

**“МИКРОЭЛЕКТРОДНЫЙ” ПЕРИОД РАЗВИТИЯ  
КАЗАНСКОЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ШКОЛЫ**

*И.Н. Волкова, Е.М. Волков, Р.А. Гиниатуллин, А.Л. Зефирова, Г.И. Полетаев,  
Е.Е. Никольский, Х.С. Хамитов*

*Кафедра физиологии (зав. — проф. А.Л. Зефирова)  
Казанского государственного медицинского университета*

Работы А.В. Кибякова, посвященные физиологии медиаторов, и прежде всего его открытие участия химических веществ в передаче нервного импульса в симпатическом ганглии кошки, послужили одним из краеугольных камней в фундаменте современной нейрофизиологии. Исследования А.В. Кибякова на многие десятилетия определили научные интересы его непосредственных учеников и последователей.

Новые представления о природе синаптической передачи возбуждения требовали внедрения новых методов физиологического эксперимента. Таким поистине революционным методом стало микроэлектродное отведение электрических сигналов от нерва и мышцы. С введением в практику экспериментальной науки микроэлектродной техники стали возможными количественные исследования на клеточном и субклеточном уровнях. И потому стратегически важными для казанских нейрофизиологов стали работы Г.И. Полетаева, впервые в Казани на практике применившего микроэлектродную технологию при изучении роли гуморальных факторов в механизме передачи возбуждения с нерва на мышцу. С этого времени основным объектом для казанских нейрофизиологов становится нервно-мышечный синапс.

Г.И. Полетаевым было установлено, что физиологически активные соединения, облегчающие нервно-мышечную передачу, например катехоламины, имидазол, используют единый механизм регуляции. Воздействуя на пресинаптические окончания, они увеличивают амплитуду постсинаптического потенци-

ала, а именно потенциала концевой пластинки (ПКП) через рост числа квантов ацетилхолина (квантовый состав ПКП), выделяющихся из нервных окончаний в ответ на нервный импульс. В основе увеличения квантового состава ПКП лежит кальцийзависимый механизм возрастания вероятности освобождения каждого кванта ацетилхолина.

Важным открытием проф. Г.И. Полетаева было то, что ацетилхолин, кроме возбуждающего постсинаптического действия, обладает также пресинаптическим влиянием. В нервно-мышечном синапсе лягушки ацетилхолин и его аналоги уменьшали квантовый состав ПКП через снижение вероятности освобождения квантов медиатора. Таким образом, физиологически активные соединения, угнетающие нервно-мышечную передачу, также могут использовать пресинаптический путь регуляции синаптической передачи.

Проведенные исследования послужили основой для дальнейшего углубленного изучения механизмов работы нервно-мышечного синапса, который остается базисной моделью химического синапса. Под руководством Г.И. Полетаева сложились основные научные группы современной казанской физиологической школы (группы проф. Е.Е. Никольского, проф. А.Л. Зефирова, проф. Е.М. Волкова, проф. Р.А. Гиниатуллина), которые далее развивали методы электрофизиологического эксперимента. В результате этих исследований удалось понять многие ключевые принципы функционирования синаптического аппарата, которые имеют значение, далеко выходящее за пределы частной физио-

логии нервно-мышечной системы. Установленные закономерности во многом применимы и к другим синапсам как на периферии, так и в ЦНС, что подтверждают аналогичные исследования синапсов ЦНС, широкое цитирование результатов этих работ при изучении других объектов, а также эффективные научные изыскания подготовленных нами молодых специалистов в ведущих нейрофизиологических лабораториях Франции, Германии, Италии, США, Чехии.

Мы хотим привести перечень лишь некоторых ключевых результатов научных исследований, проведенных в последний период развития казанской физиологической школы.

Группой проф. А.Л. Зефирова исследован механизм секреции химического посредника ацетилхолина из нервных окончаний. Впервые описаны ионные каналы той части нейрона, которая непосредственно отвечает за секрецию посредника. С помощью тонких методов подведения микроэлектродов к нейрону установлена роль этих ионных каналов, часть которых определяет уровень секреции, а другие — длительность процесса секреции ацетилхолина. [3, 4]. Этим же коллективом с помощью уникального метода трехэлектродного отведения синаптических токов, разработанного нами, впервые получены прямые свидетельства того, что ацетилхолин выделяется из строго специализированных участков нейрона — “активных зон”, имеющих определенный набор мембранных и цитоплазматических белков-регуляторов [16].

Проф. Р.А. Гиниатуллин был инициатором внедрения в практику физиологического исследования метода оценки степени синхронности секреторного процесса. В последующем этот аспект деятельности синапса стал предметом более углубленного и комплексного исследования группами проф. А.Л. Зефирова и Е.Е. Никольского. В результате сочетания физиологического эксперимента и математического моделирования впервые описаны факторы, регу-

лирующие синхронность секреции сотен тысяч молекул ацетилхолина в ответ на одиночный нервный стимул. Установлено, что нарушение этой синхронности может резко снижать надежность синаптической передачи [9]. Выявление этого факта особенно важно для исследования ЦНС, где синхронность секреции значительно ниже [9].

Коллективом, руководимым проф. Е.Е. Никольским, установлено, что в основе известного угнетающего синаптическую передачу действия самого ацетилхолина и его ближайших аналогов, наряду с уменьшением количества освобождаемых порций медиатора, лежит и снижение этими агентами степени синхронности выделения квантов медиатора. Еще более интересным оказалось влияние на этот параметр адреналина и норадреналина. Впервые показано, что катехоламины способствуют облегчению нервно-мышечной передачи, причем в первую очередь через увеличение синхронности освобождения порций ацетилхолина из двигательных нервных окончаний. Этот механизм может играть принципиальную роль при утомлении нервно-мышечного препарата, при регенерации двигательных аксонов после повреждения, в синапсах животных, выходящих из состояния зимней спячки. Результаты исследований были высоко оценены мировой научной общественностью. В “Английском физиологическом журнале” они были приведены в редакторской колонке, посвященной анализу этой работы [6].

В содружестве с учеными из Пражского института нейрофизиологии проф. Е.Е. Никольским и соавт. выявлена и детально исследована неимпульсная форма выделения ацетилхолина из нейрона — “неквантовая секреция”. Функциональная роль этой секреции заключается в поддержании потенциала покоя клеток-мишеней в субсинаптической зоне. Существует специальная транспортная система, которая обеспечивает неквантовый выход цитоплазматического ацетилхолина из двигательного нервного окончания. Впервые показано, что при



Рис. 1. Проф. А.В. Кибяков среди сотрудников Казанского медицинского института (1984 г.). Слева направо: в первом ряду — Х.С. Хамитов, А.В. Кибяков, И.Н. Волкова, Г.И. Полстаев, Э.Г. Улумбеков; во втором ряду — Е.Е. Никольский, Р.А. Миндубаева, Э.А. Бухараева, Д.С. Валишина, Е.М. Волков, Д.А. Ахтямова; в третьем ряду — К.Ю. Сирматов, С.Р. Хайруллин, Р.З. Богданов, А.Л. Зефиоров.

нарушении целостности двигательного нерва в первую очередь исчезает неквантовая секреция медиатора, а в процессе восстановления иннервации она появляется раньше, чем другая — квантовая форма освобождения ацетилхолина. Таким образом, неквантовая секреция медиатора может служить принципиально важным фактором в формировании синаптического контакта [13]. В последующем “неквантовая утечка” была установлена исследователями и для других химических синапсов.

Детально изучена функциональная организация постсинаптической мембраны, где расположены белковые молекулы, реагирующие на появление ацетилхолина открытием ионных каналов, что приводит к появлению электрического сигнала в мышце. Проф. Р.А. Гиниатуллин и проф. А.Л. Зефиоровым описаны факторы, определяющие процесс генерации “физиологического” синаптического сигнала, основанного не на сниженном, как в других исследованиях, а на нормальном уровне секреции ацетилхолина. Выяснилось, что в этом случае имеется принципиальное отли-

чие процесса генерации синаптических сигналов, что особенно важно для понимания механизмов целенаправленно воздействия на функцию синапса [7].

Проф. Р.А. Гиниатуллиным установлено, что химический посредник ацетилхолин в случае продолжительного или часто повторяющегося действия способен не активировать, а, наоборот, вызывать торможение за счет десенситизации — феномена, ранее показанного только для фармакологических агентов. Это явление может лежать в основе саморегуляции функции синапса по принципу отрицательной обратной связи [8]. В содружестве с лабораторией нейрофизиологии из города Триест (Италия) на уникальном оборудовании, позволяющем одновременно регистрировать мембранные токи и внутриклеточные кальциевые сигналы от живой клетки, изучены тонкие механизмы десенситизации холинорецепторов и рецепторов АТФ [11]. В этой лаборатории прошли стажировку шесть молодых казанских физиологов. Ими же открыт новый синаптический феномен — постсинаптическая потенция, кото-

рый, в отличие от десенситизации, увеличивает чувствительность рецепторов к ацетилхолину в ходе ритмической его деятельности. Это может служить объяснением “вработывания” синапса в новый режим его активности и лежать в основе таких фундаментальных физиологических процессов, как память и обучение. Раскрыт механизм этого феномена [9]. Авторами предложена новая концепция двух противоположных по функции синаптических процессов — десенситизации и потенциации — как форм кратковременной пластичности синапса, которая нашла признание и цитируется в статьях других авторов и в обзорах по нейрофизиологии.

В течение последних лет авторами развивается начатое в работах Г.И. Полетаева направление по регуляции функции синапса гормонами, самими посредниками и другими химическими веществами. Наибольший вклад при этом внесен в понимание механизма саморегуляции синапса через пресинаптическое действие самого ацетилхолина. Наиболее активно и последовательно это направление развивалось проф. Е.Е. Никольским. Установлено, что на двигательных нервных окончаниях существуют специальные рецепторные структуры, при воздействии на которые сам медиатор, выделяющийся в синаптическую щель, может оказывать влияние, приводя к изменению уровня собственного освобождения. Выявлены молекулярные механизмы такого модулирующего действия, и показано, что они могут быть различными для разных видов животных [12, 14].

Группой проф. А.Л. Зефирова интенсивно анализируется действие других химических посредников на процессы секреции нейротрансмиттеров. Так, недавно ими обнаружен эффект газообразного посредника NO на квантовую секрецию ацетилхолина из двигательных нервных окончаний. Проф. Р.А. Гиниатуллин с учениками обнаружил на двигательных нервных окончаниях рецепторы для другого эндогенного модулятора — АТФ, которая может быть не

только внутриклеточным источником энергии, но и внеклеточным медиатором [10].

В работах А.В. Кибякова обсуждалась гипотеза о возможной не только медиаторной, но и “трофической” роли ацетилхолина по отношению к иннервируемому объекту. В рамках проблемы межклеточных отношений вопрос о трофической роли нервной системы по-прежнему находится в фокусе научного интереса. Однако благодаря достижениям молекулярной биологии произошло серьезное переосмысление самой природы трофического влияния нервной системы. Итогом этого стало появление термина “нейротрофический контроль”, под которым следует понимать постоянное влияние на генетический аппарат клетки с целью экспрессии ряда ее фенотипических признаков, определяющих ее наивысшую готовность к выполнению специфической функции в составе ткани или целого органа [1, 2].

На основании исследований, проведенных на высших позвоночных животных, сформулирована концепция, согласно которой мотонейронам принадлежат две функции — управление двигательной активностью и окончательным уровнем специализации (дифференцировки) свойств возбудимой мышечной мембраны. В осуществлении нейротрофического контроля ведущее звено составляют трофические химические факторы, отличные от медиатора возбуждения, переносимые к мышце с быстрой фазой аксоплазматического транспорта [1].

Показано, что на роль факторов нейротрофического контроля в отношении хемочувствительной мембраны и ее пассивных электрических свойств может претендовать опиоидный пептид  $\beta$ -эндорфин либо другой нейрогенный пептид, обладающий опиадной активностью и сходный по аминокислотному составу с его начальным фрагментом. Нейротрофическая регуляция, потенциал чувствительных натриевых ионных каналов мышечной мембраны имеют собственные отличные от предыдущих молеку-



Рис. 2. Проф. А.В. Кибяков на кафедре физиологии Казанского медицинского института среди молодых научных сотрудников (1984 г.).

Слева направо: в первом ряду — Е.Е. Никольский, А.В. Кибяков, Е.М. Волков, Р.А. Миндубаева; во втором ряду — Э.А. Бухараева, Д.А. Ахтямова, В.А. Воронин, Р.А. Гиниатуллин; в третьем ряду — А.А. Визель, А.Л. Зефилов.

лярные механизмы. Наличие нервной импульсации и секреции медиатора в квантовой или неквантовой формах, что присуще интактному нервно-мышечному синапсу, следует рассматривать как важные сопутствующие факторы, необходимые для полноценной реализации нейротрофического контроля. Отсюда нет смысла разделять и тем более противопоставлять обе функции мотонейронов — управление двигательной активностью мышечных волокон (импульсный механизм) и нейротрофический контроль (неимпульсный механизм). Оба эти процесса происходят одновременно и оказывают друг на друга взаимное влияние как на пре-, так и на постсинаптическом уровнях [2, 15].

Внедренный проф. Е.М. Волковым метод блокады аксонного транспорта без нарушения проведения нервной импульсации [15] получил всеобщее признание и стал одним из основных подходов к изучению механизмов нейротрофического контроля иннервируемых объектов.

За каждым из указанных направлений стоит комплекс более частных и конкретных проблем. Следует отметить, что перечисленные направления посвящены разным аспектам функционирования химического синапса. Однако они являются взаимодополняющими, создающими в целом общую картину процессов, проистекающих при передаче информации с одной клетки на другую. Можно считать, что создана современная научная школа синаптологии, занимающая ведущее место в России и признанная в мире. Об этом свидетельствует и то, что по итогам конкурса, проведенного в 1997 г. Российской Академией наук, казанская научная школа физиологов, единственная среди российских медицинских вузов, получила почетное звание ведущей научной школы России.

Результаты исследования функции синапса имеют не только теоретическое значение для нервно-мышечной физиологии или нейрофизиологии в целом. На их базе разворачиваются прикладные

исследования по нейропатологии, прежде всего в клинике нервных болезней, по фармакологии, где на базе наших исследований ведутся разработки по целенаправленному воздействию на разные звенья синаптического аппарата, по анестезиологии, где эти данные используются в управлении состоянием скелетных мышц во время наркоза. Важное значение имеют исследования для внедрения в практику новых принципов терапии отравления ингибиторами фермента холинэстеразы (в том числе боевыми отравляющими веществами и инсектицидами), ядом змей, насекомых, токсинов бактериального происхождения (ботулизм, столбняк, коклюш, дифтерия).

Многие результаты, представленные в работе, были высоко оценены научной общественностью. В 1993 г. получены высшая награда АН Чехии — медаль им. основателя академии наук И. Главки, в 1995 г. — медаль академии наук Чехии им. Я. Пуркин. В коллективе казанских нейрофизиологов работают 4 заслуженных деятеля науки РТ, 3 соросовских профессора, один соросовский доцент, 4 соросовских аспиранта, 12 соросовских студентов. 6 сотрудников кафедры признаны Российской Академией наук выдающимися учеными России. В 1995 г. большая группа физиологов КГМУ (И.Н. Волкова, Е.М. Волков, Р.А. Гиниатуллин, А.Л. Зефирова, Г.И. Поletaев, Е.Е. Никольский, Х.С. Хамитов) получила Государственную премию Республики Татарстан. Усилия ученых, ра-

ботающих ныне на кафедре физиологии, биологии и биофизики, направлены на сохранение высокого авторитета казанской физиологической школы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Волков Е.М.// Успехи совр. биол. — 1989. — № 4. — С 80 — 94.
2. Волков Е.М.// Успехи физиол. наук. 1989. — № 2. — С. 26 — 45.
3. Зефирова А.Л.// Бюлл. exper. биол. — 1984. — № 11. — С. 520 — 523.
4. Зефирова А.Л., Халилов И.А.// Нейрофизиология. — 1985. — № 6. — С. 771—779.
5. Зефирова А.Л., Халиуллина Р.Р., Гиниатуллин Р.А., Соколова Е.М.// Рос. физиол. журн. — 1999. — Т. 85. — С. 663 — 670.
6. Bukharaeva T., Kim K., Moravec J., Nikolsky E., Vyskocil F.// J. Physiology. — 1999. — Vol. 517. — P. 879 — 888.
7. Giniatullin R.A., Khazipov R.N., Vyskocil F.// J. Physiology (London).—1993.— Vol. 466.—P. 95— 103.
8. Giniatullin R.A., Khamitov Kh. S., Khazipov R., Magazanik L.G., Nikolsky E.E., Snetkov V.A., Vyskocil F.// J. Physiology (London).—1989.—Vol. 412.—P. 113—122.
9. Giniatullin R.A., Khiroug L.S., Vyskocil F.// Eur. Biophys. J. — 1995. — Vol. 23. — P. 443 — 446.
10. Giniatullin R.A., Sokolova E.M.// Br. J. Pharmacol. — 1998. — Vol. 124. — P. 839 — 844.
11. Khiroug L.S., Sokolova E.M., Giniatullin P.A., Afzalov R.A. and Nistri, A.// J. Neurosci. — 1998. — Vol. 18. — P. 2458 — 2466.
12. Nikolsky E., Bukharaeva E., Strunsky E., Vyskocil F.// Br. J. Pharmacology. — 1991.—Vol. 104.—P. 1024— 1032.
13. Nikolsky E., Voronin V., Zemkova H., Vyskocil F.// J. Physiology. — 1994. — Vol. 477. — P. 497 — 502.
14. Shakirzyanova D.M., Zefirov A.L., Nikolsky E.E., Vyskocil F.// Eur. J. Pharmacology. — 1994. — Vol. 263. — P. 107 — 114.
15. Volkov E.M., Nasledov Y.A., Poletaev G.I.// Experientia. — 1982. — Vol. 38. — P. 576 — 577.
16. Zefirov A.L., Benish T., Fatkullin N., Cheranov S., Khazipov R.// Nature.— 1995.— Vol. 376.— P. 25 — 27.

Поступила 27.07.99.