

УЧАСТИЕ ВТОРИЧНЫХ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПОСРЕДНИКОВ В МЕХАНИЗМАХ ПУРИНЕРГИЧЕСКОГО ТОРМОЖЕНИЯ ИНТЕСТИНАЛЬНЫХ ГЛАДКИХ МЫШЦ

Поступила 15.03.10

Исследовали роль аденилатциклазы и фосфолипазы С в обеспечении АТФ-индуцированного расслабления сокращения гладких мышц *taenia coli* морской свинки, вызванного аппликацией карбахолина. Показано, что в контрольных условиях АТФ-индуцированное расслабление карбахолинового сокращения полностью осуществляется через активацию инозитолтрифосфатчувствительных (InsP_3 -) рецепторов саркоплазматического ретикулума гладкомышечных клеток (ГМК). В условиях блокирования фосфолипазы С расслабляющее влияние АТФ на гладкие мышцы продолжает в основном опосредоваться активацией InsP_3 -рецепторов, но в этот процесс вовлекаются и другие механизмы. В АТФ-индуцированном расслаблении при передаче сигнала от пуринорецепторов через активацию фосфолипазы С в условиях параллельной активации аденилатциклазы форсколином участвуют внутриклеточные процессы, которые также включают в себя активацию InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума ГМК и других механизмов. После блокирования фосфолипазы С соединением U73122 и активации аденилатциклазы форсколином АТФ-индуцированное расслабление может быть полностью устранено под влиянием ингибитора InsP_3 -рецепторов 2-АРВ. Это свидетельствует о том, что в указанных условиях данное расслабление осуществляется исключительно через InsP_3 -рецепторы саркоплазматического ретикулума ГМК. В то же время АТФ-индуцированное расслабление при активации фосфолипазы С и инактивации аденилатциклазы также почти полностью реализуется с участием InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума. Однако исключение активности фосфолипазы С в условиях блокирования аденилатциклазы и InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума ГМК приводит к восстановлению АТФ-индуцированного расслабления, в которое вовлекаются другие внутриклеточные процессы. Следовательно, в пуринергическое торможение гладких мышц вовлечены два внутриклеточных посредника – фосфолипаза С и аденилатциклаза. Под их действием запускаются множественные внутриклеточные сигнальные пути. На степень их участия может влиять исходное функциональное состояние интестинальных ГМК. Эти изменения всегда ориентированы на поддержание нормального функционирования органов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гладкие мышцы, фосфолипаза С, аденилатциклаза, карбахолин, АТФ, инозитолтрифосфат.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что многие процессы контроля функций нервных и мышечных клеток реализуются с участием цАМФ-зависимых внутриклеточных механизмов. Показано, например, что клонированные P_2U_{11} -рецепторы через посредство различных

G-белков ($G_{q/11}$ и G_s) сопряжены как с фосфолипазой С (PLC), так и с аденилатциклазой [1, 2].

Результаты наших предыдущих исследований показали, что пуринергические тормозящие синаптические потенциалы (ТСП) в интестинальных гладких мышцах (ГМ) в условиях блокирования PLC угнетались лишь частично. С учетом этого факта был сделан вывод о том, что в генерацию неадренергических ТСП задействованы PLC-зависимый и PLC-независимый пути [3, 4]. Представлялось вероятным, что PLC-независимый компонент ТСП реа-

¹ Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: phil@biph.kiev.ua (И. Б. Филиппов);

irinav@biph.kiev.ua (И. А. Владимирова).

лизуется с участием цАМФ-зависимых механизмов.

Ацетилхолин (АХ) оказывает возбуждающее действие на висцеральные ГМ посредством активации мускариновых (M2- и M3-) холинорецепторов. Длительная аппликация негидролизуемого агониста АХ карбахолина (КХ) сопровождается стойкой деполяризацией мембраны гладкомышечных клеток (ГМК) и сокращением ГМ, включающим в себя фазный и последующий тонический компоненты [5]. M3-рецепторы через посредство белка $G_{q/11}$ активируют PLC, а M2-рецепторы через посредство белков $G_{i/o}$ тормозят активность аденилатциклазы; таким образом, данные рецепторы участвуют в регуляции внутриклеточного уровня цАМФ.

Целью настоящей работы было определение роли PLC и аденилатциклазы в механизмах пуринергического торможения интестинальных ГМ во время холиннергического возбуждения.

МЕТОДИКА

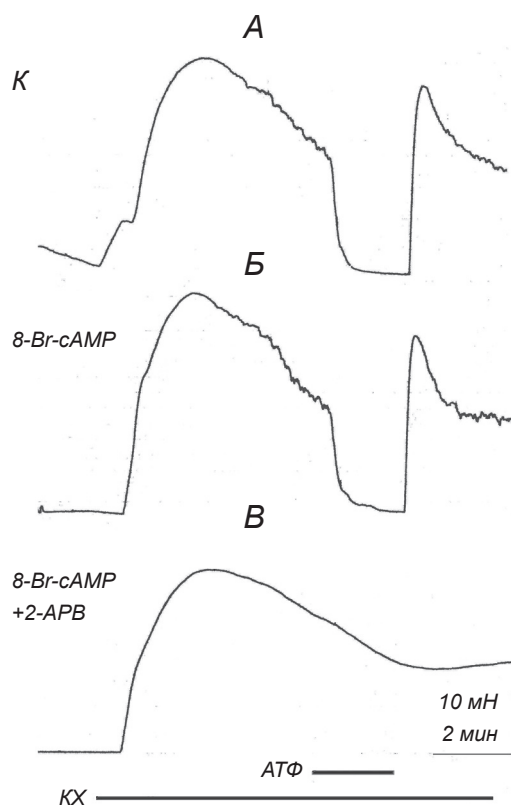
Исследования тормозных влияний на ГМ в условиях одновременной активации возбуждающих холинорецепторов и тормозящих пуринергических рецепторов проводились на мышечных полосках *taenia coli* морской свинки с использованием методики тензометрии. Сокращение мышечных полосок вызывалось аппликацией 10 мкМ КХ на протяжении 10 мин. На 5-й мин действия КХ в раствор Кребса, окружающий полоски, вносили на 2 мин 1.0 мМ АТФ, что приводило к расслаблению этих полосок в результате активации метаболитных P2U-рецепторов. Затем препараты еще в течение 3 мин отмывали раствором Кребса, содержащим в себе КХ. Интервалы между аппликациями КХ составляли не менее 30–40 мин. Вещества, использованные в экспериментах, были произведены фирмой «Sigma-Aldrich» (США).

Мышечные полоски предварительно выдерживали в рабочей камере с проточным раствором Кребса на протяжении 60 мин. Раствор Кребса имел следующий состав (в миллимолях на 1 л): NaCl – 120.4, KCl – 5.9, NaHCO₃ – 15.5, NaH₂PO₄ – 1.2, MgCl₂ – 1.2, CaCl₂ – 2.5, глюкоза – 11.5 (pH 7.3). Сократительные реакции, измеренные с использованием емкостного тензодатчика, записывали на жесткий диск компьютера с помощью программы «pClamp 8» («Axon Instruments», США) и параллельно регистрировали на бумагу самописца. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с применением программы «Origin Pro 7.5».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных нами ранее исследований неадренергических ТСП в неадропинизированных ГМ показали, что повышение внутриклеточной концентрации цАМФ (с помощью аппликации ее мембранопроникающей формы дибутирил-цАМФ) существенно не изменяло уровня мембранного потенциала ГМК, амплитуды и продолжительности ТСП [6]. Эффективность АТФ-индуцированного расслабления мышечных полосок на фоне их КХ-индуцированного сокращения при увеличении уровня цАМФ в клетках в условиях длительной инкубации ГМ в растворе Кребса, содержащем в себе 8-Br-cAMP (рис. 1, Б), также статистически достоверно не отличалась от контрольной. Блокирование InsP₃-рецепторов с помощью 2-APB (100 мкМ) [7] на фоне увеличенной внутриклеточной концентрации цАМФ не приводило к значительному уменьшению амплитуды тонического компонента КХ-индуцированного сокращения, но почти полностью угнетало, как и в контроле, АТФ-индуцированное расслабление ГМ (В). Эти данные свидетельствуют о том, что в условиях увеличения внутриклеточного уровня цАМФ в ГМК расслабляющее действие АТФ продолжает реализовываться через активацию InsP₃-рецепторов.

В следующей серии экспериментов мы старались выяснить, в какой степени PLC вовлечена в обеспечение АТФ-индуцированного расслабления; применялся блокатор указанного фермента U73122. Преинкубация мышечных полосок в растворе Кребса с добавлением 10 мкМ U73122 не приводила к статистически достоверным изменениям амплитуд ни КХ-индуцированного сокращения, ни АТФ-индуцированного расслабления и следующего за последним посттормозного сокращения мышечных полосок (рис. 2, Б). В то же время совместное блокирование и PLC, и InsP₃-рецепторов обуславливало почти полное устранение расслабляющего действия АТФ (В). Приведенные результаты согласуются с полученными нами ранее данными [5] и свидетельствуют о том, что в реализацию PLC-независимого компонента АТФ-индуцированного расслабления ГМ вовлечены InsP₃-рецепторы. Это соответствует существующим представлениям о внутриклеточных механизмах генерации пуринергических постсинаптических потенциалов. Однако наличие небольшого устойчивого к действию 2-APB расслабления (В) предполагает существование и других механизмов, участвующих в АТФ-индуцированном расслаблении ГМ в условиях блокирования PLC.

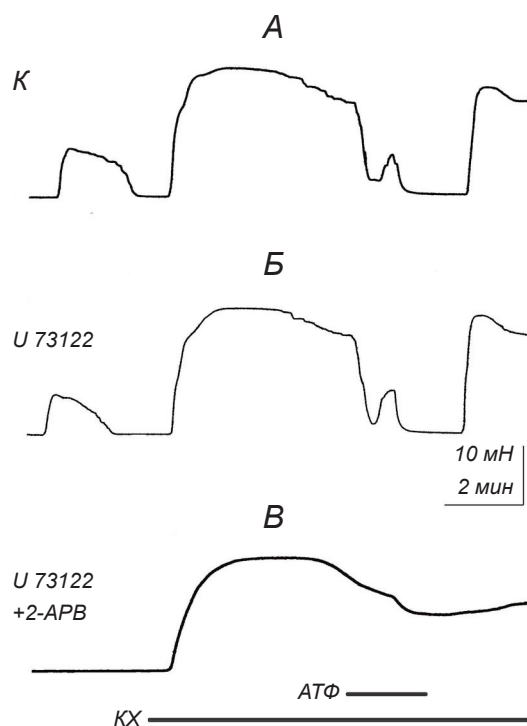


Р и с. 1. Угнетение АТФ-индуцированного расслабления вызванного карбахолином (КХ) сокращения мышечных полосок *taenia coli* под влиянием блокатора инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов 2-АРВ в условиях увеличенного содержания цАМФ в клетках.

А – вызванное КХ (10 мкМ) сокращение и последующее расслабление мышечной полоски под влиянием 1 мМ АТФ в контроле (К); В – отсутствие изменений эффектов после повышения концентрации цАМФ с помощью аппликации его мембранопроникающей формы 8-Вr-сАМР (100 мкМ) на 30-й мин действия последнего; В – уменьшение амплитуды АТФ-индуцированного расслабления на 60-й мин действия раствора Кребса, содержащего в себе 8-Вr-сАМР, под влиянием блокатора InsP_3 -рецепторов 2-АРВ (100 мкМ, 30 мин) при их совместном действии.

Р и с. 1. Пригнічення АТФ-індукованого розслаблення викликаного карбахоліном скорочення м'язових смужок *taenia coli* під впливом блокатора інозитолтрифосфатних рецепторів 2-АРВ в умовах збільшеного вмісту цАМФ у клітинах.

В следующей серии экспериментов мы исследовали влияние повышения внутриклеточного уровня цАМФ (в результате действия 0.1 мкМ активатора аденилатциклазы форсколина [8]) на АТФ-индуцированное расслабление КХ-вызванного сокращения ГМ. В этих условиях расслабление мышечных полосок статистически достоверно не от-



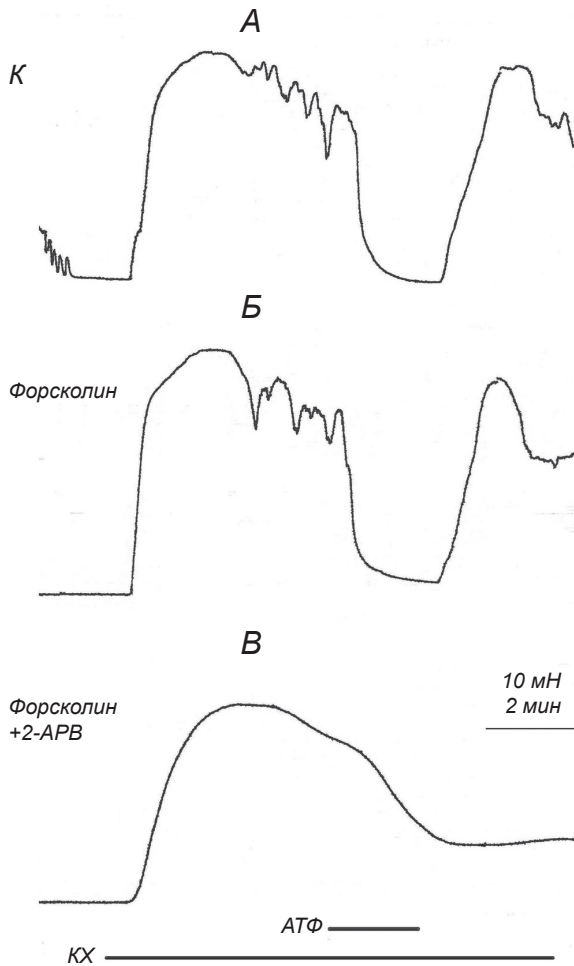
Р и с. 2. Угнетающее действие блокатора инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов 2-АРВ на АТФ-индуцированное расслабление мышечных полосок *taenia coli* в условиях блокирования фосфолипазы С (PLC).

А – контроль (К); В – отсутствие изменений карбахолин- и АТФ-индуцированных эффектов после 30-минутной преинкубации в растворе, содержащем в себе 10 мкМ блокатора PLC U73122 (10 мкМ, 30-я мин его действия); В – значительное уменьшение расслабляющего действия АТФ после добавления в раствор, содержащий в себе U73122, блокатора InsP_3 -рецепторов 2-АРВ (100 мкМ, 30 мин).

Р и с. 2. Пригнічуюча дія блокатора інозитолтрифосфатних рецепторів 2-АРВ на АТФ-індуковане розслаблення м'язових смужок *taenia coli* в умовах блокування фосфоліпази С.

личалось от контроля (рис. 3, В). Преинкубация препаратов в растворе Кребса, содержащем в себе форсколин и блокатор InsP_3 -рецепторов 2-АРВ, приводила к уменьшению амплитуды вызванного КХ сокращения примерно на 15–20 % и параллельному уменьшению расслабляющего действия АТФ примерно на 30 % (В). Подавление расслабляющего действия АТФ указывает на то, что при активации аденилатциклазы форсколином АТФ-индуцированное расслабление мышечных полосок осуществляется частично через вовлечение InsP_3 -рецепторов, а частично за счет других внутриклеточных механизмов передачи сигнала. Необходимо отметить, что во всех случаях под влиянием 2-АРВ посттормозное сокращение полосок угнеталось; это наблюдение свидетельствует о том, что InsP_3 -

рецепторы вовлечены в генерацию посттормозного возбуждения ГМ. Отсутствие статистически достоверного подавления АТФ-индуцированного расслабления ГМ на фоне их КХ-индуцированного сокращения в условиях действия форсколина несколько противоречит полученным нами ранее данным о временном угнетении пуринаргических ТСП фор-



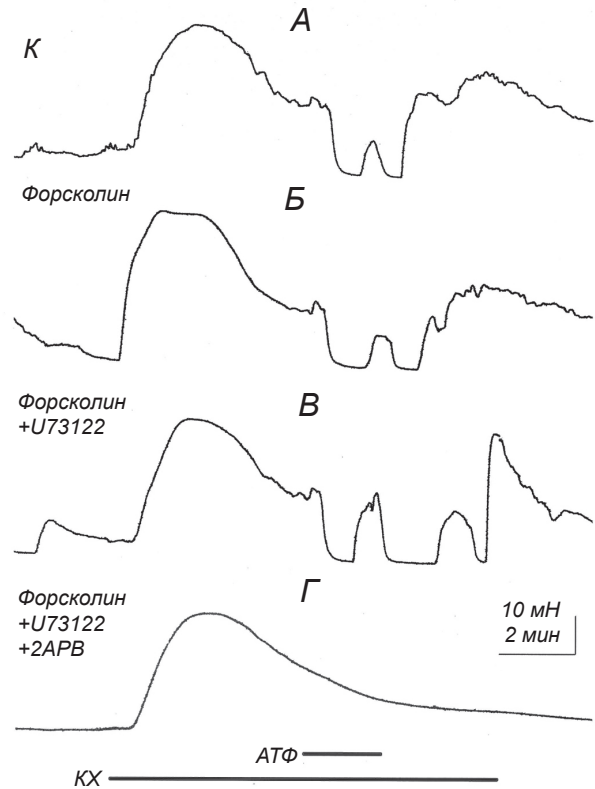
Р и с. 3. Частичное уменьшение АТФ-индуцированного расслабления вызванного карбахолином (КХ) сокращения мышечных полосок *taenia coli* под влиянием блокатора инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов 2-АРВ в условиях активации аденилатциклазы форсколином.

А – контроль (К); Б – отсутствие изменений после 30-минутной преинкубации в растворе, содержащем в себе 0.1 мкМ форсколина; В – уменьшение расслабляющего действия АТФ после добавления в раствор, содержащий в себе форсколин, 100 мкМ блокатора InsP_3 -рецепторов 2-АРВ.

Р и с. 3. Часткове зменшення АТФ-індукованого розслаблення викликаного карбахоліном скорочення м'язових смужок *taenia coli* під впливом блокатора інозитолтрифосфатних рецепторів 2-АРВ в умовах активації аденилатциклази форсколіном.

сколином в условиях активации мускариновых рецепторов АХ, выделившимся из нервных терминалей холинергических нейронов. Выявленная способность форсколина угнетать неадренергические ТСП полностью исчезала в условиях блокирования атропином мускариновых холинорецепторов мембраны ГМК [6].

Для выяснения вопроса, в какой степени PLC-зависимые и PLC-независимые механизмы АТФ-индуцированного расслабления ГМ задействованы

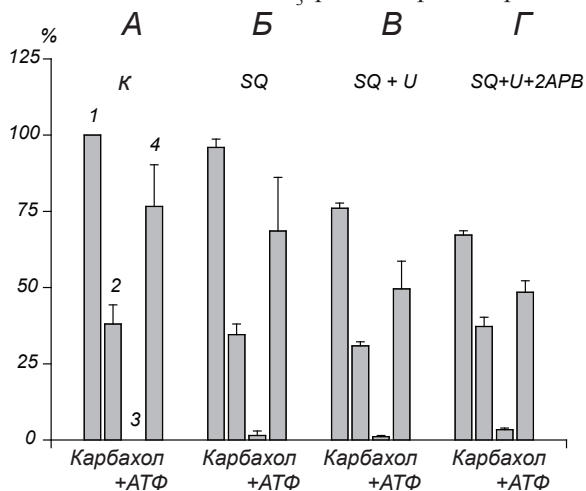


Р и с. 4. Блокирование АТФ-индуцированного расслабления и посттормозного сокращения мышечных полосок *taenia coli* под влиянием блокатора инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов 2-АРВ в условиях активации аденилатциклазы форсколином и блокирования фосфолипазы С (PLC).

А – контроль (К); Б – отсутствие изменений на 30-й мин активации аденилатциклазы форсколином (1 мкМ); В – отсутствие существенных изменений АТФ-индуцированного расслабления после добавления в раствор Кребса с форсколином блокатора PLC U73122 (10 мкМ); Г – полное угнетение АТФ-вызванного расслабления и посттормозного сокращения блокатором InsP_3 -рецепторов 2-АРВ (100 мкМ, 30 мин) в условиях блокирования PLC-зависимого пути и активации аденилатциклазы.

Р и с. 4. Блокування АТФ-індукованого розслаблення та постгальмівного скорочення м'язових смужок *taenia coli* під впливом блокатора інозитолтрифосфатних рецепторів 2-АРВ в умовах активації аденилатциклази форсколіном і блокування фосфоліпази С.

в процесс пуринергического торможения в условиях влияния форсколина, был использован U73122 как эффективный блокатор PLC. Оказалось, что АТФ-индуцированное расслабление мышечных полосок на фоне действия форсколина, а также совместного влияния форсколина и блокатора PLC полностью сохранялось (рис. 4, *В*). В то же время блокирование InsP_3 -рецепторов с помощью 2-АРВ сопровождалось полным угнетением АТФ-индуцированного расслабления (*Г*). Следовательно, в условиях исключения PLC-зависимого пути из механизмов передачи сигнала от пуринорецепторов (т. е. сохранения лишь PLC-независимого пути передачи) и активации аденилатциклазы (приводящей к увеличению уровня цАМФ) АТФ-индуцированное расслабление продолжает обеспечиваться активацией InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума ГМК (*Г*).



Р и с. 5. Диаграмма усредненных значений, показывающая отсутствие угнетающего действия блокатора инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов 2-АРВ на АТФ-индуцированное расслабление вызванного карбахолином (КХ) сокращения в условиях угнетения аденилатциклазы и фосфолипазы С (PLC).

А – контроль (*К*); *Б* – угнетение аденилатциклазы с помощью блокатора аденилатциклазы SQ 22,536 (10 мкМ, 30 мин); *В* – совместное действие SQ 22,536 (60 мин) и блокатора PLC U73122 (10 мкМ на 30-й мин его действия); *Г* – устойчивость АТФ-индуцированного расслабления вызванного КХ сокращения и посттормозного возбуждения к блокатору InsP_3 -рецепторов 2-АРВ (100 мкМ, 30 мин) в условиях блокирования PLC-зависимого пути и угнетения аденилатциклазы. 1 – максимальная амплитуда вызванного КХ сокращения; 2 – амплитуда тонического компонента вызванного КХ сокращения; 3 – значение АТФ-индуцированного расслабления; 4 – амплитуда посттормозного сокращения.

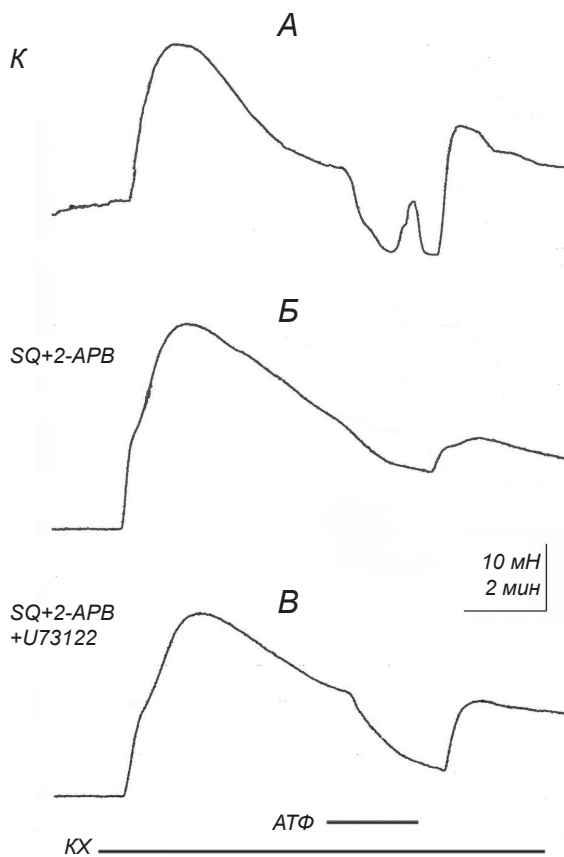
Р и с. 5. Діаграма усереднених значень, що показує відсутність пригнічуючої дії блокатора інозитолтрифосфатних рецепторів 2-АРВ на АТФ-індуковане розслаблення викликаного карбахоліном скорочення в умовах пригнічення аденілатциклази та фосфоліпази С.

матического ретикулума ГМК (*Г*).

В аспекте целей нашей работы представлялось также важным исследовать эффекты не только активатора, но и ингибитора аденилатциклазы. Блокирование аденилатциклазы с помощью SQ 22,536 (10 мкМ) [9] (т. е. в условиях уменьшения внутриклеточного уровня цАМФ в ГМК) не обуславливало статистически достоверных изменений ни амплитуды КХ-индуцированного сокращения, ни величин АТФ-индуцированного расслабления, ни степени посттормозного возбуждения ГМ (рис. 5, *Б*). Совместное блокирование PLC и аденилатциклазы также не приводило к статистически достоверным изменениям амплитуды АТФ-индуцированного расслабления, хотя несколько уменьшало максимальные амплитуды вызванного КХ сокращения и посттормозного возбуждения (*В*). Дополнительное блокирование InsP_3 -рецепторов с применением 2-АРВ в этих условиях (сохранение PLC-независимого пути и угнетение аденилатциклазы) не оказывало достоверного влияния на максимальную амплитуду вызванного КХ сокращения и его тонический компонент, а также на АТФ-индуцированное расслабление и посттормозное сокращение исследованных ГМ (*Г*).

В то же время в условиях сохранения передачи сигналов от пуринорецепторов через PLC-зависимый путь и блокирования аденилатциклазы (т. е. в условиях, когда уровень цАМФ в клетках был уменьшен) действие блокатора InsP_3 -рецепторов 2-АРВ проявлялось как значительное угнетение АТФ-индуцированного расслабления ГМ (рис. 6, *Б*; 7, *Б*). Необходимо подчеркнуть, что угнетающее действие 2-АРВ на АТФ-индуцированное расслабление в значительной степени уменьшалось, если PLC была блокирована с помощью U73122. Применение блокаторов в указанном порядке дало возможность продемонстрировать, что АТФ-индуцированное расслабление в данном случае осуществляется за счет вовлечения PLC-независимого механизма (рис. 6, *В*; 7, *В*). Это свидетельствовало о существенном изменении внутриклеточного пути передачи сигналов.

Следовательно, напрашивается вывод о том, что в АТФ-индуцированном расслаблении ГМ в случаях комбинированной активации аденилатциклазы (что обуславливало повышение уровня цАМФ) и PLC-зависимого пути в ГМК функционируют внутриклеточные механизмы, основанные на активации как InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума, так и других механизмов (рис. 3, *В*). Одним из возможных аспектов участия аденилатциклазы в пуринергическом торможении ГМК в условиях повышения вну-

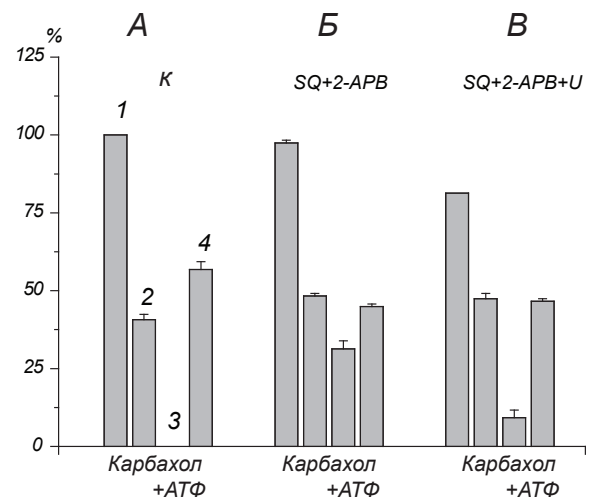


Р и с. 6. Угнетение АТФ-индуцированного расслабления вызванного карбахолином сокращения при совместном действии блокаторов аденилатциклазы и инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов и восстановление АТФ-индуцированного расслабления при исключении зависящего от фосфолипазы С (PLC) пути передачи сигнала.

A – контроль (*K*); *B* – угнетение АТФ-вызванного расслабления в условиях совместного действия блокаторов аденилатциклазы SQ 22,536 (10 мкМ, 30 мин) и InsP_3 -рецепторов 2-APB (100 мкМ, 30 мин); *B* – восстановление угнетающего действия блокатора InsP_3 -рецепторов 2-APB на АТФ-индуцированное расслабление после блокирования PLC при помощи U 73122 (10 мкМ, 30 мин) в присутствии SQ 22,536 (10 мкМ, 60 мин).

Р и с. 6. Пригнічення АТФ-індукованого розслаблення викликаного карбахоліном скорочення при сумісній дії блокаторів аденилатциклази та інозитолтрифосфатних рецепторів і відновлення АТФ-індукованого розслаблення при виключенні залежного від фосфоліпази С шляху передачі сигналу.

триклеточного уровня цАМФ может быть активация кальцийзависимых калиевых каналов большой проводимости, присутствующих в мембране ГМК [10]. Косвенным подтверждением этого может служить тот факт, что ТСП в ГМК *taenia coli* морской свинки при совместном блокировании кальцийзависимых калиевых каналов малой и большой проводимости полно-



Р и с. 7. Диаграмма усредненных значений интенсивности расслабляющего действия АТФ на вызванное карбахолином сокращение при совместном блокировании аденилатциклазы и инозитолтрифосфатных (InsP_3 -) рецепторов.

A – контроль (*K*); *B* – совместное блокирование аденилатциклазы с помощью блокаторов аденилатциклазы SQ 22,536 (10 мкМ, 30 мин) и InsP_3 -рецепторов 2-APB (100 мкМ, 30 мин); *B* – совместное действие блокаторов аденилатциклазы, InsP_3 -рецепторов и фосфолипазы С U73122 (10 мкМ) на 30-й мин его действия. Остальные обозначения те же, что и на рис. 5.

Р и с. 7. Діаграма усереднених значень інтенсивності розслаблюючої дії АТФ на викликане карбахоліном скорочення при сумісному блокуванні аденилатциклази та інозитолтрифосфатних рецепторів.

стью угнетаются [11]. АТФ-индуцированное расслабление ГМ в случае инактивации PLC-зависимого пути в условиях одновременной активации аденилатциклазы (т. е. повышения уровня цАМФ) осуществляется полностью через InsP_3 -рецепторы саркоплазматического ретикулума ГМК (рис. 4, Г). В то же время АТФ-индуцированное расслабление при активации PLC-зависимого пути в условиях инактивации аденилатциклазы (что соответствует уменьшению уровня цАМФ) осуществляется почти полностью за счет участия InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума ГМК (рис. 6, Б; 7, Б). Высвобождение кальция из InsP_3 -чувствительного кальциевого депо саркоплазматического ретикулума ГМК приводит к активации кальцийзависимых калиевых каналов малой проводимости [3]. В условиях же инактивации аденилатциклазы блокирование PLC-зависимого пути (т. е. включение PLC-независимого пути) вызывает восстановление АТФ-индуцированного расслабления, которое в подобных изменившихся условиях, однако, осуществляется уже не через активацию InsP_3 -рецепторов саркоплазматического ретикулума ГМК (рис. 6, В; 7, В).

Следовательно, в пуринергическое торможение ГМ вовлечены два внутриклеточных посредника – PLC и аденилатциклаза. Под их действием запускаются множественные внутриклеточные сигнальные пути; степень их участия может изменяться в зависимости от исходного или модифицированного функционального состояния интестинальных ГМ. Эти изменения всегда ориентированы на поддержание адекватного функционирования органов, включающих в себя интестинальные ГМК.

І. Б. Філіппов¹, І. А. Владімірова¹, Є. М. Кулієва¹,
Я. М. Шуба¹

УЧАСТЬ ВТОРИННИХ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ
ПОСЕРЕДНИКІВ У МЕХАНІЗМАХ
ПУРИНЕРГІЧНОГО ГАЛЬМУВАННЯ
ІНТЕСТИНАЛЬНИХ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ

¹Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України,
Київ (Україна).

Резюме

Досліджували роль аденилатциклази та фосфоліпази С у забезпеченні АТФ-індукованого розслаблення скорочення гладеньких м'язів *taenia coli* морської свинки, викликаного аплікацією карбахоліну. Показано, що в контрольних умовах АТФ-індуковане розслаблення карбахолінового скорочення повністю здійснюється через активацію інозитолтрифосфатчувливих (InsP₃-) рецепторів саркоплазматичного ретикулула гладеньком'язових клітин (ГМК). В умовах блокування фосфоліпази С розслаблюючий ефект АТФ щодо гладеньких м'язів продовжує в основному опосередковуватись активацією InsP₃-рецепторів, але в цей процес залучаються й інші механізми. В АТФ-індукованому розслабленні в умовах передачі сигналу від пуринорецепторів через активацію фосфоліпази С в умовах активації аденилатциклази форсколіном беруть участь внутрішньоклітинні процеси, які також включають в себе активацію InsP₃-рецепторів саркоплазматичного ретикулула ГМК та інших механізмів. Після блокування фосфоліпази С сполукою U73122 та активації аденилатциклази форсколіном АТФ-індуковане розслаблення може бути повністю усунуто під впливом інгібітора InsP₃-рецепторів 2-АРВ. Це свідчить про те, що в зазначених умовах дане розслаблення здійснюється винятково через InsP₃-рецептори саркоплазматичного ретикулула ГМК. У той же час АТФ-індуковане розслаблення при активації фосфоліпази С та інактивації аденилатциклази також майже повністю реалізується за участю InsP₃-рецепторів саркоплазматичного ретикулула. Проте виключення фосфоліпази С в умовах блокування аденилатциклази та InsP₃-рецепторів саркоплазматичного ретикулула призводить до відновлення АТФ-індукованого розслаблен-

ня, в котре залучені інші внутрішньоклітинні процеси. Отже, у пуринергічне гальмування гладеньких м'язів залучені два внутрішньоклітинних посередники – фосфоліпаза С та аденилатциклаза. Внаслідок їх дії запускаються множинні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи. На міру їх участі може впливали вихідний функціональний стан інтестинальних гладеньком'язових клітин. Ці зміни завжди орієнтовані на підтримання нормального функціонування органів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. J. M. Boeynaems, D. Communi, P. Savi, and J. M. Herbert, "P2Y receptors: in the middle of the road," *Trends Pharmacol. Sci.*, **21**, 1-3 (2000).
2. M. P. Abbracchio, G. Burnstock, J. M. Boeynaems, et al., "Update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy," *Pharmacol. Rev.*, **58**, 281-234 (2006)
3. M. F. Shuba, I. A. Vladimirova, and I. B. Philippov, "Mechanism of the inhibitory action of neurotransmitters on smooth muscles," *Нейрофізіологія / Neurophysiology*, **35**, № 3/4, 252-261 (2003).
4. M. V. Kustov, V. V. Tsvilovskyy, A. V. Zholos, et al., "ATP-induced Calcium release from the intracellular calcium store in guinea-pig ileal myocytes," *Нейрофізіологія / Neurophysiology*, **35**, № 3/4, 357 (2003).
5. И. А. Владимірова, И. Б. Филиппов, Е. М. Кулієва и др., "Отличия клеточных механизмов АТФ- и норадреналин-индуцированного торможения висцеральных гладких мышц в условиях селективной и совместной активации М2- или М3-холинорецепторов", *Нейрофізіологія / Neurophysiology*, **39**, № 1, 22-31 (2007).
6. И. Б. Филиппов, И. А. Владимірова, В. Я. Ганиткевич, М. Ф. Шуба, "Модуляция аденилатциклазой взаимодействия возбуждающих и тормозящих синаптических влияний на гладкие мышцы", *Нейрофізіологія / Neurophysiology*, **36**, № 3/4, 438-445 (2004).
7. T. Maruyama, T. Kanaji, S. Nakada, et al., "2-APB, 2-aminoethoxydiphenyl borate, a membrane-permeable modulator of Ins(1,4,5)P₃-induced Ca²⁺ release," *J. Biochem.*, **122**, No. 3, 498-505 (1997).
8. Ю. В. Данилович, "Активні метаболіти азоту і кисню змінюють вміст сАМР в міоцитах матки, оброблених прогестероном", *Укр. біохім. журн.*, **77**, № 4, 124-128 (2005).
9. E. Fabbri, L. Brighenti, and C. Ottolenghi. "Inhibition of adenylate cyclase of catfish and rat hepatocyte membranes by 9-(tetrahydro-2-furyl)adenine (SQ 22536)," *J. Enzyme Inhib.*, **5**, No. 2, 87-98 (1991).
10. X. B. Zhou, C. Arntz, S. Kamm, et al., "A molecular switch for specific stimulation of the BKCa channel by cGMP and cAMP kinase," *J. Biol. Chem.*, **276**, 43239-43245 (2001).
11. М. Ф. Шуба, І. А. Владимірова, Е. О. Єрмакова та ін., "Механізми неадренергічної нехолінергічної синаптичної передачі в гладеньком'язових клітинах шлунково-кишкового тракту", *Нейрофізіологія / Neurophysiology*, **30**, № 4/5, 265-270 (1998).