

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Научно-теоретический журнал • Основан в 1955 г. • Выходит 1 раз в 2 месяца

Том 30, № 5, 1984

сентябрь — октябрь

Киев Наукова думка

З. А. Сорокина

ДОСТОЙНЫЙ ВКЛАД В НЕЙРОФИЗИОЛОГИЮ И БИОФИЗИКУ

Выдающемуся советскому нейрофизиологу и биофизику Платону Григорьевичу Костюку 60 лет.

Придя в советскую науку более 35 лет назад после окончания биологического факультета Киевского Государственного университета, Платон Григорьевич сразу же заявил о себе как человек, страстно увлеченный наукой. Научная работа П. Г. Костюка началась еще в студенческие годы в лаборатории общей физиологии Института физиологии Киевского университета, которой руководил один из основоположников современной электрофизиологии академик АН УССР Д. С. Воронцов.

Платон Григорьевич Костюк — разносторонний ученый, исследователь широкого профиля. Круг его научных интересов чрезвычайно широк и в то же время представляет единую цепь исследований, цель которых — познать интимные механизмы нервной деятельности на различных уровнях организации живого. Именно нервная клетка и является той красной нитью, которая определяет весь его творческий путь.

Началом научной работы Платона Григорьевича (1949—1953 годы) явилось детальное изучение процессов адаптации в изолированном двигательном нервном волокне лягушки при изменении температуры, ионного состава и химической реакции среды, под влиянием электрической поляризации, наркотиков, постепенно нарастающих раздражений и изменений обмена веществ в нерве. Наряду с этим изучалось изменение скорости адаптации нервов и мышц человека при различных нервных заболеваниях. Этими работами был расширен ряд положений нервно-мышечной физиологии, в частности вопрос о сущности адаптации.

В 1952—1959 годах Платоном Григорьевичем проведен большой цикл исследований, посвященных всестороннему изучению процессов возбуждения и торможения в простейшей рефлекторной дуге спинного мозга, в процессе которых были выявлены существенные функциональные различия между ее структурными элементами, а также особенности их реагирования на различные фармакологические вещества. Главным итогом этих работ явилось то, что они дали возможность точно приурочить основные нервные процессы к тончайшим деталям нервной структуры. Были получены точные данные о длительности

центральной синаптической задержки, временном течении единичного синаптического возбуждающего и тормозящего влияния и другие. Результаты этих исследований были обобщены в монографии «Двухнейронная рефлекторная дуга» (1959), которая до настоящего времени является классическим руководством не только по физиологии спинного мозга, но и по общей физиологии нейрона. Президиум АН СССР удостоил эту работу премии имени И. П. Павлова.

Ценным вкладом в физиологию спинного мозга (1955—1963 годы) явились результаты последовавших затем исследований по выявлению особенностей электрических реакций разных, функционально специализированных частей нейронов и электрофизиологических различий между тремя основными функциональными группами нейронов — афферентными, промежуточными и эфферентными. Здесь впервые в практике электрофизиологических исследований в СССР были использованы внутриклеточные микроэлектроды. Они представляют собой микропипетки из очень тугоплавкого стекла с тонким кончиком (на два-три порядка меньше диаметра нервной клетки), заполненные раствором электролита. С этого времени микроэлектроды становятся основным инструментом отведения внутриклеточных реакций нейронов и изучения протекающих в них процессов. Сочетанное применение электрофизиологических и морфологических методов позволило детально исследовать разные звенья синаптического соединения, в частности выявить цепь изменений, развивающихся в пре- и постсинаптических частях центральных синапсов при их дегенерации. Большое значение имели и его работы по длительной деполяризации пресинаптических окончаний и связанного с ней пресинаптического торможения. Механизм такого рода деполяризации и ее функциональное значение были исследованы совместно с профессором Дж. Эклсом в университете г. Канбера (Австралия) в 1960—1961 годах. Эти работы позволили решить многолетние споры о природе торможения и существенно изменили представления нейрофизиологов о механизмах координации в спинном мозге.

Нельзя не отметить, что развитие микроэлектродных исследований в научно-исследовательских учреждениях нашей страны заметно отставало в этот период от мирового уровня из-за отсутствия приборов, необходимых для такого рода работ (специальная усилительная и регистрирующая электронная аппаратура). Все это ясно сознавал Платон Григорьевич, поэтому под его непосредственным руководством началась разработка комплекса специальной аппаратуры. Работы велись коллективом сотрудников его отдела — Ю. П. Лиманским, Б. Я. Пятигорским, Н. Н. Преображенским — и Опытно-конструкторским производством института. Серийными партиями были выпущены приборы 23 наименований, а спустя несколько лет впервые в Советском Союзе создан электрофизиологический комплекс, в который вошел ряд уникальных приборов. Эта работа была удостоена в 1976 году Государственной премии УССР в области науки и техники.

Создание приборов стимулировало огромное количество исследований различных отделов мозга. В этот период Платоном Григорьевичем и его сотрудниками — Д. А. Василенко, К. В. Баевым, Ю. П. Лиманским, А. И. Пилявским, Н. Н. Преображенским, Б. Я. Пятигорским, Л. А. Савоськиной и другими (1965—1975 годы) проведены систематические микроэлектродные исследования нейронной организации различных отделов спинного мозга и изучены синаптические процессы в различных типах нейронов. Эти исследования позволили выявить организацию нисходящих систем, связывающих структуры головного мозга со спинномозговыми центрами, свойства нервных элементов надсегментарных структур, дающих начало нисходящим путям, и принципы передачи информации в некоторых отделах восходящих и нисходящих систем спинного мозга. Результаты этого огромного экспериментального материала обобщены в монографии П. Г. Костюка «Структура и функция нисходящих систем мозга» (1973), в ко-

торой автором предложена принципиально новая классификация нисходящих систем, основывающаяся на сопоставлении их структурной организации и функциональных свойств.

Экспериментальное выявление церебро-спинальных взаимоотношений, идея о существовании которых была высказана еще М. М. Сеченовым, и установление их роли в механизме формирования координационной деятельности двигательного аппарата — это, несомненно, одна из сложнейших проблем нейрофизиологии. За эту работу Платону Григорьевичу Костюку была присуждена в 1977 году премия имени И. М. Сеченова.

Обширный раздел нейрофизиологии составляют исследования Платона Григорьевича и коллектива его сотрудников, касающиеся изучения нейронной организации спинного мозга (1968—1983 годы). В этих работах было установлено существование в спинном мозге ряда особых популяций интернейронов, образующих сложный комплекс сегментарных и межсегментарных связей. Их образуют проприоспинальные нейроны. С помощью современных электрофизиологических и морфологических методов были детально изучены их локализация, структурные характеристики и механизмы функционирования. Особое внимание в этих исследованиях было обращено на супрасегментарные и сегментарные синаптические входы и принципы передачи через них нисходящих двигательных сигналов, что позволило установить важную роль сегментарных и межсегментарных систем в осуществлении сложных двигательных функций. Итог этих исследований составила монография Д. А. Василенко и П. Г. Костюка «Межсегментарные нейронные системы спинного мозга» (1983).

Важным этапом в исследовании интегративной функции центральной нервной системы явились работы Платона Григорьевича с Н. Н. Преображенским, А. П. Гокиным, З. А. Тамаровой. Основная задача этих исследований заключалась в том, чтобы раскрыть механизмы интеграции процессов в отдельных клетках в определенную деятельность нервного центра и осуществление согласования деятельности различных центров. Изучались нейронные механизмы взаимодействия висцеральной и соматической систем. Детальному анализу подверглись пути проведения в центральной нервной системе импульсации от соматических и висцеральных рецепторов. Выявлены особенности синаптических процессов, возникающих в двигательных нейронах под воздействием висцеральных сигналов, и в вегетативных эфферентных нейронах — под влиянием соматических сигналов. Полученные результаты позволили подробно охарактеризовать различные звенья процесса интеграции, оценить клеточные механизмы тех превращений, которые претерпевают афферентные сигналы в центральной нервной системе и приблизиться к пониманию их функционального смысла. Показано, что «висцеральный» или «соматический» тип сигнала, возникающего при раздражении соответствующих рецепторов, сохраняется лишь до первого центрального вставочного нейрона. Интегрированные в системе общих вставочных нейронов эти сигналы теряют свою специфичность, превращаясь из модально-специфических сигналов в сигналы новой формы, отражающие лишь общий уровень афферентации во взаимодействующих входах. Результаты этих исследований освещены в монографии П. Г. Костюка и Н. Н. Преображенского «Механизмы интеграции висцеральных и соматических афферентных сигналов» (1975).

Платоном Григорьевичем и его сотрудниками выполнено большое количество экспериментальных работ по нервно-мышечной физиологии (1958—1965 годы). Детально исследовались свойства процесса возбуждения в нервных и мышечных волокнах, а также в двигательных нервных окончаниях. Анализ явления пессимума и ауторитмичности были осуществлены при помощи метода внутриклеточного отведения электрических потенциалов от поперечно-полосатого мышечного волокна и двигательной концевой пластинки. Основные результаты этих:

исследований — установление механизма пессимального торможения скелетной мышцы. Основу его составляет сложная последовательность функциональных изменений, развивающихся в различных элементах нервно-мышечного соединения, которые приводят в итоге к прекращению раздражающего действия концевой пластинки на внесинаптическую область мышечного волокна.

Начиная с 50-х годов Платон Григорьевич работает в области общей физиологии и биофизики клетки. Такая длительная «привязанность» к процессам, осуществляющимся на клеточном уровне, объясняется тем, что клетка — это основной элемент живого, наделенный полнотой физиологических свойств и таящий в себе разгадку фундаментальных процессов. Кроме того, клетка — это объект, позволяющий применять различные методы физики и химии. Итоги этой огромной научной деятельности в общих чертах следующие.

Для изучения фундаментальных клеточных процессов Платоном Григорьевичем впервые в Советском Союзе был применен метод внутриклеточного отведения электрических потенциалов от отдельных клеток. Микроэлектроды были введены в физиологическую практику в 1949 году английскими исследователями Лингом и Джерардом. До этого физиологи судили о клеточных процессах лишь по косвенным признакам. Широкое внедрение микроэлектродов имело огромные последствия для нашей отечественной науки. Во-первых, это вызвало стремительное развитие физиологии клетки и, прежде всего, того ее раздела, который теперь выделился в самостоятельную область, а именно физиологии мембран или мембранологии. Сейчас каждый студент знает, что на поверхности любой клетки, начиная от простейших и кончая клетками мозга человека, имеется сложно организованная оболочка — мембрана. Посредством мембран осуществляется взаимосвязь клеток с окружающей их средой, на них создается трансмембранная разность электрических потенциалов и развиваются основные активные процессы — возбуждение и торможение. А в те годы большинство советских физиологов находилось на позициях антимембранного догматизма, являясь сторонниками фазовой теории биопотенциалов, которая отрицала предсуществование электрических потенциалов живых клеток и рассматривала клетку как неупорядоченную коллоидную систему. Во-вторых, микроэлектродная техника обусловила переход на качественно новый уровень исследований в области клеточной физиологии, что в свою очередь стимулировало новые экспериментальные и теоретические поиски. Техника работы с микроэлектродами и возможности применения метода в самых различных областях физиологии освещены Платоном Григорьевичем в руководстве «Микроэлектродная техника» (1960), которое и по сей день является ценным методическим пособием для научных сотрудников широкого профиля.

Поставив во главу угла методику физиологического эксперимента, Платон Григорьевич и в последующие годы относился к ней с огромной требовательностью. Это и понятно, ибо правильный выбор стратегии эксперимента определяет успех в решении поставленной задачи и получении надежных результатов. Используя современные методы, Платон Григорьевич всегда стремился развить и усовершенствовать их. Это касается и микроэлектродной техники. Вместе со мной Платон Григорьевич занимался модификацией метода внутриклеточного измерения рН и активности калия и натрия; провел систематическое исследование собственных потенциалов кончиков стеклянных микроэлектродов с разными заполнителями при помещении их в растворы различного состава с целью их учета в практической работе.

Дальнейшее развитие микроэлектродного метода, позволившее использовать микроэлектроды для измерения электрических характеристик клеточных мембран и регистрации изменений этих характеристик при возбуждении и торможении клетки обусловили детальное изучение физико-химических процессов, лежащих в основе кардинального функционального свойства мембран мышечных и нервных клеток —

их электрической возбудимости. Были подобраны и прекрасные объекты для такого рода исследований — нейроны ганглиев брюхоногих моллюсков — *Helix*, *Planorbis*, *Limnea*. Благодаря большим размерам и поверхностному расположению в ганглиях эти клетки позволяют осуществлять точный визуальный контроль места введения в них микроэлектродов и быструю замену окружающей их среды. В них можно ввести от одного до трех микроэлектродов и вести непрерывное отведение потенциалов на протяжении многих часов без каких-либо признаков изменения их функционального состояния. Наконец, сома (тело) этих клеток не имеет дендритов; она шарообразна или эллипсоидной формы, что позволяет точно измерить ее поверхность и рассчитать удельное сопротивление и емкость их мембран. Было проведено прямое измерение зависимости мембранного потенциала и мембранной проводимости от изменения внеклеточных концентраций различных ионов. Этими исследованиями были установлены три следующих важных факта: 1) правильность основных положений мембранной теории генерации биоэлектрических потенциалов, рассматривающей поверхностную плазматическую мембрану клеток как активное образование, способное к тонкому регулированию как пассивного перемещения ионов по их электрохимическим градиентам, так и их активного трансмембранного переноса в направлениях против электрохимических градиентов; 2) общность основных свойств ионных процессов, происходящих в поверхностной мембране нервных клеток высших позвоночных и беспозвоночных животных как в состоянии покоя, так и активности, это позволило заключить, что они возникли очень рано в ходе развития животного мира и являются основой как самых простых, так и сложных форм нервной деятельности; 3) участие в некоторых нервных клетках (нейроны виноградной улитки) ионов кальция в функции переноса через мембрану внутрь клетки положительных зарядов, необходимых для деполяризационной фазы потенциалов действия.

Совместно с сотрудниками О. А. Крышталем и П. А. Дорошенко Платоном Григорьевичем впервые в Советском Союзе использован метод фиксации напряжения на мембране нервной клетки. Несомненные достоинства этого метода состоят в том, что он позволяет сделать мембранный потенциал контролируемой величиной и количественно изучать трансмембранные ионные токи при разных формах клеточной активности. С его помощью был обнаружен ряд характерных особенностей возбудимой мембраны сомы нервной клетки, не свойственных ее отростку — нервному волокну.

Под руководством и при непосредственном участии Платона Григорьевича разработан новый электрофизиологический метод исследования клеток — внутриклеточный диализ (перфузия), значительно расширивший экспериментальные возможности их исследования. Суть этого метода состоит в том, что живые и функционирующие, но изолированные из ткани клетки перфузируются через разрушаемый участок мембраны. Метод позволяет осуществлять контроль, произвольную замену внутриклеточной среды и действовать биологически активными соединениями на обе поверхности плазматической мембраны. Важная его особенность состоит в том, что диализируемые клетки исследуются в условиях фиксации потенциала без использования микроэлектродов. В настоящее время метод внутриклеточного диализа широко используется в различных лабораториях Советского Союза, а также в ряде лабораторий США, Японии, ФРГ и других стран.

С помощью метода внутриклеточного диализа Платоном Григорьевичем и его сотрудниками — Н. С. Веселовским, П. А. Дорошенко, О. А. Крышталем, С. Л. Мироновым, В. И. Пидопличко, И. С. Магурой, А. Я. Цыдренко и другими — осуществлен большой цикл работ по разделению ионных токов, входящих и выходящих из нервных клеток как низших, так и высших животных при их возбуждении, и детально изучены свойства локализуемых в мембране соответствующих дискретных ионпроводящих структур — ионных каналов (ки-

нетические, потенциалозависимые и селективные характеристики, фармакологическая чувствительность). Специальные исследования были проведены для регистрации и выяснения особенностей асимметричных токов смещения. Эти токи играют важную роль в функционировании электроуправляемых ионных каналов. Их рассматривают как следствие перемещения в мембране подвижных зарядов, которые идентифицируют с «воротными» механизмами, открывающими и закрывающими каналы в ответ на изменение мембранного потенциала.

В процессе этих исследований был обнаружен особый тип электроуправляемых натриевых ионных каналов, так называемые «медленные» натриевые каналы, отличающиеся от «быстрых» своими функциональными и, как предполагается, структурными характеристиками.

Установлена важная особенность многих нервных клеток, заключающаяся в том, что характерным компонентом механизма их электрической возбудимости являются не только натриевые, но и кальциевые ионные каналы, играющие двойную роль в функциях сомы нейрона. Во-первых, они генерируют значительный входящий ток, достаточный для инициации локальных и регенеративных реакций. Во-вторых, этот ток оказывается фактором, сопрягающим деполяризацию мембраны клетки с протекающими в цитоплазме процессами. Сегодня известно уже несколько таких кальций-активируемых процессов. Это протоплазматический транспорт ряда веществ от места их синтеза в соме нейрона, высвобождение нейромедиаторов, нейромодуляторов и нейrogормонов в нервных окончаниях в процессе внутриклеточного транспорта. Возможны и другие специфические воздействия ионов кальция на нервную трофику. Основу их составляют своеобразные характеристические свойства этих ионов: прежде всего, их высокое координационное число, обуславливающее способность комплексоваться со многими сложными органическими соединениями.

Обнаружен удивительный механизм обратной связи, работающий внутри нервной клетки и создаваемый только кальциевыми ионными каналами. При определенном уровне внутриклеточной концентрации кальция, создаваемой входящим в клетку кальциевым ионным током, наблюдается возвратное действие на поверхностную мембрану, вызывающее блок этих каналов и одновременное потенцирование активности калиевых каналов определенного типа. Таким образом, эта система тонко регулирует не только дальнейшее поступление в клетку ионов кальция, но и связанное с ним изменение мембранного потенциала.

Детально изучена организация в кальциевых каналах «селективного фильтра» — наиболее узкого участка, пропускающего ионы определенной группы. На основании этих исследований создана модель, рассматривающая двухкомпонентную структуру кальциевых каналов и возможные физико-химические механизмы, обеспечивающие их ионную избирательность.

Обнаружено существование двух принципиально отличных механизмов поддержания ионных каналов в функциональном состоянии — метаболически независимого — у натриевых каналов и метаболически зависимого — у кальциевых. Для поддержания способности к активации кальциевым каналам необходимо постоянное присутствие внутри клетки определенного уровня, 3,5-циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), поддерживающего мембранные белки в фосфорилированном состоянии.

Установлено, наконец, что мембранам тела нервных клеток присуща весьма сложная система каналов выходящего тока. Она включает быстрые калиевые каналы, функционирующие при высоких уровнях мембранного потенциала, задержанные калиевые каналы, активирующиеся при деполяризации мембраны, и неактивирующиеся калиевые каналы, функционирующие в присутствии ионов кальция у внутренней поверхности мембраны.

Эти обширные экспериментальные данные, полученные Платоном Григорьевичем и его сотрудниками, подробно освещены в монографии «Механизмы электрической возбудимости нервной клетки» (1981) (в соавторстве с О. А. Крышталем).

За цикл работ по изучению ионных механизмов возбудимости тела нервной клетки академику Платону Григорьевичу Костюку, докторам биологических наук О. А. Крышталю и И. С. Магурё и кандидату биологических наук В. И. Пидопличко присуждена Государственная премия СССР 1983 года в области науки и техники.

Обнаружение академиком Платоном Григорьевичем Костюком, доктором биологических наук О. А. Крышталем и кандидатом биологических наук В. И. Пидопличко кальциевых каналов и установление особенностей разыгрывающихся в них молекулярных процессов зарегистрировано 11 июля 1983 года Государственным Комитетом СССР по делам изобретений и открытий в качестве открытия. Это открытие имеет первостепенное значение для понимания самых глубинных механизмов деятельности нервных клеток и сулит огромные перспективы многим другим направлениям физиологии и медицины.

Для Платона Григорьевича жить — это всего себя отдавать любимому делу — Науке. Неиссякаем его интерес к новому, неизменно стремление все познать и исследовать. Истинный патриот советской науки, Платон Григорьевич продолжает познание тайн живой материи.