

О.І. Бондаренко, В.Ф. Сагач

## Модуляція електричних реакцій ендотеліальних клітин нікотиновими холінорецепторами

*Поскольку пролонгированная гиперполяризация мембраны эндотелиальных клеток изолированной аорты крысы при действии ацетилхолина частично может опосредоваться реверсивным  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -обменником и  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФазой, механизмами, направленными на транспорт  $Na^+$  из клетки, в работе проведено сравнение электрических реакций эндотелиальных клеток изолированных аорты крыс на действие ацетилхолина и других  $Ca^{2+}$ -мобилизирующих агентов, а также исследована роль никотина на мембранный потенциал эндотелиальных клеток с целью выявления функциональной активности никотиновых холинорецепторов как возможного пути поступления  $Na^+$  в клетки эндотелия. Показано, что кальциевые ионофоры A23187 и иономицин, а также ингибиторы  $Ca^{2+}$ -АТФазы эндоплазматического ретикулума циклопиазоновая кислота и бутилбензогидрохинон вызывают кратковременную гиперполяризацию эндотелиальных клеток, переходящую в длительную деполаризацию. Электрические реакции на эти  $Ca^{2+}$ -мобилизирующие агенты существенно отличались от вызванных действием ацетилхолина, что указывает на вовлечение дополнительных ионных механизмов. Действие никотина сопровождалось  $Na^+$ -зависимой деполаризацией клеток эндотелия, что подтверждает функциональную активность никотиновых холинорецепторов. Результаты работы указывают на то, что стимуляция  $Na^+$ -проводящих никотиновых рецепторов ацетилхолином может приводить к пролонгации гиперполяризации эндотелиальных клеток вследствие активации электрогенных механизмов, направленных на транспорт  $Na^+$  из клеток эндотелия.*

### ВСТУП

Дія ацетилхоліну на ендотеліальні клітини, як відомо, супроводжується підвищенням концентрації внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  і пролонгованою гіперполяризацією, яка реалізується у стимуляції М1- та М3-мускаринових холінорецепторів [16], що призводить до активації фосфоліпази С і підвищення вмісту інозитолтрифосфату і, як наслідок, вивільнення  $Ca^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо. В багатьох типах клітин цей процес ініціює надходження  $Ca^{2+}$  ззовні.

Нещодавно нами було продемонстровано, що блокування  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -обмінника частково пригнічує пролонгований компонент гіперполяризації мембрани ендотеліальних клітин ізольованої аорти щурів у відповідь на дію ацетилхоліну [4]. Надалі

© О.І. Бондаренко, В.Ф. Сагач

було виявлено, що блокування  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФази оубаїном чи безкалієвим розчином Кребса також частково пригнічує пролонгований характер гіперполяризації під час дії ацетилхоліну [5]. Дані цих робіт, таким чином, вказують на те, що під час дії ацетилхоліну пролонгований характер гіперполяризації мембрани ендотеліальних клітин, яка стимулює надходження у клітини  $Ca^{2+}$ , частково забезпечується механізмами, спрямованими на транспорт  $Na^+$  із клітин. Калькуляція енергетики  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -транспортера вказує на те, що в умовах гіперполяризації клітин до -70 мВ і підвищення концентрації внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  до 450 нмоль/л [19] реверсивний режим  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -обмінника може активуватися тільки через підвищення внутрішньоклітинної концентрації

Na<sup>+</sup>. Проведені нами попередні дослідження переконливо вказують на стимуляцію шляху надходження Na<sup>+</sup> в ендотеліальні клітини під час дії ацетилхоліну, що призводить до активації реверсивного Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>-обмінника та Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-насоса електрогенних транспортерів, які пролонгують гіперполяризацію клітин ендотелію.

Нікотинні холінорецептори є одним з кандидатів на роль Na<sup>+</sup>-провідного шляху, що стимулюється ацетилхоліном в ендотеліальних клітинах. Експресія ендотеліальними клітинами  $\alpha 3$ -,  $\alpha 5$ -,  $\alpha 7$ -,  $\alpha 10$ -, а також  $\beta 2$ - та  $\beta 4$ -субодиниць нікотинних холінорецепторів була продемонстрована раніше в артеріях щурів, аорти включно [6, 12, 14, 20], але функціональне їх значення не було з'ясовано і дані літератури щодо впливу нікотину на ендотеліозалежну релаксацію є досить суперечливими. Так, повідомлялося про пригнічення [7] і збільшення [9] ендотеліозалежної релаксації під впливом нікотину в експериментах на ізольованій каротидній і мезентеріальній артерії відповідно, а також про відсутність ефекту в експериментах на ізольованій аорті та коронарній артерії [2, 7]. Різноманітність ефекту нікотину може пояснюватися його впливом не лише на ендотеліальні, але й на гладеньком'язові клітини та на периферичні автономні ганглії. В ендотеліальних клітинах нікотин пригнічує продукцію ендотеліну та простагландинів [15] і підсилює активність NO-синтази [17], що вказує на регуляцію Ca<sup>2+</sup>-залежних процесів судинного ендотелію нікотинном. Таким чином, попередні дослідження вказують на наявність нікотинних рецепторів у ендотеліальних клітинах і їх можливе залучення, поряд з мускариновими рецепторами, в електричні реакції на дію ацетилхоліну.

Мета нашої роботи полягала в дослідженні ролі нікотинних холінорецепторів у електричних реакціях ендотеліальних клітин аорти щурів. Для цього було досліджено

ефект нікотину на мембранний потенціал ендотеліальних клітин аорти щурів, а також порівняно вплив ацетилхоліну, який здатен стимулювати як мускаринові, так і нікотинні холінорецептори, з іншими структурно непов'язаними Ca<sup>2+</sup>-мобілізуючими агентами, дія яких відтворює розвиток подій, що спостерігається під час стимуляції M1- та M3-мускаринових рецепторів, а саме вивільнення Ca<sup>2+</sup> із внутрішньоклітинних депо та стимуляція його надходження ззовні.

## МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на ендотелії аорти щурів віком 3–5 міс. Грудну частину аорти ізольовали, нарізали на сегменти довжиною 3–4 мм і зберігали у модифікованому розчині Кребса такого складу (ммоль/л): NaCl – 118,3, NaHCO<sub>3</sub> – 25, KCl – 4,7, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2, CaCl<sub>2</sub> – 2,5, глюкоза – 10. Розчин аерували сумішшю 95% O<sub>2</sub> та 5% CO<sub>2</sub>. Перед експериментом сегмент аорти розрізали вздовж і закріплювали в камері об'ємом близько 100 мкл, яку перфузували розчином Кребса зі швидкістю 1 мл/хв. У розчині Кребса з пониженою концентрацією Na<sup>+</sup> (118,3 ммоль/л) NaCl еквімолярно замінювали на NMDGCl.

Мембранний потенціал ендотелію реєстрували методом перфорованого patch-clamp у режимі фіксації струму за допомогою підсилювача біопотенціалів «РОК-3М». Піпетки заповнювали таким розчином (ммоль/л): KCl-140, NaCl-10, HEPES-10. До розчину додавали ністатин (200 мкг/мл). Експерименти проводили при 23-25° С. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми Excel. У роботі застосовували реактиви: ацетилхолін, A23187, іономіцин, циклопіазонову кислоту, бутілбензогідрокінон (BHQ), нікотин, оубаїн (всі виробництва фірми “Sigma-Aldrich”).

## РЕЗУЛЬТАТИ

На першому етапі роботи ми порівнювали вплив ацетилхоліну з іншими  $\text{Ca}^{2+}$ -мобілізуючими агентами – А23187, іономіцином, циклопіазоновою кислотою та бутилбензогідрохіноном на мембранний потенціал ендотеліальних клітин. Якщо ацетилхолін реалізує свій ефект завдяки стимуляції тільки мускаринових холінорецепторів, яка, як відомо призводить до інозитолтрифосфатчутливого вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо і стимуляції надходження  $\text{Ca}^{2+}$  ззовні через депокеровані канали, то перебіг електричних реакцій у відповідь на дію ацетилхоліну має бути відтворений дією інших  $\text{Ca}^{2+}$ -мобілізуючих агентів.

Суперфузія судинної смужки розчином Кребса, що містить ацетилхолін (2 мкмоль/л), викликала пролонговану гіперполяризацію амплітудою  $18,9 \text{ мВ} \pm 1,6 \text{ мВ}$  (рис. 1,а) від потенціалу спокою  $-44,1 \text{ мВ} \pm 1,4 \text{ мВ}$  ( $n=16$ ). Суперфузія судинної смужки розчином Кребса, що містить  $\text{Ca}^{2+}$ -іонофор А23187 (10 мкмоль/л) призводила до транзійтної гіперполяризації ( $8,2 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}$ ;  $n=4$ ), що переходила в тривалу деполіаризацію (див. рис. 1,б). Як відомо,  $\text{Ca}^{2+}$ -іонофори в низьких концентраціях селективно діють на внутрішньоклітинні депо  $\text{Ca}^{2+}$  без значного підвищення проникності плазмолемі для  $\text{Ca}^{2+}$  [10]. Це призводить до вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо з наступною стимуляцією ємнісного  $\text{Ca}^{2+}$ -входу. Для моделювання такої ситуації застосовувався іономіцин. Додавання іономіцину в низькій концентрації (0,6 мкмоль/л) у суперфузуючий розчин також викликало короткотривалу гіперполяризацію з наступною деполіаризацією (див. рис. 1,в).

Іншим шляхом підвищення концентрації внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  є пригнічення  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ендоплазматичного ретикулума, що сприяє пасивному вивільненню з нього  $\text{Ca}^{2+}$  і стимуляції ємнісного  $\text{Ca}^{2+}$ -входу. Суперфузія судинної смужки розчином Кребса, що містить циклопіазонову кислоту

(10 мкмоль/л), агентом, що пригнічує  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу ендоплазматичного ретикулума, спричинило гіперполяризацію ( $13,2 \text{ мВ} \pm 1,4 \text{ мВ}$ ;  $n=7$ ), яка переходила в тривалу деполіаризацію ендотеліальних клітин (див. рис. 1,г). Подібний перебіг електричної відповіді ендотеліальних клітин викликав інший агент, що реалізує свій ефект завдяки селективному пригніченню  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази

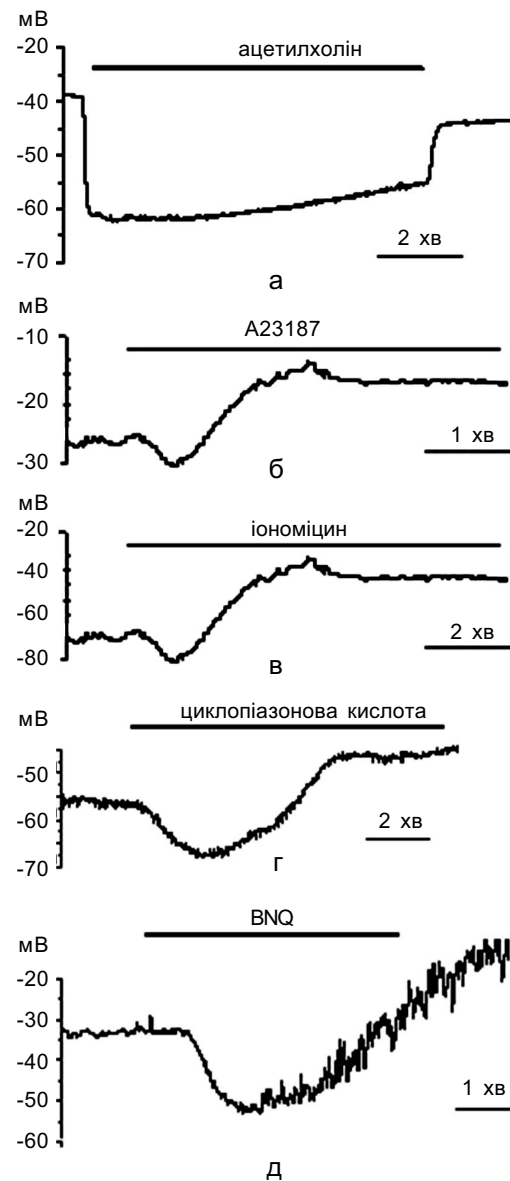


Рис. 1. Порівняння впливу 2 мкмоль/л ацетилхоліну (а) та інших  $\text{Ca}^{2+}$ -мобілізуючих агентів (б-д) на мембранний потенціал ендотеліальних клітин ізольованої аорти щура

ендоплазматичного ретикулула – бутілбензогідрокінон (20 мкмоль/л), але з тією різницею, що після досягнення піка гіперполяризації спостерігались осциляції мембранного потенціалу (див. рис. 1,д). Таким чином, ефект ацетилхоліну на мембранний потенціал ендотеліальних клітин є унікальним серед інших  $\text{Ca}^{2+}$ -мобілізуючих агентів, які викликають значно менш тривалу гіперполяризацію, що переходить у деполяризацію.

Для селективної стимуляції нікотинних холінорецепторів застосовувався нікотин. Суперфузія судинної смужки розчином Кребса, що містив нікотин (300 мкмоль/л), призвела до транзійтної деполяризації мембрани ендотеліальних клітин (рис. 2,а) з амплітудою ( $12,3 \text{ мВ} \pm 1,7 \text{ мВ}$ ;  $n=4$ ). За наявності 26,2 ммоль/л зовнішньоклітинного  $\text{Na}^+$  суперфузія судинної смужки розчином, що містив 300 мкмоль/л нікотину спричинила деполяризацію зі значно меншою ( $5,4 \text{ мВ} \pm 1,1 \text{ мВ}$ ;  $n=3$ ) амплітудою (див. рис.2,б).

У деяких препаратах, коли ацетилхолін-індукована гіперполяризація пригнічувалась оубаїном (500 мкмоль/л), перед гіперполяризацією спостерігалася деполяризація з амплітудою до 15 мВ. Ці спостереження

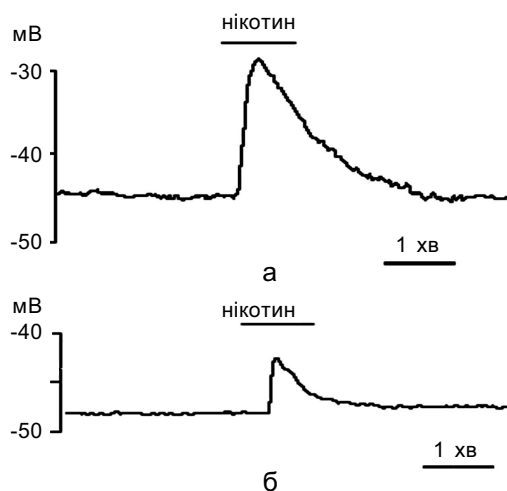


Рис. 2. Вплив нікотину (300 мкмоль/л) на мембранний потенціал ендотеліальних клітин за наявності зовнішньоклітинного  $\text{Na}^+$ : а – 144,5 ммоль/л, б – 26,2 ммоль/л

підтверджують, що пролонгована гіперполяризація ендотеліальних клітин маскує деполяризуючий транзійтний компонент електричної відповіді на дію ацетилхоліну (рис. 3).

## ОБГОВОРЕННЯ

Дія ацетилхоліну, як відомо, викликає тривалу гіперполяризацію свіжоізолюваних та інтактних ендотеліальних клітин завдяки стимуляції  $\text{M}_1$ - та  $\text{M}_3$ -холінорецепторів [16], яка пов'язана зі стимуляцією фосфоліпази  $\text{C}$ , та підвищенням вмісту інозитолтрифосфату та діацилгліцеролу. Підвищення вмісту інозитолтрифосфату спричинює вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо та стимуляцію надходження  $\text{Ca}^{2+}$  ззовні. Підвищення вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  в клітинах призводить до стимуляції кальційзалежних калієвих каналів, що і забезпечує гіперполяризацію.

Проведені нами попередні дослідження на ендотеліальних клітинах аорти щурів [4, 5] свідчать про те, що пролонгована гіперполяризація при стимуляції ацетилхоліном, хоча і чутлива до блокаторів кальційзалежних калієвих каналів великої провідності, проте частково опесередковується реверсивним  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінником і  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазою, механізмами, що запускаються підвищенням внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Na}^+$ . Це вказує на те, що вплив ацетилхоліну на ендотеліальні клітини аорти щурів реалізується не лише завдяки стиму-

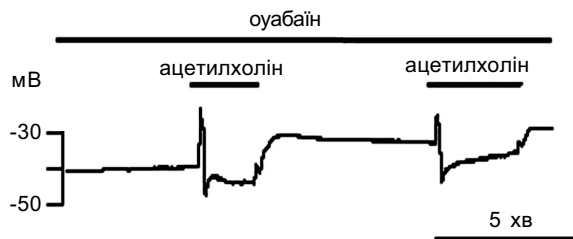


Рис. 3. Пригнічення гіперполяризаційної відповіді оубаїном (500 мкмоль/л) виявляє транзійтну деполяризацію ендотеліальних клітин у відповідь на дію ацетилхоліну (2 мкмоль/л)

ляції мускаринових М1- та М3-холінорецепторів, що і забезпечує як початковий, так і пролонгований компоненти гіперполяризації, але й іншими механізмами, що призводять до підвищення внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Na}^+$  та можуть модулювати пролонгований компонент гіперполяризації.

Пошук шляхів надходження  $\text{Na}^+$  в клітини ендотелію при стимуляції їх ацетилхоліном і навели нас на думку, що в інтактних ендотеліальних клітинах аорти щурів можуть проявляти функціональну активність не лише мускаринові, але й нікотинові холінорецептори, які опосередковують надходження  $\text{Na}^+$  в ендотеліальні клітини. У цій роботі наведено результати експериментів, які підтверджують, що селективна стимуляція нікотинових холінорецепторів призводить до деполяризації ендотеліальних клітин, яка пригнічується в розчині з низькою концентрацією  $\text{Na}^+$ . Таким чином, як свідчать результати роботи нашого дослідження, в аорті щурів реалізація ефекту ацетилхоліну на мембранний потенціал ендотеліальних клітин може здійснюватися завдяки одночасній стимуляції як мускаринових, так і нікотинових холінорецепторів.

Порівняння електричних відповідей ацетилхоліну та інших  $\text{Ca}^{2+}$ -мобілізуючих агентів, що реалізують свій ефект різними механізмами, а саме: завдяки підвищенню проникності плазмолемі для  $\text{Ca}^{2+}$  (A23187), селективної дії на внутрішньоклітинні депо  $\text{Ca}^{2+}$  (низькі концентрації іономіцину), пригніченню  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ендоплазматичного ретикулума (циклопіазонова кислота, бутілбензогідроксінон) свідчать про те, що вони суттєво відрізняються. Так, гіперполяризація у відповідь на дію ацетилхоліну має значно більш пролонгований характер, у той час як електричні відповіді на дію A23187, іономіцину, циклопіазонової кислоти та бутілбензогідроксінону, агентів з різною хімічною структурою, є однотипними та складаються з короткотривалої гіперпо-

ляризації, що переходить у деполяризацію. Різниця в перебігу гіперполяризації між ацетилхоліном та іншими  $\text{Ca}^{2+}$ -мобілізуючими агентами, очевидно, частково пояснюється тим, що дія ацетилхоліну на дослідні ендотеліальні клітини супроводжується стимуляцією  $\text{Na}^+$ -провідних нікотинових холінорецепторів і, як наслідок, активацією транспортних механізмів, що запускаються підвищенням концентрації внутрішньоклітинного  $\text{Na}^+$ : реверсивного  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника та  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази, електрогенними транспортерами, які подовжують гіперполяризацію. Ці спостереження підтверджують нашу думку [4], що активація  $\text{Na}^+$ -провідних механізмів у клітинах ендотелію за певних умов може ініціювати не деполяризацію плазмолемі, а навпаки, – стимулювати її гіперполяризацію і, таким чином, надходження  $\text{Ca}^{2+}$  в клітини.

Перше питання, що постає, аналізуючи отримані нами результати, полягає в тому, чому селективна стимуляція нікотинових холінорецепторів нікотином призводить до деполяризації, в той час як одночасна стимуляція нікотинових і мускаринових холінорецепторів ацетилхоліном призводить до пролонгації гіперполяризації внаслідок стимуляції  $\text{Na}^+$ -транспортних механізмів. Відповідь, очевидно, полягає в тому, що стимуляція реверсивного  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника, як відомо, потребує підвищення внутрішньоклітинного вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  вище ніж 100 нмоль/л [3], яке і забезпечується стимуляцією саме мускаринових холінорецепторів.

Нікотинові холінорецептори є гомо- та гетеропентамерами, що можуть складатися з 9 різних  $\alpha$ -субодиниць і 3 різних  $\beta$ -субодиниць. Стимуляція нікотинових холінорецепторів опосередковує проліферацію ендотеліальних клітин [18], а також ангіогенез [8], процеси, що контролюються оксидом азоту [21], що опосередковано вказує на взаємозв'язок стимуляції нікотинових холінорецепторів ендотеліальних

клітин і системи оксиду азоту. Згідно з результатами нашої роботи, цей зв'язок може залучати стимуляцію механізмів, направлених на транспорт  $\text{Na}^+$  з клітин ендотелію.

Холінорецептори ендотеліальних клітин *in vivo* можуть стимулюватися ацетилхоліном, що циркулює в крові [11] чи вивільнюється самими ендотеліальними клітинами [2, 11], які містять холінацетилтрансферазу. Виникає питання, навіщо ендотеліальним клітинам підтримувати таку досить складну систему, направлену на тривалість електричної відповіді на дію ацетилхоліну і, таким чином, тривалість надходження  $\text{Ca}^{2+}$  в клітини. Очевидно, відповідь полягає в необхідності не стільки підвищити вміст внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ , тривале збільшення якого може бути фатальним для клітини, скільки забезпечити тривалий трансмембранний вхід  $\text{Ca}^{2+}$  в клітини. Оскільки ендотеліальна NO-синтаза знаходиться в кавеолах, цілком зрозуміло, що для стимуляції цього ключового в багатьох фізіологічних процесах ферменту критичним є саме трансмембранний потік  $\text{Ca}^{2+}$  та підвищення його локальної, але не глобальної концентрації, яке фактично може бути пошкоджувальним для клітин.

У цьому сенсі слід наголосити на роль мітохондрій як потужного буфера субплазмолемального  $\text{Ca}^{2+}$  та регулятора надходження його в ендотелій. Так, показано, що агенти, котрі деполяризують мітохондрії і, таким чином, попереджують ефективний транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріальний матрикс, призводять до пригнічення надходження  $\text{Ca}^{2+}$  в клітини [13] та гіперполяризаційних відповідей ендотеліальних клітин [1]. Здатність мітохондрій захоплювати  $\text{Ca}^{2+}$  одночасно контролює три фундаментальні процеси: регуляцію внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ , синтез АТФ завдяки трансмітохондріальному потоку  $\text{Ca}^{2+}$ , і синтез NO ендотеліальними клітинами завдяки трансплазмолемальному потоку  $\text{Ca}^{2+}$ .

Таким чином, представлені результати вказують на те, що селективна активація нікотинових холінорецепторів викликає  $\text{Na}^+$ -залежну деполяризацію ендотеліальних клітин, що свідчить про залучення  $\text{Na}^+$ -провідного шляху в ендотеліальні клітини аорти щурів під час стимуляції ацетилхоліном. Ці, а також наші попередні дослідження [4, 5] вказують на те, що така стимуляція призводить до активації електрогенних транспортерів, направлених на вивільнення  $\text{Na}^+$  з клітин ендотелію: реверсивного  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника та  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -насоса, що частково опосередковує пролонгацію гіперполяризації ендотеліальних клітин під час дії ацетилхоліну і, таким чином, пролонгацію надходження  $\text{Ca}^{2+}$  в ендотеліальні клітини.

**O.I. Bondarenko, V.F. Sagach**

#### **STIMULATION OF NICOTINIC CHOLINORECEPTORS MODULATES ELECTRICAL RESPONSES OF ENDOTHELIAL CELLS**

Because the sustained component of hyperpolarization of endothelial cells evoked by acetylcholine in isolated rat aorta may partially be mediated by the reversed  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchanger and  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ATPase, the mechanisms which transport  $\text{Na}^+$  out of cells, we compared the electrical responses of endothelial cells from isolated rat aorta to acetylcholine with other  $\text{Ca}^{2+}$  mobilizing agents and studied the effect of nicotine on endothelial membrane potential in order to assess the functional activity of nicotinic cholinoreceptors.  $\text{Ca}^{2+}$  ionophores A23187 and ionomycin, as well as inhibitors of endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase cyclopiazonic acid and 2,5-di-*tert*-butylhydroquinone evoked a short-lived hyperpolarization which turned to a sustained depolarization of endothelial cells, a time course that substantially differed from that evoked by acetylcholine. Nicotine evoked a  $\text{Na}^+$  dependent depolarization of endothelial cells confirming functional activity of nicotinic cholinoreceptors in rat aortic endothelial cells. The results suggest that stimulation of  $\text{Na}^+$  permeant nicotinic receptors by acetylcholine may contribute to sustained hyperpolarization via stimulation of  $\text{Na}^+$  extrusion mechanisms.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy Sciences of Ukraine, Kyiv*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бондаренко О.І., Сагач В.Ф. Участь мітохондрій у гіперполяризації ендотеліальних клітин при дії

- ацетилхоліну // Фізіол. журн. – 2006. – **52**, №5. – С.6–11.
2. Argacha J. F., Fontaine D., Adamopoulos D. et al. Acute effect of sidestream cigarette smoke extract on vascular endothelial function // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2008. – **52**. – №3. – P.262–267.
  3. Blaustein M.P., Lederer W.J. Sodium/calcium exchange: its physiological implications // Physiol. Rev. – 1999. – **79**. – P.763–854.
  4. Bondarenko A. Sodium-calcium exchanger contributes to membrane hyperpolarization of intact endothelial cells from rat aorta during acetylcholine stimulation // Brit. J. Pharmacol. – 2004. – **143**. – P.9–18.
  5. Bondarenko A., Sagach V. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase is involved in the sustained Ach-induced hyperpolarization of endothelial cells from rat aorta // Ibid. – 2006. – **149**. – P.958–965.
  6. Bruggmann D., Lips K. S., Pfeil U. et al. Rat arteries contain multiple nicotinic acetylcholine receptor alpha-subunits // Life Sci. – 2003. – **72**. – P.2095–2099.
  7. Conklin B. S., Surowiec S. M., Ren Z. et al. Effects of nicotine and cotinine on porcine arterial endothelial cell function // J. Surg. Res. – 2001. – **95**. – №1. – P.23–31.
  8. Cooke J. P. Angiogenesis and the role of the endothelial nicotinic acetylcholine receptor // Life Sci. – 2007. – **80**. – P.2347–2351.
  9. Chadha P.S., Moffatt J.D., Lever R. The effect of a selective  $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor antagonist on endothelium-dependent relaxation in rat mesenteric arteries // Proc. Austral. Physiolog. Soc. – 2007. – **38**. – P.88.
  10. Itoh T., Kanmura Y., Kuriyama H. A23187 increases calcium permeability of store sites more than of surface membranes in the rabbit mesenteric artery // J. Physiol. – 1985. – **359**. – P.467–484.
  11. Kawashima K., Watanabe N., Oohata H. et al. Synthesis and release of acetylcholine by cultured bovine arterial endothelial cells // Neurosci Lett. – 1990. – **119**. – P.156–158.
  12. Macklin K.D., Maus A.D.J., Pereira E.F.R. et al. Human vascular endothelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 1998. – **287**. – P.435–439.
  13. Malli R., Frieden M., Osibow K. et al. Sustained Ca<sup>2+</sup> transfer across mitochondria is essential for mitochondrial Ca<sup>2+</sup> buffering, store-operated Ca<sup>2+</sup> entry, and Ca<sup>2+</sup> store refilling // J. Biol. Chem. – 2003. – **278**. – №45. – P.769–779.
  14. Moccia F., Frost C., Berra-Romani R. et al. Expression and function of neuronal nicotinic ACh receptors in rat microvascular endothelial cells // Amer. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol. – 2004. – **286**. – №2. – H486–H491.
  15. Suzuki N., Ishii Y., Kitamura S. Effects of nicotine on production of endothelin and eicosanoid by bovine pulmonary artery endothelial cells // Prostagland. Leukot. Essent. Fatty Acids. – 1994. – **50**. – P.193–197.
  16. Tracey W. R., Peach M. J. Differential muscarinic receptor mRNA expression by freshly isolated and cultured bovine aortic endothelial cells // Circulat. Res. – 1992. – **70** (2). – P. 234–240.
  17. Tonnessen B.H., Severson S.R., Hurt R.D., Miller V.M. Modulation of nitric-oxide synthase by nicotine // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 2000. – **295**. – P.601–606.
  18. Tsuneki H., Ito K., Sekizaki N. et al. Nicotinic enhancement of proliferation in bovine and porcine cerebral microvascular endothelial cells // Biol. Pharm. Bull. – 2004 – **27**. – №12. – P.1951–1956.
  19. Usachev Y.M., Marchenko S.M., Sage S.O. Cytosolic calcium concentration in resting and stimulated endothelium of excised intact rat aorta // J. Physiol. – 1995. – **489**. – P.309–317.
  20. Wang Y., Pereira E.F., Maus A.D. et al. Human bronchial epithelial and endothelial cells express alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor // Mol. Pharmacol. – 2001. – **60**. – P.1201–1209.
  21. Ziche M., Morbidelli L., Masini E. et al. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P // J. Clin. Invest. – 1994. – **94**, №5. – P. 2036–2044.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*  
*E-mail: abond01@biph.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до*  
*редакції 12.11.2008*