

УДК 612.73/74.014.3:611.617:576.33.084.1

РОЛЬ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА В РЕГУЛЯЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И СОКРАТИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК МОЧЕТОЧНИКА МОРСКОЙ СВИНКИ

Ковалёв И.В.¹, Баскаков М.Б.¹, Гусакова С.В.¹, Идамжапова Т.А.¹, Бирулина Ю.Г.¹, Рожкова О.С.¹, Марченко А.С.¹, Смаглий Л.В.¹, Медведев М.А.¹, Орлов С.Н.²

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

² Научно-исследовательский центр Университета г. Монреаль, Канада

РЕЗЮМЕ

Монооксид углерода CO наряду с оксидом азота и сероводородом принадлежит к семейству газотрансмиттеров и вовлечен в регуляцию многих физиологических процессов организма, в частности в механизмы сопряжения возбуждения-сокращения гладких мышц.

Методом двойного сахарозного моста изучалось влияние донора монооксида углерода CORM II (tricarbonyldichlororuthenium(II)-dimer) на электрические и сократительные свойства изолированных препаратов гладких мышц мочеточника морской свинки. Данный метод исследования позволяет одновременно регистрировать потенциал действия (ПД) и сокращение гладкомышечных клеток (ГМК), вызванные электрическим стимулом.

Было показано, что CORM II вызывает дозозависимое (1, 10, 100 мкмоль) снижение величины сократительного ответа ГМК мочеточника, а также уменьшает амплитуду и длительность плато ПД. На фоне действия биологически активных веществ, агонистов α_1 -адрено- и H_1 -гистаминергических рецепторов (10 мкмоль фенилфрина или гистамина соответственно), эти эффекты донора CO усиливались. Угнетающее действие CORM II на параметры сократительной и электрической активности гладких мышц мочеточника морской свинки ослаблялось при блокировании калиевых каналов плазмалеммы тетраэтиламмонием (ТЭА) или ингибировании растворимой гуанилатциклазы (ODQ [1H-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one]).

Таким образом, можно утверждать, что оказываемое монооксидом углерода угнетающее влияние на электрическую и сократительную активность ГМК мочеточника морской свинки связано с изменением ионной проводимости их мембран, прежде всего повышением калиевой проводимости и (или) активацией растворимой гуанилатциклазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гладкие мышцы, газотрансмиттеры, калиевая проводимость мембраны, гуанилатциклаза.

Введение

В последние десятилетия активно изучается роль газовых трансммиттеров в механизмах внутри- и межклеточной коммуникации [1–4]. Несмотря на то что их функция феноменологически сходна с таковой для классических посредников (циклические нуклеотиды и ионы кальция Ca^{2+}), газотрансмиттеры имеют отличительные признаки. Они легко растворимы в липидах, и поэтому процессу их оперирования внутри кле-

ток не препятствуют цитоплазматические мембраны. Кроме того, их хранение в везикулах или органеллах цитозоля для более позднего освобождения, подобно Ca^{2+} , также становится невозможным [1, 4, 5].

Семейство газовых аутокринных (паракринных) посредников пополняется, и сейчас наряду с монооксидом азота и сероводородом в него включают и монооксид углерода CO [2–4, 6]. Широко известный ранее как токсический газ, CO, как оказалось, продуцируется в организме млекопитающих в наномолярных концентрациях при участии целого семейства ферментов гемоксигеназ и играет важную роль в регуляции и

✉ Ковалев Игорь Викторович, тел. 8 (3822) 42-09-54; e-mail: kovalew@mail.ru

реализации метаболических процессов в норме и при патологических состояниях [7, 8].

Описаны цитопротекторные, противовоспалительные и антиапоптотические функции этого газотрансммиттера, реализуемые через MAP-киназный сигнальный путь [5]. Показано, что СО участвует в подавлении эндотоксического шока, отторжения тканей при трансплантации органов, защищает от септического шока, предотвращает повреждение тканей легких [8]. Некоторыми исследователями СО наряду с монооксидом азота рассматривается как биомаркер окислительного стресса при бронхиальной астме и сахарном диабете [9]. Увеличение содержания СО в организме наблюдается при различных типах анемий, гипоксии и явлениях ацидоза, когда ускоряется процесс катаболизма геминных структур под действием гемоксигеназ [2, 8].

Не менее интересным представляется влияние СО на сократительную активность гладкомышечных клеток (ГМК) [10–14]. Предполагается, что расслабление ГМК может быть опосредовано вмешательством СО в механизмы оперирования основных вторичных посредников, в частности циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) [15], реализация внутриклеточных эффектов которого осуществляется с помощью цГМФ-зависимых протеинкиназ (ПК-G) и (или) вовлечение Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов [16, 17]. Однако данный путь характерен не для всех гладких мышц, например в ГМК мочеточника цГМФ вызывает сократительный эффект, угнетая С-киназную ветвь кальцийзависимой сигнальной системы и контролируемые ею эффекторные структуры [18].

К настоящему времени уже накоплено большое количество экспериментальных данных о действии СО на сократительную активность ГМК, но гораздо менее изучено его влияние на электрические свойства их мембран. Практически отсутствуют сведения о действии СО на сопряжение возбуждения-сокращения в ГМК. Имеются данные о способности СО активировать калиевую проводимость мембраны ГМК [6, 17, 19], но до конца вклад ее в происходящие при этом изменения электрогенеза не ясен.

Цель исследования – изучить основные закономерности и особенности реализации механизмов воздействия СО на электрические и сократительные свойства гладких мышц.

Материал и методы

Объектом исследования служили изолированные препараты гладких мышц мочеточника морской свинки длиной 10–12 мм. Каждое измерение электрических и сократительных свойств ГМК проводилось на одном сегменте трехкратно в течение 10–15 с.

Для одновременной регистрации вызванных электрическим стимулом потенциалов действия (ПД) и сокращений ГМК использовалась методика двойного сахарозного моста. Регистрацию ПД проводили с помощью неполяризующих электродов, сократительной активности – с использованием механоэлектрического преобразователя FT10G. Изометрический датчик силы FT10G присоединялся к 14-битному АЦП L791 («Л-КАРД», Россия), и затем полученный сигнал обрабатывался на компьютере с использованием соответствующего программного обеспечения (L-Graph-II, «Л-КАРД», Россия).

В качестве контрольных (100%) служили значения параметров потенциала действия (амплитуды пиковых компонент и длительность плато) и амплитуды сокращений ГМК при действии деполяризующего стимула сверхпороговой силы.

Раствор сахарозы в концентрации 0,3 моль готовился на основе деионизированной воды с удельным сопротивлением 15 МОм · см. Физиологический раствор Кребса содержал (ммоль): 120,4 NaCl, 5,9 KCl, 2,5 CaCl₂, 1,2 MgCl₂, 5,5 глюкозы, 15 NH₂C(CH₂OH)₃ [tris(hydroxymethyl)-aminomethane] (pH 7,4; 316,4 мОм). В качестве донора монооксида углерода применялся tricarbonyldichlororuthenium(II)-dimer (CORM II). Тестируемые растворы приготавливались путем добавления в раствор Кребса соответствующих реактивов: тетраэтиламмония хлорид, фенилэфрин, гистамин, 1H-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) (все Sigma, США).

Статистическую обработку проводили при помощи программы SPSS Statistics 17.0 for Windows. Фактические данные представлены в виде медианы *Me* и интерквартильного размаха Q_1 – Q_3 . Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовался *U*-критерий Манна–Уитни. Достоверными считали различия при значении $p < 0,05$.

Результаты

Механическое напряжение (МН) и мембранный потенциал (МП) изолированных препаратов гладкомышечных клеток мочеточника морской свинки оценивали после выдерживания в течение 40–45 мин в физиологическом растворе Кребса при температуре 37 °С.

Добавление CORM II в концентрациях 1, 10 и 100 мкмоль в перфузионный раствор в течение 30 мин не изменяло исходные МН и МП гладкомышечных полосок мочеточника. Однако присутствие CORM II в растворе Кребса после нанесения деполяризующего стимула вызывало дозозависимое уменьшение величины амплитуды сокращения ГМК, амплитуды и дли-

тельности плато ПД по сравнению с контрольными ответами на стимул в физиологическом растворе (табл. 1). Для дальнейших исследований была выбрана концентрация донора CO, равная 10 мкмоль.

Известно, что реполяризация мембраны и угнетение сократительного ответа ГМК могут быть обусловлены усилением выходящих калиевых ионных токов. Для изучения влияния донора CO на проницаемость мембраны гладкомышечных клеток для ионов калия использовали неизбирательный блокатор калиевых каналов тетраэтиламмония хлорид (ТЭА).

Само добавление ТЭА концентрацией 5 ммоль в раствор Кребса вызывало увеличение МН, длительности плато и амплитуды ПД гладких мышц по сравнению с контрольными значениями в нормальном растворе Кребса. На фоне ТЭА CORM II в концентрации 10 мкмоль вызывал угнетение сократительного ответа ГМК на деполяризующий стимул, а также снижал амплитуду и длительность плато ПД (табл. 2, рис. 1,а).

Одним из возможных механизмов действия CO является активация растворимой гуанилатциклазы (ГЦ) с последующим увеличением содержания цГМФ. Для исследования роли цГМФ-опосредованного сигнального пути в реализации эффектов CO использовали селективный ингибитор гуанилатциклазы 1Н-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ).

Добавление ODQ в концентрации 1 мкмоль в раствор Кребса значимо не влияло на электрические и сократительные свойства гладких мышц мочеочника. После 10-минутной предобработки ODQ (1 мкмоль) добавление CORM II концентрацией 10 мкмоль приводило к значимому уменьшению величины параметров сократительной и электрической активности ГМК (табл. 3, рис. 1,б). После отмыва в физиологическом растворе Кребса гладкие мышцы сохраняли свою жизнеспособность и были способны вновь отвечать на воздействие электрических стимулов.

Таблица 1

Влияние CORM II (1, 10, 100 мкмоль) на параметры электрической и сократительной активности гладких мышц мочеочника морской свинки

Измеряемый параметр, %	Тестируемый раствор			
	Контроль, раствор Кребса	+ CORM II, 1 мкмоль	+ CORM II, 10 мкмоль	+ CORM II, 100 мкмоль
Амплитуда сокращения (n = 18)	100	98,6 (92,1–122,8)	86,5* (76,3–100,6)	81,5* (78,5–86,1)
Амплитуда потенциала действия (n = 18)	100	89,0* (80,2–115,0)	87,9* (82,7–93,1)	87,3* (81,4–93,2)
Длительность плато потенциала действия (n = 18)	100	96,7* (92,4–105,7)	91,7* (84,6–98,7)	90,7* (87,5–94,2)

* Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таблица 2

Влияние CORM II на электрическую и сократительную активность ГМК мочеочника на фоне действия блокатора калиевых каналов тетраэтиламмония

Измеряемый параметр, %	Тестируемый раствор		
	Раствор Кребса	+ ТЭА, 5 ммоль	+ CORM II, 10 мкмоль
Амплитуда сокращения (n = 18)	100	135,7 (125,6–143,8)	90,7* [#] (84,8–98,2)
Амплитуда потенциала действия (n = 18)	100	108,3 (101,8–118,6)	91,7* [#] (85,3–98,1)
Длительность плато потенциала действия (n = 18)	100	115,5 (98,1–122,9)	94,6* [#] (83,2–100,9)

* Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с ТЭА-содержащим раствором.

[#] Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольным раствором.

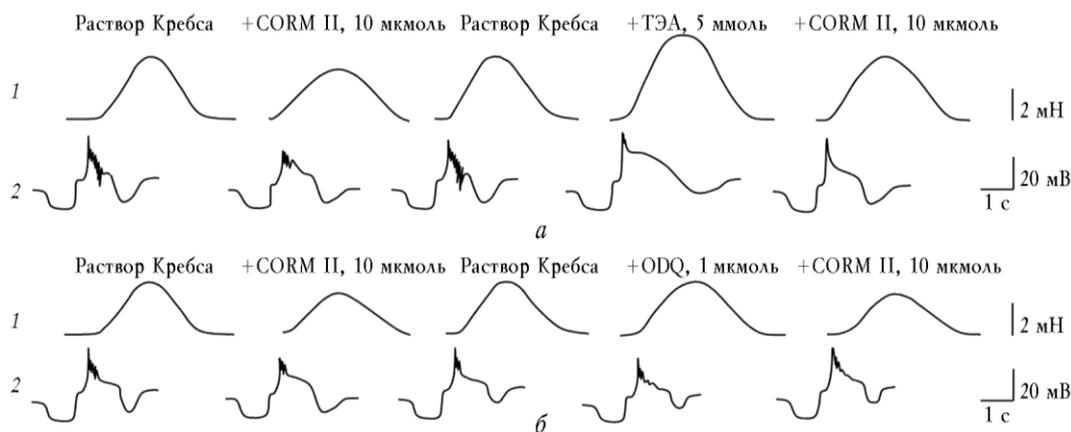


Рис. 1. Эффекты монооксида углерода на сократительную (1) и электрическую (2) активность гладкомышечных клеток мочеточника морской свинки на фоне действия: а – тетраэтиламмония; б – ODQ; справа – калибровочный сигнал и отметка времени

Таблица 3

Влияние CORM II на электрическую и сократительную активность ГМК мочеточника в присутствии ингибитора гуанилатциклазы ODQ

Измеряемый параметр, %	Тестируемый раствор		
	Раствор Кребса	+ODQ, 1 мкмоль	+CORM II, 10 мкмоль
Амплитуда сокращения ($n = 18$)	100	99,8 (92,6–110,8)	90,9* [#] (82,5–98,1)
Амплитуда потенциала действия ($n = 18$)	100	100,2 (90,1–109,5)	96,2* [#] (85,9–106,5)
Длительность плато потенциала действия ($n = 18$)	100	99,5 (90,6–108,4)	94,8* [#] (83,6–104,7)

* Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с ODQ-содержащим раствором.# Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольным раствором.

Таблица 4

Влияние CORM II на параметры электрической и сократительной активности гладких мышц мочеточника морской свинки на фоне действия фенилэфрина

Измеряемый параметр, %	Тестируемое соединение		
	Раствор Кребса	+ФЭ, 10 мкмоль	+CORM II, 10 мкмоль
Амплитуда сокращения ($n = 18$)	100	130,7 (122,6–138,9)	83,2* [#]
Амплитуда потенциала действия ($n = 18$)	100	109,4 (102,8–116,0)	82,4* [#]
Длительность плато потенциала действия ($n = 18$)	100	107,7 (99,5–115,4)	85,7* [#]

* Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с ФЭ-содержащим раствором.# Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольным раствором

Таблица 5

Влияние CORM II на параметры электрической и сократительной активности гладких мышц мочеточника морской свинки в присутствии гистамина

Измеряемый показатель, %	Тестируемый раствор		
	Раствор Кребса	+Гистамин, 10 мкмоль	+CORM II, 10 мкмоль
Амплитуда сокращения ($n = 18$)	100	125,2 (114,9–135,5)	81,3* [#]
Амплитуда потенциала действия ($n = 18$)	100	111,2 (92,6–120,8)	96,3* [#]
Длительность плато потенциала действия ($n = 18$)	100	137,4 (123,2–158,6)	101,7* [#]

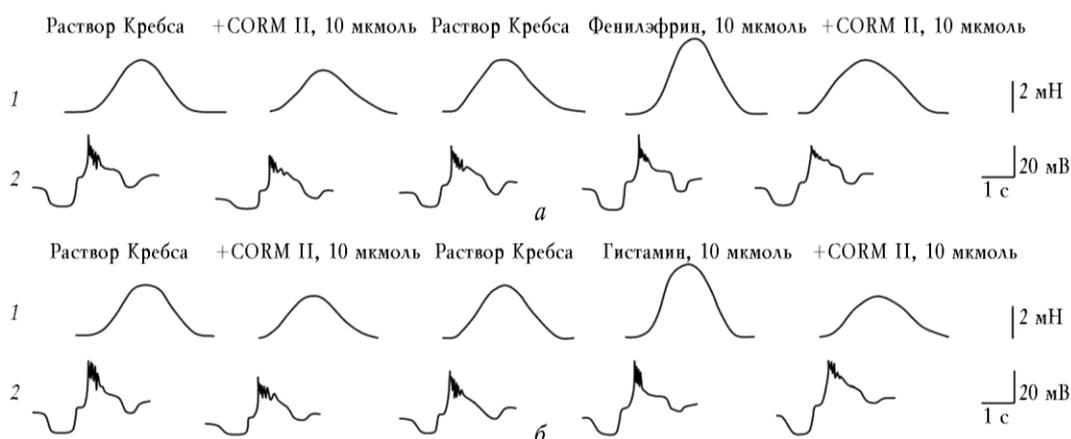
* Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с гистамин-содержащим раствором.# Статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольным раствором.

Рис. 2. Эффекты, оказываемые монооксидом углерода на сократительную (1) и электрическую (2) активность ГМК мочеточника морской свинки, в присутствии биологически активных веществ: а – фенилэфрина; б – гистамина; справа – калибровочный сигнал и отметка времени

Сократительные ответы гладких мышц возможно дополнительно инициировать, используя биологически активные вещества (БАВ), в частности агонисты α_1 -адрено- и H_1 -гистаминергических рецепторов.

Добавление α_1 -адреномиметика фенилэфрина концентрацией 10 мкмоль в раствор Кребса приводило к увеличению сократительного ответа ГМК, амплитуды и длительности плато ПД (табл. 4, рис. 2,а). Сходный активирующий эффект регистри-

ровался в присутствии 10 мкмоль гистамина – активатора H_1 -гистаминергических рецепторов: амплитуда сокращения гладких мышц мочеочечника, а также амплитуда и длительность плато ПД возрастали (табл. 5, рис. 2,б). Присутствие в растворах БАВ приводило к достоверному усилению релаксирующих эффектов донора СО.

Обсуждение

Газообразные посредники, действуя через принципиально отличные от классических транмиттеров рецепторнезависимые механизмы, либо прямо через химическую модификацию белков ионных каналов, либо косвенно – через вторичные посредники, влияют на основную клеточную функцию гладких мышц – сокращение [1, 15, 19].

Дозозависимое угнетающее влияние СО на электрическую и сократительную активность ГМК мочеочечника морской свинки связано с изменением ионной проводимости их мембран и (или) с вовлечением одного или нескольких звеньев сети внутриклеточных регуляторных систем. Известно, что характерной чертой сопряжения возбуждения-сокращения в ГМК является использование внеклеточных ионов кальция. Повышение их концентрации внутри клетки можно воспроизводить с помощью БАВ, например α_1 - либо H_1 -ергических воздействий. Связываясь со своим рецептором на плазматической мембране гладких мышц, они не только обеспечивают рецепторуправляемый вход Ca^{2+} в клетку, но и дополнительно активируют С-киназную ветвь кальциевой сигнальной системы и способствуют высвобождению Ca^{2+} из депо [18].

В присутствии фенилэфрина и гистамина CORM II продолжал проявлять свой угнетающий эффект на электрические и сократительные свойства ГМК мочеочечника. Но эффект этот был достоверно выше, чем при действии СО в отсутствие БАВ. Полученные результаты могут быть связаны с особенностями влияния на С-киназную ветвь кальциевой регуляции электрической и сократительной активности ГМК мочеочечника. Включение этого дополнительного внутриклеточного пути передачи сигналов становится дополнительной мишенью для СО и ведет, как правило, к более выраженному угнетению электрической и сократительной активности ГМК.

Именно повышение калиевой проводимости мембраны ГМК может являться одним из основных механизмов реализации внутриклеточных эффектов СО [6, 17]. В экспериментах с использованием тетраэтиламония CORM II хоть и вызывал снижение амплитуды

сокращения, амплитуды и длительности плато потенциала действия, но достоверно ниже, чем в отсутствие блокатора калиевой проводимости мембраны. Эти данные еще раз подтверждают точку зрения о том, что в гладких мышцах изменения калиевой проводимости в отличие от других электровозбудимых структур играют доминирующую роль в реализации различных регуляторных воздействий.

Решение вопроса о роли растворимой гуанилатциклазы в механизмах влияния СО на сопряжение возбуждения-сокращения ГМК мочеочечника морской свинки требует дополнительных исследований. Хотя использование селективного ингибитора ODQ и подтвердило участие ГЦ в угнетающем эффекте CORM II, но выраженность и направленность этого эффекта СО требуют новых объяснений. Не вызывает сомнений лишь то, что увеличение образования цГМФ вызывает повышение именно калиевой проводимости мембраны гладкомышечных клеток мочеочечника.

Заключение

Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что монооксид углерода оказывает угнетающее действие на электрические и сократительные свойства гладких мышц мочеочечника морской свинки. Этот эффект реализуется прежде всего за счет цГМФ-опосредованного внутриклеточного регуляторного пути, повышения калиевой проводимости мембраны гладкомышечных клеток и усиливается на фоне воздействия БАВ.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы (ГК № 14.740.11.0932, соглашение № 8487).

Литература

1. Баскаков М.Б., Юсубов М.С. Газовая атака, или Осторожно, газы // Бюл. сиб. медицины. 2010. Т. 9, № 6. С. 160–164.
2. Коржов В.И., Видмаченко А.В., Коржов М.В. Монооксид углерода // Журн. АМН Украины. 2010. Т. 16, № 1. С. 23–37.
3. Leffler Ch.W., Parfenova H., Jaggar J.H. Carbon monoxide as an endogenous vascular modulator // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2011. V. 301. P. 1–11.
4. Wu L., Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions and pharmacological applications // Pharmac. Rev. 2005. V. 57. P. 585–630.
5. Ryter St.W., Alam J., Choi A. Heme-oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications // Physiol. Rev. 2008. V. 86. P. 583–650.
6. Wilkinson W.J., Kemp P.G. Carbon monoxide: an emerging regulator of ion channels // J. Physiol. 2011. V. 589, № 13. P. 3055–3062.

7. Araujo J.A., Zhang M., Yin F. Heme oxygenase-1, oxidation, inflammation, and atherosclerosis // *Frontiers in Pharmacology*. 2012. V. 3. P. 1–17.
8. Dallas M.L., Boyle J.P., Milligan C.J. et al. Carbon monoxide protects against oxidant-induced apoptosis via inhibition of K_v2.1 // *The FASEB J*. 2011. V. 25. P. 1–12.
9. Wang Y., Tian H., Tang Ch. et al. Nitric oxide modulates hypoxic pulmonary smooth muscle cell proliferation and apoptosis by regulating carbon monoxide pathway // *Acta. Pharmacol. Sin*. 2007. V. 28, № 1. P. 28–35.
10. Баскаков М.Б., Желудева А.С., Гусакова С.В. и др. Роль оксида азота в механизмах действия монооксида углерода на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы [Электронный ресурс] // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 2. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/108-8690>.
11. Kim Y.M., Pae H.O., Park J.E. et al. Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities // *Antiox. Redox. Signal*. 2011. V. 14, № 1. P. 137–167.
12. Lamon B.D., Zhang F.F., Puri N. et al. Dual pathways of carbon monoxide-mediated vasoregulation: modulation by redox mechanisms // *Circ. Res*. 2009. V. 105. P. 775–783.
13. Sha L., Farrugia G., Harmsen W.S. et al. Membrane potential gradient is carbon monoxide-dependent in mouse and human small intestine // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2007. V. 293. P. 438–445.
14. Stec D.E., Drummond H.A., Vera T. Role of carbon monoxide in blood pressure regulation // *Hypertension*. 2008. V. 51. P. 597–604.
15. Morita T. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP // *Cell Biology*. 1995. № 92. P. 1475–1479.
16. Jaggar J.H., Parfenova H., Liu J. et al. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels // *Circ. Res*. 2007. V. 97. P. 805–812.
17. Wang, R., Wu L. The chemical modification of K⁺_{Ca} channels by carbon monoxide in smooth muscle cells // *J. Biol. Chem*. 2005. V. 277, № 13. P. 8222–8226.
18. Ковалев И.В., Баскаков М.Б., Медведев М.А., и др. Миогенные эффекты циклического гуанозинмонофосфата в гладкомышечных клетках. Роль протеинкиназы С // *Рос. физиол. журн. им. Сеченова*. 2003. Т. 89, № 4. С. 436–446.
19. Peers Ch., Dallas M.L., Scragg J.L. Ion channels as effectors in carbon monoxide signaling // *Comm. Integ. Biol*. 2009. V. 2. P. 241–242.

Поступила в редакцию 03.10.2013 г.

Утверждена к печати 24.01.2014 г.

Ковалёв Игорь Викторович (✉) – д-р мед. наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики СибГМУ (г. Томск, Россия).

Баскаков Михаил Борисович – д-р мед. наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ (г. Томск, Россия).

Гусакова Светлана Валерьевна – д-р мед. наук, доцент, и.о. зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики СибГМУ (г. Томск, Россия).

Идамжапова Татьяна Александровна – интерн кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии СибГМУ (г. Томск, Россия).

Бирулина Юлия Георгиевна – аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск, Россия).

Рожкова Ольга Сергеевна – интерн кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии СибГМУ (г. Томск, Россия).

Марченко Анастасия Сергеевна – интерн кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии СибГМУ (г. Томск, Россия).

Смаглий Людмила Вячеславовна – интерн кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии СибГМУ (г. Томск, Россия).

Медведев Михаил Андреевич – заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, зав. кафедрой нормальной физиологии СибГМУ (г. Томск, Россия).

Орлов Сергей Николаевич – д-р биол. наук, профессор, Лаборатория Научно-исследовательского центра Университета г. Монреаль (Канада).

✉ Ковалёв Игорь Викторович, тел. 8 (3822) 42-09-54; e-mail: kovalew@mail.ru

THE ROLE OF CARBON MONOXIDE IN THE REGULATION OF ELECTRICAL AND CONTRACTILE PROPERTIES OF SMOOTH MUSCLE CELLS OF THE GUINEA PIG URETER

Kovalyov I.V.¹, Baskakov M.B.¹, Gusakova S.V.¹, Idamzhapova T.A.¹, Birulina Yu.G.¹, Rozhkova O.S.¹, Marchenko A.S.¹, Smagly L.V.¹, Medvedev M.A.¹, Orlov S.N.²

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Research Center, University of Montreal Hospital (CHUM), Montreal, Canada

ABSTRACT

Carbon monoxide CO, as well as nitric oxide and hydrogen sulfide, make up the family of labile biological mediators termed gasotransmitters. We hypothesized that CO may be involved in the mechanisms of regulation electrical and contractile properties of smooth muscles.

The effects of carbon monoxide donor CORM II (tricarbonyldichlororuthenium(II)-dimer) on the electrical and contractile activities of smooth muscles of the guinea pig ureter were studied by the method of the double sucrose bridge. This method allows to register simultaneously the parameters of the action potential (AP) and the contraction of smooth muscle cells (SMCs), caused by an electrical stimulus.

CORM II in a concentration of 10 mmol has reduced the amplitude of contractions SMCs to (86.5 ± 9.7)% ($n = 6$, $p < 0.05$), the amplitude of the AP to (88.9 ± 4.2)% ($n = 6$, $p < 0.05$) and the duration of the plateau of the AP to (91.7 ± 6.0)% ($n = 6$, $p < 0.05$). On the background of the action of biologically active substances (phenylephrine, 10 μmol or histamine, 10 μmol), these effects of CORM II amplified. The inhibitory action of CORM II on the parameters of the contractile and electrical activities of the smooth muscles of guinea pig ureter has been decreased by blocking potassium channels in membrane of SMCs by tetraethylammonium chloride (TEA) or inhibition of soluble guanylate cyclase (ODQ [1H-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one]). On the background of TEA (5 mmol), a donor of CO (10 mmol) caused a reduction the amplitude of contraction SMCs to (87.0 ± 10.8)% ($n = 6$, $p < 0.05$), the amplitude of the AP to (91.7 ± 6.4)% ($n = 6$, $p < 0.05$) and the duration of the plateau of the AP to (93.4 ± 7.5)% ($n = 6$, $p < 0.05$). After the pretreatment of ODQ (1 μmol) adding CORM II (10 mmol) in solution has resulted to augment of the amplitude of contraction ureteral smooth muscle strips to (90.9 ± 4.2)% ($n = 6$, $p < 0.05$), the amplitude of the AP to (97.2 ± 10.3)% ($n = 6$, $p < 0.05$) and the duration of the plateau of the AP to and (99.7 ± 10.0)% ($n = 6$, $p < 0.05$).

Thus, can be argued the inhibitory effect of carbon monoxide on the electrical and contractile activities of the guinea pig ureter SMCs is due to changes in the ionic conductivity of the membranes, above all with increasing the potassium conductance or activation of soluble guanylate cyclase.

KEY WORDS: smooth muscles, gasotransmitters, potassium conductance of the membrane, guanylate cyclase.

Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 39–46

References

1. Baskakov M.B., Yusubov M.S. *Bulletin of the Siberian medicine*, 2010, no. 6, pp. 160–164 (in Russian).
2. Korzhov V.I., Vidmachenko A.V., Korzhov M.V. *Journal of academy of medical sciences of Ukraine*, 2010, vol. 16, no. 1, pp. 23–37 (in Russian).
3. Leffler Ch.W., Parfenova H., Jaggar J.H. Carbon monoxide as an endogenous vascular modulator. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2011, vol. 301, pp. 1–11.
4. Wu L., Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions and pharmacological applications. *Pharmac. Rev.*, 2005, vol. 57, pp. 585–630.
5. Ryter St.W., Alam J., Choi A. Heme-oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol. Rev.*, 2008, vol. 86, pp. 583–650.
6. Wilkinson W.J., Kemp P.G. Carbon monoxide: an emerging regulator of ion channels. *J. Physiol.*, 2011, vol. 589, no. 13, pp. 3055–3062.
7. Araujo J.A., Zhang M., Yin F. Heme oxygenase-1, oxidation, inflammation, and atherosclerosis. *Frontiers in Pharmacology*, 2012, vol. 3, pp. 1–17.
8. Dallas M.L., Boyle J.P., Milligan C.J. et al. Carbon monoxide protects against oxidant-induced apoptosis via inhibition of K_v2.1. *The FASEB J.*, 2011, vol. 25, pp. 1–12.
9. Wang Y., Tian H., Tang Ch. et al. Nitric oxide modulates hypoxic pulmonary smooth muscle cell proliferation and apoptosis by regulating carbon monoxide pathway. *Acta. Pharmacol. Sin.*, 2007, vol. 28, no. 1, pp. 28–35.

10. Baskakov M.B., Zheludeva A.S., Gusakova S.V. et al. The role of nitric oxide in the mechanism of action of carbon monoxide on the contractile activity of smooth muscle cells from the rat aorta. *Modern problems of science and education*, 2013, no. 2. URL: <http://www.science-education.ru/108-8690> (Accessed 21 September 2013) (in Russian).
11. Kim Y.M., Pae H.O., Park J.E. et al. Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antiox. Redox. Signal.*, 2011, vol. 14, no. 1, pp. 137–167.
12. Lamon B.D., Zhang F.F., Puri N. et al. Dual pathways of carbon monoxide-mediated vasoregulation: modulation by redox mechanisms. *Circ. Res.*, 2009, vol. 105, pp. 775–783.
13. Sha L., Farrugia G., Harmsen W.S. et al. Membrane potential gradient is carbon monoxide-dependent in mouse and human small intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2007, vol. 293, pp. 438–445.
14. Stec D.E., Drummond H.A., Vera T. Role of carbon monoxide in blood pressure regulation. *Hypertension*, 2008, vol. 51, pp. 597–604.
15. Morita T. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. *Cell Biology*, 1995, no. 92, pp. 1475–1479.
16. Jaggar J.H., Parfenova H., Liu J. et al. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels. *Circ. Res.*, 2007, vol. 97, pp. 805–812.
17. Wang, R., Wu L. The chemical modification of K^+ channels by carbon monoxide in smooth muscle cells. *J. Biolog. Chem.*, 2005, vol. 277, no. 13, pp. 8222–8226.
18. Kovalev I.V., Baskakov M.B., Medvedev M.A. et al. *Setchenov's Russian Physiological Journal*, 2003, vol. 89, no. 4, pp. 436–446 (in Russian).
19. Peers Ch., Dallas M.L., Scragg J.L. Ion channels as effectors in carbon monoxide signaling. *Comm. Integ. Biol.*, 2009, vol. 2, pp. 241–242.

Kovalyov Igor V. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Baskakov Mikhail B., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Gusakova Svetlana V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Idamzhapova Tatyana A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Birulina Yulia G., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Rozhkova Olga S., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Marchenko Anastasia S., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Smagly Lyudmila V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Medvedev Mikhail A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Orlov Sergey N., Research Center, University of Montreal Hospital (CHUM), Montreal, Canada.

✉ **Kovalyov Igor V.**, Ph. +7 (3822) 42-09-54; e-mail: kovalew@mail.ru