

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

Том 32, № 6, ноябрь—декабрь 1986

Киев Наукова думка

УДК 570(091):612.829.612.822

П. Г. Костюк, Ф. Н. Серков

ПРОБЛЕМА КЛЕТОЧНОЙ ВОЗБУДИМОСТИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ФИЗИОЛОГОВ УССР

В исследованиях украинских физиологов проблема клеточной возбудимости и природы процесса возбуждения является в значительной мере традиционной. Первый существенный вклад в ее решение был сделан В. Ю. Чаговцем, Б. Ф. Вериги и В. Я. Данилевским, их исследованиями механизма раздражающего действия электрического тока на возбудимые образования и связи электрических явлений, происходящих в живых тканях, с возбуждением. Дальнейшее изучение этой важнейшей проблемы на Украине связано с научной деятельностью Д. С. Воронцова, его учеников и последователей. Исследования по изучению природы возбудимости и возбуждения были начаты Д. С. Воронцовым еще в 1912 г. на кафедре физиологии Петербургского университета под руководством Н. Е. Введенского и продолжались затем на протяжении всей его научной деятельности, 35 лет которой проходили на Украине.

Ко времени перехода на работу в 1935 г. в Киевский медицинский институт Д. С. Воронцов был уже ученым с мировым именем. Широкую известность имели результаты его исследований восстанавливающего действия анода электрического тока на нерв, утративший свою возбудимость и проводимость в растворе хлористого калия, и катода при отравлении нерва хлористым кальцием [2]. На основании полученных данных им был сделан существенный вывод, что в основе раздражающего действия электрического тока на живые ткани лежит изменение на поверхности клетки электрического поля, приводящее к увеличению проницаемости ее мембраны, а не изменение концентрации одно- и двухвалентных ионов на полюсах тока, как это постулировалось широко распространенной в то время ионной теорией раздражения.

Не менее существенными для решения вопроса о природе возбудимости и процесса возбуждения были результаты исследования продолжительности однофазного тока действия нерва. Значительно усовершенствовав методику регистрации токов действия нерва струнным гальванометром, Д. С. Воронцов установил, что этот ток состоит из двух частей: начальной высоковольтной продолжительностью 2—3 мс, и следующей за ней низковольтной продолжительностью 50—300 мс. Было обнаружено, что низковольтная часть, названная им следовой

электроотрицательностью, очень чувствительна к действию различных физических и химических факторов, влияющих на обмен веществ в нерве [3].

В дальнейшем было показано, что однофазный ток действия скелетной мышцы также состоит из короткой высоковольтной части и продолжительной следовой электроотрицательности [4, 15], и из этого сделан вывод, что следовая электроотрицательность является обязательным компонентом тока действия любого возбудимого образования. По мнению Д. С. Воронцова, она возникает, когда проницаемость мембраны (после ее резкого увеличения во время начальной части тока действия) не сразу приходит в нормальное состояние, а еще некоторое время остается увеличенной, хотя и не столь значительно, как в начале возбуждения. Функциональное значение этого продолжительного повышения проницаемости мембраны после возбуждения состоит в создании условий для вхождения в клетку питательных веществ и удаления из клетки продуктов обмена.

Большое значение для развития в СССР исследований природы процесса возбуждения имели данные и выводы, изложенные Д. С. Воронцовым в статьях «Раздражительность и возбуждение как общие свойства живых образований» [5] и «О природе электрических потенциалов живых тканей» [6]. Согласно представлениям Д. С. Воронцова, возбудимость живых клеток обусловлена наличием на их поверхности протоплазматической полупроницаемой мембраны, являющейся раздражительным аппаратом клетки. При воздействии на ткани электрическим током раздражающим моментом является разрыхление клеточных мембран или изменение организации их диполей. В обоих случаях это приводит к деполяризации мембраны. При слабой интенсивности такой деполяризации она ограничивается только местом раздражения, что сопровождается градуальным локальным, нераспространяющимся возбуждением. Усиление раздражения вызывает нарастание деполяризации мембраны. При достижении некоторой пороговой интенсивности в возбудимом образовании возникает полное, но кратковременное и обратимое нарушение проницаемости мембраны, что проявляется в возникновении короткого высокоамплитудного потенциала действия. Этот потенциал раздражает соседние участки возбудимого образования, обеспечивая таким образом распространение возбуждения. Электрическая реакция, сопровождающая возбуждение, не ограничивается только быстрой высокоамплитудной частью тока действия; вслед за ней возникает продолжительная низковольтная часть, которая выражает активный процесс, происходящий в протоплазме и являющийся одним из элементов процесса возбуждения.

По Д. С. Воронцову, процесс возбуждения состоит из двух фаз: первая, выражающаяся высоковольтной частью тока действия, представляет собой сравнительно простой физико-химический процесс, который является пусковым для более сложной 2-й фазы физиологических восстановительных процессов, связанных с обменом веществ и энергии в клетке. Обе фазы должны рассматриваться как обязательные компоненты возбуждения. Точка зрения, что ток действия полностью отражает возбуждение, по мнению Д. С. Воронцова, ошибочна, так как исключает из поля зрения исследователей существенные процессы, происходящие в возбудимых образованиях. Сосредоточение всего внимания на токе действия и его генезе приводит к тому, что более поздние реакции, вызываемые раздражением, оставляются физиологами без внимания. В лучшем случае лишь признается наличие этих реакций, но очень мало кто занимается изучением их роли в деятельности организма вообще и нервной системы в частности. Д. С. Воронцов полагал, что новое понимание природы возбуждения и его применение в иммунологии, эндокринологии и фармакологии будет способствовать более полному раскрытию сущности внутриклеточных процессов при действии антигенов, гормонов и разных фармакологических веществ.

В своем докладе на Гагрской конференции в 1947 г. Д. С. Воронцов представил ряд данных, подтверждающих правильность мембранной теории происхождения электрических потенциалов живых тканей. Соответственно этому, при рассмотрении вопроса о природе возбуждения он придавал важное значение полупроницаемой мембране клетки.

Защищая мембранную теорию, Д. С. Воронцов выступил против упрощенных представлений о процессах, происходящих в мембране при возбуждении клетки. Он подверг критике представление о мембране как молекулярном сите и развил оригинальную концепцию о мембране как особом раздражительном аппарате клетки. Этот аппарат обеспечивает, по мнению Д. С. Воронцова, способность живой клетки реагировать на раздражение ответной реакцией в виде возбуждения. В таких возбудимых образованиях, как нервное волокно, нервные и мышечные клетки этот аппарат имеет специализированный механизм генерации потенциала действия. Важной особенностью этой концепции является утверждение, что процессы, происходящие в раздражительном аппарате клетки, т. е. в поверхностной полупроницаемой мембране, тесно связаны с обменом веществ в протоплазме. Этот аппарат находится в тесной функциональной связи с рабочим аппаратом клетки. Такая связь проявляется не только при ответе клетки на раздражение, но и в состоянии покоя. Она выражается тем, что состояние раздражительного аппарата, отражением которого является поверхностный потенциал клетки, тесно зависит от метаболизма клетки. В основе генерации потенциала действия лежит биофизический процесс, обеспечивающийся сложными биоэнергетическими процессами, являющимися составной частью процесса возбуждения.

Правильность этих положений Д. С. Воронцова подтвердилась затем результатами, полученными многими исследователями, показавшими, что для обеспечения активного транспорта ионов через мембрану необходимо осуществление сложных биохимических реакций с участием специализированных ферментных систем [9]. В качестве примера зависимости состояния раздражительного аппарата клетки от процессов, происходящих в ее протоплазме, Д. С. Воронцов приводит явление адаптации, заключающееся в том, что при действии раздражения в слоях протоплазмы, прилежащих к раздражительному аппарату, возникает деятельность, направленная на снижение возбудимости раздражительного аппарата.

Свой доклад на Гагрской конференции Д. С. Воронцов закончил утверждением, что не может быть сомнения в том, что те потенциалы живой клетки, которые выражаются током покоя и током действия, представляют собой функцию особого раздражительного аппарата, расположенного на поверхности клетки и предназначенного для ее взаимодействия с внешней средой. Этот аппарат тесно связан с микроструктурами протоплазмы, особенно с теми, которые осуществляют обмен веществ.

Работы Д. С. Воронцова явились мощным стимулом для развития в СССР исследований по изучению мембранных процессов в нервных мышечных клетках. В отделе общей физиологии нервной системы Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР П. Г. Костюком и его сотрудниками разработаны оригинальные методики, с помощью которых установлены основополагающие закономерности деятельности клеточной мембраны, обеспечивающей электрическую возбудимость соматической мембраны нервной клетки. Показано, что возбуждение сомы нервной клетки сопровождается более сложными электрогенными процессами, чем при генерации потенциала действия в аксоне и что в соматической мембране имеется более сложный набор электроуправляемых ионных каналов, чем в аксоне. Получены убедительные доказательства наличия в соматической мембране нейронов электроуправляемых натриевых, кальциевых и нескольких разновидностей калиевых ионных каналов. Показано, что роль переносчика входящего

тока при генерации потенциала действия в соме нервной клетки выполняют не только ионы натрия, но и ионы кальция [8].

Особое значение для развития мембранологии имела разработка в этом отделе метода внутриклеточной перфузии изолированных нейронов, который дает возможность быстро изменять и контролировать ионный состав внутриклеточного содержимого. С помощью комбинации этого метода с техникой фиксации напряжения и действия на мембрану разных веществ, угнетающих проводимость определенных ионных каналов, осуществлено разделение токов, текущих по различным ионным каналам мембраны и изучено влияние внутриклеточной среды на их функцию. Разделение и регистрация токов отдельных ионов дали возможность изучить свойства и кинетику натриевых, калиевых и кальциевых ионных токов.

Наряду с изучением механизмов пассивного ионного транспорта, в отделе проведено изучение функции ионных насосов, осуществляющих активный транспорт ионов через соматическую мембрану, и роли этих насосов в поддержании мембранного потенциала и возбудимости клетки на определенном уровне. На основании полученных данных были выдвинуты принципиально новые положения о механизмах селекции поверхностной мембраной нервной клетки различных типов катионов и возникновения соответствующих ионных токов [8].

Метод внутриклеточной перфузии и его модификации оказались высокоэффективными для изучения ионных механизмов мембраны нервных и других возбудимых клеток и с этой целью применяются в настоящее время во многих физиологических лабораториях Советского Союза, США, Японии, ФРГ и других стран. За цикл работ «Исследование ионных механизмов возбудимости сомы нервной клетки», опубликованных в 1969—1981 гг. П. Г. Костюку, О. А. Крышталю, И. С. Магуре, В. И. Пидопличко присуждена Государственная премия СССР, 1983 г.

Особенно важные данные получены при изучении свойств и функции кальциевых потенциалозависимых ионных каналов. В опытах на перфузируемых нейронах с использованием фиксации напряжения на мембране проведено выделение и измерение кальциевых ионных токов соматической мембраны, изучена их кинетика и дано количественное описание.

Значительный интерес представляют результаты исследований зависимости функции кальциевых каналов от внутриклеточного метаболизма цАМФ. Понижение содержания этого вещества внутри клетки вымыванием при перфузии или воздействием на ее метаболизм приводит к уменьшению кальциевого тока. Введение во внутриклеточную среду экзогенной цАМФ предотвращает уменьшение кальциевого тока; если ток уже уменьшился, то происходит частичное или полное его восстановление до исходных значений. Получены доказательства того, что указанные регуляторные эффекты опосредуются через цАМФ-зависимое фосфорилирование белков кальциевых ионных каналов. Внутриклеточные ионы кальция взаимодействуют с указанной регуляторной системой в результате активации ряда входящих в нее ферментов [9, 10]. Явление избирательной кальциевой проводимости мембран сомы нервных клеток было зарегистрировано в 1983 г. как научное открытие.

Основополагающие данные получены в Институте физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР при изучении структуры и функции ионных каналов хемочувствительных мембран. В отделе физиологии вегетативной нервной системы, руководимом В. И. Скоком, детально изучена роль мембранных процессов в передаче возбуждения через синапсы нейронов вегетативных ганглиев. При этом показано, что ацетилхолин увеличивает проницаемость постсинаптической мембраны нейронов симпатических ганглиев и вызывает генерацию потенциала действия, активируя в ней натриевые и калиевые ионные каналы. В мембране выделено два типа рецепторно-канальных комплексов с дли-

тельным и более коротким средним временем открытого состояния. Первые находятся в постсинаптической, а вторые, по-видимому, во внесинаптической мембране.

Изучены также свойства одиночных никотиновых холинорецепторов, проводимость их ионных каналов и кинетика его работы. Показано, что при активировании холинорецептора ацетилхолином происходит несколько кратковременных открываний ионного канала. Выяснены молекулярные механизмы фармакологического блокирования холинорецептора. Многие избирательные блокаторы холинэргической передачи действуют посредством блокирования открытого ионного канала холинорецептора [18].

В отделе нервно-мышечной физиологии под руководством М. Ф. Шубы впервые получены основополагающие данные об ионной природе возбуждающего и тормозящего действия медиаторов и других веществ на гладкие мышцы. Установлено, что возбуждающее действие медиаторов обусловлено в основном увеличением проницаемости клеточной мембраны для ионов натрия и кальция или уменьшением проницаемости для калия, тогда как тормозящее действие связано обычно с повышением проницаемости для ионов калия. Показана роль ионов кальция в генезе фазных и тонических сокращений гладких мышц [19].

В отделе физиологии коры головного мозга (заведующий Ф. Н. Серков) ведутся исследования по изучению возбуждения и торможения в нейронах таламуса, коры головного мозга и гиппокампа. Обнаружено существенное различие в развитии и течении этих процессов в дендритах и соме нейронов. Определены механизмы, регулирующие степень возбудимости корковых и таламических нейронов. Показана важная роль процесса торможения в этой регуляции [16, 17].

Кроме Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР, изучение механизмов возбудимости и природы возбуждения проводилось в других научных учреждениях УССР. Так в НИИ физиологии и кафедре физиологии человека и животных Киевского университета им. Т. Г. Шевченко П. Г. Богачем и его сотрудниками изучены электрические потенциалы, сопровождающие возбуждение и сокращение гладких мышц и влияние на них ионов кальция и магния [1].

В Институте биохимии им. А. В. Палладина АН УССР проведено изучение биохимических процессов, участвующих в механизме активного транспорта ионов натрия и калия через биологические мембраны [13], а также исследования биохимических механизмов транспорта ионов кальция через мембрану мышечных клеток и связи этого транспорта с процессами их возбуждения и сокращения [11, 12].

В Институте геронтологии АМН СССР получены данные о возрастных изменениях уровня мембранного потенциала и возбудимости мышечных и нервных клеток. В течение последних 10 лет учеными УССР опубликованы монографии, посвященные проблеме клеточной возбудимости и природы возбуждения [7, 10—14].

Все это указывает на активное и эффективное участие физиологов УССР в разработке важнейшей проблемы общей физиологии — клеточной возбудимости, значительный вклад в которую был сделан академиком АН УССР Д. С. Воронцовым.

P. G. Kostyuk, F. N. Serkov

THE PROBLEM OF CELLULAR EXCITABILITY IN RESEARCH OF PHYSIOLOGISTS OF THE UKRAINIAN SSR

Data on the development of research aimed at studying cellular excitability and the excitation nature are presented as concerned for the Ukrainian SSR. Results obtained from research of the Ukrainian SSR physiologists in the field of membranology and electrophysiology of nerve cells and myoblasts are analyzed.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. *Богач П. Г.* Влияние физиологически активных веществ на электрическую и механическую активность гладких мышц // 14-й съезд физиологического общества в Баку в 1983 г.—Л.: Наука, 1983 г.—С. 14—15.
2. *Воронцов Д. С.* Влияние постоянного тока на нерв, обработанный водой, растворами сахара, хлоридов щелочных и щелочноземельных металлов // Рус. физиол. журнал.—1924.—7, № 1.—С. 79—94.
3. *Воронцов Д. С., Юденич Н. В.* К анализу электрической реакции нервного процесса // Сб. работ Казанского мед. ин-та.—1933.—9—10, № 3—4.—С. 108—129.
4. *Воронцов Д. С.* Токи действия скелетных мышц лягушки // Физиол. журн. СССР.—1947.—33, № 1.—С. 81—100.
5. *Воронцов Д. С.* Раздражительность и возбуждение как общие свойства живых образований // Науч. записки Ин-та физиологии Киев. ун-та.—1947.—2.—С. 9—68.
6. *Воронцов Д. С.* О природе электрических потенциалов живых тканей // Гагские беседы.—Тбил.: Изд-во АН ГрССР, 1949.—1—С. 149—193.
7. *Костюк П. Г., Крышталь О. А.* Механизмы электрической возбудимости нервной клетки.—М.: Наука, 1971.—204 с.
8. *Костюк П. Г.* Основные принципы организации каналов, определяющих электрическую возбудимость нейрональной мембраны // Журн. эволюц. биохимии и физиологии.—1983.—19, № 4.—С. 333—339.
9. *Костюк П. Г.* Ионные каналы в мембране нервной клетки и их метаболический контроль // Успехи физиологических наук.—1984.—15, № 3.—С. 7—22.
10. *Костюк П. Г.* Кальций и клеточная возбудимость.—М.: Наука, 1986.—254 с.
11. *Кудинов С. А.* Системы транспорта Ca^{2+} в нервных клетках: Киев: Наук. думка, 1983.—160 с.
12. *Курский М. Д., Михайленко Е. Г., Федоров А. Н.* Транспорт кальция и функция гладких мышц.—Киев: Наук. думка, 1982.—172 с.
13. *Лишко В. К.* Натриевый насос биологических мембран.—Киев: Наук. думка, 1977.—144 с.
14. *Магура И. С.* Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны.—Киев: Наук. думка, 1981.—206 с.
15. *Серков Ф. Н.* Ток действия скелетной мышцы // Учен. записки Казан. ун-та.—1934.—94, № 3.—С. 3—9.
16. *Серков Ф. Н.* Механизмы регулирующие возбудимость нейронов коры головного мозга // Актуальные проблемы современной физиологии.—Киев: Наук. думка, 1986.—С. 99—102.
17. *Серков Ф. Н.* Природа и синаптические механизмы торможения в нейронах коры головного мозга // Физиол. журн.—1985.—31, № 5.—С. 513—525.
18. *Скок В. И.* Физиологические свойства никотиновых холинорецепторов нейронов симпатического ганглия // Нейрофизиологи.—1984.—16, № 3.—С. 319—326.
19. *Шуба М. Ф., Бурый В. А.* Мембранные механизмы возбуждения гладкомышечных клеток // Физиол. журн.—1984.—30, № 5.—С. 545—559.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 27.06.86

УДК 577.354:612.89:612.822

В. И. Скок

БЛОКАДА ОТКРЫТОГО ИОННОГО КАНАЛА КАК МЕХАНИЗМ ИЗБИРАТЕЛЬНОГО БЛОКИРОВАНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ

Давно известно, что ионные каналы электровозбудимых мембран могут избирательно блокироваться определенными веществами, которые связываются с каналом в открытом состоянии. Классическими примерами являются местные анестетики для натриевых каналов [34, 55] и тетраэтиламоний для калиевых каналов [6, 7].

Блокирование открытого канала наблюдалось также в химически возбудимых мембранах [4, 8, 9, 14, 20, 45]. Однако из-за большого разнообразия веществ, способных блокировать хемотропные каналы в открытом состоянии (местные анестетики, барбитураты, бис-четвертичные аммониевые соединения, алкалоиды и т. д.), этот тип блокирования обычно представлялся менее избирательным, чем классический конкурентный механизм блокирования [8, 9, 10, 35]. В этой статье представлено доказательство, что блокирование открытого ка-