

ЭФФЕКТЫ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА НАТРИЯ НА ПАРАМЕТРЫ  
ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ И СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКИХ  
МЫШЦ *TAENIA COLI* МОРСКОЙ СВИНКИ

Методом двойного "сахарозного мостика" было изучено влияние гидроген сульфида натрия ( $\text{NaHS}$ ) на гладкомышечные клетки (ГМК) *taenia coli*.  $\text{NaHS}$  приводил к подавлению параметров вызванной электрической и сократительной активности гладкомышечных клеток *taenia coli* морских свинок, что сопровождалось развитием гиперполяризации и снижением сопротивления мембраны. Этот эффект существенно предотвращается тетраэтиламмонием, известным блокатором калиевых каналов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *taenia coli*, гидроген сульфид, тетраэтиламмоний.

**ВСТУПЛЕНИЕ.** В настоящее время, наряду с  $\text{NO}$  и  $\text{CO}$ , гидроген сульфид ( $\text{H}_2\text{S}$ ) признан новым газовым посредником, который вовлекается в регуляцию функций в тканях млекопитающих [3]. Он является потенциальным, реверсивным ингибитором цитохром С оксидазы на конце электронной транспортной цепи митохондрий.

Эндогенно сероводород синтезируется ферментативным и неферментативными путями. Субстратом для ферментативного синтеза сероводорода является серосодержащая аминокислота L-цистеин, которая служит источником наработки  $\text{H}_2\text{S}$ . Она может поступать в организм с пищей, образовываться в результате распада белков и синтезироваться из L-метионина в процессе транссульфирования. Эндогенно-энзимотическая продукция  $\text{H}_2\text{S}$  в тканях млекопитающих освещена в ряде работ [1, 4].

С помощью фермента цистатионина b-синтазы из гомоцистеина и цистеина образуется цистотионин с образованием гидроген сульфида. С помощью фермента цистатионина g-лиазы происходит превращение цистеина в тиоцистин и пируват. Тиоцистин далее превращается в цистеин с образованием сероводорода.

Другим источником сероводорода является неферментативное восстановление серы в сероводород во время окисления глюкозы. Все существенные компоненты этого не-

© О. И. Антонов, В. Б. Студницкий, Ю. А. Погудин, П. Ф. Пелюх, М. А. Медведев, 2011.

ферментативного пути в норме присутствуют в естественных условиях, включая поставку серы. Ряд полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что  $\text{H}_2\text{S}$  в качестве посредника может обеспечивать не только локальную, но и дистантную регуляцию в различных гладкомышечных образованиях [2].

В гладкой мышце млекопитающих  $\text{H}_2\text{S}$  вызывает концентрационнозависимое расслабление в аорте, подвздошной кишке, портальной вене и *vas deferens* [4, 7]. Сердечно-сосудистые эффекты  $\text{H}_2\text{S}$  у млекопитающих заключаются в снижении кровяного давления. Некоторые эффекты действия  $\text{H}_2\text{S}$  на гладкие мышцы сосудов опосредуются через прямую активацию АТФ-чувствительных  $\text{K}^+$  каналов [8]. С другой стороны,  $\text{H}_2\text{S}$ -опосредованная вазорелаксация может вовлекать не-АТФ-ассоциированную повышенную проводимость АТФ-чувствительных  $\text{K}^+$  каналов. В аорте крысы физиологические концентрации  $\text{H}_2\text{S}$  опосредуют либо сокращение, либо расслабление в зависимости от напряжения  $\text{O}_2$  [6]. В сердечной мышце млекопитающих  $\text{H}_2\text{S}$  снижает сократимость *in vivo* и *in vitro*, оказывая прямое ингибирующее действие на L-тип кальциевых каналов кардиомиоцитов [5].

В отношении гладких мышц желудочно-кишечного тракта имеющиеся литературные данные не дают однозначного представления о механизме действия  $\text{H}_2\text{S}$ . В этой связи возникает необходимость изучения основных закономерностей и особенностей реализации

сигнальной функции  $H_2S$  в гладкомышечных образованиях пищеварительного тракта.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния различных концентраций гидросульфида натрия на показатели электрической и сократительной активности гладкомышечных клеток *taenia coli* морской свинки.

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Объектом исследования являлись гладкомышечные препараты (ГП) *taenia coli* морских свинок (массой 500–700 г) шириной 0,5–0,7 мм и длиной 10–12 мм. Исследование электрофизиологических свойств гладких мышц проводили методом двойного “сахарозного мостика”. Нормальный раствор Кребса, который использовался в опытах, имел следующий состав (мм): NaCl – 120,4; KCl – 5,9;  $NaHCO_3$  – 15,5;  $NaH_2PO_4$  – 1,2;  $CaCl_2$  – 2,5; глюкоза – 11,5.

В качестве экзогенного донора  $H_2S$  использовали водород сульфид натрия (NaHS).

Кислотность растворов поддерживали в пределах 7,35–7,4, температуру – в диапазоне 36,5–37,0 °C. Полученные экспериментальные данные обобщались и выражались как в абсолютных единицах, так и в процентах по отношению к исходным показателям.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** В нормальном растворе Кребса полоски *taenia coli* морской свинки, как правило, обладали спонтанной электрической активностью, генерируя сложные потенциалы действия, состоящие из медленной волны, на гребне которой возникали пиковые потенциалы действия. Каждый такой электрический комплекс сопровождался сократительным ответом. Действие поляризующих прямоугольных импульсов электрического тока различной полярности сопровождалось развитием электротонических потенциалов. Гиперполяризующие импульсы тока приводили к формированию анэлектротонических потенциалов, по величине которых оценивалось сопротивление мембраны. Они характеризовались расслаблением ГМ полосок, величина которых зависела от силы тока. Действие деполяризующих импульсов тока приводило к генерации одного или нескольких потенциалов действия на плато катэлектротонических потенциалов и развитию фазного сокращения.

Применение NaHS в концентрации от  $10^{-6}$  М до  $10^{-5}$  М не оказывало существенного влияния на параметры электрической и сократительной активности ГМК *taenia coli*.

В концентрации  $10^{-4}$  М NaHS вызывал подавление спонтанной электрической и сокра-

тительной активности, гиперполяризацию мембраны величиной 0,3–0,5 мВ и снижение величины сопротивления мембраны на  $(13,6 \pm 2,3) \%$  ( $n=6$ ,  $p>0,05$ ), сила вызванных сокращений уменьшалась на  $(11,6 \pm 1,4) \%$  ( $n=6$ ,  $p>0,05$ ). Одновременно с этим снижался тонус гладкомышечных препаратов. По мере действия препарата происходило постепенное восстановление величины мембранного потенциала, сопротивления мембраны, восстановление возбудимости и силы вызванных сокращений до исходных значений в нормальном растворе Кребса к 6–7 мин.

В концентрации  $10^{-3}$  М водород сульфид натрия гиперполяризовал мембрану на 0,8–0,9 мВ, снижал сопротивление на  $(24,3 \pm 1,7) \%$  ( $n=6$ ,  $p<0,05$ ), а сила вызванных сокращений уменьшалась на  $(42,7 \pm 2,3) \%$  ( $n=6$ ,  $p<0,05$ ) от исходных значений в нормальном растворе Кребса. Данный эффект сохранялся в течение 10–12 мин.

В концентрации  $4 \cdot 10^{-3}$  М NaHS вызывал гиперполяризацию мембраны величиной 1,2–1,3 мВ, снижение сопротивления мембраны на  $(32,6 \pm 1,2) \%$  ( $n=6$ ,  $p<0,05$ ) и полное подавление вызванной электрической и сократительной активности. Данный эффект сохранялся в течение 12–13 мин. Окончание действия характеризовалось восстановлением величины мембранного потенциала и сопротивления, восстановлением вызванной и спонтанной электрической и сократительной активности ГП *taenia coli*.

Для изучения роли калиевой проводимости мембраны ГМК в эффектах NaHS использовался тетраэтиламмоний (ТЭА), известный блокатор калиевых каналов, в концентрации  $10^{-2}$  М. Считается, что в данной концентрации он вызывает ингибирование не только потенциалозависимых, но и кальцийактивируемых калиевых каналов [2].

Действие ТЭА характеризовалось гиперполяризацией мембраны ГМК, увеличением сопротивления, повышением параметров спонтанной и вызванной электрической и сократительной активности. На этом фоне NaHS в концентрации  $4 \cdot 10^{-3}$  М вызывал гиперполяризацию мембраны на 0,4–0,5 мВ, снижение сопротивления на  $(15,6 \pm 1,2) \%$  ( $n=6$ ,  $p<0,05$ ), а сила вызванных сокращений снижалась на  $(17,7 \pm 1,4) \%$  ( $n=6$ ,  $p<0,05$ ). Данный эффект был кратковременным (3–4 мин), а в дальнейшем происходило восстановление до исходных значений, вплоть до появления анодоразмыкательных ответов и спонтанной электрической и сократительной активности (рис. 1).

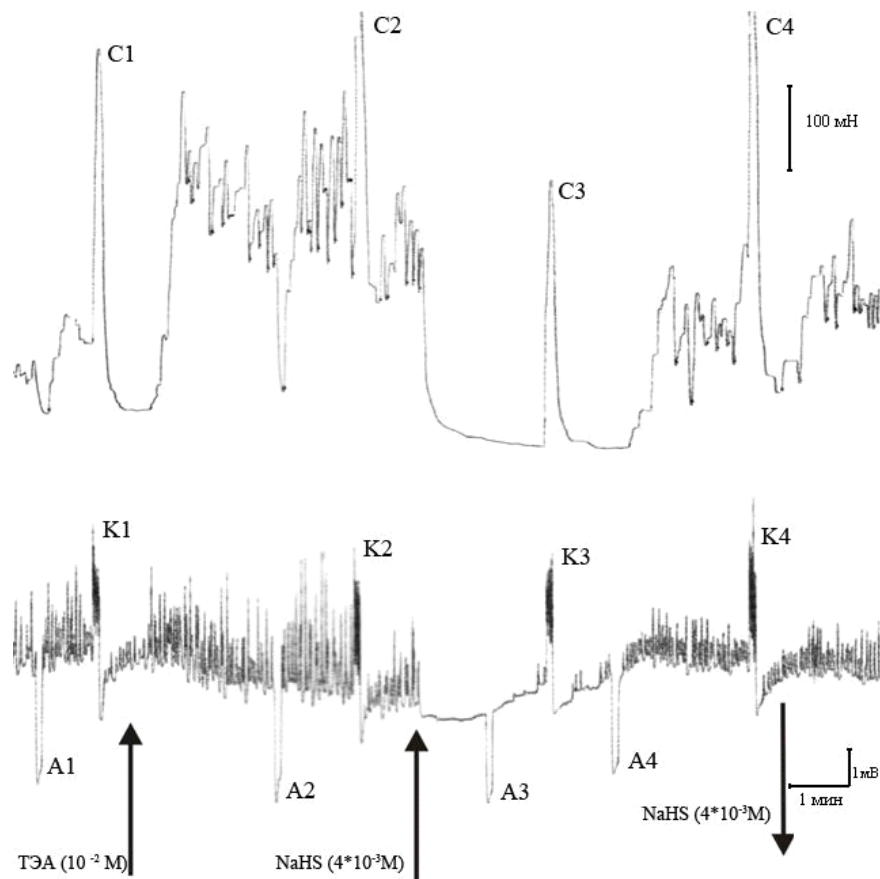


Рис. 1. Влияние гидроген сульфида натрия ( $4 \cdot 10^{-3}$  M) на электрические и сократительные свойства гладких мышц *t. solі* морской свинки на фоне действия тетраэтиламмония ( $10^{-2}$  M). Регистрацию записи проводили на самопишущем потенциометре КСП-4. А1-А3 – анэлектротонические потенциалы; К1-К4 – катэлектротонические потенциалы; С1-С4 – сокращение; нижняя кривая – электрическая, верхняя – сократительная активность.

**ВЫВОДЫ.** Гидроген сульфид натрия приводит к подавлению параметров спонтанной и вызванной электрической и сократительной активности гладкомышечных клеток *taenia solі* морских свинок, что сопровождается развитием гиперполяризации и снижением сопротивления мембраны. Этот эффект существенно предотвращается ТЭА, известным блокатром калиевой проводимости мембраны

гладкомышечных клеток. По всей вероятности, эффекты гидроген сульфида натрия опосредуются не только через АТФ-зависимые калиевые каналы, подобно ГМК сосудов, но и через активацию потенциалозависимых и кальцийактивируемых калиевых каналов, что требует дальнейших исследований.

Исследование проведено при поддержке ФЦП № 02.740.11.5031 и № П445.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abe K. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator / K. Abe, H. Kimura // *J. Neurosci.* – 1996. – **16**(3). – P. 1066–1071.
2. Activation of whole cell currents in isolated human jejunal circular smooth muscle cells by carbon monoxide / G. Farrugia, W. A. Irons, J. L. Rae [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1993. – **264**(6 Pt 1). – P. 1184–1189.
3. Carbon monoxide and hydrogen sulfide: Gaseous messengers in cerebrovascular circulation / Charles W. Leffler, Helena Parfenova, J. H. Jaggar, Rui Wang // *J. Appl. Physiol.* – 2006. – **100**. – P. 1065–1076;
4. Hosoki R. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide / R. Hosoki, N. Matsuki, H. Kimura // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – **237**. – P. 527–531.

5. Hydrogen sulfide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes / Ying-Gang Sun, Yin-Xiang Cao, Wen-Wei Wang [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – **79**(4). – P. 632–641.

6. Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O<sub>2</sub>-dependent manner / Jeffrey R. Koenitzer, T. Scott Isbell, Hetal D. Patel [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – **292**. – P. 1953–1960.

7. L-cysteine and sodium hydrosulphide inhibit spontaneous contractility in isolated pregnant rat uterine strips *in vitro* / R. Sidhu, M. Singh, G. Samir, R. J. Carson // *Pharmacol. Toxicol.* – 2001. – **88**. – P. 198–203.

8. Zhao W. H<sub>2</sub>S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms / W. Zhao, R. Wang // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2002. – **283**. – P. 474–480.

**О. І. Антонов, В. Б. Студницький, Ю. А. Погудін, П. Ф. Пелюх, М. А. Медведєв**  
СИБІРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ТОМСЬК

## ЕФЕКТИ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НАТРІЮ НА ПАРАМЕТРИ ЕЛЕКТРИЧНОЇ І СКОРОЧУВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ГЛАДКИХ М'ЯЗІВ TAENIA COLI МОРСЬКОЇ СВИНКИ

### Резюме

Методом подвійного “сахарозного містка” було вивчено вплив гідроген сульфід натрію (NaHS) на гладком'язові клітини (ГМК) *taenia coli*. NaHS приводив до пригнічення параметрів викликані електричної і скорочувальної активності гладком'язових клітин *taenia coli* морських свинок, що супроводжувалось розвитком гіперполяризації і зниженням опору мембрани. Цьому ефекту суттєво запобігає тетраетиламоній, відомий блокатор калієвих каналів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *taenia coli*, гідроген сульфід, тетраетиламоній.

**O. I. Antonov, V. B. Studnytskyi, Yu. A. Pohudin, P. F. Peluih, M. A. Medvediev**  
SIBERIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, TOMSK

## EFFECTS OF SODIUM HYDROGEN SULPHIDE ON THE PARAMETERS OF ELECTRIC AND CONTRACT ACTIVITY OF SMOOTH MUSCLES TAENIA COLI OF GUINEA-PIG

### Summary

There was studied the effect of sodium hydrogen sulphide (NaHS) on smooth muscle cells (SMC) *taenia coli* by the double method of “saccharose bridge”. NaHS led to the suppression of parameters caused by electric and contract activity of smooth muscle cells *taenia coli* of quinea-pigs, that was accompanied by the development of hyperpolarization and the decrease of membrane resistance. This effect is significantly prevented by TEA, the known blocator of calic channels.

KEY WORDS: *taenia coli*, hydrogen sulphide, tetraethyl ammonia.

Отримано 20.10.11

Адреса для листування: О. І. Антонов, Сибірський державний медичний університет, Московський тракт, 2, Томськ, 634050, Росія.