

ПАМ'ЯТНІ ДАТИ

І.А. Владимирова, І.Б. Філіппов

Внесок академіка М.Ф. Шуби в розуміння механізмів синаптичної передачі в гладеньких м'язах

30 жовтня 2013 р. виповнилося б 85-років з дня народження всесвітньо відомого українського вченого, академіка НАН України, завідувача відділу нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, двічі лауреата Державної премії України Михайла Федоровича Шуби. Вся наукова діяльність М.Ф. Шуби була присвячена дослідженню механізмів функціонування гладеньких м'язів на клітинному та молекулярному рівнях – напрямку, який зародився в середині 50-х років минулого сторіччя і завдячує своєму становленню і сучасному рівню розвитку таким корифеям фізіологічної науки, як Едіт Бюлбрінг, Тадао Томіта, Хіроші Куріяма, Джефрі Бернсток, Молі Холман, Чен Као, Ендрю Сомліо, Рік Кастіліз та інші. Поряд з цими іменами по-праву стоїть імя Михайла Шуби.

Як усе розпочиналось

Свої дослідження в галузі фізіології гладеньких м'язів М.Ф. Шуба розпочав зразу після захисту кандидатської дисертації у 1958 р. працюючи у відділі електрофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця АН УРСР (тепер НАН України) під керівництвом видатного електрофізіолога, вченого і прекрасної людини, Данила Семеновича Воронцова. Досвід і далекоглядність сивочолого академіка помножені на вміння, працелюбність і ентузіазм молодого кандидата наук дали змогу фактично з нуля підняти новий напрямок досліджень в Інституті – фізіологію гладень-

ких м'язів. Завдяки зусиллям М.Ф. Шуби і його невеликої групи ці дослідження просувалися настільки успішно, що постало питання про створення в Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця спеціалізованого відділу, роботи якого цілком були б зосереджені на з'ясуванні механізмів збудження–скорочення гладеньких м'язів і нервово-м'язової передачі. У 1969 р. такий відділ під керівництвом уже на той час молодого доктора наук М.Ф. Шуби було створено. Цей відділ став унікальним осередком з вивчення гладеньких м'язів на теренах колишнього СРСР, а дослідження, які в ньому проводилися, досягли такого рівня, що почали визначати напрямок розвитку цього розділу фізіології у світі.

У своїх ранніх працях (1958–1961) М.Ф. Шуба вперше описав явище “фізичного електротону” в гладеньких м'язах і на цій основі запропонував теорію кабельної будови гладеньких м'язів. Це відкриття дало змогу розробити принципово нову концепцію розповсюдження електричних сигналів у гладком'язовій тканині як у свого роду “електричному синцитію”, в якому окремі гладком'язві клітини (ГМК) з'єднані між собою за допомогою електропровідних низькоомних контактів [7]. Такий принциповий прорив у розумінні електрозбудливості гладком'язової тканини став можливим завдяки використанню передових методичних підходів електрофізіологічного дослідження, зокрема, метода сахарозного містка, який у відділі постійно удосконалювався для отрим-

© І.А. Владимирова, І.Б. Філіппов

мання все більш якісних відведень електричних сигналів [1].

Апамін – ключ для розуміння медіаторної природи нервової регуляції гладеньких м'язів

Знання про механізми нервового контролю скорочення гладеньких м'язів є надзвичайно важливими для розуміння регуляції рухової активності гладеньких м'язів внутрішніх органів. Тому не випадково, що Михайло Федорович приділяв велике значення вивченню нервово-м'язової передачі в гладеньких м'язах.

Поодинокі електричні подразнення нервових утворень, що знаходяться у товщі гладеньких м'язів стінки шлунково-кишкового тракту (ШКТ), завжди супроводжується виникненням збуджувальних, або гальмівних синаптичних потенціалів (ЗСП або ГСП). Відомо, що збуджувальні синаптичні потенціали вісцеральних м'язів холінергічної природи, в той час як гальмівні – нехолінергічної та неадренергічної природи. Синаптичні потенціали, які генеруються в присутності холіно- і адреноблокаторів, і медіаторна природа яких залишалася довгий час невідомою, отримали назву неадренергічних і нехолінергічних (НАНХ). І тільки у 1978 р., через 15 років після відкриття НАНХ гальмування, нам уперше вдалося ефективно і зворотньо заблокувати ГСП в гладеньких м'язах шлунково-кишкового тракту за допомогою апаміна – поліпептида із бджолиної отрути [3]. Подальші дослідження показали, що апамін вибірково блокує синаптичну передачу та гіперполяризувальну дію екзогенної АТФ і норадреналіну в інтестинальних гладеньких м'язах (рис. 1) [2, 3, 4, 28, 29]. За ініціативою тодішнього директора нашого Інституту, вельми освіченого і далекоглядного вченого, академіка П.Г.Костюка нами використався апамін, який був синтезований і наданий Інституту докт. хім. наук А.І. Мірошниковим з Інституту біоорганічної хімії АН СРСР (Москва), що свідчить про плідне наукове співробітництво двох Інститутів колишнього Союзу.

Завдяки апаміну було виявлено не тільки блокування синаптичної та АТФ-викликаної гіперполяризації мембрани ГМК, а і вперше показано існування нехолінергічних ЗСП та деполяризуючої дії АТФ.

У зв'язку з тим, що апамін переважно блокував тільки першу, швидку фазу ГСП гладеньких м'язів усіх відділів кишечника (див. рис. 1,а), можна було припустити, що перша фаза ГСП зумовлена безпосередньою дією АТФ як нейропередатчика, вивільненого з нервових закінчень, тоді як друга – дією аденозина, що виникає в результаті розщеплення АТФ. Хоч припущення про роль аденозину згодом не підтвердилось, але воно дало поштовх нашим подальшим пошукам.

Слід зазначити, що дослідження медіаторної та іонної природи двох компонентів ГСП у гладеньких м'язах ШКТ були нами проведені у співробітництві з проф. Джефрі Бернстоком в Університетському коледжі Лондона. Дж. Бернсток є прикладом унікального вченого, який не тільки вперше відкрив ефективне НАНХ-гальмування інтестинальних гладеньких м'язів і висунув теорію його пуринергічної природи [21], а і фактично став засновником сучасної концепції пуринергічної сигналізації. Він запропонував класифікацію пуринорецепторів, об'єднавши рецептори АТФ в так званій Р2-тип, який у свою чергу розпадається на два підтипи – Р2Х, що являють собою АТФ-керований іонний канал, та Р2У, які впливають на свої ефектори через G-білки [17, 22].

Саме завдяки нашому співробітництву з Дж. Бернстоком було показано, що друга фаза синаптичного гальмування не пов'язана з активацією аденозинових пуринорецепторів Р1-типу на постсинаптичній мембрані ГМК, а має іншу медіаторну природу [25].

Детальне дослідження впливу інтрамуральних нервових волокон різних відділів ШКТ тварин і людини дали змогу виявити як загальні властивості, так і деякі видові особливості цієї синаптичної передачі. Михайло Федорович особливу увагу звертав на

дослідження медіаторних й іонних механізмів синаптичних потенціалів в ГМК. Для цього було застосовано фармакологічний підхід, використовуючи комбінації різних блокативних іонних каналів і рецепторів. Так, блокатор АТФ-рецепторів, сурамін, пригнічував швидкий компонент ГСП, не впливаючи на повільний [31]. Разом з даними з блокування швидкого компонента ГСП (як і АТФ-викликаного гіперполяризації) апаміном (рис. 2) це загалом підтверджувало його пуринергічну природу. Водночас чутливість другого компонента ГСП до тетраетиламонію та блокатора синтезу оксиду азоту (NO) NO-синтаз – L-NAME давала підстави вважати, що він має NO-ергічну природу [33, 35].

Дослідження фармакологічних дій апаміну показали, що він є ефективним і селективним блокатором кальційзалежних калієвих каналів малої провідності [18]. Цей факт дав нам можливість зробити висновок, що в генерації першого, швидкого АТФ-залежного компонента ГСП залучені кальційзалежні

калієві канали малої провідності. Щодо другого, повільного, NO-ергічного компонента ГСП, то ще у наших спільних експериментах з Дж. Бернстоком було показано, що цей, апамінонечутливий компонент ГСП може бути пригнічений малими концентраціями класичного калієвого блокатора тетраетиламонію (ТЕА, 2–5 ммоль/л), що свідчить про участь у його генерації інших калієвих каналів – найімовірніше кальційзалежних калієвих каналів великої провідності [4]. Пряму підтримку наявності двох типів кальційзалежних калієвих каналів (малої та великої провідності) у мембрані ГМК було отримано і в експериментах на ізольованих клітинах із застосуванням методу фіксації потенціалу [27]. Слід зазначити, що відсутність нехолінергічних ЗСП у ГМК дистального відділу товстої кишки морської свинки за наявності апаміну навряд чи можна було пояснити великими калієвими струмами тому, що за звичайних умов ці м'язи генерують спонтанні потенціали дії.

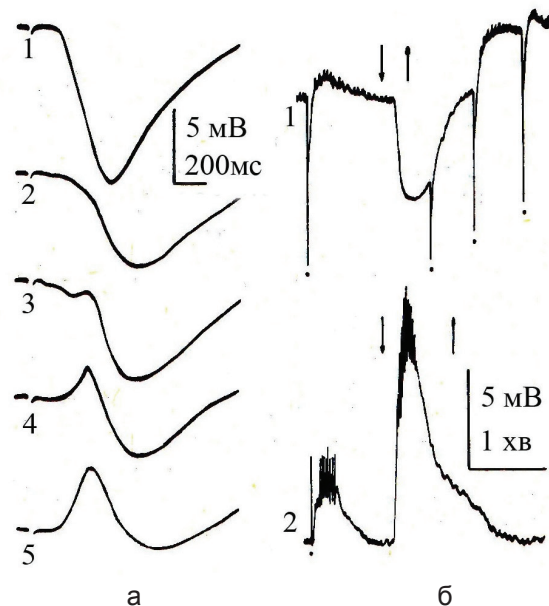


Рис. 1. Апамін-викликане пригнічення неадренергічного гальмування (а) та АТФ-викликаного гіперполяризації (б) гладком'язових клітин та епіа солі морської свинки. На а: 1 – гальмівні синаптичні потенціали гладком'язових клітин (ГСП ГМК) та АТФ-викликана гіперполяризація до дії апаміну, 2, 3, 4, 5 – після 1-, 2-, 3-, 5-ї хвилини дії апаміну (0,5 мкмоль/л) відповідно; на б: 2 – АТФ-викликана депольаризація після 20 хв дії апаміну. Стрілки вниз – момент додавання речовин у розчин Кребса, вверх – початок відмивання препарату нормальним розчином Кребса [29]

Внутрішньоклітинні сигнальні механізми регуляції гладеньких м'язів

Одним з перспективних напрямків роботи відділу, розробку якого Михайло Федорович доручив співробітнику відділу канд. біол. наук Філіппову І.Б., було дослідження залучення внутрішньоклітинних шляхів у процесі генерації синаптичних потенціалів та дію нейропередатчиків. У зв'язку з тим, що гальмівна дія АТФ на гладенькі м'язи кишечника здійснюється через метаботропні P2Y-рецептори, які спряжені з фосфоліпазою С (PLC) [26] з наступною мобілізацією кальцію, для встановлення її ролі і пов'язаних з нею внутрішньоклітинних сигнальних посередників

у механізмах генерації ГСП, використовували фармакологічне пригнічення функції PLC за допомогою U73122. Було показано (рис. 3), що U73122 зменшує амплітуду гальмівних синаптичних потенціалів ГМК незалежно від відділу кишечника. Водночас U73122 майже не змінював амплітуду нехолінергічних ЗСП і NO-ергічного компонента ГСП, вказуючи на те що функціонування PLC необхідне саме для генерації пуринергічного компонента гальмівних синаптичних потенціалів [15].

Таким чином, було виявлено два можливих сигнальних механізми генерації ГСП та АТФ-індукованої гіперполяризації через P2Y-пуринорецептори: перший, через сти-

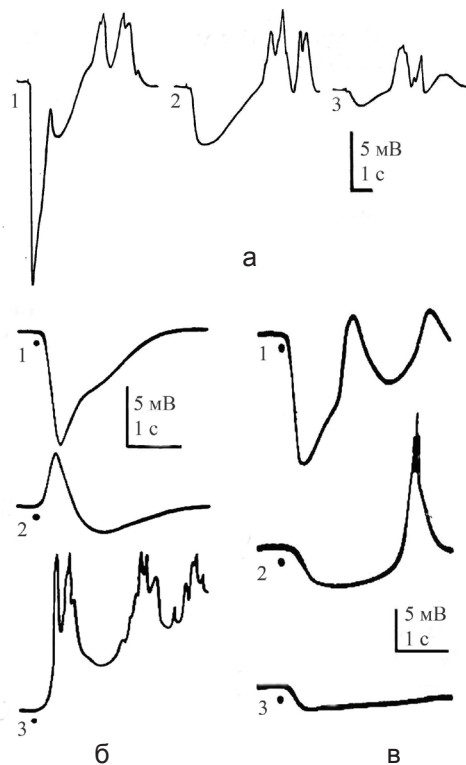


Рис. 2. Комплексна медіаторна та іонна природа гальмівних синаптичних потенціалів гладком'язових клітин шлунково-кишкового тракту. На а: 1 – двокомпонентний гальмівний синаптичний потенціал (ГСП), який виникає у відповідь на поодинокі інтрамуральне електричне подразнення гладеньких м'язів дистального відділу товстої кишки морської свинки, 2 – апаміночутливий компонент ГСП, що відводиться після блокування першого АТФ-залежного компонента апаміном (5×10^{-7} моль/л, 15 хв), 3 – синаптична відповідь при сумісній дії апаміну та блокатора NO-синтази L-NAME (10^{-4} моль/л, 12 хв) [33]. На б-в: 1 – гальмівні синаптичні потенціали гладком'язових клітин (ГСП ГМК) сліпої та товстої кишки морської свинки, 2 – апаміновикликане (5×10^{-7} моль/л, 20 хв) блокування ГСП ГМК обох відділів кишечника, 3 – апамін разом з блокатором калієвої провідності тетраетиламонієм (ТЕА, 2 ммоль/л, 10 хв). Нехолінергічні збуджувальні синаптичні потенціали (ЗСП) в ГМК сліпої кишки (б, 3) досягли порога генерації потенціалів дії, а ЗСП в гладеньких м'язах дистального відділу товстої кишки (в, 3) при сумісній дії апаміну і ТЕА не виявлені [30]

муляцію PLC, вивільнення Ca^{2+} з інозитолтрифосфат(IP_3)-чутливого внутрішньоклітинного кальцієвого депо та активації апамінчутливих кальційзалежних калієвих каналів малої провідності, а другий – з залученням NO та вивільненням Ca^{2+} з ріанодинчутливого внутрішньоклітинного кальцієвого депо, що призводить до активації кальційзалежних калієвих каналів великої провідності [30].

Багатогранність таланту Михайла Федоревича в організації наукових досліджень проявлялась у тому, що при виявленні якогось явища ним зразу ставилися завдання його подальшого поглибленого дослідження на різних рівнях з використанням найрізноманітніших методичних підходів. Так, якщо була, наприклад, показана участь вторинних посередників у пуринергічному гальмуванні,

то його одразу цікавило, а які ж механізми такого залучення? При цьому підключався весь методичний арсенал: від тензометрії на багатоклітинних препаратах, до електрофізіології й кальційметрії на ізольованих клітинах з залученням широкого спектра фармакологічних засобів. Цей підхід дав змогу показати, що за умов преактивації мускаринових М-холінорецепторів мембрани ГМК карбахоліном, АТФ-викликане розслаблення вісцеральних гладеньких м'язів перестає залежати від PLC. Однак, незважаючи на набуту PLC-незалежність АТФ-викликане розслаблення карбахолінового скорочення продовжувало здійснюватися через активацію IP_3 -чутливих рецепторів. Про це свідчило повне пригнічення гальмівної дії АТФ на тлі карбахоліндукованого скорочення після

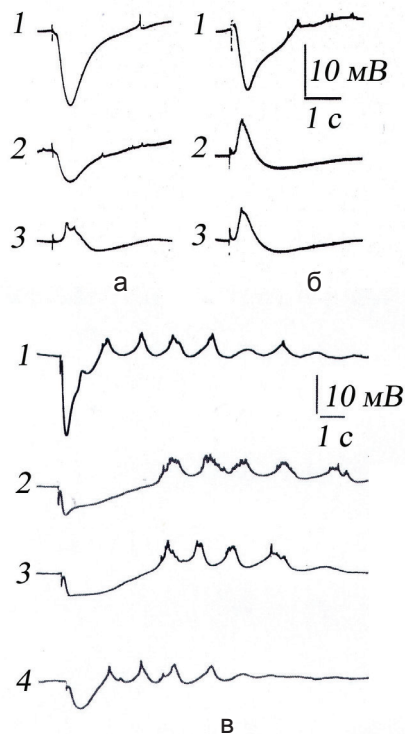


Рис. 3. Дія блокатора фосфоліпази С U73122 на гальмівні та збуджувальні потенціали та NO-ергічний компонент гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП) сліпої (а, б) та товстої (в) кишки морської свинки. На а: 1 – контроль, 2 – зменшення ГСП під дією U73122 (10^{-5} моль/л, 30 хв), 3 – сумісна дія U73122 й апаміну (5×10^{-7} моль/л, 30 хв). На б: 1 – контроль, 2 – збуджувальні синаптичні потенціали (ЗСП) на 30-й хвилині дії апаміну, 3 – резистивний ЗСП до дії U73122 (апамін та U73122). На в: 1 – контроль, 2 – апамінрезистивний компонент ГСП (апамін, 10^{-7} моль/л, 30 хв), 3 – апамінрезистивний компонент ГСП не чутливий до дії U73122 (10^{-5} моль/л, 30 хв), 4 – зменшення тривалості ГСП під впливом L-NNA (10^{-4} моль/л) за наявності U73122 [30]

преінкубації гладеньких м'язів у 100 мкмоль блокатора IP_3 -рецепторів 2-аминоетоксицифеніл борату (2-APB).

Селективне блокування або M_2 -, або M_3 -холінорецепторів супроводжується повною втратою здатності згаданого блокатора IP_3 -рецепторів (2-APB) пригнічувати АТФ-індуковане розслаблення гладеньких м'язів, що знаходяться в стані карбахоліндукованого скорочення. Можна припустити, що в умовах селективної преактивації M_2 - або M_3 -холінорецепторів механізми внутрішньоклітинної сигналізації, опосередковуючі гальмування, змінюються. За цих умов гальмівна дія нейротрансмітерів здійснюється через IP_3 -незалежний шлях, тобто, шлях що зумовлює і адренергічне, і пуринаергічне гальмування гладеньких м'язів виключається.

Таким чином, у проведених дослідженнях уперше було виявлено відмінності між клітинними механізмами гальмування гладеньких м'язів, викликаного дією екзогенної АТФ в умовах селективної активації або M_2 -, або M_3 -холінорецепторів, і механізмами розслаблювальної дії гальмівних нейропередавачів за умов сумісної синергічної активації мускаринових холінорецепторів обох згаданих підтипів [6].

Так, проведені дослідження вперше показали відмінності у механізмах АТФ-індукованого гальмування вісцеральних гладеньких м'язів за умов фізіологічної норми та на тлі збільшеного холінергічного збудження за патологічних умов. Це відкриття свідчить про пластичність механізмів внутрішньоклітинної сигналізації, спряжених з тим чи іншим мембранним рецептором, в залежності від того чи цей рецептор активований ізольовано, чи одночасно з іншими типами рецепторів.

Відомо, що контроль функціонування нервових і м'язових клітин через деякі типи поверхневих рецепторів здійснюється також завдяки їх спряженню з внутрішньоклітинною аденілатциклазною сигнальною системою. Показано, наприклад, що клоновані $P2Y_{11}$ -пуринарецептори за посередництвом

різних G-білків ($G_{q/11}$, або G_s) можуть бути двояко сполучені як з PLC, так і з аденілатциклазою (AC), яка синтезує цАМФ [19]. Зважаючи на виявлену нами складну медіаторну природу неадренергічних ГСП, ми припустили, що PLC-незалежний пуринаергічний компонент, можливо, зумовлений цАМФ-опосередкованими механізмами. Дослідження, спрямовані на перевірку цього припущення, показали, що активація AC за допомогою форсколіну не впливає на генерацію ГСП атропінізованих м'язів товстої кишки морської свинки, однак в неатропінізованих гладеньких м'язях форсколін пригнічував ГСП до такого ступеня, що у відповідь на інтрамуральне подразнення вони замість ГСП генерували M-холінергічні ЗСП. Відмінності між дією форсколіну на ГСП в атропінізованих і неатропінізованих м'язях свідчать про наявність в умовах одночасної активації M-холінорецепторів і $P2Y$ -пуринарецепторів взаємодії їх внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, що виявляється при активації AC [14]. Отже, у пуринаергічне гальмування гладеньких м'язів ШКТ виявляються злученими два мембранних фермента – PLC та AC, внаслідок взаємодії яких запускаються множинні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи. На міру участі цих ферментів може впливати вихідний функціональний стан інтестинальних гладеньких м'язів. Ці зміни завжди спрямовані на підтримання нормального функціонування органів травного тракту [15].

У 80-ті роки минулого сторіччя Михайлом Федоровичом були ініційовані дослідження, спрямовані на з'ясування особливостей перебігу синаптичних процесів у гладеньких м'язях кишечника людини. Їх результатом цих досліджень було доведення нехолінергічної, неадренергічної природи синаптичного гальмування у кільцевих та повздожних м'язях тонкої та товстої кишки людини, отримання доказів на користь медіаторної ролі АТФ у гальмівних процесах, встановлення кальційзалежної калієвої природи гальмівних

синаптичних потенціалів і виявлення особливостей генерації ГСП при окремих патологічних змінах в кишечнику, зокрема, при хворобі Гиршспрунга [9, 34]. Учні та послідовники Михайла Федоровича, зокрема докт. біол. наук О.В. Романенко та канд. біол. наук М.М. Груша, підтримали естафету клінічно-орієнтованих досліджень і успішно продовжують їх розвивати на кафедрі біології Київського медичного університету [8, 10, 11, 12, 13].

Іонна природа дії нейромедіаторів на гладенькі м'язи

Збуджувальний, чи гальмуючий ефект нейромедіаторів залежить від того, які іони беруть участь у змінах мембранної провідності, викликані дією цих медіаторів на відповідні мембранні рецептори. При цьому особливе значення для регуляції скорочення ГМК має здатність нейромедіатора індукувати вхід чи вивільнення кальцію. У вісцеральних гладеньких м'язах, зокрема у м'язах ШКТ, ацетилхолін є основним збуджувальним нейромедіатором. М.Ф. Шуба почав вивчати дію ацетилхоліну на показники електротону вісцеральних гладеньких м'язів ще у 60-х роках минулого сторіччя. При цьому особливу увагу він приділяв саме питанням іонної природи холінергічного збудження [16]. На сучасному рівні дослідження мембранних провідностей ГМК, пов'язаних з активацією підтипів мускаринових холінорецепторів, розвивав у відділі докт. біол. наук О.В. Жолос. З середини 90-х років ці дослідження переросли у предмет тісного наукового співробітництва відділу з лабораторією клінічної фармакології Госпіталю Святого Георгія при Лондонському університеті, очолюваною відомим спеціалістом в галузі фізіології, фармакології і біофізики гладеньких м'язів проф. Томасом Болтоном. Необхідно зазначити, що М.Ф. Шуба та Т. Болтон познайомилися ще у 1974 р. під час стажування обох у лабораторії проф. Едіт Бюлбрінг у Оксфордському університеті, і їх тісні наукові контакти зберігалися впродовж усього життя Михайла Фе-

доровича. У відповідних дослідженнях були встановлені пряма роль рецепторів M_2 -типу і дозвольна функція рецепторів M_3 типу в активації мускаринових катіонних каналів, а також визначена роль G-білків у передачі сигналу від рецептора та регуляції потенціалзалежності цих каналів [36, 37, 38]. Нещодавно за участю вихованців відділу О.В. Жолоса та В.В. Цвіловського з використанням «нокаутних» тварин була остаточно розшифрована молекулярна природа холінергічного збудження ГМК ШКТ, яка, як виявилось, базується на активації двох типів рецепторкерованих кальційпроникних катіонних каналів родини TRP (від англ. Transient Receptor Potential), а саме TRPC4 і TRPC6 [32]. Дослідженням того, які молекулярні системи входу, вивільнення, захоплення та виведення кальцію в ГМК регулюються тими чи іншими нейромедіаторами займалася у відділі група канд. біол. наук Д.В. Гордієнко. Такого типу дослідження могли ефективно проводитися тільки із застосуванням лазерної конфокальної мікроскопії та флуоресцентних барвників, здатних мітити як іони кальцію, так і субклітинні структури. Оскільки таке складне інструментальне забезпечення в Україні було недоступне, ці роботи також проводилися на колаборативній основі з лондонською лабораторією проф. Т. Болтона. Результатом цих робіт став опис подій локального вивільнення Ca^{2+} з саркоплазматичного (CP) ретикулума ГМК, отримання безпосередніх і деталізованих даних з наявності кальційіндукованого вивільнення кальцію (CICR) з CP різних типів ГМК, аналіз ультраструктури, просторової організації та обчислення об'єму CP свіжоізолюваних ГМК [20, 23, 24]. Було зроблено висновок, що просторова організація CP ГМК забезпечує збільшення щільності місць вивільнення Ca^{2+} у поздовжньому напрямку і таким чином сприяє розповсюдженню кальцієвих хвиль вздовж гладеньком'язової клітини під час скорочення, викликане дією медіаторів.

Клінічні аспекти досліджень

М.Ф. Шуба опікувався не тільки розвитком фундаментальних досліджень в галузі фізіології та біофізики гладеньких м'язів, а і намагався використати їх результати для розробок в прикладній медицині. Так, наприклад, із співробітникам кафедри хірургії Київського медінституту були проведені спільні дослідження синаптичної передачі, дії медіаторів та модуляторів синаптичної передачі на ізольованій смужки гладеньких м'язів шлунка, тонкої і товстої кишки людини (хворих, оперованих з приводу виразки шлунка та дванадцятипалої кишки, доброякісних і злоякісних пухлин тощо). Відомо, що оперативне втручання на органах черевної порожнини нерідко супроводжується післяопераційними парезами ШКТ. За наявними нині уявленнями, одна з причин післяопераційних парезів – посилення гальмівного впливу симпатичної нервової системи внаслідок рефлекторної активації адренергічних нейронів. У медичній

практиці для усунення цього гальмування використовують перидуральну анестезію, симпатолітики і адреноблокатори, що, однак, не завжди призводить до бажаних результатів. Вважається, що однією з можливих причин недостатньої ефективності такого лікування може бути активація стійких до дії адреноблокаторів пуринергічних нейронів ентєрального нервового сплетіння. Відсутність специфічного блокатора пуринергічного гальмування ускладнює встановлення причин післяопераційних парезів і поки не дає змоги їх усувати спрямованим впливом на цей тип гальмування.

Крім виключення адренергічного гальмування, в лікувальній практиці використовується також метод фармакологічної стимуляції моторно-евакуаторної функції ШКТ за допомогою антихолінестеразних засобів (прозерин, убретид). Однак у разі поширення запального процесу на нервові терміналі, виділення ацетилхоліну припиняється, і вве-

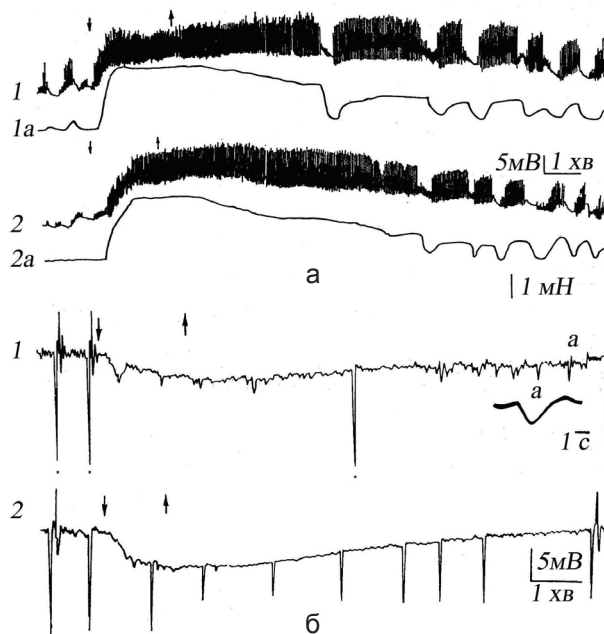


Рис. 4. Збуджувальний (а) і гальмівний (б) ефект серотоніну (10^{-6} моль/л) на гладенькі м'язи тонкої та товстої кишки людини: а – електрична (1) та скорочувальна (1а) активність м'язової смужки, тонкої кишки, відповідно, б – ідентичність ефектів серотоніну й АТФ (гіперполяризація, виникнення спонтанних і зменшення викликаних гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП) на гладком'язові клітини кільцевого шару товстої кишки (1,а – спонтанний ГСП на більшій швидкості розгортки) [5]. Стрілки вниз – момент додавання речовин у розчин Кребса, вверх – початок відмивання препарату нормальним розчином Кребса [29]

дення прозерину виявляється неефективним.

У регуляції рухової активності ШКТ, крім класичних нейромедіаторів, беруть також участь і інші фізіологічно активні речовини, що вивільнюються нейронами ентерального сплетіння. Особливої уваги заслуговує серотонін оскільки в гангліях мієнтерального сплетіння наявні серотонінергічні нейрони, що передбачає їх можливе залучення в регуляцію та модуляцію рухової активності. У порівнянні з іншими органами і тканинами організму, гладенькі м'язи травного тракту людини мають найбільш високу чутливість до дії цього аміну. Крім того, серотонін впливає на перистальтичну активність. Для встановлення механізмів дії серотоніну на гладенькі м'язи ШКТ і доцільності його застосування в клініці для лікування післяопераційних парезів Михайлом Федоровичом була ініційована спільна робота з кафедрою хірургії Київського медичного інституту ім. О.О.Богомольця з вивчення впливу цього аміну на гладенькі м'язи тонкої й товстої кишки людини.

Проведені у відділі дослідження ефектів серотоніну на гладенькі м'язи різних відділів ШКТ показали, що він викликає найбільшу збуджувальну дію у початковому відділі тонкої кишки (рис. 4). Вона слабкішає в абсорбальному напрямку і вже в початкових відділах товстої кишки збудливий ефект не проявляється зовсім (див. рис. 4). При цьому одночасне розслаблення гладеньких м'язів товстої кишки, викликане серотоніном, полегшує перистальтичну активність [5].

Проведені клінічні спостереження на більш як сотні хворих, які перенесли оперативне втручання на органах черевини і мали післяопераційні порушення моторно-евакуаторної функції травного тракту, показали, що підшкірне введення серотоніну (10 мг) на 2-гу – 3-тю добу післяопераційного періоду стимулювало перистальтичну активність і знімало здуття живота. Введення серотоніну не викликало побічних явищ з боку серцево-судинної та дихальної систем. Отже, проведені з нашою безпосередньою участю

клініко-експериментальні дослідження дали можливість рекомендувати серотонін як засіб для лікування післяопераційних парезів кишечника.

Підсумок

Академік М.Ф. Шуба є засновником школи з вивчення гладеньких м'язів в Україні та на теренах колишнього СРСР. В Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України йому вдалося створити унікальний науковий колектив, який, незважаючи на багато обмежень радянської доби і складності пострадянського періоду розвитку науки в Україні, здобув міжнародне визнання. Михайло Федорович зробив декілька важливих концептуальних кроків у фізіології гладеньких м'язів таких, як відкриття електричного зв'язку між ГМК та нехолінергічного синаптичного збудження в інтестинальних гладеньких м'язах. М.Ф. Шубою разом зі спіробітниками і учнями було показано ефективне блокування апаміном пуринергічного компонента синаптичної передачі, складну медіаторну та іонну природу неадренергічних синаптичних потенціалів, два можливих механізми генерації пуринергічного та NO-ергічного компонентів ГСП: перший - вивільнення Ca^{2+} із інозитолтрифосфатчутливого кальцієвого депо й активації апамінчутливих кальційзалежних калієвих каналів малої провідності, і другий – вивільнення Ca^{2+} із ріанодинчутливого кальцієвого депо й активації кальційзалежних калієвих каналів великої провідності, виявлено фосфоліпаза С-залежний та незалежний компоненти синаптичного гальмування, досліджено фармакобіофізичні властивості апамінчутливого компонента кальційзалежного калієвого струму ГМК, іонні механізми та кальцієву сигналізацію холінергічного збудження.

Праці акад. М.Ф. Шуби ще тривалий час будуть надихати молодих учених і досвідчених фахівців у галузі фізіології та біофізики гладеньких м'язів на нові творчі пошуки. Науковий колектив, керований Михайлом Фе-

доровичом, привернув до фізіології гладеньких м'язів багато талановитої молоді, давши змогу їй отримати відмінні дослідницькі навички та здобути наукові ступені. Дякуючи міжнародній репутації Михайла Федоровича, багатьом з його учнів вдалося продовжити кар'єру за кордоном і стати відомими міжнародними вченими. Таким чином Михайло Федорович Шуба підживлював полум'я науки та фізіології гладеньких м'язів у самій Україні й одночасно давав йому шлях для виходу на більш широкі міжнародні простори.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Артеменко Д.П., Бурый В.А., Владимірова И.А. Шуба М.Ф. Модифікація метода одиночного сахарозного мостика // *Фізіол. журн.* – 1988. – **28**, №3. – Р. 374–380.
2. Байдан Л.В., Владимірова И.А., Мирошников А.И., Таран Г.А. Действие апамина на синаптическую передачу в различных типах синапсов // *ДАН СССР.* – 1978. – **241**, №5. – Р. 1224–1227.
3. Владимірова И.А., Шуба М.Ф. Влияние стрихнина, гидрастина и апамина на синаптическую передачу в гладкомышечных клетках // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 1978. – **10**, №3. – Р. 295–299.
4. Владимірова И.А., Шуба М.Ф., Синаптические процессы в гладеньких мышцах // *Там же.* – 1984. – **16**, №3. – Р. 307–319.
5. Владимірова И.А., Вовк Е.В., Черпак Б.Д., Шуба М.Ф. Дія серотоніну на ізольовані гладенькі м'язи шлунково-кишкового тракту людини і можливість його застосування в клініці // *Фізіол. журн.* – 1986. – **32**, №6. – С. 671–680.
6. Владимірова И.А., Филиппов И.Б., Кулиева Е.М., Діскаина Ю.Б., Ганиткевич В.Я. Отличия клеточных механизмов АТФ- и норадреналин-индуцированного торможения гладеньких мышц в условиях селективной и совместной активации M_2 - или M_3 -холинорецепторов // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2007. – **39**, № 1. – Р.22–31.
7. Воронцов Д.С., Шуба М.Ф. Физический электротон нерва и мышцы / К.: *Наук. думка*, 1966. – Р. 214
8. Груша М.М., Романенко О.В. Синаптичне гальмування в гладеньких м'язах ободової кишки у людей різних вікових груп // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2012. – **4**, № 2. – С. 128–136.
9. Загороднюк В.П., Шуба М.Ф. Природа неадренергического торможения в гладеньких мышцах кишечника // *Там же.* – 1986. – **18**, № 3. – Р. 373–381.
10. Романенко О.В., Груша М.М., Фомін П.Д. Блокувальна дія піридоксаль-5'-фосфату на неадренергічне синаптичне гальмування гладеньких м'язів тонкого кишечника людини // *Фізіол. журн.* – 2006. – **52**, № 1. – С. 62–70.
11. Романенко О.В., Груша М.М. Синаптичне гальмування гладеньких м'язів ободової кишки людини та вплив на нього вітаміну B_6 і його похідних // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2006. – **38**, № 4. – С. 269–279.
12. Романенко О.В., Груша М.М. Вплив піридоксаль-5'-фосфату на синаптичне гальмування гладеньких м'язів кишки людини на фоні дії ізоніазиду // *Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія.* – 2006. – **35**, № 3. – С. 98–103.
13. Романенко А.В. Груша М.М. Действие галоперидола, клотримазола и пиридоксаль-5'-фосфата на синаптическую передачу в гладеньких мышцах ободочной кишки человека // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2007. – **9**, № 4/5 – С. 408–411.
14. Филиппов И.Б., Владимірова И.А., Ганиткевич В.Я. Шуба М.Ф. Модуляция аденилатциклазой взаимодействия возбуждающих и тормозящих синаптических влияний на гладкие мышцы // *Там же.* – 2004. – **36**, №5/6. – Р. 443–445.
15. Филиппов И.Б., Владимірова И.А., Кулиева Е.М. Шуба М.Ф. Участие вторичных внутриклеточных посредников в механизмах пуринергического торможения интестинальных гладеньких мышц // *Нейрофизиология.* – 2010. – **42**, №3. – С.192–199.
16. Шуба М.Ф. Дія ацетилхоліну на фізіологічний електротон гладеньких м'язів // *Фізіол. журнал.* – 1962. – **8**. – Р. 449–455.
17. Abbraccio M.P and Burnstock G. Purinoceptors: Are there families of P2X and P2Y purinoceptors? // *Pharmacol. Ther.* – 1994. – **64**. – Р. 445–475.
18. Banks B.E. Brown C., Burgess G.M. Burnstock G., Claret M., Cocks T.M., Jenkinson D.H. Apamin blocks certain neurotransmitter – induced increase in potassium permeability // *Nature.* – 1979. – **282**, № 5707. – Р. 415–417.
19. Boeynaems J.M., Communi D., Savi P., Herbert J.M. P2Y receptors: in the middle of the road. *Trends. Pharmacol. Sci.* – 2000. – **21**. – Р.1–3.
20. Bolton T.B., Prestwich S.A., Zholos A.V., Gordienko D.V. Excitation-contraction coupling in gastrointestinal and other smooth muscles // *Ann. Rev. Physiol.* – 1999. – **61**. – Р. 85–115.
21. Burnstock G., Campbell, G., Satchell D., Smythe A. Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic nerves in the gut // *Brit. J. Pharmacol.* – 1970. – **40**. – Р. 668–688.
22. Fredholm B.B., Abbraccio M.P., Burnstock G., Daly J.W., Harden K.T., Jacobson K.A., Leff P., Willams M. Nomenclature and classification of purinoceptors // *Pharmacol. Rev.* – 1994. – **46**. – Р. 143–156.
23. Gordienko D.V., Zholos A.V., Shuba M.F., Bolton T.B. Mechanisms of calcium signaling in smooth muscle cells explored with fluorescence confocal imaging // *Neurofiziolohiya/Neurophysiology.* – 2004. – **36**. – Р. 455–465.
24. Gordienko D.V., Harhun M.I., Kustov M.V., Pucovsky V., Bolton T.B. Sub-plasmalemmal $[Ca^{2+}]_i$ upstroke in

- myocytes of the guinea-pig small intestine evoked by muscarinic stimulation: IP₃R-mediated Ca²⁺ release induced by voltage-gated Ca²⁺ entry // *Cell Calcium*. – 2008. – **43**. – P. 122–141.
25. Hoyle C.H., Vladimirova I.A., Burnstock G. Pre- and postjunctional actions of purine and xanthine compounds in the guinea-pig caecum circular muscle // *Brit. J. Pharmacol.* – 1988 – **9**, №2. – P. 653–663.
26. Kegelgen I., Wetter A. Molecular pharmacology of P2Y receptors // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* – 1997. – **7**. – P. 310–323.
27. Povstyan A.V., Zima A. V., Harhun M.I. Shuba M.F. Properties of the apamin-sensitive component of Ca²⁺-dependent K⁺ current in smooth muscle cells of the guinea-pig taenia coli // *Neurofizyologiya / Neurophysiology*. – 2000. – **32**, № 1. – P. 63–87.
28. Shuba M.F., Vladimirova I.A. Effect of apamin on the electrical responses of smooth muscle to adenosine 5'-triphosphate and to non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation // *Neuroscience*. – 1980. – **5**. – P.853–859.
29. Shuba M.F. Vladimirova I.A. Action of apamin on nerve-muscle transmission and the effect of ATP and noradrenaline in smooth muscles // 28th International congress of physiological sciences // Budapest. – 1980. – Pergamon press. – P. 111–126.
30. Shuba M. F., Vladimirova I. A., Philyppov I. B. Mechanism of the inhibitory action of neurotransmitters on smooth muscles // *Neurofizyologiya / Neurophysiology* // 2003. – **35**, № 3/4. – P. 252–261.
31. Shuba M.F., Vladimirova I.A., Ermakova T.O., Jurkiewicz A. Mechanisms of nonadrenergic noncholinergic synaptic transmission in smooth muscle cells of the gastrointestinal tract // *Neurofizyologiya / Neurophysiology*. – 1998. – **30**, № 4/5. – P. 208–212.
32. Tsvilovskyy V.V., Zholos A.V., Aberle T. Philipp S.E., Dietrich A., Zhu M.X., Birnbaumer L., Freichel M., Flockerzi V. Deletion of TRPC4 and TRPC6 in mice impairs smooth muscle contraction and intestinal motility in vivo // *Gastroenterology*. – 2009. – **137**. – P. 1415–1424.
33. Vladimirova I.A., Zagorodnyuk V.P., Ostrovsky I.V., Sorokina Z.A., Chizhnikov I.V., Shuba M.F. Ultrasound-induced changes in synaptic processes with different transmitters in smooth muscle // *Neurofizyologiya / Neurophysiology*. – 1993. – **24**, № 4. – P. 251–255.
34. Zagorodnyuk V.H., Vladimirova I.A., Vovk E.V., Shuba M.F. Studies of the inhibitory nonadrenergic neuromuscular transmission in the smooth muscle of the normal human and from a case of Hirschsprung's disease // *J. Auton. Nerv. Syst.* – 1989. – **26**, № 4. – P. 51–60.
35. Zagorodnyuk V.P., Zima A.V., Vladimirova I.A., Shuba M.F. Nitric oxide as a nonadrenergic inhibitory transmitter in smooth muscle cells of the guinea pig gastrointestinal tract: mechanism of action // *Neurofizyologiya / Neurophysiology*. – 1994. – **26**, №2. – P. 86–91.
36. Zholos A.V., Bolton T.B. G-protein control of voltage dependence as well as gating of muscarinic metabotropic channels in guinea-pig ileum // *J. Physiol.* – 1994. – **478**. – P. 195–202.
37. Zholos A.V., Bolton T.B. Muscarinic receptor subtypes controlling the cationic current in guinea-pig ileal smooth muscle // *Brit. J. Pharmacol.* – 1997. – **122**. – P. 885–893.
38. Zholos A.V., Tsytsyura Y.D., Philyppov I.B., Shuba M.F., Bolton T.B. Voltage-dependent inhibition of the muscarinic cationic current in guinea-pig ileal cells by SK&F 96365 // *Ibid.* – 2000. – **129**, № 4. – P. 695–702.

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

Матеріал надійшов до
редакції 30.08.2013