

ДЕЙСТВИЕ СЕРОВОДОРОДА НА СПОНТАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ. РОЛЬ K_V -, K_{Ca} - и K_{ir} -КАНАЛОВ

© 2023 г. Д. М. Сорокина^а, *, И. Ф. Шайдуллов^а, Д. Бучареб^а,
Ф. Г. Ситдигов^а, Г. Ф. Ситдикова^а

^аКазанский федеральный университет, Казань, 420008 Россия

*e-mail: dinagabita@mail.ru

Поступила в редакцию 25.04.2023 г.

После доработки 01.06.2023 г.

Принята к публикации 02.06.2023 г.

В настоящей работе анализировали роль калиевых каналов: потенциал-зависимых (K_V), Ca^{2+} -активируемых (K_{Ca}) и входящего выпрямления (K_{ir}) при действии донора сероводорода (H_2S) – гидросульфида натрия ($NaHS$) на спонтанную сократительную активность тощей кишки крысы. В условиях изометрического сокращения на препаратах тощей кишки было показано, что $NaHS$ дозозависимо (10–500 мкМ) снижает тонус препарата, амплитуду и частоту спонтанных сокращений; при этом полуэффективная концентрация (EC_{50}) угнетающего эффекта $NaHS$ на амплитуду сокращения составила 165 мкМ. Блокатор K_V -каналов 4-АП (200 мкМ) вызывал усиление амплитуды спонтанных сокращений. На фоне 4-АП $NaHS$ (200 мкМ) приводил к снижению амплитуды и частоты спонтанной активности препарата так же, как и в контроле, а эффект на базальный тонус был выражен в меньшей степени. Блокаторы K_{Ca} -каналов большой проводимости (BK), неспецифический – ТЭА (3 мМ) и специфический – паксиллин (1 мкМ), приводили к повышению амплитуды спонтанных сокращений, при этом угнетающий эффект $NaHS$ полностью сохранялся. Селективный блокатор K_{Ca} -каналов малой проводимости (SK) NS8593 (4 мкМ) не влиял на тонус препарата и параметры спонтанных сокращений и не предотвращал действие $NaHS$. Активатор K_{ATP} -каналов диазоксид (100 мкМ) вызывал снижение базального тонуса препарата, амплитуды и частоты спонтанных сокращений. Диазоксид и блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид (50 мкМ) предотвращали действие $NaHS$ на тонус препарата. Блокатор K_{ir} -каналов $BaCl_2$ (30 мкМ) вызывал повышение амплитуды спонтанных сокращений и предотвращал развитие ингибиторных эффектов $NaHS$ на частоту и амплитуду спонтанных сокращений, а снижение тонуса было выражено в меньшей степени, чем в контроле. Таким образом, уменьшение базального тонуса препарата тощей кишки крысы при действии донора H_2S связано с активацией K_{ir} -каналов, включая K_{ATP} -каналы, тогда как влияние H_2S на амплитуду и частоту опосредовано усилением Ba^{2+} -чувствительной проводимости.

Ключевые слова: сероводород, калиевые каналы, сократительная активность, тощая кишка крысы

DOI: 10.31857/S0233475523060099, **EDN:** FMSRFQ

ВВЕДЕНИЕ

Сероводород (H_2S) является газообразным посредником наряду с оксидом азота и монооксидом углерода, влияющим на различные функции организма в физиологических и патологических условиях [1–8]. Экспериментальные данные указывают на протекторные эффекты H_2S при таких заболеваниях, как синдром раздраженного кишечника (СРК), воспалительные заболевания кишечника, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, язвенный колит, болезнь Крона, ожирение и рак, благодаря его противовоспалительным свойствам [9, 10]. H_2S эндогенно синтезируется ферментами: цистатионин-β-синтазой (CBS), цистатионин-γ-лиазой (CSE) и 3-меркаптопируват сульфуртрансферазой (3-MPST) [4, 6, 8, 11].

В желудочно-кишечном тракте экспрессия CBS, CSE и 3-MPST была обнаружена в различных типах клеток, включая гладкомышечные клетки, энтеральные нейроны, интерстициальные клетки Кахаля (ИКК) и эпителиальные клетки [6, 12, 13].

Влияние H_2S на двигательную активность пищеварительного тракта зависит как от вида животного, так и специфического отдела желудочно-кишечного тракта и концентраций экзогенного H_2S [6, 11]. $NaHS$ преимущественно оказывает ингибиторные эффекты на спонтанную и вызванную ацетилхолином двигательную активность препаратов тонкой и толстой кишки мыши, крысы и человека [14–21]. В желудке действие H_2S зависит от концентрации: в низких концентрациях (0.1–0.2 мМ) $NaHS$ увеличивал тоническое напряже-

ние и амплитуду спонтанных сокращений препаратов антрального отдела желудка, а в высоких (0.2–1 мМ) – снижал тонус, амплитуду и частоту спонтанных сокращений [11, 17, 20, 22–28]. В двенадцатиперстной кишке крысы NaHS оказывал двухфазные эффекты, вызывая начальное кратковременное возбуждение с последующим длительным расслаблением [29].

В основе спонтанной сократительной активности гладкомышечных клеток кишечника лежит изменение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , связанное с возникновением медленных волн деполяризации, генерируемых в ИКК [30]. Гладкомышечные клетки электрически связаны с ИКК и фибробластоподобными клетками – $\text{PDGFR}\alpha^+$, вместе с которыми они образуют SIP-синцитий (SMCs, ICC and $\text{PDGFR}\alpha^+$ cells syncytium), где ИКК служат пейсмекерными клетками, ответственными за генерацию медленных волн деполяризации в гладкомышечных клетках, состоящих из фазы быстрой деполяризации, плато и реполяризации [30–32]. Фаза плато является критической для сопряжения процессов возбуждения-сокращения и зависит от баланса между входящими Ca^{2+} -токами и выходящими K^+ -токами [33]. K^+ -каналы играют фундаментальную роль в регуляции мембранного потенциала и медленных волн деполяризации. Вероятность открытия K^+ -каналов повышается в ответ на различные стимулы, включая деполяризацию мембраны (K_V -каналы) и/или повышение уровня Ca^{2+} (Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы), что ведет к гиперполяризации и снижает возбудимость и, как следствие, сократимость клетки. Кроме того, некоторые K^+ -каналы активны при значениях мембранного потенциала покоя, а их закрытие вызывает деполяризацию мембраны и сокращение [34].

По данным литературы, мишенями действия H_2S могут быть потенциал-зависимые K^+ -каналы (K_V) [35], Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы большой (BK) и малой (SK) проводимости [36–39], K^+ -каналы входящего выпрямления (K_{ir}) [40], включая АТР-зависимые K^+ -каналы ($\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналы) [41]. В гладкомышечных клетках сосудов расслабляющие эффекты H_2S преимущественно опосредуются активацией $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов, что приводит к гиперполяризации и закрытию потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов [42]. Однако данные о роли $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов в ингибиторных эффектах H_2S в гладкомышечных клетках желудочно-кишечного тракта противоречивы. Так, в препаратах желудка, толстой кишке мыши, крысы и человека H_2S подавлял спонтанную активность через активацию $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов [15], BK- и SK-каналов [13], а в тонкой кишке крысы, морской свинки и

кролика ингибиторные эффекты H_2S не зависели от $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов [4, 5, 14, 16, 23]. При этом активирующее влияние H_2S может опосредоваться активацией TRPV1-рецепторов сенсорных нервных окончаний или ингибированием K_V -каналов [20, 27, 29].

Целью нашего исследования было выявление роли потенциал-зависимых калиевых каналов (K_V), Ca^{2+} -активируемых калиевых каналов (K_{Ca}) и калиевых каналов входящего выпрямления (K_{ir}) в эффектах сероводорода на спонтанную сократительную активность сегментов тощей кишки крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты проведены в соответствии с Директивой Совета Европейских сообществ (86/609/ЕЕС) и одобрены локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015; протокол № 33 от 25.11.2021). Регистрировали сокращения препаратов тощей кишки крысы длиной 5–7 мм в изометрических условиях с использованием установки фирмы Biopac (США). Исследуемый препарат подвешивали вертикально в ванночке объемом 20 мл, где верхняя часть соединялась с тензометрическим датчиком, а нижняя часть закреплялась на фиксированном крючке. Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводилась с помощью программы AcqKnowledge 4.1 (Biopac, США).

В экспериментах использовался раствор Кребса (мМ): 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 глюкоза (рН 7.2–7.4, 37°C). Раствор постоянно аэрировался смесью 95% O_2 и 5% CO_2 . После закрепления препарата добивались стабилизации сокращений в течение 40–60 мин под определенным напряжением (около 1 г). В качестве донора H_2S использовали гидросульфид натрия (NaHS), который в растворе быстро диссоциирует до Na^+ и HS^- , далее HS^- взаимодействует с H^+ с образованием недиссоциированного H_2S . С учетом рН, температуры и концентрации солей в растворе было показано, что NaHS образует только 11–13% H_2S , концентрация которого в экспериментальной ванночке быстро снижается уже через 3 мин до 50% [38, 43]. Поэтому при использовании донора H_2S NaHS в концентрации 200 мкМ концентрация H_2S будет составлять 22–26 мкМ и снижаться до 11–13 мкМ через 3 мин инкубации. Данные концентрации близки к эндогенным уровням H_2S в тканях млекопитающих (от 10 нМ до 3 мкМ) [5, 37, 43–46]. При анализе дозозависимости NaHS последовательно вносили в экспериментальную ванночку раствор с повышающейся концентрацией вещества, наблюдая эффект в течение 5 мин. При вне-

сении вещества осуществляли перемешивание раствора с помощью пипетки.

В экспериментах использовали: блокатор K_V -каналов 4-аминопиридин (4-АП, 200 мкМ), неселективный блокатор Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов большой проводимости (ВК) тетраэтил-аммоний (ТЭА, 3 мМ), селективный ингибитор ВК-каналов – паксиллин (1 мкМ), селективный ингибитор Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов малой проводимости (СК) NS 8593 (4 мкМ), блокатор K_{ir} -каналов хлорид бария ($BaCl_2$, 30 мкМ), блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид (50 мкМ) и активатор K_{ATP} -каналов diaзоксид (100 мкМ). Вещества, нерастворимые в воде, растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO), который в используемой концентрации (не более 0.01%) не влиял на спонтанную сократительную активность препарата. Анализировали базальный тонус, амплитуду и частоту спонтанных сокращений препарата тощей кишки в контроле и при добавлении исследуемых веществ. Для оценки тонического напряжения использовали значения максимального расслабления между сокращениями. Полуэффективную концентрацию (EC_{50}) рассчитывали по кривой доза–эффект с использованием нелинейной сигмоидальной аппроксимации: $y = A_2 + (A_1 - A_2)/(1 + (x/x_0)^p)$, где A_2 – минимальный эффект, A_1 – максимальный эффект, x_0 – EC_{50} и p – наклон кривой [47].

Исходные параметры сократительной активности в контроле принимали за 100%. Результаты представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего, n указывает на количество препаратов, при этом в каждой серии использовалось не менее трех животных. 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 помощью OriginPro 2015 (OriginLab, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контроле тоническое напряжение препарата тощей кишки составило 1.29 ± 0.09 г ($n = 19$), амплитуда – 0.90 ± 0.08 г ($n = 19$) и частота спонтанных сокращений – 29.3 ± 0.61 сокращений в минуту (мин^{-1}) ($n = 19$). Для выявления роли H_2S в регуляции спонтанной двигательной активности тощей кишки крысы добавляли NaHS последовательно в концентрациях от 10 до 500 мкМ. Добавление донора H_2S в концентрациях 10 и 50 мкМ не приводило к изменению параметров спонтанных сокращений в концентрациях от 100 до 500 мкМ и достоверно снижало тоническое напряжение препарата, амплитуду и частоту спон-

танных сокращений (рис. 1). При этом полуэффективная концентрация (EC_{50}) ингибирующего эффекта NaHS на амплитуду составила 165 мкМ. В дальнейших экспериментах использовали NaHS в концентрации 200 мкМ, которая к 10-й мин приводила к снижению тонического напряжения до 76% (с 1.2 ± 0.09 до 0.99 ± 0.05 г, $n = 19$, $p < 0.05$), амплитуды до 43% (с 0.9 ± 0.08 до 0.4 ± 0.06 г, $n = 19$, $p < 0.05$), частоты до 80% (с 29.3 ± 0.6 до 23.4 ± 1.1 мин^{-1} , $n = 19$; $p < 0.05$) относительно контроля (рис. 1, 2a).

Известно, что K^+ -каналы играют ключевую роль в поддержании тонуса и контроле сокращения гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта, влияют на потенциал покоя, медленные волны деполяризации, продолжительность потенциала действия и динамику внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [48]. Поэтому мы изучали участие K_V -, K_{Ca} - и K_{ATP} -, и K_{ir} -каналов при действии NaHS на сократительную активность тощей кишки крысы.

Блокатор K_V -каналов 4-АП в концентрации 200 мкМ приводил к повышению амплитуды с 0.42 ± 0.07 до 0.51 ± 0.08 г, что составило 126% ($n = 9$, $p < 0.05$) относительно контроля, при этом частота сокращений и тоническое напряжение не изменялись (табл. 1). На фоне 4-АП угнетающее действие NaHS на амплитуду и на частоту сохранялось (43%, $n = 9$, $p < 0.05$ и 80%, $n = 9$, $p < 0.05$, соответственно), а на тоническое напряжение эффект был выражен в меньшей степени (89%, $n = 9$, $p > 0.05$) (рис. 3).

Неспецифический блокатор ВК-каналов ТЭА в концентрации 3 мМ вызывал повышение амплитуды с 0.57 ± 0.03 до 0.69 ± 0.07 г, что составило 120% от начальных значений ($n = 4$, $p < 0.05$), при этом тонус препарата и частота спонтанных сокращений не изменялись ($n = 4$, $p > 0.05$). В условиях блокирования K^+ -каналов ТЭА (3 мМ) угнетающие эффекты NaHS на тоническое напряжение, амплитуду и частоту сокращений полностью сохранялись ($n = 5$, $p < 0.05$). Специфический блокатор ВК-каналов паксиллин в концентрации 1 мкМ приводил к повышению амплитуды с 0.78 ± 0.04 до 0.96 ± 0.07 г, что составило 123% от контроля ($n = 8$, $p < 0.05$), при этом не оказывал влияния на тоническое напряжение и частоту сокращений ($n = 8$, $p > 0.05$). Последующее добавление NaHS на фоне паксиллина приводило к такому же снижению тонического напряжения препарата, амплитуды и частоты спонтанных сокращений ($n = 8$, $p < 0.05$), как и в контроле. Для выявления роли СК-каналов использовали ингибитор NS 8593 в концентрации 4 мкМ, добавление которого не приводило к достоверному изменению тонического напряжения, амплитуды и частоты спонтанных сокращений ($n = 7$, $p > 0.05$). На фоне действия NS 8593

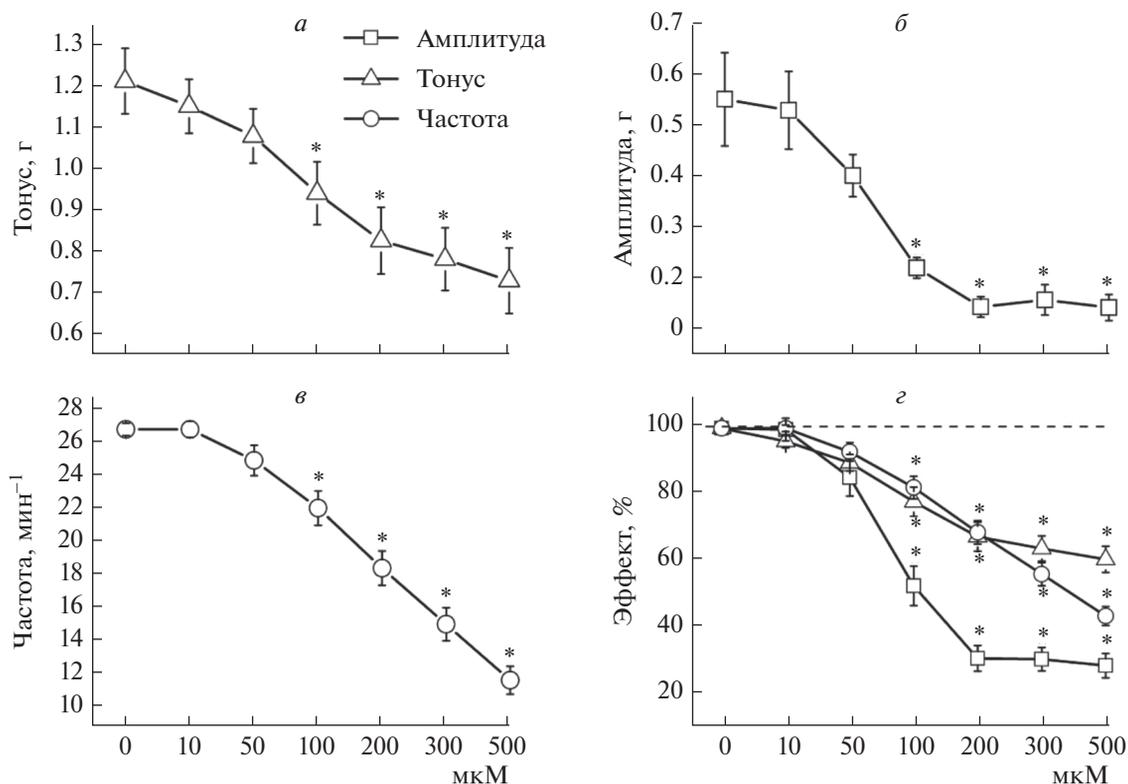


Рис. 1. Влияние NaHS на спонтанную сократительную активность тощей кишки крысы. Влияние кумулятивного добавления NaHS на тоническое напряжение, г (а), амплитуду, г (б), и частоту, мин⁻¹ (в) спонтанной сократительной активности тощей кишки крысы в концентрациях 10, 50, 100, 200, 300 и 500 мкМ. Изменение тонического напряжения препарата (треугольник), амплитуды (квадрат) и частоты спонтанных сокращений (кружок) при кумулятивной аппликации NaHS в концентрациях 10, 50, 100, 200, 300 и 500 мкМ (з). Контрольные значения были приняты за 100%. * $p < 0.05$ по отношению к исходным значениям.

эффекты NaHS на тоническое напряжение, амплитуду и частоту-сокращений сохранялись ($n = 7$, $p < 0.05$) (табл. 1).

Для выявления вклада K_{ATP} -каналов при действии NaHS использовали блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид в концентрации 50 мкМ, который приводил к снижению амплитуды спонтанных сокращений с 0.41 ± 0.02 до 0.27 ± 0.01 г, что составило 68% ($n = 24$, $p < 0.05$), частота и тоническое напряжение при этом не менялись ($n = 24$, $p > 0.05$) (табл. 1). На фоне действия глибенкламида эффект NaHS на амплитуду (46%, $n = 12$, $p < 0.05$) и на частоту спонтанных сокращений (85%, $n = 12$, $p < 0.05$) сохранялся, а на тоническое напряжение не проявлялся (94%, $n = 12$, $p > 0.05$) (рис. 3). Активатор K_{ATP} -каналов диазоксид в концентрации 100 мкМ приводил к снижению амплитуды с 0.50 ± 0.05 до 0.28 ± 0.03 г, что составило 59% ($n = 22$, $p < 0.05$), частоты сокращений с 32.85 ± 0.67 до 27.33 ± 1.12 мин⁻¹, что составило 83% ($n = 27$, $p < 0.05$) и тонического напряжения от 1.30 ± 0.06 до 1.21 ± 0.06 г, что составило 92% ($n = 28$, $p < 0.05$) (табл. 1). На фоне действия диазооксида эффект NaHS на амплитуду (46%, $n = 9$,

$p < 0.05$) и частоту спонтанных сокращений (81%, $n = 4$, $p < 0.05$) сохранялся, а ингибирующее влияние NaHS на тоническое напряжение не проявлялось (93%, $n = 16$, $p > 0.05$) (рис. 2б, 3).

Добавление блокатора K_{Ca} -каналов $BaCl_2$ [49, 50] в концентрации 30 мкМ приводило к повышению амплитуды с 0.62 ± 0.05 до 0.71 ± 0.06 г, что составило 113% ($n = 19$, $p < 0.05$), а частота и тоническое напряжение при этом достоверно не менялись ($n = 19$, $p > 0.05$) (табл. 1). На фоне $BaCl_2$ действие NaHS на тоническое напряжение было выражено в меньшей степени, что составило 89% ($n = 13$, $p < 0.05$), влияние на амплитуду и частоту спонтанных сокращений не выявлено ($n = 13$, $p > 0.05$) (рис. 2в, 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

H_2S — газомедиатор, эндогенно продуцирующийся в желудочно-кишечном тракте специализированными ферментами, а также сульфатредуцирующими бактериями и оказывающий регуляторное влияние на моторику, висцеральную чувствительность, процессы секреции и абсорб-

Таблица 1. Параметры спонтанных сокращений тощей кишки крысы при действии NaHS: роль K⁺-каналов различных типов

	Контроль	Глибенкламид	Глибенкламид + NaHS
Амплитуда, г	0.37 ± 0.02	0.25 ± 0.03*	0.11 ± 0.02*
Тонус, г	0.91 ± 0.04	0.85 ± 0.04	0.80 ± 0.04 [#]
Частота, мин ⁻¹	34.90 ± 0.43	33.25 ± 0.35	29.58 ± 0.46*
	Контроль	Диазоксид	Диазоксид + NaHS
Амплитуда, г	0.57 ± 0.05	0.31 ± 0.07*	0.15 ± 0.05*
Тонус, г	1.22 ± 0.07	1.14 ± 0.07*	1.07 ± 0.06 [#]
Частота, мин ⁻¹	32.06 ± 1.12	27.50 ± 0.86*	22.25 ± 2.01*
	Контроль	4-АП	4-АП + NaHS
Амплитуда, г	0.42 ± 0.07	0.51 ± 0.08*	0.20 ± 0.04*
Тонус, г	0.58 ± 0.07	0.56 ± 0.07	0.49 ± 0.06* [#]
Частота, мин ⁻¹	21.00 ± 2.06	21.22 ± 1.94	17.00 ± 1.62*
	Контроль	BaCl₂	BaCl₂ + NaHS
Амплитуда, г	0.60 ± 0.07	0.71 ± 0.06*	0.54 ± 0.06 [#]
Тонус, г	1.23 ± 0.02	1.19 ± 0.03	1.06 ± 0.03* [#]
Частота, мин ⁻¹	28.75 ± 0.49	28.75 ± 0.52	28.00 ± 0.40 [#]
	Контроль	ТЭА	ТЭА + NaHS
Амплитуда, г	0.57 ± 0.03	0.69 ± 0.07*	0.23 ± 0.07*
Тонус, г	0.39 ± 0.08	0.39 ± 0.07	0.28 ± 0.09*
Частота, мин ⁻¹	29.0 ± 0.7	28.25 ± 0.90	22.33 ± 0.33*
	Контроль	Паксиллин	Паксиллин + NaHS
Амплитуда, г	0.78 ± 0.04	0.96 ± 0.07*	0.22 ± 0.01*
Тонус, г	0.89 ± 0.09	0.88 ± 0.05	0.77 ± 0.01*
Частота, мин ⁻¹	27.75 ± 0.64	27.75 ± 0.45	22.50 ± 2.39*
	Контроль	NS 8593	NS 8593 + NaHS
Амплитуда, г	0.55 ± 0.05	0.55 ± 0.04	0.22 ± 0.01*
Тонус, г	0.57 ± 0.08	0.55 ± 0.07	0.43 ± 0.07*
Частота, мин ⁻¹	26.28 ± 0.68	26.42 ± 0.42	21.14 ± 1.84*

* $p < 0.05$ – по отношению к исходным значениям[#] $p < 0.05$ – по отношению к эффекту NaHS в контроле.

ции [4, 11]. Роль H₂S в регуляции моторики желудочно-кишечного тракта может различаться в зависимости от физиологических особенностей исследуемого отдела. Показаны как активирующие, так и угнетающие эффекты H₂S на сократительную активность гладкомышечных клеток [15–17, 21, 23, 24, 26]. В нашем исследовании донор H₂S вызывал дозозависимое расслабление препарата тощей кишки крысы, снижая спонтанную активность. В ходе эксперимента была выявлена полуэффективная концентрация (EC₅₀) NaHS, которая при действии на амплитуду спонтанных сокращений составила 165 мкМ, принимая во внимание

изменение температуры, pH и испарение H₂S, соответствует концентрации H₂S 11 мкМ [37].

Спонтанная сократительная активность гладкомышечных клеток желудочно-кишечного тракта определяется медленными волнами деполяризации, зарождающимися в ИКК и распространяющимися в гладкомышечные клетки через электрические контакты [30–32]. Деполяризация мембраны гладкомышечных клеток вызывает активацию Ca²⁺-каналов L-типа и входящий Ca²⁺-ток. Ионы Ca²⁺ связываются с кальмодулином и активируют киназу легких цепей миозина, которая в свою очередь фосфорилирует легкие цепи миозина и запускает процесс сокращения.

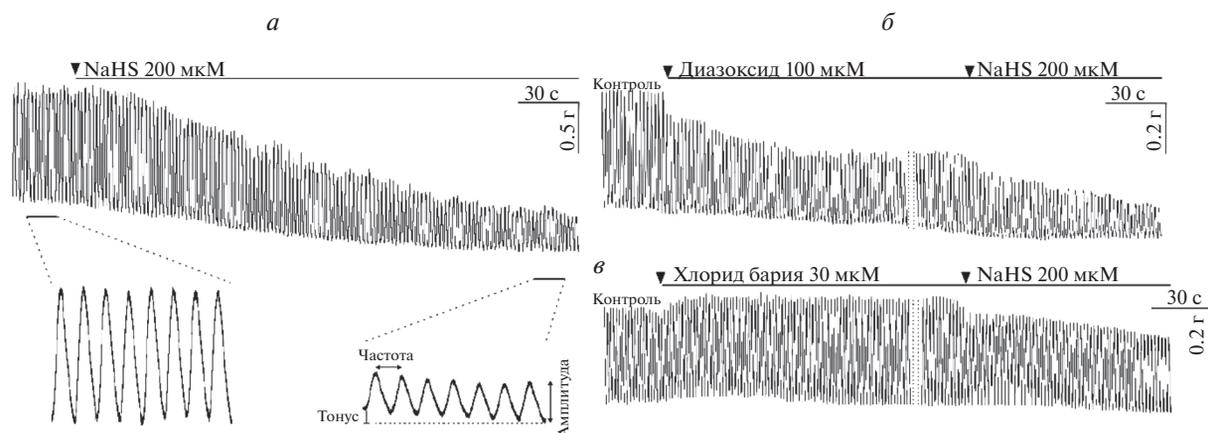


Рис. 2. Механограммы спонтанной сократительной активности тощей кишки крысы. *а* – Изменение спонтанных сокращений в условиях аппликации NaHS (200 мкМ). На вкладке показаны сокращения на расширенной временной шкале в контроле и к 6 мин аппликации NaHS. На графике обозначены измеряемые параметры: тоническое напряжение препарата, амплитуда и время между пиками, с использованием которого определяли частоту спонтанных сокращений. *б* – Изменение спонтанной сократительной активности при добавлении диазоксид (100 мкМ) и NaHS (200 мкМ) на фоне действия диазоксид. *в* – Изменение спонтанной сократительной активности при добавлении хлорида бария (30 мкМ) и NaHS (200 мкМ) на фоне действия хлорида бария. Горизонтальная линия указывает на продолжительность действия вещества.

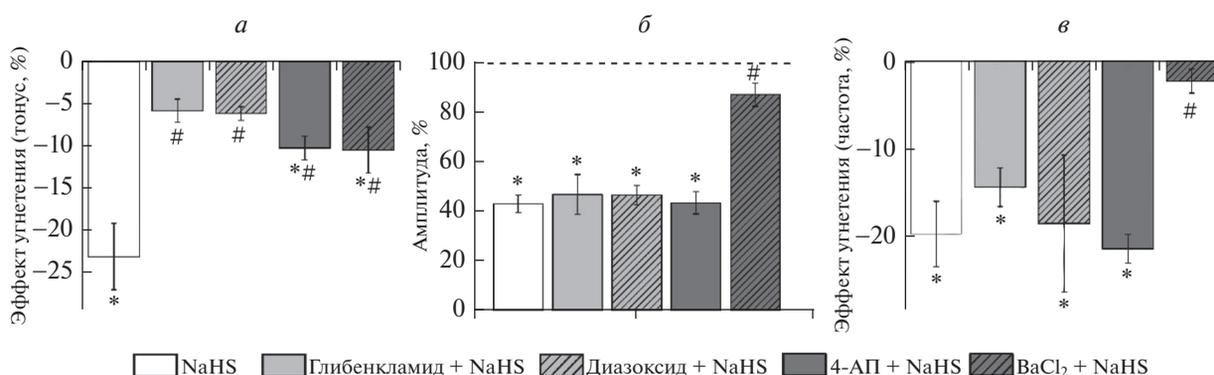


Рис. 3. Изменение тонического напряжения препарата, амплитуды и частоты спонтанных сокращений при действии NaHS (200 мкМ) в контроле и в условиях предварительной аппликации глибенкламида (50 мкМ), диазоксид (100 мкМ), 4-АП (200 мкМ) и BaCl₂ (30 мкМ). По оси ординат – эффект угнетения тонического напряжения (*а*), изменение амплитуды (*б*) и частоты (*в*). Данные представлены в процентах относительно исходных значений; * $p < 0.05$ по отношению к исходным значениям; # $p < 0.05$ относительно эффекта NaHS.

Поэтому модуляция мембранного потенциала будет влиять на вход Ca²⁺ и его цитозольный уровень. Второй источник Ca²⁺ в цитозоле – освобождение из саркоплазматического ретикулума через инозитолтрифосфатные или рианодиновые рецепторы [30, 31]. K⁺-каналы играют существенную роль в поддержании мембранного потенциала покоя и в регуляции входящего Ca²⁺-тока, поэтому модуляция их активности будет влиять на сократительную активность гладкомышечных клеток [34, 51, 52].

Калиевые каналы являются мишенью действия H₂S во многих тканях [35–37, 39, 40], в том

числе в гладкомышечных клетках сосудов [42], поэтому мы исследовали K_V-, BK-, SK- и K_{ir}-каналы в качестве мишеней действия H₂S.

K_V-каналы играют важную роль в регуляции возбудимости SIP-синцития, оказывая вклад в установление мембранного потенциала покоя, модулируя инициацию потенциала действия, опосредуя фазу реполяризации. K_V-каналы могут активироваться в широких пределах мембранных потенциалов между –70 мВ и +40 мВ. K_V-каналы, экспрессирующиеся в SIP-синцитии включают: каналы задержанного выпрямления (K_V1.1, K_V1.2, K_V1.5, K_V1.6, K_V2.2), быстрые каналы А-типа

(K_{V4}), медленные каналы задержанного выпрямления типа 7 (K_{V7} или KCNQ) [52]. $K_{V1.1}$ были выявлены в ИКК и нейронах и были нечувствительны к 4-АП [53]. Каналы А-типа, образованные гомо- или гетеромерами α -субъединиц ($K_{V4.1}$, $K_{V4.2}$, и/или $K_{V4.3}$), составляют большинство каналов А-типа в гладкомышечных клетках кишечника [54]. В желудочно-кишечном тракте токи А-типа очень чувствительны к 4-АП и устойчивы к ТЭА. K^+ -токи задержанного выпрямления в SIP-синцитии проводятся через каналы $K_{V1.2}$, $K_{V1.5}$ и $K_{V2.2}$ [51, 55] и блокируются 4-АП [56, 57].

В нашей работе 4-АП приводил к повышению амплитуды спонтанных сокращений, что, по-видимому, связано с увеличением длительности потенциала действия и усилением входа Ca^{2+} , запускающих процесс сокращения [51]. В этих условиях угнетающий эффект H_2S на параметры спонтанных сокращений сохранялся, а на тоническое напряжение был выражен в меньшей степени. В предыдущих исследованиях было показано участие K_V -каналов в активирующих эффектах H_2S , проявляющихся на препаратах желудка, где низкие концентрации NaHS увеличивали тоническое напряжение и амплитуду сокращений [20, 25, 27], но не влияли на релаксацию, индуцированную NaHS [24]. Поэтому можно предположить, что в препарате тощей кишки NaHS не оказывает прямого влияния на 4-АП-чувствительные K_V -каналы. Уменьшение действия NaHS на базальный тонус, по-видимому, связано с накоплением внутриклеточного Ca^{2+} в гладкомышечной клетке в результате значительного Ca^{2+} -входа в условиях ингибирования K_V -каналов, что препятствуют расслабляющему действию NaHS.

ВК-каналы ($K_{Ca1.1}$) экспрессируются в гладкомышечных клетках во всех сегментах и мышечных слоях желудочно-кишечного тракта [51] и ИКК [58]. Известно, что NaHS может напрямую активировать ВК-каналы [36, 37], однако его действие зависит от субъединичного состава и наличия вспомогательных β -субъединиц [59]. Неселективный антагонист ВК-каналов ТЭА (3 мМ) и селективный ингибитор ВК-каналов паксиллин (1 мкМ) приводили к повышению амплитуды спонтанных сокращений, что, по-видимому, связано с ролью ВК-каналов в ограничении входящего Ca^{2+} -тока [51, 60]. В этих условиях ингибирующий эффект H_2S на тонус препарата, амплитуду и частоту сокращений полностью сохранялся. SK-каналы ($K_{Ca3.1}$) играют роль в основном в энтеральных нейронах [61], где они опосредуют медленную следовую гиперполяризацию [62], но также обнаружены и в гладкомышечных клетках [63]. Блокатор SK-каналов не оказывал существенного влияния на параметры сократительной активности, а действие NaHS не зависело от ин-

гибирования SK-каналов. Таким образом, в отличие от гладкомышечных клеток толстой кишки крысы [64], в нашем препарате ингибирующие эффекты H_2S не зависели от ВК- и SK-каналов.

K^+ -каналы входящего выпрямления (K_{ir}) включают три основных типа: классические K^+ -каналы ($K_{ir2.1-2.4}$), K^+ -каналы, управляемые G-белком (GIRK $K_{ir3.1-3.4}$), и АТР-зависимые K^+ -каналы (K_{ATP} $K_{ir6.1-6.2}$). Классические K_{ir} конститутивно активны, GIRK-каналы активируются G $\beta\gamma$ -субъединицами, высвобождаемыми из гетеротримерного белка G, открытие K_{ATP} -каналов определяется соотношением уровней АТР/АДР, позволяющее каналам напрямую связывать метаболическое состояние клетки с ее электрической активностью [65].

Наиболее важные K_{ir} -каналы, вовлеченные в регуляцию мембранного потенциала, экспрессирующиеся в SIP-синцитии – $K_{ir2.1}$, K_{ir3} , и K_{ir6} . $K_{ir2.1}$, K_{ir3} характерны для ИКК и чувствительны к Va^{2+} , а K_{ir6} – для гладкомышечных клеток [31, 65]. K_{ATP} -каналы гладкомышечных клеток образованы $K_{ir6.1}/K_{ir6.2}$ и SUR2B-субъединицами [66]. Специфические активаторы этих каналов приводят к гиперполяризации мембраны и снижению сократительной активности [30]. Известно, что вазорелаксация, вызванная H_2S , напрямую связана с активацией K_{ATP} -каналов в результате прямой модификации SUR1- или $K_{ir6.1}$ -субъединиц канала [67]. В нашем исследовании активация или ингибирование K_{ATP} -каналов предотвращали угнетающий эффект H_2S на тоническое напряжение. По-видимому, в гладкомышечных клетках тощей кишки крысы присутствуют функциональные K_{ATP} -каналы, активация которых H_2S вызывает гиперполяризацию и расслабление. Роль данных типов каналов также подтверждают и исследования механизмов действия NaHS в тонкой и толстой кишке, где глибенкламид частично снимал расслабляющие эффекты NaHS [15, 17, 28].

Va^{2+} -чувствительные K_{ir} -каналы преимущественно экспрессируются в ИКК [31, 65, 68]. $VaCl_2$ в наших экспериментах приводил к повышению амплитуды спонтанных сокращений, без изменения тонического напряжения и частоты спонтанной активности. Подобный эффект наблюдали в исследованиях препарата тонкой кишки кроликов [69]. Кроме того, Va^{2+} (1–100 мкМ) вызывал деполяризацию гладкомышечных клеток различных отделов желудочно-кишечного тракта [68, 70]. В условиях ингибирования этих каналов значительно снижалось действие NaHS на базальный тонус, а на амплитуду и частоту спонтанной активности не проявлялось.

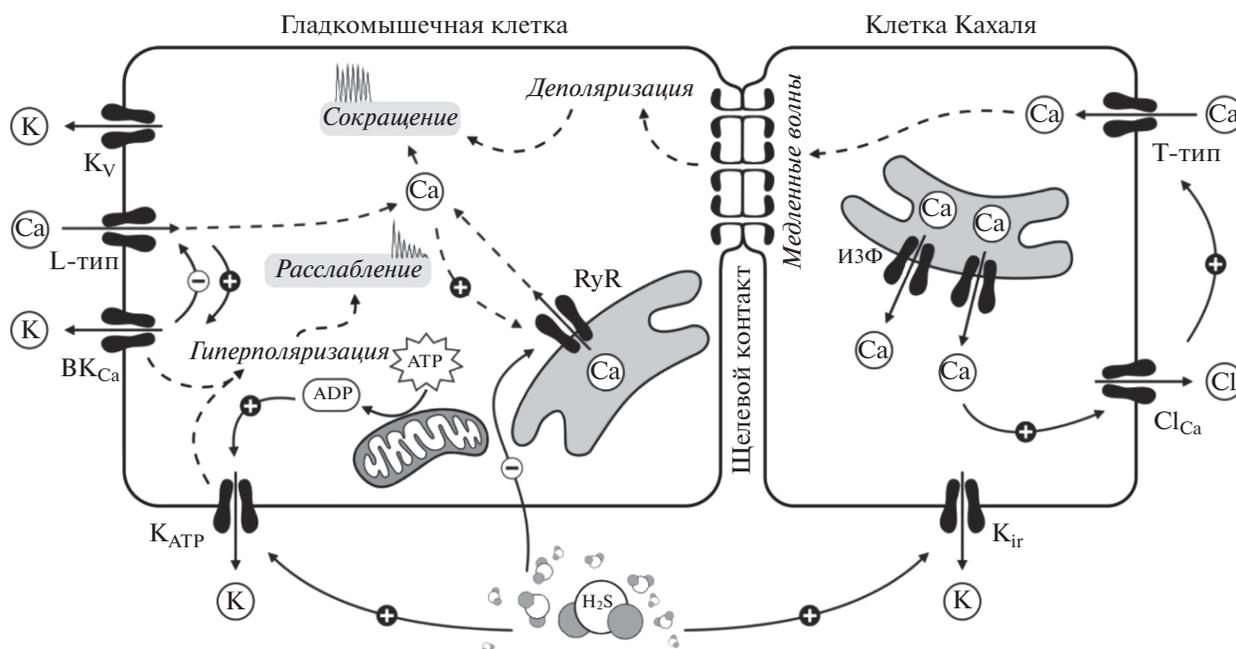


Рис. 4. Мишени действия H_2S в гладкомышечных клетках тощей кишки крысы. На основе полученных нами данных, можно предположить, что мишенями H_2S являются K_{ATP} -каналы, риадиноновые рецепторы, K_{ir} -каналы. Снижение базального тонуса гладкомышечных клеток при действии H_2S связано с активацией K_{ATP} -каналов, преимущественно экспрессирующихся в гладкомышечных клетках, и угнетением риадиноновых рецепторов [71]. Активация K_{ir} -каналов в ИКК вызывает гиперполяризацию, снижая амплитуду и частоту генерации медленных пейсмекерных волн, что отражается на параметрах спонтанной сократительной активности. BK_{Ca} – Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы большой проводимости; K_V – потенциал-зависимые K^+ -каналы; K_{ATP} – АТФ-зависимые K^+ -каналы; K_{ir} – K^+ -каналы входящего выпрямления; Cl_{Ca} – Ca^{2+} -активируемые Cl^- -каналы; RyR – риадиноновые рецепторы; $ИЗФ$ – рецепторы инозитолтрифосфата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, донор H_2S дозозависимо снижает тонус препарата тощей кишки крысы, угнетает амплитуду и частоту спонтанных сокращений. Мишени действия $NaHS$ включают ряд механизмов, которые обобщены на схеме (рис. 4) с учетом полученных нами результатов ранее и в данном исследовании.

Изменение уровня Ca^{2+} в гладкомышечных клетках играет ключевую роль в регуляции базального тонуса препарата и спонтанной сократительной активности. Действительно, ранее нами было показано, что в бескальциевом растворе снижаются параметры спонтанной сократительной активности, однако эффект $NaHS$ на тонус препарата сохранялся. Кроме того, ингибирование риадиноновых рецепторов дантроленом предотвращало снижение базального тонуса при действии $NaHS$ [71]. K_{ATP} -каналы являются мишенью действия H_2S в гладкомышечных клетках, и их активация приводит к гиперполяризации и снижению базального тонуса. И наконец, Va^{2+} -чувствительные K_{ir} -каналы, преимущественно экспрессирующиеся в ИКК, опосредуют эффекты $NaHS$ как на тонус, так и на амплитуду и частоту спон-

танных сокращений, поскольку их активация непосредственно будет влиять на генерацию медленных волн депольаризации пейсмекерными клетками. Кроме того, не исключено и непосредственное ингибирующее влияние H_2S на Ca^{2+} -каналы L-типа [13]. Снижение уровня Ca^{2+} будет приводить к изменению активности киназы/фосфатазы легких цепей миозина и, как следствие, к снижению эффективности работы сократительных белков [72].

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Соответствие принципам этики. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ситдикова Г.Ф., Зефилов А.Л. 2006. Газообразные посредники в нервной системе. *Рос. физиол. журн.* **92** (7), 872–882.

2. Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. 2010. Сероводород: от канализаций Парижа к сигнальной молекуле. *Природа*. **9**, 29–37.
3. Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Зефирова А.Л. 2014. Газомедиаторы: от токсических эффектов к регуляции клеточных функций и использованию в клинике. *Бюл. сибир. медицины*. **13** (6), 185–200.
4. Linden D.R. 2014. Hydrogen sulfide signaling in the gastrointestinal tract. *Antioxid. Redox Signal*. **20** (5), 818–830.
5. Hermann A., Sitdikova G.F., Weiger T.M. 2012. *Gasotransmitters: Physiology and Pathophysiology*. Heidelberg: Springer. 204 p.
6. Farrugia G., Szurszewski J.H. 2014. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*. **147** (2), 303–313.
7. Gerasimova E., Lebedeva J., Yakovlev A., Zefirov A., Giniatullin R., Sitdikova G. 2015. Mechanisms of hydrogen sulfide (H₂S) action on synaptic transmission at the mouse neuromuscular junction. *Neuroscience*. **303**, 577–585.
8. Cirino G., Szabo C., Papapetropoulos A. 2023. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol. Rev*. **103** (1), 31–276.
9. Singh P., Lembo A. 2021. Emerging role of the gut microbiome in irritable bowel syndrome. *Gastroent. Clin. North Am.* **50** (3), 523–545.
10. Belizário J.E., Faintuch J., Garay-Malpartida M. 2018. Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: New frontiers for treatment of metabolic diseases. *Mediators Inflamm*. **2018**, 2037838.
11. Jimenez M., Gil V., Martinez-Cutillas M., Mañé N., Gallego D. 2017. Hydrogen sulphide as a signalling molecule regulating physiopathological processes in gastrointestinal motility. *Br. J. Pharmacol.* **174** (17), 2805–2817.
12. Martin G.R., Mcknight G.W., Dickey M.S., Coffin C.S., Ferraz J.G.P., Wallace J.L. 2010. Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract. *Dig. Liver. Dis.* **42** (2), 103–109.
13. Quan X., Luo H., Liu Y., Xia H., Chen W., Tang Q. 2015. Hydrogen sulfide regulates the colonic motility by inhibiting both L-type calcium channels and BK_{Ca} channels in smooth muscle cells of rat colon. *PLoS One*. **10** (3), e0121331.
14. Hosoki R., Matsuki N., Kimura H. 1997. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **237** (3), 527–531.
15. Gallego D., Clave P., Donovan J., Rahmati R., Grundy D., Jiménez M., Beyak M.J. 2008. The gaseous mediator, hydrogen sulphide, inhibits in vitro motor patterns in the human, rat and mouse colon and jejunum. *Neurogastroenterol. Motil.* **20** (12), 1306–1316.
16. Teague B., Asiedu S., Moore P.K. 2002. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: Evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br. J. Pharmacol.* **137** (2), 139–145.
17. Nagao M., Duenes J.A., Sarr M.G. 2012. Role of hydrogen sulfide as a gasotransmitter in modulating contractile activity of circular muscle of rat jejunum. *J. Gastrointest. Surg.* **16** (2), 334–343.
18. Gil V., Gallego D., Jiménez M. 2011. Effects of inhibitors of hydrogen sulphide synthesis on rat colonic motility. *Br. J. Pharmacol.* **164** (2 B), 485–498.
19. Liu D.H., Huang X., Meng X.M., Zhang C.M., Lu H.L., Kim Y.C., Xu W.X. 2014. Exogenous H₂S enhances mice gastric smooth muscle tension through S-sulfhydration of K_v4.3, mediating the inhibition of the voltage-dependent potassium current. *Neurogastroenter. Motil.* **26** (12), 1705–1716.
20. Zhao P., Huang X., Wang Z. 2009. Dual effect of exogenous hydrogen sulfide on the spontaneous contraction of gastric smooth muscle in guinea-pig. *Eur. J. Pharmacol.* **616** (1–3), 223–228.
21. Shafiqullin M.Y., Zefirov R.A., Sabirullina G.I., Zefirov A.L., Sitdikova G.F. 2014. Effects of a hydrogen sulfide donor on spontaneous contractile activity of rat stomach and jejunum. *Bull. Exp. Biol. Med.* **157** (3), 302–306.
22. Dunn W.R., Alexander S.P.H., Ralevic V., Roberts R.E. 2016. Effects of hydrogen sulphide in smooth muscle. *Pharmacol. Ther.* **158**, 101–113.
23. Kasperek M.S., Linden D.R., Farrugia G., Sarr M.G. 2012. Hydrogen sulfide modulates contractile function in rat jejunum. *J. Surg. Res.* **175** (2), 234–242.
24. Dhaese I., Van Colen I., Lefebvre R.A. 2010. Mechanisms of action of hydrogen sulfide in relaxation of mouse distal colonic smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* **628** (1–3), 179–186.
25. Shaidullov I.F., Shafiqullin M.U., Gabitova D.M. 2018. Role of potassium channels in the effects of hydrogen sulfide on contractility of gastric smooth muscle cells in rats. *J. Evol. Biochem. Phys.* **54**, 400–407.
26. Gabitova D.M., Shaidullov I.F., Sabirullina G.I., Shafiqullin M.U., Sitdikov F.G., Sitdikova G.F. 2017. Role of cyclic nucleotides in the effect of hydrogen sulfide on contractions of rat jejunum. *Bull. Exp. Biol. Med.* **163**, 14–17.
27. Han Y.F., Huang X., Guo X., Wu Y.S., Liu D.H., Lu H.L., Kim Y.C., Xu W.X. 2011. Evidence that endogenous hydrogen sulfide exerts an excitatory effect on gastric motility in mice. *Eur. J. Pharmacol.* **673** (1–3), 85–95.
28. Huang X., Meng X.M., Liu D.H., Wu Y.S., Guo X., Lu H.L., Zhuang X.Y., Kim Y.C., Xu W.X. 2013. Different regulatory effects of hydrogen sulfide and nitric oxide on gastric motility in mice. *Eur. J. Pharmacol.* **720** (1–3), 276–285.
29. Lu W., Li J., Gong L., Xu X., Han T., Ye Y., Che T., Luo Y., Li J., Zhan R., Yao W., Liu K., Cui S., Liu C. 2014. H₂S modulates duodenal motility in male rats via activating TRPV1 and K_{ATP} channels. *Br. J. Pharmacol.* **171** (6), 1534–1550.
30. Sanders K.M., Ward S.M., Koh S.D. 2014. Interstitial cells: Regulators of smooth muscle function. *Physiol. Rev.* **94** (3), 859–907.
31. Sanders K.M., Ward S.M. 2019. Nitric oxide and its role as a non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory neurotransmitter in the gastrointestinal tract. *Br. J. Pharmacol.* **176** (2), 212–227.

32. Farrugia G. 1999. Ionic conductances in gastrointestinal smooth muscles and interstitial cells of Cajal. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 45–84.
33. Thornbury K.D., Ward S.M., Sanders K.M. 1992. Participation of fast-activating, voltage-dependent K currents in electrical slow waves of colonic circular muscle. *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* **263** (1), 226–236.
34. Currò D. 2016. The modulation of potassium channels in the smooth muscle as a therapeutic strategy for disorders of the gastrointestinal tract. *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* **104**, 263–305.
35. Martelli A., Testai L., Breschi M.C., Lawson K., McKay N.G., Miceli F., Tagliatalata M., Calderone V. 2013. Vasorelaxation by hydrogen sulphide involves activation of K_{V7} potassium channels. *Pharmacol. Res.* **70** (1), 27–34.
36. Sitdikova G.F., Weiger T.M., Hermann A. 2010. Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells. *Pflugers. Arch.* **459** (3), 389–397.
37. Sitdikova G.F., Fuchs R., Kainz V., Weiger T.M., Hermann A. 2014. Phosphorylation of BK channels modulates the sensitivity to hydrogen sulfide (H_2S). *Front. Physiol.* **5**, 431.
38. Jackson-Weaver O., Osmond J.M., Riddle M.A., Naik J.S., Gonzalez Bosc L.V., Walker B.R., Kanagy N.L. 2013. Hydrogen sulfide dilates rat mesenteric arteries by activating endothelial large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels and smooth muscle Ca^{2+} sparks. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **304** (11), H1446–Y1454.
39. Medina-Terol G.J., Huerta de la Cruz S., Beltran-Ornelas J.H., Sánchez-López A., Centurión D. 2022. Pharmacological evidence that potassium channels mediate hydrogen sulfide-induced inhibition of the vasopressor sympathetic outflow in pithed rats. *Eur. J. Pharmacol.* **931**, 175160.
40. Takir S., Ortaköylü G.Z., Toprak A., Uydeş-Doğan B.S. 2015. NaHS induces relaxation response in prostaglandin $F_{2\alpha}$ precontracted bovine retinal arteries partially via K_V and K_{ir} channels. *Exp. Eye Res.* **132**, 190–197.
41. Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R. 2001. The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener. *EMBO J.* **20** (21), 6008–6016.
42. Lowicka E., Beltowski J. 2007. Hydrogen sulfide (H_2S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Rep.* **59** (1), 4–24.
43. Furne J., Saeed A., Levitt M.D. 2008. Whole tissue hydrogen sulfide concentrations are orders of magnitude lower than presently accepted values. *Am. J. Physiol. – Regul. Integr. Comp. Physiol.* **295** (5).
44. Kasparek M.S., Fatima J., Iqbal C.W., Duenes J.A., Sarr M.G. 2007. Role of VIP and substance P in NANC innervation in the longitudinal smooth muscle of the rat jejunum – influence of extrinsic denervation. *J. Surg. Res.* **141** (1), 22–30.
45. Olson K.R. 2009. Is hydrogen sulfide a circulating “gasotransmitter” in vertebrate blood? *Biochim. Biophys. Acta. – Bioenerg.* **1787** (7), 856–863.
46. Han Y., Shang Q., Yao J., Ji Y. 2019. Hydrogen sulfide: A gaseous signaling molecule modulates tissue homeostasis: Implications in ophthalmic diseases. *Cell Death Dis.* **10** (4), 1–12.
47. Hall D.A., Langmead C.J. 2010. Matching models to data: A receptor pharmacologist’s guide. *Br. J. Pharmacol.* **161** (6), 1276–1290.
48. Horowitz B., Ward S.M., Sanders K.M. 1999. Cellular and molecular basis for electrical rhythmicity in gastrointestinal muscles. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 19–43.
49. Schram G., Melnyk P., Pourrier M., Wang Z., Nattel S. 2002. $K_{ir2.4}$ and $K_{ir2.1}$ K^+ channel subunits co-assemble: A potential new contributor to inward rectifier current heterogeneity. *J. Physiol.* **544** (2), 337–349.
50. Hibino H., Inanobe A., Furutani K., MuraKami S., Findlay I., Kurachi Y. 2010. Inwardly rectifying potassium channels: Their structure, function, and physiological roles. *Physiol. Rev.* **90** (1), 291–366.
51. Vogalis F. 2000. Potassium channels in gastrointestinal smooth muscle. *J. Auton. Pharmacol.* **20** (4), 207–219.
52. Currò D. 2014. K^+ channels as potential targets for the treatment of gastrointestinal motor disorders. *Eur. J. Pharmacol.* **733** (1), 97–101.
53. Hatton W.J., Mason H.S., Carl A., Doherty P., Latten M.J., Kenyon J.L., Sanders K.M., Horowitz B. 2001. Functional and molecular expression of a voltage-dependent K^+ channel ($K_V1.1$) in interstitial cells of Cajal. *J. Physiol.* **533** (2), 315–327.
54. Amberg G.C., Koh S.D., Imaizumi Y., Ohya S., Sanders K.M. 2003. A-type potassium currents in smooth muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **284** (3), C583–C595.
55. Beyder A., Farrugia G. 2012. Targeting ion channels for the treatment of gastrointestinal motility disorders. *Therap. Adv. Gastroenterol.* **5** (1), 5–21.
56. Grissmer S., Nguyen A.N., Aiyar J., Hanson D.C., Mather R.J., Gutman G.A., Karmilowicz M.J., Auperin D.D., Chandy K.G. 1994. Pharmacological characterization of five cloned voltage-gated K^+ -channels, types $K_V1.1$, 1.2, 1.3, 1.5, and 3.1, stably expressed in mammalian cell lines. *Mol. Pharmacol.* **45** (6), 1227–1234.
57. Schmalz F., Kinsella J., Koh S.D., Vogalis F., Schneider A., Flynn E.R., Kenyon J.L., Horowitz B. 1998. Molecular identification of a component of delayed rectifier current in gastrointestinal smooth muscles. *Am. J. Physiol.* **274** (5).
58. Zhu Y., Huizinga J.D. 2008. Nitric oxide decreases the excitability of interstitial cells of Cajal through activation of the BK channel. *J. Cell. Mol. Med.* **12** (5A), 1718–1727.
59. Hermann A., Sitdikova G.F., Weiger T.M. 2015. Oxidative stress and maxi calcium-activated potassium (BK) channels. *Biomolecules.* **5** (3), 1870.
60. Hong S.J., Roan Y.F., Chang C.C. 1997. Spontaneous activity of guinea pig ileum longitudinal muscle regulated by Ca^{2+} -activated K^+ channel. *Am. J. Physiol.* **272** (5 Pt 1).
61. Chen M.X., Gorman S.A., Benson B., Singh K., Hieble J.P., Michel M.C., Tate S.N., Trezise D.J. 2004. Small and intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels confer distinctive patterns of distribution in human tissues and differential cellular localisation in

- the colon and corpus cavernosum. *Naunyn Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* **369** (6), 602–615.
62. Neylon C.B., Nurgali K., Hunne B., Robbins H.L., Moore S., Chen M.X., Furness J.B. 2004. Intermediate-conductance calcium-activated potassium channels in enteric neurones of the mouse: Pharmacological, molecular and immunochemical evidence for their role in mediating the slow afterhyperpolarization. *J. Neurochem.* **90** (6), 1414–1422.
63. Koh S.D., Sanders K.M., Carl A. 1996. Regulation of smooth muscle delayed rectifier K^+ channels by protein kinase A. *Pflügers. Arch.* **432** (3), 401–412.
64. Quan X., Chen W., Qin B., Wang J., Luo H., Dai F. 2022. The excitatory effect of hydrogen sulfide on rat colonic muscle contraction and the underlying mechanism. *J. Pharmacol. Sci.* **149** (3), 100–107.
65. Huang X., Lee S.H., Lu H., Sanders K.M., Koh S.D. 2018. Molecular and functional characterization of inwardly rectifying K^+ currents in murine proximal colon. *J. Physiol.* **596** (3), 379–391.
66. Na J.S., Hong C., Kim M.W., Park C.G., Kang H.G., Wu M.J., Jiao H.Y., Choi S., Jun J.Y. 2017. ATP-sensitive K^+ channels maintain resting membrane potential in interstitial cells of Cajal from the mouse colon. *Eur. J. Pharmacol.* **809**, 98–104.
67. Jiang B., Tang G., Cao K., Wu L., Wang R. 2010. Molecular mechanism for H_2S -induced activation of K_{ATP} channels. *Antioxid. Redox Signal.* **12** (10), 1167–1178.
68. Flynn E.R.M., McManus C.A., Bradley K.K., Koh S.D., Hegarty T.M., Horowitz B., Sanders K.N. 1999. Inward rectifier potassium conductance regulates membrane potential of canine colonic smooth muscle. *J. Physiol.* **518** (1), 247–256.
69. Cheng Xiang G. 2017. Effects of NaOH, HCl and $BaCl_2$ on contraction of smooth muscle in small intestine of rabbit. *Genomics. Appl. Biol.* **36** (12), 4953–4957.
70. Lee J.Y., Ko E.J., Ahn K.D., Kim S., Rhee P.L. 2015. The role of K^+ conductances in regulating membrane excitability in human gastric corpus smooth muscle. *Am. J. Physiol. – Gastr. Liver. Physiol.* **308** (7), G625–G633.
71. Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Гиззатуллин А.Р., Ситдииков Ф.Г., Ситдикова Г.Ф. 2023. Роль оксида азота и ионов кальция в эффектах сероводорода на сократительную активность тощей кишки крысы. *Биофизика.* **58** (4).
72. Tang Q., Quan X., Yan L., Ren H., Chen W., Xia H., Luo H. 2018. Mechanism of sodium hydrosulfide modulation of L-type calcium channels in rat colonic smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.* **818**, 356–363.

Effect of Hydrogen Sulphide on Spontaneous Contractions of the Rat Jejunum. Role of K_V -, K_{Ca} -, and K_{ir} -Channels

D. M. Sorokina¹*, I. F. Shaidullov¹, D. Buchareb¹, F. G. Sitdikov¹, G. F. Sitdikova¹

¹Kazan Federal University, Kazan, Republic of Tatarstan, 420008 Russia

*e-mail: dinagabita@mail.ru

In this work, we analyzed the role of voltage-gated (K_V), calcium-activated (K_{Ca}), and inward-rectifier potassium channels (K_{ir}) in the effects of hydrogen sulphide (H_2S) donor sodium hydrosulphide (NaHS) on the spontaneous contractile activity of the rat jejunum. Experiments were performed on jejunum segments under isometric contraction conditions. It was shown that NaHS reduced the basal tension of the segments, the amplitude, and the frequency of spontaneous contractions in a dose-dependent manner (10–500 μM); the half-effective concentration (EC50) of the inhibitory effect of NaHS on amplitude was 165 μM . The K_V channel blocker 4-AP (200 μM) increased the amplitude of spontaneous contractions and subsequent application of NaHS (200 μM) suppressed the amplitude and frequency of spontaneous activity as well as in the control; the effect on tonic tension was less pronounced. TEA (3 mM), a non-specific blocker, and paxillin (1 μM), a specific blocker of large conductance K_{Ca} (BK) channels, increased the amplitude of spontaneous contractions, while the inhibitory effect of NaHS was completely preserved. The selective blocker of small conductance K_{Ca} (SK) channels NS8593 (4 μM) did not affect the tension and the parameters of spontaneous contractions and did not prevent the effects of NaHS. Diazoxide (100 μM), the opener of K_{ATP} channels, caused a decrease in the basal tone, the amplitude and frequency of spontaneous contractions. Diazoxide and K_{ATP} channel blocker glibenclamide (50 μM) prevented the effects of NaHS on the basal tone. The K_{ir} -channel blocker $BaCl_2$ (30 μM) increased the amplitude of spontaneous contractions and eliminated the inhibitory effects of NaHS on the frequency and amplitude of spontaneous contractions, and the basal tension decrease was less pronounced compared to control. Thus, a decrease in the tonic tension of a rat jejunum preparation under the action of an H_2S donor is associated with the activation of K_{ir} , including K_{ATP} channels, while the effects of H_2S on the amplitude and frequency of spontaneous contractions are mediated by an increase in Ba^{2+} -sensitive conductance.

Keywords: hydrogen sulphide, potassium channels, contractile activity, rat jejunum