурі рогівки, регулюють діаметр зіниці



Методи досліджень

Електрофізіологічні дослідження ГМК

- Метод сахарозного містка
- Петч-клемп

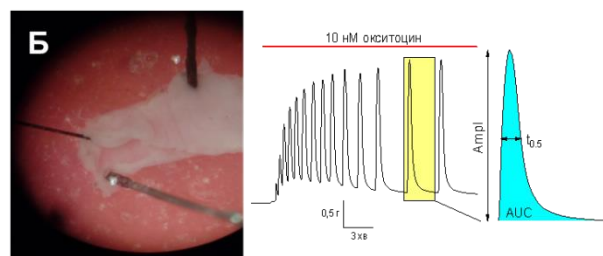
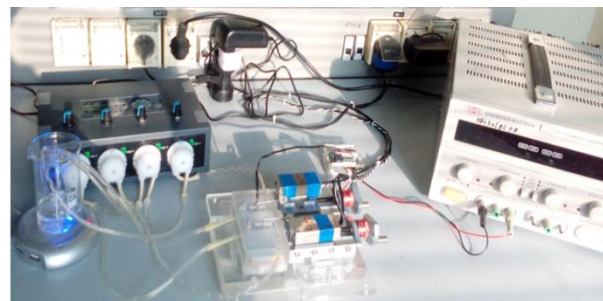


Моделювання структури іонних каналів ГМК

- Кінетичне і молекулярне

Функціональні дослідження

- Тензометричний метод
- Оптико-механічний спосіб реєстрації скорочення ГМ

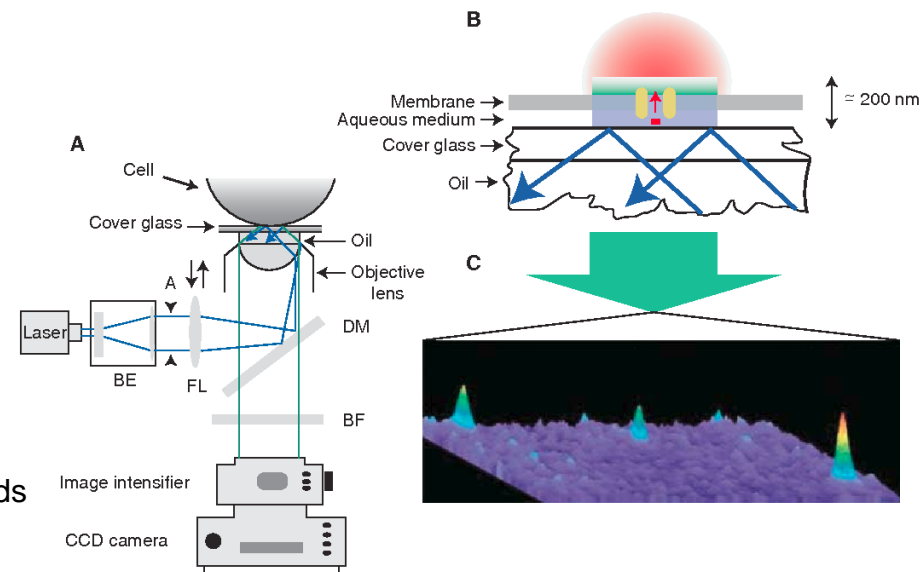
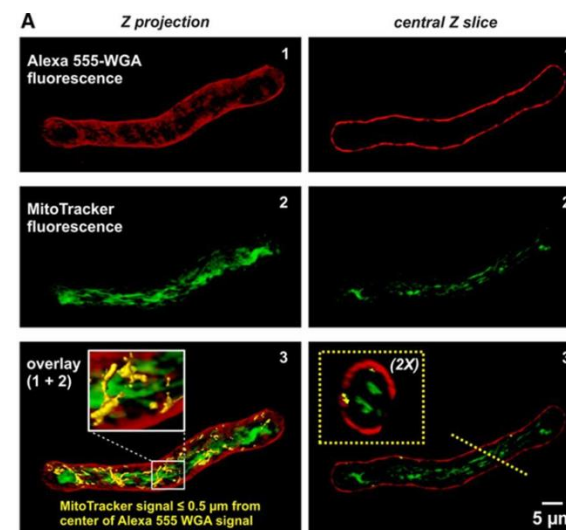


Дослідження структурних елементів міофібрил

- internal reflectance fluorescence (TIRF)
- high-resolution electron microscopy
- laser-trapping and single molecule fluorescence methods

Вивчення кальцієвої сигналізації в ГМ

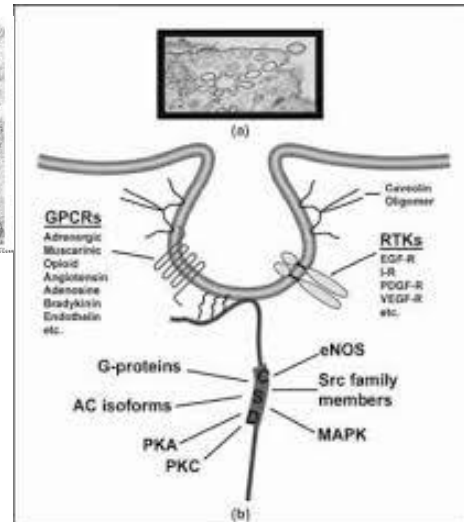
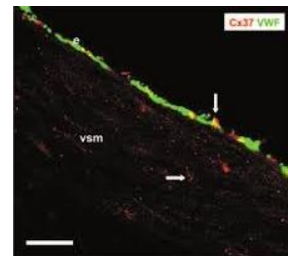
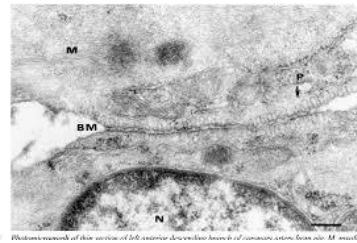
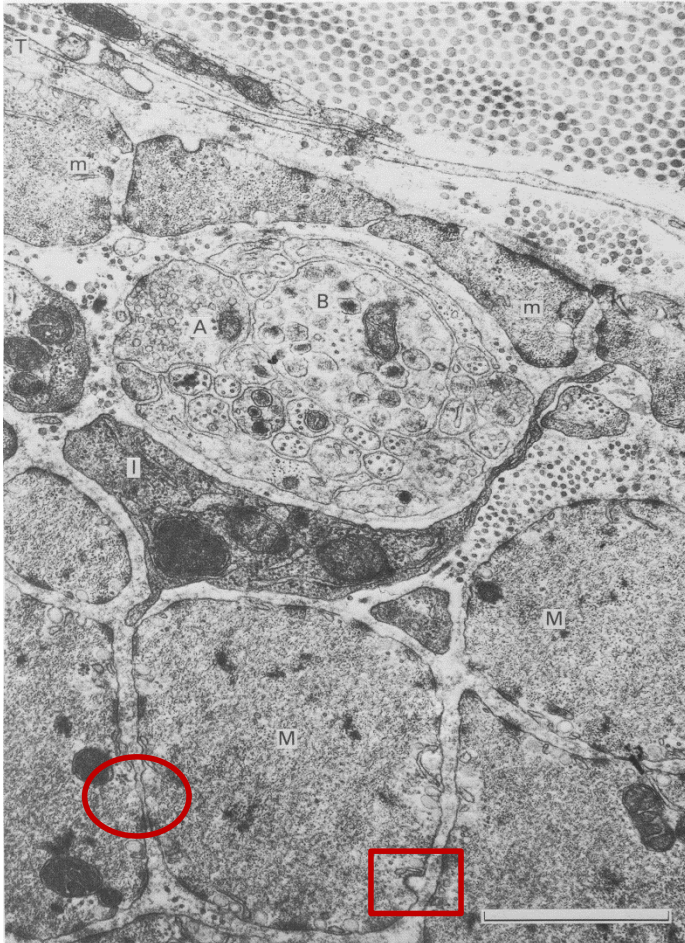
- Спектральні методи (флуоресцентний аналіз, спектрофотометрію і світлорозсіювання),
- Конфокальна мікроскопія
- internal reflectance fluorescence (TIRF) для вивчення примембранних процесів



Будова гладеньких м'язів

Гістологія

- шар клітин (m, M), функціонально пов'язаний щільними контактами (обведено колом)
- Взаємодіє з інтерстиційними клітинами (I)



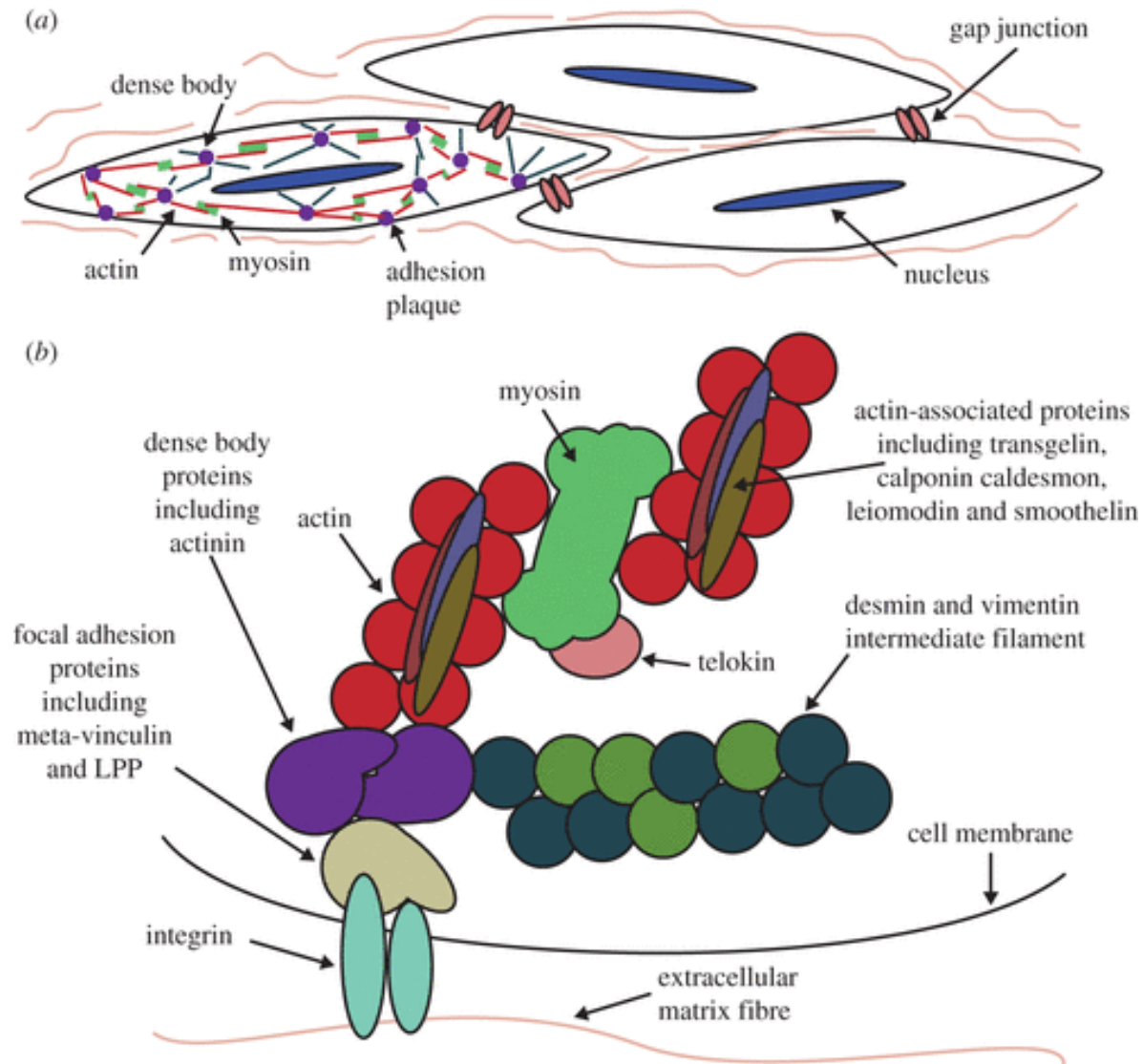
Цитологія

- Щільні тільця (DB) на мембрані
- Кавеоли (обведено квадратом)
- Поверхневий та глибинний СПР (SR)
- Взаємодія з компонентами позаклітинного матриксу



Fig. 19.1 (a) Longitudinal section of smooth muscle fibres from rabbit portal anterior mesenteric vein. Thick filaments are 2.2 $\mu\text{m} \pm 0.14$ in length in this smooth muscle. The variable length of the thick myofilaments (arrows) in this view results from the somewhat oblique orientation of this section. DB, dense bodies; SR, sarcoplasmic reticulum; ECS, extracellular space; G, Golgi complex; Rib, ribosomes; M, mitochondrion. (Reproduced, with permission, from A. P. Somlyo, Devine, Somlyo & Pina, 1973.)

Будова гладеньких м'язів

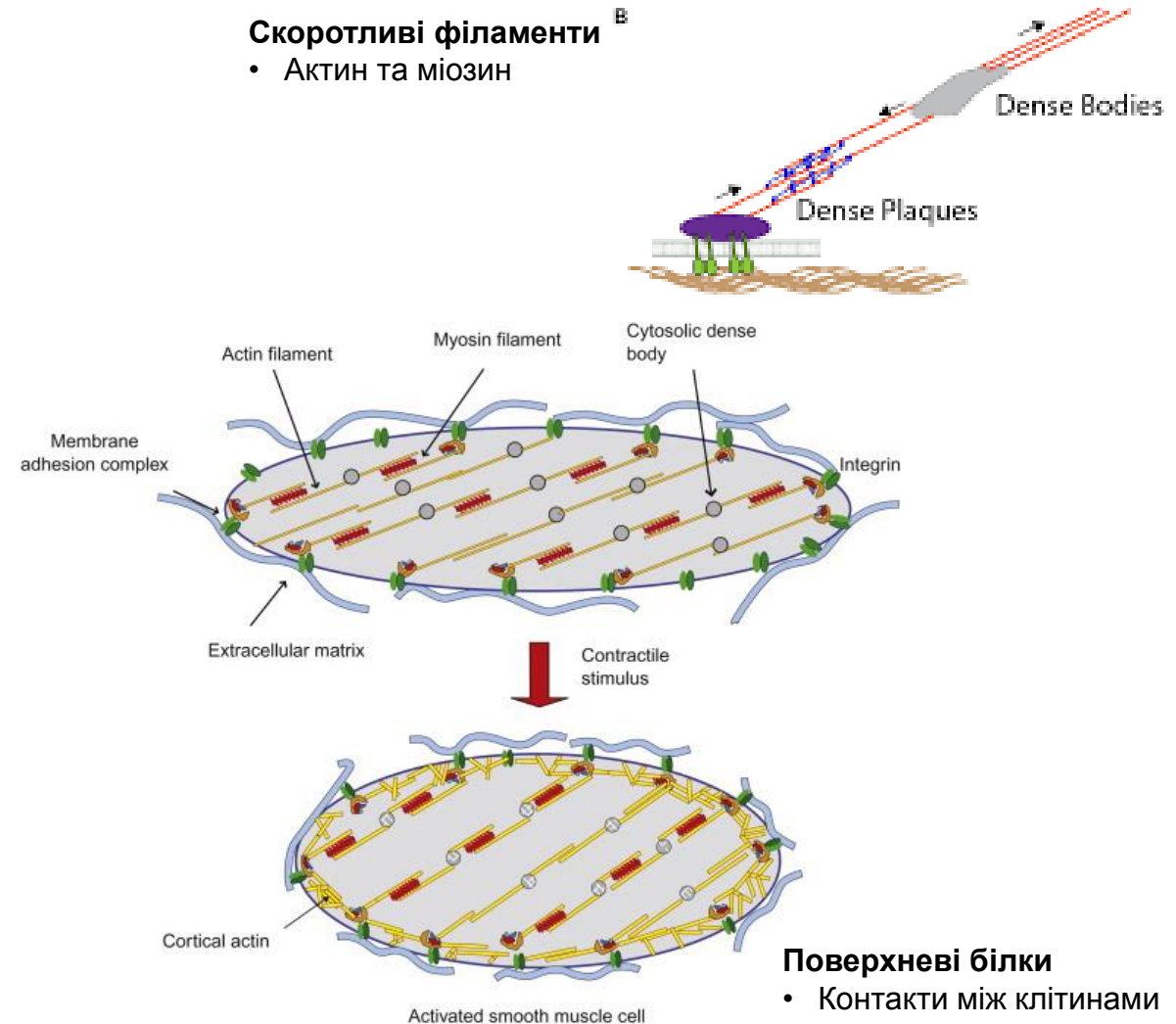


Цитоскелет

- Щільні бляшки та щільні тільця (DB) на мембрані (α -актинін та вінкулін)
- Проміжні філаменти – віментин, десмін

Скоротливі філаменти^B

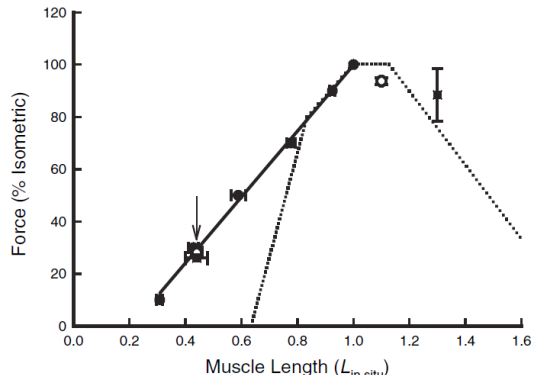
- Актин та міозин



Поверхневі білки

- Контакти між клітинами
- Контакт із волокнами позаклітинного матриксу

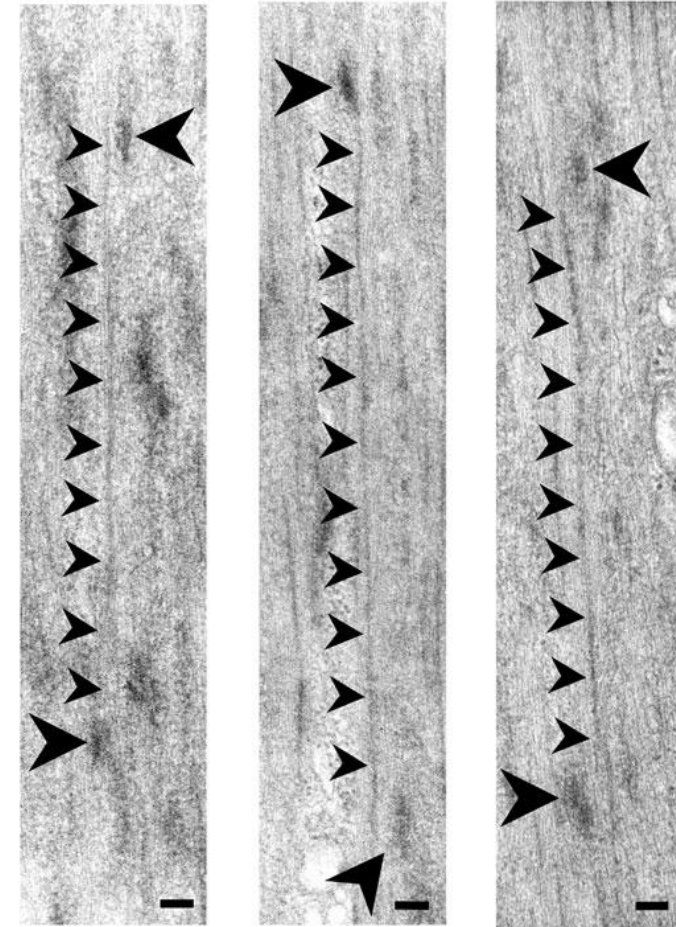
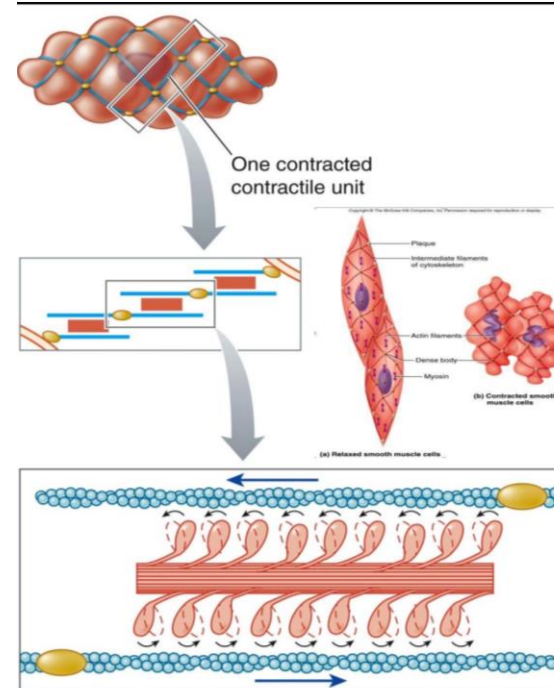
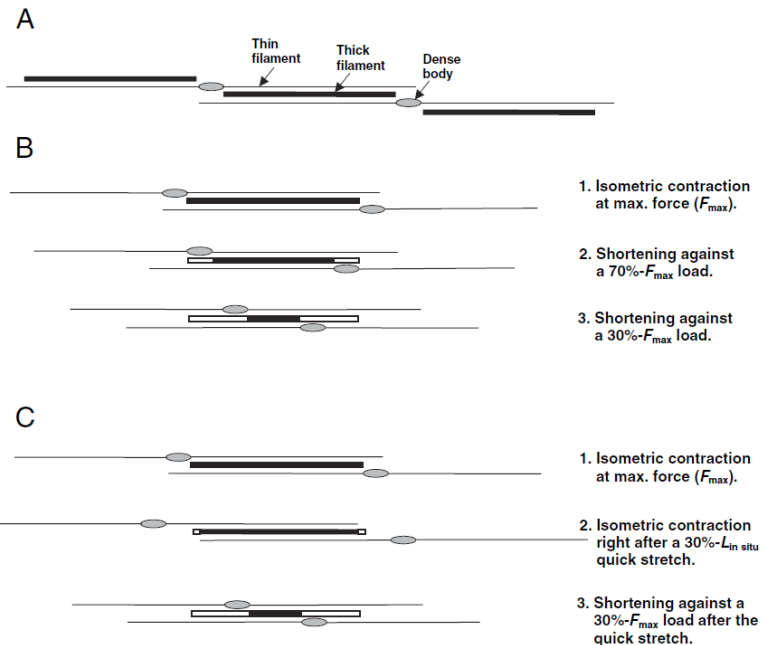
Функціональна одиниця ГМ



Саркомер (цю назву підтримують не всі дослідники)

- Нитки міозину лежать між щільними тільцями, до яких заякорені нитки актину
- Міозин має голівки по всьому проміжку, 2 нитки актину приєднуються до 1 міозину та ковзають в протилежних напрямках
- Взаємодія з компонентами позаклітинного матриксу

Fig. 3. Two-dimensional schematic representation of partial assemblies of contractile units in smooth muscle. (A) In a fully adapted muscle, the thick filaments are assumed to span the entire distance between the associated dense bodies. For simplicity, multiple attachments of thin filaments on one side of a dense body are not depicted. (B) Isometric contraction (1) and isotonic contractions (2,3) against different external loads. (C) Isometric contractions (1,2) at different lengths and isotonic contraction (3) against an isotonic load. Each numbered configuration represents an equilibrium (static) condition where external load equals the force produced by the contractile unit. The solid portion of the thick filaments represents the segment in between the dense bodies that overlaps with both of the thin filaments. It is assumed that only the cross bridges within the solid portion of the thick filaments can interact with the thin filaments properly to generate force. Length of the solid portion of the thick filaments in a contractile unit therefore correlates directly with the ability of the muscle to generate force or carry load during contraction. (See text for more details).



Збудливість ГМ. Природа ПД

МПС

- -50 -60 мВ, що значно більш позитивний ніж у нейронах чи скелетних м'язах

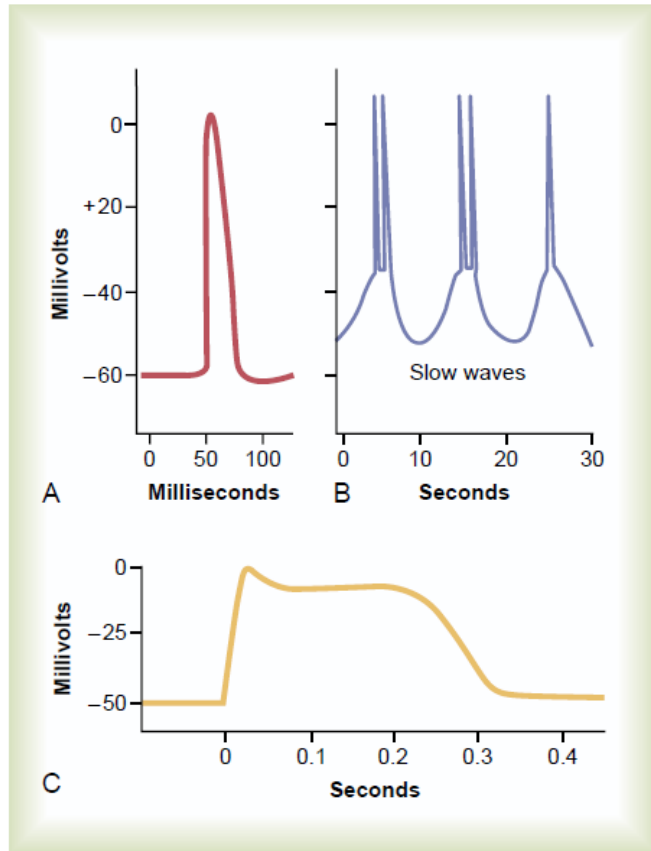
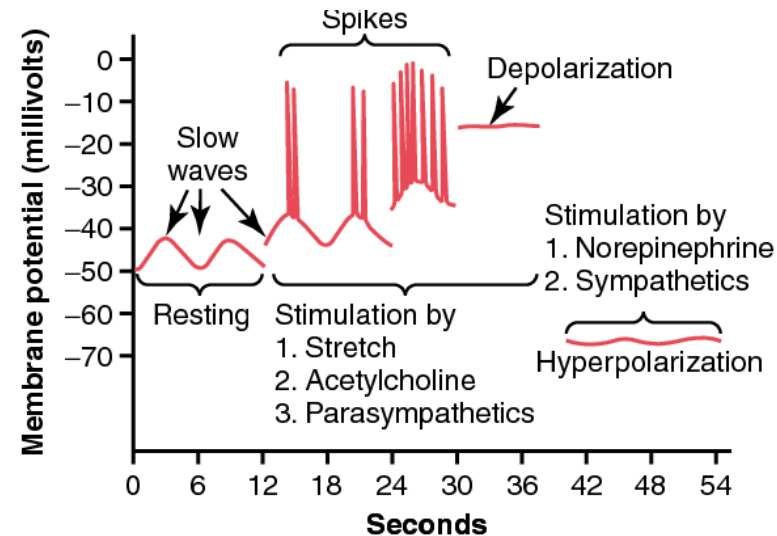


Figure 8-4

A, Typical smooth muscle action potential (spike potential) elicited by an external stimulus. B, Repetitive spike potentials, elicited by slow rhythmic electrical waves that occur spontaneously in the smooth muscle of the intestinal wall. C, Action potential with a plateau, recorded from a smooth muscle fiber of the uterus.

ПД не є необхідною умовою розвитку скорочення ГМ, проте зміни МП, як правило, супроводжуються змінами напруження міоцита



SMOOTH MUSCLE CONTRACTION AND RELAXATION

R. Clinton Webb *Advances in Physiology Education* 2003 27:4, 201-206

Regulation of Gastrointestinal Smooth Muscle Function by Interstitial Cells
Kenton M. Sanders, Yoshihiko Kito, Sung Jin Hwang, and Sean M. Ward
Physiology 2016 31:5, 316-326

пд

- Виникають у відповідь на зовнішній подразник (дію гормону, нейромедіатора, механічного розтягнення, електричного імпульсу) або виникають спонтанно на самій ГМК
- Тривалість може бути від 5-10 мс до 1 с, тривалі потенціали співпадають із тривалими скороченнями, що є типовими для матки сечового міхура, деяких судин.
- Кальцієвої природи, роль натрію мінімальна. Значно переважають L-тип Ca^{2+} каналів, отже залежить від позаклітинної концентрації кальцію.
- Спонтанна генерація часто відбувається на піку повільних хвиль, природа яких залежить або від швидкості транспорту атрію, або ж від спонтанного відкривання іонних каналів. Якщо хвиля зміщує МПС до -60-35 мВ як правило виникає ПД.

«Phasic contractions result from a cyclical depolarization/repolarization cycle, known as electrical slow waves, which result from intrinsic pacemaker activity. Interstitial cells of Cajal (ICC) are electrically coupled to smooth muscle cells (SMCs) and generate and propagate pacemaker activity and slow waves. The mechanism of slow waves is dependent upon specialized conductances expressed by pacemaker ICC. The primary conductances responsible for slow waves in mice are Ano1 , Ca^{2+} -activated Cl^- channels (CaCCs), and $\text{Ca}_v3.2$, T-type, voltage-dependent Ca^{2+} channels. Release of Ca^{2+} from intracellular stores in ICC appears to be the initiator of pacemaker depolarizations, activation of T-type current provides voltage-dependent Ca^{2+} entry into ICC, as slow waves propagate through ICC networks, and Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release and activation of Ano1 in ICC amplifies slow wave depolarizations. Slow waves conduct to coupled SMCs, and depolarization elicited by these events enhances the open-probability of L-type voltage-dependent Ca^{2+} channels, promotes Ca^{2+} entry, and initiates contraction.»

Sanders K.M. (2019) Spontaneous Electrical Activity and Rhythmicity in Gastrointestinal Smooth Muscles. In: Hashitani H., Lang R. (eds) *Smooth Muscle Spontaneous Activity. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1124. Springer, Singapore.

Спряження збудження і скорочення в ГМ

Електро-механічне

Відкриття потенціал-керованих кальцієвих каналів, вхід іонів Ca^{2+} . Вони буферизуються і самостійно не здатні підвищити цитозольну концентрацію до рівня, необхідного для запуску скорочення

Роль зовнішньоклітинного кальцію

У деяких ГМ активують кальцій-залежне вивільнення кальцію з депо (CICR) за участю ріанодинових рецепторів (RyR2)

Ca^{2+} основний гравець

Фармако-механічне

Зв'язування гормона, локального фактора чи нецромедіатора з відповідним рецептором, який є G-білок спряженим, зумовлює дисоціацію α субодиниці q11 типу, активацію нею фосфоліпази C, яка з мембранного фосфоліпіда PIP2 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) утворює IP3 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) та диацилгліцерол (DAG)

Рецептор-керований вихід кальцію з депо

IP3 дифундує в цитоплазму і, зв'язуючись з рецепторами (IPR) на мембрані СПР, зумовлює вихід депонованого кальцію.

Фосфорилування білків, залучених у процес

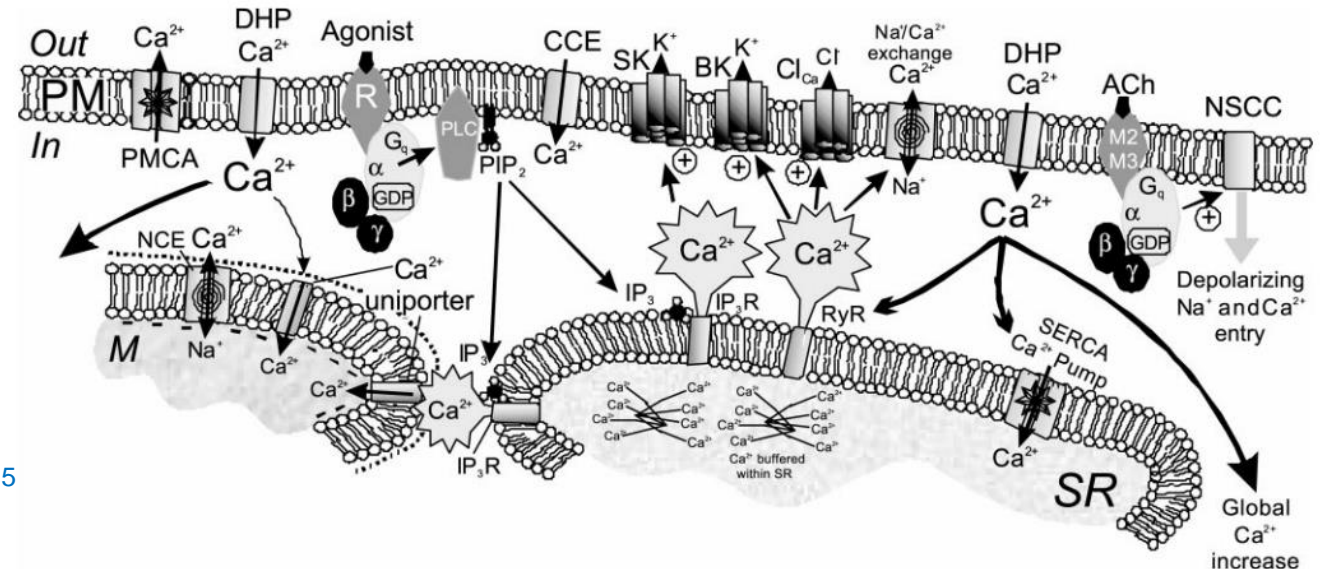
DAG, залишаючись на мембрані, активує протеїнкіназу C, яка, фосфорилуючи іонні канали, регуляторні білки, інші кінази, змінює інтенсивність скорочення та його тривалість

Фосфорилування легкого ланцюга міозину

- Висока концентрація Ca в цитоплзмі
- Кальмодулін + Ca

Активують кіназу легких ланцюгів міозину (MLCK)

Фосфорильований легкий ланцюг уможливлює контакт міозину з актином



Самостійна робота - Особливості ГМ різних органів

В групах по 3 студентів дослідити особливості стимуляції, спряження збудження й скорочення, а також регуляції кальцієвого сигналіngu та кальцієвої чутливості у певних типах ГМ.

Підготувати презентацію 3-5 слайдів, використавши рекомендовану літературу або інші джерела

ГМ судин
Детрузор (ГМ сечового міхура)
Міометрій (ГМ матки)
ГМ тонкого кишківника

SMOOTH MUSCLE CONTRACTION AND RELAXATION

R. Clinton Webb *Advances in Physiology Education* 2003 27:4, 201-206

Zholos, A V, Baidan, L V, Shuba, M F, (1992), Some properties of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release mechanism in single visceral smooth muscle cell of the guinea-pig.. *The Journal of Physiology*, 457 doi: 10.1113/jphysiol.1992.sp019362.

Perrino BA. Calcium Sensitization Mechanisms in Gastrointestinal Smooth Muscles. *J Neurogastroenterol Motil.* 2016;22(2):213-225. doi:10.5056/jnm15186

Sanders K.M. (2019) Spontaneous Electrical Activity and Rhythmicity in Gastrointestinal Smooth Muscles. In: Hashitani H., Lang R. (eds) *Smooth Muscle Spontaneous Activity. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1124. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5895-1_1
Touyz RM, Alves-Lopes R, Rios FJ, Camargo LL, Anagnostopoulou A, Arner A, Montezano AC. Vascular smooth muscle contraction in hypertension. *Cardiovasc Res.* 2018 Mar 15;114(4):529-539. doi: 10.1093/cvr/cvy023. PMID: 29394331; PMCID: PMC5852517.

Cite

Brozovich FV, Nicholson CJ, Degen CV, Gao YZ, Aggarwal M, Morgan KG. Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Contraction and the Basis for Pharmacologic Treatment of Smooth Muscle Disorders. *Pharmacol Rev.* 2016 Apr;68(2):476-532. doi: 10.1124/pr.115.010652. PMID: 27037223; PMCID: PMC4819215.

Zhang W, Bhetwal BP, Gunst SJ. Rho kinase collaborates with p21-activated kinase to regulate actin polymerization and contraction in airway smooth muscle. *J Physiol.* 2018 Aug;596(16):3617-3635. doi: 10.1113/JP275751. Epub 2018 Jun 24. PMID: 29746010; PMCID: PMC6092288.

Chen YY, Yu MF, Zhao XX, Shen J, Peng YB, Zhao P, Xue L, Chen W, Ma LQ, Qin G, Dai J, Liu QH. Paracetamol inhibits Ca^{2+} permeant ion channels and Ca^{2+} sensitization resulting in relaxation of precontracted airway smooth muscle. *J Pharmacol Sci.* 2020 Feb;142(2):60-68. doi: 10.1016/j.jphs.2019.07.007. Epub 2019 Jul 24. PMID: 31843508.

Shabir S, Borisova L, Wray S, Burdyga T. Rho-kinase inhibition and electromechanical coupling in rat and guinea-pig ureter smooth muscle: Ca^{2+} -dependent and -independent mechanisms. *J Physiol.* 2004 Nov 1;560(Pt 3):839-55. doi: 10.1113/jphysiol.2004.070615.

Yin Z, He W, Li Y, Li D, Li H, Yang Y, Wei Z, Shen B, Wang X, Cao Y, Khalil RA. Adaptive reduction of human myometrium contractile activity in response to prolonged uterine stretch during term and twin pregnancy. Role of TREK-1 channel. *Biochem Pharmacol.* 2018 Jun;152:252-263. doi: 10.1016/j.bcp.2018.03.021. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29577872; PMCID: PMC5960639.

Wray S, Carvajal J. Introduction: myometrial physiology--time to translate? *Exp Physiol.* 2014 Mar;99(3):487-8. doi: 10.1113/expphysiol.2013.072819. PMID: 24586021.