

УДК 612.837.1

**РОЛЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
МЕЗЕНХИМАЛЬНОЙ ТКАНИ В ФОРМИРОВАНИИ
ПЕРИОДИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА**В.Б. Студницкий¹, П.Ф. Пелюх²¹Сибирский государственный медицинский университет,
г. Томск, Россия²Институт биологии НИИ физиологии
им. академика Петра Богача, Киев, Украина
E-mail: nphys@yandex.ru

Студницкий Василий Борисович, кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии СибГМУ, г. Томск.

E-mail: nphys@yandex.ru

Область научных интересов: физиология, физиология желудочно-кишечного тракта, электрофизиология гладких мышц.

Пелюх Петр Федорович, кандидат биологических наук, ст. науч. сотр. учебного научного центра Института биологии НИИ физиологии им. Петра Богача, г. Киев, Украина.

E-mail: ppelyukh@yandex.ru

Область научных интересов: физиология, физиология желудочно-кишечного тракта.

В статье рассматривается возможная роль некоторых производных мезенхимальной ткани мышечной оболочки желудочно-кишечного тракта, интерстициальных клеток Кахаля и фибробласт-подобных клеток в формировании голодной периодической деятельности и мигрирующего миоэлектрического комплекса пищеварительного канала. Показано, что интерстициальные клетки Кахаля являются пейсмекерными клетками в желудочно-кишечном тракте, а их сеть координирует электрическую и сократительную активность больших популяций гладкомышечных клеток, синхронизируя их индивидуальные осцилляторы. Фибробласт-подобные клетки в стенке пищеварительного канала формируют клеточные сети и являются электрически сопряженными между собой и гладкими мышцами. Функциональная активность этих популяций регулируется со стороны энтерической нервной системы и может лежать в основе формирования голодной периодической деятельности.

Ключевые слова:

Желудочно-кишечный тракт, периодическая деятельность, интерстициальные клетки Кахаля, фибробласт-подобные клетки.

Нарушение моторной функции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) является одной из ключевых проблем современной гастроэнтерологии, так как данный вид деятельности является основополагающим для выполнения других его функций, в том числе секреторной, всасывательной, экскреторной эндокринной, и, как правило, лежит в основе возникновения нарушения функций всех висцеральных систем организма.

Более 110 лет назад в лаборатории И.П. Павлова при проведении опытов на собаках была обнаружена новая, ранее неизвестная функция желудка – его голодная периодическая сократительная деятельность. Результаты этих наблюдений были впервые опубликованы в 1901 г. П.О. Широких [4]. Наиболее обстоятельными исследованиями в изучении периодической деятельности (ПД) явились результаты работ В.Н. Болдырева, обобщенные в диссертации на степень доктора медицины «Периодическая работа пищеварительного аппарата при пустом желудке» в 1904 г. [2]. Эти исследования показали, что в ПД вовлекается не только моторика желудка, но и тонкого кишечника, а также секреция поджелудочной железы, отделение желчи и кишечного секрета. Поэтому за «голодной» ПД закрепился синоним «внепищеварительная деятельность» с вовлечением в этот процесс других висцеральных систем, системы крови и высших отделов ЦНС. Обобщение имеющихся на тот момент экспериментальных и клинических факторов позволило В.Н. Болдыреву говорить о ПД организма в целом [5].

Периодическая деятельность представляет собой относительно регулярное чередование в условиях физиологического голода периодов двигательной и секреторной активности, разделенных периодами покоя. Совокупность периодов работы и покоя как у животных, так и у че-

ловека образует циклы, общая продолжительность которых составляет 90–110 минут. Повторяемость циклов образует ритм ПД. Физиологическими маркерами ритма ПД принято считать периоды сокращения желудка, хотя в англоязычной литературе таковыми считаются ритмические сокращения в тонком кишечнике. Отличительной особенностью ПД тонкого кишечника является способность распространения периодов сокращения из гастродуодальной зоны до терминального илеума на протяжении каждого цикла. Для описания этого процесса в экспериментах с регистрацией биоэлектрической активности с помощью вживленных в серозную оболочку тонкого кишечника электродов был предложен термин «мигрирующий миоэлектрический комплекс» (ММК) – перемещение сокращений, зарегистрированных на электромиограммах.

Согласно классическим представлениям, пищеварительная моторная активность и внепищеварительная ПД полностью обособлены, что подтверждается мгновенным торможением выталкивающих движений желудка «мнимым» или истинным кормлением животных. В зарубежных исследованиях применяется термин «перерыв», или разрушение ММК. Однако многочисленные исследования убедительно свидетельствуют не о прекращении и «разрушении» ПД во время пищеварения, а о закономерной ее перестройке за счет изменения вариации ПД по длительности и характеру перемещения меток ММК, зависящих от вида и характера принимаемой пищи, то есть от пищевого рациона [1].

Усилиями многих поколений отечественных и зарубежных исследователей удалось в значительной мере рассеять ореол загадочности и таинственности, окружающий ПД на первых этапах ее изучения. Стало очевидным, что моторные компоненты ПД регулируются той же самой многоуровневой системой механизмов, как и при пищеварении: от высших отделов ЦНС до клеточно-мембранных [3]. Однако остается открытым вопрос, каким образом эти многочисленные механизмы объединяются и приходят в активное состояние в циклах и ритмах ПД вне пищеварения. Возможно, ответом может являться заключение, которое сделал еще в 1919 г. А. Carlson. Он заявил, что основным механизмом ПД является автоматическая деятельность собственно нервно-мышечного аппарата желудка. Внешняя иннервация, гормональные и различные гуморальные факторы крови лишь модулируют его работу [9]. С включением в комплексное понятие ПД функции тонкого кишечника это положение получило новые подтверждения в плане рассмотрения комплексного образования: элементов энтерогастральной системы, гладкомышечных клеток и других клеточных популяций, входящих в структуру стенки пищеварительного канала.

Мышечная оболочка ЖКТ является комплексным образованием, состоящим из многих типов клеток: гладкомышечных, нервных, глиальных и большой популяции интерстициальных клеток. Среди интерстициальных клеток (IC – interstitial cells) различают несколько типов, но в отношении формирования ПД или ММК основной интерес вызывают два типа клеток, производных мезенхимальной ткани: IC Кахала (ICC – interstitial cells of Cajal) и фибробластоподобные клетки (FLC – fibroblast-like cells). Рассмотрим возможную роль этих клеточных популяций в механизмах формирования голодной ПД или ММК.

Вопрос о роли интерстициальных клеток Кахала (ICC) в формировании единого миоэлектрического ритма в желудочно-кишечном тракте является спорным по настоящее время. Раймон Кахаль описал эти клетки в 1893 г. и считал, что они могут вовлекаться в процесс регуляции моторики ЖКТ, опосредуя передачу сигналов от нейронов метасимпатической нервной системы к гладким мышцам. В 1914 г. Кейт (А. Keit) выдвинул гипотезу о том, что ICC являются пейсмекерными клетками в кишечнике, по аналогии с пейсмекером синоатриального узла сердца, который он описал ранее [14].

В 80-х годах прошлого столетия эти клетки привлекли внимание гастроэнтерологов-физиологов и клиницистов тем, что они могут генерировать ритмическую электрическую активность, которая наблюдается от желудка до прямой кишки в ЖКТ. Более того, обсуждались уникальные ультраструктурные особенности этих клеток, которые отличают их от гладкомышечных клеток (ГМК) и фибробластов. Было показано, что ICC связаны друг с другом и с ГМК плотными щелевыми соединениями, а нервные терминалы образуют синапс-подобные варикозные образования с ICC (рис. 1).

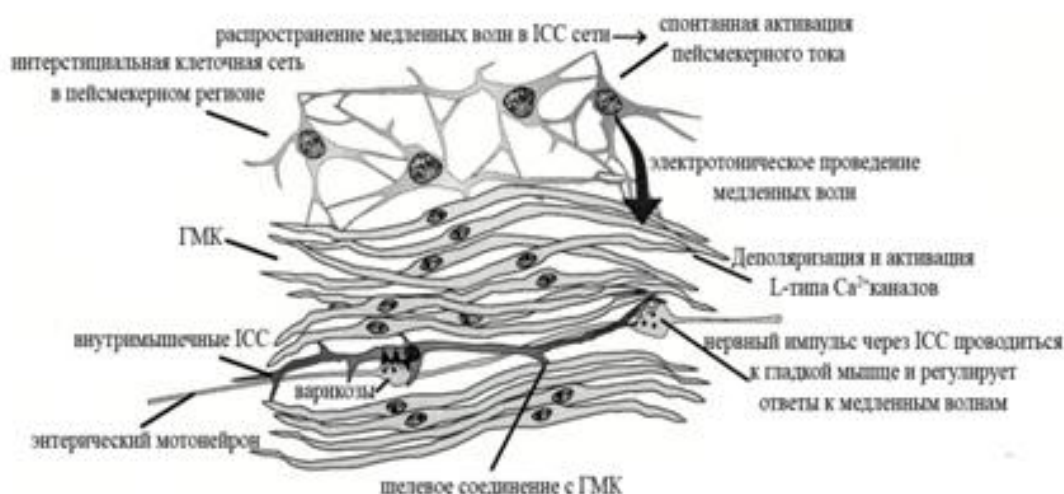


Рис. 1. Компоненты пейсмекерного комплекса в ЖКТ

Основной прорыв в изучении и понимании роли ICC был сделан в 1992 г., когда было показано, что эти клетки экспрессируют с-Kit рецептор тирозин-киназы [15]. Мутации в Kit-гене, или Kit иммунонейтрализация, проявляются в нарушении формирования миоэлектрического ритма. Стала понятна роль ICC в нормальных и патофизиологических условиях, а использование пейтч-клампа позволило изучить ионные токи этих клеток. Работы с потенциометрией изолированных ICC показали, что эти клетки, в отличие от желудочно-кишечных ГМК, демонстрируют спонтанные, ритмичные входящие токи и, следовательно, могут выполнять роль пейсмекерных клеток в мускулатуре ЖКТ. Более того, работы с использованием иммунокрасителей для с-Kit выявили, что плотность сети ICC является сниженной при различных расстройствах моторики ЖКТ, таких как диабетические гастропорезы и проходящая локальная непроходимость.

Исследование ионных токов этих клеток привело к описанию определённых участников развития спонтанных потенциалов, включая Ca^{2+} -каналы Т-типа, СГ-каналы, неселективные катионные каналы и Na^{+} -каналы.

Недавно был сделан ещё один прорыв в специфическом определении ICC. Farrugia с коллегами определили, что энтерические ICC экспрессируют Tmem 16a генный продукт – аноктамин 1 (ANO1), который не экспрессируется другими типами клеток ЖКТ [11]. Исследования показали, что ANO1 функционирует как Ca^{2+} -активированный СГ-канал и является важным компонентом пейсмекерной активности ICC [11, 12, 16, 17] (рис. 2).

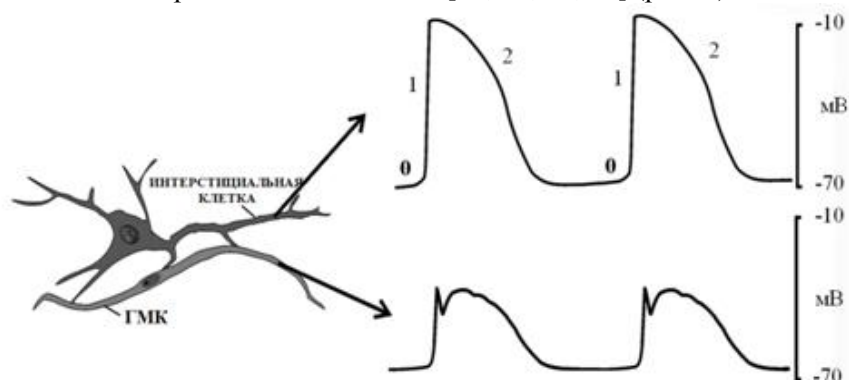


Рис. 2. Схематическое изображение пейсмекерных потенциалов в ICC и медленных волн в ГМК. Фазы: 0 – диастолическая фаза; 1 – фаза быстрой деполаризации, чувствительная к мибфрадилу; 2 – фаза плато, чувствительная к кофеину

Подавление ANO1 тока ассоциируется с нарушением медленно-волнового тока и сокращений, а Tmet 16a нулевые мышцы показывают снижение медленно-волновой электрической активности. Это стало важным инструментом в работах по определению их интегральной функции в формировании медленно-волновой электрической активности в ЖКТ. ICC не генерируют потенциалы действия, но в них возникают ритмические изменения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} (Ca_i^{2+}), которые определяют периодически возникающую деполяризацию мембраны, описанную как медленные волны. Такой ICC-осциллятор напоминает тот, что обнаружен в различных спонтанных ГМК, но имеет существенные отличия [15] (рис. 3).

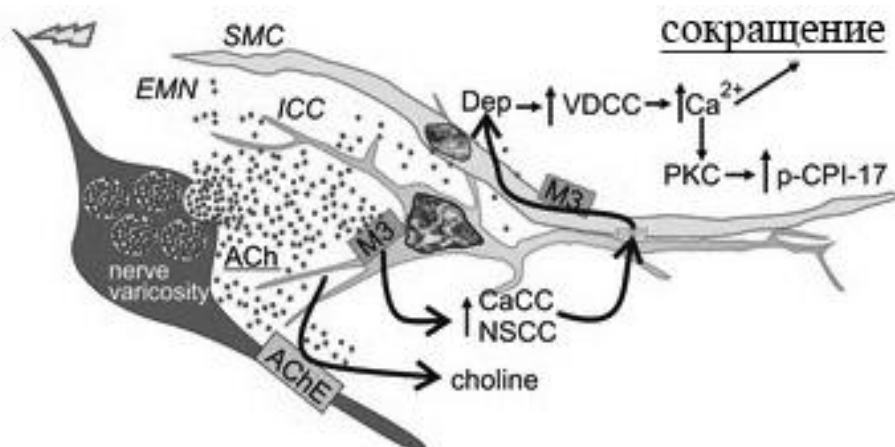


Рис. 3. Нейроэффторный механизм регуляции функции гладких мышц ЖКТ с участием ICC

На рис. 3 изображен механизм регуляции функции гладких мышц ЖКТ с участием ICC. Возбуждение энтерических моторных нейронов (EMN – Enteric motor neuron) вызывает выброс ацетилхолина (ACh) из варикоцитов аксонов в синапс-подобное пространство и активацию М3-ACh рецепторов интерстициальных клеток Кахала (ICC). Это обеспечивает развитие неселективного катионного тока по NSCC (non-selective cation channels) и активацию Ca^{2+} -активируемых Ca^{2+} -каналов (CaCC), приводящую к деполяризации (Dep) ICC, которая электротонически передается на ГМК, вызывая активацию потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов (VDCC) мембраны ГМК. Вход ионов Ca^{2+} обеспечивает не только развитие сокращения ГМК, но и активацию Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы С (PKC), которая вызывает фосфорилирование ингибиторного белка фосфатазы в 17 кДа (CPI-17), повышая чувствительность сократительного аппарата к ионам Ca^{2+} .

Таким образом, имеющаяся в ЖКТ сеть ICC координирует электрическую и сократительную активность больших популяций ГМК, синхронизируя их индивидуальные осцилляторы. Такая синхронизация достигается за счет сопряжения активности отдельных осцилляторов в единый локальный водитель за счет длительного деполяризующего сигнала, который распространяется через щелевые соединения. Скорость распространения такой волны составляет 5–40 мм/с, приводя к формированию перистальтической волны. Такая система сопряжения осцилляторов является высоко динамичной, так как каждая клетка не только способна к инициации медленной волны, но и прекрасно проводит сигнал, исходящий от любой из соседних клеток. Это дает уверенность в том, что ритм будет синхронным даже внутри большой популяции ICC, повторяясь такт за тактом.

FLCs располагаются во всех регионах ЖКТ и являются иммуноотрицательными к c-Kit-тирозин-киназному рецептору, но являются интенсивно иммунопозитивными к рецептору фактора роста тромбоцитарного происхождения α (PDGFR α -platelet-derived growth factor receptor α), который является специфической меткой для них, в отличие от других клеток, входящих в состав стенок пищеварительного канала. FLC распределяются в мышечной оболочке ЖКТ в ассоциации с ICC и нервными волокнами [8].

FLCs имеют ультраструктурные особенности, отличающие их от ICC. Также между FLC и энтерическими нервными волокнами имеются тесные взаимоотношения, это говорит о том, что FLC могут получать нервные сигналы и модулировать функцию гладких мышц [13].

FLC формируют клеточные сети за счет своих отростков в каждом слое мышечной стенки ЖКТ. Клеточные коммуникации между FLC осуществляются через плотные щелевидные соединения (нексусы). Кроме того, FLC в мускулатуре ЖКТ формируют плотные щелевидные контакты с соседними продольным и циркулярным слоями ГМК. Коммуникативная сеть FLC является электрически сопряженной и синхронизированной, а то, что FLC имеют сопряжения с ГМК, говорит о возможности их влияния на электрогенез и сократительную активность ГМК (рис. 4).

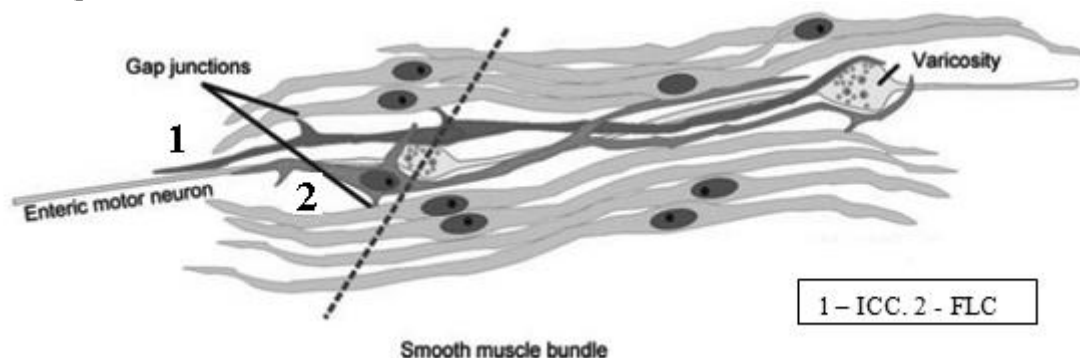


Рис. 4. Пейсмекерный модуль в ЖКТ, объединяющий эффекторные нейроны метасимпатической системы, ICC, FLC и ГМК

Энтерические ингибиторные соединительные потенциалы (IJP) были впервые описаны Брунстоком в 1963 г. [6] и послужили основой для лучшего понимания физиологии энтерической регуляции сократительной активности ЖКТ. АТФ и ее производные – основные кандидаты на роль ингибиторных нейротрансмиттеров, опосредующих контроль со стороны энтерической нервной системы, моторной активности ЖКТ и способствующих формированию IGP (IJP-*enteric inhibitory junction potentials*). Апамин эффективно блокирует IGP, которое вызывается пуриnergической нервной стимуляцией [7].

В настоящее время неясно, какие клетки опосредуют пуриnergический компонент энтерического контроля моторики ЖКТ. Также ответы АТФ у ГМК являются часто смешанными, а иногда входящие токи регистрируются чаще, чем выходящие, которые необходимы для пуриnergических ответов на целой мышце. Но, с другой стороны, апамин-чувствительные IJP сохраняются у мышей с сильно редуцированными ICC-IM [13]. На основании этого можно предположить, что ни ГМК, ни ICC не являются основными сайтами для тормозной пуринтерической иннервации в регуляции моторики ЖКТ.

FLCs клетки имеют соответствующие рецепторы для восприятия, обработки и ответа со стороны пуриnergических нервных сигналов. Воздействие АТФ, АДФ или В-NAD вызывает дозозависимую активацию апамин-чувствительных выходящих токов плотностью до 100 pA pF^{-1} . Эти токи эффективно блокируются селективным блокатором P2Y1 пуриновых рецепторов MRS2500. Следовательно, FLC-клетки имеют специализированную чувствительность к пуриновым нейротрансмитерам и могут отвечать на формирование основного компонента в IJP.

Также FLCs интенсивно экспрессируют Ca^{2+} -активированный K^+ -канальный белок малой проводимости (SK3). Иммунореактивность этого белка локализуется с PDGFRa. Активация этих каналов приводит к формированию выходящего калиевого тока, который гиперполяризует мембрану клетки на несколько милливольт, а апамин является селективным блокатором SK3 каналов, вызывая подавление этих выходящих токов.

В заключение можно сказать, что FLC клетки формируют четкую функциональную сеть интерстициальных клеток, отличных от ICC, в мышечной оболочке ЖКТ. Локализация FLC около терминалей энтерических моторных нейронов и наличие плотных щелевых контактов с ГМК предполагает их возможную функциональную роль в моторной нейротрансмиссии. Молекуляр-

ный анализ показывает, что эти клетки экспрессируют SK3-каналы, которые могут активироваться P2Y1 рецепторными агонистами и лежать в основе формирования тормозных потенциалов.

С учетом имеющихся литературных данных можно заключить, что в роли ритмозадающих элементов в стенке пищеварительного тракта при формировании ПД могут выступать ИСС, которые способны генерировать спонтанные деполяризации мембранного потенциала. Эти деполяризации ИСС электротонически распространяются на ГМК, вызывая их возбуждение в виде генерации потенциалов действия и развития сокращений. В свою очередь, спонтанная активность ИСС может регулироваться эффекторными нейронами энтерогастральной системы, деятельность которой может регулироваться вегетативной нервной системой (как пара-, так и симпатическим ее отделами) и градиентами физиологически активных веществ в стенке ЖКТ (ацетилхолина, серотонина, норадреналина, некоторых пептидов АПУД системы или газовых посредников, таких как NO или CO). Тогда продолжительность циклов и ритм голодной ПД будет формироваться и зависеть от многофункциональной системы, включающий в себя многоуровневую систему механизмов, от состояния энтерального гомеостаза, циклической эвакуации секретов из отделов пищеварительного тракта и их утилизации, а также от состояния центров коры больших полушарий. «Мнимое» кормление или прием пищи активируют эти системы, переводя ПД в постоянную пищеварительную моторную активность.

Следует подчеркнуть, что вопрос о роли ритмозадающих осцилляторов в формировании ПД нельзя рассматривать отдельно от представлений о «релаксационных осцилляторах», главную роль в которых могут выполнять ELC, которые в ответ на пуриnergическую активацию со стороны метасимпатической системы гиперполяризуются. Эта гиперполяризация мембраны FLC электротонически передается на ГМК, вызывая понижение их возбудимости, и это ограничивает голодную ПД. В свою очередь, функциональное состояние ELC будет также регулироваться многоуровневой системой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bogach P.G. *Mehanizmy nervnoj reguljicii motornoj funkcii tonkogo kishechnika* // *Izd. Kievskogo universt.* – 1961. – S. 343.
2. Boldyrev V.N. *Periodicheskaja rabota pishhevaritel'nogo apparata pri pustom zheludke* // *Dis. D-ra mediciny.* – SPb, 1904. – S. 152.
3. Lebedev N.N. *Periodicheskaja dejatel'nost' zheludochno-kishechnogo trakta: nekotorye itogi i perspektivy dal'nejshego izuchenija* // *Vjulleten' sibirskoj mediciny.* – 2004. – № 1. – S. 24–32.
4. Shirokih P.O. *K voprosu o perehode pishhi iz zheludka v kishki. Dikl. Na XI s'ezde obshhestva russkih estestvoispytatelej i vrachej.* – 1901. – T.10. – S. 448.
5. Boldyreff W.N. *Dic. Periodische. Tatighcit des Organismus und ihre Physiologische Bedeutung.* – *Ergebn.der Physiol.* – 1929. – Bd. 29. – S. 485–645.
6. Brunstok G. *Inhibition of the smooth muscle of the taenia coli* // *Nature.* – 1963. – T. 60. – S. 581–582.
7. Brunstok G. *Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic inhibitory nerves in the gut* // *Br. J. Pharmacol.* – 1970. – V. 40. – S. 668–688.
8. Burns A.J., Lomax, Torihashi. *Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach* // *Proc. Nail. Acad. Sci.* – 1996. – V. 93. – S. 12008–12013.
9. Carlson A.J. *The control of hunger in health and disease* // *Chicago: univ. of Chicago Press.* – V. 1919. – S. 319.
10. Chan F., Liu Y., Sun H. et al. *Distribution and possible role of PDGF-AA and PDGFR-a in the gastrointestinal tract adult guinea pigs* // *Virhows Arch.* – 2010. – V. 454. – S. 381–388.
11. Gomez-Pinilla P.J., Gibbons S.J., Bardsley M.R. et al. *Ano1 is a selective marker of interstitial cells of Cajal in the human and mouse gastrointestinal tract* // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2009. – V. 296. – S. 1370–1381.
12. Hwang S.J., Blair P.J.A., Britton F.C. et al. *Expression of anoctamin 1/TMEM16A by interstitial cells of Cajal is fundamental for slow wave activity in gastrointestinal muscles* // *J Physiol.* – 2009. – V. 587. – S. 4887–4904.

13. Iino S., Nojyo Y. Immunohistochemical demonstration of c-Kit-negative fibroblast-like cells in murine gastrointestinal musculature // Arch. Histol. Cytol. – 2009. – V. 72(2). – S. 107–115.
14. Keith A. An account of six specimens of the great bowel removed by operation: with some observations on the motor mechanisms of the colon // Br. J. Surg. – 1914. – V. 2. – S. 576–599.
15. Maeda H., Yamagata A., Nishikawa S. et al. Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system // Development. – 1992. – V. 116. – S. 369–375.
16. Wang B., Kunze W.A., Zhu Y., Huizinga J.D. In situ recording from gut pacemaker cells // Pflugers Arch. – 2008. – V. 457. – S. 243–251.
17. Zhu M.H., Kim T.W., Ro S. et al. A Ca^{2+} -activated Cl^- conductance in interstitial cells of Cajal linked to slow wave currents and pacemaker activity // J. Physiol. – 2009. – V. 587. – S. 4905–4918.

Поступила 20.01.2015 г.