

Л.А. Кузнецова<sup>1</sup>,  
С.А. Плеснева<sup>1</sup>, А.О. Шпаков<sup>1</sup>,  
Е.В. Омелянюк<sup>2</sup>,  
В.М. Болотских<sup>2</sup>, М.Н. Перцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии  
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт  
акушерства и гинекологии  
им. Д.И. Отта РАМН, Санкт-Петербург

## ВЛИЯНИЕ РЕЛАКСИНА И ИНСУЛИНА НА АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ В МИОМЕТРИИ БЕРЕМЕННЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

■ Изучение влияния релаксина и инсулина на активность аденилатциклазы (АЦ) в миометрии беременных показало, что релаксин 2 человека ( $10^{-9}$ – $10^{-8}$  М) вызывает более сильный, чем инсулин, стимулирующий эффект на активность фермента. Активирующее действие релаксина и инсулина потенцировалось негидролизуемым аналогом ГТФ — гуанилилмиодифосфатом (ГИДФ) в миометрии беременных, что свидетельствует об участии стимулирующего ГТФ-связывающего белка ( $G_s$ -белка) в реализации эффекта пептидов. В миометрии беременных с сахарным диабетом 1 типа при действии релаксина, инсулина и изопроterenола было обнаружено снижение чувствительности к этим гормонам активности АЦ по сравнению с этими показателями в миометрии беременных. При совместном влиянии пептидов и ГИДФ в миометрии беременных с сахарным диабетом 1 типа наблюдалось ослабление потенцирования ГИДФ действия гормонов на активность АЦ, что может указывать на уменьшение сопряжения между рецепторами,  $G_s$ -белком и АЦ. Проведенные исследования позволяют сделать заключение о том, что у беременных с сахарным диабетом 1 типа падение стимуляции АЦ под влиянием этих гормонов связано с ослаблением функции  $G_s$ -белка.

■ **Ключевые слова:** релаксин, инсулин, аденилатциклаза, диабет, миометрий

### Введение

В наших предыдущих исследованиях впервые была обнаружена способность инсулина, инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) активировать аденилатциклазу (АЦ) в мышечных тканях млекопитающих [1–3]. Было установлено, что АЦ-активирующий эффект этих пептидов инсулинового суперсемейства реализуется через следующую сигнальную цепь: рецептор-тирозинкиназа  $\Rightarrow G_i$  белок ( $\beta\gamma$ -субъединицы)  $\Rightarrow$  фосфатидилинозитол 3-киназа  $\Rightarrow$  протеинкиназа C (zeta)  $\Rightarrow G_s$ -белок  $\Rightarrow$  АЦ. Согласно выдвинутой нами гипотезе [3], этот аденилатциклазный сигнальный механизм (АЦСМ) вовлечен в митогенное, а не метаболическое действие гормонов и ростовых факторов инсулинового ряда. Релаксин также относится к пептидам инсулинового суперсемейства, являясь гормоном, регулирующим функции репродуктивной системы у позвоночных [4–5]. Согласно современным представлениям, эти пептиды имеют общее эволюционное происхождение и обладают структурной гомологией [6]. По общей молекулярной организации релаксин заметно не отличается от инсулина: его молекула состоит из двух полипептидных цепей (А и В), соединенных двумя дисульфидными связями [6]. В то же время он существенно различается по аминокислотной последовательности (примерно на 75%) и обладает видовой специфичностью в пределах релаксинового семейства [7]. Следует отметить, что структурно-функциональная организация рецептора релаксина и механизмы регуляторного действия гормона мало изучены, а о роли аденилатциклазной системы в регуляторных эффектах релаксина в миометрии человека имеются лишь немногочисленные данные. Имеются сведения, что увеличение уровня цАМФ при активации АЦ стимулирует активность протеинкиназы А (ПКА), что приводит к фосфорилированию киназы легких цепей миозина, снижая сродство этого фермента к комплексу кальмодулин-ионы кальция и вызывая расслабление миометрия. В литературе имеются сведения, что в ходе беременности содержание  $Ca^{2+}$ /КМ-стимулируемых АЦ снижается, а  $Ca^{2+}$ -ингибируемых увеличивается [8]. Кроме того, можно привести данные, показывающие ингибирующее влияние гормона на сократимость матки, которое связано с увеличением цАМФ в клетке [9]. Действительно, после введения релаксина в организм было обнаружено небольшое и кратковременное увеличение уровня цАМФ в матке крысы [9], вследствие чего авторы работы не рассматривали цАМФ в качестве главного посредника ингибирующего действия гормона на активность АЦ в миометрии крыс. Позднее в другой работе [10] были получены доказательства участия ПКА в расслабляющем эффекте релаксина. Наши исследования [4, 5] впервые выявили активирующее действие релаксина на АЦ. В то же время повышение уровня цАМФ, индуцированное этим гормоном, было обнаружено не только в тка-

нях репродуктивного тракта, но и в культуре клеток аденогипофиза [11], а также в MCF-7 клетках раковой опухоли грудной железы человека [12]. Наряду с регуляторным влиянием на сократительную функцию матки, релаксин при низких концентрациях обладает ростстимулирующим эффектом в MCF-7 клетках [12]. Необходимо отметить, что это митогенное действие гормона сопровождалось изменениями внутриклеточной концентрации цАМФ.

В этой связи исследование функционального состояния инсулин- и релаксинрегулируемой аденилатциклазной сигнальной системы (АЦ) в миометрии беременных позволит идентифицировать факторы, вовлеченные в регуляцию активности АЦ. Недостаточность сведений, касающихся изучения функционального состояния АЦ при различных гормональных воздействиях, является одним из факторов, тормозящих изучение патогенеза нарушений функций миометрия при беременности. Эти данные могут послужить основой разработки фармакологических подходов для предотвращения преждевременных родов.

Цель настоящего исследования — сравнительное изучение функциональных характеристик АЦ, регулируемой релаксином и инсулином, в сравнении с катехоламинами в миометрии беременных с доношенной беременностью и у беременных при диабете I типа, получающих инсулиновую терапию. Известно, что рецепторы пептидов инсулиновой группы и катехоламинов имеют разное строение. Так, рецепторы катехоламинов пронизывают мембрану семь раз и сопряжены с  $G_s$ -белком и АЦ. В то же время рецептор инсулина один раз пронизывает мембрану, обладает тирозинкиназной активностью и его сопряжение с АЦ проходит целый ряд этапов [3]. В отношении рецептора релаксина в литературе имеются лишь отрывочные сведения и некоторые авторы склоняются к мнению, что рецептор релаксина семь раз пронизывает мембрану [13], но окончательного решения по этому вопросу в литературе нет.

Исследования АЦ включают несколько методических подходов, позволяющих оценивать функциональное состояние отдельных компонентов системы. Так, изучение базальной (без каких-либо воздействий) активности АЦ миометрия дает возможность судить о функции собственно фермента, т. е. каталитического компонента системы, а «функциональным зондом», стимулирующим активность фермента, является форсколин. Для изучения функции другого компонента системы G-белка, способного выступать как в роли регулятора АЦ, так и быть сопрягающим компонентом между рецептором и АЦ, ис-

пользовали целый ряд «функциональных зондов». Один из них NaF — самый сильный регулятор активности АЦ. Другое вещество — негидролизуемый аналог гуанинового нуклеотида гуанозинтрифосфата — гуанилилимидофосфат (ГИДФ). Для характеристики в целом гормонрегулируемой АЦ применяли разные гормоны: аналог биогенного амина — изопротеренол ( $10^{-6}$  М, время действия 10 мин), инсулин и релаксин, оказывающими стимулирующий эффект на АЦ при коротких сроках действия (2,5 минуты). Полноценное функционирование АЦ можно выявить при совместном влиянии гормонов и ГИДФ на активность АЦ (потенцирующее влияние ГИДФ на эффект гормонов).

Для исследований взяты две группы беременных: 1) беременные с неосложненной беременностью — 20 женщин (условный контроль); 2) беременные, больные диабетом I типа — 10 женщин. Для каждой группы проведены биохимические исследования влияния перечисленных веществ на активность АЦ в миометрии.

## Материал и методы

В работе были использованы следующие реактивы и пептиды, полученные из разных фирм. Креатинфосфат, креатинфосфокиназа (3500 ЕД/мг белка), ГИДФ, форсколин, трис-НСI, окись алюминия для колоночной хроматографии, АТФ, цАМФ, изопротеренол и имидазол фирмы Sigma (США), а также [ $\alpha$ - $^{32}$ P] АТФ (4 Ки/ммоль) фирмы Amersham (Англия). Кристаллический инсулин человека (24 УЕ, Lilly, Indianapolis, США). Кристаллический релаксин 2 человека, любезно предоставленный доктором Кристианом Швабе (Медицинский университет штата Южная Каролина), пептид с мол. массой 6000 Да.

Образцы ткани миометрия были получены из нижнего сегмента матки беременных в процессе операции кесарева сечения. Для получения частично очищенной мембранной фракции ткань гомогенизировали, гомогенат центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин. Полученный супернатант центрифугировали при 20 000 g в течение 20 мин и осадок использовали для определения активности АЦ. Эффекты пептидов и активаторов изучали в условиях *in vitro*, агенты были добавлены к пробам для определения активности АЦ (2,5 и 10 мин). В контрольные пробы вместо используемых агентов добавляли растворители гормонов или активаторов [4].

Определение активности АЦ проводили согласно методу Соломона и соавт. [14] с некоторыми модификациями. Реакционная смесь (ко-

нечный объем 50 мкл) была следующего состава (мМ): 50 трис-НСI (рН 7,5), 5 MgCl<sub>2</sub>, 0,1 АТФ, 1 цАМФ, 20 креатинфосфата, 1 мкКи [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]АТФ, 0,2 мкг/мл креатинфосфокиназы с активностью 3500 ЕД и 15–20 мкг мембранного белка. Инкубацию проводили при 37 °С в течение 2,5 и 10 мин. Активность АЦ оценивали по количеству образовавшегося в результате реакции цАМФ, который определяли методом колоночной хроматографии с окисью алюминия. Каждый эксперимент выполнен в 4 параллельных пробах.

Содержание белка определяли методом Лоури с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

Все данные представлены в виде средней  $\pm$  стандартная ошибка средней ( $M \pm m$ ). Метод парных сравнений Стьюдента был применен для сравнения контрольных и экспериментальных данных (действие гормонов). Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Исследования базальной активности АЦ в миометрии беременных показали, что при проведении реакции в течение 2,5 мин или 10 мин величины активности фермента были сходны и составляли  $4,3 \pm 0,33$  и  $4,5 \pm 0,8$  мкмоль цАМФ на 1 мг мембранного белка за 1 мин соответственно (табл. 1).

В миометрии беременных, страдающих диабетом I типа, базальная активность АЦ была выше примерно в 2 раза (2,5 мин —  $10,4 \pm 1,1$  мкмоль цАМФ/мг белка/мин, а 10 мин —  $9,2 \pm 1,0$

мкмоль цАМФ/мг белка/мин). Эти данные могут свидетельствовать о том, что каталитический компонент АЦС у беременных, страдающих диабетом I типа, уже стимулирован за счет влияния увеличенного уровня глюкозы в крови, что показали и другие авторы [15].

Стимулирующий эффект форсколина на АЦ несколько снижался в миометрии беременных с диабетом I типа (табл. 1). Активирующее влияние NaF и ГИДФ на АЦ, выраженное в процентах от контроля (принятого за 100%), уменьшалось примерно на половину (см. табл. 1). Исходя из представленных данных, можно отметить, что взаимодействие G<sub>s</sub>-белка и АЦ в условиях диабета в миометрии было в значительной степени снижено.

Четкие различия между активностью АЦ в контроле и при диабетической патологии, несмотря на лечение инсулином, выявляются как при действии  $10^{-6}$  М изопротеренола (синтетического аналога адреналина, взаимодействующего с  $\beta$ -адренорецепторами), так и при совместном влиянии ГИДФ и изопротеренола (табл. 2). Чувствительность к изопротеренолу снижается на 50%. Потенцирование ГИДФ его эффекта также уменьшается на 45% (см. табл. 2).

При изучении влияния человеческого релаксина 2 и инсулина концентрации пептидов и время их действия было выбрано с учетом наших данных, полученных при изучении стимулирующего влияния на АЦ инсулина и релаксина [1, 4]. Релаксин ( $10^{-9}$  М) в миометрии человека вызывал сильную стимуляцию базальной активности АЦ (увеличение на 409% по сравнению с

Таблица 1

Влияние форсколина, фторида натрия и ГИДФ на активность АЦ миометрия у беременных и у беременных, страдающих диабетом I типа

		Активность АЦ (пмоль цАМФ/мин/г)													
Без воздействий		+форсколин		+фторид натрия		+ГИДФ									
—		Диабет		—		Диабет		—							
—		Диабет		—		Диабет		—							
4,5 $\pm$ 0,8		10,4 $\pm$ 1,8		14,5 $\pm$ 1,9		21,8 $\pm$ 1,6		95,5 $\pm$ 2,3		122,3 $\pm$ 5		13 $\pm$ 2,5		19,8 $\pm$ 3	
%	—	—	—	322 $\pm$ 33	210 $\pm$ 25	2122 $\pm$ 29	1179 $\pm$ 81	288 $\pm$ 21	190 $\pm$ 15						

Таблица 2

Действие ГИДФ, изопротеренола и совместное их влияние на активность АЦ миометрия у беременных при отсутствии диабета и в присутствии диабета

		Активность АЦ (пмоль цАМФ/мин/г) и % от контроля													
Контроль		ГИДФ		Изопротеренол		Изо+ГИДФ									
—		Диабет		—		Диабет		—							
—		Диабет		—		Диабет		—							
4,5 $\pm$ 0,8		10,4 $\pm$ 0,7		9,4 $\pm$ 1,9		14 $\pm$ 1,6		8,3 $\pm$ 1,3		14,4 $\pm$ 1,5		19,5 $\pm$ 2		26 $\pm$ 2	
%	100	100	—	209 $\pm$ 23	135 $\pm$ 14	184 $\pm$ 19	138 $\pm$ 6	433 $\pm$ 40	250 $\pm$ 15						
%*								(140)*	(77)*						

Цифры в скобках — потенцирование ГИДФ эффекта изопротеренола.

базальной активностью). Инсулин при той же концентрации имел сходный по направленности, но менее выраженный эффект (244%) (рис. 1). При более высокой концентрации пептидов ( $10^{-8}$  М) эффект был выражен слабее: стимуляция активности АЦ релаксином 286%, а инсулином — 185% (см. рис. 1). Таким образом, релаксин был более эффективен по сравнению с инсулином. Из этого следует, что АЦ-эффект релаксина 2 человека соответствует его видоспецифичности, что характерно и для ряда пептидов инсулинового суперсемейства [3, 4].

При диабете I типа активирующее влияние релаксина и инсулина на АЦ миометрия было ниже как при оптимальной их концентрации ( $10^{-9}$  М), так и при более высокой дозе гормона (см. рис. 1). В соответствии с нашими ранними исследованиями [1, 4] стимулирующий АЦ эффект релаксина и инсулина усиливается (потенцируется) в присутствии ГИДФ. Изучение влияния ГИДФ на АЦ-активирующий эффект релаксина в сравнении с аналогичным эффектом инсулина показало, что он ( $10^{-6}$  М) усиливает этот эффект пептидов в миометрии (рис. 2). Потенцирование ГИДФ эффекта релаксина ( $10^{-9}$  М) было максимальным (554%), а при действии инсулина оно было значительно ниже (115%). Потенцирующее влияние ГИДФ на эффект  $10^{-8}$  М релаксина составляло 317%, а на эффект  $10^{-8}$  М инсулина — 212%. В миометрии беременных, страдающих диабетом I типа, потенцирование ГИДФ эффекта  $10^{-9}$  М релаксина составляло 298%, а при дозе на порядок выше ( $10^{-8}$  М) было резко снижено (до 56%) (см. рис. 2). При совместном действии инсулина ( $10^{-9}$  М) и ГИДФ эффект потенцирования практически отсутствовал (10%), а при совместном влиянии ГИДФ и  $10^{-8}$  М инсулина эффект составлял 273%. Известно, что потенцирующее действие гуаниновых нуклеотидов на эффект гормона является критерием участия в нем G белков. Эти данные указывают на участие  $G_s$ -белка в АЦ-эффекте релаксина и инсулина, что совпадает с нашими данными, полученными для других пептидов инсулинового суперсемейства [1–3] и на ослабление влияния релаксина в миометрии при диабете.

### Обсуждение результатов

Проведенное исследование показало, что релаксин, подобно другим пептидам инсулинового суперсемейства (инсулин, ИФР-I и др.) [1–3], способен оказывать активирующее влияние на активность АЦ в миометрии беременных. Полученные данные показывают, что эффектив-

ность действия пептидов находится в соответствии с данными о наибольшей силе действия релаксина на АЦ миометрия человека — ткань-мишень, гомологичную человеческому релаксину (видовая специфичность) [4]. В связи с обнаружением нами АЦ-стимулирующего действия релаксина на классическую ткань-мишень — миометрий и другие ткани, и в соответствии с нашей гипотезой о вовлеченности системы АЦ-цАМФ в ростстимулирующее действие пептидов инсулинового суперсемейства [3] мы имеем основания предложить релаксин на роль потенциального митогенного фактора, действие которого может опосредоваться через АЦС.

Рецепторы, специфичные к релаксину, были идентифицированы не только в тканях репродуктивной системы, но и в мозгу, сердце и т. д. [16–17]. Специфичность взаимодействия релаксина и его рецептора была подтверждена неспособностью вытеснения связанного меченого гормона другими пептидами, принадлежащими к тому же инсулиновому суперсемейству — инсулином и ИФР-I [16]. С другой стороны, было показано, что релаксин не способен взаимодействовать с инсулиновым рецептором [16]. Таким образом, в проведенном исследовании получены доказательства участия АЦСМ в действии релаксина, подобно тому как это было установлено нами ранее для других пептидов инсулинового суперсемейства [3].

Проведенное экспериментальное исследование показало, что релаксин и инсулин *in vitro* активирует АЦ в миометрии беременных. Ранее нами было обнаружено, что в скелетных мышцах кур и крыс [1–3] этот гормон вызывает такой же эффект. Полученные факты указывают на распространенность этих регуляторных действий релаксина и инсулина в тканях позвоночных. Согласно нашим данным [3], АЦ-активирующий эффект инсулина реализуется через АЦСМ, который обеспечивает передачу инсулинового сигнала к конкретным мишеням регуляторного действия гормона. Как мы предполагаем, в условиях целого организма инсулин является важным фактором, необходимым для поддержания в функционально активном состоянии АЦСМ путем регуляции активности его отдельных сигнальных блоков, возможно даже через изменение синтеза входящих в него белков. В настоящем исследовании, проведенном на миометрии беременных с диабетом I типа со сниженной продукцией инсулина в организме, были получены данные, свидетельствующие в пользу нарушений в функционировании АЦСМ при этой патологии.

Обнаружено, что при диабете I типа базальная активность АЦ в миометрии возрастает.

Сходный факт был установлен и другими авторами [13]. В наших исследованиях действие инсулина ( $10^{-8}$  М) *in vitro* как своего рода функционального зонда на реактивность АЦС к этому гормону в миометрии при инсулинзависимом диабете даже при лечении инсулином было обнаружено уменьшение стимулирующего эффекта гормона, а также его совместного действия с ГИДФ на активность АЦ. Эти эффекты являются результирующей действия инсулина на весь АЦ сигнальный каскад, включающий не менее семи сигнальных блоков.

Данные, полученные с использованием негормональных активаторов как функциональных зондов на отдельные компоненты АЦС в миометрии при диабете, выявили изменения каталитической активности АЦ (снижение влияния форсколина) и взаимодействия  $G_s$ -белка с АЦ (снижение эффектов фторида натрия, ГИДФ и инсулина совместно с ГИДФ).

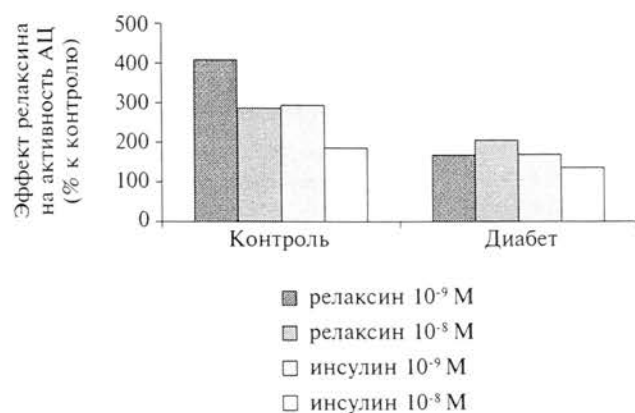


Рис. 1. Стимулирующее влияние релаксина ( $10^{-9}$ – $10^{-8}$  М) и инсулина ( $10^{-9}$ – $10^{-8}$  М) на активность аденилатциклазы в миометрии беременных контрольной группы и группы больных диабетом I типа

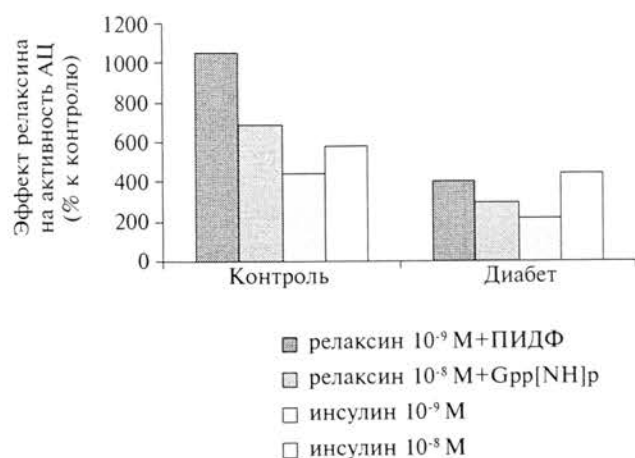


Рис. 2. Действие ГИДФ ( $10^{-6}$  М) на АЦ-активирующие эффекты релаксина и инсулина в миометрии беременных контрольной группы и группы больных диабетом I типа

Из установленных фактов следует, что в условиях инсулиновой недостаточности при диабете I типа возникает нарушение в самой АЦ, выражающееся в возрастании базальной активности и снижении каталитических потенций фермента. Далее, ослабляются функции  $G_s$ -белка и, в частности, его способность взаимодействовать с АЦ (снижение эффектов NaF, ГИДФ, инсулина совместно с ГИДФ). Изменение функций АЦС при диабете обнаружено и другими авторами [12, 13, 15]. В частности, в миокарде диабетических крыс наблюдалось четкое снижение (примерно на 48%) стимулирующего действия ГИДФ на активность АЦ [12].

Таким образом, при оценке функционального состояния отдельных молекулярных блоков АЦСМ в миометрии беременных, рассматриваемых в качестве контроля, по сравнению с беременными, страдающими диабетом I типа, было обнаружено, что при диабете: 1) увеличивается базальная активность АЦ и снижаются эффекты негормональных активаторов АЦ (форсколина, ГИДФ и NaF); 2) понижается чувствительность к изопротеренолу и уменьшается потенцирующее влияние ГИДФ на его эффект; 3) снижается реактивность АЦС к релаксину и инсулину и к совместному действию этих пептидов и ГИДФ.

Проведенные исследования позволяют сделать заключение о том, что у беременных с диабетом I типа по сравнению с контролем выявляются изменения в функционировании АЦС на уровне как каталитического компонента — АЦ, так и  $G_s$ -белка. Снижение стимуляции АЦ гормонами — изопротеренолом, релаксином и инсулином указывает на значительные нарушения функционирования АЦС на этапе сопряжения рецептора, активированного гормоном, и гетеротримерных G белков. Эти факты свидетельствуют о снижении чувствительности не только к инсулину и релаксину, но и к  $\beta$ -агонисту — изопротеренолу в миометрии человека при диабете.

#### Литература

1. *Pertseva M.N., Plesneva S.A., Shpakov A.O., Rusakov Yu.I., Kuznetsova L.A.* Involvement of adenylyl cyclase signalling system in the action of insulin and mollusc insulin-like peptide. *Comp. Biochem. Physiol.* — 1995. — Vol. 112. — P. 689–695.
2. *Pertseva M.N., Plesneva S.A., Kuznetsova L.A., Shpakov A.O., Derkach K.V.* On the tyrosine kinase mechanism of the novel effect of insulin and insulin-like growth factor-I: Stimulation of adenylyl cyclase system in muscle tissues. *Biochem. Pharmacol.* — 1996. — Vol. 52. — P. 1867–1874.
3. *Pertseva M.N., Shpakov A.O., Plesneva S.A., Kuznetsova L.A.* A novel view on the mechanism of action of insulin and other insulin superfamily peptides: involvement of adenylyl cyclase signaling system. *Comp. Biochem. Physiol.* — 2003. — Vol. 134. — P. 11–34.

4. *Kuznetsova L., Plesneva S., Derjabina N., Omeljaniuk E., Pertseva M.N.* On the mechanism of relaxin action: the involvement of adenylyl cyclase signalling system. *Regul. Peptides.* – 1999. – Vol. 80. – P. 33–39.
5. *Плеснева С.А., Кузнецова Л.А. Омелянюк Е.В., Шпаков А.О., Перцева М.Н.* Аденилатциклазный сигнальный механизм действия релаксина // *Ж. эвол. биох. физиол.* – 2000. – Т. 36. – С. 562–568.
6. *Bryant-Greenwood G.D. and Schwabe C.* Human relaxins: chemistry and biology. *End. Rev.* – 1994. – Vol. 15. – P. 5–26.
7. *Bullesbach E.E., Yang S., Schwabe C.* The receptor – binding site of human relaxin 2. A dual prong – binding mechanism. *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267. – P. 22957–22960.
8. *Кузнецова Л.А.* Регуляторные свойства изоформ аденилатциклаз // *Ж. эвол. биох. физиол.* – 2002. – Т. 38. – С. 289–304.
9. *McIlwrath A., Downing S. J., Hollingsworth M.* Relaxin and cAMP in rat uterus in vivo, *Biochem. Soc. Transact.* – 1991. – Vol. 19. – P. 356S.
10. *Hughes S.J., Hollingsworth M., Elliot K.R.* The role of a cAMP-dependent pathway in the uterine relaxant action of relaxin in rats // *J. Reprod. Fertil.* – 1997. – Vol. 109. – P. 289–296.
11. *Cronin M. J., Malaska T., Bakhit C.* Human relaxin increases cyclic AMP levels in cultured anterior pituitary cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1987. – Vol. 148. – P. 1246–1251.
12. *Bigazzi M., Brandi M.L., Bani G., Bani Sacchi T.* Relaxin influences the growth of MCF-7 breast cancer cells. Mitogenic and antimitogenic action depends on peptide concentration // *Cancer.* – 1992. – Vol. 70. – P. 639–643.
13. *Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, Kumagai J, Kudo M, Sherwood OD, Hsueh AJ.* Activation of orphan receptors by the hormone relaxin // *Science.* – 2002. – Vol. 295. – P. 671–4.
14. *Salomon Y., Londons C., Rodbell M.* A highly sensitive adenylyl cyclase assay // *Anal. Biochem.* – 1974. – Vol. 58. – P. 541–548.
15. *Kawabe J., Aizawa Y., Takehara N., Hasebe N., Kikuchi K.* Glucose modifies the cross-talk between insulin and the beta-adrenergic signaling system in vascular smooth muscle cells // *J. Hypertens.* – 2000. – Vol. 18. – P. 1457–1464.
16. *Yang, S., Rembisa, B., Bullesbach, E.E., Schwabe C.* Relaxin receptors in mice: Demonstration of ligand binding in symphyseal tissues and uterine membrane fragments // *Endocrinology.* – 1992. – Vol. 130. – P. 179–185
17. *Greenbaum C.J.* Insulin resistance in type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2002. – Vol. 18. – C. 192–200.
18. *Fu L.X., Bergh C.H., Liang Q.M., Sjogren K.G., Xu X., Eriksson P., Hoebeke J., Hjalmarson A.* Diabetes-induced changes in the Gi-modulated muscarinic receptor-adenylyl cyclase system in rat myocardium // *Pharmacol. Toxicol.* – 1994. – Vol. 75. – P. 186–193.
19. *Anand-Srivastava M.B., McNeill J.H., Yang X.P.* Reversal of defective G-proteins and adenylyl cyclase/cAMP signal transduction in diabetic rats by vanadyl sulphate therapy // *Mol. Cell Biochem.* – 1995. – Vol. 153. – P. 113–119.
20. *Lin S., Kajimura M., Takeuchi K., Kodaira M., Hanai H., Nishimura M., Kaneko E.* Alterations of GTP-binding proteins (*G $\alpha$*  and *Gq/11 $\alpha$* ) in gastric smooth muscle cells from streptozotocin-induced and WBN/Kob diabetic rats // *Dig. Dis. Sci.* – 2000. – Vol. 15. – P. 1517–1524.
21. *Le Marchand-Brustel G.* Molecular mechanism of insulin action in normal and insulin-resistant states // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 1999. – Vol. 107. – P. 126–132.
22. *Le Roith D., Kim H., Fernandez A.M., Accili D.* Inactivation of muscle insulin and IGFI receptors and responsiveness // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2002. – Vol. 5. – P. 371–375.