

УДК 612

## ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛОКОМОТОРНОЙ И ДЫХАТЕЛЬНОЙ МЫШЦ МЫШИ

© 2019 г. А.Е. Хайруллин\*, А.Ю. Теплов\*, С.Н. Гришин\*, А.М. Фархутдинов\*, А.У. Зиганшин\* \*\*

\*Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

\*\*Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18

E-mail: khajrulli@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.06.2019 г.

После доработки 14.06.2019 г.

Принята к публикации 08.07.2019 г.

Ранее авторами было показано, что гипотермия существенно модулирует влияние АТФ на сократительную активность различных типов локомоторных мышц грызунов. Цель настоящего исследования – сравнить эффекты АТФ на сокращения локомоторной (*m. soleus*) и дыхательной (*m. Diafragma*) мышц мыши при нормальной и пониженной температуре. Показано, что снижение температуры окружающей среды до 22°C вызывает уменьшение силы сокращений *m. Diafragma*, вызванных как электрической стимуляцией, так и карбахолином, и увеличение силы сокращений *m. soleus*. Эффекты АТФ сохраняются на этих мышцах и при снижении температуры, но усиливаются только в условиях карбахолин-вызванных сокращений, что указывает на постсинаптическое расположение термочувствительного звена пуриновой модуляции. Особенности модулирующего эффекта АТФ с преобладанием постсинаптического термочувствительного звена в различных двигательных единицах мыши при гипотермии могут лежать в основе адаптационных механизмов этого мелкого грызуна.

*Ключевые слова:* гипотермия, АТФ, P2-рецепторы, локомоторные и дыхательные мышцы, синапс, сурамин.

DOI: 10.1134/S0006302919050247

Внеклеточные нуклеотиды, в том числе и АТФ, оказывают разнообразные эффекты, влияя на мембранные рецепторы, названные P2-рецепторами [1–3]. Внеклеточное действие АТФ на скелетные мышцы было обнаружено более 40 лет назад [4]. Известно, что АТФ выделяется из нервных окончаний при сокращении скелетных мышц [5,6]. Установлено, что в нервно-мышечных окончаниях лягушки АТФ угнетает выброс медиатора, действуя на P2Y-рецепторы, в то время как конечный продукт ее метаболизма – аденозин – оказывает аналогичное действие посредством аденозиновых рецепторов [7]. Пресинаптическое ингибиторное действие АТФ в нервно-мышечном синапсе было описано в основном на препаратах холоднокровных животных [8–10].

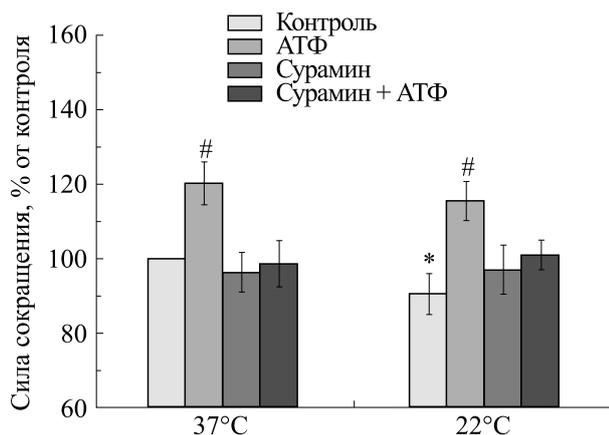
Однако в последнее время накопились данные о том, что АТФ в мионевральных синапсах теплокровных обладает выраженным постсинаптическим эффектом, часто отличающимся по знаку от того, который наблюдается при ее действии на нервную терминаль [12,13].

*Сокращения:* СЭП – стимуляция электрическим полем.

Нами было обнаружено [14], что в медленных двигательных единицах крысы при снижении температуры усиливается как пре-, так и постсинаптическое действие АТФ, но не в равной степени. Возрастающий потенцирующий эффект АТФ с задействованием постсинаптических P2-рецепторов перекрывает и маскирует тоже увеличенный, но в меньшей степени, ингибиторный пресинаптический. Для решения вопроса о том, насколько эти эффекты типичны, в настоящей работе мы исследовали эффекты АТФ на сокращения мышечных препаратов медленной (*m. soleus*) и смешанной (*m. Diafragma*) по типу миофибрилл скелетных мышц мышей при различных температурных режимах и сопоставили пре- и постсинаптические составляющие этих эффектов при различной степени гипотермии.

### МЕТОДЫ

**Подготовительные процедуры.** Эксперименты проводились на изолированных препаратах мышц диафрагмы (*m. Diafragma*) и камбаловидной мышцы (*m. soleus*) белых мышей массой 25–



**Рис. 1.** Влияние температуры на силу сокращений *m. Diaphragma* мышцы, вызванных электрической стимуляцией, в отсутствие и в присутствии АТФ (100 мкМ) и сурамина (100 мкМ). Результаты представлены в виде  $M \pm m$  в % от исходных величин, принятых за 100%;  $n = 10$ , \* –  $p < 0,05$  от эффекта при 37°C, # –  $p < 0,05$  от контроля.

32 г. Животных содержали в специальных боксах на обычном пищевом режиме, со свободным доступом к воде. Для эксперимента животные были обескровлены под анестезией (этамилал натрия, 40 мг/кг), после чего выделяли *m. Diaphragma*, а также *m. soleus* с обеих задних конечностей.

**Условия проведения экспериментов по регистрации параметров сокращения.** Мышечные препараты были помещены вертикально в ванночках объемом 10 мл. Один конец мышцы был зафиксирован, другой конец – при помощи шелковой нити прикреплен к датчику механической активности. Ванночки заполняли модифицированным раствором Кребса следующего состава (в мМ): NaCl – 118,0, KCl – 4,75, CaCl<sub>2</sub> – 2,5, NaHCO<sub>3</sub> – 24,8, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,18, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 1,18, глюкоза – 11,0, pH 7,4 ± 0,1.

Стимуляцию изолированных мышц проводили с помощью электрического стимулятора MultiStim D330 (Digitimer, Великобритания). Сократительные реакции были вызваны прямоугольными электрическими импульсами частотой 0,1 Гц и длительностью 0,5 мс при напряжении 10 В в течение двух минут. Эти параметры обеспечивали стабильные и воспроизводимые сокращения в течение трех-четырех часов, что соответствовало продолжительности нашего эксперимента. Силу сократительных реакций оценивали в граммах и рассчитывали, как разницу в силе сокращений до и после электрической стимуляции. Ответы были записаны с использованием изометрического механического датчика FSG-01 (Linton Instrumentation, Великобритания), захватывали с помощью аналого-цифрового преобразователя MP100WSW (Biopack, США) и отображали и хра-

нили на персональном компьютере. Сокращения вызывали и записывали в течение двух минут (12 пиков), а среднее значение силы всех 12 сокращений анализировали как один результат.

Силу сокращений, вызванных карбахолом в концентрации 20 мкМ, оценивали как разницу в амплитуде сократительных реакций до и после добавления карбахолина.

**Эффекты пуринергических агонистов и антагонистов.** В начале эксперимента сократительные ответы регистрировали дважды с интервалом 5 мин (для электрической стимуляции) или 20 мин (для карбахолина). Раствор АТФ добавляли в концентрации 100 мкМ в ванночку с раствором Кребса, и через 10 мин инкубации записывали сократительные ответы на электрическую стимуляцию или карбахолин. Затем ткань промывали несколько раз и инкубировали в течение 20 мин антагонистом (сурамином в концентрации 100 мкМ). После этого добавляли агонист (АТФ в концентрации 100 мкМ), и сократительные ответы записывали еще раз. Все сократительные ответы вычисляли как процент от исходных сокращений.

**Влияние гипотермии.** Все начальные эксперименты проводили при физиологической температуре (37°C). Затем температуру раствора ванночки постепенно уменьшали и исследовали сократительную активность каждого препарата мышцы повторно при температуре 22°C. При каждой температуре оценивали эффекты АТФ, а также сурамина.

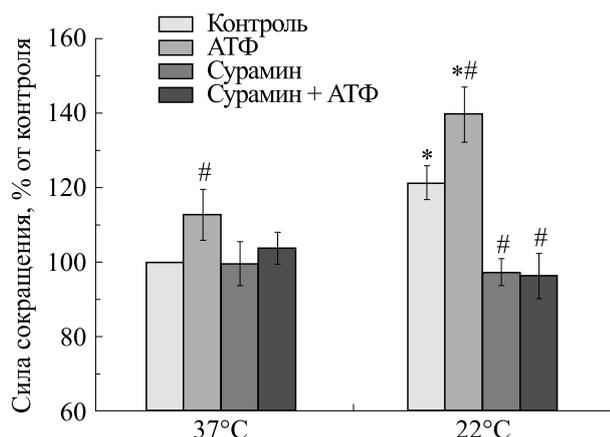
## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Сокращения, вызванные электрической стимуляцией.** При физиологической температуре (37°C) сила сокращения *m. Diaphragma* составила  $513,3 \pm 25,6$  мг ( $n = 10$ ). При понижении температуры окружающей среды сила сокращений мышцы снижалась, достигая  $464,5 \pm 26,8$  мг ( $n = 10$ ) при 22°C (рис. 1). При температуре 37°C АТФ в концентрации 100 мкМ вызывала достоверное увеличение силы сокращения *m. Diaphragma*, которая достигала  $120,2 \pm 5,8\%$  ( $n = 10$ ) от сокращений мышцы при этой же температуре в контроле.

При понижении температуры до 22°C сила сокращений мышцы в присутствии АТФ составила  $115,5 \pm 5,3\%$  ( $n = 10$ ) от величины контрольных сокращений при 37°C, что достоверно отличается от контрольных значений при 22°C, но не от эффекта АТФ при 37°C (рис. 1).

Инкубация мышцы с сурамином (100 мкМ) полностью предупреждала влияние АТФ на силу сокращений при всех температурах (рис. 1).

Сила сокращения *m. soleus* при температуре (37°C) составила  $411,5 \pm 28,8$  мг ( $n = 12$ ). При понижении температуры окружающей среды сила сокращений мышцы увеличивалась, достигая



**Рис. 2.** Влияние температуры на силу сокращений *m. soleus* мыши, вызванных электрической стимуляцией, в отсутствие и в присутствии АТФ (100 мкМ) и сурамина (100 мкМ). Результаты представлены в виде  $M \pm m$  в % от исходных величин, принятых за 100%;  $n = 10$ , \* –  $p < 0,05$  от эффекта при 37°C, # –  $p < 0,05$  от контроля.

497,5 ± 22,4 мг ( $n = 12$ ) при 22°C (рис. 2). При температуре 37°C АТФ в концентрации 100 мкМ вызвала достоверное увеличение силы сокращения *m. soleus* до 112,3 ± 6,8% ( $n = 12$ ) от силы сокращений мышцы при этой же температуре в контроле.

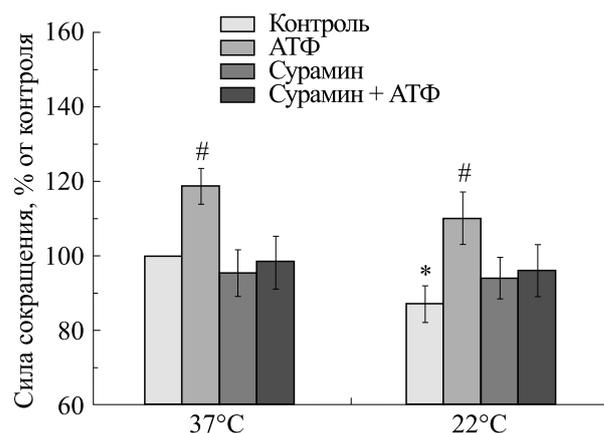
При понижении температуры до 22°C сила сокращений мышцы в присутствии АТФ составила 139,1 ± 7,3% ( $n = 12$ ) от величины контрольных сокращений при 37°C, что достоверно отличается как от контрольных значений при 22°C, так и от эффекта АТФ при 37°C (рис. 2).

Аппликация сурамина в концентрации 100 мкМ полностью предупреждала потенцирующее влияние АТФ на силу сокращений при всех температурах (рис. 2).

При блокаде холинорецепторов d-тубокурарином в концентрации 10 мкМ сокращения, вызванные непрямой стимуляцией, не наблюдались. При повышении напряжения раздражающих импульсов до 100 В наблюдалась прямая стимуляция мышечной ткани, при этом добавление 100 мкМ АТФ не оказало эффекта на силу сокращения исследуемых мышц.

**Сокращения, вызванные карбахолином.** Показано, что при 20-минутных интервалах между сокращениями карбахолин в концентрации 20 мкМ способен в течение всего времени эксперимента (два-четыре часа) развивать стабильные воспроизводимые сокращения *m. Diafragma* и *m. soleus* мыши.

При температуре 37°C сила сокращения *m. Diafragma* составила 335,2 ± 16,7 мг ( $n = 10$ ). При понижении температуры сила сокращения *m. Diafragma*



**Рис. 3.** Влияние температуры на силу сокращений *m. Diafragma* мыши, вызванных карбахолином, в отсутствие и в присутствии АТФ (100 мкМ) и сурамина (100 мкМ). Результаты представлены в виде  $M \pm m$  в % от исходных величин, принятых за 100%;  $n = 10$ , \* –  $p < 0,05$  от эффекта при 37°C, # –  $p < 0,05$  от контроля.

снижалась и составила 291,6 ± 14,3 мг ( $n = 18$ ) при 22°C (рис. 3).

АТФ в концентрации 100 мкМ при температуре 37°C вызвала достоверное увеличение силы сокращения *m. Diafragma*, вызванной карбахолином, которая составила 118,7 ± 4,8% ( $n = 10$ ) от исходных сокращений в контроле.

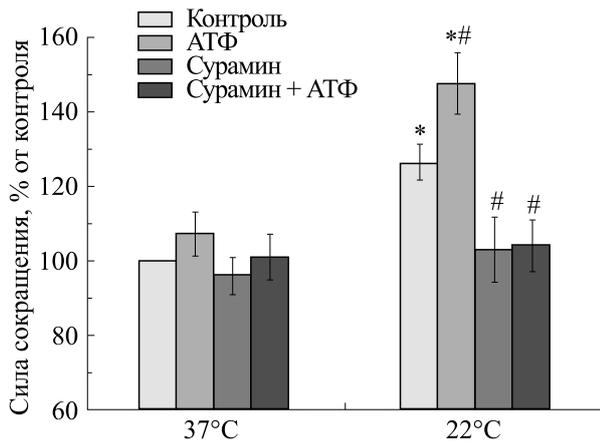
При снижении температуры потенцирующее действие АТФ усугублялось и при 22°C составило 110,1 ± 7,0% (рис. 3) от уровня исходных сокращений в контроле, что достоверно отличается ( $p < 0,05$ ) от соответствующих контрольных значений, но не от эффекта АТФ на этой мышце при 37°C.

Наличие сурамина в инкубационной среде (100 мкМ) предупреждало не только влияние АТФ на мышцу, но и частично ингибиторный эффект гипотермии на карбахолин-индуцированные сокращения.

При температуре 37°C сила сокращения *m. soleus* составила 180,5 ± 9,0 мг ( $n = 10$ ). При понижении температуры сила сокращения *m. soleus* увеличивалась и составила 228,3 ± 10,9 мг ( $n = 10$ ) при 22°C (рис. 4).

АТФ в концентрации 100 мкМ при температуре 37°C вызвала незначительное увеличение силы сокращения *m. soleus*, вызванной карбахолином, которая составила 107,2 ± 5,9% ( $n = 10$ ) от силы исходных сокращений в контроле.

При снижении температуры потенцирующее действие АТФ возрастало и при 22°C составило 147,7 ± 8,3% (рис. 4) от уровня исходных сокращений в контроле, что достоверно отличается ( $p < 0,05$ ) как от соответствующих контрольных



**Рис. 4.** Влияние температуры на силу сокращений *m. soleus* мыши, вызванных карбахолом, в отсутствие и в присутствии АТФ (100 мкМ) и сурамина (100 мкМ). Результаты представлены в виде  $M \pm m$  в % от исходных величин, принятых за 100%;  $n = 10$ , \* –  $p < 0,05$  от эффекта при 37°C, # –  $p < 0,05$  от контроля.

значений, так и от эффекта АТФ на этой мышце при 37°C.

Апликация сурамина в концентрации 100 мкМ полностью предупреждала потенцирующее влияние АТФ на силу сокращений при всех температурах

Наличие сурамина в инкубационной среде (100 мкМ) полностью предупреждало не только влияние АТФ на мышцу, но и потенцирующий эффект гипотермии на карбахол-индуцированные сокращения *m. soleus*.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Нами были проведены серии механомиографических экспериментов на препаратах локомоторной (*m. soleus*) и дыхательной (*m. Diaphragma*) мышцах мыши.

Одним из возможных подходов, используемых в физиологии и клинической патофизиологии мышечных и нервно-мышечных заболеваний, является метод стимуляционной изометрической механомиографии [15]. Применение этого метода позволило получить ряд принципиально новых данных о роли внешней регуляции в функционировании скелетных мышц [16]. Соответственно определению участия пуриnergических механизмов модуляции возбуждения и сокращения мышц в изменении их функции указывает на необходимость изучения сокращения скелетной мышцы, вызванного гуморальным агонистом – холиномиметиком карбахолом. Этот способ оценки сократительной деятельности мышцы имеет определенные преимущества перед традиционными, в которых мышца сокращается электрическим импульсом, так как, не нарушая ос-

новных функциональных периодов сокращения поперечнополосатой мышцы, вызывает ее сокращение за счет непосредственного возбуждения холинорецепторов поверхностной мембраны мышечного волокна. Такой способ стимуляции позволяет оценить постсинаптические эффекты исследуемых агентов.

Температурная зависимость АТФ-опосредованных процессов была продемонстрирована ранее на гладкой и скелетной мускулатуре. На изолированных препаратах мочевого пузыря и семявыносящих протоков морской свинки сокращения в ответ на альфа,бета-метилден-АТФ (агонист Р2Х-рецепторов) и в ответ на стимуляцию электрическим полем (СЭП) были значительно более заметными при низких температурах, чем при физиологической температуре [1]. Кроме того, СЭП-индуцированное расслабление продольного тяжа слепой кишки морской свинки, опосредованное Р2У-рецепторами, увеличивалось с уменьшением температуры среды [1]. Аналогичные результаты были показаны на изолированных мышечных препаратах лягушки, в которых АТФ угнетала сокращения, вызванные СЭП, более заметно при 17°C, чем при 22°C [11], что отмечалось нами также и на камбаловидной мышце крысы [14]. Интересно отметить, что действие АТФ угнеталось антагонистами Р2-рецепторов, но не антагонистами аденозиновых рецепторов, что указывает на вовлечение Р2-рецепторов в опосредовании этих эффектов. Таким образом, температурная зависимость Р2-рецептор-опосредованных реакций была показана на трех различных препаратах мышц – гладких мышцах млекопитающих [1], скелетной мускулатуре амфибий [11] и скелетных мышцах млекопитающих [14].

Во всех трех мышечных тканях мы видим один и тот же результат – эффективность Р2-рецептор-опосредованных процессов выше при низких температурах, чем при физиологической температуре. Мы предполагаем, что это свидетельствует о сходной роли Р2-рецепторов в мышечных тканях – они малозаметны или маскируются другими системами регулирования при физиологических условиях, но их роль становится все более очевидной и важной при патологических или экстремальных условиях. Такой характер поведения Р2-рецепторов также был показан в некоторых ранее проведенных исследованиях [17].

В представленных в настоящей работе исследованиях потенцирующие эффекты АТФ сохраняются на камбаловидной и диафрагмальной мышцах и при снижении температуры в режиме электровыванных сокращений практически без изменения. Они усиливаются только в условиях карбахол-вызванных сокращений, что указывает на постсинаптическое расположение термо-

чувствительного звена пуриновой модуляции. Что характерно, в последнее время накопились данные о том, что АТФ в мионевральных синапсах теплокровных обладает выраженным постсинаптическим эффектом, часто отличающимся по знаку от того эффекта, который она оказывает на нервную терминаль [12,13]. Что касается используемых в настоящем исследовании камбаловидной и диафрагмальной мышц мыши, в их мионевральных синапсах пре- и постсинаптические эффекты АТФ, видимо, совпадают по вектору, как до этого наблюдалось (с другим знаком) только в синапсах быстрой мышцы крысы [18].

Как известно, снижение температуры значительно уменьшает высвобождение ацетилхолина в нервно-мышечном соединении дыхательной мышцы [19]. Аналогично, и в наших предыдущих экспериментах на препаратах медленной мускулатуры амплитуда сокращений диафрагмы мышцы понижалась при гипотермии, независимо от того, вызвано ли это было прямой (карбахолин) или непрямой (СЭП) активацией постсинаптических рецепторов.

В представляемых нами в настоящей статье данных экспериментов с препаратами медленной мышцей грызунов виден эффект, обратный наблюдаемому в смешанной скелетной мускулатуре: амплитуда сокращений повышалась при гипотермии. Существует несколько работ о температурной зависимости сократительного аппарата медленных скелетных мышц с противоречивыми данными по мышцам одних и тех же животных [20–23]. Так, по одним источникам температурная зависимость медленных волокон мышц крысы значительно более выражена, чем быстрых [24–33], а по другим – температурная чувствительность миозина медленных мышечных волокон крысы не отличается от быстрых [34,35]. Поэтому однозначных данных о характере температурной чувствительности сократимости медленных мышечных волокон до нашей работы не было. Наши предыдущие исследования на камбаловидной мышце и длинном разгибателе пальцев крысы показывали, что термочувствительность и быстрых, и медленных мышц выражены почти одинаково сильно, но внешне могут быть «скрадены» изменением эффективности пре- и постсинаптической пуриновой модуляции в этих условиях [14,18].

Как известно, камбаловидная мышца мыши содержит 50–60% «медленных» мышечных волокон [36]. Диафрагма мыши, занимающая промежуточное положение, содержит 88,6% быстрого миозина [37]. Обнаруженные нами в результатах представленных исследований эффекты являются, очевидно, также и следствием различной чувствительности мышечных волокон к карбахолину, что может находиться в прямой зависимости

от площади синаптического образования. В настоящем исследовании отсутствием действия АТФ при прямой стимуляции нами показана исключительно синаптическая природа наблюдаемых эффектов. Таким образом, надо еще внимательней отнестись к тому, что размеры концевой пластинки у «медленных» мышечных волокон камбаловидной мышцы мыши протяженнее [38]. Мы полагаем, что при изменении температуры происходит колебание равновесия между АТФ-индуцированной пресинаптической модуляцией высвобождения медиатора [7,10–13,39–42], с одной стороны, и АТФ-зависимым постсинаптическим изменением чувствительности рецепторов ацетилхолина [43,44] – с другой стороны.

Известно, что пресинаптический эффект АТФ на высвобождение нейромедиатора в нервно-мышечном соединении опосредован P2Y-рецепторами [7,10]. Недавними исследованиями было предположено [13], а затем и доказано [45], что в опосредовании этого эффекта главную роль играют P2Y<sub>12</sub>-рецепторы.

Неселективный антагонист P2-рецепторов – трипаноцидный препарат сурамин – имеет широкий спектр биологической активности [46,47], включая неспецифическое ингибирование P2-рецепторов [48,49] и ингибирование нескольких эктоферментов, разрушающих АТФ [50–52]. В диафрагме крысы сурамин конкурентно отменял действие антидеполяризующих, но не деполяризующих миорелаксантов, не влияя на рецепторы АТФ [53]. Другое исследование показало, что сурамин может ингибировать пресинаптические кальциевые каналы [54] и угнетать высвобождение медиатора. Таким образом, эффекты сурамина на нервно-мышечную передачу являются очень сложными и, скорее всего, различными в различных типах скелетных мышц. В наших экспериментах (в данном исследовании и в работах [14,18]) он не только противодействовал АТФ-зависимому ингибированию СЭП- или карбахолин-индуцированных сокращений быстрой мышцы как крысы, так и мыши, но и предотвращал гипотермия-зависимое уменьшение сократимости – независимо от вида стимуляции. Это может означать, что так же, как и в других тканях [55], в скелетных мышцах грызунов существует естественный механизм, с помощью которого P2-рецепторы опосредуют увеличение высвобождения трансмиттера, который становится более заметным при низких температурах и который полностью угнетается сурамином.

Мы считаем, что изучение влияния гипотермии на тканях млекопитающих потенциально имеет важное клиническое значение. Переохлаждение широко используется в клинической практике [56–62], прежде всего с целью защиты мозга во время хирургических вмешательств или

реанимации больных в критических состояниях. Это подчеркивает важность изучения реакции других органов и тканей к гипотермии, а особенно то, что низкие температуры оказывают влияние на эффективность рецепторных процессов. Это исследование добавляет важную информацию об эффективности P2-рецептор-опосредованных процессов при гипотермии в скелетных мышцах млекопитающих. Хотя эти результаты нельзя непосредственно перенести на ткани человека, они обеспечивают важное понимание того, как активация P2-рецепторов скелетных мышц человека может вести себя при гипотермии, и позволяют предсказать, как могут быть изменены эффекты некоторых лекарств при этом нефизиологическом состоянии.

Таким образом, мы установили разнонаправленную температурную зависимость контрактильной активности локомоторной и дыхательной мышц при сохранении потенцирующего действия АТФ. Особенности модулирующего эффекта АТФ с преобладанием постсинаптического термочувствительного звена в различных двигательных единицах мышц при гипотермии может лежать в основе адаптационных механизмов этого мелкого грызуна.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-44-160009, а также средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных при выполнении работы были соблюдены.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. U. Ziganshin, A. V. Rychkov, L. E. Ziganshina, and G. Burnstock, *Eur. J. Pharmacol.* **456**, 107 (2002).
2. R. A. North, *Physiol. Rev.* **82** (4), 1013 (2002).
3. V. Ralevic and G. Burnstock, *Pharmacol. Rev.* **50** (3), 413 (1998).
4. T. Forrester, *J. Physiol.* **224**, 6118 (1972).
5. R. A. Cunha and A. M. Sebastiao, *Pflugers Arch.* **424** (5–6), 503 (1993).
6. E. S. Vizi, K. Nitahara, K. Sato, and B. Sperlagh, *J. Auton. Nerv. Syst.* **81** (1–3), 278 (2000).
7. R. A. Giniatullin and E. M. Sokolova, *Br. J. Pharmacol.* **124**, 839 (1998).
8. J. A. Ribeiro and A. M. Sebastiao, *J. Physiol.* **384**, 571 (1987).
9. W. M. Fu, *J. Physiol.* **477** (3), 449 (1994).
10. E. M. Sokolova, S. N. Grishin, A. V. Shakirzyanova, et al., *Eur. J. Neurosci.* **18**, 1254 (2003).
11. A. U. Ziganshin, R. R. Kamaliev, S. N. Grishin, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **509**, 187 (2005).
12. S. N. Grishin, A. Y. Teplov, A. V. Galkin, et al., *Neurochem. Int.* **49**, 756 (2006).
13. S. N. Grishin and A. U. Ziganshin, *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology* **7**, 183 (2013).
14. A. U. Ziganshin, A. E. Khairullin, V. V. Zobov, et al., *Muscle & Nerve* **55** (3), 417 (2017).
15. А. Хилл, *Механика мышечного сокращения* (Мир, М., 1972).
16. Э. И. Богданов и Р. Р. Фасхутдинов, *Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова* **91** (2), 129 (1991).
17. G. Burnstock, *Keio J. Med.* **62**, 63 (2013).
18. A. U. Ziganshin, A. E. Khairullin, A. Y. Teplov, et al. *Muscle & Nerve* **59** (4), 509 (2019).
19. F. F. Foldes, S. Kuze, E. S. Vizi, and A. Deery, *J. Neural Transm.* **43**, 27 (1978).
20. G. Asmussen and G. Maréchal, *J. Physiol.* **416**, 245 (1989).
21. C. J. Barclay, J. K. Constable, and C. L. Gibbs, *J. Physiol.* **472**, 61 (1993).
22. W. J. Leijendekker and G. Elzinga, *Pflugers Arch.* **416** (1–2), 22 (1990).
23. J. S. Petrofsky and A. R. Lind, *Pflugers Arch.* **389** (2), 149 (1981).
24. F. Kössler and G. Kuchler, *Biomed. Biochim. Acta* **46** (11), 815 (1987).
25. S. F. Gilliver, D. A. Jones, J. Rittweger, and H. Degens, *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.* **197** (4), 311 (2011).
26. R. A. Binkhorst, L. Hoofd, and A. C. Vissers, *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.* **42** (4), 471 (1977).
27. R. Bottinelli, M. Canepari, M. A. Pellegrino, and C. Reggiani, *J. Physiol.* **495** (2), 573 (1996).
28. A. J. Buller, C. J. Kean, K. W. Ranatunga, and J. M. Smith, *J. Physiol.* **355**, 25 (1984).
29. R. Candau, B. Iorga, F. Travers, et al., *Biophys. J.* **85** (5), 3132 (2003).
30. A. F. Bennett, *Am. J. Physiol.* **247** (2), 217 (1984).
31. J. Gulati, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73** (12), 4693 (1976).
32. D. R. Claffin and J. A. Faulkner, *J. Physiol.* **411**, 627 (1989).
33. Y. E. Goldman, J. A. McCray, and K. W. Ranatunga, *J. Physiol.* **392**, 71 (1987).
34. R. Rossi, M. Maffei, R. Bottinelli, and M. Canepari, *J. Appl. Physiol.* **99** (6), 2239 (2005).
35. П. В. Кочубей и С. Ю. Бершицкий, *Биофизика* **59** (5), 967 (2014).

36. J. A. Florendo, J. F. Reger, and P. K. Law, *Exp. Neurol.* **82** (2), 404 (1983).
37. S. Blank, V. Chen, and C. D. Ianuzzo, *Respir Physiol.* **74** (1), 115 (1988).
38. M. A. Fahim, J. A. Holley, and N. Robbins, *Neuroscience* **13** (1), 227 (1984).
39. S. De Lorenzo, M. Veggetti, S. Muchnik, and A. Losavio, *Neuroscience* **142**, 71 (2006).
40. A. I. Malomouzh, E. E. Nikolsky, and F. Vyskocil, *Neurosci Res.* **71**, 219 (2011).
41. J. Tomas, M. M. Santafe, N. Garcia, et al., *J. Neurosci. Res.* **92**, 543 (2014).
42. Y. Igusa, *J. Physiol.* **405**, 169 (1988).
43. T. Akasu, K. Hirai, and K. Koketsu, *Br. J. Pharmacol.* **74**, 505 (1981).
44. T. E. Voogd, E. L. Vansterkenburg, J. Wilting, and L. H. Janssen, *Pharmacol. Rev.* **45**, 177 (1993).
45. A. Giniatullin, A. Petrov, and R. Giniatullin, *Neuroscience* **285**, 324 (2015).
46. T. E. Voogd, E. L. Vansterkenburg, J. Wilting, and L. H. Janssen, *Pharmacol. Rev.* **45**, 177 (1993).
47. R. P. McGeary, A. J. Bennett, Q. B. Tran, et al., *Mini Rev. Med. Chem.* **8**, 1384 (2008).
48. C. H. Hoyle, G. E. Knight, and G. Burnstock, *Br. J. Pharmacol.* **99**, 617 (1990).
49. G. Lambrecht, K. Braun, M. Damer, et al., *Curr. Pharm. Des.* **8**, 2371 (2002).
50. E. Marti, C. Canti, I. Gomez de Aranda, et al., *Br. J. Pharmacol.* **118**, 1232 (1996).
51. L. Savegnago, C. W. Nogueira, R. Fachinetto, and J. B. Rocha, *Cell. Biol. Int.* **29**, 559 (2005).
52. T. Kiffer-Moreira, M. E. Fernandes Sampaio, D. S. Alviano, et al., *FEMS Yeast Res.* **10**, 735 (2010).
53. R. H. Henning, A. Nelemans, A. H. Scaf, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **216**, 73 (1992).
54. R. H. Henning, A. Nelemans, A. H. Scaf, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **216**, 73 (1992).
55. A. I. Salgado, R. A. Cunha, and J. A. Ribeiro, *Brain Res.* **877**, 245 (2000).
56. B. A. Ziganshin and J. A. Elefteriades, *Ann. Cardiothorac. Surg.* **2**, 303 (2013).
57. B. A. Ziganshin, B. G. Rajbanshi, M. Tranquilli, et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **148**, 888 (2014).
58. P. J. Andrews, H. L. Sinclair, A. Rodriguez, et al., *N. Engl. J. Med.* **373**, 2403 (2015).
59. N. Nielsen, J. Wetterslev, T. Cronberg, et al., *N. Engl. J. Med.* **369**, 2197 (2013).
60. F. W. Moler, F. S. Silverstein, R. Holubkov, et al., *N. Engl. J. Med.* **372**, 1898 (2015).
61. A. E. Khairullin, A. U. Ziganshin, and S. N. Grishin, *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology* **11** (1), 1 (2017).
62. I. M. Vikhlyantsev and Z. A. Podlubnaya, *Biophysics* **53** (6), 592 (2008).

## Thermal Sensitivity of Purinergic Modulation of Contractile Activity of Locomotor and Respiratory Muscles of the Mouse

A.E. Khairullin\*, A.Yu. Teplov\*, S.N. Grishin\*, A.M. Farkhutdinov\*, and A.U. Ziganshin\* \*\*

\*Kazan State Medical University, ul. Butlerova 49, Kazan, 420012 Russia

\*\*Kazan (Volga region) Federal University, ul. Kremlevskaya 18, Kazan, 420008 Russia

Previously, we have shown that hypothermia significantly modulates the effect of ATP on the contractile activity of various types of rodent locomotor muscles. The aim of this study was to compare the effects of ATP on contraction of mouse locomotor (*m. soleus*) and respiratory (*m. Diafragma*) muscles at normal and low temperatures. It is shown that a decrease in the ambient temperature to 22°C is associated with a decrease in force of contraction (*m. Diafragma*) induced by electrical stimulation and carbachol as well as with an increase in the contractile force of *m. soleus*. The potentiating effects of ATP are preserved in these muscles even if the temperature is lowered, but they are increased only on carbachol-induced contractions, indicating that a thermal sensitive link in purine modulation is located postsynaptically. Peculiarities of the modulation of ATP release with the predominant postsynaptic thermal sensitive link in different motor units of the mouse in hypothermia may underlie adaptive mechanisms of this small rodent.

*Keywords: hypothermia, ATP, P2 receptors, locomotor and respiratory muscles, synapse, suramin*