
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА И ОКСИДА АЗОТА НА СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ В МОДЕЛИ СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

© 2025 г. Д. М. Сорокина¹*, И. Ф. Шайдуллов¹, Н. Н. Хаертдинов¹,
А. С. Лифанова¹, Ф. Г. Ситдинов¹, Г. Ф. Ситдикова¹

¹Казанский федеральный университет, Казань, Россия

*E-mail: dinagabita@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2025 г.

После доработки 05.09.2025 г.

Принята к публикации 12.09.2025 г.

Синдром раздраженного кишечника (СРК) – функциональное, многофакторное расстройство желудочно-кишечного тракта, характеризующееся нарушением моторики кишечника и висцеральной гиперчувствительностью. Целью исследования явился анализ влияния H_2S и NO на спонтанные сокращения тощей кишки крыс с моделью СРК. СРК вызывался неонатальной материнской депривацией и верифицировался оценкой висцеральной гиперчувствительности. Спонтанные сокращения изолированного препарата тощей кишки крысы регистрировались в изометрических условиях. У крыс с СРК амплитуда спонтанных сокращений и тонус препарата были ниже, чем в группе контроля, без изменения частоты спонтанных сокращений. Донор H_2S – гидросульфид натрия ($NaHS$) оказывал ингибирующее действие на сокращения тощей кишки в контроле, тогда как в группе СРК угнетающие эффекты $NaHS$ не проявлялись. Донор NO – нитропруссид натрия (SNP) вызывал угнетение амплитуды в обеих группах и уменьшал угнетающие эффекты $NaHS$ в контрольной группе. Ингибитор синтазы оксида азота (NOS) – L -NAME приводил к повышению амплитуды спонтанных сокращений в обеих группах с более выраженными эффектами в группе СРК. В условиях блокирования NOS наблюдали восстановление ингибирующего действия $NaHS$ на амплитуду спонтанных сокращений в группе СРК. В группе СРК экспрессия цистатионин- β -синтазы (CBS), уровень сульфидов и активность ферментов синтеза H_2S в тканях тощей кишки крысы были ниже, тогда как экспрессия нейрональной NOS и концентрация метаболитов NO были повышены по сравнению с контролем. Предполагено, что при СРК вследствие избыточного синтеза NO происходят изменения активности CBS , сигнальных путей и/или мишеней, через которые действует H_2S , что приводит к нарушению моторики тощей кишки и обуславливает симптомы усиления перистальтики при СРК диарейного типа (СРК-Д).

Ключевые слова: сероводород, оксид азота, сократительная активность, синдром раздраженного кишечника, тощая кишка

DOI: 10.7868/S2658655X25110073

ВВЕДЕНИЕ

Синдром раздраженного кишечника (СРК) является одним из наиболее распространенных функциональных желудочно-кишечных расстройств [1–3], который в соответствии с Римскими критериями IV диагностируется на основании рецидивирующей боли в животе, связанной с дефекацией, или в связи с изменением частоты или консистенции стула. Хотя патофизиология этого заболевания до сих пор неизвестна, считается, что СРК является многофакторным заболеванием, вызванным нарушением моторики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), висцеральной гиперчувствительностью, активацией иммунитета и психосоциальными факторами [3, 4]. Висцеральная чувствительность – это один из критериев, используемых при диагностике СРК. Патофизиологию СРК традиционно связывают с дисфункцией толстой кишки. Однако растущее число исследований указывают на вовлечение тонкой кишки в развитие данного заболевания. В частности, изменения в микробиоме тонкой кишки могут существенно влиять на метаболизм, всасывание питательных веществ и иммунный ответ, тем самым способствуя развитию симптомов СРК [5–7]. Дисбаланс микрофлоры может приводить к увеличению проницаемости кишечного эпителия, нарушению моторики, создавая условия для активации воспалительных процессов и синдрома избыточного бактериального роста (СИБР), наиболее часто ассоциируемого с тонким кишечником. При этом наблюдается увеличение популяции тучных клеток и легкое воспаление, которые являются ключевыми факторами в патогенезе СРК [7, 8]. Кроме того, при развитии СРК с преобладанием диареи (СРК-Д) отмечается ускоренный транзит не только в толстой, но и в тонкой кишке по сравнению с другими подтипами СРК [9]. В свою очередь, развитие СИБР может быть связано с нарушением мигрирующих моторных комплексов [10, 11], которые зависят от активности интерстициальных клеток Кахала, выполняющих функцию “пейсмекеров” кишечной моторики [12].

Газообразные посредники, сероводород (H_2S) и оксид азота (NO), играют важную роль в регуляции функций ЖКТ в физиологических и патофизиологических условиях [13–19]. Однако влияние H_2S и NO при патологических состояниях, в том числе СРК, на двигательную активность тонкого кишечника не изучено. При этом изменения концентраций H_2S и NO в просвете толстой кишки, по-видимому, отражают их вклад в развитие СРК [20–22]. Эндогенно H_2S в ЖКТ синтезируется ферментами цистатионин- β -синтаза (CBS) и цистатионин- γ -лиаза (CSE) [23], которые экспрессируются в гладкомышечных клетках, энтеральных нейронах, интерстициальных клетках Кахала и эпителиальных клетках [24]. Эндогенный H_2S может играть роль в регуляции секреции, моторики, нейротрансмиссии, болевой чувствительности [25]. H_2S , синтезируемый кишечными микробами и тканями стенки кишечника, может участвовать в диарейных состояниях, однако роль эндогенно синтезируемого тканями тонкой кишки H_2S в регуляции моторики при СРК не изучено [17, 26]. Показано, что эндогенные уровни H_2S , вырабатываемые тканью толстой кишки, лишенной слизистой и подслизистой оболочки, а также экспрессия CSE и CBS были снижены у взрослых крыс при хроническом стрессе [20]. Авторы предполагают, что усиление синтеза эндогенного H_2S или доставка экзогенного H_2S могут иметь потенциальную клиническую ценность при лечении гипермоторики кишечника, вызванной хроническим стрессом [20].

Еще одним агентом, который играет ключевую роль в регуляции широкого спектра функций ЖКТ как в норме, так и при заболеваниях, является NO. NO, выделяясь из неадренергических нехолинергических нервных волокон, регулирует моторику, целостность слизистой оболочки посредством регуляции секреции, механизмы висцеральной гиперчувствительности и боли [27]. Показана его роль в функциональных изменениях ЖКТ при СРК и возникновении его симптомов [28]. Были выявлены антиноцицептивные и антидиарейные эффекты NO в модели СРК с диареей у крыс [29]. Экспрессия

нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) в миентеральном сплетении тонкой и толстой кишки изменяется в зависимости от возраста. Наибольший процент нейронов, содержащих nNOS, был выявлен у новорожденных крыс, который снижался в ходе онтогенеза до 60-го дня жизни, а затем не изменялся до старения [30, 31]. Чрезмерный синтез NO характерен для воспалительных заболеваний кишечника, где он может способствовать повреждению эпителия кишечника, нарушению барьерной функции и развитию осложнений [32, 33]. Избыточный синтез NO может привести к гибели клеток, но может быть и защитным механизмом для предотвращения апоптоза [34]. NO может ингибировать дыхательную цепь митохондрий, вызывая накопление активных форм кислорода (АФК), что способствует апоптозу энтероцитов [35, 36]. Кроме того, NO влияет на эндогенный синтез H_2S путем связывания с гемом CBS, что приводит к ингибированию каталитической активности CBS, значит клеточный метаболизм H_2S может зависеть от локальной концентрации NO [37, 38].

Несмотря на интенсивные исследования патофизиологии СРК, роль H_2S и NO в развитии СРК остается неизвестной. Настоящее исследование направлено на изучение влияния H_2S и NO на сократительную активность препарата тощей кишки крысы при моделировании СРК. Кроме того, был произведен анализ концентрации сульфидов, нитритов и экспрессии ферментов CBS и nNOS в ткани тощей кишки крысы при моделировании СРК.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Эксперименты проводились на самцах крыс массой 250–275 г, имеющих свободный доступ к воде и пище, в контролируемых условиях окружающей среды при температуре $21 \pm 2^\circ C$ с постоянной влажностью и 12-часовым световым циклом. Для получения потомства ссаживали одного самца и двух самок в одну клетку на две недели, затем беременные самки помещались отдельно в стандартные клетки. Эксперименты проводились на потомстве крыс: в контрольной группе использовалось 11 пометов, в группе СРК – 6 пометов. Размер пометов составлял от 8 до 12 крысят как в группе контроля, так и в группе СРК. Размер помета не влиял на результаты исследования. Все новорожденные крысы, используемые в экспериментах, содержались вместе с матерью до достижения ими 22-дневного возраста.

Индукция синдрома раздраженного кишечника и оценка висцеральной чувствительности

СРК у крыс моделировали с помощью материнской депривации путем неонатального разлучения с матерью. Для этого после получения потомства, начиная с 1-го постнатального дня (P1, дата рождения считалась P0) и до P14, крысят (весь помет) ежедневно вынимали из домашней клетки на 3 ч (с 09:00 до 12:00) при температуре $34 \pm 1^\circ C$. Крысят контрольной группы оставляли в домашней клетке. С P15 по P22 день все крысята (депривированные и контрольные) находились на содержании самки. Отлучение от самки проводили на 22-й день, самцов и самок разделяли и содержали в разных клетках до проведения экспериментов. В возрасте 6 недель у крыс контрольной группы и группы с неонатальной материнской депривацией оценивали гиперчувствительность толстой кишки путем измерения пороговой интенсивности брюшного сгибательного рефлекса (БСР), возникающего в ответ на колоректальное растяжение с характерным поднятием задней части тела животного и отчетливо видимым сокращением брюшной полости, как было показано ранее [39]. Ректальное растяжение проводили с использованием артериального эмболэктомического катетера (4-Fr, Edwards

Lifesciences, США), который вводили внутримышечно в нисходящую ободочную кишку крыс. После 30 мин адаптации животного проводили измерение БСР, для чего визуально наблюдали реакции на быстрое фазное растяжение баллона объемами 0.1, 0.25, 0.35, 0.5 и 0.65 мл в течение 20 с. Каждый уровень растяжения повторяли три раза с интервалом в 30 с. Реакцию животного оценивали по балльной шкале БСР: 0 – отсутствие поведенческого ответа на колоректальное растяжение; 1 – короткое движение головы и замирание; 2 – сокращение мышц живота; 3 – подъем живота; 4 – выгибание тела и подъем тазовой части.

Регистрация сократительной активности сегмента тощей кишки крысы

Исследования сократимости препаратов тощей кишки самцов крыс контрольной и СРК групп проводились в соответствии с нашими предыдущими работами [14, 15, 18, 39, 40]. Перед проведением эксперимента животное анестезировалось с использованием 2%-ного изофлурана (Abbott Laboratories, США), после декапитации производилась препаровка. Эксперименты проводились на 4-канальной установке фирмы Biopac (США) с использованием изометрических датчиков. Сегменты тощей кишки крысы (возраст 45–50 дней) осторожно выделялись и помещались в ванночку объемом 20 мл, которая содержала (мМ): NaCl 121.0; KCl 5.9; CaCl₂ 2.5; MgCl₂ 1.2; NaHCO₃ 25.0; NaH₂PO₄ 1.2; глюкоза 8.0 (pH 7.2–7.4). Во время экспериментов температура раствора поддерживалась на уровне 37 °С, раствор аэрировался карбогеном (O₂ 95% и CO₂ 5%). Препарат тощей кишки длиной 5–7 мм фиксировался вдоль брыжеечного края с помощью нержавеющей клипс и подвешивался вертикально. Один конец препарата соединялся с изометрическим датчиком силы (TSD125C, Biopac, США), а другой фиксировался на закрепленном крючке. После подвешивания каждый препарат тощей кишки разрабатывался в течение 40–60 мин при натяжении в 1 г до получения стабильных сокращений, при этом каждые 10 мин производилась смена раствора. Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводились с помощью программы AcqKnowledge 4.1 (Biopac, США).

В экспериментах использовались следующие химические вещества: гидросульфид натрия (NaHS, 200 мкМ), NG-нитро-L-аргинин-метил-эфир – неспецифический блокатор NO-синтазы (L-NAME, 100 мкМ), нитропруссид натрия – донор NO (SNP, 100 мкМ). Все препараты были получены от Sigma (США). Растворы веществ были свежеприготовленными. Для анализа собственных эффектов NaHS, L-NAME, SNP вещества апплицировали на различные препараты тощей кишки в течение 10 мин. Для анализа роли NO в эффектах H₂S NaHS апплицировался последовательно после L-NAME или SNP.

Вестерн-блоттинг

Экспрессия CBS и nNOS измерялась вестерн-блоттингом, как описано ранее [41, 42]. Препарат тощей кишки крысы гомогенизировался в лизирующем буфере, содержащем ингибиторы протеазы (S8820, Sigma, США). Лизаты центрифугировались при 12000 об/мин. Отбиралась фракция без осадка (прозрачная жидкость). Образцы, содержащие равное количество белка, разделяли вертикально на 10%-ном геле, затем производился горизонтальный перенос белка на мембраны. Для блокирования участков неспецифического связывания на мембране использовался 3%-ный раствор бычьего сывороточного альбумина. Мембраны из поливинилиденфторида (PVDF) (Thermo Scientific Pierce, США) инкубировались в течение 12 ч с первичными антителами против CBS (1 : 500, sc-271886, Santa Cruz Biotechnology Inc., США) и nNOS (1 : 500, #610308, BD Transduction Laboratories), после промывывания с помощью трис-буферного раствора (TBST) блоты подвергались реакции со вторичными

антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (1 : 3000; ab205719, Abcam, США) при комнатной температуре в течение 2 ч. Усиленная хемилюминесценция использовалась для визуализации белковых полос на мембране. Изображения были получены с помощью ChemiDoc XRS (Bio-Rad, США), оптическая плотность полос была количественно оценена с помощью программного обеспечения Image Lab (Bio-Rad, США). Интенсивность каждой полосы нормализовалась по экспрессии референсного белка GAPDH (1 : 2500; ab8245, Abcam, США). Данные вестерн-блоттинга представлены в виде отношения оптической плотности полосы целевого белка к оптической плотности полосы белка-контроля (GAPDH), детектированного на той же мембране.

Определение концентрации сульфидов и нитритов

Концентрация сульфидов определялась в образцах тощей кишки массой 1 г. Концентрация белка определялась по методу Брэдфорда. Ткань гомогенизировалась в 50 мМ фосфатного буфера (pH 7.4) с соотношением 1 : 10 (вес/объем) на льду. Синтез H_2S в гомогенате тканей тощей кишки измеряли в присутствии экзогенного субстрата L-цистеина (L-cys) и кофактора, необходимого ферментам, продуцирующим H_2S , пиридоксаль-5-фосфат (P5P). Лизаты (860 мкл) добавлялись в реакционную смесь (общий объем 1000 мкл), содержащую P5P (40 мкл), L-cys (40 мкл) и физиологический раствор (60 мкл). Реакция проводилась в запечатанных парафильмом пробирках и инициировалась переносом пробирок со льда на водяную баню с температурой 37 °C. После 60-минутной инкубации добавлялся 1%-ный раствор ацетата цинка (ZnAc; 500 мкл) для улавливания, выделяющегося H_2S , а затем 10%-ная трихлоруксусная кислота (ТХУ; 500 мкл). Впоследствии добавлялись *N,N*-диметилфенилендиаминсульфат (DPD; 20 мкМ, 266 мкл) и $FeCl_3$ (30 мкМ, 266 мкл). Затем раствор инкубировали в течение 20 мин, после чего измеряли поглощение полученного раствора при 670 нм методом спектрофотометрии (Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ, ООО “ЭКРОСХИМ”, Россия) и рассчитывали концентрацию H_2S по калибровочной кривой NaHS.

Для определения нитритов готовился реактив Грисса. Ткань гомогенизировалась в 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.4) в соотношении 1 : 10 (вес/объем) на льду. Гомогенат объемом 500 мкл соединялся с 500 мкл спирта и центрифугировался в течение 1 ч. После центрифугирования в каждую пробирку добавлялся реактив Грисса в соотношении 1 : 1. Пробирки ставились на водяную баню с температурой 37 °C на 30 мин. Измерялось поглощение полученного раствора при 543 нм методом спектрофотометрии (Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ, ООО “ЭКРОСХИМ”, Россия).

Статистический анализ

Статистический анализ выполнялся с помощью стандартных методик, где нормальность распределения выборки определялась при помощи F-теста Фишера и критерия Шапиро–Уилка с использованием программного обеспечения OriginPro (OriginLab, США). Тоническое напряжение, амплитуда и частота спонтанной сократительной активности препарата выражались в виде абсолютных значений (граммы и $мин^{-1}$ соответственно) или в виде процентных изменений по отношению к собственному контролю (принятому за 100%) для каждой группы животных после добавления препаратов в ванночку. Достоверность различий определялась с помощью парного *t* критерия Стьюдента и дисперсионного анализа (ANOVA) с применением теста Бонферрони. Результаты представлялись в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SEM$). Значения $p < 0.05$ считались статистически значимыми; *n* указывает на количество животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Висцеральная гиперчувствительность у крыс с СРК

Для верификации модели СРК оценивалась висцеральная чувствительность крыс путем измерения пороговой интенсивности БСР в ответ на растяжение толстой кишки. Обнаружено, что в ответ на растяжение толстой кишки объемами 0.1 и 0.25 мл отличий в реакции животных обеих групп не наблюдалось ($p > 0.05$; табл. 1). При растяжении объемом 0.35 мл в контроле значение БСР составило 2.12 ± 0.13 ($n = 15$) и 2.63 ± 0.18 в группе СРК ($n = 11$, $p < 0.05$). При использовании объема 0.5 мл показатели БСР в опытной группе (3.71 ± 0.17) были значительно выше, чем в контроле (2.96 ± 0.18 , $p < 0.05$), что указывает на висцеральную гиперчувствительность в модели СРК у крыс. При увеличении объема растяжения до 0.65 мл существенных различий между группами не наблюдалось ($p > 0.05$), что может быть связано со сверхпороговым уровнем стимуляции. Таким образом, используемая нами модель СРК сопровождается висцеральной гиперчувствительностью и может использоваться для изучения механизмов СРК.

Таблица 1. Показатели брюшного сгибательного рефлекса (в баллах) в ответ на растяжение кишечника крыс контрольной и СРК групп

Группа	n	Объем растяжения, мл				
		0.1	0.25	0.35	0.5	0.65
Контроль	15	0.52 ± 0.1	1.32 ± 0.2	2.12 ± 0.13	2.96 ± 0.18	3.83 ± 0.12
СРК	11	0.49 ± 0.1	1.38 ± 0.15	$2.63 \pm 0.18^*$	$3.71 \pm 0.17^*$	3.98 ± 0.22

* $p < 0.05$ – относительно контрольной группы.

Влияние H_2S на сократительную активность тощей кишки крысы

В контроле изолированный препарат тощей кишки крыс проявлял спонтанную сократительную активность с амплитудой 0.90 ± 0.08 г и частотой 29.30 ± 0.61 мин⁻¹ ($n = 19$; рис. 1с, d), тоническое напряжение препарата составило 1.29 ± 0.09 г ($n = 19$; рис. 1b). У крыс с СРК тонус препарата (0.96 ± 0.06 ; $n = 8$, $p < 0.05$, рис. 1b) и амплитуда (0.65 ± 0.04 г; $n = 8$, $p < 0.05$, рис. 1а, с) спонтанных сокращений были ниже по сравнению с контрольной группой. Показатели частоты спонтанных сокращений (30.75 ± 0.55 мин⁻¹; $n = 8$, $p > 0.05$, рис. 1d) в группе СРК не отличались от контроля.

Далее анализировали влияние NaHS на спонтанную сократительную активность препарата тощей кишки крыс в контроле и при моделировании СРК (рис. 2а). В контроле аппликация NaHS в концентрации 200 мкМ в течение 10 мин приводила к снижению тонуса препарата до 76% (с 1.20 ± 0.09 до 0.99 ± 0.05 г, $n = 9$; рис. 2b), амплитуды до 49% (с 0.90 ± 0.08 до 0.40 ± 0.06 г, $n = 19$; рис. 2b), частоты до 80% (с 29.3 ± 0.6 до 23.4 ± 1.1 мин⁻¹, $n = 19$; рис. 2b). В группе СРК угнетающие эффекты NaHS не проявлялись: тоническое напряжение препарата составило 99% (с 0.96 ± 0.06 до 0.95 ± 0.06 г; $n = 8$; рис. 2b), амплитуда и частота спонтанных сокращений 106% (с 0.65 ± 0.04 до 0.69 ± 0.04 г; $n = 8$; рис. 2b) и 96% (с 30.7 ± 0.55 до 29.7 ± 0.46 мин⁻¹; $n = 8$; рис. 2b) соответственно по сравнению с группой контроля (рис. 2b).

Таким образом, в группе СРК эффекты NaHS на спонтанные сокращения не проявляются.

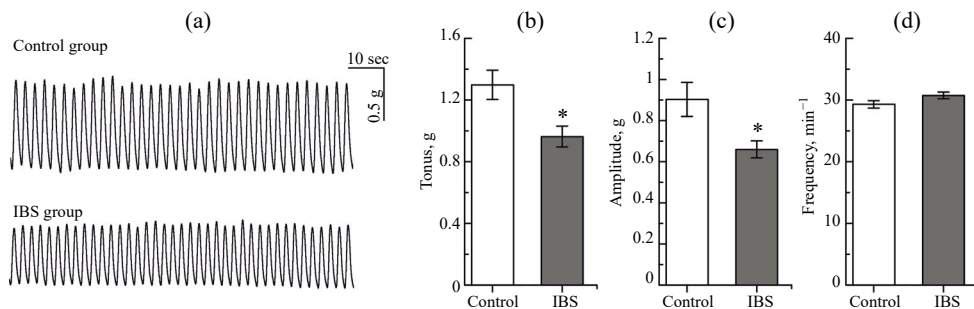


Рис. 1. Спонтанная сократительная активность препаратов тощей кишки крыс в контрольной группе и в группе СРК. (а) – Механограммы сократительной активности препарата тощей кишки крыс в контрольной группе и в группе СРК. Показатели среднего тонуса (b), амплитуды (c) и частоты (d) спонтанных сокращений препаратов тощей кишки крыс в контрольной группе (белые столбики) и группе СРК (серые столбики). * $p < 0.05$ относительно показателей контрольной группы.

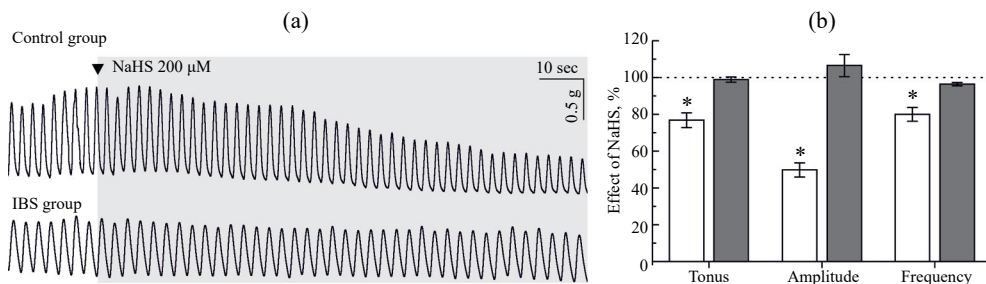


Рис. 2. Влияние донора сероводорода на спонтанные сокращения препаратов тощей кишки в контроле и в группе с моделью СРК. (а) – Оригинальные записи спонтанных сокращений тощего кишечника во время добавления NaHS (200 мкМ) в контрольной ($n = 19$) и в СРК ($n = 8$) группах. (b) – Влияние донора сероводорода (NaHS, 200 мкМ) на тонус амплитуду и частоту спонтанных сокращений препаратов тощей кишки крыс в контрольной группе (белые столбики) и группе СРК (серые столбики). * $p < 0.05$ относительно исходных значений.

Эффекты ингибитора NOS и экзогенного NO на сократимость тощей кишки крысы

Для определения роли эндогенного NO в регуляции спонтанной сократительной активности использовался неспецифический ингибитор NOS – L-NAME. В контрольной группе добавление L-NAME в концентрации 100 мкМ приводило к достоверному повышению амплитуды спонтанных сокращений тощей кишки крыс с 0.86 ± 0.04 до 1.02 ± 0.06 г (119%; $n = 18$; $p < 0.05$; рис. 3b). В группе СРК эффекты L-NAME были более выражены, амплитуда сокращений увеличилась с 0.76 ± 0.07 до 1.05 ± 0.11 г (139%; $n = 12$; $p < 0.05$; рис. 3b), а тоническое напряжение и частота спонтанных сокращений не изменились ($p > 0.05$; рис. 3a, c). Добавление донора NO – SNP в концентрации 100 мкМ на препарат тощей кишки крыс приводило к снижению амплитуды спонтанных сокращений к 30-й секунде ($p < 0.05$), после чего к 10-й минуте происходило восстановление амплитуды до исходных значений ($p > 0.05$) как в контрольной, так и в СРК-группах. Однако начальный ингибирующий эффект SNP на амплитуду сокращений в группе СРК был более выраженным – с 0.71 ± 0.08 до 0.21 ± 0.04 г, что составляет 36% от начальных значений ($n = 12$; $p < 0.05$; рис. 3b), по сравнению с группой контроля – с 0.74 ± 0.05 до 0.48 ± 0.06 г, что составляет 63% от начального уровня ($n = 15$; рис. 3b), при этом эффекты SNP на тонус и частоту спонтанных сокращений препаратов не проявлялись ($p > 0.05$; рис. 3a, c).

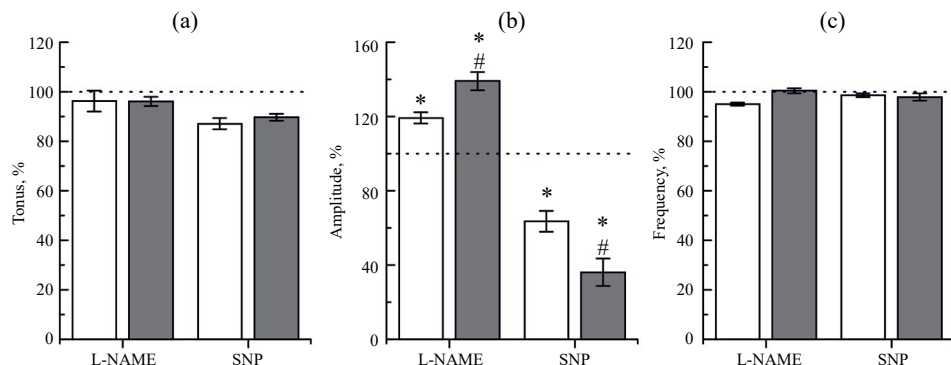


Рис. 3. Влияние NO и ингибитора NOS на параметры спонтанной сократительной активности препаратов тощей кишки крыс в контрольной и CPK группах. Влияние L-NAME (100 мкМ) и SNP (100 мкМ) на тонус (а), амплитуду (б) и частоту (с) спонтанных сокращений сегментов тощей кишки в контрольной группе (белые столбики; $n = 18$) и в группе CPK (серые столбики; $n = 12$) по сравнению с исходными значениями, принятыми за 100% и отмеченными пунктирной линией. * $p < 0.05$ относительно исходных значений; # $p < 0.05$ по сравнению с эффектами в контрольной группе.

Роль NO в ингибирующем действии сероводорода на сократимость тощей кишки крыс

Далее мы анализировали роль NO в эффектах NaHS. В контрольной группе на фоне предварительной аппликации L-NAME ингибирующие эффекты NaHS на тонус, амплитуду и частоту спонтанных сокращений сохранялись ($n = 18$, $p > 0.05$; рис. 4а). На фоне действия донора NO – SNP эффекты NaHS на амплитуду спонтанных сокращений были выражены в меньшей степени (86%; $n = 9$; $p < 0.05$; рис. 4б), при этом на тонус препарата (92%; $n = 9$; $p > 0.05$) и частоту сокращений не проявлялись (96%; $n = 9$; $p > 0.05$).

В группе CPK на фоне действия L-NAME ингибирующие эффекты NaHS на амплитуду спонтанных сокращений восстанавливались, но в меньшей степени по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$), а на тоническое напряжение препарата и на частоту спонтанных сокращений не проявлялись ($p > 0.05$; рис. 4а). Предварительная аппликация SNP предотвращала ингибирующие эффекты NaHS в группе CPK ($p > 0.05$).

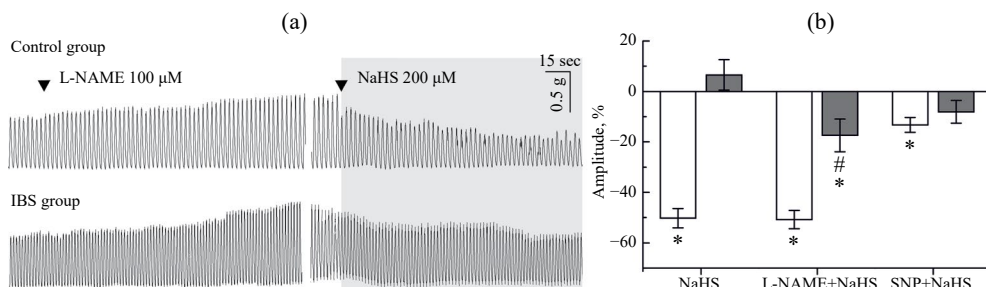


Рис. 4. Роль системы NO в эффектах сероводорода на сократительную активность тощей кишки крыс. (а) – Оригинальные записи спонтанных сокращений тощей кишки крыс: эффекты NaHS (200 мкМ) после инкубации в L-NAME (100 мкМ) в контрольной ($n = 15$) и CPK-группах ($n = 6$); (б) – ингибирующее действие сероводорода на амплитуду спонтанных сокращений (NaHS, 200 мкМ) после инкубации в L-NAME (100 мкМ) или SNP (100 мкМ) в контрольной группе (белые столбики; $n = 15$) и группе CPK (серые столбики; $n = 6$). * $p < 0.05$ относительно исходных значений, принятых за 0%; # $p < 0.05$ по сравнению с эффектами в контрольной группе.

Концентрация сульфидов и нитритов и экспрессия ферментов CBS и nNOS в тканях тощей кишки крыс в контроле и при моделировании СРК

Концентрация сульфидов в ткани тощей кишки у крыс с СРК была ниже относительно контрольной группы (0.22 ± 0.06 по сравнению с 4.21 ± 1.45 мкМ в контроле; $n = 6$, $p < 0.05$, рис. 5а). Активность ферментов синтеза H_2S в тощей кишке крыс группы СРК (0.79 ± 0.12 мкМ/г/мин) также была достоверно ниже контрольных значений (1.28 ± 0.22 мкМ/г/мин; $n = 6$, $p < 0.05$, рис. 5б). Экспрессия CBS в тощей кишке крыс, проанализированная методом вестерн-блоттинга, была меньше у крыс с СРК по сравнению с контрольной группой ($n = 5$, $p < 0.05$, рис. 5с).

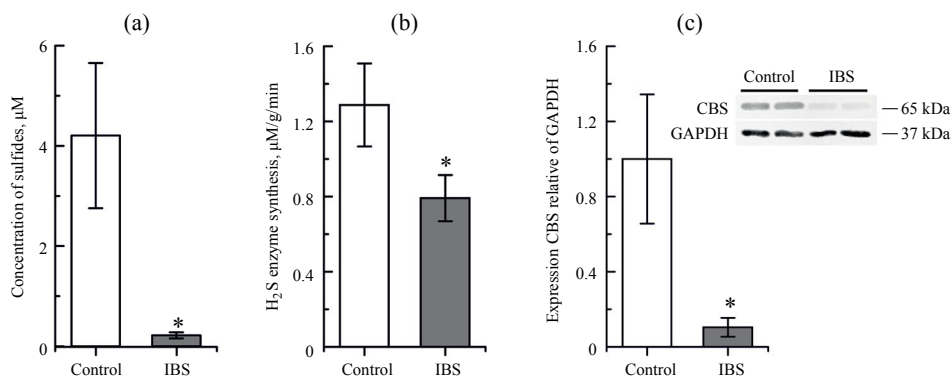


Рис. 5. Концентрация сульфидов (а), активность ферментов синтеза H_2S (б) в тканях тощей кишки крыс и экспрессия фермента CBS (с) в контрольной группе (белые столбики; $n = 6$) и в группе СРК (серые столбики; $n = 5$). * $p < 0.05$ – относительно показателей контрольной группы.

Концентрация метаболитов NO в тканях тощей кишки крыс, определенных с помощью реактива Грисса, в группе СРК была повышена по сравнению с контрольной группой (рис. 6а). По результатам вестерн-блоттинга экспрессия nNOS в тощей кишке крыс в группе СРК была выше относительно контрольной группы (5.09 ± 1.18 по сравнению с контролем 1 ± 0.11 ; $n = 7$, $p < 0.05$, рис. 6б).

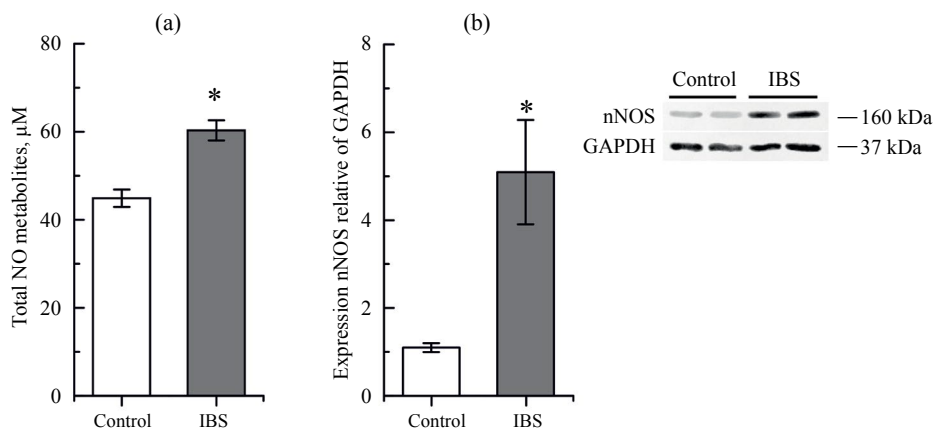


Рис. 6. Концентрация суммарных метаболитов NO (а) и экспрессия фермента nNOS (б) в тканях тощей кишки крыс в контрольной группе (белый столбик; $n = 6$) и в группе СРК (серые столбики; $n = 7$). * $p < 0.05$ – относительно показателей контрольной группы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

СРК является распространенным функциональным желудочно-кишечным расстройством с многофакторной патофизиологией, характеризующимся измененной моторикой кишечника, усилением проницаемости кишечного барьера и повышенной висцеральной чувствительностью [2, 43, 44]. СРК может быть вызван стрессом, расстройствами настроения, желудочно-кишечными инфекциями и неблагоприятными событиями в раннем возрасте [45–47]. Модель неонатальной материнской депривации у крыс приводит к постоянным висцеромоторным и соматическим нарушениям, связанным с измененной чувствительностью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы к стрессорам и повышенному риску развития депрессивно-подобного поведения. В этой модели у крыс была продемонстрирована висцеральная гипералгезия толстой кишки, которая является одним из симптомов развития СРК [48], что было продемонстрировано и в нашей модели.

Известно, что при СРК наблюдается моторная дисфункция толстого кишечника и нарушения ее регуляции эндогенными модуляторами [39, 49, 50]. Однако исследований регуляций двигательной функции тонкого кишечника в условиях моделирования СРК не проводилось. При этом нарушения процессов всасывания, секреции, двигательной активности в тонком кишечнике, а также СИБР могут оказывать вклад в развитие симптомов СРК [5–7, 51]. В данной работе нами проанализировано влияние NO и H_2S на двигательную активность препарата тощей кишки крыс при моделировании СРК.

Донор H_2S в контрольной группе вызывал снижение тонуса препарата, амплитуды и частоты спонтанных сокращений, как было показано ранее [15, 40], а в группе СРК ингибирующие эффекты NaHS на спонтанные сокращения не проявлялись. Кроме того, нами было показано снижение концентрации сульфидов в ткани тощей кишки, экспрессии CBS и активности ферментов синтеза H_2S у животных с моделью СРК. Сходные данные были получены в модели СРК у взрослых крыс, вызванной стрессом “избегание воды”, где обнаружено снижение экспрессии и активности CBS в ткани толстой кишки, что может быть связано с активацией компонента MAPK пути – MEK1, вовлеченного в процессы воспаления и хронического стресса [52]. Кроме того, снижение экспрессии CBS обнаружено в толстой кишке у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [53] и других органов [53–56]. Избыточная продукция NO также может обратимо ингибировать фермент синтеза H_2S – CBS, таким образом снижая эндогенную продукцию H_2S [38].

С учетом протекторных свойств H_2S снижение его концентрации в условиях стресса может усиливать воспалительную реакцию, а также оказывать вклад в нарушение моторики [28, 56–59] и обуславливать симптомы усиления перистальтики при СРК-Д.

Известно, что NO, являясь медиатором неадренергических волокон, может быть вовлечен в эффекты H_2S [15, 60–62]. Поэтому была проанализирована роль NO в регуляции сократимости тощей кишки в условиях СРК. В контроле экзогенный донор NO вызывал угнетение, а ингибирование NOS усиливало спонтанную сократительную активность, что свидетельствует о тоническом модулирующем действии NO в тощей кишке. В условиях моделирования СРК наблюдали усиление позитивного эффекта блокатора NOS, что может быть обусловлено увеличением экспрессии фермента nNOS в тканях тощей кишки крыс и косвенно подтверждается повышенным уровнем суммарных метаболитов NO в тощей кишке. Усиление экспрессии nNOS и продукции NO было также продемонстрировано в экспериментальных моделях СРК [63–65], а также в клинических исследованиях у пациентов с СРК [66, 67]. Так, экспрессия nNOS и концентрация NO повышались в тканях толстой кишки у мышей и крыс в модели СРК-Д, вызванной неонатальной материнской депривацией [63–65], а уровень экспрессии

nNOS позитивно коррелировал с клиническими симптомами диареи [65]. При этом уровни экспрессии eNOS и iNOS в толстой кишке не отличались от контрольных животных [64]. Действительно, среди трех типов NOS экспрессия только nNOS коррелирует со стрессом [68].

Отличительным признаком СРК является слабовыраженное воспаление, обусловленное повышением экспрессии провоспалительных цитокинов (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR7, IL-1 β , и MCP1) [63], а также наличие окислительного стресса [64]. Повышение экспрессии тирозингидроксилазы в мозговом веществе надпочечников и ткани тонкого и толстого кишечника указывает на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в результате хронического стресса с последующим выделением глюкокортикоидов [69]. Можно предположить, что хронический стресс и умеренное воспаление приводят к усилению экспрессии nNOS в ткани тонкого кишечника при СРК-Д [65].

Ранее нами было показано взаимодействие NO и H₂S в регуляции моторики тощей кишки крыс, где ингибиторные эффекты H₂S полностью сохранялись на фоне действия L-NAME, а в присутствии донора NO были выражены в меньшей степени [37]. Было выявлено, что K⁺-каналы входящего выпрямления, включая K_{ir} и K_{ATP}-каналы, являются общими мишенями действия обоих газов, поэтому предварительное воздействие NO предотвращало расслабляющие эффекты донора H₂S [15, 23, 70]. Активация K_{ir}-каналов, включая K_{ATP}-каналы на мембране гладкомышечных клеток, приводит к гиперполяризации мембраны, снижению входа ионов кальция и расслаблению гладкой мускулатуры [23, 40, 70, 71]. Механизмы действия H₂S включают восстановление дисульфидных связей, а также S-сульфидрирование (присоединение –SH-групп к цистеиновым остаткам), которые модифицируют белки ионных каналов или ферментов, изменяя их активность, и таким образом влияют на клеточные функции [71]. S-нитрозилирование является основным молекулярным механизмом действия NO в ЖКТ [72–74], поэтому можно предположить, что повышение уровня эндогенного NO в условиях СРК будет модифицировать K⁺-каналы, препятствуя их активации экзогенным донором H₂S. При этом на фоне ингибирования NOS наблюдалось частичное восстановление эффекта NaHS, что подтверждает нашу гипотезу [40].

Поскольку на фоне донора NO ингибирующие эффекты H₂S ослабляются, можно предположить, что избыток NO в используемой нами модели СРК приводит к снижению синтеза H₂S и чувствительности ткани тощей кишки к расслабляющему действию H₂S, что может потенциально приводить к усилению перистальтики кишечника при данной патологии [27, 63].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем исследовании показано изменение регуляции спонтанной сократительной активности газомедиаторами – H₂S и NO препарата тощей кишки крыс в условиях моделирования СРК. Выявлено усиление экспрессии nNOS и повышение концентрации нитритов в ткани тощей кишки, что может служить как компенсаторным фактором, препятствующим воспалению и окислительному стрессу, так и оказывать повреждающее действие на энтероциты, гладкомышечные клетки, усиливая продукцию АФК и вызывая модификацию белков путем S-нитрозилирования [35, 36]. Выявлено отсутствие ингибиторного эффекта донора H₂S в условиях моделирования СРК наряду со снижением экспрессии/активности CBS и концентрации сульфидов в тканях тощей кишки. Можно предположить, что при СРК вследствие избыточного синтеза NO происходит снижение активности/экспрессии CBS, а также изменения сигнальных путей и/или мишеней, через которые действует H₂S, что приводит к нарушению моторики тощей кишки при СРК и обуславливает симптомы усиления перистальтики при СРК-Д. Дальнейшие

исследования механизмов нарушения сократимости различных отделов ЖКТ при СРК и других заболеваний ЖКТ будут способствовать разработке мер профилактики или лечения желудочно-кишечной дисмоторики, которая является осложнением, связанным со многими желудочно-кишечными заболеваниями.

ВКЛАД АВТОРОВ

С. Д. М. – проведение экспериментов, первичная обработка результатов экспериментов, статистический анализ данных, написание рукописи. Ш. И. Ф. – статистический анализ данных, написание рукописи, подготовка иллюстраций. Х. Н. Н. – статистический анализ данных, редактирование рукописи. Л. А. С. – статистический анализ данных, редактирование рукописи. С. Ф. Г. – редактирование рукописи. С. Г. Ф. – идея работы, редактирование рукописи.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Этическим комитетом Казанского федерального университета (протокол № 33 от 25.11.2021 г.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы настоящей работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Spiller R, Garsed K* (2009) Infection, inflammation, and the irritable bowel syndrome. *Dig Liver Dis* 41: 844–849.
<https://doi.org/10.1016/j.dld.2009.07.007>
2. *Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R* (2016) The role of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: Pharmacological targets and novel treatments. *J Neurogastroenterol Motil* 22: 558–574.
<https://doi.org/10.5056/jnm16001>
3. *Luo M, Zhuang X, Tian Z, Xiong L* (2021) Alterations in short-chain fatty acids and serotonin in irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol* 21: 14.
<https://doi.org/10.1186/s12876-020-01577-5>
4. *Zhuang X, Tian Z, Li L, Zeng Z, Chen M, Xiong L* (2018) Fecal microbiota alterations associated with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Front Microbiol* 9: 1600.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01600>
5. *Zhao Y, Zou DW* (2023) Gut microbiota and irritable bowel syndrome. *J Dig Dis* 24: 312–320.
<https://doi.org/10.1111/1751-2980.13204>
6. *Chuah KH, Hian WX, Lim SZ, Beh KH, Mahadeva S* (2023) Impact of small intestinal bacterial overgrowth on symptoms and quality of life in irritable bowel syndrome. *J Dig Dis* 24: 194–202.
<https://doi.org/10.1111/1751-2980.13189>
7. *Aggeletopoulou I, Triantos C* (2024) Microbiome Shifts and Their Impact on Gut Physiology in Irritable Bowel Syndrome. *Int J Mol Sci* 25. (22): 12395.
<https://doi.org/10.3390/ijms252212395>
8. *Wang C, Fang X* (2021) Inflammation and overlap of irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. *J Neurogastroenterol Motil* 27: 153–164.
<https://doi.org/10.5056/JNM20175>

9. Emmanuel A, Raeburn A (2011) Small intestine and colon motility. *Medicine (Baltimore)* 39: 218–223.
<https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2011.01.002>
10. Pimentel M, Saad RJ, Long MD, Rao SSC (2020) ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Am J Gastroenterol* 115: 165–178.
<https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000501>
11. Pyleris E, Tzivras D, Barbatzas C, Giamarellos-Bourboulis EJ, Koussoulas V, Pimentel M (2012) The prevalence of overgrowth by aerobic bacteria in the small intestine by small bowel culture: Relationship with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 57: 1321–1329.
<https://doi.org/10.1007/s10620-012-2033-7>
12. Takakura W, Pimentel M (2020) Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Irritable Bowel Syndrome – An Update. *Front Psychiatry* 11: 664.
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00664>
13. Shaidullov I, Bouchareb D, Sorokina D, Sitdikova G (2025) Nitric oxide in the mechanisms of inhibitory effects of sodium butyrate on colon contractions in a mouse model of irritable bowel syndrome. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 398: 1905–1914.
<https://doi.org/10.1007/s00210-024-03403-1>
14. Shaidullov IF, Shafigullin MU, Gabitova LM, Sitdikov FG, Zefirov AL, Sitdikova GF (2018) Role of Potassium Channels in the Effects of Hydrogen Sulfide on Contractility of Gastric Smooth Muscle Cells in Rats. *J Evol Biochem Physiol* 54: 400–407.
<https://doi.org/10.1134/s0022093018050083>
15. Sorokina DM, Shaidullov IF, Gizzatullin AR, Sitdikov FG, Sitdikova GF (2023) The Roles of Nitric Oxide and Calcium Ions in the Effects of Hydrogen Sulfide on the Contractile Activity of the Rat Jejunum. *Biophysics* 68: 836–843.
<https://doi.org/10.1134/S0006350923050287>
16. Li YR, Li Y, Jin Y, Xu M, Fan HW, Zhang Q, Tan GH, Chen J, Li YQ (2022) Involvement of nitrergic neurons in colonic motility in a rat model of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 28: 3854–3868.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i29.3854>
17. Singer-Englar T, Rezaie A, Gupta K, Pichetshote N, Sedighi R, Lin E, Chua KS, Pimentel M (2018) 1089 – A Novel 4-Gas Device for Breath Testing Shows Exhaled H₂S is Associated with Diarrhea and Abdominal Pain in a Large Scale Prospective Trial. *Gastroenterology* 154: S-213.
[https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(18\)31104-1](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(18)31104-1)
18. Gabitova DM, Shaidullov IF, Sabirullina GI, Shafigullin MU, Sitdikov FG, Sitdikova GF (2017) Role of Cyclic Nucleotides in the Effect of Hydrogen Sulfide on Contractions of Rat Jejunum. *Bull Exp Biol Med* 163: 14–17.
<https://doi.org/10.1007/s10517-017-3726-x>
19. Meng XM, Huang X, Zhang CM, Liu DH, Lu HL, Kim YC, Xu WX (2015) Hydrogen sulfide-induced enhancement of gastric fundus smooth muscle tone is mediated by voltage-dependent potassium and calcium channels in mice. *World J Gastroenterol* 21: 4840–4851.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i16.4840>
20. Liu Y, Luo H, Liang C, Xia H, Xu W, Chen J, Chen M (2013) Actions of Hydrogen Sulfide and ATP-Sensitive Potassium Channels on Colonic Hypermotility in a Rat Model of Chronic Stress. *PLoS One* 8: e55853.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055853>
21. Xiao A, Liu C, Li J (2021) The Role of H₂S in the Gastrointestinal Tract and Microbiota. *Adv Exp Med Biol* 1315: 67–98.
https://doi.org/10.1007/978-981-16-0991-6_4
22. Yao CK, Sarbagili-Shabat C (2023) Gaseous metabolites as therapeutic targets in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 29: 682–691.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i4.682>
23. Szabó C (2007) Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov* 6: 917–935.
<https://doi.org/10.1038/nrd2425>
24. 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: 2805–2817.
<https://doi.org/10.1111/bph.13918>

25. *Linden DR, Levitt MD, Farrugia G, Szurszewski JH* (2010) Endogenous production of H₂S in the gastrointestinal tract: Still in search of a physiologic function. *Antioxidants Redox Signal* 12: 1135–1146.
<https://doi.org/10.1089/ars.2009.2885>
26. *Birg A, Lin HC* (2025) The Role of Bacteria-Derived Hydrogen Sulfide in Multiple Axes of Disease. *Int J Mol Sci* 26(7): 3340.
<https://doi.org/10.3390/ijms26073340>
27. *Lu Y, Huang J, Zhang Y, Huang Z, Yan W, Zhou T, Wang Z, Liao L, Cao H, Tan B* (2021) Therapeutic Effects of Berberine Hydrochloride on Stress-Induced Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome Rats by Inhibiting Neurotransmission in Colonic Smooth Muscle. *Front Pharmacol* 12: 2498.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.596686>
28. *Wallace JL, Ianaro A, de Nucci G* (2017) Gaseous Mediators in Gastrointestinal Mucosal Defense and Injury. *Dig Dis Sci* 62: 2223–2230.
<https://doi.org/10.1007/s10620-017-4681-0>
29. *Paragomi P, Rahimian R, Kazemi MH, Gharedaghi MH, Khalifeh-Soltani A, Azary S, Javidan AN, Moradi K, Sakuma S, Dehpour AR* (2014) Antinociceptive and antidiarrheal effects of pioglitazone in a rat model of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome: Role of nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 41: 118–126.
<https://doi.org/10.1111/1440-1681.12188>
30. *Masliukov PM, Moiseev K, Budnik AF, Nozdrachev AD, Timmermans JP* (2017) Development of Calbindin- and Calretinin-Immunopositive Neurons in the Enteric Ganglia of Rats. *Cell Mol Neurobiol* 37: 1257–1267.
<https://doi.org/10.1007/s10571-016-0457-x>
31. *Masliukov PM, Budnik AF, Nozdrachev AD* (2017) Neurochemical Features of Metasympathetic System Ganglia in the Course of Ontogenesis. *Adv Gerontol* 7: 281–289.
<https://doi.org/10.1134/S2079057017040087>
32. *Brüne B* (2003) Nitric oxide: NO apoptosis or turning it ON? *Cell Death Differ* 10: 864–869.
<https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401261>
33. *Barrachina M, Panes J, Esplugues J* (2005) Role of Nitric Oxide in Gastrointestinal Inflammatory and Ulcerative Diseases: Perspective for Drugs Development. *Curr Pharm Des* 7: 31–48.
<https://doi.org/10.2174/1381612013398491>
34. *Sen N, Hara MR, Kornberg MD, Cascio MB, Bae B Il, Shahani N, Thomas B, Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH, Sawa A* (2008) Nitric oxide-induced nuclear GAPDH activates p300/CBP and mediates apoptosis. *Nat Cell Biol* 10: 866–873.
<https://doi.org/10.1038/ncb1747>
35. *Ramachandran A, Madesh M, Balasubramanian KA* (2000) Apoptosis in the intestinal epithelium: Its relevance in normal and pathophysiological conditions. *J Gastroenterol Hepatol* 15: 109–120.
<https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2000.02059.x>
36. *Upperman JS, Potoka D, Grishin A, Hackam D, Zamora R, Ford HR* (2005) Mechanisms of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure in necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 14: 159–166.
<https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2005.05.004>
37. *Vicente JB, Colaço HG, Mendes MIS, Sarti P, Leandro P, Giuffrè A* (2014) NO• binds human cystathionine β-synthase quickly and tightly. *J Biol Chem* 289: 8579–8587.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.507533>
38. *Giuffrè A, Vicente JB* (2018) Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology. *Oxid Med Cell Longev* 2018: 6290931.
<https://doi.org/10.1155/2018/6290931>
39. *Shaidullov IF, Sorokina DM, Sidikov FG, Hermann A, Abdulkhakov SR, Sidikova GF* (2021) Short chain fatty acids and colon motility in a mouse model of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 21: 37.
<https://doi.org/10.1186/s12876-021-01613-y>
40. *Sorokina DM, Shaidullov IF, Buchareb D, Sidikov FG, Sidikova GF* (2023) Effect of Hydrogen Sulphide on Spontaneous Contractions of the Rat Jejunum. Role of Ky-, Kca-, and Kir-Channels. *Biol Membr* 40: 432–442.
<https://doi.org/10.31857/S0233475523060099>

41. *Nalli AD, Rajagopal S, Mahavadi S, Grider JR, Murthy KS* (2015) Inhibition of rhoa-dependent pathway and contraction by endogenous hydrogen sulfide in rabbit gastric smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 308: 485–495.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00280.2014>
42. *Murthy KS, Zhou H, Grider JR, Makhoulf GM* (2003) Inhibition of sustained smooth muscle contraction by PKA and PKG preferentially mediated by phosphorylation of RhoA. *Am J Physiol – Gastrointest Liver Physiol* 284(6): G1006–G1016.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00465.2002>
43. *Temiz TK, Demir O, Simsek F, Kaplan YC, Bahceci S, Karadas B, Celik A, Koyluoglu G* (2016) Effect of nitrenergic system on colonic motility in a rat model of irritable bowel syndrome. *Indian J Pharmacol* 48: 424–429.
<https://doi.org/10.4103/0253-7613.186189>
44. *Huang C, Hu Y, Sun S, Li H, Zhuang Z, Lv B* (2023) Effects of nNOS inhibition on the *Escherichia coli* and butyrate-producing bacteria in IBS rats with visceral hypersensitivity. *Res Square* V1: Preprint.
<https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-2964008/V1>
45. *Holtmann GJ, Ford AC, Talley NJ* (2016) Pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Lancet Gastroenterol. Hepatology* 1: 133–146.
46. *Enck P, Aziz Q, Barbara G, Farmer AD, Fukudo S, Mayer EA, Niesler B, Quigley EMM, Rajilić-Stojanović M, Schemann M, Schwille-Kiuntke J, Simren M, Zipfel S, Spiller RC* (2016) Irritable bowel syndrome. *Nat Rev Dis Prim* 2: 16014.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.14>
47. *Low EXS, Al Mandhari MNK, Herndon CC, Loo EXL, Tham EH, Siah KTH* (2020) Parental, perinatal, and childhood risk factors for development of irritable bowel syndrome: A systematic review. *J Neurogastroenterol Motil* 26: 437–446.
<https://doi.org/10.5056/jnm20109>
48. *Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJY* (2007) Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol – Gastrointest Liver Physiol* 292(3): G849–G856.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00400.2006>
49. *Zheng Z, Tang J, Hu Y, Zhang W* (2022) Role of gut microbiota-derived signals in the regulation of gastrointestinal motility. *Front Med* 9: 961703.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2022.961703>
50. *Singh SV, Ganguly R, Jaiswal K, Yadav AK, Kumar R, Pandey AK* (2023) Molecular signalling during cross talk between gut brain axis regulation and progression of irritable bowel syndrome: A comprehensive review. *World J Clin Cases* 11: 4458–4476.
<https://doi.org/10.12998/wjcc.v11.i19.4458>
51. *Singh R, Zogg H, Wei L, Bartlett A, Ghoshal UC, Rajender S, Ro S* (2021) Gut microbial dysbiosis in the pathogenesis of gastrointestinal dysmotility and metabolic disorders. *J Neurogastroenterol Motil* 27: 19–34.
<https://doi.org/10.5056/JNM20149>
52. *Lin M, Hu G, Yu B* (2023) Dysregulated cystathionine- β -synthase/hydrogen sulfide signaling promotes chronic stress-induced colonic hypermotility in rats. *Neurogastroenterol Motil* 35: e14488.
<https://doi.org/10.1111/NMO.14488>
53. *Chen S, Zuo S, Zhu J, Yue T, Bu D, Wang X, Wang P, Pan Y, Liu Y* (2019) Decreased Expression of Cystathionine β -Synthase Exacerbates Intestinal Barrier Injury in Ulcerative Colitis. *J Crohn's Colitis* 13: 1067–1080.
54. *Taniguchi E, Matsunami M, Kimura T, Yonezawa D, Ishiki T, Sekiguchi F, Nishikawa H, Maeda Y, Ishikura H, Kawabata A* (2009) Rhodanese, but not cystathionine- γ -lyase, is associated with dextran sulfate sodium-evoked colitis in mice: A sign of impaired colonic sulfide detoxification? *Toxicology* 264: 96–103.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.07.018>
55. *Wallace JL, Vong L, McKnight W, Dicay M, Martin GR* (2009) Endogenous and Exogenous Hydrogen Sulfide Promotes Resolution of Colitis in Rats. *Gastroenterology* 137(2): 569–578.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.012>

56. *De Cicco P, Sanders T, Cirino G, Maloy KJ, Ianaro A* (2018) Hydrogen sulfide reduces myeloid-derived suppressor cell-mediated inflammatory response in a model of *Helicobacter hepaticus*-induced colitis. *Front Immunol* 9: 351402.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00499>
57. *Oh GS, Pae HO, Lee BS, Kim BN, Kim JM, Kim HR, Jeon SB, Jeon WK, Chae HJ, Chung HT* (2006) Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor- κ B via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Free Radic Biol Med* 41: 106–119.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.03.021>
58. *Stummer N, Weghuber D, Feichtinger RG, Huber S, Mayr JA, Kofler B, Neureiter D, Klieser E, Hochmann S, Lauth W, Schneider AM* (2022) Hydrogen Sulfide Metabolizing Enzymes in the Intestinal Mucosa in Pediatric and Adult Inflammatory Bowel Disease. *Antioxidants* 11(11): 2235.
<https://doi.org/10.3390/antiox11112235>
59. *Wallace JL, Dicay M, McKnight W, Martin GR* (2007) Hydrogen sulfide enhances ulcer healing in rats. *FASEB J* 21: 4070–4076.
<https://doi.org/10.1096/fj.07-8669com>
60. *Minamishima S, Bougaki M, Sips PY, De Yu J, Minamishima YA, Elrod JW, Lefer DJ, Bloch KD, Ichinose F* (2009) Hydrogen sulfide improves survival after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation via a nitric oxide synthase 3-dependent mechanism in mice. *Circulation* 120: 888–896.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.833491>
61. *Nalli AD, Bhattacharya S, Wang H, Kendig DM, Grider JR, Murthy KS* (2017) Augmentation of cGMP/PKG pathway and colonic motility by hydrogen sulfide. *Am J Physiol – Gastrointest Liver Physiol* 313: G330–G341.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00161.2017>
62. *Martinez-Cutillas M, Gil V, Mañé N, Clavé P, Gallego D, Martin MT, Jimenez M* (2015) Potential role of the gaseous mediator hydrogen sulphide (H₂S) in inhibition of human colonic contractility. *Pharmacol Res* 93: 52–63.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.01.002>
63. *Jang DE, Bae JH, Chang YJ, Lee YH, Nam KT, Kim IY, Seong JK, Lee YC, Yeom SC* (2018) Neuronal Nitric Oxide Synthase Is a Novel Biomarker for the Interstitial Cells of Cajal in Stress-Induced Diarrhea-Dominant Irritable Bowel Syndrome. *Dig Dis Sci* 63: 619–627.
<https://doi.org/10.1007/s10620-018-4933-7>
64. *Tjong YW, Ip SP, Lao L, Wu J, Fong HHS, Sung JJY, Berman B, Che CT* (2011) Role of neuronal nitric oxide synthase in colonic distension-induced hyperalgesia in distal colon of neonatal maternal separated male rats. *Neurogastroenterol Motil* 23(7): 666–e278.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2011.01697.x>
65. *Han JP, Lee JH, Lee GS, Koo OJ, Yeom SC* (2021) Positive correlation between nnos and stress-activated bowel motility is confirmed by in vivo hibit system. *Cells* 10(5): 1028.
<https://doi.org/10.3390/cells10051028>
66. *Reinders CI, Herulf M, Ljung T, Hollenberg J, Weitzberg E, Lundberg JO, Hellström PM* (2005) Rectal mucosal nitric oxide in differentiation of inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 3: 777–783.
[https://doi.org/10.1016/S1542-3565\(05\)00182-5](https://doi.org/10.1016/S1542-3565(05)00182-5)
67. *Yazar A, Büyükaşpar K, Polat G, Pata C, Kanýk A, Tiftik EN, Baddatodlu Ö* (2005) The urinary 5-hydroxyindole acetic acid and plasma nitric oxide levels in irritable bowel syndrome: A preliminary study. *Scott Med J* 50: 27–29.
<https://doi.org/10.1177/003693300505000111>
68. *Wang J, Li J, Yu M, Wang Y, Ma Y* (2019) An enhanced expression of hypothalamic neuronal nitric oxide synthase in a rat model of simulated transport stress. *BMC Vet Res* 15: 323.
<https://doi.org/10.1186/S12917-019-2071-X>
69. *Zhu LJ, Liu MY, Li H, Liu X, Chen C, Han Z, Wu HY, Jing X, Zhou HH, Suh H, Zhu DY, Zhou QG* (2014) The different roles of glucocorticoids in the hippocampus and hypothalamus in chronic stress-induced HPA axis hyperactivity. *PLoS One* 9: e97689.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097689>
70. *Kasperek MS, Linden DR, Farrugia G, Sarr MG* (2012) Hydrogen sulfide modulates contractile function in rat jejunum. *J Surg Res* 175: 234–242.
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.03.069>

71. Wang Y, Qu R, Hu S, Xiao Y, Jiang X, Xu GY (2012) Upregulation of Cystathionine β -Synthetase Expression Contributes to Visceral Hyperalgesia Induced by Heterotypic Intermittent Stress in Rats. *PLoS One* 7: e53165.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053165>
72. Savidge TC (2014) Importance of NO and its related compounds in enteric nervous system regulation of gut homeostasis and disease susceptibility. *Curr Opin Pharmacol* 19: 54–60.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.07.009>
73. Fung C, Vanden Berghe P (2020) Functional circuits and signal processing in the enteric nervous system. *Cell Mol Life Sci* 77: 4505–4522.
<https://doi.org/10.1007/s00018-020-03543-6>
74. Miranda MR, Vestuto V, Molledo O, Manfra M, Campiglia P, Pepe G (2023) The Ion Channels Involved in Oxidative Stress-Related Gastrointestinal Diseases. *Oxygen* 3: 336–365.
<https://doi.org/10.3390/oxygen3030022>

Effects of Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide on Rat Jejunum Contractions in a Model of Irritable Bowel Syndrome

D. M. Sorokina^{a,*}, I. F. Shaidullova^a, N. N. Khaertdinov^a, A. S. Lifanova^a,
F. G. Sitdikov^a, and G. F. Sitdikova^a

^aKazan Federal University, Kazan, Russia

*e-mail: dinagabita@mail.ru

Irritable bowel syndrome (IBS) is a functional, multifactorial gastrointestinal disorder that is characterized by impaired intestinal motility and visceral hypersensitivity. The aim of the study was to analyze the effect of H₂S and NO on spontaneous contractions of the jejunum in a rat model of IBS. The IBS was induced by neonatal maternal deprivation and verified by assessing visceral hypersensitivity. Spontaneous contractions of an isolated rat jejunum were recorded under isometric conditions. In a rat model of IBS, the amplitude of spontaneous contractions and the tonus were lower than in the control group, without changing the frequency of spontaneous contractions. The H₂S donor, sodium hydrosulfide (NaHS), had an inhibitory effect on jejunum contractions in the control, but this effects of NaHS were not manifested in the IBS group. The NO donor, sodium nitroprusside (SNP), caused inhibition of the amplitude in both groups, reduced the inhibitory effects of NaHS in the control group, while in the IBS group the effects of NaHS were not observed. The nitric oxide synthase (NOS) inhibitor, L-NAME, increased the amplitude of spontaneous contractions in both groups, with more pronounced effects in the IBS group. Under conditions of NOS inhibition, the inhibitory effect of NaHS on the amplitude of spontaneous contractions was restored in the IBS group. In the IBS group, the expression of cystathionine- β -synthase (CBS), the level of sulfides and the activity of H₂S-synthesizing enzymes in the rat jejunum tissues were lower, while the expression of nNOS and the concentration of NO metabolites were increased compared to the control. It has been suggested that in IBS, due to excessive NO synthesis, changes occur in the signaling pathways and/or targets through which H₂S acts, which leads to changes in jejunal motility in IBS and causes symptoms of increased peristalsis in IBS with diarrhea (IBS-D).

Keywords: hydrogen sulfide, nitric oxide, contractile activity, irritable bowel syndrome, jejunum