

Ю.В. Данилович

## Вплив оксидів азоту та пероксиду водню на транспорт $\text{Ca}^{2+}$ в ретикулумі пермеабілізованих міоцитів матки щурів

*Досліди проведені на моделі пермеабілізованих дигітоніном міоцитах матки щурів із використанням  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ . Встановлено, що за наявності 10 ммоль/л азиду натрію, який надійно пригнічує енергозалежну акумуляцію  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях, нітропрусид натрію (10 мкмоль/л – 0,1 ммоль/л), нітрит-аніони (0,1 мкмоль/л – 10 мкмоль/л) та пероксид водню (0,1 мкмоль/л – 10 мкмоль/л) стимулювали енергозалежне включення  $\text{Ca}^{2+}$  в саркоплазматичний ретикулум. При дослідженні процесів пасивного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із цього пулу, що був попередньо акумуляований в АТФ-залежному процесі, з'ясовано, що нітропрусид натрію (10 мкмоль/л), нітрит-аніони (10 ммоль/л – 0,1 ммоль/л) і пероксид водню (10 ммоль/л) призводять до зниження пасивного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ , в той час як 0,1 ммоль/л  $\text{H}_2\text{O}_2$  чинить протилежну дію. Одержані результати дають змогу висунути припущення, що досліджені сполуки здатні знижувати концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  в міоплазмі та залежну від цього контрактильну активність, діючи на рівні саркоплазматичного ретикулума.*

*Ключові слова: оксид азоту, пероксид водню, кальцій, саркоплазматичний ретикулум, матка.*

### ВСТУП

Передчасні пологи та зрив вагітності є однією з найбільших проблем репродуктивної медицини в розвинутих країнах. Сучасні терапевтичні заходи лікування викиднів у багатьох випадках неадекватні, а процеси регуляції контрактильної функції матки вивчені недостатньо [10, 39]. Здатність оксидів азоту розслабляти гладенькі м'язи зумовлює інтерес до використання донорів NO в акушерсько-гінекологічній практиці. Численні дослідження переконливо свідчать про важливу роль оксидів азоту в механізмах, які контролюють скоротливу активність матки. Наприклад, передбачається їх участь у процесах тривалої релаксації на тлі зменшеної чутливості до утероконстрикторних агентів, що спостерігається при вагітності в умовах підвищеного вмісту прогестерону в тканинах матки (прогестеронова блокада) [16, 26, 28,

34]. Проте NO-опосередкована релаксація міометрія, на відміну від гладеньких м'язів судин і кишково-шлункового тракту, є незалежною від підвищення вмісту циклічного-3', 5'-гуанозинмонофосфату (цГМФ) у тканині. Серед альтернативних механізмів дії NO передбачають активацію кальційзалежних калієвих каналів великої провідності ( $\text{BK}_{\text{Ca}}^+$ ) і фосфатази легких ланцюгів міозину [10, 16]. Поряд з оксидами азоту у низьких фізіологічних концентраціях потенційним агентом, що релаксує міометрій, може виступати пероксид водню [11, 38]. Ця сполука метаболічно зв'язана з оксидом азоту, зокрема здатна активувати ендотеліальну ізоформу NO-синтази, а остання є джерелом  $\text{H}_2\text{O}_2$  за нестачі кофакторів і субстрату [36]. Пероксид водню в фізіологічних концентраціях відіграє роль гіперполяризуючого фактора у гладеньких м'язах, безпосередньо діючи на

© Ю.В. Данилович

окремі підтипи калієвих каналів, підвищуючи вміст циклічного-3', 5'-аденозинмонофосфату (цАМФ) або впливаючи на окисний обмін арахідонової кислоти. Слід також відзначити, що  $\text{H}_2\text{O}_2$  здатна стимулювати активність розчинної гуанілатциклази [20, 23]. Отже, оксиди азоту і пероксид водню можуть виявляти односпрямовану функціональну активність, викликати релаксацію гладеньких м'язів міометрія [16, 38]. Даних щодо механізмів впливу фізіологічно значущих концентрацій  $\text{H}_2\text{O}_2$  на міометрій у науковій літературі мало. Була продемонстрована можливість продукції оксидів азоту та пероксиду водню в матці як в її ендометріальній тканині, так і в міометрії [26, 34, 12].

Кальцію належить унікальна роль як вторинного месенджера в клітинах, а також тригера скорочення гладеньком'язових клітин (ГМК). В основі ініціації скорочення лежить підвищення концентрації цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  внаслідок його входу у міоплазму з поза- та внутрішньоклітинного пулів за градієнтом концентрації. Підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у міоплазмі призводить до посилення утворення комплексу  $\text{Ca}^{2+}$  – кальмодулін, подальшої стимуляції кінази легких ланцюгів міозину та ініціації скорочення. Основним механізмом збільшення вільного цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  є відкриття завдяки пейсмейкерній активності потенціалкерованих кальцієвих каналів L-типу, які регулюються також і внутрішньоклітинними вторинними посередниками [32]. При ініціації контрактильної активності підвищення концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК відбувається швидко і в достатній кількості через його звільнення із саркоплазматичного ретикулума – СР (кальційіндуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  через канали р'анодинового рецептора) [21, 32]. Кальційіндуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  є можливою, хоча і слабо дослідженою, ланкою ініціації контрактильної активності в ГМК міометрія [8, 39]. Зниження вмісту катіонів забез-

печується передусім роботою  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази та  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника плазматичної мембрани (ПМ),  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази СР – SERCA (від англ. sarcoendoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase) та зв'язуванням з буферами [21, 24, 32]. Передбачається, що у ГМК міометрія СР спрямовано викидає  $\text{Ca}^{2+}$  до ПМ. Це активує локалізовані тут системи його виведення з клітини. Викид  $\text{Ca}^{2+}$  з СР активує також  $\text{K}_{\text{Ca}}$ , що пригнічує збудження ПМ. Передбачається, що в окремих ГМК 60–80 %  $\text{Ca}^{2+}$  після підвищення його концентрації акумулюється СР [21], хоча морфологічні дослідження свідчать, що в ГМК СР сягає лише 8 % клітинного об'єму [18]. Також установлено, що розмір СР в ГМК міометрія суттєво збільшується при обробці естрогенами та в процесі вагітності, тобто він може мати більше значення при функціональному навантаженні [30]. Отже, СР – необхідна ланка трансдукції кальцієвого сигналу в ГМК і важлива мішень впливу речовин, що контролюють контрактильну активність матки. У зв'язку з перевагою цГМФ-незалежного характеру впливу оксидів азоту та пероксиду водню на розслаблення міометрія, ми припускаємо, що СР може бути безпосередньою мішенню дії зазначених сполук.

Враховуючи неістотний розмір СР у ГМК міометрія вдалою моделлю при вивченні обміну  $\text{Ca}^{2+}$  в ньому є пермеабілізовані міоцити, в яких неспецифічна проникність ПМ підвищується з використанням різних детергентів, зокрема, дигітоніну [1, 7]. Цей експериментальний підхід дає змогу також досліджувати транспортні процеси за умови нативної морфології внутрішньоклітинних мембранних структур.

Метою нашої роботи було дослідити вплив оксидів азоту та пероксиду водню на енергозалежний і пасивний (активований кальцієм і кофеїном) транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  в СР на суспензії пермеабілізованих дигітоніном ГМК міометрія щурів з використанням  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ .

## МЕТОДИКА

Суспензію ГМК матки невагітних щурів ( $n = 5$ ), естрогенізованих за 16 год до забору тканини, одержували з використанням колагенази та соєвого інгібітора трипсину [25]. Загальну кількість клітин і кількість життєздатних клітин підраховували з використанням гемоцитометра (камери Горяєва).

При дослідженні впливу оксидів азоту та пероксиду водню на енергозалежне накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  в СР пермеабілізовані міоцити протягом 5 хв акумулювали  $\text{Ca}^{2+}$  ( $^{40}\text{Ca}^{2+} + ^{45}\text{Ca}^{2+}$ ) у середовищі такого складу (ммоль/л):  $\text{KCl} - 125$ ,  $\text{NaCl} - 25$ , АТФ  $- 3$ ,  $\text{MgCl}_2 - 3$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4 - 2$ ,  $\text{CaCl}_2 - 0,1$ ,  $\text{NaN}_3 - 10$ , тріс- $\text{HCl} - 50$ , рН 7,4, дигітонін  $- 0,1$  мг/мл без або за наявності нітропрусиду натрію, нітриту натрію або пероксиду водню в концентраціях, указаних нижче. Наявність азиду натрію зумовлюється необхідністю інгібування енергозалежного накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях [1, 7], ємність яких значно більша, ніж СР. Аліквоти клітинного препарату відбирали та зупиняли реакцію швидким розділенням компонентів на фільтрі, потім підраховували питому радіоактивність [1, 4, 7].

При вивченні впливу оксидів азоту та пероксиду водню на пасивне вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із СР ГМК його акумуляцію в вищезазначеному середовищі без досліджуваних речовин через 5 хв зупиняли 10 мкмоль/л тапсигаргіну, після чого клітинний препарат розводили п'ятикратно в середовищі такого складу (ммоль/л):  $\text{KCl} - 125$ ,  $\text{NaCl} - 25$ , кофеїн  $- 2$ ,  $\text{CaCl}_2 - 0,1$  тріс- $\text{HCl} - 50$ , рН 7,4. У середовищі розведення були наявні нітропрусид натрію, нітрит натрію та пероксид водню у наведених нижче концентраціях. Через 1 хв аліквоти клітинного препарату відбирали і зупиняли реакцію швидким розділенням компонентів на фільтрі з подальшим підрахунком питомої радіоактивності [1, 4, 7].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У нашій попередній роботі [4] з використанням моделі пермеабілізованих дигітоніном міоцитів матки щурів і  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  показано, що пасивний транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  з СР (катіон був попередньо акумульований в енергозалежному процесі) є чутливим до 2 ммоль/л кофеїну, 0,1 ммоль/л лідокаїну, а також до екзогенного  $\text{Ca}^{2+}$  (активувався при збільшенні концентрацій  $\text{Ca}^{2+}$  від  $10^{-7}$  до  $10^{-4}$  моль/л і пригнічувався при  $10^{-3}$  моль/л) і рН (стимулювався залуженням середовища), крім того, суттєво пригнічувався  $\text{Mg}^{2+}$  (0,2–4 ммоль/л). Аналіз результатів дає змогу припустити, що використана нами модель є адекватною для вивчення процесів пасивного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із СР через канали ріанодинового рецептора за дії фізіологічно активних речовин. Можливість надійно тестувати енергозалежне накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  СР у цій моделі показано в інших роботах [1, 7].

цГМФ-незалежна дія NO (його донорів) на ГМК міометрія здебільшого пов'язана зі зниженням концентрації цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  і релаксацією, що можна пояснити активацією SERCA, інгібуванням депокерованих кальцієвих каналів ПМ. Важливою мішенню впливу може бути також ріанодинового рецептор, який багатий сульфгідрильними групами, що чутливі до дії оксидантів [29]. Можливий і інший варіант, коли посилення транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  крізь плазмолему або стимулювання вивільнення із СР (субплазмолемальної ділянки) призведуть до локального підвищення його концентрації біля плазматичної мембрани, активації  $\text{K}^+_{\text{Ca}}$ -каналів, гіперполяризації та припинення збудження [24]. Можливість активації АТФ-залежного транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  з клітин міометрія продемонстрована нами лише за відносно високих концентрацій нітрит-аніонів [2].

Установлено, що за наявності 10 ммоль/л азиду натрію, який надійно пригнічує енергозалежну акумуляцію  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях [1, 7], нітропрусид натрію ( $10^{-5}$ – $10^{-3}$  моль/л) та нітрит-аніони ( $10^{-7}$ – $10^{-5}$  моль/л)

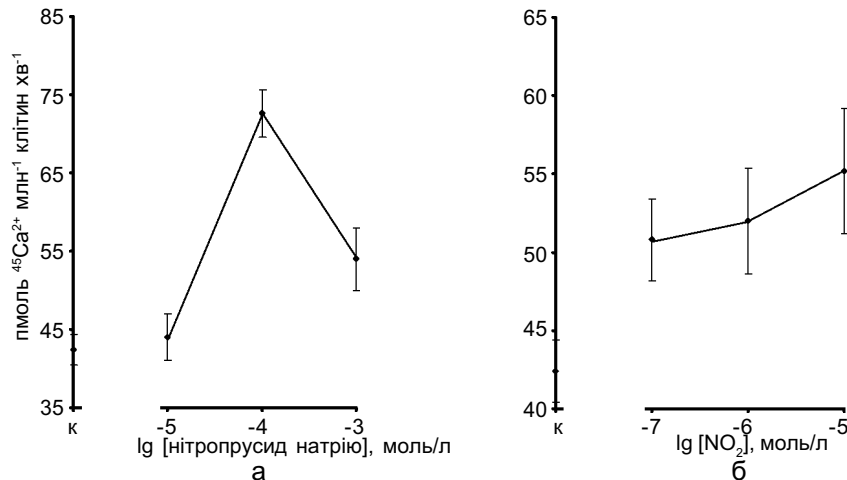


Рис. 1. Вплив нітропрусиду натрію (а) та нітрит-аніонів (б) у зростаючій концентрації на енергозалежну акумуляцію  $\text{Ca}^{2+}$  суспензією пермеабілізованих міоцитів матки шурів за наявності 10 ммоль/л азиду натрію

стимулювали енергозалежне включення  $\text{Ca}^{2+}$  в СР ГМК (рис. 1, а, б). В основі цГМФ-незалежної активації SERCA оксидами азоту [5, 12] лежить редокс-регуляція ферменту через окиснення функціонально важливого цистеїну-647 [40]. За наявності в середовищі супероксид-аніона утворюється пероксинітрит, який модифікує зазначений амінокислотний залишок і також здатний активувати SERCA [6]. Проте пероксинітрит здатний і до пригнічення роботи

транспортної системи нітрозилуванням SERCA за залишками тирозину [19].

Показано, що нітропрусид натрію ( $10^{-5}$  моль/л) та нітрит-аніони ( $10^{-8}$ – $10^{-4}$  моль/л) призводять до пригнічення пасивного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із СР, що був попередньо акумульований в АТФ-залежному процесі, (рис. 2, а, б). Іншими авторами доведено, що нітрозилування сульфгідрильних груп ріанодинового рецептора NO можливе в серцевому та скелетному м'язях, а наприя-

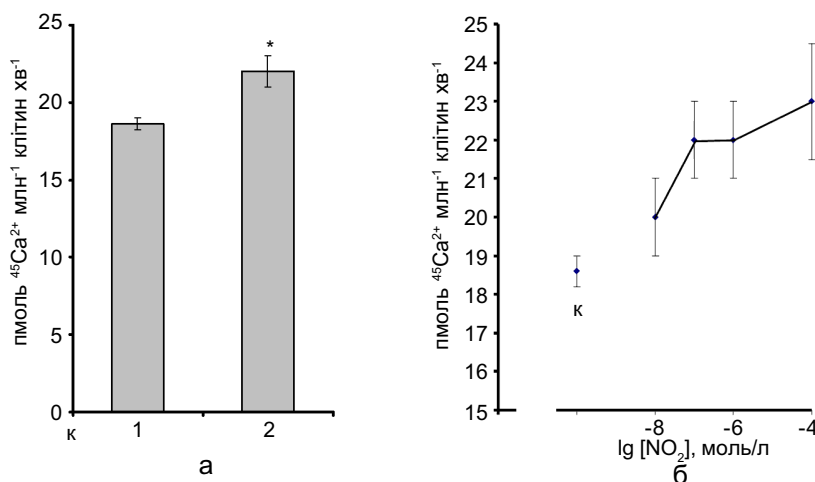


Рис. 2 Вплив 0,01 ммоль/л нітропрусиду натрію (а) та нітрит-аніонів (б) на пасивний транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  з саркоплазматичного ретикула пермеабілізованих міоцитів матки шурів. Попередня акумуляція  $\text{Ca}^{2+}$  здійснювалася в енергозалежному процесі за наявності азиду натрію (10 ммоль/л). За віссю ординат – кількість  $\text{Ca}^{2+}$ , яка залишилась у внутрішньоклітинних пулах на 1 хв пасивного звільнення; для а: 1 – контроль, 2 – при наявності нітропрусиду натрію; для б: к – контроль (без нітрит-аніонів). \* $P \leq 0,05$  відносно контролю

мок впливу (активація чи інгібування) значною мірою залежить від концентрації донорів [29]. На інтактних міоцитах артерій морських свинок показано, що нітропрурид натрію інгібував норадреналінактивоване підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в міоплазмі, причому ефект був незалежним від цГМФ і супроводжувався зниженням спаркової активності [29]. У ГМК трахеї свині NO пригнічує вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із СР через канали ріанодинового рецептора [17].

Також показано, що пероксид водню стимулював енергозалежне включення  $\text{Ca}^{2+}$  в СР (рис. 3). У дослідженнях інших авторів продемонстровані протилежні ефекти, зокрема обробка везикул СР  $\text{H}_2\text{O}_2$  призводила до незворотного інгібування як кальційтранспортувальної, так і АТФазної активності SERCA [31]. З іншого боку, пригнічення SERCA не є причиною контрактильного ефекту, спричиненого  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 мкмоль/л) в аорті щурів [33]. У ГМК аорти великої рогатої худоби  $\text{H}_2\text{O}_2$  в мікромольному діапазоні концентрацій не викликає значного інгібування SERCA, хоча такий ефект чинить супероксид-аніон [35]. З нашої точки зору, дія  $\text{H}_2\text{O}_2$  істотно залежить від концентрації: низькі (субмікромольні та використані нами мікромольні) можуть

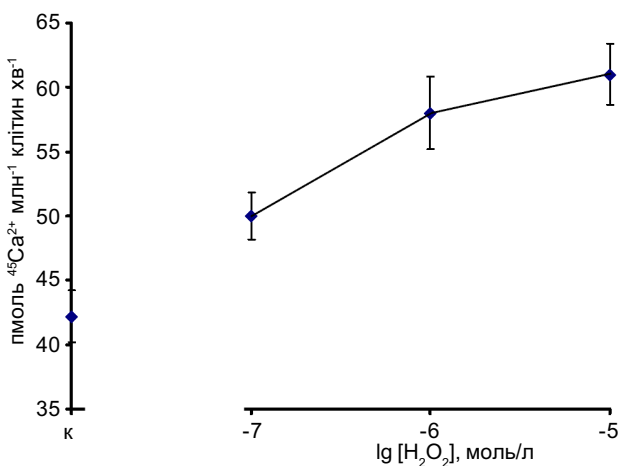


Рис. 3. Енергозалежна акумуляція  $\text{Ca}^{2+}$  суспензією пермеабілізованих міоцитів при наявності 10 ммоль/л азиду натрію та пероксиду водню у зростаючій концентрації (n=5)

відрізнятися від більш високих (умови окисного стресу). Останнє припущення підтверджується в дослідях зі впливом  $\text{H}_2\text{O}_2$  на пасивне вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з пермеабілізованих міоцитів (рис. 4). У концентрації  $10^{-8}$  моль/л пероксид водню пригнічував цей процес, тоді як при  $10^{-4}$  моль/л спостерігався протилежний ефект. Результати інших авторів указують на неоднозначний вплив  $\text{H}_2\text{O}_2$  на досліджуваний процес. Стимуляція вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із СР кардіоміоцитів щурів спостерігалася при 100 мкмоль/л  $\text{H}_2\text{O}_2$ , тоді як 1 мкмоль/л не чинив будь-якого впливу [14]. Пероксид водню у концентрації 10 мкмоль/л посилював транспорт катіона через канали ріанодинового рецептора зі скелетного м'яза, які вбудовані у біліпідний шар. В основі зазначених ефектів може лежати редокс-модифікація каналних структур [27]. Водночас навіть у високих концентраціях (1 ммоль/л)  $\text{H}_2\text{O}_2$  знижує кофеїніндуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із СР кардіоміоцитів шлуночка морських свинок [15]. Аналогічні дані одержані на оброблених сапоніном кардіоміоцитах щурів [22], скелетних

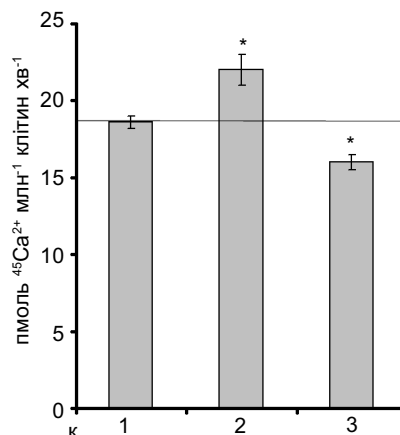


Рис. 4. Вплив  $\text{H}_2\text{O}_2$  на пасивний транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  з саркоплазматичного ретикулу пермеабілізованих міоцитів матки щурів. За віссю ординат – кількість  $\text{Ca}^{2+}$ , яка залишилась у внутрішньоклітинних пулах на 1 хв пасивного звільнення: 1 – контроль, 2 – при наявності 10 ммоль/л пероксиду водню, 3 – 0,1 ммоль/л  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

\*  $P \leq 0,05$  відносно контролю

волоконнах [9] і пермеабілізованих ГМК [37]. Інгібування пероксидом водню кофеїн-індукованого скорочення артерій кролів пояснюється авторами посиленням синтезу цГМФ та активності циклооксигенази [13].

Одержані результати дають змогу висунути припущення, що малі концентрації оксиду азоту і пероксиду водню можуть знижувати вміст  $\text{Ca}^{2+}$  в міоплазмі ГМК і залежну від цього контрактильну активність міометрія, діючи на рівні СР. Конкретні механізми дії зазначених речовин потребують подальших досліджень.

**Ю.В. Данилович**

### **ВЛИЯНИЕ ОКСИДОВ АЗОТА И ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА ТРАНСПОРТ $\text{Ca}^{2+}$ В РЕТИКУЛУМЕ ПЕРМЕАБИЛИЗИРОВАННЫХ МИОЦИТАХ МАТКИ КРЫС**

Исследования проведены на модели пермеабилizированных дигитонином миоцитах матки крысы с использованием  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ . Установлено, что в присутствии 10 ммоль/л азида натрия, который надежно подавляет энергозависимую аккумуляцию  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях, нитропруссид натрия (10 мкмоль/л – 0,1 ммоль/л), нитрит-анионы (0,1 мкмоль/л – 10 мкмоль/л) и пероксид водорода (0,1 мкмоль/л – 10 мкмоль/л) стимулировали энергозависимое включение  $\text{Ca}^{2+}$  в саркоплазматический ретикулум. При исследовании процессов пассивного высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  из этого пула, который был предварительно аккумулятирован в АТФ-зависимом процессе, обнаружено, что нитропруссид натрия (10 мкмоль/л), нитрит-анионы (10 нмоль/л – 0,1 ммоль/л) и пероксид водорода (10 нмоль/л) приводят к снижению пассивного высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$ , в то время как 0,1 ммоль/л  $\text{H}_2\text{O}_2$  оказывает противоположный эффект. Полученные данные позволяют выдвинуть предположение, что исследуемые соединения могут снижать концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в миоплазме и зависимую от этого контрактильную активность, действуя на уровне саркоплазматического ретикулума.

Ключевые слова: оксид азота, пероксид водорода, кальций, саркоплазматический ретикулум, матка.

**Iu.V. Danylovych**

### **THE ACTION OF NITROGEN OXIDES AND HYDROGEN PEROXIDE ON $\text{Ca}^{2+}$ TRANSPORT IN SARCOPLASMIC RETICULUM OF PERMEABILIZED MYOCYTES OF UTERA**

Investigations were conducted on a model of digitonin-permeabilized myocytes from uterus of pig with the use of

$^{45}\text{Ca}^{2+}$ . It is set that in presence 10 mM of sodium azide which reliably represses the energy-dependent accumulation of  $\text{Ca}^{2+}$  in mitochondria, sodium nitroprusside (10  $\mu\text{M}$  - 0,1 mM), nitrite-anion (0,1  $\mu\text{M}$  - 10  $\mu\text{M}$ ) and hydrogen peroxide (0,1  $\mu\text{M}$  - 10  $\mu\text{M}$ ) stimulated the energy-dependent including of  $\text{Ca}^{2+}$  in sarcoplasmic reticulum. At probed processes of the passive freeing of  $\text{Ca}^{2+}$  from this pool which was preliminary accumulated in a ATP-dependent process, it is discovered that sodium nitroprusside (10  $\mu\text{M}$ ), nitrite-anion (10 nM - 0,1 mM) and hydrogen peroxide (10 nM) result in the decline of the passive release of  $\text{Ca}^{2+}$ , while 0,1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  resulted in an opposite effect. The findings allow to suggest that the probed chemicals can reduce the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  in myoplasm, and hence, the contractile activity, operating at the sarcoplasmic reticulum level.

Key words: nitrogen oxide, hydrogen peroxide, calcium, sarcoplasmic reticulum, utera.

*O.V. Palladin Biochemical Institute NAS of Ukraine, Kyiv*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бабич Л.Г., Шлыков С.Г., Борисова Л.А. Энергозависимый транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  во внутриклеточных структурах гладкой мышцы // Биохимия. – 1994. – 69, вып. 8. – С. 1218–1229.
2. Данилович Г.В., Данилович Ю.В. Вплив окислів азоту і пероксиду водню на  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азну та  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азну активність сарколеми міометрія // Укр. біохім. журн. – 2007. – 79, №2. – С. 30–37.
3. Данилович Ю.В. Вплив стероїдних гормонів і окситоцину на утворення NO і  $\text{H}_2\text{O}$  в ендометрії // Там само. – 2004. – 76, №1. – С. 88–96.
4. Данилович Ю.В. Характеристики пассивного виходу  $\text{Ca}^{2+}$  з саркоплазматичного ретикулума клітин міометрія щурів // Фізіол. журн. – 2007. – 53, №1. – С. 55–61.
5. Adachi T., Matsui R., Weisbrod R.M. Reduced sarco/endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  uptake activity can account for the reduced response to NO, but not sodium nitroprusside, in hypercholesterolemic rabbit aorta // Circulation. – 2001. – 104, №9. – P. 1040–1045.
6. Adachi T., Weisbrod R.M., Pimentel D.R. S-Glutathiolation by peroxynitrite activates SERCA during arterial relaxation by nitric oxide // Nat. Med. – 2004. – 10, №11. – P. 1200–1207.
7. Babich L.G., Burdyga Th.V., Shlykov S.G. Evidence for the intracellular nonmitochondrial calcium store in uterine smooth muscle cells // Укр. біохім. журн. – 1997. – 69, №2. – С. 19–29.
8. Barata H., Thompson M., Zielinska W. The role of cyclic-ADP-ribose-signaling pathway in oxytocin-induced  $\text{Ca}^{2+}$ -transients in human myometrium cells // Endocrin. – 2004. – 145, №2. – P. 881–889.
9. Brotto M.A., Nosek T.M. Hydrogen peroxide disrupts  $\text{Ca}^{2+}$  release from the sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle fibers // J. Appl. Physiol. – 1996. – 81, №2. – P. 731–737.
10. Buxton I.L. Regulation of uterine function: a biochemical

- conundrum in the regulation of smooth muscle relaxation // *Mol. Pharmacol.* – 2004. – **65**, №5. – P. 1051–1059.
11. Chung D., Caruso R.L. Potential role for oxidative stress in 2,2'-dichlorobiphenyl-induced inhibition of uterine contractions but not myometrial gap junctions // *Toxicol. Sci.* – 2006. – **93**, №1. – P. 172–179.
  12. Cohen R.A., Weisbrod R.M., Gericke M. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilation: refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and inhibition of store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  influx // *Circulat. Res.* – 1999. – **84**, №2. – P. 210–219.
  13. Fujimoto S., Asano T., Sakai M. Mechanisms of hydrogen peroxide-induced relaxation in rabbit mesenteric small artery // *Eur. J. Pharmacol.* – 2001. – **412**, №3. – P. 291–300.
  14. Gen W., Tani M., Takeshita J. Mechanisms of  $\text{Ca}^{2+}$  overload induced by extracellular  $\text{H}_2\text{O}_2$  in quiescent isolated rat cardiomyocytes // *Basic. Res. Cardiol.* – 2001. – **96**, №6. – P. 623–629.
  15. Goldhaber J.I., Liu E. Excitation-contraction coupling in single guinea-pig ventricular myocytes exposed to hydrogen peroxide // *J. Physiol.* – 1994. – **477**, №1. – P. 135–147.
  16. Hoffman P., Stanke-Labesque F., Fanchin R. Effects of L-arginine and sodium nitroprusside on the spontaneous contractility of human non-pregnant uterus // *Human Reproduction.* – 2003. – **18**, №1. – P. 148–151.
  17. Kannan M.S., Prakash Y.S., Johnson D.E. Nitric oxide inhibits calcium release from sarcoplasmic reticulum of porcine tracheal smooth muscle cells // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **272**, №1. – P. L. 1–7.
  18. Kargacin M.E., Kargacin G.J. Direct measurement of  $\text{Ca}^{2+}$  uptake and release by the sarcoplasmic reticulum of saponin permeabilized isolated smooth muscle cells // *J. Gen. Physiol.* – 1995. – **106**. – P. 467–484.
  19. Kobayashi T., Taguchi K., Takenouchi Y. Insulin-induced impairment via peroxynitrite production of endothelium-dependent relaxation and sarco/endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase function in aortas from diabetic rats // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – **43**, №3. – P. 431–440.
  20. Kuenzli K.A., Bradley M.E., Buxton I.L. Cyclic GMP-independent effects of nitric oxide on guinea-pig uterine contractility // *Brit. J. Pharmacol.* – 1996. – **119**, №4. – P. 737–743.
  21. Laporte R., Hui A., Laher J. Pharmacological modulation of sarcoplasmic reticulum in smooth muscle // *Pharmacol. Rev.* – 2004. – **46**, №4. – P. 439–513.
  22. MacFarlane N.G., Miller D.J., Smith G.L. Effects of oxidants on the sarcoplasmic reticulum of saponin treated rat ventricular trabeculae // *Cardiovascular. Res.* – 1994. – **28**, №11. – P. 1647–1652.
  23. Matoba T., Shimokawa H. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans // *J. Pharmacol. Sci.* – 2003. – **92**. – P. 1–6.
  24. Matthew A., Shmygol A., Wray S.  $\text{Ca}^{2+}$  entry, efflux and release in smooth muscle // *Biol. Res.* – 2004. – **37**, №4. – P. 617–624.
  25. Mollard P., Mironneau J., Amedee T. Electrophysiological characterization of single pregnant rat myometrial cells in short-term primary culture // *Amer. J. Physiol.* – 1986. – **19**, №1. – P. C. 47–54.
  26. Norman J.E., Cameron I.T. Nitric oxide in the human uterus // *Rev. Reprod.* – 1996. – **1**. – P. 61–68.
  27. Oba T., Kurono C., Nakajima R.  $\text{H}_2\text{O}_2$  activates ryanodine receptor but has little effect on recovery of releasable  $\text{Ca}^{2+}$  content after fatigue // *J. Appl. Physiol.* – 2002. – **93**, №6. – P. 1999–2008.
  28. Okawa T., Vedernikov Y.P., Saade G.R. Effect of nitric oxide on contractions of uterine and cervical tissues from pregnant rats // *Gynecol. Endocrinol.* – 2004. – **18**, №4. – P. 186–193.
  29. Pucovsky V., Gordienko D.V., Bolton T.B. Effect of nitric oxide donors and noradrenaline on  $\text{Ca}^{2+}$  release sites and global intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in myocytes from guinea-pig small mesenteric arteries // *J. Physiol.* – 2002. – **539**, №1. – P. 25–39.
  30. Ross R., Klebanoff S.J. The smooth muscle cell. In vivo synthesis of connective tissue proteins // *J. Cell Biol.* – 1971. – **50**. – P. 159–171.
  31. Sanchez S., Fernandez-Belda F., Solef F. Functional effect of hydrogen peroxide on the sarcoplasmic reticulum membrane: uncoupling and irreversible inhibition of the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase protein // *Arch. Biochem. and Biophys.* – 2004. – **431**, №2. – P. 245–251.
  32. Sanders K.M. Mechanisms of calcium handling in smooth muscles // *J. Appl. Physiol.* – 2001. – **91**. – P. 1438–1449.
  33. Shen J.Z., Zheng X.F., Wei E.Q. Evidence against inhibition of sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -pump as mechanism of  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced contraction of rat aorta // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2001. – **22**, №6. – P. 498–504.
  34. Sladek S.M., Magness R.R., Conrad K.P. Nitric oxide and pregnancy // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **272**, №41. – P. R. 441–463.
  35. Suzuki Y.J., Ford G.D. Inhibition of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase of vascular smooth muscle sarcoplasmic reticulum by reactive oxygen intermediates // *Ibid.* – 1991. – **261**, №2. – P. H. 568–574.
  36. Thomas S.R., Chen K., Keaney J.F. Hydrogen peroxide activates endothelial nitric-oxide synthase through coordinated phosphorylation and dephosphorylation via a phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling pathway // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**, №8. – P. 6017–6024.
  37. Wada S., Okabe E. Susceptibility of caffeine- and Ins (1,4,5)P<sub>3</sub>-induced contractions to oxidants in permeabilized vascular smooth muscle // *Eur. J. Pharmacol.* – 1997. – **320**, №1. – P. 51–59.
  38. Warren A.Y., Matharoo-Ball B., Shaw R.W. Hydrogen peroxide and superoxide anion modulate pregnant human myometrial contractility // *Reproduction.* – 2005. – **130**. – P. 539–544.
  39. Wray S., Kupittayanant S., Shmygol A. The physiological basis of uterine contractility: a short review // *Exp. Physiol.* – 2001. – **86**, №2. – P. 239–246.
  40. Ying J., Tong X., Pimentel D.R. Cystein-674 of the sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase is required for the inhibition of cell migration by nitric oxide // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – **27**, №4. – P. 783–790.

*In-t* біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ  
E-mail: danylovyeh@biochem.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 09.03.2009