

## ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА ПУРИНЕРГИЧЕСКУЮ СИНАПТИЧЕСКУЮ МОДУЛЯЦИЮ В ДИАФРАГМЕ КРЫСЫ

© 2020 г. А.Е. Хайруллин, А.У. Зиганшин, С.Н. Гришин

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

E-mail: khajrulli@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.05.2020 г.

После доработки 13.05.2020 г.

Принята к публикации 16.06.2020 г.

Исследована термочувствительность пре- и постсинаптических эффектов АТФ в диафрагме крысы. Установлено, что снижение температуры окружающей среды с 37°C до 22°C вызывает уменьшение силы сокращений *m. Diafragma*, вызванных как электрической стимуляцией, так и карбахолином. При 37°C введение АТФ в инкубационную среду повышает сократительную активность диафрагмы, вызванную как электрической стимуляцией, так и карбахолином. Эти эффекты АТФ сохраняются и при снижении температуры, но в большей степени проявляются при карбахолин-вызванных сокращениях. Предполагается, что в диафрагме крысы термочувствительное звено пуриновой модуляции расположено преимущественно постсинаптически.

**Ключевые слова:** гипотермия, АТФ, P2-рецепторы, диафрагма, синапс, сурамин.

DOI: 10.31857/S000630292005018X

АТФ наряду с другими внутриклеточными нуклеотидами участвует в синтезе нуклеиновых кислот, аккумулирует энергию и играет важную роль в регуляции функции ферментов и ионных каналов. Кроме того, АТФ (и некоторые другие нуклеотиды) может высвобождаться из нервных окончаний и секреторных клеток во внеклеточное пространство путем экзоцитоза или иными механизмами, играя роль нейромедиатора или нейромодулятора в периферических возбудимых тканях, вегетативных ганглиях и центральной нервной системе [1]. Известно, что в физиологических условиях пуриновые нуклеотиды обычно являются лишь модуляторами функций клеток и систем, однако их роль значительно возрастает при определенных патологических условиях (гипотермия, гипоксия, стресс), когда они начинают играть главенствующую роль в качестве сигнальной молекулы [2–5].

Установлено, что физиологические эффекты внеклеточной АТФ реализуются посредством специфических рецепторов, получивших в настоящее время название P2-рецепторы. P2-рецепторы делятся на два больших семейства – P2X и P2Y. На сегодняшний день в номенклатуру рецепторов внесено семь подтипов P2X-рецепторов и восемь подтипов P2Y-рецепторов [6]. P2-рецепторы широко распространены, в том числе в скелетной мускулатуре [7]. Известно, что АТФ, выделяясь в нервно-мышечном синапсе вместе с ос-

новым медиатором ацетилхолином, действует через пресинаптические P2-рецепторы, осуществляющие регуляцию экзоцитоза по принципу отрицательной обратной связи [8, 9]. Установлено, что АТФ угнетает квантовую [8] и неквантовую [10, 11] секрецию нейромедиатора, действуя на P2-рецепторы. Продукт ее метаболизма – аденозин – оказывает действие на квантовую секрецию через аденозиновые рецепторы. Пресинаптический ингибиторный эффект АТФ и аденозина в мионевральном синапсе вначале был описан на препаратах пойкилотермных животных [12–14]. Однако наши результаты последних лет свидетельствовали о возможных постсинаптических эффектах АТФ и в мионевральных синапсах теплокровных [15].

В настоящей работе мы исследовали особенности пуриновой модуляции синаптических процессов на изолированных препаратах диафрагмы, которая является «смешанной» по типу волокон, при нормальной и пониженной температуре.

### МЕТОДЫ

**Подготовительные процедуры.** Исследования проводили на нервно-мышечных препаратах белых лабораторных крыс-самцов массой 130–190 г, которых содержали в группах по пять особей с водой и кормом *ad libitum*. Животных предварительно наркотизировали, вводя внутривенно

шинно раствор этаминала натрия в дозе 40 мг/кг, обескровливали и выделяли *m. Diafragma*.

**Условия проведения экспериментов по регистрации параметров сокращения.** Выделенные фрагменты мышцы фиксировали одним сухожильным концом к неподвижному штативу, второй конец прикрепляли лигатурой к датчику механической активности и погружали в резервуары объемом 10 мл, наполненные 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, pH 7.4,  $t = 37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . Заданное значение температуры поддерживали с помощью термостата. На мышцы изначально подавали нагрузку в 1 г, затем оставляли в покое на полчаса для адаптации к среде.

Электростимуляцию проводили с помощью сакшн-электрода оригинальной конструкции, в который помещали культю нерва выделенной мышцы. Для раздражения использовали электростимулятор D330 MultiStim System (Digitimer, Великобритания). Мышцы стимулировали в течение 2 мин прямоугольными импульсами амплитудой 3 В и продолжительностью 0.5 мс при частоте 0.1 Гц. Силу сокращений мышц регистрировали датчиком двигательной активности FCG-01 (Linton, Великобритания), аналоговый сигнал преобразовывали с помощью системы сбора данных MP100MSW (Biopack, США). Все полученные ответы в течение 2 мин (12 сократительных ответов) усредняли и обрабатывали как один результат, величину которого рассчитывали в процентах относительно исходного значения, полученного в начале эксперимента. Через полчаса после фиксирования нервно-мышечной ткани проводили контрольную электрическую стимуляцию мышц дважды с интервалом в 5 мин и, удостоверившись в стабильности сократительных ответов, начинали экспериментальные процедуры.

Силу сокращений, вызванных карбахолином в концентрации 20 мкМ, оценивали как разницу в амплитуде сократительных реакций до и после добавления карбахолина. Было показано, что при двадцатиминутных интервалах между сокращениями карбахолин в концентрации 20 мкМ способен в течение всего времени эксперимента (два-четыре часа) развивать стабильные воспроизводимые сокращения *m. Diafragma* крысы.

**Эффекты пуринаргических агентов.** В ванночку добавляли 100 мкМ АТФ и через 10 мин оценивали механические ответы мышцы. Затем ткань инкубировали с сурамином в концентрации 100 мкМ в течение 20 мин, вновь добавляли 100 мкМ АТФ и опять регистрировали механические ответы мышц. В контрольных экспериментах нервно-мышечную ткань инкубировали с сурамином в концентрации 100 мкМ, через 20 мин

регистрировали сократительные ответы мышц, возникающие в ответ на стимуляцию электрическим током.

**Температурная зависимость.** Оценку влияния АТФ и сурамина на сократительную активность *m. Diafragma*, инициированную как электрическим током, так и аппликацией карбахолина, проводили вначале при температуре 37°C. Далее температуру снижали до 22°C. При этой температуре подавали раствор АТФ в концентрации 100 мкМ и оценивали силу сократительных ответов мышцы через 10 мин аппликации. Далее в ванночку добавляли раствор сурамина в концентрации 100 мкМ и оценивали силу сократительных ответов мышцы через 20 мин аппликации. После этого оценивали эффект АТФ на фоне антагониста. Температуру раствора регулировали водяным насосом TE-8A (Techne, Великобритания), быстрое снижение температуры жидкости в водяном насосе осуществляли добавлением льда.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Сокращения, вызванные электрической стимуляцией.** При физиологической температуре (37°C) сила сокращения *m. Diafragma* составила  $1.510 \pm 0.075$  г ( $n = 12$ ). При понижении температуры окружающей среды сила сокращений мышцы снижалась, достигая  $1.320 \pm 0.081$  г ( $n = 12$ ) при 22°C (рис. 1). При температуре 37°C АТФ в концентрации 100 мкМ вызывала достоверное увеличение силы сокращения *m. Diafragma*, которая становилась равной  $118.3 \pm 4.6\%$  ( $n = 12$ ) от сокращений мышцы при этой же температуре в контроле.

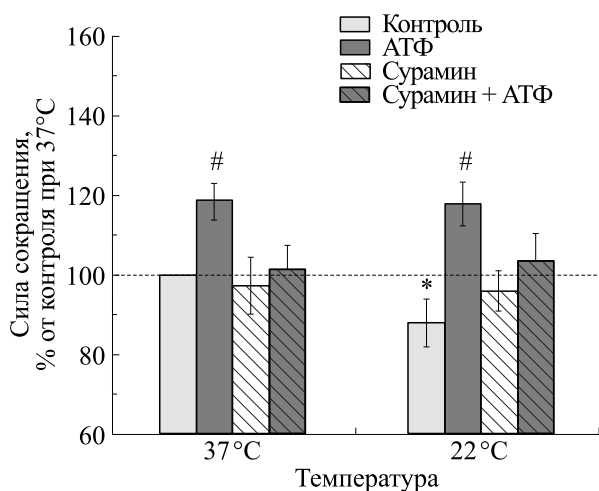
При понижении температуры до 22°C сила сокращений мышцы в присутствии АТФ составила  $117.8 \pm 5.5\%$  ( $n = 12$ ) от величины контрольных сокращений при 37°C, что достоверно отличается от контрольных значений при 22°C, но не от эффекта АТФ при 37°C (рис. 1).

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

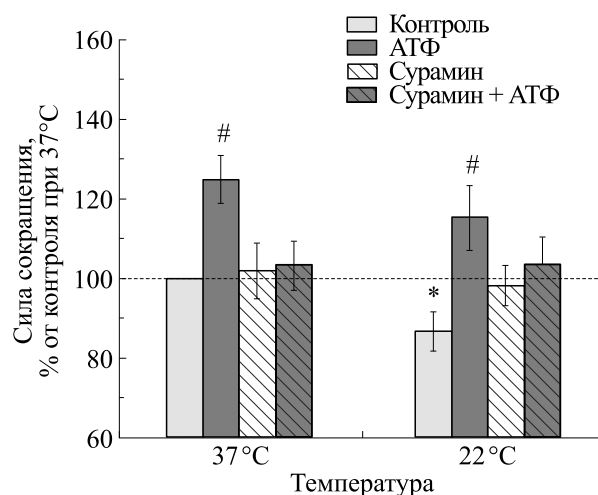
**Сокращения, вызванные карбахолином.** При температуре 37°C сила сокращения *m. Diafragma*, вызванная карбахолином в концентрации 20 мкМ, составила  $676.4 \pm 33.8$  мг ( $n = 12$ ). При понижении температуры сила сокращения *m. Diafragma* снижалась и составила  $586.3 \pm 29.2$  мг ( $n = 12$ ) при 22°C (рис. 2).

АТФ в концентрации 100 мкМ при температуре 37°C вызывала достоверное увеличение силы карбахолин-индуцированного сокращения *m. Diafragma* до  $124.7 \pm 6.0\%$  ( $n = 12$ ) от исходных сокращений в контроле.

При снижении температуры потенцирующее действие АТФ сохранялось и при 22°C составило



**Рис. 1.** Влияние температуры на силу сокращений *m. Diafragma* крысы, 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%;  $n = 12$ ; \* –  $p < 0.05$  от эффекта при 37°C, # –  $p < 0.05$  от контроля.



**Рис. 2.** Влияние температуры на силу сокращений *m. Diafragma* крысы, 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%;  $n = 12$ ; \* –  $p < 0.05$  от эффекта при 37°C, # –  $p < 0.05$  от контроля.

115.2 ± 8.1% от уровня исходных сокращений в контроле (рис. 2), 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.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе нами были проведены серии механомиографических экспериментов на препаратах дыхательной (*m. Diafragma*) мышцы крысы и оценены эффекты АТФ, универсального агониста P2-рецепторов, и сурамина, универсального антагониста P2-рецепторов. Метод стимуляционной изометрической механомиографии используется в физиологии и клинической патофизиологии мышечных и нервно-мышечных заболеваний [16]. Его применение позволило получить новые данные о роли внешней регуляции в функционировании скелетных мышц [17].

Известно, что внеклеточные нуклеотиды, к которым относится АТФ, оказывают разнообразные эффекты при разных физиологических и патофизиологических состояниях (в том числе и при гипо- и гипертермиях), влияя на мембранные рецепторы, названные P2-рецепторами [18–20]. Первая информация о внеклеточном действии АТФ появилась почти полвека назад [21]. Доказано выделение АТФ из нервных терминалей при

активности двигательных единиц [22,23]. Описано угнетающее действие АТФ в мионевральном синапсе озерной лягушки [13]. Пресинаптические ингибиторные эффекты пуринов в мионевральном синапсе были зафиксированы преимущественно на препаратах холоднокровных животных [12–14, 24].

Роль пуринергической модуляции в особенностях функционирования двигательных единиц грызунов долгое время оставалась неясна [25]. АТФ угнетает амплитуду сокращения, вызванного непрямой электростимуляцией скелетных мышц крысы. Также АТФ снижает амплитуду карбахолин-индуцированных сократительных ответов мышц длинного разгибателя пальцев крысы. Известно, что ингибирующий эффект АТФ на высвобождение нейромедиатора в нервно-мышечном соединении опосредован P2Y-рецепторами [8, 13]. Недавними исследованиями было предположено [26], а затем и доказано [27], что в опосредовании этого эффекта в двигательных единицах холоднокровных главную роль играют P2Y<sub>12</sub>-рецепторы. Предполагается, что в мышцах теплокровных основную роль играют P2Y<sub>13</sub>-рецепторы [28]. Кроме того, было показано [29], что стабильные аналоги АТФ облегчают высвобождение ацетилхолина путем активации пресинаптических P2X-рецепторов.

В ранних исследованиях, проведенных в нашей лаборатории на нервно-мышечном препарате озерной лягушки, было установлено, что гипотермия существенно повышает эффективность P2-рецептор-опосредованных ответов [20]. Тем-

пературная зависимость АТФ-опосредованных процессов была позже продемонстрирована на гладкой и скелетной мускулатуре теплокровных. На изолированных препаратах мочевого пузыря и семявыносящих протоков морской свинки сокращения в ответ на альфа, бета-метилена АТФ (агонист P2X-рецепторов) и в ответ на стимуляцию электрическим полем были значительно более заметным при гипотермии, чем при физиологической температуре [20]. Кроме того, индуцированное стимуляцией электрическим полем расслабление продольного тяжа слепой кишки морской свинки, опосредованное P2Y-рецепторами, увеличивалось с уменьшением температуры среды [20]. Аналогичные результаты были показаны на изолированных мышечных препаратах лягушки, в которых АТФ угнетала сокращения, вызванные стимуляцией электрическим полем, более заметно при 17°C, чем при 22°C [14].

На препаратах холоднокровных регистрировался исключительно пресинаптический эффект пуринов. 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 она оказывает на нервную терминаль [26, 30].

В данной работе мы установили, что АТФ увеличивала амплитуду сокращения *m. Diafragma*, вызванного непрямым стимуляцией электрическим током, и карбахолин-индуцированные сократительные ответы. Данные эффекты оказались высокочувствительны к неселективному антагонисту P2-рецепторов сурамину [31]. Трипаноцидный препарат сурамин имеет широкий спектр биологической активности [33, 34], включая неспецифическое ингибирование P2-рецепторов [31, 35] и ингибирование нескольких эктоферментов, разрушающих АТФ [36–38]. Считается, что сурамин является неселективным антагонистом P2-рецепторов, поскольку установлено его угнетающее действие на большинство P2X и P2Y подтипов рецепторов [32]. Тот факт, что эффекты АТФ угнетались антагонистами P2-рецепторов, указывает на вовлечение P2-рецепторов в опосредование этих эффектов. В диафрагме крысы сурамин может ингибировать пресинаптические кальциевые каналы [39] 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 он не только противодействовал АТФ-зависимому потенцированию электровызванных или карбахолин-индуцированных сокращений *m. Diafragma* крысы, но и предотвращал гипотермия-зависимое уменьшение сократимости независимо от вида стимуляции. Это может означать, что, также как и в дру-

гих тканях [29], в *m. Diafragma* теплокровных существует естественный механизм, с помощью которого P2-рецепторы опосредуют увеличение высвобождения трансмиттера, который становится более заметным при низких температурах и который полностью угнетается сурамином.

В сериях с карбахолин-индуцированными сокращениями АТФ усиливала сокращение мышцы. Для выявления термочувствительных механизмов модуляции пуринами нервно-мышечного синапса проводили эксперименты при пониженной температуре (22°C).

Мы предполагаем, что облегчающий постсинаптический эффект, который проявляет АТФ, с уменьшением температуры позволяет поддерживать дыхание даже животным, подвергнутым глубокому охлаждению.

В этой работе мы установили, что сократимость *m. Diafragma* крысы, вызванная как электростимуляцией, так и аппликацией карбахолина (исключительно постсинаптическая стимуляция), зависит от температуры. Температурная зависимость сокращений скелетных мышц — это известный феномен. Однако ранее в этом отношении изучались либо скелетные мышцы холоднокровных [40], либо быстрые смешанные мышцы теплокровных [23]. На препаратах этих мышц наблюдался ингибиторный модуляторный эффект АТФ, обратный представленному в данном исследовании [14]. Предполагалось, что данный феномен имеет эндотермическую природу; и повышение температуры увеличивает силу и натяжение миозиновых головок при изометрическом сокращении [41, 42]. Было высказано предположение, что снижение силы сокращений при низкой температуре возможно ввиду истощения активности обменных ферментных систем [43, 44] или процессов синтеза и переноса энергии [45–49]. С другой стороны, было высказано мнение, что вклад температурочувствительности собственно биохимии мышечных волокон не может оправдать столь драматические изменения в характере сокращения всего мышечного органа при изменении температуры [41].

Недавно было показано увеличение квантового состава потенциалов концевой пластинки под действием АТФ в синапсах длинного разгибателя пальцев мыши [50]. Эти данные согласуются с нашими результатами и объясняет полученное нами повышение силы сокращения данного объекта под действие этого пурина. Другое исследование показало, что при повышении температуры происходит постоянное снижение постсинаптического ответа [51]. На основании этих данных мы предполагаем, что в скелетных мышцах теплокровных существует цепь пурин-модулируемых синаптических эффектов.

Подытоживая, скажем, что к настоящему времени температурная зависимость P2-рецептор-опосредованных реакций была показана на трех различных препаратах мышц — гладких мышцах млекопитающих [20], скелетной мускулатуре амфибий [14] и скелетных мышцах млекопитающих [52, 53]. Во всех трех мышечных тканях был установлен один и тот же результат — эффективность P2-рецептор-опосредованных процессов выше при низких температурах, чем при физиологической температуре. Мы предполагаем, что это свидетельствует о сходной роли P2-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.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Проведенные эксперименты полностью соответствуют действующим национальным и международным нормам в области этики.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. Burnstock, *Bioassays* **34**, 218 (2012).
2. G. Burnstock, *Keio J. Med.* **62** (3), 63 (2013).
3. S. N. Grishin, A. I. Gabdrakhmanov, A. E. Khairullin, et al., *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology* **11** (4), 253 (2017).
4. A. U. Ziganshin, R. R. Kamaliev, A. I. Gabdrakhmanov, et al., *Int. J. Pharmacol.* **14**, 1198 (2018).
5. A. E. Khairullin, A. Yu. Teplov, S. N. Grishin, et al., *Biophysics* **64** (5), 812 (2019).
6. G. Burnstock, *Methods Mol. Biol.* **2041**, 1 (2020).
7. G. Burnstock, T. R. Arnett, and I. R. Orriss, *Purinergic Signal.* **9** (4), 541 (2013).
8. R. A. Giniatullin and E. M. Sokolova, *Br. J. Pharmacol.* **124** (4), 839 (1998).
9. S. N. Grishin, A. Shakirzyanova, A. Giniatullin, et al., *Eur. J. Neurosci.* **21**, 1271 (2005).
10. A. V. Galkin, R. A. Giniatullin, M. R. Mukhtarov, et al., *Eur. J. Neurosci.* **13**, 2047 (2001).
11. А. И. Маломуж и Е. Е. Никольский, *Нейрофизиология* **39**, 289 (2007).
12. W. M. Fu, *J. Physiol.* **477**, 449 (1995).
13. E. Sokolova, S. Grishin, A. Shakirzyanova, et al., *Eur. J. Neurosci.* **18**, 1254 (2003).
14. A. U. Ziganshin, R. R. Kamaliev, S. N. Grishin, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **509**, 187 (2005).
15. A. E. Khairullin, A. U. Ziganshin, and S. N. Grishin, *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology* **11** (1), 1 (2017).
16. А. Хилл, *Механика мышечного сокращения* (Мир, М., 1972).
17. Э. И. Богданов и Р. Р. Фасхутдинов, *Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова* **91** (2), 129 (1991).
18. R. A. North, *Physiol. Rev.* **82** (4), 1013 (2002).
19. V. Ralevic and G. Burnstock, *Pharmacol. Rev.* **50** (3), 413 (1998).
20. A. U. Ziganshin, A. V. Rychkov, L. E. Ziganshina, and G. Burnstock, *Eur. J. Pharmacol.* **456** (1–3), 107 (2002).
21. G. Burnstock, *Br. J. Pharmacol.* **40**, 668 (1970).
22. R. A. Cunha and A. M. Sebastiao, *Pflugers Arch.* **424** (5–6), 503 (1993).
23. E. S. Vizi, K. Nitahara, K. Sato, and B. Sperlágh, *J. Autonomic Nervous System* **81** (1–3), 278 (2000).
24. J. A. Ribeiro and A. M. Sebastião, *J. Physiol.* **384**, 571 (1987).
25. A. M. Kelly and N. A. Rubinstein, *Med. Sci. Sports Exerc.* **18** (3), 292 (1986).
26. S. N. Grishin and A. U. Ziganshin, *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology* **7** (3), 183 (2013).
27. A. Giniatullin, A. Petrov, and R. Giniatullin, *Neuroscience* **285**, 324 (2015).
28. J. F. Guarracino, A. R. Cinalli, V. Fernández, et al., *Neuroscience* **326**, 31 (2016).
29. A. I. Salgado, R. A. Cunha and J. A. Ribeiro, *Brain Res.* **877** (2), 245 (2000).
30. S. N. Grishin, A. V. Galkin, A. L. Zefirov, et al., *Neurochem. Int.* **49** (8), 756 (2006).
31. C. H. Hoyle, *Gen. Pharmacol.* **21** (6), 827 (1990).
32. G. Burnstock, *Trends Pharmacol. Sci.* **22** (4), 182 (2001).
33. R. P. McGeary, A. J. Bennett, Q. B. Tran, et al., *Mini Rev. Med. Chem.* **8**, 1384 (2008).
34. T. E. Voogd, E. L. Vansterkenburg, J. Wilting, and L. H. Janssen, *Pharmacol. Rev.* **45** (2), 177 (1993).
35. G. Lambrecht, K. Braun, M. Damer, et al., *Curr. Pharm. Des.* **8**, 2371 (2002).
36. T. Kiffer-Moreira, M. E. Fernandes Sampaio, D. S. Alviano, et al., *FEMS Yeast Res.* **10**, 735 (2010).
37. E. Marti, C. Canti, I. Gomez de Aranda, et al., *Br. J. Pharmacol.* **118**, 1232 (1996).
38. L. Savegnago, C. W. Nogueira, R. Fachinnetto, and J. B. T. Rocha, *Cell Biol. Int.* **29** (7), 559 (2005).
39. R. H. Henning, A. Nelemans, A. H. Scaf, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **216**, 73 (1992).
40. П. В. Кочубей и С. Ю. Бершицкий, *Биофизика* **59** (5), 967 (2014).
41. M. Nyitrai, R. Rossi, N. Adamek, et al., *J. Mol. Biol.* **355** (3), 432 (2006).

42. G. Piazzesi, M. Reconditi, N. Koubassova, et al., *J. Physiol.* **549** (1), 93 (2003).
43. K. J. Cowan and K. B. Storey, *Cryobiology* **43** (1), 32 (2001).
44. J. A. MacDonald and K. B. Storey, *Comp. Biochem. Physiol. B. BiochemMol. Biol.* **131** (1), 27 (2002).
45. R. G. Boutilier and J. St-Pierre, *J. Exp. Biol.* **205** (15), 2287 (2002).
46. M. Mantovani, N.C. Heglund and G.A. Cavagna, *J. Physiol.* **537** (3), 923 (2001).
47. K. S. Litvinova, I. M. Vikhlyantsev, I. B. Kozlovskaya, et al., *J. Gravit. Physiol.* **11** (2), 131 (2004).
48. I. M. Vikhlyantsev, Z. A. Podlubnaya, B. S. Shenkman, and I. B. Kozlovskaya, *Dokl. Biochem. Biophys.* **407**, 88 (2006).
49. A. Ulanova, Y. Gritsyna, I. Vikhlyantsev, et al., *Biomed. Res. Int.* **2015**, 104 (2015).
50. П. О. Богачева и О. П. Балезина, *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **5**, 532 (2015).
51. R. J. Balnave and P. W. Gage, *J. Physiol.* **239**, 657 (1974).
52. A. U. Ziganshin, A. E. Khairullin, V. V. Zobov, et al., *Muscle & Nerve* **55** (3), 417 (2017).
53. A. U. Ziganshin, A. E. Khairullin, A. Y. Teplov, et al. *Muscle & Nerve* **59** (4), 509 (2019).

## Influence of Hypothermia on Purinergic Synaptic Modulation in Rat Diaphragm

A.E. Khayrullin, A.U. Ziganshin, and S.N. Grishin

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

The thermal sensitivity of the pre- and postsynaptic effects of ATP in the rat diaphragm was studied. It was found that a decrease in ambient temperature from 37°C to 22°C leads to a decline in the force of m. Diaphragma contractions caused by both electrical stimulation and carbacholine. At 37°C, the introduction of ATP into the incubation medium increases the contractile activity of the diaphragmatic muscle, caused by both electrical stimulation and carbacholinum. Application of ATP also has an effect on muscle contractions even with a decrease in temperature, but after the application of carbacholinum, muscle contractions are more pronounced. It has been suggested that in the rat diaphragm, the thermal sensitivity of purine modulation develops predominantly postsynaptically.

*Keywords: hypothermia, ATP, P2 receptors, diaphragm, synapse, suramin suramin*