

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ СЕРОВОДОРОДА НА
СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ
КЛЕТОК ЖЕЛУДКА КРЫСЫ

Работа завершена:

“1” июня 2017 г.



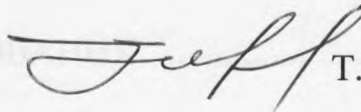
И.Ф. Шайдуллов

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

д.м.н., профессор


“5” июня 2017 г.



Т.Л. Зефилов

д.б.н., профессор

“5” июня 2017 г.

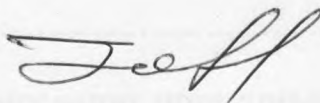


Г.Ф. Ситдикова

Заведующий кафедрой,

д.м.н., профессор

“6” июня 2017 г.



Т.Л. Зефилов

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	7
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Сероводород, структура, физико-химические свойства.....	8
1.1.1 Синтез и метаболизм сероводорода.....	9
1.1.2 Катаболизм сероводорода.....	12
1.2 Эффекты сероводорода в желудочно-кишечном тракте.....	12
1.3 Строение и моторика желудка.....	15
1.3.1 Анатомическое строение.....	15
1.3.2 Виды сокращений.....	17
1.3.3 Мышечный тонус и нейронный контроль резервуара желудка.....	19
1.4 Гладкомышечные клетки.....	19
1.4.1 Строение и функция гладкомышечных клеток.....	19
1.4.2 Роль интерстициальных клеток Кахаля в регуляции моторики желудочно-кишечного тракта.....	23
1.4.3 Нейрональная регуляция двигательной активности желудочно- кишечного тракта.....	24
2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	26
2.1 Объект исследования и растворы.....	26
2.2 Метод тензометрии и анализ данных.....	27
3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	29
3.1 Эффекты NaHS на спонтанную сократительную активность полосок желудка крысы.....	29
3.2 Влияние NaHS на фоне блокирования потенциал-зависимых и кальций- активируемых калиевых каналов.....	32

3.3	Эффекты NaHS на фоне блокирования и активации K_{ATP} -каналов	34
3.4	Влияние NaHS на процессы окислительного фосфорилирования и внутриклеточную концентрацию ионов Ca^{2+}	36
4.	ОБСУЖДЕНИЕ	38
4.1	Двухфазные эффекты H_2S на спонтанную сократительную активность желудка крысы	38
4.2	Роль потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов в усиливающем эффекте H_2S на сократительную активность желудка крысы.....	39
4.3	Роль K_{ATP} -каналов в ингибирующем эффекте H_2S на сократительную активность гладкомышечных клеток желудка крысы.....	40
4.4	Роль окислительного фосфорилирования и внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} в эффектах NaHS.....	41
4.5	Влияние H_2S на частоту спонтанных сокращений желудка крысы.....	43
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	44
	ВЫВОДЫ.....	46
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	47

ВВЕДЕНИЕ

Сероводород (H_2S) является газообразным посредником, наряду с оксидом азота и монооксидом углерода, влияющим на различные функции организма в физиологических и патологических условиях [Ситдикова *и др.*, 2006, 2014; Linden, 2014; Farrugia, 2014; Gerasimova, 2015; Yakovlev *et al.*, 2017]. H_2S эндогенно синтезируется в различных тканях ферментами цистатионин- β -синтазой (CBS) и цистатионин- γ -лиазой (CSE), а также 3-меркаптопируват сульфотрансферазой с одновременной активацией цистеин-аминотрансферазы [Linden, 2014; Farrugia, 2014]. 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 [Linden, 2014; Farrugia, 2014]. 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 [Martin *et al.*, 2010; Farrugia, 2014]. У крысы экспрессия CSE наиболее выражена в проксимальных отделах (желудок, двенадцатиперстная и тощая кишка) и относительно низкая в тонком и толстом кишечнике, а CBS напротив в толстой кишке. В желудке крысы наблюдается экспрессия как CBS, так и CSE [Martin *et al.*, 2010]. Такой же результат наблюдается в гладкомышечных клетках культуры клеток желудка мыши [Huang *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2015].

Показано участие H_2S в регуляции моторной и секреторной функций желудочно-кишечного тракта, ноцицепции, в развитии патологических состояний [Wallace *et al.*, 2010; Linden, 2014]. 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 [Gallego *et al.*, 2008; Shafigullin *et al.*, 2014; Farrugia, 2014;

Габитова и др., 2017]. В условиях *in vivo* донор H₂S – гидросульфид натрия (NaHS) ускорял эвакуацию желудка у мыши, связанную с расслаблением дна и пилорического отделов [Medeiros *et al.*, 2012 Xiao *et al.*, 2015], а мыши, нокаутные по CBS^{+/-}, демонстрировали снижение растяжимости желудка, что указывает на роль H₂S в процессе адаптивного расслабления в ответ на повышение внутрижелудочного давления при приеме пищи [Xiao *et al.*, 2015]. Продукция H₂S тканями желудка повышалась после принятия пищи, а нарушения H₂S-опосредованного сигнального пути в желудке обнаружены у пациентов с функциональной диспепсией, что свидетельствует о физиологической роли этого посредника в регуляции аккомодации желудка [Xiao *et al.*, 2015]. Однако, молекулярные механизмы, опосредующие эффекты H₂S на сократительную функцию желудка, не выяснены, а имеющиеся в литературе данные противоречивы.

ВЫВОДЫ

1. Донор сероводорода NaHS (200 мкМ) оказывает двухфазные эффекты на спонтанную сократительную активность ГМК тела желудка: начальное увеличение тонического напряжения и амплитуды, без изменения его частоты и последующее снижение всех параметров. Ингибирующий эффект NaHS проявляет дозозависимый характер.
2. NaHS оказывает дозозависимое угнетающее действие на тоническое напряжение, амплитуду и частоту сокращений ГМК дна желудка.
3. Начальное усиление тонуса и амплитуды фазных сокращений тела желудка связано с ингибированием потенциал-зависимых K^+ -каналов и не связано с поступлением внеклеточного Ca^{2+} через потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы.
4. Активация АТФ-зависимых и Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов опосредует ингибирующее действие NaHS на тонус, амплитуду и частоту фазных сокращений.
5. Изменение Ca^{2+} -гомеостаза с использованием кофеина предотвращает как активирующее, так и угнетающие эффекты NaHS.