Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

УЧАСТИЕ ГАЗОМЕДИАТОРОВ (ОКСИДА АЗОТА И СЕРОВОДОРОДА) В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ

Работа завершена:

«17» мая 2019 г. _____ Ч. Р. Шарафеева

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:
д.б.н., профессор

«20» мая 2019 г. _____ Ф. Г. Ситдиков

Заведующий кафедрой,
д.м.н., профессор

«4» июня 2019 г. _____ Т. Л. Зефиров

Казань – 2019

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ 4

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ 7

1.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 8

1.1.Сероводород, структура, физико-химические свойства 8

1.2.Эндогенный синтез сероводорода 9

1.5. Физиологическая роль сероводорода в желудочно-кишечном тракте 16

1.5.1. Механизмы сократимости двигательной активности гладко - мышечных клеток в желудочно-кишечном тракте 16

1.5.2.Регуляция сократимости мускулатуры желудочно-кишечного тракта 20

1.5.3. Блокаторы калиевых каналов *28*

1.5.4. Влияние H2S на функционирование желудочно-кишечного тракта *30*

1.6. Механизм действия и физиологические функции оксида азота *36*

1.7. Взаимодействие оксида азота и сероводрода *37*

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ 42

2.1. Объект и методы исследования 42

2.1.1. Объект исследования и растворы 42

2.1.2. Метод тензометрии и анализ данных 41

2.1.3. Статистическая обработка экспериментальных данных 43

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ 48

3.1. Влияние донора сероводорода на спонтанную сократительную активность тощей кишки крысы 48

3.2. Влияние NaHS на вызванные карбахолином сокращения подвздошной кишки 52

3.3. Исследование роли Ca2+-активируемых и потенциал-зависимых K+ - каналов в эффекте NaHS *55*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 57

ВЫВОДЫ 59

ВВЕДЕНИЕ

Оксид азота (NO), окись углерода (CO) и совсем недавно сероводород (H_2S) появились в качестве «газотрансмиттеров» с центральными физиологическими и фармакологическими эффектами. В течение последних трех десятилетий NO широко исследовался на предмет его роли в регуляции деятельности желудка, кишечника, мозга, легких, печени, почек и других органов (Marsh и Marsh, 2000). Совсем недавно H_2S, другой «токсичный газ», также появился в качестве важного регулирующего посредника (Moore и др., 2003).

H_2S и NO проявляют много общих черт, таких как способность пересекать биологические мембраны и проникать в клетки без необходимости специфических мембранных рецепторов. Более того, эти молекулы участвуют в индукции долгосрочной потенциации гиппокампа, что предполагает ключевую роль нейромодуляторов в мозге (Qu и др., 2008). Кроме того, оба медиатора хорошо известны своей способностью регулировать кровяное давление как in vitro, так и in vivo (Ali и др., 2006). Они являются липидорастворимыми веществами, выделяются из любой части клетки, а также не хранятся в везикулах и не высвобождаются экзоцитозом. Газовые медиаторыне связываютсяни с какими рецепторамина постсинаптической мембране, а взаимодействуют непосредственно с внутриклеточными ферментами и ионными каналами. В отличие от классических медиаторов, газы обычно участвуют в передаче ретроградного сигнала от постсинаптического к пресинаптическому нейрону и также могут продуцироваться в клетках глии. Эти газы эндогенно синтезируются с помощью ферментов, их синтез является регулируемым [Wang, 2002; Ситдикова, 2006; Ситдикова, 2010; Boehning, 2003].

Сероводород считается токсичным газом в течение 100 лет (Смит и Госелин, 1979). Он может напрямую ингибировать активность нескольких важных ферментов в организме человека, а именно цитохром С оксидазу

(Reiffenstein et al., 1992), угольной ангидразы (Николсон и др., 1998), моноаминоксидазы (Warenycia et al., 1989) и Na^+ / K^+ АТФаза (Reiffenstein и др., 1992), вызывая тем самым токсичность. Тем не менее, знания об эффектах H_2S были в значительной степени расширены с момента открытия H_2S в качестве эндогенного нейронального модулятора группой Кимуры в Абе и Кимуре (1996). После этого физиологическое значение H_2S было тщательно изучено, особенно в центральной нервной системе (Zhang и Bian, 2014) и сердечно-сосудистой системе (Liu и др., 2012).

Как и другие газообразные посредники, H_2S оказывает расслабляющее действие на гладкие мышцы в сердечно - сосудистой системе, желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), репродуктивной системе [Xuetal., 2008; Lowiska, Beltowski, 2007]. Данные о влиянии H_2S на двигательную активность спорны и неоднозначны, был выяснен расслабляющий эффект этого газомедиатора в различных отделах ЖКТ у разных видов животных [Hosokietal., 1997; Teagueetal., 2002; Dhaeseetal., 2010; Nagaoetal., 2012; Kasparek, 2012]. Однако есть данные и о двойственной роли H_2S в регуляции двигательной активности ЖКТ в зависимости от концентрации [Zhaoetal., 2009; Габитова, 2017].

Механизмы действия H_2S по данным разных авторов неоднозначны и могут быть связаны как с активацией К-каналов [Gallegoetal., 2008, Zhaoetal., 2009; Ситдикова, 2010; Габитова, 2017], взаимодействием с системой NO [Gallegoetal., 2008], так и влиянием на внутриклеточные ферменты, которые регулируют сократимость [Nagaoetal., 2012; Ситдикова, 2011]. Таким образом, несмотря на свидетельства того, что H_2Sпроявляет разнообразные эффекты в ЖКТ, механизмы взаимодействия газа недостаточно изучены.

Быстро расширяющаяся литература, касающаяся H2S, показывает, что этот газотрансмиттер запускает защиту сердечно-сосудистой системы (Sun и др., 2017b; Wallace и др., 2017), обладает противоопухолевой активностью (Ianaro и др., 2016), регулирует функцию ионных каналов (Naik и др., 2016; Lu и др., 2017) и демонстрирует антиоксидантные эффекты (Egea и др., 2015).

Учитывая эти физиологические роли, H_2S, по-видимому, действует в качестве посредника в нескольких функциях, представляя, таким образом, потенциальный терапевтический агент, а также NO и CO.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Знание биологической роли эндогенного H_2S постоянно расширяется. Многие исследования в литературе показывают, что H_2S оказывает физиологическое воздействие в широком диапазоне концентраций от 10 до 1000 мкМ [Li L, 2011]. Однако важно иметь в виду, что многие из этих уровней были определены с использованием более старых методов обнаружения по сравнению с более новыми, сложными аналитическими подходами. Тем не менее, ясно, что H_2S участвует в модулировании различных физиологических реакций, включая противовоспалительное действие [Zanardo RC, 2006], снижение окислительного стресса [Yonezawa D, 2007], нейромодуляцию [Abe K, 1996], вазорегуляцию [Laggner H, 2007], защиту от реперфузионного повреждения после инфаркта миокарда [Sivarajah A, 2009], и ингибирование инсулинорезистентности [Ali MY, 2007]. Более того, многие исследователи продолжают исследовать эту сигнальную молекулу для ее участия в различных аспектах клеточной функции, цитопротекции и клеточной сигнализации.

В результате проведенных экспериментов нами было показано, что донор H_2SNaHS оказывает дозозависимое угнетение спонтанной сократительной активности сегмента подвздошной кишки мыши. При этом NaHS также вызывает угнетение вызванного карбахолином сокращения, что свидетельствует об участии сигнальных механизмов, запускаемых активаций мускариновых ХР в эффектах H_2S. Известно, что активация M_3-ХР приводит преимущественно к активации белка Gq и, как следствие, к активации фосфолипазы С, гидролизу фосфоинозитидов и высвобождению Ca^{2+} из внутриклеточных депо, в свою очередь, Ca^{2+} вызывает ряд внутриклеточных реакций — либо сам по себе, либо через фосфорилирование эффекторных белков.

Изменение уровня кальция является ключевым фактором в регуляции сократительной активности. Поэтому мы провели исследование с

изменением вне- и внутриклеточного уровня в клетках. Уменьшение ионов Ca^{2+} во внеклеточном растворе не изменяло эффектов H_2S, при этом ингибирование освобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо приводило к уменьшению эффектов NaHS.

Таким образом, можно предположить, что при активации М-ХР происходит увеличение уровня внутриклеточного Ca^{2+} за счет входа через потенциалзависимые Са-каналы и выброса из СПР.

ВЫВОДЫ

1. Донор сероводорода NaHS вызывает снижение амплитуды, тонического напряжения и частоты спонтанных сокращений сегмента тощей кишки крысы.
2. NaHS уменьшает вызванные карбахолином сокращения сегмента тощей кишки, что указывает на возможное влияние сероводорода через механизмы, опосредующие эффекты активации мускариновых рецепторов.
3. Кальций-активируемые калиевые каналы не принимают участия в эффектах NaHS.
4. Активирующий эффект NaHS на потенциал-зависимые калиевые каналы пейсмекерных клеток возможно опосредует его эффекты на частоту сокращений.