

DOI: 10.7868/S0044452918050083

РОЛЬ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА НА СОКРАТИМОСТЬ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ЖЕЛУДКА КРЫСЫ

© И. Ф. Шайдуллов,¹ М. У. Шафигуллин,¹ Д. М. Габитова,¹
Ф. Г. Ситдииков,¹ А. Л. Зефирова,² Г. Ф. Ситдикова¹

¹ Казанский федеральный университет, Казань, Россия

² Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия
E-mail: sitdikovaguzel@gmail.com

Резюме

В настоящей работе анализировали эффекты донора сероводорода (H_2S) — гидросульфида натрия ($NaHS$) на спонтанную сократительную активность желудка крысы. Эксперименты проводили на полосках желудка в условиях изометрического сокращения. Было показано, что $NaHS$ оказывает двухфазный эффект на спонтанную сократительную активность, увеличивая тоническое напряжение и амплитуду фазных сокращений в первые минуты аппликации. Затем наблюдается снижение амплитуды, тонуса и частоты спонтанных сокращений. Угнетающий эффект $NaHS$ был дозозависимым в концентрациях от 10 до 600 мкМ. На фоне блокаторов потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов тетраэтиламмонием и 4-аминопиридином начальное повышение амплитуды и тонического напряжения при действии $NaHS$ не проявлялось. Активация АТФ-зависимых калиевых каналов (K_{ATP} -каналов) диазоксидом частично предотвращала снижение тонуса и амплитуды спонтанных сокращений при действии $NaHS$. Глибенкламид, ингибитор K_{ATP} -каналов, уменьшал угнетающий эффект на амплитуду, тонус и частоту спонтанных сокращений. Сделано заключение, что фаза усиления на фоне действия H_2S связана с блокированием потенциал-зависимых и Ca^{2+} -активируемых калиевых каналов, тогда как активация K_{ATP} -каналов вовлечена в угнетающее действие H_2S на гладкомышечные клетки желудка крысы.

Ключевые слова: гладкомышечные клетки желудка крысы, сероводород, сократительная активность, потенциал-зависимые и кальций-активируемые калиевые каналы, АТФ-зависимые калиевые каналы.

Введение

Сероводород (H_2S) является газообразным посредником, наряду с оксидом азота и монооксидом углерода, влияющим на различные функции организма в физиологических и патологических условиях [1—6]. H_2S эндогенно синтезируется в различных тканях ферментами: цистатионин-β-синтаза (CBS) и цистатионин-γ-лиаза (CSE), а также 3-меркаптопируват сульфотрансфераза с одновременной активацией цистеин-аминотрансферазы [3, 4]. Помимо эндогенной продукции важным источником H_2S является сульфат редуцирующие бактерии толстого кишечника, которые способны восстанавливать сульфаты, содержащиеся в пище или интестинальных секретах, в сульфиды, включая H_2S [3, 4]. В желудочно-кишечном тракте экспрессия CBS и CSE была обнаружена в различных типах клеток, включая гладкомышечные клетки, энтеральные нейроны, интерстициальные клетки Кахала, эпителиальные клетки, и может варьировать в зависимости от вида

животного и отдела желудочно-кишечного тракта [4, 7]. У крысы экспрессия CSE наиболее выражена в проксимальных отделах (желудок, двенадцатиперстная и тощая кишки) и относительно низкая в толстом кишечнике. Экспрессия CBS относительно низка в двенадцатиперстной и тощей кишках и высока в желудке и толстом кишечнике [7]. В культуре гладкомышечных клеток желудка мышей была обнаружена экспрессия как CBS, так и CSE [8, 9]. Показано участие H_2S в регуляции моторной и секреторной функций желудочно-кишечного тракта, ноцицепции, в развитии патологических состояний [3, 10]. Данные о влиянии H_2S на двигательную активность желудочно-кишечного тракта неоднозначны: выявлено как расслабляющее, так и стимулирующее действие этого газомедиатора в различных отделах желудочно-кишечного тракта у разных видов животных [4, 11—13]. В условиях *in vivo* донор H_2S — гидросульфид натрия ($NaHS$) — ускорял эвакуацию содержимого желудка мыши, обусловленную расслаблением дна и пилорического отде-

лов [14, 15]. У мышей, нокаутных по $\text{CBS}^{+/-}$, снижалась растяжимость желудка, что указывает на роль H_2S в процессе адаптивного расслабления в ответ на повышение внутрижелудочного давления при приеме пищи [15]. Продукция H_2S тканями желудка повышалась после принятия пищи, а нарушения H_2S -опосредованного сигнального пути в желудке обнаружены у пациентов с функциональной диспепсией, что свидетельствует о физиологической роли этого посредника в регуляции аккомодации желудка [15]. Однако молекулярные механизмы, опосредующие эффекты H_2S на сократительную функцию желудка, не выяснены, а имеющиеся в литературе данные противоречивы.

Целью нашего исследования был анализ влияния H_2S на спонтанную сократительную активность полосок тела желудка крысы, а также выявление роли калиевых каналов различных типов в реализации его эффектов.

Материал и методика

Все эксперименты проведены в соответствии с Директивой Совета Европейских сообществ (24 ноября 1986 года; 86/609/ЕЕС) и одобрены Локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015). Исследования по анализу спонтанной сократительной активности проводились на изолированных полосках желудка крысы длиной 5–7 мм, вырезанные вдоль большой кривизны, в изометрических условиях на установке фирмы BiopacSystems, Inc. (США). Исследуемый препарат подвешивали вертикально в ванночке объемом 20 мл, где верхняя часть соединялась с тензометрическим датчиком (TSD125C; BiopacSystems, Inc., США), а нижняя часть закреплялась на фиксированном крючке.

Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводили с помощью программы AcqKnowledge 4.1. На протяжении всего эксперимента препарат омывался раствором Кребса ($\text{мМ} \cdot \text{л}^{-1}$): 121.0 NaCl, 5.9 KCl, 2.5 CaCl_2 , 1.2 MgCl_2 , 25.0 NaHCO_3 , 1.2 NaH_2PO_4 , 8.0 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; pH 7.2–7.4, который постоянно аэрировался смесью O_2 — 95 % и CO_2 — 5 %, температура поддерживалась на уровне 37 °С. После закрепления препарата добивались стабилизации сокращений в течение 50–60 мин. Препараты, которые не развивали стабильных сокращений, были исключены из исследования [12].

В качестве донора H_2S использовали гидросульфид натрия (NaHS), который в водной среде диссоциирует до Na^+ и HS^- , далее HS^- взаимодействует с H^+ с образованием недиссоциированного H_2S . При температуре 37 °С только 11–13 % от исходной концентрации NaHS образует H_2S в растворе; кроме того, в результате аэрации уже через 3 мин наблюдается потеря 50 % газа в экспериментальной ванночке [16, 17]. Например, NaHS в концентрации 200 мкМ приводит к образованию 22–26 мкМ H_2S , концентрация которого быстро снижается до 11–13 мкМ, что близко к эндогенным значениям H_2S в тканях млекопитающих (от 10 нМ до 3 мкМ) [18].

В экспериментах также использовали: неселективный блокатор K^+ -каналов тетраэтиламмоний (ТЭА), блокатор потенциал-зависимых K^+ -каналов 4-аминопиридин (4-АП), блокатор АТФ-зависимых K^+ (K_{ATP})-каналов глибенкламид и активатор K_{ATP} -каналов диазоксид (все вещества фирмы Sigma, США). Вещества, нерастворимые в воде, растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), который в используемой концентрации (не более 0.01 %) не оказывал влияния на

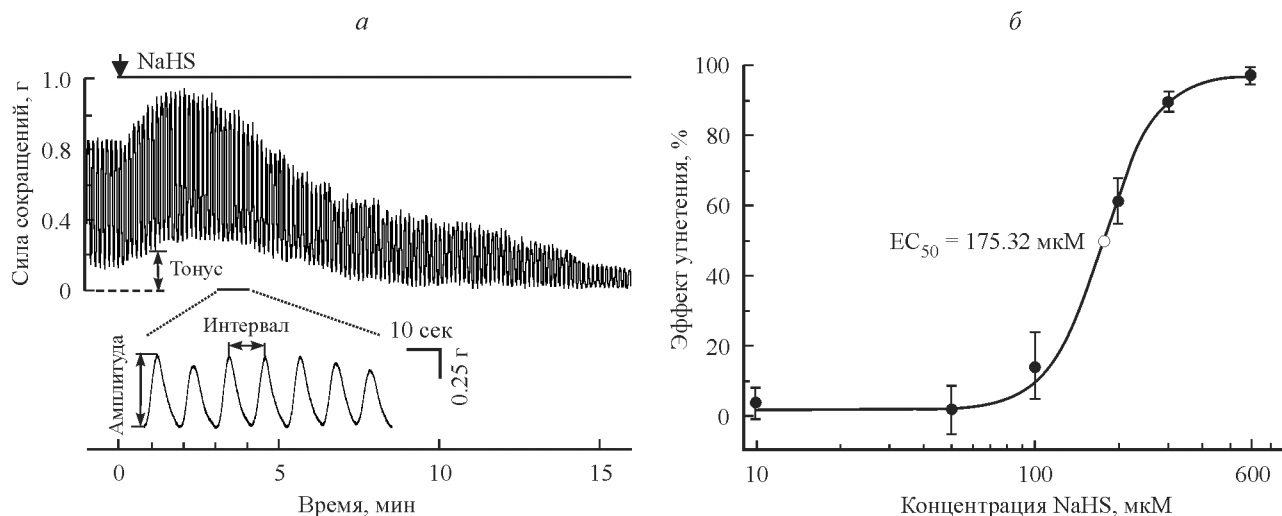


Рис. 1. Влияние NaHS на спонтанную сократительную активность полосок желудка крысы.

а — механограмма спонтанной сократительной активности при действии NaHS в концентрации 200 мкМ. Стрелка указывает на момент аппликации вещества, горизонтальная линия — продолжительность действия. На вставке показаны фазные сокращения на расширенной временной шкале. На графике обозначены тоническое напряжение и параметры фазных сокращений, анализируемые в эксперименте. По оси ординат — сила сокращения в г; по оси абсцисс — в мин. Число опытов 25; *б* — дозозависимость угнетающего эффекта NaHS на амплитуду фазных сокращений полоски желудка в условиях кумулятивной аппликации NaHS. EC_{50} эффекта H_2S на амплитуду фазных сокращений составила 175 мкМ, что соответствует эффективной концентрации около 12 мкМ, принимая во внимание температуру, pH и эвапорацию H_2S во время аэрации в ванночке [16, 17]. По оси ординат — эффект угнетения амплитуды фазных сокращений, %. Число опытов 5.

**Эффект NaHS на спонтанную сократительную активность полоски желудка крысы
в различных концентрациях**

Концентрация NaHS, мкМ	Амплитуда, г	Тоническое напряжение, г	Частота, мин ⁻¹
Контроль	0.74 ± 0.04	1.19 ± 0.04	4.74 ± 0.31
10	0.72 ± 0.03	1.21 ± 0.01	4.87 ± 0.23
50	0.73 ± 0.05	1.25 ± 0.03	4.94 ± 0.23
100	0.64 ± 0.07*	1.18 ± 0.03	5.16 ± 0.24
200	0.29 ± 0.05*	0.88 ± 0.05*	3.83 ± 0.18*
300	0.08 ± 0.02*	0.48 ± 0.03*	3.13 ± 0.15*
600	0.02 ± 0.02*	0.45 ± 0.05*	1.35 ± 0.06*

Примечание. * — $p < 0.05$ относительно контроля; $n = 5$.

спонтанную сократительную активность препарата. Анализировали амплитуду, частоту фазных сокращений и тоническое напряжение препарата на 2-й и 15-й мин после добавления NaHS (рис. 1, а). Амплитуду сокращения и тоническое напряжение выражали в граммах. Параметры сократительной активности в контроле принимали за 100 %. Результаты представлены в виде среднего значения ± ошибка средней, n указывает на количество животных, при этом от каждого животного получали до 4 изолированных препаратов. Достоверность различий определяли с помощью парного t -критерия Стьюдента и дисперсионного анализа (ANOVA) с применением теста Бонферрони. Значения $p < 0.05$ считались статистически значимыми. Статистический анализ был выполнен с OriginPro версии 8.5.1 (OriginLab, США).

Результаты

Эффекты NaHS на спонтанную сократительную активность полосок желудка крысы. В контроле средняя частота спонтанных сокращений полосок желудка составила 5.17 ± 0.38 в мин, средняя амплитуда — 0.67 ± 0.24 г, тоническое напряжение — 1.29 ± 0.06 г ($n = 25$). Аппликация NaHS в концентрации 200 мкМ приводила к двухфазному эффекту на тоническое напряжение и амплитуду фазных сокращений. Ко второй минуте амплитуда сокращений увеличивалась до 135.20 ± 6.92 %, а тоническое напряжение — до 121.11 ± 4.64 % ($n = 24$, $p < 0.05$) относительно начальных значений, частота спонтанных сокращений достоверно не изменялась (рис. 1, а; рис. 3). Затем наблюдали угнетение сократительной активности, и к 15-й мин амплитуда фазных сокращений снижалась до 16.84 ± 2.91 %, частота — до 31.31 ± 3.15 %, а тоническое напряжение — до 26.68 ± 7.44 % ($n = 24$, $p < 0.05$) по отношению к начальным значениям (рис. 1, а; рис. 3). Надо отметить, что эффект NaHS был полностью обратим, и сократительная активность препарата быстро возвращалась к исходным значениям при смене раствора на контрольный.

Дозозависимость эффектов NaHS исследовали в концентрациях от 10 до 600 мкМ в условиях куму-

лятивной аппликации. NaHS в концентрациях 10 и 50 мкМ не приводил к достоверному изменению исследуемых параметров, а в концентрациях 100 и 200 мкМ вызывал достоверное снижение частоты, амплитуды и тонуса спонтанных сокращений (рис. 1, б; см. таблицу). В концентрациях 300 и 600 мкМ NaHS полностью подавлял спонтанную активность полосок желудка ($n = 5$). При этом мы не выявили дозозависимости в отношении первоначального усиливающего сократительную активность эффекта NaHS.

Влияние NaHS на фоне блокирования потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов. Известно, что калиевые каналы различных типов являются мишенями действия H_2S в различных тканях [6, 17, 19—22]. Для выявления роли Ca^{2+} -активируемых и потенциал-зависимых K^+ -каналов мы использовали неспецифический блокатор этих каналов ТЭА в концентрации 10 мМ и блокатор потенциал-зависимых калиевых каналов 4-АП в концентрации 300 мкМ. Аппликация ТЭА или 4-АП вызывала значительное усиление сократительной активности. ТЭА повышал амплитуду сокращений до 209.86 ± 17.21 %, тонического напряжения до 141.18 ± 12.56 % и частоту до 147.45 ± 22.36 % ($n = 5$, $p < 0.05$). 4-АП увеличивал амплитуду сокращений до 144.82 ± 16.37 %, тонического напряжения до 169 ± 11.57 % ($n = 5$, $p < 0.05$), при этом частота сокращений достоверно не изменялась ($n = 5$, $p > 0.05$) (рис. 2, а, б). На фоне ТЭА или 4-АП мы не наблюдали первоначального усиливающего эффекта NaHS на тонус и амплитуду фазных сокращений (рис. 2, а, б; рис. 3), тогда как угнетающее действие NaHS на тоническое напряжение, амплитуду и частоту сокращений полосок желудка полностью сохранялись ($n = 5$) (рис. 2, а, б; рис. 3).

Эффекты NaHS на фоне блокирования и активации K_{ATP} -каналов. Блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид в концентрации 50 мкМ приводил к снижению амплитуды спонтанных сокращений до 87.32 ± 11.68 %, тонуса — до 63.32 ± 4.55 % ($n = 5$, $p < 0.05$), частота достоверно не изменялась ($n = 5$, $p > 0.05$). На фоне предварительной аппликации глибенкламида первоначальный усиливающий эффект NaHS на амплитуду и тоническое напряжение препарата сохранялся, а последующий угнетающий — на то-

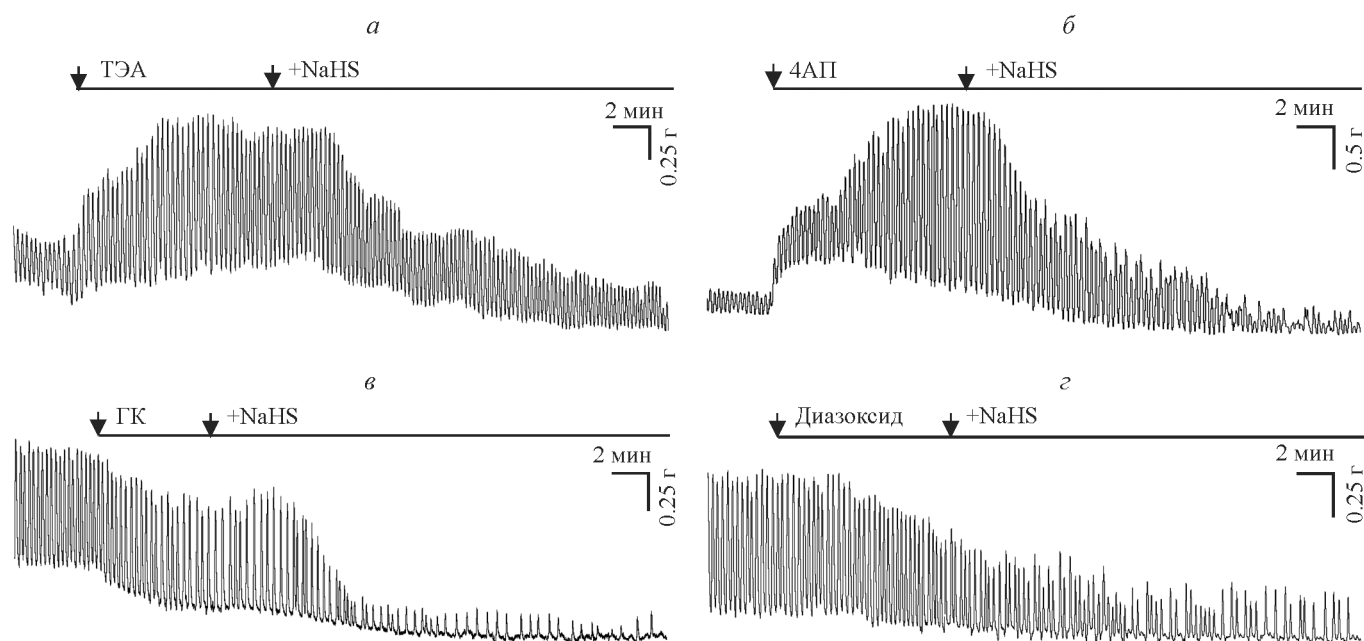


Рис. 2. Механограммы спонтанной сократительной активности полоски желудка при действии NaHS в концентрации 200 мкМ в условиях предварительной аппликации.

а — ТЭА (10 мМ); б — 4-АП (300 мкМ); в — глибенкламида (50 мкМ); г — диазоксид (100 мкМ).

нус и частоту сокращений был выражен в меньшей степени, чем в контроле (рис. 2, в; рис. 3). Активатор K_{ATP} -каналов диазоксид в концентрации 100 мкМ вызывал снижение тонического напряжения до $63.71 \pm \pm 5.67\%$ ($n = 5, p < 0.05$), при этом амплитуда и частота спонтанных сокращений достоверно не изменялись ($n = 5, p > 0.05$). Активация K_{ATP} -каналов предотвращала начальный активирующий эффект NaHS на амплитуду фазных сокращений и тоническое напряжение полоски желудка (рис. 2, г; рис. 3). При этом угнетаю-

щее действие NaHS на амплитуду сокращений и тоническое напряжение было выражено в меньшей степени, чем в контроле (рис. 2, г; рис. 3).

Обсуждение

Двухфазные эффекты H_2S на спонтанную сократительную активность желудка крысы. В нашем исследовании обнаружено, что H_2S

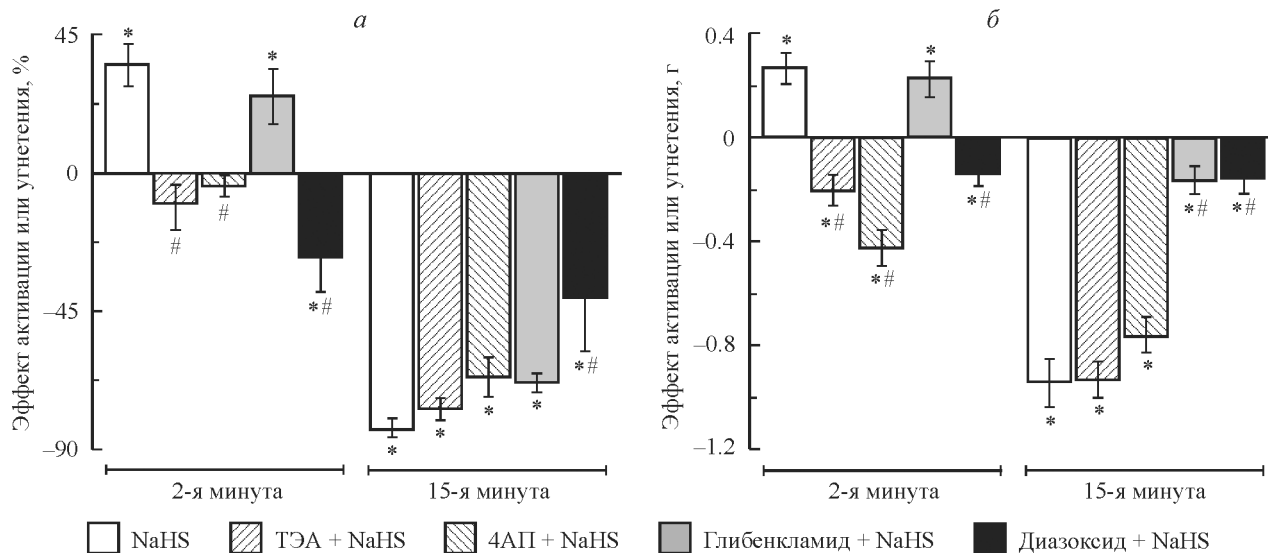


Рис. 3. Изменение амплитуды фазных сокращений (а) и тонического напряжения (б) препарата при действии NaHS (200 мкМ) в контроле и в условиях предварительной аппликации ТЭА (10 мМ), 4-АП (300 мкМ), глибенкламида (50 мкМ) и диазоксид (100 мкМ) к 2-й и 15-й мин.

* $p < 0.05$ относительно контроля. # $p < 0.05$ относительно эффекта NaHS. По оси ординат — эффект активации или угнетения амплитуды фазных сокращений, % (а) и тонического напряжения, г (б). Число опытов 5.

оказывает двухфазные эффекты на спонтанную сократительную активность полосок тела желудка крысы, вызывая первоначальное усиление тонуса и амплитуды фазных сокращений и последующее угнетение сократительной активности. Угнетающее действие H_2S зависело от концентрации, однако мы не наблюдали дозозависимости в отношении усиливающего сократительную активность эффекта H_2S , что, по-видимому, связано с нарастанием концентрации H_2S в растворе в условиях кумулятивной аппликации.

По данным других исследователей, эффекты H_2S на сократительную активность желудка зависели как от исследуемого отдела, вида животного, так и от концентрации вещества. На препаратах пилорического отдела желудка морской свинки и мыши $NaHS$ в низких концентрациях (< 300 мкМ) усиливал базальное напряжение, а в высоких ($300—1000$ мкМ) снижал тонус и амплитуду фазных сокращений [19, 20]. При аппликации на полоски дна желудка мыши и кролика $NaHS$ вызывал релаксацию гладкомышечных клеток [23, 24]. $NaHS$ (1 мМ) и субстрат синтеза H_2S — L-цистеин (1 мМ) вызывали расслабление препаратов дна и тела желудка мыши [15].

Роль потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов в усиливающем эффекте H_2S на сократительную активность полосок желудка крысы. Известно, что калиевые каналы играют важную роль в регуляции двигательной активности желудочно-кишечного тракта: формируют мембранный потенциал покоя, влияя на генерацию медленных волн деполяризации и форму потенциала действия [25]. Известно, что медленные волны состоят из фазы деполяризации, фазы плато и фазы реполяризации, причем фаза плато является ключевой для фазного сокращения, обеспечивая процессы сопряжения между возбуждением и сокращением, и зависит от баланса между входящим Ca^{2+} - и выходящим K^+ -токами [26]. В нашем исследовании блокаторы K^+ -каналов ТЭА и 4-АП приводили к значительному повышению тонуса и амплитуды фазных сокращений, что связано с увеличением длительности деполяризации и усилением входящего Ca^{2+} -тока [25]. В этих условиях активирующий эффект H_2S не проявлялся, тогда как угнетающий — снижение тонуса, амплитуды и частоты — полностью сохранялся. На основании полученных данных было предположено, что начальное усиление тонуса и амплитуды связано с ингибированием потенциал-зависимых и Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов, которые являются регуляторами мембранного потенциала покоя и длительности медленных волн в желудке. Подобные эффекты также наблюдали в желудке морской свинки и антральном отделе желудка мыши, где усиление тонуса и амплитуды сокращения при действии H_2S в низких концентрациях предотвращались ТЭА и 4-АП [19, 20]. Имеются данные и об участии Ca^{2+} -каналов L-типа в усилении тонуса гладкомышечных клеток желудка мыши при действии $NaHS$ [9]. Кроме того, в нашем исследовании активация K_{ATP} -каналов диазоксидом уменьшала на-

чальный активирующий эффект H_2S , что, по-видимому, связано с гиперполяризацией мембраны в этих условиях.

Роль K_{ATP} -каналов в ингибирующем эффекте H_2S на сократительную активность полосок желудка крысы. K_{ATP} -каналы являются одной из мишеней действия H_2S во многих тканях [22, 27], в том числе и в желудочно-кишечном тракте [3, 11]. В гладкомышечных клетках антрального отдела желудка морской свинки в отличие от клеток дна желудка мыши показано участие этих каналов в расслабляющем эффекте H_2S [19, 23]. В нашем исследовании угнетающий эффект H_2S на амплитуду фазных сокращений предотвращался активатором K_{ATP} -каналов диазоксидом, а на тоническое напряжение — диазоксидом и ингибитором этих каналов глибенкламидом. По-видимому, K_{ATP} -каналы являются одной из мишеней действия H_2S в гладкомышечных клетках тела желудка крысы. Однако возможны и другие мишени, такие как фосфатаза легких цепей миозина [23, 24] и TRPV1-рецепторы афферентных нервных окончаний [14].

Таким образом, в основе угнетающего эффекта H_2S на тонус и амплитуду фазных сокращений лежит активация K_{ATP} -каналов, что приводит к гиперполяризации мембраны, снижению уровня внутриклеточного Ca^{2+} и расслаблению гладкомышечных клеток.

Влияние H_2S на частоту спонтанных сокращений полосок желудка крысы. Известно, что перистальтика желудочно-кишечного тракта обусловлена пейсмекерной активностью интерстициальных клеток Кахаля [28], в основе которой лежит спонтанная деполяризация мембраны, связанная с активацией Ca^{2+} -зависимых Cl^- -каналов в ответ на высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} депо и последующий вход Ca^{2+} через Т-тип Ca^{2+} -каналов. Эти процессы формируют медленные волны деполяризации, распространяющиеся на соседние клетки Кахаля и гладкомышечные клетки через щелевые контакты [28]. В культуре интерстициальных клеток Кахаля тонкого кишечника мыши было показано, что H_2S в высоких концентрациях (1 мМ) ингибировал пейсмекерную активность и Ca^{2+} -осцилляции, при этом блокаторы K^+ -каналов различных типов не влияли на эффект H_2S [29]. В наших условиях снижение частоты спонтанных сокращений при действии H_2S уменьшалось в условиях блокирования K_{ATP} -каналов глибенкламидом. По-видимому, активация K_{ATP} -каналов при действии H_2S будет приводить к гиперполяризации как гладкомышечных клеток, так и интерстициальных клеток Кахаля, что будет оказывать влияние как на частоту пейсмекерных потенциалов, так и на проведение медленных волн в гладкомышечные клетки и как следствие снижать частоту спонтанных фазных сокращений. Другие механизмы действия $NaHS$ могут быть связаны с влиянием на высвобождение нейромедиаторов из окончаний энтеральных нейронов, также определяющих частоту медленных деполяризационных волн [28].

Заключение

Таким образом, H_2S имеет множественные мишени действия в регуляции двигательной активности полосок желудка крысы, оказывая двухфазное действие на спонтанную сократительную активность. Начальный усиливающий эффект возникает в результате деполяризации мембраны, в основе которой лежит ингибирование потенциал-зависимых/ Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов и усиление входящего Ca^{2+} -тока, длительность которого в этих условиях не лимитируется Ca^{2+} -активируемым K^+ -током. Эффект активации K_{ATF} -каналов, лежащий в основе угнетающего действия, проявляется позднее, так как на фоне активатора этих каналов диазоксидом не наблюдалось усиления сократительной активности. Влияние H_2S на K_{ATF} -каналы может быть связан как с его прямым действием на субъединицы каналов [30], так и с изменением соотношения уровня АТФ/АДФ в клетке в результате ингибирования цитохром с оксидазы [31]. По-видимому, в физиологических условиях эндогенный H_2S вовлечен в регуляцию координированной двигательной активности различных отделов желудка, обеспечивающих эвакуацию химуса в тонкую кишку. Действительно, в желудке мыши H_2S ускорял эвакуацию химуса, что может быть связано с участием этого посредника в процессе адаптивного расслабления дна желудка, усилении перистальтики, а также с уменьшением сопротивления антрально-пилорического отдела [14, 15].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-415-160005.

Список литературы

- [1] Ситдикова Г. Ф., Зефирова А. Л. Газообразные посредники в нервной системе // Рос. физиол. журнал. 2006. Т. 92. № 7. С. 872—882.
- [2] Ситдикова Г. Ф., Яковлев А. В., Зефирова А. Л. Газомедиаторы: от токсических эффектов к регуляции клеточных функций и использованию в клинике // Бюл. Сиб. Мед. 2014. Т. 13. № 6. С. 185—200.
- [3] Linden D. R. Hydrogen sulfide signaling in the gastrointestinal tract // Antioxid. redox sign. 2014. V. 20. N 5. P. 818—830.
- [4] Farrugia G., Szurszewski J. H. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract // Gastroenterology. 2014. V. 147. N 2. P. 303—313.
- [5] Gerasimova E., Lebedeva J., Yakovlev A., Zefirov A., Giniatullin R., Sitdikova G. Mechanisms of hydrogen sulfide (H_2S) action on synaptic transmission at the mouse neuromuscular junction // Neuroscience. 2015. V. 303. P. 577—585.
- [6] Yakovlev A. V., Kurmasheva E. D., Giniatullin R., Khalilov I., Sitdikova G. F. Hydrogen sulfide inhibits giant depolarizing potentials and abolishes epileptiform activity of neonatal rat hippocampal slices // Neuroscience. 2017. V. 340. P. 153—165.
- [7] Martin G. R., McKnight G. W., Dickey M. S., Coffin C. S., Ferraz J. G., Wallace J. L. Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract // Digest. Liver Dis. 2010. V. 42. N 2. P. 103—109.
- [8] Huang X., Meng X. M., Liu D. H., Wu Y. S., Guo X., Lu H. L., Kim Y. C., Xu W. X. Different regulatory effects of hydrogen sulfide and nitric oxide on gastric motility in mice // Eur. J. Pharmacol. 2013. V. 720. N 1. P. 276—285.
- [9] Meng X. M., Huang X., Zhang C. M., Liu D. H., Lu H. L., Kim Y. C., Xu W. X. Hydrogen sulfide-induced enhancement of gastric fundus smooth muscle tone is mediated by voltage-dependent potassium and calcium channels in mice // World J. Gastroenterol. 2015. V. 21. N 16. P. 4840.
- [10] Wallace J. L., Caliendo G., Santagada V., Cirino G. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346) // Brit. J. Pharmacol. 2010. V. 159. N 6. P. 1236—1246.
- [11] Gallego D., Clave P., Donovan J., Rahmati R., Grundy D., Jimenez M., Beyak M. J. The gaseous mediator, hydrogen sulphide, inhibits *in vitro* motor patterns in the human, rat and mouse colon and jejunum // Neurogastroent. Motil. 2008. V. 20. P. 1306—1316.
- [12] Shafigullin M. Y., Zefirov R. A., Sabirullina G. I., Zefirov A. L., Sitdikova G. F. Effects of a hydrogen sulfide donor on spontaneous contractile activity of rat stomach and jejunum // B. Exp. Biol. Med. 2014. V. 157. N 3. P. 302—306.
- [13] Gabitova D. M., Shaidullov I. F., Sabirullina G. I., Shafigullin M. U., Sitdikov F. G., Sitdikova G. F. Role of Cyclic Nucleotides in the Effect of Hydrogen Sulfide on Contractions of Rat Jejunum // Bull. Exp. Biol. Med. 2017. V. 163. N 1. P. 14—17.
- [14] Medeiros J. V. R., Bezerra V. H., Lucetti L. T., Lima-Júnior R. C. P., Barbosa A. L. R., Tavares B. M., Magalhães P. J. C., Santos A. A., Cunha F. Q., Soares P. M. G., Souza M. H. Role of KATP channels and TRPV1 receptors in hydrogen sulfide-enhanced gastric emptying of liquid in awake mice // Eur. J. Pharmacol. 2012. V. 693. N 1. P. 57—63.
- [15] Xiao A., Wang H., Lu X., Zhu J., Huang D., Xu T., Guo J., Liu C., Li J. H_2S , a novel gasotransmitter, involves in gastric accommodation // Sci. Rep. 2015. V. 5.
- [16] DeLeon E. R., Stoy G. F., Olson K. R. Passive loss of hydrogen sulfide in biological experiments // Anal. Biochem. 2012. V. 421. N 1. P. 203—207.
- [17] Sitdikova G. F., Fuchs R., Kainz V., Weiger T. M., Hermann A. Phosphorylation of BK channels modulates the sensitivity to hydrogen sulfide (H_2S) // Front. Physiol. 2014. V. 5. P. 431.
- [18] Furne J., Saeed A., Levitt M. D. Whole tissue hydrogen sulfide concentrations are orders of magnitude lower than presently accepted values // Am. J. Physiol. Reg. I. 2008. V. 295. N 5. P. R1479—R1485.
- [19] Zhao P., Huang X., Wang Z. Y., Qiu Z. X., Han Y. F., Lu H. L., Kim Y. C., Xu W. X. Dual effect of exogenous hydrogen sulfide on the spontaneous contraction of gastric smooth muscle in guinea-pig // Eur. J. P. 2009. V. 616. N 1. P. 223—228.
- [20] Han Y. F., Huang X., Guo X., Wu Y. S., Liu D. H., Lu H. L., Kim Y. C., Xu W. X. Evidence that endogenous hydrogen sulfide exerts an excitatory effect on gastric motility in mice // Eur. J. Pharmacol. 2011. V. 673. N 1. P. 85—95.
- [21] Sitdikova G. F., Weiger T. M., Hermann A. Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells // Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol. 2010. V. 459. N 3. P. 389—397.
- [22] Mustafina A. N., Yakovlev A. V., Gaifullina A. S., Weiger T. M., Hermann A., Sitdikova G. F. Hydrogen sulfide induces hyperpolarization and decreases the exocytosis of secretory granules of rat GH3 pituitary tumor cells // Biochem. Biophys. Res. Co. 2015. V. 465. N 4. P. 825—831.

- [23] *Dhaese I., Lefebvre R. A.* Myosin light chain phosphatase activation is involved in the hydrogen sulfide-induced relaxation in mouse gastric fundus // *Eur. J. Pharmacol.* 2009. V. 606. N 1. P. 180—186.
- [24] *Nalli A. D., Rajagopal S., Mahavadi S., Grider J. R., Murthy K. S.* Inhibition of RhoA-dependent pathway and contraction by endogenous hydrogen sulfide in rabbit gastric smooth muscle cells // *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 2015. V. 308. N 6. P. 485—495.
- [25] *Vogalis F.* Potassium channels in gastrointestinal smooth muscle // *J. Auton. Pharmacol.* 2000. V. 20. N 4. P. 207—219.
- [26] *Lee J. Y., Ko E. J., Ahn K. D., Kim S., Rhee P. L.* The role of K⁺ conductances in regulating membrane excitability in human gastric corpus smooth muscle // *Am. J. Physiol.-Gastr. L.* 2015. V. 308. N 7. P. G625—G633.
- [27] *Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.* The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener // *EMBO J.* 2001. V. 20. N 21. P. 6008—6016.
- [28] *Blair P. J., Rhee P. L., Sande K. M., Ward S. M.* The significance of interstitial cells in neurogastroenterology // *J. Neurogastroenterol.* 2014. V. 20. N 3. P. 294—317.
- [29] *Parajuli S. P., Choi S., Lee J., Kim Y. D., Park C. G., Kim M. Y., Kim H. I., Yeum C. H., Jun J. Y.* The inhibitory effects of hydrogen sulfide on pacemaker activity of interstitial cells of Cajal from mouse small intestine // *Korean J. Physiol. Pha.* 2010. V. 14. N 2. P. 83—89.
- [30] *Mustafa A. K., Sikka G., Gazi S. K., Steppan J., Jung S. M., Bhunia A. K., Amzel L. M.* Hydrogen Sulfide as Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor Sulfhydrates Potassium Channels Novelty and Significance // *Cir. Res.* 2011. V. 109. N 11. P. 1259—1268.
- [31] *Dorman D. C., Moulin F. J. M., McManus B. E., Mahle K. C., James R. A., Struve M. F.* Cytochrome oxidase inhibition induced by acute hydrogen sulfide inhalation: correlation with tissue sulfide concentrations in the rat brain, liver, lung, and nasal epithelium // *Toxicol. Sci.* 2002. V. 65. N 1. P. 18—25.

Поступила 3 IV 2017

THE ROLE OF POTASSIUM CHANNELS IN THE EFFECTS OF HYDROGEN SULFIDE ON CONTRACTILITY OF GASTRIC SMOOTH MUSCLE CELLS IN RATS

*I. F. Shaidullov,¹ M. U. Shafigullin,¹ D. M. Gabitova,¹ F. G. Sitdikov,¹
A. L. Zefirov,² and G. F. Sitdikova¹*

¹ Kazan Federal University, Kazan, Russia

² Kazan State Medical University, Kazan, Russia

ABSTRACT

The effect of sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide (H₂S) donor, on spontaneous contractile activity of rat gastric smooth muscle cells was analyzed. Experiments were conducted on gastric strips under conditions of isometric contraction. It was shown that NaHS has a biphasic effect on spontaneous contractile activity through an increase in tonic tension and the amplitude of phasic contractions within the first minutes since application a following decrease in the amplitude, basal tone, and frequency of spontaneous contractions. The inhibitory effect of NaHS was dose-dependent at concentrations from 10 to 600 mM. Preliminary application of tetraethylammonium and 4-aminopyridine, inhibitors of voltage-gated and calcium-activated potassium channels, prevented a NaHS-evoked initial increase in the basal tone and the amplitude of phasic contractions. Activation of ATP-dependent potassium channels (K_{ATP}-channels) by diazoxide partly prevented a NaHS-evoked decrease in the basal tone and the amplitude of spontaneous contraction. Glibenclamide, an inhibitor of K_{ATP}-channels, decreased the inhibitory effect of NaHS on the amplitude, basal tone and frequency of spontaneous contractions. It was concluded that in rat gastric smooth muscles the excitatory effect of H₂S is mediated by the inhibition of voltage-gated and calcium-activated potassium channels while its inhibitory effect involves the activation of K_{ATP}-channels.

Key words: rat gastric smooth muscle cells, hydrogen disulfide, contractility, voltage-gated and calcium-activated potassium channels, ATP-dependent potassium channels.