

РОЛЬ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В МЕХАНИЗМАХ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СОСУДИСТЫХ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК

Смаглий Л.В., Рыдченко В.С., Ярцева Ю.О., Бирулина Ю.Г., Ковалев И.В., Гусакова С.В., Носарев А. В., Петрова И.В.

ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

Московский тракт, д. 2, Томск, 634050, РФ; lud.smagly@yandex.ru

Поступила в редакцию: 01.07.2018

Аннотация. Исследовали роль сероводорода (H_2S) в действии агониста P_2X и P_2Y рецепторов АТФ на тонус сегментов аорты крысы с интактным эндотелием. АТФ (1-1000 мкМ) и агонист P_2X рецепторов α, β -MeATP (100 мкМ) расслабляли сегменты, предсокращенные активатором α_1 -адренорецепторов фенилэфрином (ФЭ, 10 мкМ). Агонист P_2Y рецепторов УТФ (1-100 мкМ) снижал, а УТФ (100-1000 мкМ) – увеличивал амплитуду ФЭ-индуцированного сокращения. Релаксирующее действие АТФ усиливалось донором сероводорода NaHS (500 мкМ), но снижалось в присутствии ингибитора цистотионин- γ -лиазы (CSE) DL-propargylglycine (10 мМ). DL-propargylglycine (10 мМ) увеличивал величину констрикторного действия УТФ (100-1000 мкМ), но снижал релаксирующее действие α, β -MeATP (100 мкМ). Таким образом, активация P_2X рецепторов снижает величину сокращения, индуцированного фенилэфрином, а активация P_2Y рецепторов – увеличивает. При этом релаксирующее действие АТФ на сегменты аорты крысы с интактным эндотелием обусловлено активацией цистотионин- γ -лиазы через P_2X рецепторы.

Ключевые слова: АТФ, сероводород, пуринаргические рецепторы, гладкомышечные клетки.

ВВЕДЕНИЕ

В 1972 году Burnstock ввел понятие пуринаргической сигнализации [1], в которой в качестве внеклеточных сигнальных молекул выступали внеклеточные пурины (прежде всего аденозин 5'-трифосфат (АТФ), аденозин, и пиримидин). Эти соединения высвобождаются из клеток посредством диффузии через мембранные гемиканалы, активации мембранных транспортеров, везикулярного экзоцитоза [2-4], либо из гибнущих клеток, что также является ранним индикатором их повреждения [5, 6]. Среди пуринаргических рецепторов выделяют метаботропные P_1 рецепторы аденозина и нуклеотидные рецепторы P_2 , которые подразделяются на подклассы P_2Y (метаботропные) и P_2X (ионотропные) [2, 6-9]. Как P_2X , так и P_2Y рецепторы активируются действием АТФ. АТФ-зависимые механизмы трансдукции сигнала выявлены практически во всех типах клеток и тканях [10].

Известно, что пуринаргическая сигнальная система играет ключевую роль в регуляции сосудистого тонуса. Механизмы такой регуляции варьируют в зависимости от типа кровеносного сосуда, его физиологической роли и вида животного организма [8, 11, 12].

Высвобождаясь из симпатических нервных окончаний в качестве ко-трансммиттера норадреналина, АТФ действует на P_2X_1 рецепторы мембран гладкомышечных клеток (ГМК) и активирует входящие натриевые и кальциевые токи, что приводит к развитию сокращения ГМК [3, 13]. С другой стороны, создаваемое кровотоком изменение напряжения сдвига, действующего на стенку сосуда, а также гипоксия стимулируют высвобождение АТФ из эндотелиальных клеток [14]. Действуя на P_2Y_1 и P_2Y_2 рецепторы мембран эндотелиальных клеток, АТФ стимулирует продукцию инозитолтрифосфата (IP_3) и высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума через активацию рецепторов к IP_3 , последующую активацию eNOS и усиление синтеза NO. Диффундируя в ГМК, NO вызывает расслабление этих клеток, а следовательно, снижение тонуса кровеносных сосудов [15, 16]. Следует отметить, что гипоксия также стимулирует высвобождение АТФ из эритроцитов. Аденозин, образующийся при распаде внеклеточного АТФ, вызывает вазодилатацию через P_1 рецепторы ГМК [2, 12].

Как отмечалось выше, одним из необходимых компонентов, участвующих в передаче пуринаргического сигнала, является NO. NO относится к группе газотрансммиттеров, которая так же включает сероводород (H_2S). И если NO-зависимые механизмы, запускаемые при активации пуринаргических рецепторов, изучены достаточно подробно, то данные о роли H_2S в механизмах пуринаргической сигнализации в настоящее время практически отсутствуют. В то же время, учитывая локализацию ферментов синтеза этого газотрансммиттера, его свойства, а также механизмы действия, схожие с таковыми для NO, можно предполагать их возможную роль в трансдукции сигнала от пуринаргического рецептора к конечному внутриклеточному эффектору.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Объектом исследования служили сегменты грудного отдела аорты нормотензивных крыс-самцов линии Wistar с интактным эндотелием.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялось в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Крыс умерщвляли путем декапитации.

После выделения грудной отдел аорты крысы помещали в физиологически сбалансированный солевой раствор Кребса, с помощью хирургических ножниц отпрепаровывали жировую и соединительную ткань и выделяли сегменты шириной 2-3 мм. Сегменты с интактным эндотелием использовали немедленно, оставшуюся часть аорты сохраняли в холодильнике при 4 °С. В предварительных экспериментах было показано, что 24-часовое хранение аорты при 4 °С не влияет на сократительные свойства гладких мышц.

Методика исследования. Для исследования сократительной активности сосудистые гладкомышечные сегменты (СГМС) после предварительной нагрузки 500 мг фиксировали в рабочей камере объемом 10 мл, изготовленной из стекла. Камеру заполняли физиологическим раствором Кребса и термостатировали при 37 °С.

Измерение механического напряжения сосудистых гладкомышечных клеток проводилось с использованием четырехканальной механографической установки Myobath IV и аппаратно-программного обеспечения LAB-TRAX- 4/16 (Германия).

Сегменты инкубировали в физиологическом растворе Кребса в течение 40-50 минут при pH=7,4 (37 °С), после чего вызывали сократительный ответ путем эквимолярного замещения 30 мМ NaCl на KCl. Сокращение, вызванное гиперкалиевым раствором, прекращали после достижения стабильной величины их амплитуды. Далее в зависимости от целей эксперимента использовали физиологический раствор с добавлением тестируемых соединений. Амплитуду сократительных ответов рассчитывали в процентах от амплитуды сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (эквимолярное замещение 30 мМ NaCl на KCl), либо от амплитуды сокращения, индуцированного α_1 -адреномиметок фенилэфрином (10 мкМ), которые принимали за 100 %.

В качестве агонистов пуриnergических рецепторов использовали неселективный активатор P₂X рецепторов аденозин-5'-трифосфат (АТФ) (Sigma), активатор P₂Y рецепторов уридин-5'-трифосфат (УТФ) (Sigma), активатор P₂X рецепторов α,β -Methyleneadenosine 5'-triphosphate lithium salt (α,β -MeATP) (Sigma). В качестве ингибитора цистотионин- γ -лиазы использовали DL-propargylglycine (Sigma). Донором сероводорода служил гидросульфид натрия (NaHS) (Sigma). Раствор NaHS готовили непосредственно перед использованием, pH раствора поддерживали в пределах 7,35-7,50.

Статистическая обработка. Анализ данных проводили при помощи программы Statistica 7.0 for Windows фирмы Statsoft. Фактические данные представлены в виде «среднее \pm ошибка среднего» ($X \pm m$). Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий нормальности Колмогорова-Смирнова. Сформированные выборки не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для проверки статистических гипотез были использованы непараметрические критерии. Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовался U-критерий Манна- Уитни (Mann-Whitney U test). Для проверки однородности парных или зависимых выборок был использован T-критерий Уилкоксона (Wilcoxon mached pairs test). Достоверными считали различия при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование влияния агонистов пуриnergических рецепторов на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином

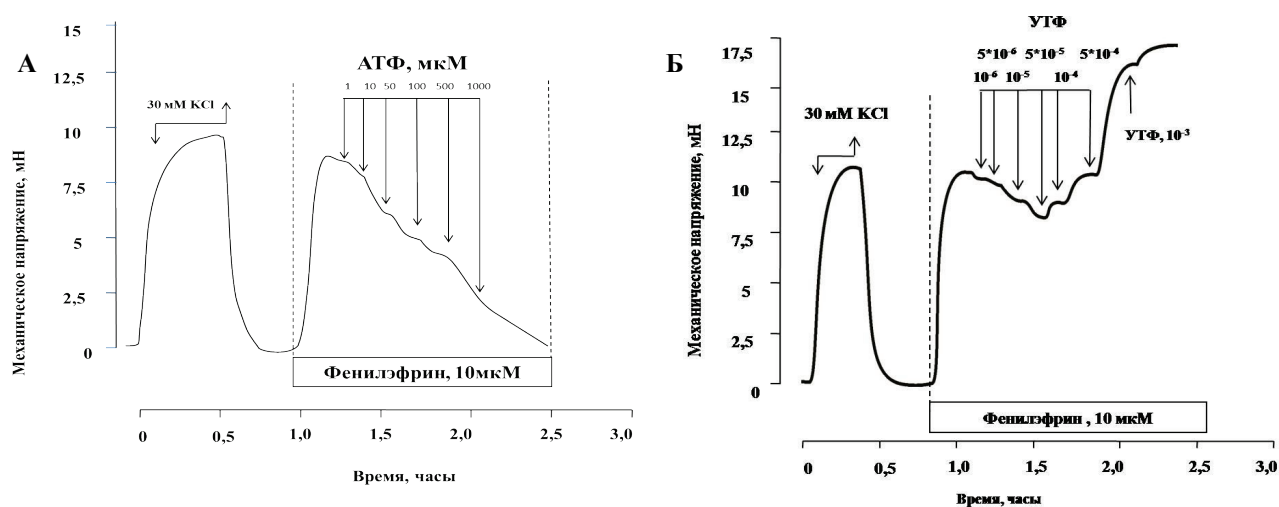


Рисунок 1. Влияние АТФ (1-1000 мкМ) (А) и УТФ (1-1000 мкМ) (Б) на механическое напряжение сегментов аорты крысы с интактным эндотелием, предсокращенных фенилэфрином (10 мкМ). По оси ординат – механическое напряжение (мН), по оси абсцисс – время (часы). Стрелками показано добавление и удаление соответствующих растворов

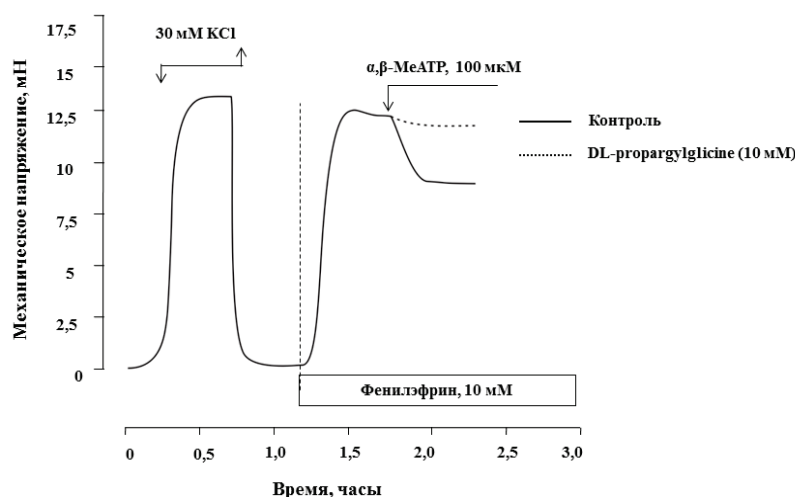


Рисунок 2. Влияние α,β -MeATP (100 мкМ) на механическое напряжение сегментов аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином (10 мкМ). Сплошная линия – действие α,β -MeATP в отсутствии DL-propargylglycine (10 мМ), пунктирная – действие α,β -MeATP на фоне DL-propargylglycine (10 мМ). По оси ординат – механическое напряжение (мН), по оси абсцисс – время (часы). Стрелками показано добавление и удаление соответствующих растворов

Важным источником АТФ в сосудах являются симпатические нервные окончания, которые высвобождают АТФ как котрансмиттер норадреналина [3, 13]. Активация α_1 -адренергических рецепторов ГМК норадреналином вызывает развитие сократительного ответа [17]. В качестве синтетического аналога норадреналина использовали фенилэфрин. Добавление 10 мкМ фенилэфрина (ФЭ) в раствор Кребса приводило к развитию сократительного ответа, сравнимого по амплитуде с ответом на действие 30 мМ КСl .

Добавление АТФ на фоне ФЭ-индуцированного сокращения гладкомышечных сегментов в концентрациях 1 мкМ, 10 мкМ, 50 мкМ, 100 мкМ, 500 мкМ и 1000 мкМ приводило к дозозависимому снижению МН сосудов до $88,9 \pm 3,4 \%$, $73,1 \pm 4,9 \%$, $70,4 \pm 5,0 \%$, $58,8 \pm 12,2 \%$, $32,6 \pm 4,4 \%$ и $17,3 \pm 4,2 \%$ ($n = 8$, $p < 0,05$), соответственно, относительно контрольного фенилэфрин-индуцированного сокращения (рис. 1А).

Известно, что АТФ неселективно действует и на P_2X , и на P_2Y рецепторы [3, 7-9]. Чтобы исследовать роль P_2Y рецепторов в сокращении ГМК аорты крысы, использовали активатор P_2Y -рецепторов УТФ (100 мкМ). Активация P_2Y рецепторов стимулирует продукцию инозитолтрифосфата (IP_3) и высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулаума через активацию рецепторов к IP_3 , что с одной стороны способствует развитию сокращения ГМК, а с другой – активирует eNOS, усиливая продукцию NO [15, 16]. При действии на сегменты, предсокращенные фенилэфрином (10 мкМ), УТФ в концентрациях 1, 5, 10, 50 и 100 мкМ снижал их механическое напряжение до $96,7 \pm 0,7 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$), $82,5 \pm 0,2 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$), $73,4 \pm 5,9 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$), $80,1 \pm 2,7 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) и $94,8 \pm 2,9 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$), соответственно, от контрольного ФЭ-индуцированного сокращения. УТФ в концентрациях 500 мкМ и 1000 мкМ увеличивал МН сосудов до $161,0 \pm 17,9 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) и $171,6 \pm 18,6 \%$ ($n = 4$, $p < 0,05$), соответственно, от контрольного фенилэфрин-индуцированного сокращения (рис. 1Б).

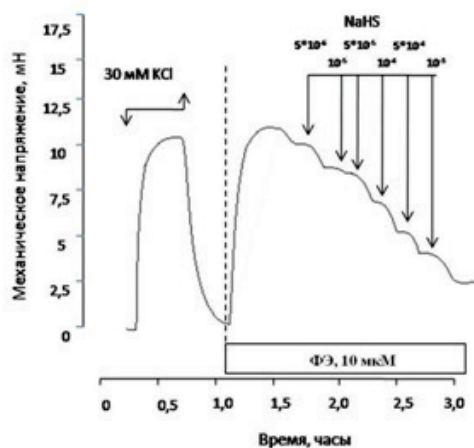


Рисунок 3. Влияние NaHS (5-1000 мкМ) на механическое напряжение гладких мышц аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином. По оси ординат – механическое напряжение (мН), по оси абсцисс – время (час). Стрелками показано добавление и удаление соответствующих растворов. * - $p < 0,05$

Чтобы исследовать роль P_2X рецепторов в сокращении ГМК аорты крысы, использовали активатор P_2X -рецепторов α, β -MeATP (100 мкМ). α, β -MeATP, связываясь с P_2X -рецепторами, активирует Ca^{2+} -зависимые пути регуляции сократительной активности ГМК [7]. Действуя на сегменты, предсокращенные фенилэфрином (10 мкМ), α, β -MeATP (100 мкМ) снижал их механическое напряжение до $73,2 \pm 3,1$ % ($n = 6$, $p < 0,05$) от контрольного ФЭ-индуцированного сокращения (рис. 2).

Исследование роли сероводорода в действии агонистов пуринаргических рецепторов

Для установления эффектов сочетанного действия сероводорода и активаторов пуринаргических рецепторов на сократительную активность СГМК в предварительных экспериментах исследовали влияние донора H_2S на тонус кольцевых сегментов аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином.

Донор сероводорода NaHS в концентрациях 5 - 1000 мкМ не оказывал влияния на базальный тонус сегментов аорты крысы. На фоне сокращения, вызванного ФЭ (10 мкМ) добавление 5, 10, 50, 100, 500, 1000 мкМ NaHS вызывало дозозависимое расслабление сосудистых сегментов до $80,4 \pm 8,1$ %, $74,2 \pm 8,0$ %, $49,3 \pm 6,5$ %, $33,3 \pm 5,6$ %, $28,8 \pm 5,3$ % и $19,0 \pm 5,3$ % ($n = 6$, $p < 0,05$), соответственно, от контрольного ФЭ-индуцированного сокращения (Рис. 3). NaHS (500 мкМ) усиливал релаксирующее действие 500 мкМ АТФ. Величина механического напряжения при этом составила $13,2 \pm 5,6$ % ($n = 4$, $p < 0,05$) (в отсутствии АТФ – $28,8 \pm 5,3$ %). Синтез H_2S в ГМК сосудов осуществляет фермент цистотионин- γ -лиаза (CSE). В качестве ингибитора данного фермента используют DL-propargylglycine. Предобработка кольцевых сегментов аорты крысы DL-propargylglycine (10 мМ) в течение 30 мин достоверно снижала величину расслабления на действие 500 мкМ АТФ в сравнении с таковым в отсутствии ингибитора фермента. В присутствии ингибитора CSE АТФ расслаблял сегменты до $68,3 \pm 4,3$ % ($n = 4$, $p < 0,05$) от ФЭ-индуцированного сокращения в присутствии DL-propargylglycine, тогда как в отсутствии DL-propargylglycine МН составило $32,6 \pm 4,4$ % (рис. 4А). Полученные результаты свидетельствуют о вовлечении CSE при активации пуринаргических рецепторов АТФ.

Чтобы уточнить, какая группа пуринаргических рецепторов активирует CSE, использовали активаторы P_2X и P_2Y рецепторов.

Предобработка сегментов аорты крысы NaHS (500 мкМ) не оказывала достоверного влияния на действие УТФ (100 мкМ) в сегментах с интактным эндотелием, но ослабляла констрикторное действие 500 мкМ УТФ (рис. 4В). Ингибитор CSE DL-propargylglycine (10 мМ, предобработка 30 мин) увеличивал релаксирующее действие УТФ (100 мкМ) ($75,8 \pm 7,4$ ($p < 0,05$, $n = 4$)) (рис. 4В) и усиливал констрикторное действие 500 мкМ УТФ ($179,9 \pm 5,1$ ($p < 0,05$, $n = 4$)) в кольцевых сегментах аорты крысы. Полученные данные указывают на то, что сероводород, образующийся в результате работы CSE, препятствует развитию констрикции, обусловленной активацией P_2Y рецепторов.

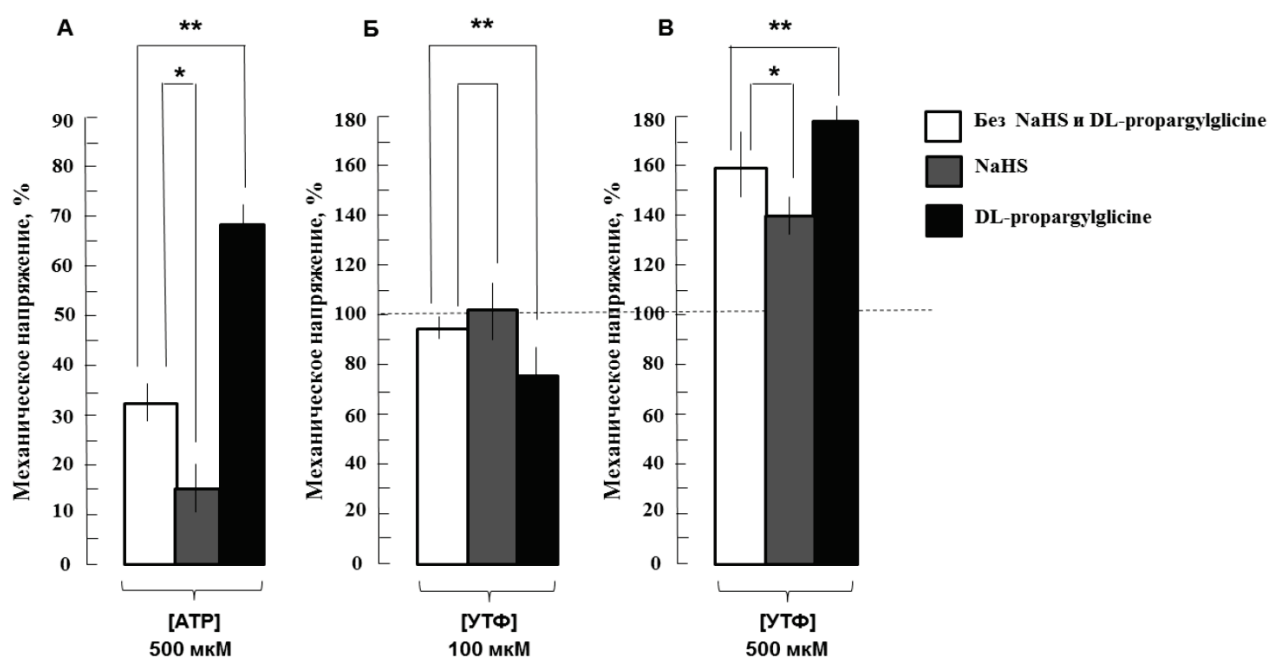


Рисунок 4. Влияние NaHS (500 мкМ) и DL-propargylglycine на величину релаксирующего действия АТФ (500 мкМ) (А), УТФ (100 мкМ) (Б) и констрикторного действия УТФ (500 мкМ) (В) в сегментах аорты крысы. По оси абсцисс – концентрация NaHS (мкМ), по оси ординат – механическое напряжение (%). *, ** – достоверные отличия ($p < 0,05$)

С другой стороны, DL-propargylglycine (100 мкМ, предобработка 30 мин) снижал величину расслабляющего действия активатора P₂X рецепторов α,β -MeATP (100 мкМ) до $86,5 \pm 9,1$ % ($n = 6$, $p < 0,05$) от величины сокращения в отсутствие DL-propargylglycine (рис. 2). Таким образом, сигнальный каскад, активируемый P₂X рецепторами вовлекает активацию CSE.

АТФ, действуя на фоне сокращения ГМК, вызванного активацией α_1 -адренорецепторов, способствует снижению механического напряжения сосудистых сегментов. Известно, что АТФ, действуя через P₂X рецепторы, активирует связанные с ними Ca²⁺-каналы; а действуя через P₂Y-рецепторы – фосфолипазу С и продукцию IP₃. Ca²⁺ в свою очередь дополнительно активирует входящие хлорные токи, которые усиливают деполяризацию мембраны и способствуют развитию сокращения. Одновременно, активация пуринергических рецепторов P₂X и P₂Y активирует eNOS, в том числе, посредством увеличения концентрации внутриклеточного Ca²⁺. Образующийся NO активирует цГМФ-зависимую сигнальную систему и калиевые каналы мембраны, что ведет к гиперполяризации мембраны и расслаблению СГМК. Данные о возможной роли сероводорода в пуринергической регуляции кровеносных сосудов отсутствуют, хотя ферменты, синтезирующие H₂S, локализованы как в сосудистых ГМК, так и в эндотелиальных клетках и могут выступать в роли эффекторного звена, через которое реализуется действие пуринов на сократительную активность сосудистых ГМК. Исследование влияния донора сероводорода NaHS показало, что сероводород потенцирует релаксирующее действие АТФ, тогда как ингибитор цистотионин- γ -лиазы снижал его. Подавление релаксирующего действия α,β -MeATP ингибитором CSE свидетельствует о том, что релаксирующее действие АТФ, опосредованное увеличением синтеза сероводорода, обусловлено активацией рецепторов группы P₂X.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В то же время, усиление релаксирующего действия УТФ на фоне снижения внутриклеточного синтеза сероводорода, с одной стороны, позволяет предположить отсутствие связи между P₂Y рецепторами и ферментом CSE, с другой – на усиление релаксирующего эффекта других сигнальных систем, которые могут подавляться сероводородом. Так, например, NO может вступать в химические взаимодействия с H₂S, что нивелирует его расслабляющее действие. В условиях же сниженной продукции H₂S релаксирующее действие NO выражено сильнее. Снижение внутриклеточной концентрации H₂S и, следовательно, числа открытых калиевых каналов, также может способствовать усилению констрикции в ответ на УТФ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№16-34-00262, № 18-44-703008).

Список литературы / References:

1. Burnstock, G. Purinergic nerves. *Pharmacological reviews*, 1972, vol. 24(3), pp. 509-581.
2. Abbracchio M.P., Burnstock G., Boeynaems J.M., Barnard E.A., Boyer J.L. [et al.] International Union of Pharmacology LVIII: update on the P₂Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacological reviews*, 2006, vol. 58(3), pp. 281-341.
3. Burnstock, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiological reviews*, 2007, vol. 87(2), pp. 659-797.
4. Pankratov Y., Lalo U., Verkhatsky A., North R.A. Vesicular release of ATP at central synapses. *Pflügers Archiv*, 2006, vol. 452(5), pp. 589-597.
5. Burnstock G. Unresolved issues and controversies in purinergic signaling. *The Journal of physiology*, 2008, vol. 586(14), pp. 3307-3312.
6. Abbracchio M.P., Burnstock G., Verkhatsky A., Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends in neurosciences*, 2009, vol. 32(1), pp. 19-29.
7. *Pharmacology: The Vascular System*. 1985, vol. 16(5), pp. 433-440.
8. Burnstock, G. Purine and pyrimidine receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, vol. 64(12), pp. 1471-1483.
9. Burnstock G. Purinergic receptors. *Journal of theoretical biology*, 1976, vol. 62(2), pp. 491-503.
10. Baroja-Mazo A., Barberà-Cremades M., Pelegrín P. The participation of plasma membrane hemichannels to purinergic signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2013, vol. 1828(1), pp. 79-93.
11. Burnstock G. Local mechanisms of blood flow control by perivascular nerves and endothelium. *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*, 1990, vol. 8(7), pp. S95-106.
12. Burnstock G., Ralevic V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease. *Pharmacological reviews*, 2014, vol. 66(1), pp. 102-192.

13. Lohman A.W., Billaud M., Isakson B.E. Mechanisms of ATP release and signalling in the blood vessel wall. *Cardiovascular research*, 2012, vol. 95(3), pp. 269-280.
14. Bodin P., Burnstock G. ATP-stimulated release of ATP by human endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 1996, vol. 27(6), pp. 872-5.
15. da Silva C.G., Specht A., Wegiel B., Ferran C., Kaczmarek E.. Mechanism of purinergic activation of endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells. *Circulation*, 2009, vol. 119(6), pp. 871-879.
16. Raqeeb A., Sheng J., Ao N., Braun A. P. Purinergic P2Y2 receptors mediate rapid Ca²⁺ mobilization, membrane hyperpolarization and nitric oxide production in human vascular endothelial cells. *Cell calcium*, 2011, vol. 49(4), pp. 240-248.
17. Testa R., Guarneri L., Poggesi E., Simonazzi I., Taddei C., Leonardi A. Mediation of noradrenaline-induced contractions of rat aorta by the alpha 1B-adrenoceptor subtype. *Br J Pharmacol.*, 1995, vol. 114(4), pp. 745-50.

THE ROLE OF GAS-TRANSMITTERS IN THE MECHANISMS OF PURINERGIC REGULATION OF THE CONTRACTIVE ACTIVITY OF VASCULAR GLADOMETER CELLS

Smaglyi L.V., Rydchenko V.S., Yartseva Yu.O., Birulina Yu.G., Kovalev I.V.,

Gusakova S.V., Nosarev A.V., Petrova I.V.

SibSMU of the Ministry of Health of Russia

Moscow tract, 2, Tomsk, 634050, Russia; lud.smagly@yandex.ru

Abstract. The role of hydrogen sulfide (H₂S) in ATP action on tone of rat aorta segments with intact endothelium was studied. ATP (1-1000 μM), a nonselective activator of P₂X and P₂Y receptors, relaxed vascular segments precontracted with agonist of α₁-adrenergic receptors phenylephrine (PE, 10 μM). Activator of P₂X receptors α,β-MeATP (100 μM) also relaxed segments precontracted with PE (10 μM). Activator of P₂Y receptors UTP (1-100 μM) decreased and UTP (100-1000 μM) increased the amplitude of PE-induced contraction. Relaxing action of ATP was augmented by the donor of hydrogen sulfide NaHS (500 μM), but decreased in the presence of cystothionine-γ-lyase (CSE) DL-propargylglycine (10 mM). DL-propargylglycine (10 mM) increased the amplitude of constrictive action of UTP (100-1000 μM), but decreased relaxing action of α,β-MeATP (100 μM). In conclusion, activation of P₂X receptors decreases the amplitude of PE-induced contraction and activation of P₂Y – increases it. Relaxing action of ATP in rat aorta segments with intact endothelium is mediated by CSE activation through P₂X receptors.

Key words: ATP, hydrogen sulfide, purinergic receptors, smooth muscle cells.