

Роль TRPV4-каналів у регуляції фенілефрин-індукованого скорочення легеневих артерій щурів

Д.О. Дринь^{1,3}, М.І. Мельник², І.В. Кізуб², Х. Хью⁴, А.І. Соловійов², О.В. Жолос^{1,3}

¹Київський національний університет ім. Тараса Шевченка;

²ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ;

³Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;

⁴Медичний інститут університету Вашингтона, Сент Луїс, США; e-mail: darinka.dr@gmail.com

Досліджували роль ванілоїдних катіонних каналів транз'єнтного рецепторного потенціалу (TRPV4-каналів) у регуляції скоротливої активності легеневих артерій щурів під час активації α -адреноцеторів судинних гладеньком'язових клітин (ГМК), а також вивчали їх як потенційну мішень для фармакологічної інтервенції при легеневій гіпертонії. При додаванні селективного агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A на фоні дії активатора α -адреноцеторів фенілефрину (ФЕ) у гладеньких м'язах виникала двофазна відповідь, яка характеризувалася початковим розслабленням ($63,5 \pm 7,1$ %) та наступним скороченням ($142 \pm 17,9$ %). У деендомелізованих судинах ефект GSK1016790A зберігався, що свідчило про визначальну роль TRPV4-каналів, котрі експресовані саме у ГМК судин. Їх селективний блокатор HC-067047 повністю пригнічував ефект агоніста, що підтверджує залучення TRPV4-каналів до регуляції скорочення гладеньких м'язів судин. За відсутності кальцію у зовнішньому розчині фаза скорочення зникала (зменшення від 43,9 до 0,3 %). Двофазна дилататорно-констрикторна відповідь може бути пояснена вивільненням іонів кальцію з саркоплазматичного ретикулула клітин внаслідок дії ФЕ та наступного кальційіндукованого вивільнення кальцію, що, в свою чергу, викликане TRPV4-каналами. Це активує кальційчутливі калієві канали великої провідності, призводить до гіперполяризації мембрани та розслаблення. Подальший вхід кальцію через TRPV4-канали викликає скорочення м'яза. Таким чином, TRPV4-канали відіграють важливу роль у регуляції судинного тонуусу легеневих артерій, але активаційні механізми та з'ясування деталей сигнальних шляхів потребують подальших досліджень.

Ключові слова: гладенькі м'язи; легеневі артерії; канали транз'єнтного рецепторного потенціалу; агоніст і антагоніст TRPV4-каналів; вазоконстрикція; вазодилатація.

ВСТУП

Концентрація кальцію в клітині чітко регулюється різноманітними структурами мембрани: іонними каналами, помпами та обмінниками. Важливу роль у цьому процесі відіграють потенціалзалежні кальцієві канали та рецепторкеровані неселективні катіонні канали, найбільший клас яких представлено родиною TRP (канали транз'єнтного рецепторного потенціалу) [1, 2]. Це суперсімейство полімодальних клітинних сенсорів, що беруть участь у різних фізіологічних процесах, включаючи трансдукцію сигналів, регуляцію Ca^{2+} та Mg^{2+} -гомеостазу та такі кальційза-

лежні процеси, як ріст і загибель клітин, проліферацію, міграцію, клітинний цикл тощо. Варто зазначити, що вони експресовані майже у всіх типах клітин ссавців.

TRP-канали активуються цілим спектром стимулів, таких, як температура, зміна потенціалу та механічний тиск, розтягнення мембрани, зміна рН та іонного складу, а також різними внутрішньоклітинними сигнальними шляхами [3–8]. На основі структурної подібності будови їх було класифіковано на 6 підродин: канонічні (TRPC; TRPC1–7), ванілоїдні (TRPV; TRPV1–6), анкіринові (TRPA; TRPA1), меластатинові (TRPM; TRPM1–8),

© Д.О. Дринь, М.І. Мельник, І.В. Кізуб, Х. Хью, А.І. Соловійов, О.В. Жолос

муколіпінові (TRPML; TRPML1–3) та поліцистинові (TRPP; TRPP2, TRPP3, TRPP5) [9, 10]. Структура каналу включає 6 трансмембарних повторів (S1–S6), при цьому між п'ятим (S5) та шостим (S6) доменами утворюється пора каналу, а також С- та N-терміналі, які знаходяться всередині клітини. Більше того TRP-канали мають додаткові структурні елементи, представлені анкiриновими повторами на внутрішньоклітинному N-терміналі, законсервованій TRP-домен з 25 амінокислотних залишків, до складу якого входить також TRP-боx (EWKFAR) та насичену проліном ділянку від С-терміналю до трансмембранного сегмента S6 [9–10].

TRPV-канали відіграють важливу роль як у збудливих, так і незбудливих типах клітин. Зокрема, один з представників цієї підродини, TRPV4-канал, активується при температурі вище ніж 25⁰ С, механічними стимулами, ендогенними речовинами (арахідонова кислота), а також синтетичними сполуками (GSK1016790A). Цей катіонний канал відіграє важливу роль у забезпеченні регуляції артеріального тиску, осмолярності клітин, відчутті тепла, механочутливості тощо. За біофізичними властивостями він має приблизно однакову проникність для Ca²⁺, Ba²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, але за фізіологічних умов, крім Na⁺, Ca²⁺ є основним іоном, що проникає через цей канал [11, 12].

TRPV4-канали у значній кількості експресуються в ендотелії та гладеньких м'язях легеневиx артерій, нейронах спинномозкових гангліїв, клітинах серця, легень, кісток, печінки тощо [13, 14]. Важливо зазначити, що вони можуть сприяти розвитку механічної гіпералгезії при запаленнях та ушкодженнях тканин. Дослідження останніх років показали, що TRPV4-канали підсилюють чутливість судин до хронічної гіпоксичної легеневої гіпертензії, а також надмірно експресуються за цих умов [15–17]. Однак нині недостатньо відомо про властивості цього каналу в легеневиx артеріях.

Метою нашої роботи було з'ясувати особливості регуляції скоротливої діяльності

гладеньких м'язів легеневиx артерій щурів під час активації TRPV4-каналів.

МЕТОДИКА

В експериментах використовували щурів-самців лінії Вістар масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Всю роботу проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях, а протоколи експериментів були ухвалені Комітетом з етики.

Виділення ізольованих легеневиx артерій щурів. Дослідження проводили на ізольованих кільцевих препаратах легеневиx артерій (ЛА). Після попередньої анестезії (кетамін – 45 мг/кг, ксилазин – 10 мг/кг) тварин декапітували з наступним знекровленням. Після цього розтинали грудну клітку, вилучали разом легені, серце й аорту та відмивали тканини від крові. Під бінокулярним мікроскопом виділяли ЛА та нарізали їх на кільця із внутрішнім діаметром 0,9–1,5 мм та шириною 1 мм. Для препарування кілець використовували модифікований розчин Кребса, що містив (ммоль/л): NaCl - 133, NaHCO₃ - 16,3, NaH₂PO₄ - 1,38, KCl - 4,7, MgCl₂ - 1,05, глюкозу - 11,5, CaCl₂ - 2,73, HEPES - 10; pH 7,4 (доводили за допомогою NaOH). Безкальцієвий розчин був такого складу (ммоль/л): NaCl - 133, NaHCO₃ - 16,3, NaH₂PO₄ - 1,38, KCl - 4,7, MgCl₂ - 1,05, глюкоза - 11,5, HEPES - 10; pH 7,4.

Реєстрація скоротливої активності. Скоротливі реакції гладеньких м'язів досліджували в ізометричному режимі з використанням методу тензометричної реєстрації за допомогою ємнісних датчиків напруження та комп'ютерної програми LabScribe 2 («World Precision Instrument Inc.», США). Відпрепаровані судинні кільця розміщували у проточній камері об'ємом 0,5 мл, в якій підтримували 37⁰ С. Препарати закріплювали на двох сталевих гачках, один з яких був

стаціонарно вмонтований в стінку камери, а інший приєднаний до штока тензодатчика. Для отримання оптимальної сили скорочення судинні сегменти підлягали попередньому пасивному розтягненню з силою приблизно 0,5 г. Препарати ЛА перфузували розчином Кребса зі сталою швидкістю 1,5 мл/хв за допомогою чотириканального перистальтично-го насоса IPS ISM 930 "Ismatec" (Німеччина).

Для оцінки функційного стану судин та отримання оптимальних скоротливих відповідей до початку експерименту їх періодично стимулювали гіперкалієвим розчином, в якому концентрація K^+ становила 60 ммоль/л. Дію селективного агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A на скоротливу активність гладеньких м'язів ЛА вивчали аплікацією цієї речовини (0,3 мкмоль/л). Перед додаванням агоніста препарати попередньо скорочували активатором α -адреноцепторів фенілефрином (ФЕ, 10 мкмоль/л). Вазодилатацію та вазоконстрикцію виражали у відсотках від максимального скорочення, викликаного ФЕ (10 мкмоль/л) або KCl, залежно від задачі. Селективний блокатор TRPV4-каналів HC067047 подавали в концентрації 1 мкмоль/л і агоніст ріанодинових рецепторів (RyR) кофеїн – 10 ммоль/л. Аплікацію усіх застосованих хімічних речовин здійснювали за допомогою перфузійної системи.

Деендотелізацію судин проводили хімічним методом: препарати витримували 15 хв у розчині сапоніну (0,1 мг/мл). Контролем деендотелізації був добре відомий тест на дію ацетилхоліну, який в препаратах з інтактним ендотелієм викликає чітко виражену вазодилатацію, а в деендотелізованих призводить до зниження амплітуди ацетилхолініндукованого розслаблення або викликає вазоконстрикцію. В наших дослідях аплікація ацетилхоліну (10^{-5} моль/л) до оброблених сапоніном препаратів викликала вазоконстрикцію, що підтверджує повну деендотелізацію судин.

Статистична обробка результатів. Усі експериментальні результати наведено

у вигляді середньої арифметичної (M) та її стандартної похибки (m) для певної вибірки (n). Аналіз результатів та побудову графіків проводили з використанням програми Origin 8.5 («Microcal Software Inc.», США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження демонструють двофазну скоротливу відповідь ЛА при дії агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A, яка складалась із першої фази розслаблення ($63,5\% \pm 7,1$) та наступної фази скорочення ($142\% \pm 17,9$). Препарати були попередньо скорочені ФЕ (рис. 1).

Згідно з літературними даними [18, 19] TRPV4-канали експресовані як у гладеньком'язових клітинах (ГМК), так і в ендотелії легеневи артерій, тому ми припустили, що ефект двофазної відповіді міг бути пов'язаним з активацією ендотеліальних каналів. Враховуючи це, важливо було перевірити ефекти GSK1016790A на деендотелізованих препаратах. В цих експериментах було встановлено, що агоніст TRPV4-каналів як на деендотелізованих ЛА, так і з інтактним ендотелієм, викликав двофазну відповідь (рис. 2). При цьому вірогідних відмінностей між обома типами препаратів у фазі релаксації не відмічалось (різниця на 11,6%), але у фазі скорочення без ендотелію ефект був більш вираженим (на 29,2 %, рис. 2, а, б).

Для перевірки нормального функціонального стану препарату гладеньких м'язів після деендотелізації розчином сапоніну проводився стандартний тест на вплив ацетилхоліну. Спостерігалось незначне скорочення на фоні дії гіперкалієвого розчину, що свідчило про неушкоджений шар гладеньких м'язів, очищений від ендотелію (див. рис. 2, в).

Отримані результати говорять про те, що двофазна відповідь на дію GSK1016790A за наявності ФЕ зумовлена активацією TRPV4-каналів, які експресовані головним чином у судинних ГМК. Такі результати є пер-

спективними, оскільки залежно від судинного русла, природи фізіологічного стимула скорочення гладеньких м'язів та від місця експресії TRPV4-каналів їх активація призводить до різних відповідей. Так, у системних судинах це спричинює вазорелаксацію (церебральні артерії, мезентеріальні артерії), яка зумовлена переважно активацією ендотеліальних TRPV4-каналів [19], а у внутрішньолегневих артеріях, навпаки, вазоконстрикцію [20, 21]. Нами вперше була показана двофазна скоротлива відповідь внаслідок активації цих каналів за умов стимуляції α -адреноцепторів ФЕ. При цьому важливо відмітити, що роль

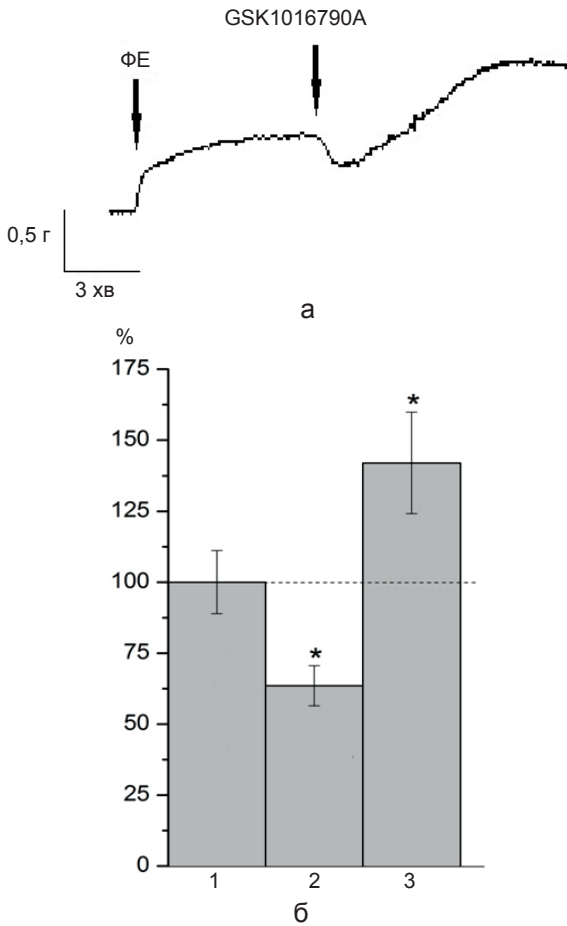


Рис. 1. Скоротлива відповідь гладеньких м'язів легневих артерій під час активації TRPV4-каналів агоністом GSK1016790A на фоні їх преко́нстрикції ФЕ: а - оригінальна міограма типового експерименту; б - тонус гладеньких м'язів (фаза розслаблення - 2 та скорочення - 3) виражений у відсотках від дії ФЕ (1); * $P < 0,05$ відносно дії ФЕ

TRPV4-каналів у регуляції базального тону легневих артерій суттєво відрізняється від їх функції у процесі скорочення, викликаного агоністом α -адреноцепторів. Так, нещодавно було показано, що для базального тону легневих артерій щурів домінуючим ефектом GSK1016790A було ендотеліязалежне роз-

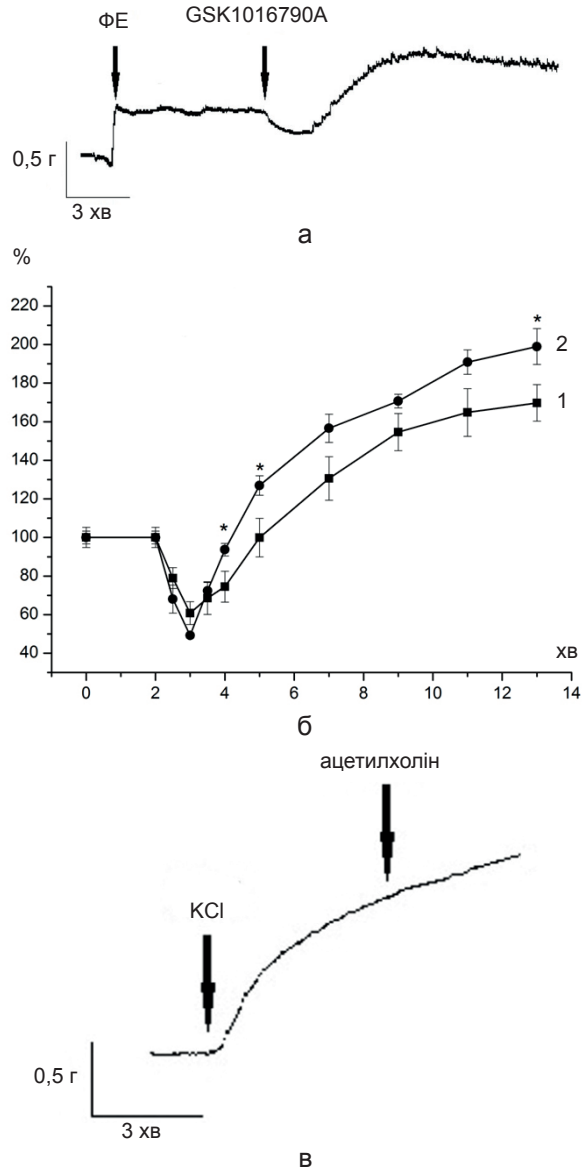


Рис. 2. Порівняльний аналіз ефектів GSK1016790A на передскорочені фенілефрином легневі артерії з ендотелієм (1) та без (2); а - оригінальна міограма типового експерименту без ендотелію; б - ізометричні скорочення виражені у відсотках від дії ФЕ; в - оригінальна міограма типової реакції деендотелізованої сапоніном ЛА у відповідь на дію ацетилхоліну; * $P < 0,05$ відносно препарату з ендотелієм

слаблення, хоча автори і згадують незначне підвищення базального тону при його дії на деендотелізовані судини [22]. Як продемонстровано в наших дослідженнях, ця реакція стає дуже вираженою (див. рис. 1, 2) при активації α -адреноцепторів.

Для підтвердження участі саме TRPV4-каналів у розвитку двофазної скоротливої відповіді застосовували селективний блокатор HC067047. Було показано, що він повністю інгібував ефект GSK1016790A (рис. 3).

При відкриванні TRPV4-каналів кальцій надходить ззовні і одночасно внаслідок активації RyR запускається процес кальційіндукованого вивільнення кальцію з саркоплазматичного ретикулума (CP). Залежно від

його локалізації, вихід кальцію через RyR викликає або скорочення, або розслаблення гладеньких м'язів [20]. Якщо він розташований примембранно, тоді вивільнення Ca^{2+} призводить до виникнення кальцієвих спарків, які переважно активують кальційзалежні калієві канали великої провідності (BK_{Ca}), що викликає гіперполяризацію мембрани та розслаблення ГМК [19]. Коли CP локалізований у центральній ділянці, тоді активація RyR викликає підвищення кальцію в усій цитоплазмі та, зокрема, біля міофіламентів клітини і це, в свою чергу, призводить до скорочення [20].

Dahan та співавтори [20] показали, що в легневих артеріях CP розташований у центральній ділянці, де експресуються RyR2, тоді як у системних судинах він переважно знаходиться в примембранній зоні та містить RyR1. Такою специфікою локалізації може бути зумовлена відмінність реакції ГМК на активацію TRPV4-каналів залежно від їх місця розташування. Так, агоніст TRPV4-каналів епоксіейкозатрієнова кислота викликала розслаблення гладеньких м'язів мозкових та мезентеріальних артерій [19], тоді як у легневих артеріях інший агоніст 4α -PDD, навпаки, спричинював скорочення [20].

У нашому випадку активація TRPV4-каналів ЛА агоністом GSK1016790A призводила спочатку до транзійтного розслаблення, а потім до значного повільного скорочення (див. рис. 1). Щоб з'ясувати, який механізм ініціює двофазну скоротливу відповідь, проводили порівняльні експерименти в звичайному та в безкальцієвому розчині Кребса (рис. 4).

Видно, що розслаблення зберігалось за обох умов (зменшення на 23,4 % та на 19 % порівняно з дією ФЕ, відповідно), тоді як фаза скорочення в безкальцієвому розчині Кребса зникла (збільшення на 43,9 % та на 0,3 %, відповідно; див. рис. 4, а, б). Такі результати говорять про те, що вазоконстрикція ЛА внаслідок активації TRPV4-каналів, як і очікувалось, ініціюється входом кальцію

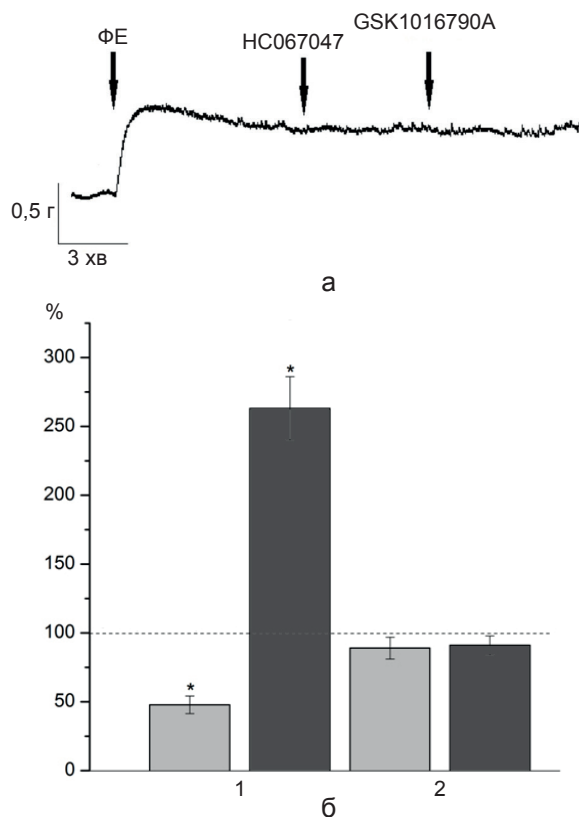


Рис. 3. Інгібування двофазної відповіді на агоніст TRPV4-каналів (1) блокатором HC067047 (2) передскорочених фенілефрином легневих артерій: а - оригінальна міограма типового експерименту з блокатором; б - ізометричні скорочення (фаза розслаблення – світло-сірий, фаза скорочення – темно-сірий) виражені у відсотках від дії ФЕ; * $P < 0,05$ відносно дії ФЕ

ззовні, тоді як природа фази розслаблення залишається невідомою.

Ми припускаємо, що розслаблення може бути пов'язане з преко́нстрикцією гладенького м'яза ФЕ. Одним з механізмів скорочення при активації α -адреноцeпторів є вивільнення кальцію з CP через інозитолтрифосфатні рецептори. Тому, ймовірно, на момент відкриття TRPV4-каналів CP був значно спустошений і не міг запустити механізм кальційіндукованого вивільнення кальцію. Найвірогідніше кальцій, який входив через TRPV4-канали, активував $ВК_{Ca}$ і призводив до розслаблення. Раніше ми показали, що блокатор $ВК_{Ca}$ паксилін пригнічував викликану GSK1016790A вазодилатацію [23].

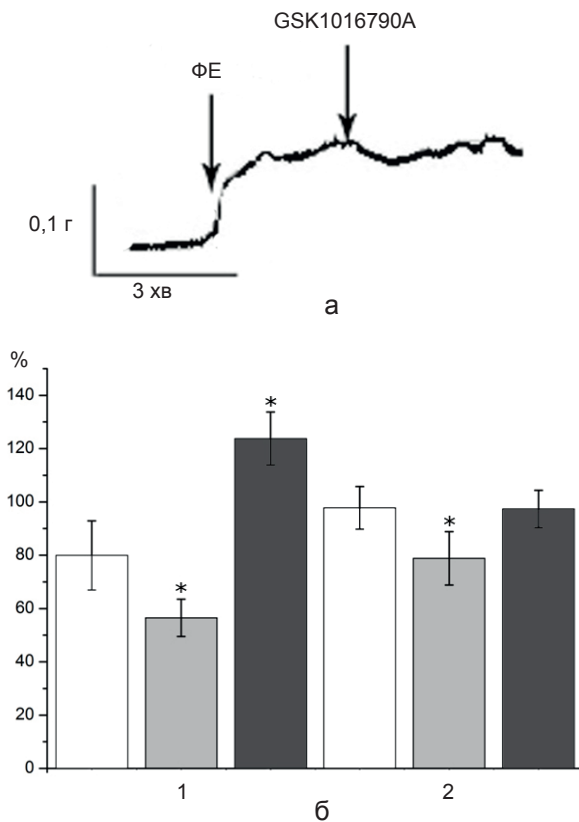


Рис. 4. Порівняльний аналіз скоротливої активності гладеньких м'язів легневих артерій передскорочених фенілефрином у відповідь на дію GSK1016790A в нормальному (1) та безкальцієвому (2) розчині Кребса: а - оригінальна міограма типового експерименту; б - ізометричні скорочення на дію ФЕ (білий) та GSK1016790A (фаза розслаблення - світло-сірий, фаза скорочення - темно-сірий) виражені у відсотках від дії KCl; * P < 0,05 відносно дії ФЕ

Тоді як при десенситизації α -адреноцeпторів CP заповнювався кальцієм, його вхід через TRPV4-канали міг ініціювати фазу скорочення за допомогою як прямого входу Ca^{2+} через ці канали, так і його викиду з депо клітини через RyR. Для оцінки відносного внеску цих механізмів ми порівняли амплітуду максимальних скорочень, що виникали у відповідь на дію ФЕ, GSK1016790A і кофеїну - одного з відомих агоністів RyR (рис. 5). Як і в попередніх досліджах, ефект агоніста TRPV4-каналів спостерігали на фоні преко́нстрикції м'яза ФЕ.

З представлених результатів (рис. 5) видно, що аплікація GSK1016790A на попередньо скорочені ФЕ легневі артерії викликала більшу за амплітудою констрикцію (123,8 % \pm 15,2), ніж KCl (100 %), ФЕ (79,9 % \pm 13) або кофеїн (69,2 % \pm 7,3), що свідчить про значну роль TRPV4-каналів у регуляції індукованого ФЕ скорочення ЛА.

Отже, ми показали, що в легневих артеріях шурів функціональні TRPV4-канали експресовані переважно в ГМК, тоді як ендотеліальні відіграють відносно незначну роль у регуляції скорочення, принаймні на фоні активації α -адреноцeпторів. Синтетичний

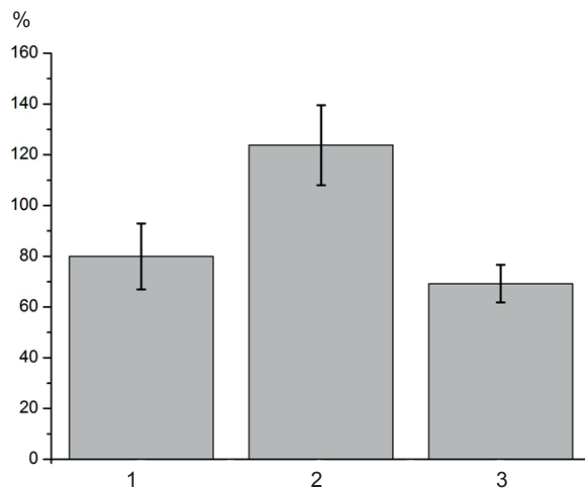


Рис. 5. Порівняльний аналіз амплітуди максимальних скорочень гладеньких м'язів легневих артерій шура при дії фенілефрину (1), кофеїну (3) та GSK1016790A на фоні преко́нстрикції ФЕ (2), ізометричні скорочення виражені у відсотках від дії KCl

агоніст цих каналів GSK1016790A викликає вхід Ca^{2+} в ГМК і це, ймовірно, призводить до попередньої гіперполяризації мембрани через активацію BK_{Ca} -каналів та тимчасової вазодилатації, а потім наступної деполіризації, яка спричиняє значний вхід Ca^{2+} і довготривалу вазоконстрикцію легеневих судин. Участь TRPV4-каналів вагома у багатьох фізіологічних процесах, особливо у формуванні судинного тону, а також в процесах клітинної та тканинної осморегуляції. Тому очевидно, що дослідження ролі TRPV4-каналів у регуляції скорочення гладеньких м'язів ЛА є перспективним напрямком подальших всебічних досліджень, адже отримані результати передбачають можливість їх використання як мішені для фармакологічної корекції судинної патології різного генезу.

**Д.О. Дринь, М.И. Мельник, І.В. Кізуб,
Х. Хью, А.І. Соловьев, А.В. Жолос**

РОЛЬ TRPV4-КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФЕНИЛЭФРИН-ИНДУЦИРОВАННОГО СОКРАЩЕНИЯ ЛЕГОЧНЫХ АРТЕРИЙ КРЫС

Исследовали роль ванилоидных катионных каналов транзистного рецепторного потенциала (TRPV4-каналов) в регуляции сократительной активности легочных артерий крыс на фоне активации α -адреноцепторов гладкомышечных клеток фенилэфрином (ФЭ) с целью их изучения как возможных мишеней для фармакологической модуляции при различных сосудистых заболеваниях с помощью высокоселективного агониста этих каналов GSK1016790A. В ответ на действие последнего на фоне влияния ФЭ гладкие мышцы развивали двуфазный сократительный ответ, который характеризовался начальной фазой расслабления ($63,5\% \pm 7,1$) и последующей сокращения ($142\% \pm 17,9$). В дезэндотелизированных сосудах эффект GSK1016790A сохранялся, что свидетельствовало об определяющей роли экспрессированных в гладких мышцах TRPV4-каналов. Селективный блокатор HC-067047 полностью ингибировал действие агониста GSK1016790A, что подтверждает специфику участия TRPV4-каналов в сокращениях гладких мышц сосудов. В отсутствии кальция во внешней среде фаза сокращения исчезала (уменьшение от $43,9\%$ до $0,3\%$). Двухфазный дилататорно-констрикторный ответ может быть объяснен опустошением саркоплазматического ретикула клеток вследствие действия ФЭ и дальнейшего кальцийиндуцированного высвобождения кальция, что, в свою очередь, вызвано TRPV4-каналами.

Это активирует кальцийчувствительные калиевые каналы большой проводимости, приводит к гиперполяризации мембраны и расслаблению. Последующий вход кальция через TRPV4-каналы вызывает сокращение мышцы. TRPV4-каналы играют важную функцию в регуляции сосудистого тонуса в гладкомышечных клетках легочных артерий, но еще до конца остаются невыясненными активационные механизмы и сигнальные пути этих ионных каналов.

Ключевые слова: гладкие мышцы; легочные артерии; каналы транзистного рецепторного потенциала; агонист и антагонист TRPV4-каналов; вазоконстрикция; вазодилатация.

**Dariia Dryn^{1,3}, Mariia Melnyk², Ihor Kizub²,
Hongzhen Hu⁴, Anatoliy Soloviev²,
Alexander Zholos^{1,3}**

THE ROLE OF TRPV4 CATION CHANNELS IN THE REGULATION OF PHENYLEPHRINE-INDUCED CONTRACTION OF RAT PULMONARY ARTERY

The aim of our study was to investigate the role of mechanosensitive TRPV4 channels in the regulation of rat pulmonary artery smooth muscle (PASM) contractile activity induced by the activation of α -adrenoceptors and the possibility of their use as novel pharmacological targets in pulmonary hypertension. TRPV4 selective agonist, GSK1016790A, in the presence of the agonist of α -adrenoceptors phenylephrine (PhE) evoked biphasic contractile reaction with initial relaxation ($63,5\% \pm 7,1$) followed by significant vasoconstriction ($142\% \pm 17,9$). GSK1016790A evoked similar effects in PASM rings with and without endothelium, indicating that its main site of action was TRPV4 expressed in smooth muscle cells. TRPV4 selective blocker, HC-067047, completely inhibited the effects of GSK1016790A confirming the specific role of TRPV4 in these vascular responses. Application of Ca^{2+} -free external solution reduced the relaxation phase and completely abolished the sustained contractile response to GSK1016790A (from $43,9\%$ to $0,3\%$). The biphasic reaction could be explained as an initial calcium store depletion by PhE and further calcium-induced calcium release activated by TRPV4 that causes BK_{Ca} activation, membrane hyperpolarisation and vasorelaxation, followed by Ca^{2+} entry via TRPV4 and contraction. We conclude that TRPV4 channels play an important role in the regulation of the adrenergic vascular tone of PASM cells, but TRPV4 activation mechanism(s) and signaling pathways remain unclear.

Key words: vascular smooth muscle; pulmonary artery; transient receptor potential channels; TRPV4 agonist and antagonist; vasodilatation; vasoconstriction.

¹ESC "Institute of Biology", Taras Shevchenko Kiev National University; ²Institute of Pharmacology and Toxicology of National Academy of Medical Sciences, Kiev; ³A.A. Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev; ⁴Washington University School of Medicine in St. Louis, USA; e-mail: darinka.dr@gmail.com

REFERENCES

1. So I, Kim KW. Nonselective cation channels activated by the stimulation of muscarinic receptors in mammalian gastric smooth muscle. *J Smooth Muscle Res.* 2003; 39:231–47.
2. Beech DJ, Muraki K, Flemming R. Non-selective cationic channels of smooth muscle and the mammalian homologues of *Drosophila* TRP. *J Physiol.* 2004; 559:685–706.
3. Zholos AV, Zholos AA, Bolton TB. G-protein-gated TRP-like cationic channel activated by muscarinic receptors: effect of potential on single-channel gating. *J Gen Physiol.* 2004; 123:581–98.
4. Voets T, Talavera K, Owsianik G, Nilius B. Sensing with TRP channels. *Nature Biol Chem.* 2005; 1:85–92.
5. Clapham D E. TRP channels as cellular sensors. *Nature.* 2003; 426:517–24.
6. Gees M, Owsianik G, Nilius B, Voets T. TRP channels. *Comp Physiol.* 2012; 2(1):563–608.
7. Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels. *Genome Biol.* 2011; 12(3):218–29.
8. Pedersen SF, Owsianik G, Nilius B. TRP channels: an overview. *Cell Calcium.* 2005; 38:233–52.
9. Owsianik G, D'Hoedt D, Voets T, Nilius B. Structure-function relationship of the TRP channel superfamily. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2006; 156:61–90.
10. Clapham D E, Julius D, Montell C, and Schultz G. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and structure-function relationships of transient receptor potential channels. *Pharmacol Rev.* 2005; 57:427–50.
11. Thorneloe KS, Sulpizio AC, Lin Z, Figueroa DJ, Clouse AK, McCafferty GP, Chendrimada TP, Lashinger ES, Gordon EA, Evans L, Misajet BA, Demarini DJ, Nation JH, Casillas LN, Marquis RW, Votta BJ, Sheardown SA, Xu X, Brooks DP, Laping N, Westfall TD. GS-K1016790A, a novel and potent TRPV4 channel agonist induces urinary bladder contraction and hyperactivity: part I. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 326:432–42.
12. Vriens J, Owsianik G, Janssens A, Voets T, Nilius B. Determinants of 4 α -phorbol sensitivity in transmembrane domains 3 and 4 of the cation channel TRPV4. *J Biol Chem.* 2007; 282:12796–803.
13. Vriens J, Watanabe H, Janssens A, Droogmans G, Voets T, and Nilius B. Cell swelling, heat, and chemical agonists use distinct pathways for the activation of the cation channel TRPV4. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101:396–401.
14. Liedtke W and Friedman JM. Abnormal osmotic regulation in *trpv4*^{-/-} mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100:13698–703.
15. Nilius B, Voets T. The puzzle of TRPV4 channelopathies. *EMBO Rep.* 2013; 14(2):152–63.
16. Zholos A.V., Curtis T.M. TRP channels in vascular disorders. *Curr Top Med Chem.* 2013; 13: 295-309.
17. Nilius B. TRP channels in disease. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1772:805–12.
18. Kohler R., Heyken W. T., Heinau P., Schubert R., Si H., Kacik M., Busch C., Grgic I., Maier T. and Hoyer J. Evidence for a functional role of endothelial transient receptor potential V4 in shear stress-induced vasodilatation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 1495–502.
19. Earley S., Heppner T.J., Nelson M.T., Brayden J.E. TRPV4 Forms a Novel Ca²⁺-Signaling Complex With Ryanodine Receptors and BK_{Ca} Channels. *Circulation Research.* 2005; 9(23) 1270-9.
20. Dahan D., Ducret T., Quignard J.-F., Marthan R., Savineau J.-P., Estève E. Implication of the ryanodine receptor in TRPV4-induced calcium response in pulmonary arterial smooth muscle cells from normoxic and chronically hypoxic rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 303: L824–33.
21. Xia Y., Fu Z., Hu J., Huang C., Paudel O., Cai S., Liedtke W. and Sham J. TRPV4 channel contributes to serotonin-induced pulmonary vasoconstriction and the enhanced vascular reactivity in chronic hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013; 305: C704–15.
22. Sukumaran S.V., Singh T.U., Parida S, Narasimha R.C., Thangamalai R., Kandasamy K., Singh V., and Mishra S.K. TRPV4 channel activation leads to endothelium-dependent relaxation mediated by nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat pulmonary artery. *Pharmacol Res.* 2013; 78:18-27.
23. Dryn D., Melnyk M., Kizub I., Zholos A., Soloviev A. Interaction of TRPV4 and BK_{Ca} channels in the regulation of vascular tone of rat pulmonary arteries. *Pharmacology and Drug Toxicology.* 2015; 6(46): 58-63.

*Матеріал надійшов
до редакції 09.11.2015*