

МЕМОРИАЛЬНЫЕ ЛЕКЦИИ

Вклад П. Г. Костюка в парадигму кальциевой сигнализации

О.А. Крышталь

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев

Идеи об особой роли кальция в биологии берут начало с XIX века, когда почти сразу после открытия кальция как неорганического элемента (Дэви, 1808) была установлена его роль в формировании костей млекопитающих, а также других минерализованных тканей, встречающихся в биологическом многообразии животного мира. Следующим этапом послужили наблюдения выдающегося английского физиолога Сиднея Рингера (S. Ringer), сделанные ближе к концу XIX века. Рингер обнаружил, что изолированное сердце лягушки намного лучше выживает, сохраняя сократительную активность, в водопроводной воде по сравнению с дистиллированной. Оказалось, что причина столь «животворного» действия воды из лондонского водопровода – высокое содержание в ней кальция (в концентрации, как выяснилось, порядка миллимоля). Таким образом, оказалось, что кальций – это не только составляющая минерализованных тканей, но и фактор, который участвует в мышечном сокращении. Следующий прорыв в понимании роли кальция случился уже в 40-х годах прошлого века, когда Л. Хейльбрам (L Heilbrunn) ввел кальций внутрь мышечных волокон через их обрезанные концы и таким образом вызвал мышечное сокращение. В 1942 году К. Бейли (K. Bailey) объяснил этот феномен, показав, что АТФ-азная активность миозина критически активируется кальцием. Дальнейшие исследования позволили первооткрывателю медиаторной роли ацетилхолина О. Леви (O. Loewy) в 1959 г.

пошутить: «Кальций – это все!» Однако чтобы установить, насколько «все» – это все, потребовалась еще пара десятилетий.

Стали умножаться данные о ключевой роли кальция в регуляции активности множества ферментов, в том числе и механизмов, управляющих клеточной смертью. Появились сведения об энергозависимом накоплении кальция в саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях. Почти параллельно во времени возникла концепция кальциевой проницаемости клеточных мембран, то есть участия кальция в электрогенезе и нейросекреции (в том числе и секреции нейромедиаторов). У истоков этой концепции стоят, прежде всего, имена Бернарда Каца и соавторов (B. Katz, P. Fatt, R. Miledi).

Первое прямое измерение кальциевого тока было сделано Фэттом и Гинсборгом в 1958 году на мышечных клетках ракообразного (P. Fatt and B. Ginsborg). Гигантские мышечные волокна ракообразных обладают мощной системой кальциевой проводимости и практически лишены способности генерировать натриевый потенциал действия. Это позволило С. Хагиваре (S. Nagiawara) произвести первое описание свойств кальциевой проводимости. В то же время еще А. Ходжкин (A. Hodgkin) и соавторы показали, что кальциевая проницаемость гигантского нервного волокна исчезающе мала и не способна внести сколь-нибудь заметный вклад в электрогенез, связанный с передачей нервного импульса. Перед мировой наукой встала задача

выяснить, снабжены ли нервные клетки механизмами кальциевой проводимости. Сейчас, после десятилетий развития соответствующих научных идей, этот вопрос может показаться академическим. Каждый студент-биолог может спросить: а как же можно без этой проводимости обойтись? Но необходимо было получить прямые доказательства кальциевого электрогенеза в нервных клетках, экстраполировав на этот общий случай «обычных» нервных клеток информацию, полученную на экзотических гигантских образованиях (гигантские аксоны, мышечные волокна, синапс). Не говоря уже о том, что концепция кальциевых каналов была в самом зародыше. Проявив подлинное научное дальновидение, Платон Григорьевич Костюк увлекся этой проблемой. В 1965 году П. Костюк и соавторы (В. Д. Герасимов, П. Г. Костюк и В. А. Майский) сообщили о способности некоторых гигантских нейронов пресноводных моллюсков генерировать потенциалы действия в безнатриевой среде. Возникла необходимость прямого измерения токов, отвечающих за электрогенез в этих условиях, с целью идентификации иона-носителя. Попытка решить эту проблему с применением двухмикроэлектродной фиксации потенциала на мембране гигантских нейронов моллюсков обнадружила, но не дала однозначного ответа на вопрос об участии кальция в генерации нервного импульса соматической мембраной нервной клетки. Нельзя было исключить, что входящий ионный ток, наблюдаемый при помещении окологлоточного кольца ганглиев в безнатриевый раствор, обеспечивается остатками натрия, сохраняющегося в межклеточных пространствах, огражденных соединительно-тканными оболочками. Надежда решить проблему в связи с разработкой ферментативного выделения отдельных нейронов из ганглия также не оправдалась. Оказалось, что входящий (возможно кальциевый) ток,

остающийся в безнатриевом растворе, маскируется мощным калиевым выходящим током, который лишь частично блокируется единственным существовавшим на начало 70-х годов блокатором – тетраэтил-аммонием. Для решения проблемы следовало найти новый путь. Образовавшаяся группа, занимавшаяся поиском решения, включала, кроме Платона Григорьевича Костюка, Владимира Ивановича Пидопличко и автора этих строк. Мозговой и экспериментальный штурм увенчался разработкой метода внутриклеточной перфузии или, как он «скромно» назывался в первой публикации в журнале *Nature* (1975), «метода внутриклеточного диализа». Клетка была помещена в пору, сделанную в пластике и покрытую изолирующей смазкой. Затем одна из сторон клетки («внутренняя») разрушалась скачком гидростатического давления. Убрав ионы калия из искусственной внутриклеточной среды, мы увидели, как выходящий калиевый ток постепенно исчезает. Вместо него появился очень медленный входящий ток, амплитуда которого полностью определялась концентрацией кальция во внеклеточном растворе. Можно себе представить (!!!) ликование экспериментаторов.

Проблема была решена: оказалось, что соматическая мембрана нервных клеток снабжена хорошо развитой системой кальциевой проводимости. Последующие работы, выполненные под руководством П.Г. Костюка, позволили определить важнейшие характеристики кальциевых каналов в мембране нервной клетки. Статьи, опубликованные в *Journal of Physiology (London)* в 1977 году, вошли в анналы классики цитирования (*Citation Classics*).

Последующие публикации были выполнены с использованием усовершенствованного метода внутриклеточной перфузии, который стал первым вариантом появившейся позже общеизвестной методики *patch-clamp*. Удалось сделать первое в ми-

ре описание кальциевых токов в терминах модели Ходжкина–Хаксли (m^2h), так и произвести первую регистрацию воротных токов кальциевых каналов (Nature, 1977).

Весомый вклад в парадигму кальциевой сигнализации в нервной клетке был внесен П.Г. Костюком и в последующие годы. Мировой резонанс произвели следующие достижения. В частности, определены факторы, присутствие которых в искусственной внутриклеточной среде обеспечивает функцию кальциевых каналов (знаменитый «коктейль Костюка», совместно с С.А. Федуловой и Н.С. Веселовским, 1981). С теми же соавторами, а также с Я.М. Шубой и А.Н. Савченко П.Г. Костюк был в числе первых, кому удалось показать существование нескольких типов кальциевой проводимости, чем было заложены основы современной классификации типов кальциевых

каналов (1985, 1988).

Как автор многочисленных концептуальных обзоров, основанных на успехах его лаборатории в Институте физиологии им. Богомольца, П. Г. Костюк внес неоценимый вклад в формирование парадигмы кальциевой сигнализации в нервной системе.

Мозг – уникальное устройство, в котором электрические сигналы взаимодействуют с молекулами, внося в них изменения. Изменения в молекулах приводят, в свою очередь, к изменению электрических сигналов. Ионы кальция – основной привод такого взаимодействия. Прозорливость и талант нашего Учителя позволили предвидеть важность исследований в этой области и обеспечить их успех. Вклад П.Г. Костюка в одну из важнейших проблем нейрофизиологии навсегда останется в истории науки и сердцах учеников.