РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2025, том 111, № 3, с. 475–483

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ВЛИЯНИЕ МЕХАНОАКТИВИРУЕМЫХ КАНАЛОВ НА ПАССИВНУЮ ЖЕСТКОСТЬ И АМПЛИТУДУ СОКРАЩЕНИЯ ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ

© 2025 г. К. В. Сергеева[1,*], С. А. Тыганов[1], К. А. Зарипова[1], Б. С. Шенкман[1]

[1]Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия
**E-mail: sergeeva_xenia@mail.ru*

Поступила в редакцию 02.12.2024 г.
После доработки 16.12.2024 г.
Принята к публикации 18.12.2024 г.

В последнее время высокоспециализированные механоактивируемые (МА) каналы семейства Piezo вызывают повышенный интерес исследователей в связи с их участием в процессах механотрансдукции у млекопитающих. Однако до сих пор ничего не было известно о роли этих каналов в процессах регуляции пассивной жесткости мышцы и мышечного сокращения. Мы предположили, что как пассивная деформация изолированной мышцы, так и вызванное одиночное и тетаническое сокращение мышцы приведут к активации каналов Piezo1, работа которых может способствовать увеличению пассивной жесткости и амплитуды мышечного сокращения.
Цель исследования: с помощью Dooku1 – специфического блокатора каналов Piezo1, и хлорида гадолиния – неспецифического блокатора МА каналов, оценить возможный вклад каналов Piezo1 в механический ответ изолированной медленной мышцы на пассивную деформацию и вызванные одиночные и тетанические сокращения.
Результаты экспериментов показали, что применение гадолиния на фоне пассивного растяжения привело к значимому снижению показателей пассивного напряжения мышцы. Интересно, что специфическое блокирование МА каналов Piezo1 с помощью Dooku1 не повлияло на данные параметры. В то же время при обработке изолированной мышцы раствором Dooku1 показатели максимальной силы вызванного одиночного и тетанического сокращения снизились на 21 и 25% соответственно. При этом инкубация мышц в растворе Gd^{3+} не привела к существенным изменениям показателей вызванного сокращения. Таким образом, нами показано, что МА каналы, которые могут быть блокированы Gd^{3+}, стимулируются пассивным растяжением мышцы и участвуют в регуляции пассивного мышечного напряжения. В то же время МА каналы Piezo1 активируются в процессе мышечного сокращения и участвуют в его регуляции. Можно предположить, что участие МА кальциевых каналов в поддержании мышечной жесткости и в реализации мышечного сокращения может осуществляться путем дополнительной активации миофибриллярных структур ионами кальция, концентрация которых в мышечном волокне увеличивается в результате деятельности этих каналов.

Ключевые слова: скелетная мышца, жесткость, механоактивируемые каналы, Piezo1

DOI: 10.31857/S0869813925030064, **EDN:** UGTGUA

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что при пассивном растяжении скелетные мышцы проявляют заметное сопротивление, даже когда их двигательные нейроны находятся в состоянии покоя, а мышечные волокна активно не сокращаются. Этот компонент мышечного тонуса называется собственной (intrinsic) жесткостью мышцы [1]. Не вызывает сомнений тот факт, что молекулы сократительных и несократительных белков саркомера (титин, десмин и др.) [2] и внеклеточного матрикса [1, 3], оказывая механическое сопротивление при растяжении/сокращении мышцы, вносят существенный вклад в формирование мышечной жесткости. При этом некоторые исследования, проведенные на активированных пермеабилизированных мышечных волокнах, объясняют прирост мышечного напряжения в ответ на пассивное растяжение наличием поперечных актин-миозиновых мостиков [4–7]. Однако данный механизм регуляции пассивной жесткости для интактной мышцы все еще далек от разгадки главным образом из-за того, что в отсутствие ионов кальция тропомиозин и белки тропонинового комплекса препятствуют взаимодействию головок миозина с нитью актина. В то же время можно предположить, что растяжение мышцы может приводить к достижению надпороговой концентрации ионов кальция, вызывающей конформационные изменения тропонин-тропомиозинового комплекса, и способствовать активации мономеров актина в составе тонкой нити. Действительно, данные литературы указывают на то, что пассивное растяжение скелетных мышц может приводить к увеличению концентрации кальция в саркоплазме мышечных волокон [8]. Приток Ca^{2+} может происходить из внеклеточного пространства через стретч-активируемые ионные каналы (stretch-activated ion channels, SACs) [9].

В данном контексте наше внимание привлекли механоактивируемые (МА) кальциевые каналы семейства Piezo1 [10], которые играют решающую роль в быстрой передаче сигналов во время процессов механосенсорной трансдукции в живых клетках [11–13]. У млекопитающих Piezo1 экспрессируется главным образом в механорецепторах клеток тканей, выполняющих важные механосенсорные функции, таких как кожа, стенки мочевого пузыря, почки, легкие, а также в эндотелиальных клетках и эритроцитах [14, 15]. В мышечных волокнах трансмембранные белки Piezo1 были обнаружены только несколько лет назад [10], а в 2015 г. был открыт селективный агонист каналов Piezo1 под названием Yoda1 [16]. Впоследствии модификация пиразинового кольца Yoda1 позволила получить аналог, который не обладал агонистической активностью, а напротив, ингибировал активность каналов Piezo1 [17, 18]. Этот аналог был назван Dooku1.

В настоящее время практически ничего не известно о роли каналов Piezo1 в процессах регуляции пассивной жесткости мышцы и мышечного сокращения. В связи с этим мы предположили, что как пассивная деформация изолированной мышцы, так и вызванное одиночное и тетаническое сокращение мышцы приведут к активации каналов Piezo1, работа которых увеличивает пассивную жесткость и амплитуду мышечного сокращения.

Цель работы – с помощью химических блокаторов оценить возможный вклад МА каналов Piezo1 в механический ответ изолированной медленной мышцы на пассивную деформацию и вызванные одиночные и тетанические сокращения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Организация эксперимента

В исследовании использовались самцы крыс Wistar массой 190 ± 10 г. Под изофлурановым наркозом у животных извлекались обе камбаловидные мышцы. Левая (конт-

рольная) помещалась в раствор Рингера–Кребса комнатной температуры примерно на 20 мин (объем ванночки 10 мл), после чего переносилась в экспериментальную камеру (объемом 15 мл) и подвергалась серии измерений активных и пассивных механических свойств (все вместе занимало 10 мин). Общее время инкубации – 30 мин. Правую (экспериментальную) мышцу помещали в раствор Рингера–Кребса с добавлением соответствующего препарата примерно на 30 мин. После этого те же измерения механических параметров проводили для правой (экспериментальной) мышцы. В качестве ингибиторов использовали хлорид гадолиния (неспецифический блокатор МА каналов) и Dooku1 (специфический блокатор МА каналов Piezo1).

Животные были разделены на 2 группы (по 8 животных в каждой группе):
Гадолиний + механическое воздействие – Gd^{3+}+S (правая мышца);
Контроль + механическое воздействие – C+S (левая мышца);
Dooku1 + механическое воздействие – Dooku1+S (правая мышца);
Контроль + механическое воздействие – C+S (левая мышца).

Конечная концентрация хлорида гадолиния (Santa Cruz Biotechnology, США) в растворе составляла 10 мкМ [19]. Dooku1 (MedChemExpress, США) добавляли в раствор до достижения концентрации 20 мкМ [20].

Механические измерения на мышцах ex vivo

Перед диссекцией камбаловидной мышцы измеряли оптимальную длину этой мышцы с помощью цифрового штангенциркуля *in situ*, располагая коленный и голеностопный суставы под прямым углом. После инкубации в соответствующем растворе мышцу прикрепляли к датчику силы с одного конца и к фиксированному крючку с другого конца в ванночке с регулируемой температурой (28ºC) (Aurora Scientific Bath 809C). Оптимальную длину мышцы (L0) заново определяли с помощью серии одиночных сокращений (0.5 мс, 10 В). Максимальная сила одиночных сокращений (Ptw, twitch) измерялась при L0. Тест на тетаническое изометрическое сокращение также выполняли при L0. Мышцу стимулировали в течение 2 с при частоте импульсов 40 Гц двумя параллельными платиновыми электродами. Оптимальная частота и длительность импульсов была определена в предварительных экспериментах. Регистрировали максимальную силу тетанического сокращения (Po) и время полурасслабления (½ RT, relaxation time).

Далее на этой же мышце измерялись пассивные механические свойства. Мышца устанавливалась на расслабленную длину (slack length, Ls), т. е. длину, при которой можно зафиксировать минимальное напряжение. Затем мышца растягивалась на 25% от Ls со скоростью 50 мм/с. Мышца находилась в растянутом состоянии в течение двух минут, после чего возвращалась на Ls. Фиксировалась максимальная сила в начале теста на растяжение (Pt, maximal passive tension) и в конце (Ps, passive steady tension), так как пассивное напряжение постепенно снижалось (расслабление напряжения) и выходило на плато ко второй минуте теста. Поскольку считается, что моделью мышцы могут служить 2 эластичных элемента, соединенные параллельно через вязкостной элемент, то из полученных данных рассчитывался модуль Юнга для двух эластичных элементов (E1 и E2) [21]. Также рассчитывались удельные значения указанных параметров. Для нормализации показателей вычисляли физиологическую площадь поперечного сечения мышцы (фППС): сырой вес мышцы, деленный на оптимальную длину, умноженную на плотность мышцы (1.07 г/см^3) [22]. Измерения силы были выполнены с использованием датчика силы Aurora Scientific 305C-LR с частотой сбора данных 10 кГц. Обработку данных проводили с помощью Aurora Scientific 615A Analysis Software Suite.

Статистическая обработка данных

Данные представлены как средние ± σ. Для проверки нормальности распределения выборки использовались тесты Колмогорова–Смирнова (> 0.20) и Шапиро–Уилка (> 0.05). Для определения различий между контрольной и экспериментальной мышцей (из одного животного) применялся парный *t*-тест. Статистически значимыми считались различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Применение Gd^{3+} на фоне тестовой деформации, используемой для расчета параметров пассивной жесткости, привело к снижению максимального пассивного напряжения на 16% (рис. 1c), пассивного устойчивого напряжения на 13% (рис. 1d) и их удельных значений на 16 и 12% (табл. 1) соответственно. При действии Gd^{3+} наблюдалось также значимое снижение модуля Юнга для максимального пассивного напряжения на 20% (табл. 1). Эти данные свидетельствуют о том, что Gd^{3+} мог блокировать работу МА катионных каналов и связанное с ними поступление Ca^{2+}, что в итоге привело к невозможности образования поперечных актин-миозиновых мостиков. При этом параметры активного сокращения мышц не изменились при инкубации мышцы в растворе Gd^{3+} (рис. 1a, b; табл. 1).

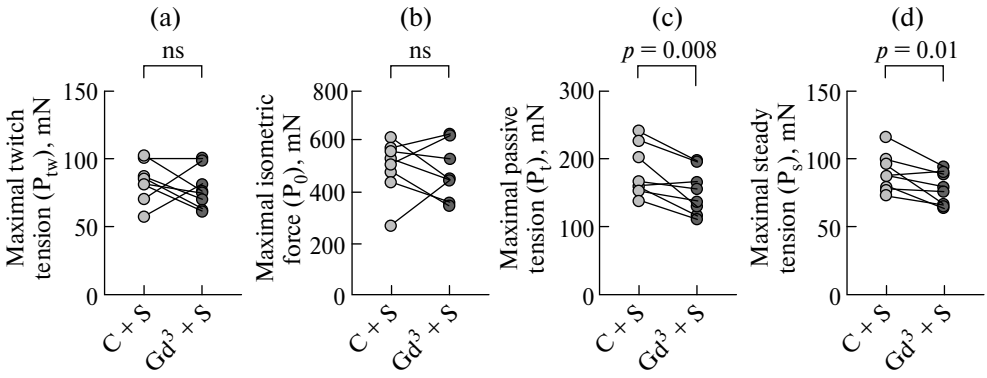

Рис. 1. Механические свойства камбаловидной мышцы крысы в норме и при действии хлорида гадолиния: максимальное одиночное сокращение (a), максимальная изометрическая сила (b), максимальное пассивное напряжение (c), пассивное устойчивое напряжение (d).

Поскольку известно, что Gd^{3+} является относительно неспецифичным ингибитором в отношении МА каналов [19], и данное обстоятельство может приводить к ложноположительным выводам, мы изучили более избирательное ингибирование активируемого растяжением ионного канала Piezo1. Документально подтверждено, что каналы Piezo1 проницаемы для ионов кальция [10], и в связи с этим вызванное активацией Piezo1 повышение уровня Ca^{2+} могло бы способствовать повышению мышечной жесткости.

Тем не менее в настоящем исследовании инкубация мышц в растворе Dooku1 (ингибитор каналов Piezo1) привела к небольшому снижению показателей пассивного напряжения, которое не достигло статистической значимости (рис. 2c, d; табл. 1).

Интересно, что специфическое блокирование МА каналов Piezo1 с помощью Dooku1 приводило к снижению параметров активного сокращения мышц: силы одиночного сокращения (на 21%) (рис. 2a), максимальной изометрической силы (на 25%)

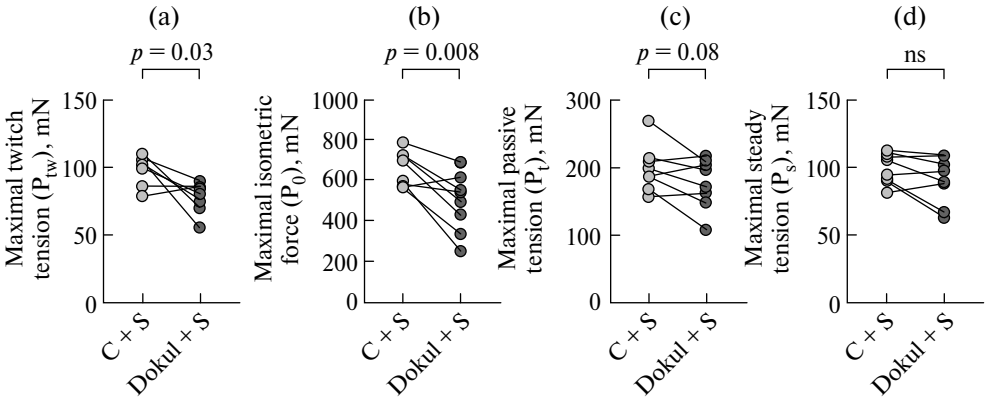

Рис. 2. Механические свойства камбаловидной мышцы крысы в норме и при действии Dooku1. Максимальное одиночное сокращение (a), максимальная изометрическая сила (b), максимальное пассивное напряжение (c), пассивное устойчивое напряжение (d).

Таблица 1. Механические свойства камбаловидной мышцы крысы

	Gd^{3+}	**Dooku1**
P_{tw}, mN	–4.9 ± 7.3 (5.94%)	–21.0 ± 7.5 (21.1%)*
P_o, mN	–17.9 ± 43.2 (3,63%)	–165.4 ± 45.5 (25.2%)*
sP_o, mN/mm^2	–2.7 ± 9.2 (2.47%)	–25.7 ± 12.3 (20.1%)$^{\#}$
½ RT, ms	–12.6 ± 56.2 (4.52%)	–48.2 ± 56.1 (18.4%)
P_t, mN	–29.5 ± 8.1 (16.3%)*	–21.6 ± 10.7 (10.8%)$^{\#}$
P_s, mN	–11.6 ± 3.6(12.8%)*	–8.8 ± 4.5 (8.8%)
sP_t, N/cm^2	–0.6 ± 0.2 (16.2%)*	–0.1 ± 0.2 (3.4%)
sP_s, N/cm^2	–0.2 ± 0.1 (12.4%)$^{\#}$	–0.03 ± 0.1 (1.9%)
E1, N/cm^2	–1.6 ± 0.5 (20.1%)*	–0.4 ± 0.6 (4.9%)
E2, N/cm^2	–1.0 ± 0.5 (12.4%)$^{\#}$	–0.1 ± 0.5 (1.93%)

Примечание. Данные представлены как разница средних между контрольной и экспериментальной группой ± σ. P_{tw} – максимальное одиночное сокращение; P_o – максимальная изометрическая сила; sP_o – удельная изометрическая сила; ½ RT – время полурасслабления; P_t – максимальное пассивное напряжение; P_s – пассивное устойчивое напряжение; sP_t – удельное пассивное напряжение; sP_s – удельное устойчивое напряжение; E1 – модуль Юнга для первого упругого элемента; E2 – модуль Юнга для второго упругого элемента. * – $p < 0.05$, # – тенденция к значимости различий ($p < 0.1$).

(рис. 2b); удельной изометрической силы (на 20%) (табл. 1). Полученные данные указывают на то, что МА каналы Piezo1 активируются в процессе мышечного сокращения и участвуют в его регуляции.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенных экспериментов с применением ингибиторного анализа показали, что МА каналы, которые могут быть блокированы Gd^{3+}, стимулируются пассивным растяжением мышцы и участвуют в регуляции мышечной жесткости. Важно подчеркнуть, что использование гадолиния, к сожалению, не позволяет установить, какие именно канальные белки могли выступать в роли такого регулятора. Известно, что гадолиний является относительно неспецифичным ингибитором и, помимо МА каналов, может блокировать кальциевые каналы L-типа и депо-управляемые кальциевые каналы [23–25], Na^+ и K^+ каналы [26, 27], Ca^{2+}-активируемые хлоридные каналы [28], пуриновые P2X каналы [29] при концентрациях, которые могут перекрываться с теми, которые используются для блокирования МА каналов.

В свете сказанного далее мы исследовали специфическое блокирование МА каналов Piezo1 с помощью Dooku1 и обнаружили, что инкубация камбаловидных мышц в растворе данного препарата привела к значимому снижению силы вызванного одиночного и тетанического изометрического сокращения. Таким образом, было показано, что каналы Piezo1 активируются в процессе мышечного сокращения и участвуют в его регуляции. Необходимо отметить, что первоначально Dooku1 позиционировался как ингибитор активности каналов Piezo1, индуцируемой активатором данных каналов Yoda1: конкурентное связывание Dooku1 с каналом Piezo1 снижало связывание с ним Yoda1 [17]. Однако в последующих экспериментах, проведенных на гладкомышечных клетках, был продемонстрирован независимый от Yoda1 эффект [12]. Dooku1 также ингибировал механически вызванное поступление Ca^{2+} в одонтобласты [11] и механически вызванную активацию коннексин-43-содержащих белковых каналов в остеоцитах [13]. Эти данные совместно с полученными в нашем исследовании свидетельствуют о том, что Dooku1 может подавлять не только химически активированную работу каналов Piezo1, но и их активацию, вызванную с помощью механической деформации мембраны клетки.

Наши данные также хорошо согласуются с ранее опубликованной работой Dienes с соавт., которые показали, что Dooku1 снижает пиковую силу одиночного и тетанического сокращения камбаловидной мышцы на 76 ± 20 и 67 ± 18% соответственно [20]. Авторы объясняют полученные результаты наличием конститутивно открытых каналов Piezo1 в мембране мышечного волокна.

Таким образом, мы предполагаем, что участие каналов Piezo1 в реализации мышечного сокращения может осуществляться путем дополнительной активации миофибриллярных структур ионами кальция, концентрация которых в мышечном волокне увеличивается в результате деятельности этих каналов. В данном случае можно говорить о процессе Piezo-механического сопряжения в регуляции мышечного сокращения. При этом каналы Piezo1, вероятно, не участвуют в механическом ответе на пассивное растяжение мышцы, так как их специфическое блокирование не меняет характера ответа.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Б. С. Ш., К. В. С. Сбор данных – К. В. С., С. А. Т., К. А. З. Обработка данных – К. В. С., С. А. Т. Написание и редактирование манускрипта – К. В. С., Б. С. Ш.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Института медико-биологических проблем РАН, тема № FMFR-2024-0032.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование на животных проводили в соответствии с рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях (Совет Европы № 123, Страсбург, 1986 г.). Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (протокол № 638 от 18.04.2023 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Schleip R, Naylor IL, Ursu D, Melzer W, Zorn A, Wilke HJ, Lehmann-Horn F, Klingler W* (2006) Passive muscle stiffness may be influenced by active contractility of intramuscular connective tissue. Med Hypotheses 66(1): 66–71. https://doi.org/10.1016/j.mehy.2005.08.025
2. *Wang K, McCarter R, Wright J, Beverly J, Ramirez-Mitchell R* (1993) Viscoelasticity of the sarcomere matrix of skeletal muscles. The titin-myosin composite filament is a dual-stage molecular spring. Biophys J 64(4): 1161–1177. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(93)81482-6
3. *Rydahl SJ, Brouwer BJ* (2004) Ankle stiffness and tissue compliance in stroke survivors: A validation of Myotonometer measurements. Arch Phys Med Rehabil 85(10): 1631–1637. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2004.01.026
4. *Minozzo FC, Rassier DE* (2010) Effects of blebbistatin and Ca^{2+} concentration on force produced during stretch of skeletal muscle fibers. Am J Physiol Cell Physiol 299(5): C1127–C1135. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00073.2010
5. *Bagni MA, Cecchi G, Colombini B* (2005) Crossbridge properties investigated by fast ramp stretching of activated frog muscle fibres. J Physiol 565(Pt 1): 261–268. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.085209
6. *Colombini B, Nocella M, Benelli G, Cecchi G, Bagni MA* (2008) Effect of temperature on cross-bridge properties in intact frog muscle fibers. Am J Physiol Cell Physiol 294(4): C1113–C1117. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00063.2008
7. *Chinn M, Getz EB, Cooke R, Lehman SL* (2003) Force enhancement by PEG during ramp stretches of skeletal muscle. J Muscle Res Cell Motil 24(8): 571–578. https://doi.org/10.1023/b:jure.0000009846.05582.89
8. *Armstrong RB, Duan C, Delp MD, Hayes DA, Glenn GM, Allen GD* (1993) Elevations in rat soleus muscle $[Ca^{2+}]$ with passive stretch. J Appl Physiol (1985) 74(6): 2990–2997. https://doi.org/10.1152/jappl.1993.74.6.2990
9. *Sigurdson W, Ruknudin A, Sachs F* (1992) Calcium imaging of mechanically induced fluxes in tissue-cultured chick heart: Role of stretch-activated ion channels. Am J Physiol 262(4 Pt 2): H1110–H1115. https://doi.org/10.1152/ajpheart.1992.262.4.H1110
10. *Bosutti A, Giniatullin A, Odnoshivkina Y, Giudice L, Malm T, Sciancalepore M, Giniatullin R, D'Andrea P, Lorenzon P, Bernareggi A* (2021) "Time window" effect of Yoda1-evoked Piezo1 channel activity during mouse skeletal muscle differentiation. Acta Physiol (Oxf) 233(4): e13702. https://doi.org/10.1111/apha.13702
11. *Matsunaga M, Kimura M, Ouchi T, Nakamura T, Ohyama S, Ando M, Nomura S, Azuma T, Ichinohe T, Shibukawa Y* (2021) Mechanical Stimulation-Induced Calcium Signaling by Piezo1 Channel Activation in Human Odontoblast Reduces Dentin Mineralization. Front Physiol 12: 704518. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.704518
12. *Szabo L, Balogh N, Toth A, Angyal A, Gonczi M, Csiki DM, Toth C, Balatoni I, Jeney V, Csernoch L, Dienes B* (2022) The mechanosensitive Piezo1 channels contribute to the arterial medial calcification. Front Physiol 13: 1037230. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1037230

13. *Zeng Y, Riquelme MA, Hua R, Zhang J, Acosta FM, Gu S, Jiang JX* (2022) Mechanosensitive piezo1 calcium channel activates connexin 43 hemichannels through PI3K signaling pathway in bone. Cell Biosci 12(1): 191. https://doi.org/10.1186/s13578-022-00929-w
14. *Bagriantsev SN, Gracheva EO, Gallagher PG* (2014) Piezo proteins: regulators of mechanosensation and other cellular processes. J Biol Chem 289 (46): 31673–31681. https://doi.org/10.1074/jbc.R114.612697
15. *Borbiro I, Rohacs T* (2017) Regulation of Piezo Channels by Cellular Signaling Pathways. Curr Top Membr 79: 245–261. https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2016.10.002
16. *Syeda R, Xu J, Dubin AE, Coste B, Mathur J, Huynh T, Matzen J, Lao J, Tully DC, Engels IH, Petrassi HM, Schumacher AM, Montal M, Bandell M, Patapoutian A* (2015) Chemical activation of the mechanotransduction channel Piezo1. Elife 4. https://doi.org/10.7554/eLife.07369
17. *Evans EL, Cuthbertson K, Endesh N, Rode B, Blythe NM, Hyman AJ, Hall SJ, Gaunt HJ, Ludlow MJ, Foster R, Beech DJ* (2018) Yoda1 analogue (Dooku1) which antagonizes Yoda1-evoked activation of Piezo1 and aortic relaxation. Br J Pharmacol 175(10): 1744–1759. https://doi.org/10.1111/bph.14188
18. *Kinsella JA, Debant M, Parsonage G, Morley LC, Bajarwan M, Revill C, Foster R, Beech DJ* (2024) Pharmacology of PIEZO1 channels. Br J Pharmacol 181(23): 4714–4732. https://doi.org/10.1111/bph.17351
19. *Hamill OP, McBride DW Jr* (1996) The pharmacology of mechanogated membrane ion channels. Pharmacol Rev 48(2): 231–252.
20. *Dienes B, Szentesi P, Szabo L, Magyar ZE, Kovacs Z, Bazsó T, Gönczi MLC* (2024) The contribution of PIEZO1 channels modifies our picture of skeletal muscle contraction. Biophys J 123(3). https://doi.org/10.1016/j.bpj.2023.11.1539
21. *Anderson J, Li Z, Goubel F* (2001) Passive stiffness is increased in soleus muscle of desmin knockout mouse. Muscle Nerve 24(8): 1090–1092. https://doi.org/10.1002/mus.1115
22. *El-Khoury R, Bradford A, O'Halloran KD* (2012) Chronic hypobaric hypoxia increases isolated rat fast-twitch and slow-twitch limb muscle force and fatigue. Physiol Res 61(2): 195–201. https://doi.org/10.33549/physiolres.932140
23. *Biagi BA, Enyeart JJ* (1990) Gadolinium blocks low- and high-threshold calcium currents in pituitary cells. Am J Physiol 259(3 Pt 1): C515–C520. https://doi.org/10.1152/ajpcell.1990.259.3.C515
24. *Sadoshima J, Takahashi T, Jahn L, Izumo S* (1992) Roles of mechano-sensitive ion channels, cytoskeleton, and contractile activity in stretch-induced immediate-early gene expression and hypertrophy of cardiac myocytes. Proc Natl Acad Sci USA 89(20): 9905–9909. https://doi.org/10.1073/pnas.89.20.9905
25. *Yeung EW, Allen DG* (2004) Stretch-activated channels in stretch-induced muscle damage: Role in muscular dystrophy. Clin Exp Pharmacol Physiol 31(8): 551–556. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2004.04027.x
26. *Elinder F, Arhem P* (1994) Effects of gadolinium on ion channels in the myelinated axon of Xenopus laevis: Four sites of action. Biophys J 67(1): 71–83. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(94)80456-4
27. *Hongo K, Pascarel C, Cazorla O, Gannier F, Le Guennec JY, White E* (1997) Gadolinium blocks the delayed rectifier potassium current in isolated guinea-pig ventricular myocytes. Exp Physiol 82(4): 647–656. https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004053
28. *Tokimasa T, North RA* (1996) Effects of barium, lanthanum and gadolinium on endogenous chloride and potassium currents in Xenopus oocytes. J Physiol 496(Pt 3): 677–686. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021718
29. *Nakazawa K, Liu M, Inoue K, Ohno Y* (1997) Potent inhibition by trivalent cations of ATP-gated channels. Eur J Pharmacol 325(2-3): 237–243. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(97)00120-9

The Effect of Mechano-Activated Channels on Passive Stiffness and Contraction Amplitude of Slow Muscle

K. V. Sergeeva[a, #], S. A. Tyganov[a], K. A. Zaripova[a], B. S. Shenkman[a]

[a]Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[#]e-mail: Sergeeva_xenia@mail.ru

Recently, highly specialized mechano-activated (MA) channels of the Piezo family have aroused increased interest among researchers in connection with their participation in the processes of mechanotransduction in mammals. However, until now nothing has been known about the role of these channels in the regulation of muscles' passive stiffness and contraction. We assumed that both passive deformation of an isolated muscle and induced twitch and tetanic muscle contraction would lead to activation of Piezo1 channels, which increases passive stiffness and amplitude of muscle contraction. The purpose of the study: using Dooku1, a specific inhibitor of Piezo1 channels, and gadolinium chloride, a non-specific inhibitor of MA channels, to evaluate the possible contribution of Piezo1 channels to the mechanical response of an isolated slow muscle to passive deformation and induced twitch and tetanic contractions. The experimental results showed that the use of gadolinium led to a significant decrease in the parameters of passive muscle stiffness. Interestingly, the specific blocking of the Piezo1 MA channels using Dooku1 did not affect these parameters. At the same time, when the isolated muscle was treated with Dooku1 solution, the maximum tension of the induced twitch and tetanic contractions decreased by 21 and 25% respectively. Also, incubation of muscles in Gd^{3+} solution did not lead to significant changes in the parameters of induced contraction. Thus, we have shown that the MA channels, which can be blocked by Gd^{3+}, are stimulated by passive muscle stretching and are involved in the regulation of muscle stiffness. At the same time, the Piezo1 MA channels are activated during muscle contraction and are involved in its regulation. It can be assumed that the participation of calcium channels in maintaining muscle stiffness and in the realization of muscle contraction can be carried out by additional activation of myofibrils with calcium ions, the concentration of which in muscle fiber increases as a result of the activity of these channels.

Keywords: skeletal muscle, stiffness, mechano-activated channels, Piezo1