

УДК 577.352.4:576.32

DOI 10.20538/1682-0363-2016-5-105–112

Для цитирования: Орлов С.Н., Смаглий Л.В., Гусакова С.В., Рыдченко В.С., Бирулина Ю.Г., Байков А.Н., Васильев В.Н., Суханова Г.А., Федорова Т.С., Ласукова Т.В. Роль калиевой проводимости мембраны в механизмах действия внеклеточного АТФ на сократительную активность сосудистых гладкомышечных клеток. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (5): 105–112

## Роль калиевой проводимости мембраны в механизмах действия внеклеточного АТФ на сократительную активность сосудистых гладкомышечных клеток

Орлов С.Н.<sup>1,2</sup>, Смаглий Л.В.<sup>1</sup>, Гусакова С.В.<sup>1</sup>, Рыдченко В.С.<sup>1</sup>, Бирулина Ю.Г.<sup>1</sup>, Байков А.Н.<sup>1</sup>, Васильев В.Н.<sup>1</sup>, Суханова Г.А.<sup>1</sup>, Федорова Т.С.<sup>1</sup>, Ласукова Т.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
Россия, 119991, г. Москва, Ленинские Горы, 1

<sup>3</sup> Томский государственный педагогический университет (ТГПУ)  
Россия, 634061, г. Томск, ул. Киевская, 60а

### РЕЗЮМЕ

**Цель работы** – исследовать влияние внеклеточного аденозин-5'-трифосфата (АТФ), являющегося активатором пуриnergических рецепторов, на сократительную активность кольцевых сегментов аорты крысы, предсокращенных активацией  $\alpha_1$ -адренорецепторов фенилэфрином, а также оценить вклад отдельных компонентов калиевой проводимости мембраны в механизмы действия АТФ.

**Материал и методы.** Исследование сократительной активности гладкомышечных клеток проводили методом механографии на сегментах грудного отдела аорты крысы как с интактным эндотелием, так и деэндотелизованных. АТФ (1–1000 мкМ) оказывал дозозависимое релаксирующее действие на предсокращенные фенилэфрином сегменты с интактным эндотелием и леэндотелизованные. Чтобы оценить вклад калиевых каналов в механизмы действия АТФ, использовали неселективный блокатор калиевых каналов тетраэтиламмоний (10 мМ), блокатор АТФ-чувствительных калиевых каналов глибенкламид и блокатор потенциал-зависимых калиевых каналов 4-аминопиридин.

**Результаты.** Использование указанных блокаторов показало, что действие АТФ на сегменты с интактным эндотелием зависит от АТФ-чувствительных калиевых каналов, а на деэндотелизованные сегменты – от АТФ-чувствительных и потенциал-зависимых калиевых каналов.

**Ключевые слова:** АТФ, гладкомышечные клетки, калиевые каналы.

### ВВЕДЕНИЕ

В 1972 г. Burnstock ввел понятие пуриnergической сигнализации [1], в которой в качестве внеклеточных сигнальных молекул выступали внеклеточные пурины (прежде всего аденозин-5'-трифосфат (АТФ), аденозин и пиримидин).

✉ Смаглий Людмила Вячеславовна, e-mail: lud.smagly@yandex.ru

Эти соединения высвобождаются из клеток посредством диффузии через мембранные гемиканалы, активации мембранных транспортеров, везикулярного экзоцитоза [2–5], либо из гибнущих клеток, что также является ранним индикатором их повреждения [3, 6]. Среди пуриnergических рецепторов выделяют метаботропные рецепторы аденозина P1 и нуклеотидные рецепторы P2,

которые подразделяются на подклассы P2Y (метаболические) и P2X (ионотропные) [2, 7–11]. Как P2X, так и рецепторы P2Y активируются действием АТФ. АТФ-зависимые механизмы трансдукции сигнала выявлены практически во всех типах клеток и тканях [12].

Известно, что пуринергическая сигнальная система играет ключевую роль в регуляции сосудистого тонуса. Механизмы такой регуляции варьируют в зависимости от типа кровеносного сосуда, его физиологической роли и вида животного организма [8, 13, 14].

Показано, что констрикторное действие АТФ обусловлено активацией P2X1-рецепторов мембран гладкомышечных клеток (ГМК) и усилением входящих натриевых и кальциевых токов [15, 16]. С другой стороны, при действии на рецепторы мембран эндотелиальных клеток P2Y1 и P2Y2 АТФ способствует повышению внутриклеточной концентрации кальция ( $Ca^{2+}$ ) с последующей активацией эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и усилением синтеза NO, который, в свою очередь, влияет на расслабление подлежащих ГМК [17, 18]. Расслабление сосудистых ГМК (СГМК) тесно связано с выходящими калиевыми токами. Предположительно, эти токи могут играть важную роль в АТФ-индуцированном расслаблении СГМК.

В связи с этим целью работы являлось изучение роли калиевой проводимости мембраны в механизмах действия внеклеточного АТФ на сократительную активность сосудистых гладкомышечных клеток.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили изолированные гладкомышечные сегменты грудного отдела аорты самцов крыс линии Wistar весом 180–250 г. Грудную часть аорты помещали в физиологически сбалансированный солевой раствор Кребса, удаляли жировую и соединительную ткань и выделяли кольцевые сегменты шириной 2–3 мм. Использовались сегменты с сохраненным эндотелием и деэндотелизированные. Эндотелий удаляли механически, вращением деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 мин непосредственно перед выполнением эксперимента.

Измерение механического напряжения (МН) сосудистых гладкомышечных клеток проводилось с использованием четырехканальной механографической установки Myobath II и аппаратно-программного обеспечения LAB-TRAX-4/16 (Германия). Для этого кольцевые сегменты аорты крысы фиксировали в рабочей камере объемом 10 мл и растягивали нагрузкой 500 мг. Камеру заполняли

физиологическим раствором Кребса и термостатировали при 37 °С в течение 50 мин при pH = 7,4. Сокращения индуцировали гиперкалиевым раствором, который готовили путем эквимольного замещения 30 мМ NaCl на KCl, а также активатором  $\alpha_1$ -адренорецепторов фенилэфрином (ФЭ) в концентрации 10 мкМ. Амплитуду сократительных ответов рассчитывали в процентах от амплитуды сокращения, вызванного гиперкалиевым раствором Кребса или ФЭ, которые принимали за 100%.

Анализ полученных результатов проводили при помощи программы SPSS Statistics 17.0.1 for Windows. Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий нормальности Колмогорова – Смирнова. Сформированные выборки не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для проверки статистических гипотез были использованы непараметрические критерии. Для оценки достоверности влияния АТФ на величину МН сегментов аорты крысы использовали Т-критерий Уилкоксона для зависимых выборок. Для сравнения величин МН сегментов при действии используемых концентраций АТФ в различных условиях (наличие и отсутствие блокатора калиевых каналов, деэндотелизированные сегменты и сегменты с интактным эндотелием) использовали U-критерий Манна – Уитни для независимых выборок. Фактические данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ( $Q_1$ – $Q_3$ ). Различия считали статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Сократительные ответы сосудистых гладких мышц инициируются многими физиологически активными веществами. В данной работе для изучения роли АТФ в регуляции сократительной активности СГМК в качестве предсокращающего агента использовали агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов ФЭ, действующий через активацию протеинкиназы С. Известно, что рецепторы к АТФ располагаются как на мембране гладкомышечных клеток, так и на мембране эндотелиальных клеток. Поэтому проводили сравнение действия АТФ на сегменты аорты крысы с интактным эндотелием и деэндотелизированные.

### Влияние АТФ на сократительную активность сегментов аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином

На фоне ФЭ-индуцированного сокращения сегментов аорты крысы с интактным эндотелием добавление АТФ в концентрациях 1–1000 мкМ приводило к дозозависимому снижению МН

сосудов как с интактным эндотелием, так и де-эндотелизированных (рис.). В обоих случаях достоверное снижение величины МН относительно величины исходного сокращения наблюдалось при действии АТФ в концентрациях 10–1000 мкМ

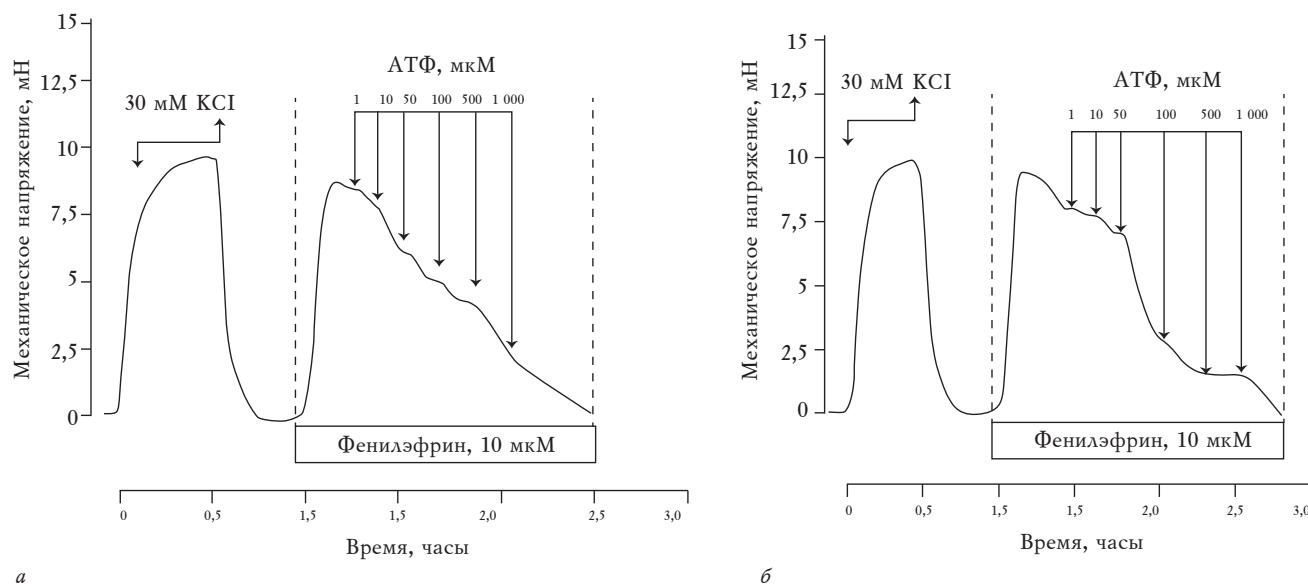


Рисунок. Влияние АТФ (1–1000 мкМ) на предсокращенные фенилэфрином (10 мкМ) сегменты аорты крысы: а – с интактным эндотелием; б – деэндотелизированные. Стрелками показано добавление и удаление соответствующих растворов

### Исследование роли калиевой проводимости мембраны в механизмах действия АТФ на сократительную активность сегментов аорты крысы

Для исследования роли калиевой проводимости мембраны в механизмах сосудорасслабляющего действия АТФ использовали блокатор кальций-активируемых ( $K^+_{Ca^{2+}}$ -каналов) и потенциал-зависимых ( $K^+_V$ -каналов) каналов тетраэтиламмоний (ТЭА) в концентрации 10 мМ, блокатор АТФ-чувствительных калиевых каналов глибенкламид (ГБ) в концентрации 10 мкМ и блокатор потенциал-зависимых калиевых каналов 4-аминопиридин (4-АП) в концентрации 1 мМ.

Добавление блокатора потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов ТЭА (10 мМ) на фоне сокращения гладкомышечных сегментов с интактным и удаленным эндотелием приводило к увеличению МН на 30%. В обоих случаях ТЭА устранял релаксирующее действие 1–100 мкМ АТФ. Напротив, наблюдалось увеличение МН сегментов. В то же время величина релаксирующего действия 500–1000 мкМ АТФ достоверно снижалась (табл. 1, 2).

( $p < 0,05$ ). При этом у деэндотелизированных сегментов величина расслабления при действии АТФ в концентрациях 50–1000 мкМ была достоверно выше по сравнению с сегментами с интактным эндотелием ( $p < 0,05$ ).

Блокатор АТФ-чувствительных калиевых каналов глибенкламид в концентрации 10 мкМ увеличивал механическое напряжение гладкомышечных сегментов аорты крыс на 10,2 (3,8; –2,4)%. Добавление ГБ (10 мкМ) приводило к снижению степени расслабления сегментов с интактным эндотелием на всем диапазоне концентраций АТФ (см. табл. 1). При действии глибенкламида на деэндотелизированные сегменты наблюдалось незначительное снижение величины расслабления в ответ на АТФ (1–50 мкМ), тогда как АТФ в концентрациях свыше 100 мкМ вызывал статистически значимое увеличение МН сегментов (см. табл. 2).

Блокатор потенциал-зависимых калиевых каналов 4-АП (1 мМ) приводил к увеличению МН сегментов аорты крысы, предсокращенных ФЭ, на 31,4 (2,5; –10,3)% от контрольного ФЭ-индуцированного сокращения. На фоне действия 4-АП на сегменты с интактным эндотелием релаксирующий эффект всех действующих концентраций АТФ увеличивался (см. табл. 1). Противоположный эффект получен на деэндотелизированных сегментах, предсокращенных ФЭ. На фоне действия 4-АП наблюдалось достоверное снижение величины расслабления в ответ на действие АТФ (10–1000 мкМ) (см. табл. 2).

Т а б л и ц а 1

Влияние блокаторов калиевых каналов на механическое напряжение кольцевых сегментов аорты крысы с интактным эндотелием, предсокращенных фенилэфрином, $Me (Q_1-Q_3)$						
Группа	Концентрация АТФ, мкМ					
	1	10	50	100	500	1000
Без блокаторов (контроль)	91,1 (81,9–93,9)	71,6 (49,3–85,0)	50,8 (48,5–54,5)	41,9 (39,2–45,8)	32,6 (25,2–35,5)	17,3 (2,0–16,0)
+ ТЭА (10 мМ)	105,2* (102,1–111,7)	110,5* (104,5–118,1)	121,4* (112,7–134,2)	138,7* (119,6–145,5)	91,2* (89,8–101,0)	37,2* (31,3–44,7)
+ ГБ (10 мкМ)	96,8 (87,7–98,2)	87,8 (81,6–96,5)	62,9* (55,7–65,4)	59,6* (55,7–62,0)	46,6* (32,0–49,5)	44,3 (41,7–47,6)
+ 4-АП (1 мМ)	85,9 (80,4–92,3)	70,9 (60,4–73,1)	35,8* (31,1–40,4)	12,1* (3,0–14,0)	0*	0*

\* различия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), количество образцов  $n = 8$ .

Т а б л и ц а 2

Влияние блокаторов калиевых каналов на механическое напряжение деэндотелизированных кольцевых сегментов аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином, $Me (Q_1-Q_3)$						
Группа	Концентрация АТФ, мкМ					
	1	10	50	100	500	1000
Без блокаторов (контроль)	96,1 (88,4–98,2)	87,9 (86,3–89,7)	29,9 (23,8–46,3)	17,4 (15,9–22,0)	16,5 (13,8–19,3)	13,3 (11,5–17,9)
+ ТЭА (10 мМ)	100,4 (100,0–100,7)	103,1* (95,4–108,0)	109,5* (104,3–112,8)	107,7* (98,0–112,8)	80,5* (76,6–85,2)	28,9* (25,6–30,0)
+ ГБ (10 мкМ)	96,9 (94,5–98,0)	95,5* (94,2–96,4)	94,9* (91,8–96,4)	146,9* (144,6–149,2)	117,9* (111,6–127,7)	104,8* (101,6–108,5)
+ 4-АП (1 мМ)	97,2 (96,9–97,9)	95,5* (93,7–97,0)	98,8* (96,1–101,3)	105,9* (103,3–110,9)	81,1* (71,9–89,6)	29,0* (25,6–33,4)

\* различия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), количество образцов  $n = 8$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

Пуринергическая сигнальная система играет важную роль в регуляции тонуса кровеносных сосудов. Пуринергические рецепторы повсеместно экспрессированы на мембранах гладкомышечных и эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, что дает основание считать их патологическим субстратом развития сосудистых заболеваний [19]. Внеклеточный АТФ, действуя на P2X- и P2Y-рецепторы кровеносных сосудов, может как стимулировать, так и ингибировать сократительную активность СГМК. При этом сосудистые эффекты АТФ зависят от ряда условий, среди которых можно выделить условие целостности и достаточности функции эндотелия, а также механическое напряжение, при котором действует АТФ.

Согласно полученным данным, эффекты АТФ на ФЭ-индуцированное сокращение характеризовались дозозависимым снижением МН аорты крысы, при этом удаление эндотелия увеличивало величину расслабления. Действуя на пуринергические рецепторы эндотелиальных клеток, АТФ активирует входящие кальциевые токи, стимулирует эндотелиальную NO-синтазу и синтез NO. NO диффундирует в ГМК, где активирует

растворимую гуанилатциклазу, увеличивает синтез циклический ГМФ (цГМФ). Следует отметить, что eNOS представлена не только в эндотелиальных клетках, но и в ГМК [20]. В исследованиях, проведенных ранее разными авторами, было показано, что цГМФ участвует в активации и потенциал-зависимых, АТФ-чувствительных и кальций-активируемых калиевых каналов. Следовательно, цГМФ, увеличивая выходящий калиевый ток, способствует расслаблению ГМК [21–23].

Расслабление СГМК тесно связано с выходящими калиевыми токами. Исследование роли калиевой проводимости мембраны показало, что в сегментах, предсокращенных гиперкалиевым раствором, действие АТФ зависело только от потенциал-зависимых калиевых каналов. В сегментах, предсокращенных ФЭ, релаксирующий эффект АТФ снижался при действии глибенкламида и ТЭА. В сегментах с интактным эндотелием, в отличие от деэндотелизированных, блокирование потенциал-зависимых калиевых каналов 4-АП не снижало расслабляющего действия АТФ. Учитывая эти данные, а также тот факт, что ТЭА примерно в равной степени блокирует кальций-активируемые (большой и промежуточной проводимости) и потенциал-зависимые



калиевые каналы [24], можно предположить участие кальций-активируемых калиевых каналов в механизмах действия АТФ. Данное предположение подтверждается также работами других авторов [25]. Изменение действия АТФ с расслабляющего на сократительное в условиях блокирования калиевой проводимости мембраны может быть связано с угнетением активности eNOS. Показано, что в продукции оксида азота эндотелиальными клетками задействованы кальций-активируемые калиевые каналы малой и промежуточной проводимости [26]. Так как решающую роль при активации этих каналов играет выходящий калиевый ток, можно предположить, что активация других калиевых каналов будет способствовать аналогичному эффекту. С другой стороны, релаксирующее действие АТФ в деэндоотелизированных сегментах, в отличие от сегментов с интактным эндотелием, зависело от активности потенциал-зависимых калиевых каналов. Возможно, потенциал-зависимые калиевые токи при действии АТФ на пуриnergические рецепторы эндотелиальных клеток играют меньшую роль в сравнении с другими типами калиевых каналов так, что их блокирование не сказывается на АТФ-индуцированном расслаблении сосудистого препарата.

Другой причиной проявления сократительного эффекта АТФ при ингибировании калиевых каналов может быть превалирующее влияние  $Ca^{2+}$ -зависимой сигнальной системы в ГМК, которая также активируется при действии АТФ через активацию синтеза инозитол-3-фосфата и последующего выхода ионов кальция из внутриклеточных депо [14, 27].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в результате проделанной работы данные указывают на то, что АТФ, действуя на пуриnergические рецепторы мембраны гладкомышечных и (или) эндотелиальных клеток, оказывает релаксирующее действие, более выраженное в деэндоотелизированных сегментах. При этом действие АТФ на сегменты с интактным эндотелием зависит от АТФ-чувствительных калиевых каналов, а на деэндоотелизированные сегменты – от АТФ-чувствительных и потенциал-зависимых калиевых каналов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 16-34-00262\16.

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Для экспериментов использовались животные самцы крыс линии Wistar весом 180–250 г, которых умерщвляли методом цервикальной дислокации в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.). Удостоверяем, что протокол исследования соответствовал этическим нормам и принципам биомедицинских исследований. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике Сибирского государственного медицинского университета (заключение № 3550 от 23 декабря 2013 г.)

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- 1 Burnstock G. Purinergic nerves // *Pharmacological reviews*. 1972; 24 (3): 509–581.
- 2 Abbracchio M.P., Burnstock G., Boeynaems J.-M., Barnard E.A., Boyer J.L., Kennedy C., Knight G.E., Fumagalli M., Gachet C., Jacobson K.A., Weisman G.A. International Union of Pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy // *Pharmacological reviews*. 2006; 58(3): 281–341. DOI:10.1124/pr.58.3.3
- 3 Burnstock G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission // *Physiological reviews*. 2007; 87 (2): 659–797. DOI: 10.1152/physrev.00043.200
- 4 North R.A., Verkhatsky A. Purinergic transmission in the central nervous system // *Pflügers Archiv*. 2006; 452 (5): 479–485. DOI: 10.1007/s00424-006-0060-y
- 5 Pankratov Y., Lalo U., Verkhatsky A., North R.A. Vesicular release of ATP at central synapses // *Pflügers Archiv*. 2006; 452 (5): 589–597. DOI: 10.1007/s00424-006-0061-x
- 6 Burnstock G. Unresolved issues and controversies in purinergic signaling // *The Journal of physiology*. 2008; 586 (14): 3307–3312. DOI: 10.1113/jphysiol.2008.155903
- 7 Abbracchio M.P., Burnstock G., Verkhatsky A., Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview // *Trends in neurosciences*. 2009; 32 (1): 19–29. DOI: 10.1016/j.tins.2008.10.001
- 8 Burnstock G. Purine and pyrimidine receptors // *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2007; 64 (12): 1471–1483. DOI: 10.1007/s00018-007-6497-0
- 9 Burnstock G., Kennedy C. Is there a basis for distinguishing two types of P 2-purinoreceptor? // *General Pharmacology: The Vascular System*. 1985; 16 (5): 433–440.
- 10 Burnstock G. Purinergic receptors // *Journal of theoretical biology*. 1976; 62 (2): 491–503. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706429

11. Ralevic V., Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines // *Pharmacological reviews*. 1998; 50 (3): 413–492.
12. Baroja-Mazo A., Barbera-Cremades M., Pelegri P. The participation of plasma membrane hemichannels to purinergic signaling // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2013; 1828 (1): 79–93. DOI: 10.1016/j.bbamem.2012.01.002
13. Burnstock G. Local mechanisms of blood flow control by perivascular nerves and endothelium // *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*. 1990; 8 (7): S95–106.
14. Burnstock G., Ralevic V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease // *Pharmacological reviews*. 2014; 66 (1): 102–192. DOI: 10.1124/pr.113.008029
15. Aoki K., Zubkov A.Y., Parent A.D., Zhang J.H. Mechanism of ATP-induced  $[Ca^{2+}]_i$  mobilization in rat basilar smooth muscle cells // *Stroke*. 2000; 31 (6): 1377–1385. DOI: 10.1161/01.STR.31.6.1377
16. Koltsova S.V., Maximov G.V., Kotelevtsev S.V., Lavoie J.L., Tremblay J., Grygorczyk R., Hamet P., Orlov S.N. Myogenic tone in mouse mesenteric arteries: evidence for P2Y receptor-mediated,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $2Cl^-$  cotransport-dependent signaling // *Purinergic Signaling*. 2009; 5: 343–349. DOI 10.1007/s11302-009-9160-4
17. da Silva C.G., Specht A., Wegiel B., Ferran C., Kaczmarek E. Mechanism of purinergic activation of endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells // *Circulation*. 2009; 119 (6): 871–879. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.764571
18. Raqeeb A., Sheng J., Ao N., Braun A.P. Purinergic P2Y2 receptors mediate rapid  $Ca^{2+}$  mobilization, membrane hyperpolarization and nitric oxide production in human vascular endothelial cells // *Cell calcium*. 2011; 49 (4): 240–248. DOI: 10.1016/j.ceca.2011.02.008
19. Schuchardt M., Tolle M., van der Giet M. P2Y purinoceptors as potential emerging therapeutic target in vascular disease // *Current pharmaceutical design*. 2012; 18 (37): 6169–6180. DOI: 10.2174/138161212803582504
20. Buchwalow I.B., Podzuweit T., Bocker W., Samoilova V.E., Thomas S., Wellner M., Baba H.A., Robenek H., Schneck-enburger J., Lerch M.M. Vascular smooth muscle and nitric oxide synthase // *The FASEB journal*. 2002; 16 (6): 500–508. DOI: 10.1096/fj.01-0842com
21. Alioua A. The large conductance, voltage-dependent, and calcium-sensitive  $K^+$  channel, Hslo, is a target of cGMP-dependent protein kinase phosphorylation in vivo // *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273 (49): 32950–32956.
22. Han J., Kim N., Kim E., Ho W.-K., Earm Y.E. Modulation of ATP-sensitive potassium channels by cGMP-dependent protein kinase in rabbit ventricular myocytes // *Journal of Biological Chemistry*. 2001; 276 (25): 22140–22147. DOI: 10.1074/jbc.M010103200
23. Robertson B.E., Schubert R., Hescheler J., Nelson M.T. cGMP-dependent protein kinase activates  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels in cerebral artery smooth muscle cells // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1993; 265 (1): 299–303.
24. Sheng J. Z., Braun A.P. Small-and intermediate-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels directly control agonist-evoked nitric oxide synthesis in human vascular endothelial cells // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2007; 293 (1): 458–467. DOI: 10.1152/ajpcell.00036.2007
25. Strøbaek D., Christophersen P., Dissing S., Olesen S.P. ATP activates  $K^+$  and  $Cl^-$  channels via purinoceptor-mediated release of  $Ca^{2+}$  in human coronary artery smooth muscle // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1996; 271 (5): 1463–1471.
26. Félétou M. Calcium-activated potassium channels and endothelial dysfunction: therapeutic options? // *British journal of pharmacology*. 2009; 156 (4): 545–562. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00052.x
27. Govindan S., Taylor E.J.A., Taylor C.W.  $Ca^{2+}$  signalling by P2Y receptors in cultured rat aortic smooth muscle cells // *British journal of pharmacology*. 2010; 160 (8): 1953–1962. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00763.x

Поступила в редакцию 25.08.2016

Утверждена к печати 01.12 2016

**Орлов Сергей Николаевич**, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник, СибГМУ, г. Томск; профессор биологического факультета Московского государственного университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва.

**Смаглий Людмила Вячеславовна**, канд. мед. наук, доцент кафедры биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

**Гусакова Светлана Валерьевна**, д-р мед. наук, зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

**Рыдченко Виктория Сергеевна**, аспирант кафедры биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

**Бирулина Юлия Георгиевна**, ассистент кафедры биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

**Байков Александр Николаевич**, д-р мед. наук, зав. ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

**Васильев Владимир Николаевич**, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой физической культуры и здоровья, СибГМУ, г. Томск.

**Суханова Галина Алексеевна**, д-р биол. наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии, СибГМУ, г. Томск.

**Федорова Татьяна Сергеевна**, д-р мед. наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии, СибГМУ, г. Томск.

**Ласукова Татьяна Викторовна**, д-р биол. наук, профессор кафедры медико-биологических дисциплин, ТГПУ, г. Томск.

(✉) Смаглий Людмила Вячеславовна, e-mail: lud.smagly@yandex.ru

УДК 577.352.4:576.32

DOI 10.20538/1682-0363-2016-5-105–112

For citation: Orlov S.N., Smagliy L.V., Gusakova S.V., Rydchenko V.S., Birulina Yu.G., Baikov A.N., Vasiliyev V.N., Sukhanova G.A., Fedorova T.S., Lasukova T.V. Role of potassium conductance in mechanisms of extracellular atp action on smooth muscle cells contractile activity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016; 15 (5): 105–112

## Role of potassium conductance in mechanisms of extracellular atp impact on the contractive activity of vascular smooth muscle cells

Orlov S.N.<sup>1,2</sup>, Smagliy L.V.<sup>1,2</sup>, Gusakova S.V.<sup>1</sup>, Rydchenko V.S.<sup>1</sup>, Birulina Yu.G.<sup>1</sup>, Baikov A.N.<sup>1</sup>, Vasiliyev V.N.<sup>1</sup>, Sukhanova G.A.<sup>1</sup>, Fedorova T.S.<sup>1</sup>, Lasukova T.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University  
1, Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

<sup>3</sup> Tomsk State Pedagogical University  
60a, Kievskaya Str., Tomsk, 634061, Russian Federation

### ABSTRACT

The **purpose** of this work is to study the influence of extracellular ATP (adenosine-3-phosphate), which is an activator of purinergic receptors, on contractive activity of rat aortic ring segments precontracted by  $\alpha$ 1-adrenoreceptors activation with phenylephrine and evaluate the impact of potassium channels of plasma membrane on mechanisms of ATP activity.

**Material and methods.** Contractive activity of vascular smooth muscle cells was studied using the method of Organ Bath Myography applied to the thoracic aorta segments in male Wistar rats both with intact and removed endothelium. ATP (1–1000 mM) produced a dose-dependent relaxing effect on intact and endothelium-denuded segments precontracted with phenylephrine. To assess the impact of potassium channels on mechanisms of ATP activity we used tetraethylammonium (10 mM), a nonselective potassium-channel blocker, glibenclamide (10 mM), the blocker of ATP-sensitive potassium channels and 4-aminopyridine, a blocker of voltage-gated potassium channels.

**Conclusion.** Our study has shown that the impact of ATP on segments with intact endothelium depends on the ATP-sensitive potassium channels whereas the impact of ATP on endothelium-denuded aortic segments depends on both ATP-sensitive and voltage-gated potassium channels.

**Key words:** ATP, potassium channels, smooth muscle cells.

Received August 25.2016  
Accepted December 01.2016

Orlov Sergei N., DBSc, Professor, Research Officer, Siberian State Medical University, Tomsk; Professor of Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Smagliy Ludmila V., PhD, Associate Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Gusakova Svetlana V., MD, the Chief of Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Rydchenko Victoria S., Postgraduate Student, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Birulina Julia G.**, Assistant Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Baikov Aleksandr N.**, MD, Head of Central Research Laboratory, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Vasiliyev Vladimir N.**, DBSc, Professor, Department of Physical Culture and Health, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Sukhanova Galina A.**, DBSc, Professor, Biochemistry and Molecular Biology Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Fedorova Tatyana S.**, MD, Professor, Biochemistry and Molecular Biology Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Lasukova Tatyana V.**, DBSc, Professor, Department of Biomedical Sciences, Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Smaglyy Ludmila V.**, e-mail: lud.smagly@yandex.ru