

УДК 612.018:612.351.5

Л.О. Слободяник, П.І. Янчук

УЧАСТЬ СІРКОВОДНЮ У РЕГУЛЯЦІЇ ТКАНИННОГО КРОВОТОКУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ

В гострих дослідах на щурах реєстрували системний артеріальний тиск, тиск у ворітній вені та тканинний кровотік в печінці. Показано, що L- цистеїн розширює кровоносні судини печінки, внаслідок чого тиск крові в них знижується, а кровотік в органі збільшується. Блокада синтезу сірководню за допомогою DL-пропаргілгліцину не тільки повністю усуває ефекти L-цистеїну, але й зумовлює пригнічення синтезу H₂S з ендогенних його попередників, що призводить до звуження внутрішньопечінкових судин і, як наслідок, до підвищення тиску крові в них та зменшення кровотоку в органі.

Ключові слова: печінка, L- цистеїн, DL – пропаргілгліцин, локальний кровотік

Постановка проблеми. Аналіз останніх досліджень і публікацій. Сірководень (H₂S) є біологічним медіатором, який залучений до фізіологічних і патологічних процесів в організмі [4]. Цей газовий посередник здатний синтезуватися ендогенно і може виявляти свої ефекти на серцево-судинну та нервову системи, а також впливати на роботу шлунково-кишкового тракту [3,10]. Субстратом для його ферментативного синтезу є сірковмісна амінокислота L-цистеїн, яка здатна надходити до організму разом з продуктами харчування, утворюватися під час розпаду білків або синтезуватися з L-метіоніну шляхом транссульфування [6]. Синтез H₂S здійснюється за участю ферментів цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ), цистатіонін-β-синтази (ЦВС) та 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (3-МПТ) [12], котрі локалізовані в різних клітинах організму. Так, ЦВС сприяє утворенню H₂S, в основному, в нервових клітинах, ЦГЛ зосереджена в гладеньких м'язах кровоносних судин, а в ендотеліальних клітинах, що вистеляють внутрішній просвіт судин – 3-МПТ [13].

На сьогодні відомо, що основний ефект, який виявляє H₂S на тонус судин серця, мозку та легень, є дилататорний [16,17,18]. Однак, дослідження останніх років показали, що в певних концентраціях сірководень може виступати в ролі судиннозвужувального фактора [1,8]. Разом з тим, питання щодо впливу H₂S на кровоносне русло печінки і досі є маловивченим.

Мета роботи. Дослідити зміни тканинного кровотоку в печінці щурів при введенні попередника синтезу сірководню L-цистеїну до та на фоні дії блокатора синтезу H₂S DL-пропаргілгліцину.

Методика

Робота виконана в гострих дослідах на 22 білих лабораторних щурах обох статей масою 200–300 г. Тварин наркотизували шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину уретану (1 г/кг).

Під час експерименту у тварин реєстрували тиск крові в сонній артерії (АТ) та у ворітній вені (Твв). Для цього здійснювали катетеризацію судин. Вільні кінці катетерів під'єднували до датчиків електроманометра ЕМТ–31. Локальний кровотік (ЛК) в печінці визначали методом кліренсу водню з електрохімічною його генерацією – полярографом LP-9 [2]. Всі показники записували на реєстраторі Н071.6М.

Впродовж дослідів у щурів за допомогою електротермометра ТПЕМ–1 вимірювали внутрішньоректально температуру тіла і підтримували її на рівні 38 ± 0,5 С⁰ за допомогою електрообігрівача.

У дослідженнях використовували амінокислоту L-цистеїн (30 мг/кг) та блокатор синтезу H_2S – DL-пропаргілгліцин (11 мг/кг), які вводили у ворітну вену безпосередньо або через гілку однієї брижових вен.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням пакету програм STATISTICA 8.0. Для оцінки нормальності розподілу застосовували тест Шапіро-Вілка. Результати, отримані у дослідженнях, представляли у вигляді $M \pm SD$ (середнє значення \pm середньоквадратичне відхилення). Відмінності між групами вважали вірогідними при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Внутрішньопортальне введення L-цистеїну у дозі 30 мг/кг призводить до зниження системного артеріального тиску на 15,8% ($p < 0,01$), тиску у ворітній вені на 23,8% ($p < 0,001$) та збільшення локального кровотоку в печінці на 24% ($p < 0,001$) порівняно з вихідними рівнями цих показників, що свідчить про судинорозширювальний ефект цієї амінокислоти в печінці (рис. 1).

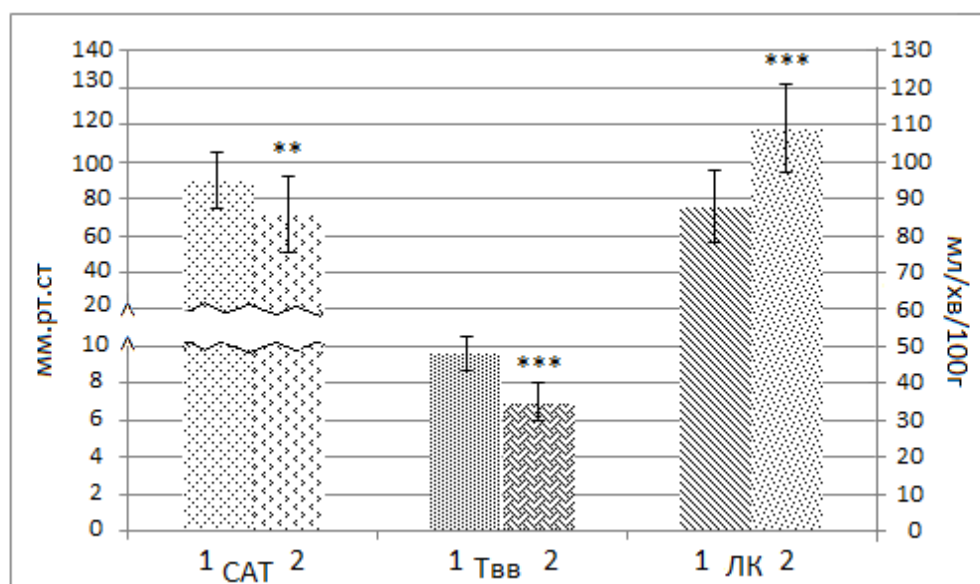


Рис. 1. Зміни системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв) та локального кровотоку (ЛК) у печінці щурів при внутрішньопортальному введенні L-цистеїну (30 мг/кг); $M \pm SD$, $n=10$

Примітки: 1 – вихідний рівень показника; 2 – максимум реакції; ліворуч – шкала (у мм.рт.ст.) для тиску крові в артеріальних і ворітних судинах; праворуч – шкала (у мл/хв/100г) для тканинного кровотоку в печінці; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

Така реакція кровоносних судин печінки на екзогенне введення L-цистеїну, імовірно всею, обумовлена додатковою активацією ферментів цистатіон- γ -ліази і цистатіонін- β -синтази, які здатні посилювати синтез H_2S [6,19]. Сірководень, здійснюючи прямий вплив на гладеньком'язові клітини (ГМК) спричиняє відкриття калієвих каналів, які чутливі до концентрації аденозинтрифосфату (АТФ) [14]. Зв'язуючись з сірковмісними групами білків цих каналів, H_2S змінює їх просторову конфігурацію і сприяє їх відкриття [7,11], що і призводить до посиленого виходу іонів калію з клітин в міжклітинний простір. Під час активації АТФ-чутливих калієвих каналів спостерігається інактивація потенціал-чутливих кальцієвих каналів L-типу, котрі й забезпечують надходження іонів кальцію (Ca^{2+}) всередину клітини. За умов високої внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} розвивається скорочення ГМК.

Закриття цих каналів спричиняє зменшення концентрації вільного внутрішньоклітинного Ca^{2+} [13] і розслаблення гладеньком'язових клітин кровоносних судин, що призводить до розширення судин печінки, внаслідок чого тканинний кровотік в залозі збільшується, а тиск крові у портальних та артеріальних судинах органа знижується.

Відомо, що утворення H_2S в ендотелії судин та зірчастих клітинах печінки відбувається внаслідок деградації L-цистеїну в печінці за участю цистатіонін- γ -ліази (цистеїн + H_2O → піруват + H_2S + NH_3) [9,11,20]. Тому не можна виключити, що судиннорозширювальна дія L-цистеїну практично повністю реалізується за рахунок продукції сульфїду водню з цієї амінокислоти. Для перевірки даної гіпотези ми дослідили вплив інгібітора цистатіонін- γ -ліази DL-пропаргілгліцину на цистеїніндуковану вазодилатацію. Так, у відповідь на болюсне внутрішньопортальне введення DL-пропаргілгліцину спостерігалось підвищення САТ на 17,7% ($p < 0,001$) і Твв на 33,3% ($p < 0,01$), а також зниження ЛК в печінці щурів на 15,3% ($p < 0,001$) відносно вихідного рівня. Ці результати свідчать про те, що DL-пропаргілгліцин зумовлює пригнічення ендогенного синтезу сірководню, внаслідок чого, внутрішньопечінкові судини звужуються, що і призводить до підвищення в них тиску та зменшення кровотоку в печінці щурів (табл. 1).

Таблиця 1

Зміни системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв) та локального кровотоку (ЛК) в печінці щурів при внутрішньопортальному введенні DL-пропаргілгліцину в дозі 11 мг/кг ($n=12$)

Показники	Вихідний рівень	Максимум реакції	% реакції від вихідного рівня
САТ мм.рт.ст.	$90,9 \pm 7,3$	$107 \pm 9,4$ $p < 0,001$	117,7
Твв мм.рт.ст.	$7,2 \pm 1,7$	$9,6 \pm 1,4$ $p < 0,001$	133,3
ЛК мл/хв/100г	$102,7 \pm 7,7$	$87,0 \pm 11,9$ $p < 0,01$	84,7

Як свідчать наші подальші дослідження, L-цистеїн на фоні дії блокатора призводив до підвищення САТ на 20,4% ($p < 0,05$), Твв – на 26,6% ($p < 0,01$) та зменшення ЛК в печінці на 11,7% ($p < 0,01$) порівняно з вихідним рівнем цих показників (рис.2).

Усунення реакцій досліджуваних показників печінкового кровообігу на L-цистеїн за умов блокади ЦГЛ DL-пропаргілгліцином вказує на те, що ініціюються ці вазодилаторні ефекти сірководнем, який синтезується ендотеліоцитами кровоносних судин.

Висновки

1. Результати наших досліджень свідчать про те, що сірководень відіграє важливу роль у регуляції кровообігу в печінці, свідченням тому є розширення кровоносних судин залози, зумовлене внутрішньопортальним введенням попередника синтезу сірководню L-цистеїну.

2. Блокада цистатіонін- γ -ліази за допомогою DL-пропаргілгліцину не тільки повністю усуває ефекти L-цистеїну, але й зумовлює пригнічення синтезу H_2S з ендогенних його попередників, що призводить до звуження внутрішньопечінкових судин і, як наслідок, до підвищення тиску крові в них та зменшення кровотоку в органі.

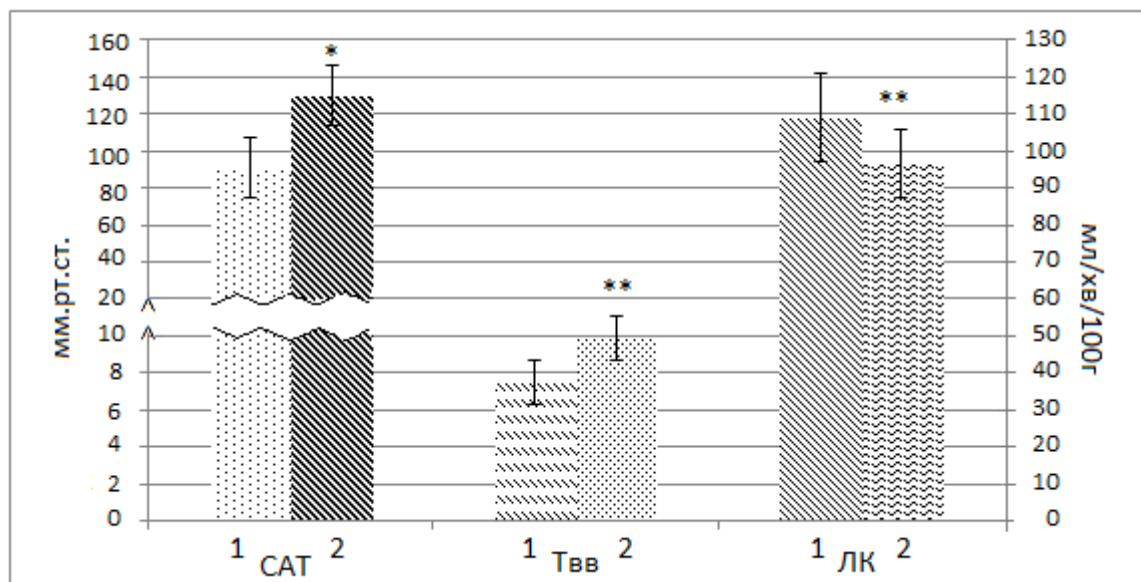


Рис. 2. Зміни системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв) та локального кровотоку (ЛК) у печінці щурів при внутрішньопортальному введенні L-цистеїну (30 мг/кг) до та за умов введення DL-пропаргілгліцину (11 мг/кг); $M \pm SD$, $n=10$

Примітки: 1 – вихідний рівень показника; 2 – максимум реакції; ліворуч – шкала (у мм.рт.ст.) для тиску крові в артеріальних і ворітних судинах; праворуч – шкала (у мл/хв/100г) для тканинного кровотоку в печінці; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

Література

- Смаглий Л.В. Роль $Na^+, K^+, 2Cl^-$ -котранспорта в механізмах вазоконстрикторного действия сероводорода / Смаглий Л.В. // Современные проблемы науки и образования – 2013. – N2. – С. 543-549
- Янчук П.І. Модификационный электрод для регистрации локального кровотока в слизистой оболочке желудка методом водородного клиренса / Янчук П.І., Палатный Т.П., Русинчук Я.И. // Рос.Физиол.Журн. – 2005. – Т.91, N 9. – С.1108-1110
- Chen A.F., Chen D.D., Daiber A., at all. Free radical biology of the cardiovascular system / Chen A.F., Chen D.D., Daiber A., at all. // Clin. Sci. (Lond) – 2012. – V 123. –P.73-91
- Hernandez Guerra M. Ascorbic acid improves the intrahepatic endothelial dysfunction of patients with cirrhosis and portal hypertension / Hernandez Guerra M., Garcia Pagan J.C., Turnes J. // Hepatology. – 2006 – V 43 – P. 485 – 491
- Jain S.K. Low levels of hydrogen sulfide in the blood of diabetes patients and streptozotocin-treated rats causes vascular inflammation? / Jain S.K., Bull R., Rains J.L., Bass P.F. // Antioxid. Redox Signal. – 2010. – V 12. – P.1333-1337
- Kimura H. Hydrogen sulfide: its production and functions / Kimura H // Exp. Physiol. – 2011. – V 96. – P.833-835.
- King S.B. Potential biological chemistry of hydroge sulfide (H_2S) with the nitrogen oxides / King S.B. // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – V 55. – P.1-7
- Lim J. J. Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells / Lim J. J., Liu Y.H., Win E. S., Khin J. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2008. – V 295. – P. 1261-1270
- Lowicka E. Hydrogen sulfide (H_2S) – the third gas of interest for pharmacologists / Lowicka E. // Pharmacological Reports.- 2007.- V 59. – P.4-24

10. Magableh M.R. Mechanism of vasorelaxation and role of endogenous hydrogen sulfide production in mouse aorta / Magableh M.R., Hart J.L. // *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2011. – V 383. – P.403-413
11. Morel A. Antioxidative properties of hydrogen sulfide may involve in its antiadhesive action on blood platelets / Morel A., Malinowska J., Olas B. // *Clin. Biochem.* – 2012. – V 45. – P.1678-1682
12. Olson K.R. Is hydrogen sulfide a circulating “gasotransmitter” in vertebrate blood? / Olson K.R. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – V 1787. – P.856-863
13. Renga B. Hydrogen sulfide generation in mammals: the molecular biology of cystathionine-beta- synthase (CBS) and cystathionine-gamma-lyase (CSE) / Renga B. // *Inflamm. Allergy Drug Targets* – 2011. – V 10. – P.85-91
14. Rossoni G. The hydrogen sulphide-releasing derivative of diclofenac protects against ischaemia-reperfusion injury in the isolated rabbit heart / Rossoni G., Sparatore A., Tazzari V. // *Br. J. Pharmacol.* – 2008.– V 153. – P.100-109
15. Streeter E. An investigation of the mechanisms of hydrogen sulfide-induced vasorelaxation in rat middle cerebral arteries / Streeter E., Hart J., Badoer E. // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2012. – V 385. – P.991-1002
16. Sun Yan Hydrogen sulfide and vascular relaxation / Sun Yan, Tang Chao-shu, Du Jun-bao and JIN Hong-fang // *Chin. Med. J.* – 2011 – V 124(22). – P.3816-3819
17. W. Zhao The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener / W. Zhao, J. Zhang, Y. Lu // *EMBO J.* – 2001 – Vol.20(21). – P. 6008-6016.
18. Xiao Yu Tiana NaHS relaxes rat cerebral artery in vitro via inhibition of l-type voltage-sensitive Ca²⁺-channel / Xiao Yu Tiana, WingTak Wonga, Nazish Sayed // *Pharmacological Research* – 2012 – V 65. – P.239-246
19. Yang G. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase / Yang G., Wu L., Jiang B., Yang W, Qi J., Cao K., Meng Q., Mustafa A.K., Mu W., Zhang S // *Science* – 2008. – V 322. – P.587-590
20. Yang G. Increased neointimal formation in cystathionine gamma-lyase deficient mice: role of hydrogen sulfide in alpha5beta1-integrin and matrix metalloproteinase-2 expression in smooth muscle cells / Yang G., Li H., Tang G., Wu L., Zhao K., Cao Q., Xu C., Wang R. // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2012. – V 52. – P.677-688.

Аннотация. Слободяник Л.А., Янчук П.И. *Участие сероводорода в регуляции тканевого кровотока в печени крыс. В острых опытах на крысах регистрировали системное артериальное давление, давление в воротной вене и тканевой кровотоков в печени. Показано, что L- цистеин расширяет кровеносные сосуды печени, в результате чего давление крови в них снижается, а кровотоков в органе увеличивается. Блокада синтеза сероводорода с помощью DL-пропаргилглицина не только полностью устраняет эффекты L-цистеина, но и обуславливает угнетение синтеза H₂S из эндогенных его предшественников, что приводит к сужению внутрипеченочных сосудов и, как следствие, к повышению давления крови в них и уменьшению кровотока в органе.*

Ключевые слова: печень, L- цистеин, DL – пропаргилглицин, локальный кровотоков.

Summary. Slobodianyuk L.O., Yanchuk P.I. *Regulation of tissue blood flow by the action of hydrogen sulfide in liver rats. The tissue blood flow in the liver, systemic blood pressure, pressure in the portal vein was investigated in acute experiments on rats. It was shown that the injection of L-cysteine increases tissue blood flow and decreases pressure in the vessels of liver. After injection blocker DL-proparhillhlitsyn in the portal vein synthesis of endogenous hydrogen sulfide reduced. The effects of L-cysteine causing constriction of intrahepatic vessels. Blood pressure in the portal vein and carotid artery increasing, tissue blood flow reduced in the liver rats.*

Key words: liver, L- cysteine, DL - propargilglitsin, local blood flow

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Одержано редакцією	04.11.2014
Прийнято до публікації	07.12.2014