

Н.В. Меленевська, М.С. Мірошніченко, І.Б. Філіппов,
Л.С. Холодна, М.Ф. Шуба

Фактор переносу імунної реактивності до дифтерійно-правцевого анатоксину змінює дію нейромедіаторів на гладенькі м'язи кишечника

*Установлено, що фактор переноса (ФП) імунної реактивності (10^{-5} – 10^{-3} мг/мл) к дифтерійно-столбнячному анатоксину модулює медленні волни деполяризації, спонтанну скоротельну активність неатропінізованих гладком'язових (ГМ) препаратів продольних м'язів сліпої кишки (*taenia coli*), які при концентрації цієї субстанції 10^{-4} мг/мл переходять відповідно в стійку деполяризацію і тоничне скорочення. При умовах атропінізації цих препаратів відмічені ефекти субстанції зберігаються. Установлено, що в присутств'ї блокатора гуанілатциклази – метиленового синього (10^{-5} моль/л), ФП викликає короточасне швидке підвищення м'язового тону препаратів, яке переходить в їх стійке розслаблення. Агоністи пуринорецепторів уридин-5'-трифосфорна кислота (10^{-5} моль/л) і аденозин-5'-трифосфорна кислота (АТФ, 10^{-5} моль/л) викликали значительну гіперполяризацію мембрани гладком'язових клітин *taenia coli* і їх розслаблення. ФП в меншій мірі впливав на рівень гіперполяризації, але значительно посилював посттормозне збудження препаратів ГМ. ФП (10^{-4} мг/мл) трансформувало тормозне дієвство АТФ в збуджувальне на фоні тоничного скорочення препаратів *taenia coli*, викликаного дієвством ацетилхоліну (10^{-5} моль/л). Ця субстанція (10^{-5} , 10^{-4} мг/мл) посилює механізми мобілізації Ca^{2+} з р'анодінового внутріклітинного кальцієвого депо, згнетая вивільнення цих катионів з інозитолтрифосфатчуттвительного кальцієвого депо саркоплазматического ретикулума клітин ГМ. ФП збирає тормозне дієвство нітропруссіда натрія і норадреналіна на ГМ *taenia coli*.*

ВСТУП

У розвитку вкрай небезпечних для життя людини інфекційних захворювань, які спричиняються патогенними бактеріями, зокрема *Corynebacterium diphtheriae* та *Clostridium tetani*, провідна роль належить їх токсинам [7]. Нині детально досліджено структуру та біологічну активність цих бактеріальних біополімерів, патогенність яких багато в чому пов'язана з їх каталітичною активністю [9]. Дифтерійний токсин відноситься до АДФ-рибозилувальних токсинів (група токсинів - CFT (canal forming toxins)), N-кінцевий каталітичний C-домен фрагмента А якого каталі-

зує перенесення аденозиндифосфатрибозилу нікотинамідинуклеодитидом на регуляторний мономерний G-білок (фактор елонгації-2), а саме на унікальний амінокислотний залишок – дифтамід [14]. Наступна зупинка синтезу білка у клітинах-мішенях призводить до їх загибелі [8]. Активність цинкових ендопротеїназ притаманна правцевому токсину (N-кінцевому легкому L-ланцюгу), за рахунок якого він каталізує протеолітичне розщеплення асоційованих з мембраною синаптичних везикул гальмівних інтернейронів спинного мозку – синаптобrevіну, наслідком розщеплення якого є пригнічення синаптичної передачі гальмування в ЦНС [13].

© Н.В. Меленевська, М.С. Мірошніченко, І.Б. Філіппов, Л.С. Холодна, М.Ф. Шуба

Для попередження та корекції патологічних станів організму, викликаних зазначеними бактеріальними токсинами, у сучасній імунології країн Західної Європи застосовуються природні принципово нові високого ступеня антигенспецифічності імуномодулятори. Вони на протигагу імунним сироваткам за короткий проміжок часу впливають безпосередньо на Т-клітинну ланку імунної відповіді та не викликають при цьому системних реакцій, пов'язаних з антигенними властивостями імуноглобулінів, підсилюють антигенспецифічну імунну відповідь. До таких речовин відноситься фактор переносу (ФП) імунної реактивності до дифтерійно-правцевого анатоксину. Його феномен полягає у здатності переносити стан гіперчутливості сповільненого типу до антигену від сенсibilізованого донора до несенсibilізованого реципієнта [6].

ФП – діалізабельний компонент лізату лейкоцитів специфічно чутливих донорів. Дослідження його структурної організації різної антигенспецифічності показало, що це низькомолекулярний (1–3 кДа) оліго-рибонуклеопептид. N-кінець пептиду з'єднується з рибозою. У його складі преваюють такі амінокислоти, як серин, гліцин, глутамінова кислота, а компонентом олігонуклеотиду є пурин. Встановлено [6], що специфічність ФП до антигенів пов'язана з різною послідовністю амінокислот у пептидному ланцюгу [4, 5]. Як зазначалося, ФП до дифтерійно-правцевого анатоксину є імуномодулятором. Питання про механізми його дії на збудливі клітини вісцеральних органів і тканин і, зокрема, гладеньком'язових клітин (ГМК) шлунково-кишкового тракту залишається відкритим. Це не дає повною мірою оцінити як наслідки, так і спектр можливостей щодо застосування цієї субстанції як фармакологічного препарату, а також сформувати уявлення про роль індукованих антигенами імуноактивних субстанцій клітин лімфатичної тканини стінки кишечника [10] у регуляції функ-

ціональної активності його ГМ.

Метою наших досліджень було з'ясувати механізми дії ФП до дифтерійно-правцевого анатоксину на спонтанну електричну та скорочувальну активність, процеси гальмування та збудження повздожних (*taenia coli*) ГМ сліпої кишки морських свинок.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на гладеньком'язових препаратах *taenia coli* морських свинок. Електричну активність цих препаратів відводили за допомогою методики модифікованого одинарного сахарозного містка [11]. Скорочувальну активність ГМ досліджували в ізометричному режимі за допомогою електромеханічного перетворювача МХ-1С. У дослідах використовували розчин Кребса (ммоль/л): NaCl – 120,4; KCl – 5,9; NaHCO₃ – 15,5; NaH₂PO₄ – 1,2; MgCl₂ – 1,2; CaCl₂ – 2,5; глюкоза – 11,2 (рН 7,4). Номінально безкальцієвий розчин Кребса готували заміною в ньому іонів кальцію на еквімолярну кількість Na⁺. Гіперкалієвий розчин з концентрацією K⁺ 80 ммоль/л готували заміною у вихідному розчині Кребса необхідної частини іонів натрію на еквімолярну кількість іонів калію. ФП до дифтерійно-правцевого анатоксину вносили до розчину Кребса перед проведенням дослідів.

У роботі використовували такі речовини: нітропрурид натрію (“Союзхімреактив”, Росія); аденозин-5'-трифосфорну кислоту – АТФ, уридин-5'-трифосфорну кислоту (УТФ, 10⁻⁵ моль/л; “Reanal”, Угорщина); сульфат атропіну (10⁻⁵ моль/л; Воронежський хімізавод, Росія); метиленовий синій (10⁻⁵ моль/л), норадреналін (10⁻⁵ моль/л), хлорид ацетилхолін (10⁻⁵ моль/л), кофеїн (20 ммоль/л; “Sigma”, США). ФП до дифтерійно-правцевого анатоксину одержували з діалізованого безклітинного екстракту лейкоцитів донорів, які знаходились у стані гіперчутливості сповільненого типу [3]. Метод був

модифікований: виділені за стандартною методикою лейкоцити периферичної крові руйнували 10-кратним заморожуванням – розморожуванням, після чого осад набував желеподібної консистенції. Потім екстракт обробляли ДНКазою та Mg_2SO_4 і витримували у термостаті при $37^\circ C$ протягом 30 хв для подальшого гідролізу. Екстракт поміщали в промиті зсередини та ззовні стерильним ізотонічним розчином діалізі трубки. Діаліз проводили протягом доби у стерильних пробірках, які містили по 2 мл бідистильованої апірогенної води на кожні 0,1 мл лейкоцитарного екстракту. Діалізат концентрували обдуванням. Усі маніпуляції проводили на холоді в стерильних умовах. Дифтерійно-правцевий анатоксин було одержано в НДІ мікробіології та епідеміології ім. М.Ф. Гамалеї МОЗ Росії (Москва).

Результати статистичного аналізу подано як середнє арифметичне \pm стандартна похибка середнього арифметичного для певної кількості (n) вимірів. Статистичне порівняння середніх значень контрольних і тестових вимірів проводили за законом t-розподілу. Розбіжності вважали достовірними при $P < 0,05$. Комп'ютерною версією методів статистичного аналізу з оцінкою критерію t Стьюдента було програмне забезпечення Origin 6.1. Розрахунки відносних змін показників проводили за формулою: $\Delta_A = \left(\frac{A_d - A_k}{A_k} \right) \cdot 100\%$, де A_d – величина, отримана у досліді, A_k – у контролі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показано [12], що ГМ шлунково-кишкового тракту навіть за відсутності впливів нейро-медіаторів, гормонів, паракринних факторів, генерують повільні хвилі деполяризації. В основі їх виникнення лежать механізми пейсмеркерної активності, притаманні інтерстиціальним клітинам Кахаля. В наших дослідях реєстрували повільні хвилі деполяризації та спонтанну скорочувальну активність препаратів ГМ повздожних м'язів

taenia coli (рис.1). Встановлено, що ФП у концентрації 10^{-5} мг/мл змінював форму та тривалість повільних хвиль деполяризації (більше ніж у 1,5 раза, $n=10$). При цьому вихідний рівень мембранного потенціалу залишався без змін. Не змінювався також вихідний м'язовий тонус, але вдвічі порівняно з контролем збільшувалась амплітуда поодиноких спонтанних скорочень препаратів ГМ (див. рис. 1). Механізмом модуляції цих спонтанних скорочень за відсутності змін амплітуди, може бути збільшення тривалості повільних хвиль деполяризації і, відповідно, кількості потенціалів дії, які генеруються на їх плато, що і спостерігалося в наших дослідах. При збільшенні на порядок концентрації субстанції, починаючи з перших хвилин її дії, поодинокі спонтанні скорочення ГМ трансформувались у тонічне скорочення, а повільні хвилі деполяризації – у стійку деполяризацію, величина якої на 10-ту хвилину аплікації ФП становила $7 \text{ мВ} \pm 0,34 \text{ мВ}$ ($n=10$). Відновлення поодиноких скорочень м'язових препаратів на фоні незначного підвищення м'язового тонузу відбувалося при концентрації ФП у розчині Кребса 10^{-3} мг/мл. З'являлися флуктуації мембранного потенціалу, рівень якого на 10-ту хвилину аплікації субстанції у зазначеній концентрації становив $12 \text{ мВ} \pm 0,42 \text{ мВ}$ ($n=10$). Результати, аналогічні описаним вище, було одержано за умов атропінізації препаратів ГМ, що виключає залучення в ефекти ФП ендogenous медіатора збудження – ацетилхоліну. На 20–40-ву хвилину відмивання м'язових препаратів розчином Кребса, спонтанна електрична та скорочувальна активності поверталися до вихідного рівня. Відомо [15], що спонтанні скорочення ГМ стінки кишечника регулюються, а викликані – модулюються інтерстиціальними клітинами Кахаля за допомогою зміни їх електричної активності. Ці клітини знаходяться ззовні повздожних м'язів і між шарами повздожних і кільцевих м'язів стінки кишеч-

ника. Спонтанна електрична активність ГМ визначається двома компонентами – повільними хвилями деполяризації та потенціалами дії, які генеруються на їх плато і є активаторами скорочення. Кількість і частота потенціалів дії визначають амплітуду та тривалість спонтанних скорочень. Фактори, які впливатимуть на зміни в генерації повільних хвиль деполяризації, призводитимуть до дисфункції шлунково-кишкового тракту.

Таким чином, наведені результати вказують на те, що викликані ФП зміни елект-

ричних показників ГМК, вірогідно, пов'язані з його здатністю модулювати механізми пейсмеркерної активності інтерстиціальних клітин Кахаля ГМ, що у підсумку буде впливати на скорочувальну активність ГМ кишечника.

Також було показано, що без змін залишалась і деполяризація мембрани ГМК, викликана гіперкалієвим розчином Кребса за наявності ФП (10^{-5} мг/мл; 10-хвилинна аплікація). За цих умов практично не змінювався компонент скорочення ГМ таenia coli, викликаного гіперкалієвим розчином

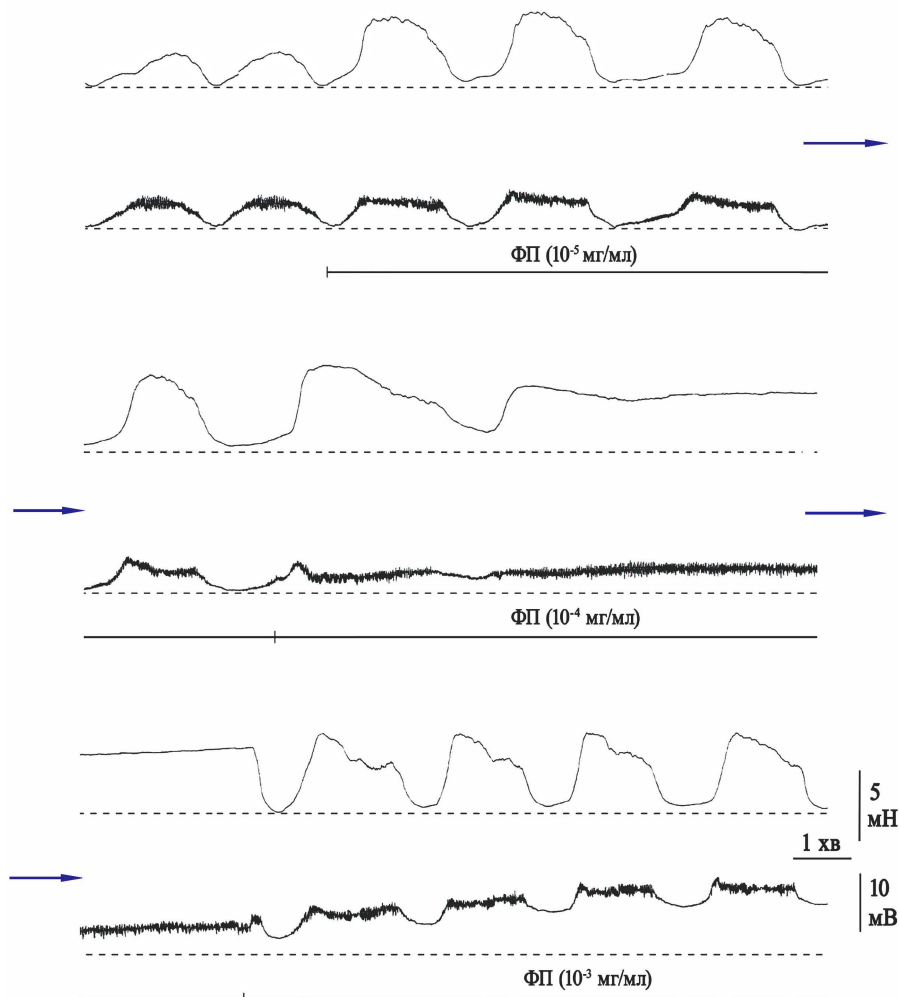


Рис.1. Кумулятивна дія фактора переносу (ФП) до дифтерійно-правцевого анатоксину на спонтанні повільні хвилі деполяризації та скорочувальну активність гладеньком'язових препаратів таenia coli морської свинки. Верхня крива – скорочувальна реакція, а нижня – зміни мембранного потенціалу. Пунктирними лініями показано вихідний рівень мембранного потенціалу та м'язового тонуусу. На рис. 2–4 така сама послідовність

Кребса, розрахованого відносно фазного скорочення, що може вказувати на відсутність впливу ФП на потенціалкерований вхід позаклітинних іонів кальцію до ГМК. Але при цьому усереднене значення відносних змін ($\bar{\Delta}_A$) фазного компонента цих скорочень становило $80 \% \pm 5,5 \%$ ($n=8$). Відомо [12], що фазний компонент гіперкалієвого скорочення ГМ спряжений з вивільненням Ca^{2+} з ріанодинчутливого кальцієвого депо саркоплазматичного ретикулула (СР) ГМК. Дійсно, досліди показали, що під дією ФП (10^{-5} мг/мл) збільшується амплітуда скорочення, викликаного кофеїном у номінально безкальцієвому розчині Кребса, до $\bar{\Delta}_A = 69,3 \% \pm 2,2 \%$ ($n=10$), що підтверджує здатність субстанції підсилювати механізми вивільнення Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо ГМК.

З метою з'ясування можливих додаткових причин впливу ФП (10^{-4} мг/мл) на ГМ кишечника, досліджували також його дію на спонтанну активність препаратів за наявності блокатора гуанілатциклази (ГЦ) – метиленового синього (10^{-5} моль/л), час преінкубації якого становив 40 хв. За цих умов підвищувався базальний рівень м'язового тону та підсилювалися поодинокі спонтанні скорочення. Такі препарати ГМ не відповідали розслабленням на дію донора NO нітропрусида натрію (10^{-5} моль/л). Внесення ФП (10^{-4} мг/мл) до розчину Кребса, що містив метиленовий синій, супроводжувалося короткочасним швидким скороченням препаратів ГМ, яке переходило у тривале розслаблення до рівня нижче від базального. Відмивання препаратів розчином Кребса зі вмістом метиленового синього на 10-15-ту хвилину супроводжувалося поступовим відновленням м'язового тону. Після тривалого (40–50 хв) відмивання відновлювалася здатність препаратів відповідати на аплікацію нітропрусида натрію розслабленням.

Наведені вище результати вказують на те, що, вірогідно, у підсиленні ФП (10^{-5} мг/мл)

поодиноких спонтанних скорочень препаратів ГМ, які з рештою переходять у тонічне скорочення, задіяні механізми активації пейсмеркерної активності інтерстиціальних клітин Кахаля та ГЦ/цГМФ-залежних процесів регуляції іонних провідностей мембрани та внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} в цих клітинах і, можливо, в ГМК.

Зважаючи на встановлену нами властивість ФП спричиняти збуджувальну дію на ГМК *taenia coli*, досліджували його вплив на гальмування, викликане активацією пуринорецепторів. У дослідах застосовували активатор метаботропних P2Y- та іонотропних P2X-рецепторів – АТФ, а також активатор-P2Y-рецепторів – УТФ [16]. У контрольних дослідах до розчину Кребса додавали екзогенний АТФ. Він викликав короткотривалу гіперполяризацію (рис. 2), яка швидко переходила у нетривале післягальмівне збудження (деполяризацію мембрани ГМК). Проведені дослідження показали, що ФП (10^{-4} мг/мл) на 20-ту хвилину аплікації не викликав статистично достовірних змін АТФ-викликаній гіперполяризації, але майже у 4 рази ($n=10$) у порівнянні з контролем збільшував післягальмівне збудження ГМК. Зазначене відбувалося на фоні викликаній ФП деполяризації та тонічного скорочення препаратів ГМ. На 5–10-ту хвилину відмивання м'язових препаратів розчином Кребса відмічено тимчасове, незначне підсилення гіперполяризації, викликаній АТФ. Післягальмівне збудження також дещо перевищувало контроль. Зазначені показники поверталися до вихідного рівня на 20–30-ту хвилину відмивання препаратів ГМ розчином Кребса.

Нами також встановлено, що на аплікацію УТФ препарати ГМ відповідали гіперполяризацією та розслабленням (див. рис. 2), яка як і у разі з АТФ, переходила у післягальмівне збудження. ФП (10^{-4} мг/мл) на 20-ту хвилину аплікації у порівнянні з контролем зменшував УТФ-викликану гіперполяризацію до $\bar{\Delta}_A = -47 \% \pm 3 \%$

($n=10$), посилюючи більше, ніж у 2 рази післягальмівне збудження мембрани ГМК. Відмивання препаратів ГМ розчином Кребса на 20–30-ту хвилину супроводжувалося відновленням до рівня контролю зазначених показників, якому передувало тимчасове підсилення УТФ-гіперполяризації. Властивість ФП підсилювати АТФ- чи УТФ-викликане післягальмівне збудження, вірогідно, пов'язане з його здатністю активувати, відомі з літературних джерел [17] механізми АТФ/УТФ-викликаного вивільнення медіаторів збудження (ацетилхолін, тахікінін) з нейронів інтрамуральної нервової системи.

У наступній серії експериментів досліджували вплив субстанції на гальмівну дію АТФ, викликану на тонічному компоненті ацетилхолінового (10^{-5} моль/л) скорочення ГМ, формування якого, як відомо [11], ініціюється активацією М2-холінорецепторів. АТФ, аплікована на плато цього компонента скорочення викликала короткотривале розслаблення препаратів ГМ. Після стабілізації рівня тонічного компонента скорочення, до розчину Кребса з вмістом ацетилхоліну додавали одночасно АТФ та ФП (10^{-4} мг/мл; рис. 3). Встановлено, що за цих умов, АТФ не знижувала, а навпаки, збільшувала тонічний компонент ацетилхолінактивованого скорочення. Вилучення з розчину Кребса ФП призводило до віднов-

лення вихідного рівня тонічного скорочення препаратів ГМ. Відомо [21], що активовані ацетилхоліном М2-холінорецептори через $G_{i/o}$ -білки за участю фосфоліпази С викликають деполаризацію мембрани ГМК. Остання є причиною надходження позаклітинного Ca^{2+} до ГМК через потенціалкервані кальцієві канали L-типу [11, 22]. У разі пуринергічного гальмування регулятором потенціалу на мембрані ГМК є кальцій-активовані калієві канали малої провідності [20]. Ми припускаємо, що модуляція субстанцією певних ланок механізму поширення сигналу АТФ від Р2У до цих каналів є причиною трансформації гальмівної дії даного нейромедіатора у збуджувальну на фоні аплікації ацетилхоліну. Враховуючи, що Р2У-пуринорецептори та М3-холінорецептори зв'язані зі своїми ефекторними ензимами через один і той самий тип G-білків [11, 20], не можна виключати можливість модуляції ФП цієї ланки агоністзалежної сигналізації. Вірогідним є також пригнічення ФП утворення інозитолтрифосфату ($I\Phi_3$) та/або механізмів вивільнення Ca^{2+} з $I\Phi_3$ -чутливого депо СР. Дослідження дії цієї субстанції (10^{-6} – 10^{-4} мг/мл) на ацетилхолінове скорочення м'язових препаратів у номінально безкальцієвому розчині Кребса показало чіткий її пригнічувальний характер.

Іншим ефективним нейромедіатором

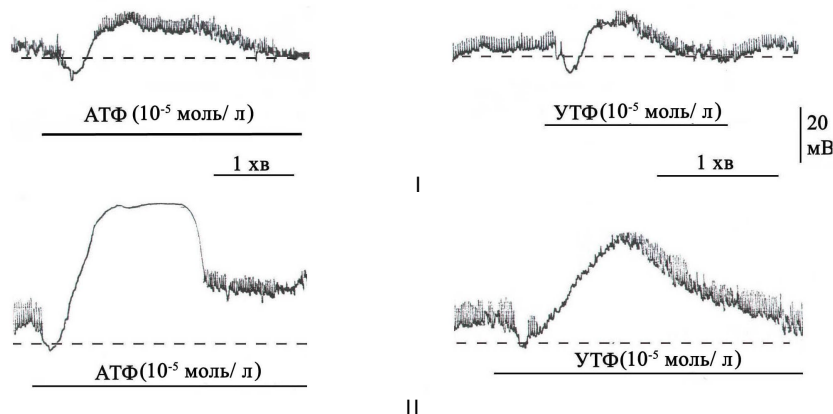


Рис. 2. Дія фактора переносу (ФП) до дифтеріїно-правцевого анатоксину (10^{-4} мг/мл) на гіперполяризацію гладеньких м'язів *taenia coli*, викликану аденозинтрифосфорною (АТФ) та уридинтрифосфорною кислотою (УТФ): I – контроль; II – наявність ФП

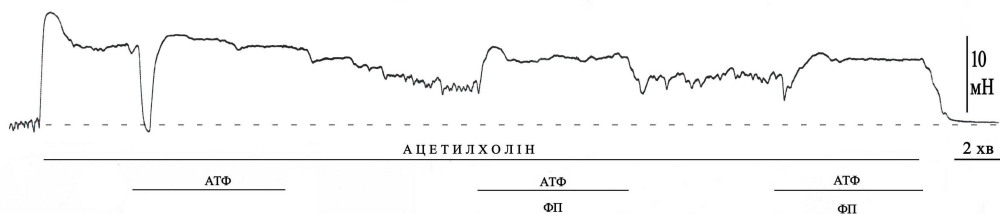


Рис. 3. Вплив фактора переносу (ФП) до дифтерійно-правцевого анатоксину (10^{-4} мг/мл) та аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) на тонічний компонент скорочення гладеньком'язового препарату, викликаного дією ацетилхоліну

гальмування в ГМ кишечника є оксид азоту, механізм дії якого зводиться через гуанілатциклазу, цГМФ і протеїнкіназу G до активації потенціалкерованих кальційактивованих калієвих каналів великої провідності, пригнічення потенціалкерованих кальційєвих каналів L-типу та механізмів вивільнення Ca^{2+} з СР ГМК [2, 19]. Активация цих каналів і мобілізація Ca^{2+} з СР

міоцитів – є ключовими у ацетилхоліновому збудженні ГМ кишечника [11, 22]. Враховуючи зазначене, було досліджено дію ФП на викликане донором NO – нітропрусидом натрію гальмування ГМК без і за наявності ацетилхоліну (рис. 4). У контролі нітропрусид натрію викликав розслаблення препаратів ГМ, і на цьому фоні до зовнішнього розчину додавали ацетилхолін. За цих умов

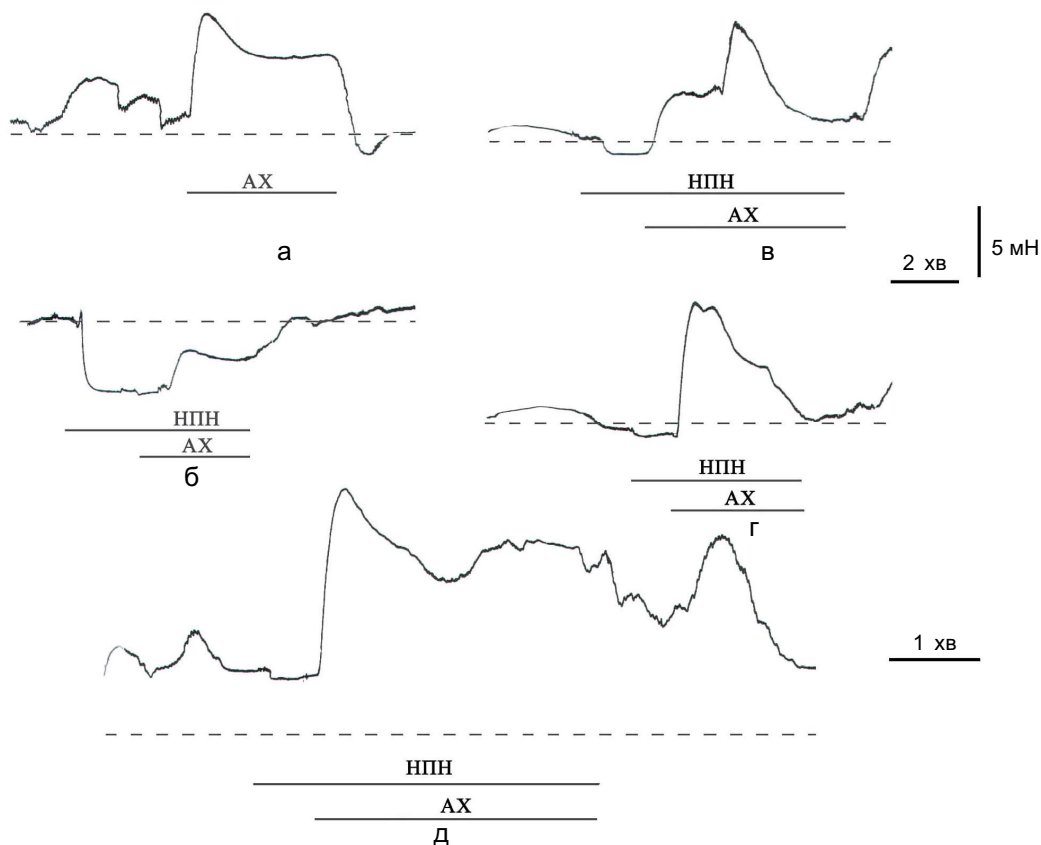


Рис. 4. Дія фактора переносу (ФП) до дифтерійно-правцевого анатоксину на розслаблення гладеньком'язових клітин, викликане дією нітропрусиду натрію (НПН) та його ацетилхолін (АХ)-зумовлену модуляцію: а – вплив АХ; б – НПН та АХ; в, г, д – НПН та АХ за наявності ФП у концентрації: 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} мг/мл відповідно. Час аплікації ФП у кожній з концентрацій становить 10 хв

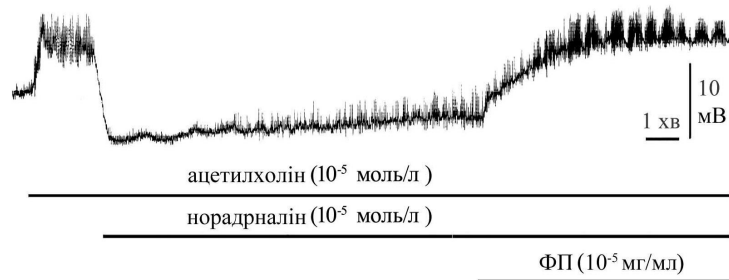


Рис. 5. Вплив фактора переносу (ФП) до дифтерійно-правцевого анатоксину на гіперполяризацію мембрани гладеньком'язових клітин *taenia coli*, викликану дією норадреналіну на фоні ацетилхолінової деполаризації

він викликав незначне скорочення ГМ. Встановлено, що ФП, час аплікації якого в кожній з концентрацій (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} мг/мл) становив 10 хв, усував гальмівну дію нітропрусиду натрію на ГМ. У міру пригнічення субстанцією зумовленого нітропрусидом розслаблення, відновлювалася збуджувальна дія ацетилхоліну. Ця властивість субстанції, вірогідно, пов'язана з її здатністю впливати на основні ланки внутрішньоклітинного проведення сигналу NO в ГМК.

У наступній серії експериментів досліджували дію ФП на механізми гальмування в ГМ, котрі пов'язані з активацією адренорецепторів. Норадреналін аплікований на плато деполаризації мембрани ГМК, викликаній ацетилхоліном, спричиняв стійку гіперполяризацію (рис. 5). На фоні цих змін до зовнішнього розчину вносили ФП (10^{-5} мг/мл). Встановлено, що ця субстанція усувала гальмівну дію норадреналіну, викликаючи деполаризацію мембрани ГМК, на плато якої генерувалися потенціали дії. Ми припускаємо, що це вірогідно пов'язано, як і у разі з АТФ, з модуляцією субстанцією певних ланок поширення сигналу від адренорецепторів до кальційактивованих калієвих каналів малої провідності, котрі, як відомо [18], в механізмі адренергічного гальмування є відповідальними за регуляцію гіперполяризації.

Отже, одержані результати досліджень дозволяють зробити висновок про те, що

антигенспецифічна імуноактивна субстанція лейкоцитів – ФП імунної реактивності до дифтерійно-правцевого анатоксину – це ефективний модулятор основних функцій ГМ кишечника: збудження – скорочення, гальмування – розслаблення. Це дає підстави стверджувати, що у разі застосування дифтерійно-правцевого анатоксину з метою ФП-залежної імунокорекції організму, в ефектах цієї субстанції будуть задіяні також механізми пурин-, NO-, адренергічного гальмування та холінергічного збудження ГМ кишечника. ФП зміщує рівновагу між збуджувальними та гальмівними впливами в ГМ кишечника в бік збуджувальних.

**N.V.Melenevska, M.S.Miroshnichenko,
I.B.Phylippov, L.S.Kholodna, M.F.Shuba**

TRANSFER FACTOR OF IMMUNE REACTIVITY TO DIPHTHERIA-TETANUS ANATOXIN MODULATES THE ACTION OF NEUROTRANSMITTERS IN INTESTINAL SMOOTH MUSCLE

Transfer factor (TF) of immune reactivity (10^{-5} – 10^{-3} mg/ml) to diphtheria-tetanus anatoxin modulates slow waves and spontaneous contractile activity of non-atropinized smooth muscle stripes (SMS) of guinea-pig *taenia coli*. TF (10^{-4} mg/ml) transforms slow waves into stable depolarization and tonic contraction. After SMS atropinization, the substance acts in the same way. In the presence of methylene blue (10^{-5} M), a guanylatecyclase blocker, FT induces transitory increase of SMS muscle tone, which is followed by their stable relaxation. ATP and UTP, purinoceptors agonists, evoke substantial hyperpolarization of smooth muscle cells membrane and their relaxation. FT enhances post-inhibitory excitation in SMS. In the presence of acetylcholine (10^{-5} M) FT (10^{-4} mg/ml) trans-

forms the inhibitory ATP action on tonic contraction into excitative. This substance (10^{-5} , 10^{-4} mg/ml) enhances Ca^{2+} mobilization from ryanodine-sensitive calcium store, inhibits the release of these cations from IP_3 -sensitive calcium store of sarcoplasmic reticulum. TF demolishes the inhibitory actions of sodium nitroprusside (nitric oxide donor), and noradrenaline in taenia coli smooth muscles.

National University named after T.Shevchenko, Kyiv, Ukraine
O.O.Bogomolets Physiology Institute of NAS, Kyiv, Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Артеменко Д.П., Бурый В.А., Владимірова І.А., Шуба М.Ф. и др. Модификация метода одинарного сахарозного мостика//Физиол. журн. – 1982. – **14**, № 3. – С.374–380.
2. Зима А., Белевич А., Цицюра Я., Шуба М. Действие окиси азота на Ca^{2+} - и Ca^{2+} -активируемые K^+ каналы в гладкомышечных клетках taenia coli морской свинки//Физика живого. – 1996. – **4**, № 1. – С.67–72.
3. Лоуренс Х., Эль-Аскарри С. Приготовление и очищение фактора переноса// Методы изучения in vitro клеточного иммунитета/ Под.ред. Б.Блума, Ф.Глейда. – М., Медицина, 1974. – С.256–272.
4. Любченко Т.А., Голева О.Г., Холодна Л.С. та ін. Біологічна активність фактора переносу, індукованого бактеріальними антигенами// Мікробіол. журн. – 1997. – **59**, № 5. – С.83–100.
5. Любченко Т.А., Голева О.Г., Холодна Л.С. Фактор переносу як модулятор клітинної відповіді// Биополимеры и клетка. – 1997. – **13**, № 5. – 345 с.
6. Любченко Т.А. Імунологічна активність фактора переносу імунної реактивності індукованого бактеріальними антигенами: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 1999. – 15 с.
7. Позднеев О.К. Медицинская микробиология// Под ред. Покровского В.И. – М.: Медицина, 2001. – 324 с.
8. Позур В.К., Колибо Д.В., Борисов В.А. та ін. Структура і біологічна активність бактеріальних біополімерів. – К.: Вид-во Київ. ун-ту, 2003. – 304 с.
9. Хухо Ф. Нейрофизиология. Основы и принципы. – М.: Мир, 1990. – 283 с.
10. Aminova G.G. The caecum lymphoid structure in proterm and full term newborns//Morfology. – 2000. – **118**, № 5. – P.42–45.
11. Bolton T.B., Prestvich S.A., Zholos A.V. et al. Excitation – contraction coupling in gastrointestinal and other smooth muscle//Annu. Rev. Physiol. – 1999. – **61**. – P.85–115.
12. Bolton T.B., Gordienko D.V., Pucovsky V. et al. Calcium events in smooth muscles and their associated cells// Neurophysiology. – 2003. – **35**, № 3/4. – P.183–188.
13. Comile F., Martin L., Lenoir C. et al. Cooperative exosite – dependent cleavage of synaptobrevin by tetanus toxin light-chain//J. Biol. Chem. – 1997. – **272**, № 6. – P.3459–3464.
14. Finkenstein A., Oh K.J., Senzel L. The diphtheria toxin channel-forming T-domain translocates its own NH-terminal region and the catalytic domain across planar phospholipids blayers// Int. J. Med. Microbiol. – 2000. – **290**, № 4–6. – P.435–440.
15. Lammers W.J.E.P., Donck L.V., Schuurkes J.A.J et. all Longitudinal and circumferential spike patches in the canine small intestine in vivo //Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2003. – **285**, № 5. – P. G1014–G1027.
16. Mitzuta Y., Isomoto H., Takahashi T. Impaired nitrergic innervation in rat colitis induced by dextran sulfate sodium// Gastroenterology. – 2000. – **118**, № 4. – P.714–723.
17. Ralevic V., Burnstock G. Receptor for purines and pyrimidines//Pharmacol. Rev. – 1998. – **50**, № 3. – P.413–492.
18. Roland Seiler B.A., Andreas Rickenbacher B.A., Sidney Shaw, Bruno M. Balsiger. α - and β -adrenergic receptor mechanisms in spontaneous contractile activity of rat ileal longitudinal smooth muscle// J.Gastroint. Surgery. – 2005. – **9**, № 2. – P. 227–235.
19. Sanders K.M., Ward S.M. Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission// Amer. J.Physiol. (Gastrointest. Liver.Physiol. 25). – 1992. – **262**, № 3, Pt 1. – P. G379–G329.
20. Shuba M.P., Vladimirova I.A., Philippov I.B. Mechanism of inhibitory action of neurotransmitters on smooth muscle//Neurophysiology. – 2003. – **35**, № 3/4. – P.252–261.
21. Zholos A.V., Tsytsyura Y.D., Gordienko D.V. et al. Phospholipase C, but not Ins³ or DAG, -dependent activation of the muscarinic receptor-operated cation current in guinea-pig ileal smooth muscle cells//Brit. J.Pharmacol. – 2004. – **141**. – P.23–36.
22. Zholos A.V., Zholos A.A., Bolton T.B. G-protein-gated TRP – like cationic channel activated by muscarinic receptors effect of potential on single-channel gating// J. Gen. Physiol. – 2004. – **123**, № 5. – P.581–598.

Київ.нац.ун-т ім. Тараса Шевченка;
Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
Київ

Матеріал надійшов до
редакції 02.10.2006