

О.М. Семенихіна, О.В. Базілюк, Ю.П. Коркач, В.Ф. Сагач

Механізми впливу сірководню на скоротливу активність гладеньких м'язів судин щурів

Вивчали вплив сірководню (H_2S) різного походження на скоротливу активність гладеньких м'язів (ГМ) судин. Встановлено, що введення попередника ендogenous синтезу H_2S L-цистеїну та екзогенного (NaHS) донора H_2S залежно від концентрації змінюють тонус ГМ ізольованих препаратів аорти та ворітної вени. NaHS у концентрації 10^{-5} моль/л викликав констрикторну реакцію ГМ обох видів судин, збільшення концентрації (10^{-4} – 10^{-3} моль/л) – розслаблює ГМ досліджуваних судин. Найбільш чутливими до таких впливів виявилися ГМ ворітної вени. Показано, що реакція розслаблення ГМ на введення NaHS є незалежною від ендотелію. Видалення адвенциції у препаратах аорти значно зменшувало ефекти вазорелаксації, а також призводило до повного їх зникнення на дію NaHS і L-цистеїну відповідно порівняно з аналогічними ефектами, що спостерігалися у препаратах судин з інтактною адвенцицією. Показано, що розслаблення ГМ грудної аорти на дію H_2S опосередковано активуванням аденозинтрифосфат-залежних калієвих каналів. Доказом цього є відсутність розслаблення ГМ за дії їх блокатора глібенкламіду (10^{-5} моль/л).

Ключові слова: сірководень, L-цистеїн, NaHS, глібенкламід, аорта, ворітна вена, ендотелій, адвенциція.

ВСТУП

Нещодавно з'явилась інформація про нові властивості сірководню (H_2S), який утворюється у значній кількості у різних тканинах ссавців і викликає багато фізіологічних ефектів, що дає змогу деяким авторам вважати його регуляторним медіатором [2, 4, 10]. Протягом десятиліть безбарвний газ з сильним запахом «тухлих яєць» був відомий тільки як токсичний забруднювач навколишнього середовища. Нині відомо, що він синтезується з амінокислоти L-цистеїну за участю вітаміну B_6 як кофактора і двох ферментів: цистотіонін γ -ліази (у серцево-судинній системі) і цистотіонін- β -синтетази (у нервовій системі). Експериментально показано, що вміст H_2S у плазмі крові становить 10^{-5} моль/л у щурів лінії Вістар і $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л у щурів лінії Sprague Dawley. Також відомо, що у тканинах головного мозку його вміст сягає

від $5 \cdot 10^{-5}$ до $16 \cdot 10^{-5}$ моль/л [4]. Виявлено також, що H_2S залучений у регуляцію скоротливої активності міокарда, секреції інсуліну тощо. Крім того, показано, що він реагує з активними формами кисню й азоту, що запобігає їхньому руйнівному впливу. З'ясовано, що легенева та артеріальна гіпертензія, атеросклероз, хвороба Альцгеймера, цироз печінки тощо супроводжуються порушенням синтезу H_2S [6]. З іншого боку, надмірна його продукція може сприяти розвитку запальних процесів, септичного шоку, психічній відсталості при синдромі Дауна, тоді як зниження продукції може мати потенційну терапевтичну цінність за цих станів. Відома видова та тканинна специфічність синтезу H_2S і кілька місць його утворення: еритроцити, гладеньком'язові клітини [16], ендотелій [3], адипоцити адвенциції [7].

Встановлено, що основним механізмом токсичності сірководню є інгібування міто-

хондріальної цитохромоксидази та мітохондріального дихання, що є потужнішим за дію ціанідів [12]. Виявлення сірководню у головному мозку [17] спочатку було сприйнято як артефакт, оскільки вважалося, що збільшення його концентрації характерне для мертвих тканин ссавців [11]. Нині наявність H_2S доведено також і у серцево-судинній системі, печінці, нирках тощо [5]. Уперше Abe і Kimura [1] розкрили механізми утворення H_2S у головному мозку, його специфічні клітинні-мішені та біологічні ефекти при фізіологічних концентраціях. Зараз H_2S все більше визнається як член родини "газотрансмітерів" разом з оксидом азоту (NO) і оксидом вуглецю (CO). Проте його фізіологічна роль у порівнянні з ними, у різних органах і тканинах організму, залишається недостатньо вивченою, зокрема у різних регіонах судинного русла. Тому метою нашої роботи було дослідити дію екзогенного і ендогенного сірководню на скоротливу активність гладеньких м'язів (ГМ) аорти та ворітної вени щурів і з'ясувати основні механізми його впливу.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на препаратах ворітної вени й аорти щурів лінії Вістар віком від 6 до 8 міс та масою 250–300 г ($n=85$). Для реєстрації скоротливої активності м'язових препаратів використовували спеціальну камеру, яка складається з перфузійної комірки, механоелектричного перетворювача 6MX1C, температурного датчика, нагрівальних елементів, розподільних кранів, лійки для подавання перфузійних розчинів ($37^\circ C$). Електричний сигнал з виходу перетворювача реєстрували за допомогою пристрою КСП-4.

Ворітну вену виділяли після декапітації та розтину черевної порожнини щурів, накладаючи лігатури з двох кінців. Препарували, очищували від сполучної тканини

та розрізали на 2–3 повздовжні смужки довжиною 4–5 мм і завширшки 0,5–1,0 мм. Далі її поміщали у комірку об'ємом 1,5 мл, виготовлену з хімічно неактивного плексигласу, закріплювали у горизонтальному положенні двома гачками, один з яких з'єднували з механоелектричним перетворювачем, а другий кріпили через блок до вантажу, за допомогою якого смужка розтягувалася. Препарати розтягували з силою 3–5 мН і залишали для стабілізації режиму роботи на 30–40 хв, перфузуючи їх зі швидкістю 2–3 мл/хв стандартним розчином Кребса такого складу (ммоль/л): NaCl – 133, KCl – 4,7, $NaHCO_3$ – 16,3, NaH_2PO_4 – 1,38, $MgCl_2$ – 1,05, глюкоза – 12, $CaCl_2$ – 2,5; pH 7,4.

Препарати ворітної вени мали міогенну скоротливу активність у вигляді періодичних фазних скорочень ГМ з частотою 4–6 $хв^{-1}$ і амплітудою – 0,8–1,0 мН/мг, що було контролем їх функціональної активності. Перед проведенням досліджень їх активували KCl (80 ммоль/л) у розчині Кребса до зникнення фазних скорочень і створення стійкого "плато", від якого і розраховували зміни амплітуди скоротливих реакцій ГМ (у відсотках).

Після розтину порожнини виділяли сегмент аорти довжиною 4–5 см і ретельно препарували, розрізали на кільцеві препарати завширшки від 0,5 до 1,5 мм з урахуванням циркуляційної орієнтації її гладеньком'язового шару (під кутом 45° від повздовжньої осі судини). Препарати аорти поміщали у комірку, розтягували з силою 8–10 мН і перфузували розчином Кребса. Період стабілізації для аорти сягав від 20 до 40 хв. Активацію ГМ аорти створювали додаванням до буферного розчину норадреналіну (10^{-5} моль/л, "Sigma", США). Стійкий рівень цього скорочення ("плато") приймали за 100 %. Від нього проводили розрахунки зміни амплітуди скоротливих реакцій ГМ на різні агоністи (у відсотках).

Ендотеліальний шар і зовнішня оболонка

судин (адвентиція) досліджуваних судин вилучалися механічно [8]. Відсутність розслаблення ГМ на ацетилхолін (10^{-6} моль/л) було контролем ефективності деендотелізації.

Синтез NO блокували за допомогою L-NAME ($3 \cdot 10^{-4}$ моль/л), активність аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів (K_{ATP}) – за допомогою глібенкламіду (10^{-5} моль/л). Вплив екзогенного H_2S вивчали, використовуючи відомий донор NaHS (10^{-3} – 10^{-5} моль/л), ендогенного – L- цистеїн (10^{-3} – 10^{-4} моль/л).

Отримані результати обробляли за методом варіаційної статистики, використовуючи критерій t Стьюдента. Значення $P < 0,05$ вважали статистично достовірні. Розрахунки середньоарифметичного значення (M), стандартної похибки (m), коефіцієнта вірогідності (P) проводили, використовуючи стандарні програми Excel (MS Office XP) та Origin 7.0 фірми «Microcall Software, Inc.» (США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив донора сірководню на скоротливу активність аорти і ворітної вени щурів. Варто зазначити, що властивості ГМ різних кровоносних судин істотно відрізняються. Вони залежать не тільки від виду тварини, але й від органа чи тканини, де знаходиться судина, від ступеня її іннервації, наявності чи відсутності спонтанної активності і навіть від її калібру. Мабуть, це одна з причин того, чому досі не вдається уніфікувати гладеньком'язові клітини кровоносної системи, описати найбільш спільні закономірності їхнього функціонування.

Як було зазначено вище, препарати ворітної вени мають спонтанну скоротливу активність у вигляді періодичних фазних скорочень ГМ з певною частотою та амплітудою. Крім того, слід відзначити специфічну реакцію ворітної вени на ацетилхолін. Як відомо, цей агоніст розширює

більшість судин, активуючи синтез ендотеліальними клітинами оксиду азоту (NO), тоді як у ворітній вені – протилежний ефект, хоча також він діє через ендотелій, проте механізм реакції все ще залишається невідомим. Встановлено, що основні процеси утилізації сірководню відбуваються у печінці, а ворітна вена як колектор збирає кров з усіх травних органів черевної порожнини. Тому у нашій роботі ми намагалися з'ясувати можливі особливості реакцій ГМ ворітної вени на сірководень.

В експериментах на ізольованих препаратах ворітної вени ($n=9$), що були попередньо активовані розчином KCl, послідовне додавання NaHS у зростаючих концентраціях до розчину Кребса викликало різноспрямовану реакцію. Виявилось, що при концентрації 10^{-5} моль/л ГМ ворітної вени скорочуються з амплітудою $35,76 \% \pm 8,70 \%$ від заданого рівня активації. Більші концентрації донора сірководню (10^{-4} – 10^{-3} моль/л) розслаблювали ГМ ворітної вени. Так, при концентрації 10^{-4} моль/л амплітуда його становила $20,4 \% \pm 8,5 \%$, а при концентрації 10^{-3} моль/л сягала $131,8 \% \pm 47,1 \%$ (рис.1).

В експериментах на ізольованих препаратах аорти щурів ($n=9$), що попередньо

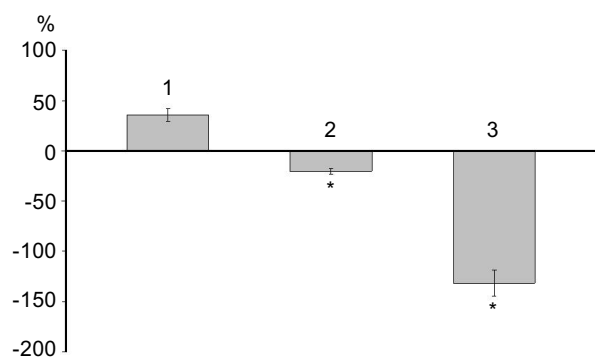


Рис. 1. Вплив екзогенного донора сірководню (NaHS) на скоротливу активність преактивованих (80 ммоль KCl) гладеньких м'язів ворітної вени щурів: 1 – 10^{-5} моль/л, 2 – 10^{-4} моль/л, 3 – 10^{-3} моль/л.

* $P < 0,05$ відносно однонаправлених реакцій за дії NaHS у концентрації 10^{-4} і 10^{-3} моль/л

були преактивовані норадреналіном у концентрації 10^{-5} моль/л, при послідовному додаванні донора сірководню у зростаючих концентраціях спостерігалася констрикторна дія його на ГМ при концентрації NaHS – 10^{-5} моль/л, амплітуда якого становила $12,50 \pm 4,3 \%$ (рис. 2,а). При збільшенні концентрації донора до 10^{-4} моль/л відбувалася різноспрямована реакція: у 50 % дослідів ГМ аорти (n=12) скорочувалися з амплітудою $36,55 \pm 10,36 \%$ від заданого рівня активації, у 25 % (n=6) – навпаки, розслаблювалися – $25,5 \pm 5,25 \%$, у решті дослідів (n=6) змін тонічного напруження ГМ не виявлено (див. рис. 2,б). При збільшенні концентрації донора до 10^{-3} моль/л спостерігалася тільки розслаблення ГМ аорти щурів (n=9) з амплітудою $82,15 \pm 10,1 \%$ (див. рис. 2,в). З літератури відомо, що збільшення концентрації донора сірководню до 10^{-2} моль/л зменшує амплітуду розслаблення, і наближує її до такої при мінімальних концентраціях (10^{-4} моль/л) [3, 7]. Отже, у концентрації 10^{-5} моль/л, донор сірководню незначно скорочував ГМ преактивованих препаратів аорти, а у ГМ ворітної вени удвічі більше. Відомо, що констрикторна реакція ГМ судин зумовлена інгібуванням перетворення $[^3\text{H}]$ -аргініну до $[^3\text{H}]$ -цитруліну, що відбувається в результаті прямого

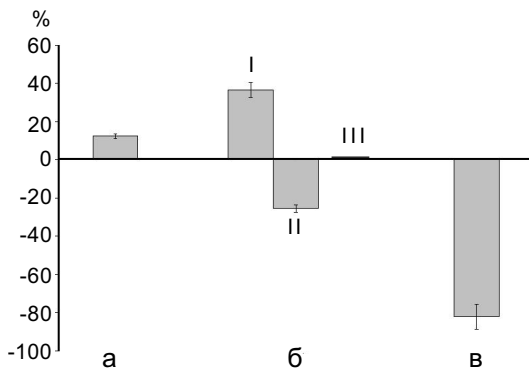


Рис. 2. Вплив екзогенного донора сірководню (NaHS) на скоротливу активність преактивованих (норадреналін 10^{-5} моль/л) гладеньких м'язів аорти щурів: а – 10^{-5} моль/л, б – 10^{-4} моль/л, в – 10^{-3} моль/л; I – 50 %, II – 25 %, III – 25 %

впливу NaHS на ендотеліальну NO-синтазу [13]. При збільшенні концентрації сульфідів водню до 10^{-4} моль/л у цих судинах спостерігалася незначне розслаблення ГМ ворітної вени та різнонаправлені реакції аорти. Подальше збільшення концентрації донора сірководню до 10^{-3} моль/л підвищувало амплітуду розслаблення ГМ обох досліджуваних судин, проте у ворітній вені воно було майже на 60 % більше, ніж в аорті.

Отримані нами результати свідчать про наявність у сірководню, залежних від концентрації, вазорелаксуючих і вазоконстрикторних властивостей. Найбільш чутливими до його впливу виявились ГМ ворітної вени.

Роль ендотелію у реалізації змін тонуусу ГМ аорти і ворітної вени на вплив H_2S . Відомо, що основний механізм реалізації впливу газового трансмітера NO є ендотеліопосередкованим. Нині дані відносно участі ендотелію у забезпеченні судинних ефектів сірководню неоднакові. Насамперед відмінності стосовно ролі ендотелію у H_2S -індукованій вазорелаксації стосуються типу судин і механізмів регуляції їх тонуусу [3].

Для оцінки можливої причетності ендотелію у H_2S -опосередкованих змінах судинного тонуусу ми вивчали вплив донора NaHS на деендотелізовані кільця аорти (n=6) і смужки ворітної вени (n=6). Виявилося (рис. 3), що на препаратах ворітної

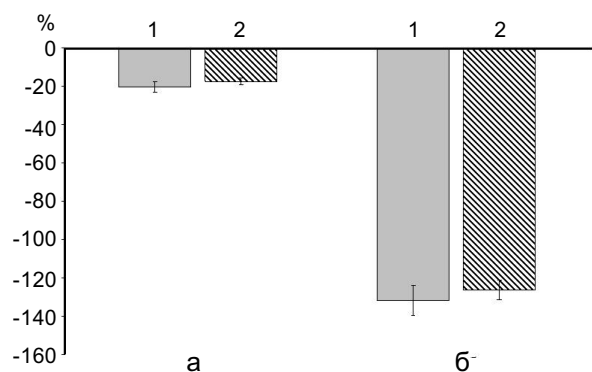


Рис. 3. Вплив екзогенного донора сірководню на скоротливу активність преактивованих гладеньких м'язів ворітної вени щурів: 1 – з ендотелієм, 2 – без ендотелію: а – 10^{-4} моль/л, б – 10^{-3} моль/л

вени з вилученим ендотелієм амплітуда розслаблення ГМ на донор сірководню у концентраціях 10^{-4} і 10^{-3} моль/л становила $17,5 \pm 4,3$ і $126,3 \pm 22,6$ % відповідно, що практично відповідало такій з інтактним ендотелієм, тобто ця реакція виявилася незалежною від наявності ендотелію. В свою чергу скорочення ГМ деендотелізованих препаратів ворітної вени при концентрації донора 10^{-5} моль/л різко пригнічувалося або його не було взагалі. Отже, ця реакція виявилася залежною від наявності ендотелію.

У дослідах на деендотелізованих кільцях аорти, що були преактивовані норадреналіном, змін скоротливої активності ГМ на NaHS у концентрації 10^{-5} моль/л не реєструвалося. При дії донора у концентраціях 10^{-4} і 10^{-3} моль/л розслаблення ГМ відтворювалося такої самої амплітуди, як і у препаратів з інтактним ендотелієм. Реакція розслаблення ГМ на донор сірководню ($2 \cdot 10^{-3}$ моль/л) відбувалась і при блокаді синтезу NO (n=5), проте її амплітуда була значно меншою від контрольних значень (у середньому $16 \pm 3,2$ %; рис. 4).

Отримані результати свідчать про те, що великі концентрації сірководню викликають переважно розслаблення ГМ як ворітної вени, так і грудної аорти щурів, і в його реалізації беруть участь чинники, що

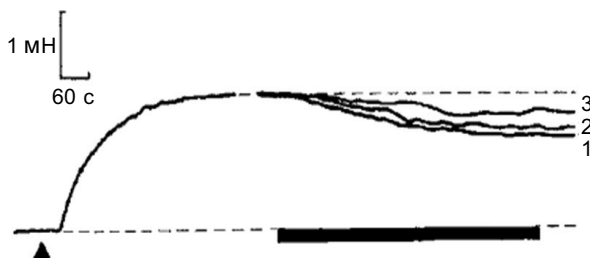


Рис. 4. H_2S -індуковані реакції розслаблення преактивованих норадреналіном гладеньких м'язів (ГМ) грудної аорти щурів. Темна лінія під кривими – тривалість впливу донора сірководню. Початок активації ГМ позначено стрілкою: 1 – контроль, 2 – препарат без ендотелію, 3 – вплив L-NAME ($3 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

не залежать від наявності ендотелію. Встановлено також, що за відсутності ендотелію, реакція скорочення ГМ цих судин на низькі концентрації донора сірководню зменшувалась або не реєструвалася взагалі. Разом з тим передбачається можлива взаємодія сірководню й оксиду азоту. Крім того, як було зазначено вище, є відомості [3] про те, що у таких судинах, як мезентеріальна та ниркова артерії, ендотелій відіграє важливу роль у реалізації ефектів H_2S . Імовірним поясненням цього феномена може бути наявність двох сигнальних шляхів для сірководню: K_{ATP} -канали ГМ судин і ChTX/апамінчутливі кальційзалежні калієві канали у ендотеліальних клітинах судин, стимулювання яких виділяє ендотеліальний фактор гіперполяризації. Сумісна активація двох типів каналів під впливом сірководню спричинює гіперполяризацію ГМК судин, що викликає їх вазорелаксацію. Отже, переважання того чи іншого сигнального шляху у аорті, ворітній вени і мезентеріальних артеріях, а також чутливості скоротливих білків до внутрішньоклітинного кальцію, може бути поясненням різної ролі ендотелію у впливі на судини.

Таким чином, ендогенний неорганічний розчинний газ H_2S впливає на реактивність аорти та ворітної вени, а відтак може відігравати суттєву роль у регуляції тонуусу судин. Дійсно, за даними інших авторів, внутрішньовенне введення NaHS щурам знижувало артеріальний тиск [1], розслаблювало судинний опір [3]. Розслаблення ГМ судин при великих концентраціях донора H_2S виявилось ендотелійнезалежним, а при малих, навпаки, залежними від нього [13, 18, 19]. Проте роль H_2S у фізіології та патології до кінця ще не з'ясована та потребує подальших досліджень, які б розкрили механізми регуляції експресії та деградації H_2S -ферментів.

Вплив L-цистеїну на скоротливу активність ГМ аорти та ворітної вени. Відомо,

що в серцево-судинній системі ссавців, сірководень утворюється з амінокислоти L-цистеїну за допомогою ферменту цистатіонін-г-ліази [9, 14]. Тому наступним кроком було вивчення впливу L-цистеїну на скоротливу активність ГМ ворітної вени і аорти щурів.

В експериментах на ізольованих препаратах аорти щурів (n=8), що попередньо були преактивовані норадреналіном (10^{-5} моль/л) при послідовному додаванні до розчину Кребса L-цистеїну у концентраціях 10^{-4} і 10^{-3} моль/л ми спостерігали стійке розслаблення ГМ. Амплітуда реакції у середньому становила $48,08 \pm 9,05$ і $37,48 \pm 9,04$ % (рис. 5) відповідно.

У експериментах на ізольованих препаратах ворітної вени щурів (n=10), що були преактивовані 80 ммоль/л розчином KCl, при послідовному додаванні L-цистеїну, відбувалася різнонаправлена реакція ГМ. У половині дослідів реєстрували скорочення, амплітуда якого при концентрації 10^{-4} моль/л становила $12,84 \pm 3,88$ % (n=5; див. рис. 5), а при концентрації 10^{-3} моль/л – $25,38 \pm 6,4$ % (див. рис. 5); у іншій частині дос-

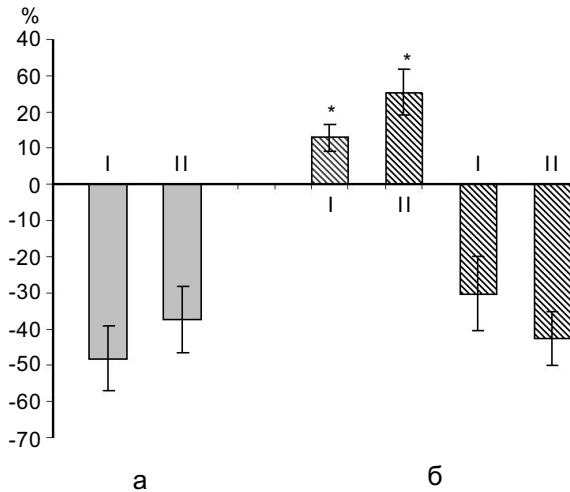


Рис. 5. Вплив ендogenousного донора сірководню (L-цистеїну) на скоротливу активність преактивованих гладеньких м'язів грудної аорти (а) і ворітної вени (б) щурів. L – цистеїн у концентраціях: I – 10^{-4} моль/л, II – 10^{-3} моль/л. * $P < 0,05$ відносно однонаправлених реакцій за дії L-цистеїну у концентрації 10^{-4} і 10^{-3} моль/л

лідів (n=5) при послідовному додаванні L-цистеїну реєстрували розслаблення ГМ. Так, при концентрації 10^{-4} моль/л його амплітуда була $30,26 \pm 10,3$ %, а при концентрації 10^{-3} моль/л – $42 \pm 7,28$ % (див. рис. 5).

Аналізуючи отримані результати, ми можемо зробити висновок, що сірководень, який утворюється ендogenousно (з L-цистеїну) і екзogenousний NaHS (10^{-4} і 10^{-3} моль/л), викликає однонаправлену реакцію розслаблення ГМ аорти. Реакції ГМ ворітної вени носили різнонаправлений характер, введення NaHS у згаданих концентраціях, викликало дозозалежне розслаблення ГМ ворітної вени, тоді як L-цистеїн призводив до різнонаправленої реакції ГМ ворітної вени.

Для того, щоб виключити безпосередній вплив L-цистеїну на ГМ без перетворення на сірководень потрібно провести досліди з використанням пропаргілгліцину, блокатора ферменту цистатіонін-г-ліази.

Дослідження ролі адвентиції в реалізації H_2S -опосередкованих змін тонусу ГМ грудної аорти. Останнім часом з'явилися дані, що H_2S може змінювати тонус ГМ судин через дію невідомого фактора, що локалізований у зовнішній сполучнотканинній оболонці судини – адвентиції [7]. Тому наступним етапом наших досліджень було

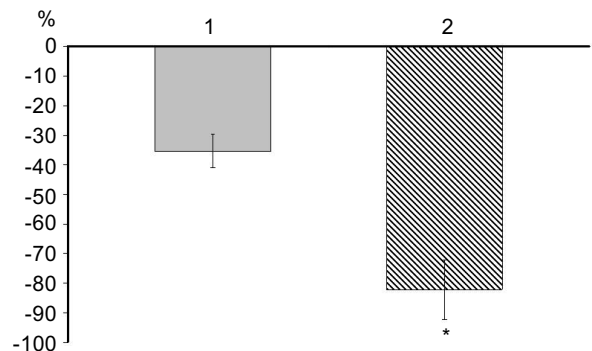


Рис. 6. Вплив донора сірководню на скоротливу активність преактивованих гладеньких м'язів (ГМ) аорти без адвентиції (1) та з адвентицією (2). * $P < 0,05$ відносно реакцій преактивованих ГМ аорти з вилученою адвентицією

з'ясувати вплив NaHS на ГМ аорти з видаленою адвентицією.

Після ретельного вилучення адвентиції грудної аорти в усіх дослідах (n=6) розслаблення ГМ на введення NaHS у концентрації 10^{-3} моль/л зменшувалося майже вдвічі і становило у середньому $35,3 \% \pm 5,6 \%$ (з інтактною адвентицією воно було $82,15 \% \pm 10,1 \%$).

Для подальшого вивчення ролі адвентиції у H_2S -змінах тонуусу ГМ аорти, вивчали вплив ендogenous донора сірководню. Виявилось, що без адвентиції характерне розслаблення ГМ аорти на введення L-цистеїну взагалі не розвивається.

Таким чином, розслаблення ГМ грудної аорти щурів на введення ендogenous сірководню повністю залежить від адвентиції, а екзogenous – тільки частково.

Вплив блокатора K_{ATP} -каналів на L-цистеїн-індуковані зміни скоротливої активності ГМ. Останні дослідження показують, що вазодилаторний вплив H_2S на ГМ кровоносних судин реалізується в основному через відкриття K_{ATP} -каналів, які знаходяться у гладеньком'язових клітинах [3,15]. Тому ми вивчали зв'язок розслаблення ГМ на введення L-цистеїну з механізмами, що пов'язані з активацією цих каналів.

Після періоду стабілізації попередньо підготовлені та преактивовані ізольовані препарати ворітної вени й аорти перфузували протягом 10 хв розчином глібенкламідом (10^{-4} моль/л) у розчині Кребса. Блокада K_{ATP} -каналів глібенкламідом запобігала розслабленню ГМ аорти та ворітної вени у відповідь на введення L-цистеїну. Отже, ці результати підтверджують гіпотезу про те, що вплив сірководню на скоротливу активність ГМ аорти та ворітної вени здійснюється через активацію K_{ATP} -каналів.

ВИСНОВКИ

1. Донор сірководню NaHS у низьких концентраціях (10^{-5} моль/л) викликає скорочення преактивованих ГМ аорти і ворітної

вени, а у високих концентраціях (10^{-4} моль/л – 10^{-3} моль/л) – розслаблення.

2. Великі концентрації сірководню викликають переважно розслаблення ГМ грудної аорти та ворітної вени щурів, і в його реалізації беруть участь чинники, незалежні від наявності ендотелію. Блокада синтезу NO зменшує дозозалежне H_2S -індуковане розслаблення, що вказує на можливу взаємодію NO і H_2S .

3. Розслаблення ГМ грудної аорти на дію попередника ендogenous синтезу сірководню (L-цистеїну) повністю, а екзogenous (NaHS) – частково реалізується через фактори, що локалізовано у адвентиції.

4. Вазодилаторний вплив ендogenous сірководню на ГМ аорти подібний до такого, що було частково отримано в експериментах з використанням екзogenous сірководню у концентрації 10^{-4} моль/л (у 25 % випадків) та у концентрації 10^{-3} моль/л (у 100 %).

5. Реакція ГМ ворітної вени на введення L-цистеїну різнонаправлена. У половині дослідів спостерігалася вазодилаторна реакція, у іншій половині – констрикторна.

6. Блокада K_{ATP} -каналів глібенкламідом запобігала розслабленню ГМ аорти та ворітної вени у відповідь на введення L-цистеїну і є доказом того, що розслаблення ГМ судин, спричинене сірководнем, пов'язано з активацією цих каналів.

**О.М. Семенихіна, О.В. Базілюк,
Ю.П. Коркач, В.Ф. Сагач**

МЕХАНИЗМИ ВЛИЯНИЯ СЕРОВОДОРОДА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКИХ МЫШЦ СОСУДОВ КРЫС

Изучали влияние сероводорода (H_2S) разного происхождения на сократительную активность гладких мышц (ГМ) сосудов. Установлено, что введение предшественника ендogenous синтеза H_2S L-цистеина и его донора NaHS вызывают концентрационнозависимые изменения тонуус гладких мышц (ГМ) изолированных препаратов аорты и воротной вены. Низкие концентрации донора сероводорода (10^{-5} моль/л) вызвали констрикторную реакцию ГМ

препаратов обоих видов сосудов, а высокие – расслабление. Показано, что реакция расслабления ГМ в ответ на донор сероводорода является независимой от наличия эндотелия. Удаление внешней соединительной оболочки – адвентиции – в препаратах аорты значительно уменьшало эффекты расслабления на действие донора сероводорода NaHS. Установлены некоторые клеточные механизмы влияния сероводорода, а именно показано, что расслабление ГМ грудной аорты на действие H₂S опосредовано активацией аденозинтрифосфатзависимых калиевых каналов. Доказательством этого является отсутствие расслабления ГМ на действие их блокатора глибенкламида.

Ключевые слова: сероводород, L-цистеин, NaHS, глибенкламид, аорта, воротная вена, эндотелий, адвентиция.

**О.М. Semenikhina, O.V. Bazilyuk,
Yu.P. Korkach, V.F. Sagach**

THE ROLE AND MECHANISMS OF THE EFFECT OF HYDROGEN SULFIDE ON CONTRACTILE ACTIVITY OF VASCULAR SMOOTH MUSCLES IN RATS

The effect of endogenous and exogenous hydrogen sulfide (H₂S) on contractile activity of vascular smooth muscle (VSM) was studied. The introduction of substrate synthesis H₂S L-cysteine and its donor NaHS in vitro caused concentration-dependent relaxation of VSM of aorta and portal vein. Low concentrations of hydrogen sulfide donor (10⁻⁵ mol/L) caused vasoconstriction of both types of the vessels. It was shown that the reaction of relaxation of VSM in response to NaHS is independent from endothelium. It was revealed that VSM of portal vein are more sensitive to the effects of H₂S than VSM of aorta. Removing of aorta periadventitial adipose tissue showed no relaxation reply to the hydrogen sulfide donor NaHS in 70% of experiments. Some of the cellular mechanisms of hydrogen sulfide action were established, namely relaxation of aorta is depended on K_{ATP} channel activation. This is manifested by a lack of relaxation of the aortic VSM due to K_{ATP} channel inhibitor glibenclamide.

Key words: hydrogen sulfide, L-cysteine, NaHS, glibenclamide, aorta, portal vein, endothelium, adventitia.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator // *J. Neurosci.* – 1996. – **16**. – P. 1066–1071.
2. Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Pang Y., Du J., Tang C. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function // *Biochim. and Biophys. Res. Commun.* – 2004. – **313**. – P. 362–368.
3. Cheng Y., Ndisang J.F., Tang G., Cao K., Wang R. Hydrogen sulfide-induced relaxation of mesenteric

- artery beds of rats // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – **279**. – P.52082–52086.
4. Mancardi D., Penna C., Merlino A., Soldato P. D., Wink D.A., Pagliaro P. Physiological and pharmacological features of the novel gasotransmitter: Hydrogen sulde // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – **1787**. – P. 869–872.
5. Doeller J.E., Isbell T.S., Benavides G., Koenitzer J., Patel H., Patel R.P., Lancaster J.R. Polarographic measurement of hydrogen sulfide production and consumption by mammalian tissues // *Anal. Biochem.* – 2005. – **341**. – P.40–50.
6. Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interested for pharmacologists // *Pharmacol. Rep.* – 2007. – **59**. – P.4-24.
7. Fang L., Zhao J., Chen Y. Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator // *J. Hypertens.* – 2009. – **27**. – P. 2174–2185
8. Furchgott R.F., Zawadski J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscles by acetylcholine // *Nature.* – 1980 – **288**. – P. 373–376.
9. Iciek M., Bilaska A., Ksiazek L., Serebro Z., Wlodec L. Allyl disulfide as donor and cyanide as acceptor of sulfane sulfur in the mouse tissues // *Pharmacol. Rep.* – 2005. – **57**. – P.212–218.
10. L. Li, P. K. Moore: Putative biological roles of hydrogen sulfide in health and disease: a breath of not so fresh air? // *Trends in Pharmacolog. Scien.* – 2007. – **2**. – P. 84–90.
11. Nagata T., Kage S., Kimura K., Kudo K., Noda M. Sulfide concentration in postmortem mammalian tissues // *J. Forensic. Sci.* – 1990. – **35**. – P.706–712.
12. Reiffenstein R.J., Hulbert W.C., Roth S.H. Toxicology of hydrogen sulfide // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1992. – **32**. – P.109–134.
13. Kubo S., Doe I., Kurokawa Y., Nishikawa H., Kawabata A. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: Contribution to dual modulation of vascular tension // *Toxicology.* – 2007. – **232** – P.138–146.
14. Stipanuk M.H. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine // *Annu. Rev. Nutr.* – 2004. – **24**. – P. 539–577.
15. Tang G., Wu L., Liang W., Wang R. Direct stimulation of, K ATP channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells // *Mol. Pharmacol.* – 2005. – **68**. – P. 1757–1764.
16. Wagner C.A. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator // *J. Nephrol.* – 2009. – **22**. – №2. – P. 173–179.
17. Warenycia M.W., Goodwin L.R., Benishin C.G., Reiffenstein R.J., Francom D.M., Taylor J.D., Dieken F.P. Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstation of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels // *Biochem. Pharmacol.* – 1989. – **38**. – P. 973–981.

18. Zhao W., Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms // Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2002. – **283**. – P.474–480.
19. 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. – **20**. – P.6008–6016.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: vsagach@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 10.03.2011