

АКАДЕМИЯ НАУК СССР



БАХОВСКИЕ
ЧТЕНИЯ

XVII

Х.С. КОШТОЯНЦ



ПРОБЛЕМЫ
ЭНЗИМОХИМИИ ПРОЦЕССОВ
ВОЗБУЖДЕНИЯ И ТОРМОЖЕНИЯ
И ЭВОЛЮЦИИ ФУНКЦИЙ
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ



ИЗДАТЕЛЬСТВО
АКАДЕМИИ НАУК СССР

✓
АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А.Н.БАХА

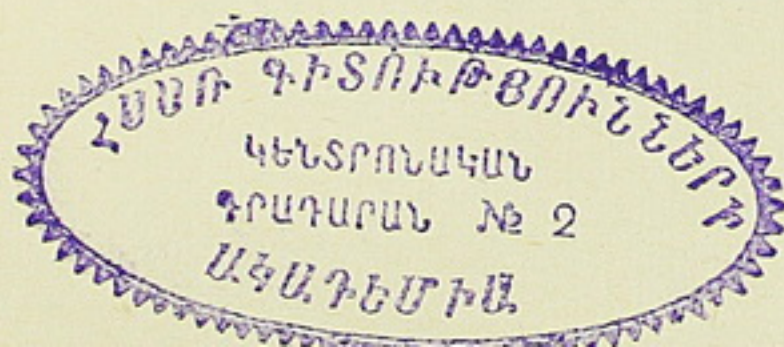
612.814

Х.С. КОШТОЯНЦ

—♦—
ПРОБЛЕМЫ
ЭНЗИМОХИМИИ ПРОЦЕССОВ
ВОЗБУЖДЕНИЯ И ТОРМОЖЕНИЯ
И ЭВОЛЮЦИИ ФУНКЦИЙ
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

*Доложено на семнадцатом ежегодном Баховском чтении
17 марта 1961 года*

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА
1963



Ответственный редактор
доктор биологических наук Т. М. ТУРПАЕВ

Президиум Академии наук СССР постановил
в ознаменование 50-летия существования
перекисной теории А. Н. Баха,
проводить ежегодно в день рождения академика А. Н. Баха,
17 марта научные чтения, посвященные
крупным вопросам биохимии

602/11
1025

ВВЕДЕНИЕ

На основании своих исследований по физиологии нервной системы И. М. Сеченов в 1866 г. выдвинул важное положение о том, что «деятельность нерва, как и всякого другого органа в теле, без потребления материи не мыслима». В этой же работе Сеченов приводил результаты экспериментальных исследований, выполненных им совместно со своими сотрудниками и дающих убедительные доказательства в пользу того, что изменение нормального процесса обмена веществ в нерве путем нарушения притока крови влечет за собой нарушение нормальной чувствительности (или, как говорил Сеченов, «нормальной раздражимости») нервов.

Во взглядах Сеченова особенно привлекает внимание его понимание места энергетики нервной системы в общей системе энергетики жизни. Сеченов писал: «В настоящее время на животное можно уже смело смотреть как на организм, превращающий через посредство растений энергию солнечных лучей в такие высокие формы, как механическая работа и акты чувствования от элементарных ощущений до мышления включительно». Устанавливая «родство психических явлений с так называемыми нервными процессами в теле», И. М. Сеченов вместе с тем определяет нервный процесс как «недоступный нашим чувствам частичный (молекулярный) процесс в сфере нервов и нервных центров» (Сеченов, 1935). В отличие от нервного процесса под нервным явлением Сеченов понимал внешние проявления нервной деятельности.

«К несчастью, — говорил Сеченов, — сведения наши о нервных процессах, даже для случая наивысшей элементарнейшей рефлексивности, почти равны нулю. Мы знаем лишь материальную форму, в сфере которой происходит явление, некоторые из условий его нормальной видоизменяемости, умеем воспроизводить явление искусственно с тем или другим характером, знаем, какую роль играет в цельном явлении та или другая часть аппарата, и т. д.; но природа тех движений, которые происходят в нерве и нервных центрах, остается для нас до сих пор загадкой. Поэтому разработка или, по крайней мере, выяснение этой стороны нервных

и психических явлений принадлежит отдаленному будущему; мы же осуждены вращаться в свете проявлений. Тем не менее, мысль о психическом акте как процессе движения, имеющем определенное начало, течение и конец, должна быть удержана как основная» (Сеченов, 1935).

Это положение И. М. Сеченова имеет первостепенное значение для материалистической теории природы нервно-психических явлений. Оно представляет программу научных исследований, реализация которой становится возможной в наше время, когда равные «нулю» во времена Сеченова сведения о молекулярных химических процессах в нервах и нервных центрах становятся все более конкретными и ясными.

Это направление работ отца русской физиологии И. М. Сеченова получило широкий отклик в трудах многих выдающихся русских физиологов. Под непосредственным влиянием Сеченова один из крупнейших русских физиологов В. Ю. Чаговец создал свою теорию происхождения биоэлектрической активности живых тканей. В основе этой теории лежит представление о том, что причиной возникновения биоэлектрических потенциалов являются те биохимические и физико-химические процессы, которые органически связаны с обменом веществ живой ткани.

Наиболее яркое выражение это направление отечественной физиологии получило в трудах И. П. Павлова и прежде всего в его замечательной теории трофического влияния нервной системы. Самым существенным в этой теории является утверждение, что регуляторное влияние нервной системы на органы и ткани прежде всего основывается на питании этих органов и тканей, на их обмене веществ, или «химическом жизненном процессе», по выражению И. П. Павлова.

ЭНЗИМОХИМИЧЕСКАЯ ГИПОТЕЗА НЕРВНОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ

На современном этапе развития физиологии, биохимии и фармакологии нервной системы теряет смысл имеющая почти вековую историю альтернатива: происходит ли процесс передачи возбуждения путем распространения электрических токов от пресинаптических структур через синапс к постсинаптическим структурам (гипотеза электрической передачи) или эта передача осуществляется при помощи химических процессов в синапсе (гипотеза химической передачи). Эта альтернатива в настоящее время преодолена. Установлено, что электрические явления в нервной системе имеют своим источником физико-химические и биохимические процессы и что специфические химические агенты, участвующие в явлениях возбуждения и торможения в нервной системе, являются регуляторами определенных ти-

пов электрогенеза, характерных для возбуждения или торможения.

Началом преодоления этой альтернативы можно считать предложенную Нахмансоном и Мейергоф (Nachmansohn, Meyerhof, 1941) модификацию теории «химической передачи». Эти авторы показали, что метаболизм ацетилхолина intimately связан с электрическими явлениями, происходящими на поверхности нервной клетки.

Исторически оценивая современный этап развития проблемы механизма синаптической передачи, его следовало бы охарактеризовать как этап биохимической биофизики нейронов и синапсов. Однако перед исследователями этой проблемы возникает новая альтернатива: лежат ли в основе возбуждения и торможения в синапсах и нейронах биохимические процессы, захватывающие химическую динамику синапсов и нейронов в целом (в духе старой теории Геринга), или в основе возбуждения и торможения лежат специфические процессы, разыгрывающиеся на поверхностных структурах с их рецепторной субстанцией (как это вытекает из выводов Эрлиха, а также Дела и Барджера о рецепторных группах или Шеррингтона о синаптических мембранах). В ясной форме эта альтернатива сформулирована американским нейрофизиологом Грундфестом (Grundfest, 1960) на симпозиуме, посвященном роли гамма-аминомасляной кислоты в явлениях торможения в центральной нервной системе.

Согласно развиваемой нами энзимохимической гипотезе нервного возбуждения, такие вещества, как ацетилхолин, адреналин, гистамин и другие возможные передатчики нервного возбуждения, во-первых, сами являются продуктами специфического обмена веществ нервной системы или соответствующих промежуточных образований и, во-вторых, оказываются активными постольку, поскольку включаются в цепь тех хемодинамических процессов, которые лежат в основе функциональной активности иннервируемых органов. Например, для случая иннервации скелетной мышцы ацетилхолиновый цикл должен быть связан с циклом превращений аденозин-полифосфорных соединений.

Подобный вывод обосновывался нами в течение последних 25 лет целой серией экспериментальных сравнительно-физиологических исследований, итоги которых публиковались в нашей периодической печати. Эти исследования показали, что нарушение передачи нервного возбуждения можно вызвать как вмешательством в звенья клеточного обмена веществ, которые ведут к образованию медиаторов, например, ацетилхолина, так и исключением промежуточных звеньев биохимического цикла, который связывает специфический обмен медиаторов с цепью химических превращений иннервируемого органа. К этому надо добавить, что эффект действия медиаторов возможно понять

наиболее полно только при учете всей той биохимической системы, которая связана как с синтезом, так и с разрушением этих медиаторов. Например, для случая ацетилхолина важно иметь в виду систему «холинацетилаза — ацетилхолин — холинэстераза», а для случая гистамина систему «гистидиндекарбоксилаза — гистамин — гистаминаза».

В опубликованных нами в период 1938—1942 гг. исследованиях мы обращали внимание на то обстоятельство, что в ряде случаев блок передачи нервного возбуждения, вызываемый различными ингибиторами углеводного обмена, совпадал с блоком клеточной хемодинамики в определенную ее стадию. При действии этих веществ на сердечную, а также на скелетную мышцы лягушки нарушался нормальный ход процесса передачи возбуждения с нерва на эти ткани.

Нами был описан «флуоридный блок возбуждения», совпадающий с «флуоридным блоком распада углеводов», установленным биохимиками. Было сделано допущение, что происходящее при этом блокирование определенных звеньев хемодинамики клетки под влиянием применявшихся парализаторов является предпосылкой к задержке образования таких физиологически активных веществ типа «передатчиков нервного возбуждения», как пируватхолин и ацетилхолин. На основании этих опытов и сравнительно-физиологических исследований по вопросу о наличии ацетилхолина у безнервных организмов нами в 1938 г., независимо от кембриджских биохимиков, была дана схема образования и разрушения ацетилхолина в тесной связи с клеточным распадом углеводов. Мы исходили при этом из того теоретического предположения, что механизм образования физиологически активных веществ, принимающих участие в возбуждении клеток, тесно связан с дыхательным обменом клеток и что вследствие еще неизвестных нам в точности биокаталитических процессов, из общего метаболического цикла вырываются его отдельные производные, обладающие высокой физиологической активностью и принимающие непосредственное участие в процессах возбуждения (в том числе нервного) через включение в важнейшие звенья хемодинамики протоплазмы.

В дальнейшем, в течение примерно 20 лет, мы широко применяли ингибиторный метод для анализа биохимических основ передачи возбуждающих и тормозящих нервных влияний.

Большой экспериментальный материал, полученный нами по вопросу о зависимости влияния блуждающего нерва и ацетилхолина на сердце от тех или иных биохимических условий, позволил сделать вывод о многообразии этих условий. Одной из причин подобного многообразия является многообразие связей отдельных звеньев единого биохимического процесса, вследствие чего поломка одного звена влечет за собой нарушение единого целого. Для физиологии многообразие биохимических ус-

ловий указывает на ряд ступеней в осуществлении нервных влияний, каждая из которых должна иметь свою особую биохимическую характеристику. Я уже указывал на описанный мной флуоридный блок возбуждения. В дальнейшем нами было показано, что эффект действия блуждающего нерва и ацетилхолина выпадает при блокировании сульфгидрильных групп и полностью восстанавливается при помощи веществ, содержащих сульфгидрильные группы (Коштоянц и Турпаев, 1946).

Действие метиленовой сини на сердце, по-видимому, также связано с сульфгидрильными группами. Метиленовая синь снимает действие блуждающего нерва и ацетилхолина на сердце лягушки, а глутатион или сероводород вновь восстанавливают чувствительность сердечной мышцы к парасимпатическим воздействиям (опыты совместно с Н. Е. Бабской). При действии веществ, активирующих глутатионредуктазу (например, эфира Кори), происходит укорочение длительности угнетающего действия блуждающего нерва (опыты совместно с Т. Г. Путинцевой).

Об участии окислительно-восстановительных процессов в действии блуждающего нерва говорят результаты экспериментов с противоположным влиянием на это действие хинона и гидрохинона (опыты совместно с С. Н. Нистратовой). Эти опыты показали, что при раздражении блуждающего нерва происходит интенсивная трансформация аскорбиновой кислоты, находящейся в перфузирующей сердце жидкости, в дегидроаскорбиновую кислоту. Этот биохимический процесс не имеет места при раздражении блуждающего нерва после атропинизации сердца.

В свете этих данных получают особое значение, к сожалению, неоконченные спектрофотометрические определения, проведенные М. А. Островским и мной года три назад. Эти определения показали способность ацетилхолина в присутствии гомогената сердца смещать флуоресценцию акридиноранжа из области зеленой в красную как следствие димеризации и перехода в триплетное возбужденное состояние.

О возможной роли гистидина и, в частности, его имидазольной группы в осуществлении влияния блуждающего нерва на сердце говорят проведенные мной в 1956 г. совместно с Г. Каревой опыты по влиянию на эффект блуждающего нерва ионов цинка, специфически реагирующих с имидазольными группами гистидина. Эти опыты отчетливо показали, что при внесении ионов цинка (ZnSO_4 , 1×10^{-6} г/мл) исчезает действие блуждающего нерва на сердечную мышцу и, что особенно важно, гистидин (1×10^{-3} г/мл) полностью восстанавливает это действие. Следует отметить, что в случае действия ионов цинка эффект восстановления мы наблюдали также при внесении сульфгидрильных препаратов (глутатиона, цистеина).

Вместе с тем мы приходим к выводу, что эффект калия как химического компонента действия блуждающего нерва находится в прямой связи с циклом Кребса. Нами было показано, что типичный эффект угнетения сердечной деятельности под влиянием ионов калия не происходит в присутствии одного из ингибиторов названного цикла, а именно малоната, а вместе с тем этому эффекту малоната противодействует фумарат или сукцинат.

Наконец, следует отметить, что эффект блуждающего нерва и ацетилхолина находится в глубокой зависимости от нуклеиновых кислот и нуклеотидов, о чем речь будет ниже.

Приведенные примеры разнообразия энзимо-химической основы регуляторного влияния блуждающего нерва (и его химических агентов) на сердце, как и других нервов на другие органы, можно понять, если учесть: а) глубокую взаимосвязь различных звеньев единой системы химической динамики обмена веществ, лежащей в основе всех видов функциональной активности; б) тесную связь действия и превращений так называемых медиаторов с разными звеньями химической динамики обмена веществ; в) непосредственное участие различных энзимо-химических процессов в поддержании определенного уровня микроструктурных и ионных отношений, лежащих в основе раздражимости и возбудимости элементов нервной системы, передаточных приборов и самих иннервируемых структур и, наконец, г) те специфические особенности структуры белковых тел и энзимо-химических процессов, которые лежат в основе функциональной активности иннервируемых органов. Отсюда следует, что нарушение тех или иных звеньев химической динамики в каждом из перечисленных пунктов может нарушить ход того основного энзимо-химического пути, который характеризует данный процесс эфферентной регуляции.

Как ни сложны энзимо-химические процессы, которые лежат на пути реализации действия нервов и их химических агентов на эффекторы, только расшифровка этих процессов даст возможность объяснения сложного процесса превращения энергии нервного раздражения в специфические формы энергии иннервируемых структур (сокращение, электропродукция, секреция, свечение и т. п.).

БЕЛКОВАЯ ПРИРОДА РЕЦЕПТОРА АЦЕТИЛХОЛИНА

Проведенные нами в самых разнообразных направлениях опыты с сульфгидрильными группами, как нам представляется, открывают некоторые перспективы для химической расшифровки раздражимости как свойства белковых тел. Благодаря наличию в структуре белка ряда аминокислот в виде свободных бо-

ковых цепей, молекула белка располагает большим количеством реактивных, или функциональных, групп, среди которых весьма активной, хотя и не единственной в этом смысле, представляется сульфгидрильная группа. Дальнейшие исследования должны показать возможную роль различных реактивных групп белковой молекулы в ответе специфического субстрата клеток на те или иные раздражения, имеющие в конечном итоге свое химическое выражение.

В настоящее время мы располагаем достаточно убедительными данными, чтобы принять, что раздражимость, или чувствительность, протоплазмы причинно связана с поверхностной химической структурой белковых тел. Об этом говорят не только приведенные нами выше данные из области химизма нервного возбуждения, согласно которым действие медиаторов зависит от целостности одной из функциональных групп (сульфгидрильной группы), но и данные о чувствительности протоплазмы к различного рода сильнодействующим веществам, в частности ядам.

Большой экспериментальный материал, подчеркивающий важную роль сульфгидрильных групп как реактивных групп белковых тел, участвующих в осуществлении влияния ацетилхолина, приводит нас к выводу о белковой природе рецептора для этого важного химического агента передачи (осуществления) нервных влияний (Коштоянц, 1950, 1951).

Предположения о белковой природе холинорецептора в общей форме высказывались и другими исследователями (Welsh, 1948); в такой общей же форме высказывались предположения о ферментативной природе холинорецептора (Peruzzi, 1946; Карасик, 1947).

Прямое экспериментальное доказательство белковой природы рецептора ацетилхолина было дано лишь в самое последнее время Т. М. Турпаевым (1955а, 1955б, 1956, 1958, 1960) в нашей лаборатории и Эренпрейсом (Ehrenpreis, 1959, 1960) в лаборатории Нахмансона в США.

Первым шагом в экспериментальном анализе этой важной проблемы явились данные Т. М. Турпаева о зависимости чувствительности сердечной мышцы к ацетилхолину от температуры. Из экспериментальных данных Турпаева следует, что зависимость активности рецептора от температуры аналогична соответствующей температурной зависимости скорости ферментативных реакций. Было установлено, что максимум сродства рецептора к ацетилхолину имеет место при 15—20°. Оказалось, что нагревание желудочка сердца лягушки до 40° вызывает тепловую денатурацию рецептора, причем в зависимости от длительности нагревания имеют место обратимая и необратимая стадии денатурации. Трех-четырекратное нагревание до 40° (по 3—3,5 мин.) приводит к необратимой инактивации холинорецеп-

тора, в результате чего исчезает чувствительность сердечной мышцы к ацетилхолину при сохранении нормальной возбудимости и сократительных свойств этой мышцы. При охлаждении до 0° рецептор переходит из активного в неактивное состояние. Эта реакция инактивации обратима, сопровождается изменением структуры молекулы рецептора, изменением сродства его активного центра к ацетилхолину и характеризуется высокими значениями термодинамических параметров: ΔH_a 50 000—100 000 ккал., а ΔS_a 180—430 энтроп. ед. (Турпаев, 1955а, 1955б, 1958, 1960).

В своих поисках рецепторного белка Т. М. Турпаев совместно с С. Н. Нистратовой исходили из того, что рецепторы ацетилхолина содержат свободные SH-группы, реакционная способность которых снижается при взаимодействии с ацетилхолином. Используя эту особенность реакции с ацетилхолином в качестве биохимического теста на рецептор, Турпаев и Нистратова показали, что рецепторный белок находится во фракции водорастворимых белков тканевого гомогената сердца. Методом фракционирования разделением белков сульфатом аммония была проведена очистка рецепторного белка и начато изучение биохимической природы взаимодействия ацетилхолина с этим белком (Турпаев и Нистратова, 1959; Нистратова и Турпаев, 1959; Турпаев и Нистратова, 1961).

Данные, указывающие на то, что при блокировании сульфгидрильных групп наступает инактивация рецептора и что при взаимодействии ацетилхолина с рецептором имеет место снижение реакционной способности SH-групп холинорецептора, позволили Т. М. Турпаеву сделать предположение, что между SH-группой анионного пункта активного центра белкового рецептора и положительно заряженным азотом холиновой части молекулы ацетилхолина происходит прямое взаимодействие за счет электростатических сил притяжения.

Поиски американских исследователей шли другими путями и с использованием другого объекта. Эренпрейс (1959, 1960), а также Чагас (Chagas, 1959) показали, что при солевом фракционировании белков электрического органа рыбы *Electrophorus* одна из фракций обладает большим сродством к кураре. Сравнение разных курареподобных препаратов показало, что чем выше активность препарата, тем большим сродством к кураре обладает эта фракция белка. При действии кураре на эту фракцию осаждается белок, который, по мнению Эренпрейса (1960), и является рецепторным белком.

О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ В ЯВЛЕНИЯХ ВОЗБУДИМОСТИ, ПРОВОДИМОСТИ И ОСУЩЕСТВЛЕНИИ НЕРВНЫХ ВЛИЯНИЙ

Весь ход экспериментальных исследований нашей лаборатории за последние 15 лет, приведший к выводу о большой роли реактивных групп белковых тел в осуществлении процессов возникновения, распространения и передачи нервных импульсов и о белковой природе рецептора ацетилхолина, ставил перед нами задачу о роли в тех же процессах нуклеиновых кислот, пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов. Вопрос этот, вероятно, наиболее актуален на современном уровне развития рассматриваемой проблемы. Ведь речь идет о той сложной системе химических агентов, которая, с одной стороны, будучи связанной с биосинтезом белка, может обеспечивать непрерывную целостность не только специфического белкового рецептора, но и гаммы протеидов (мукопротеидов, липопротеидов и нуклеопротеидов), составляющей основу архитектуры пограничных или синаптических структур, в которых разыгрываются фундаментальные процессы передачи нервных влияний. С другой стороны, те или иные из названных химических агентов, участвующих в синтезе макроэргов, в переносе энергии, в связывании отдельных ионов, должны принимать участие в химической динамике и энергетике процессов возникновения, распространения и передачи возбуждения. Важность исследований в этом направлении диктуется и тем, что некоторые исследователи, и не только физиологи, готовы признать за нуклеиновыми кислотами тот химический субстрат, который ответствен за высшую форму проявления функций нервной системы — память.

Вопрос о роли нуклеиновых кислот в функциональной биохимии нервной системы давно уже привлекает внимание исследователей. Получены важные данные о роли и распределении нуклеиновых кислот в динамике онтогенетического развития элементов нервной системы и процессах регенерации нервов; доказано, что содержание нуклеиновых кислот в элементах центральной нервной системы претерпевает определенные изменения в различных функциональных состояниях и при тех или иных видах раздражения; имеются данные о восстанавливающем влиянии пиримидиновых нуклеозидов (и, в частности, уридина и цитидина) на нарушенную рефлекторную деятельность и электрическую активность головного мозга (Geiger, Yamasaki, 1956). Важные данные получены и для периферических нервных процессов. Так показано изменение содержания нуклеиновых кислот, пуриновых и пиримидиновых оснований при электрическом

раздражении седалищного нерва (Abood, 1956); отмечено, что после 15-минутного раздражения блуждающего нерва в сердце происходят сдвиги в содержании дериватов нуклеиновых кислот, отличные от таковых при раздражении симпатического нерва (Robb, 1956). Возможность участия нуклеиновых кислот и нуклеотидов в нервной регуляции ритмической деятельности сердца вытекает из известных в литературе данных о влиянии названных веществ на специфическую проводящую систему и, в частности, на ведущий пункт и атриовентрикулярный узел сердца, как холоднокровных, так и теплокровных, включая сердце человека (Drury, Szent-Györgyi, 1929; Drury, 1936).

Значение нуклеиновых кислот для процессов передачи нервных влияний особенно отчетливо выявляется, если иметь в виду современные мембранно-ионные представления, согласно которым в основе формирования процесса синаптического возбуждения лежит регуляция проницаемости соответствующих мембран и вследствие этого — регуляция поддержания ионной асимметрии внутри- и внеклеточной среды и активного транспорта ионов как условия формирования тока действия. Именно в этом отношении большое значение приобретают факты, говорящие о приуроченности нуклеиновых кислот к поверхностным структурам клеток и внутриклеточных образований (Rosenthal, 1952; Sutcliffe, 1959), о роли нуклеиновых кислот в связывании и транспорте ионов (Sutcliffe, 1959; Steward, Millar, 1954) и, наконец, данные о том, что под влиянием рибонуклеазы происходит нарушение связывания клетками таких физиологически важных ионов, как ионы кальция и калия (Tanada, 1956).

В приведенных выше работах имеются также указания на то, что поглощение и связывание ионов связано с синтезом белков, причем анионы и катионы связаны с амфотерными гамма-глутамил-пептидами, которые в конечном звене ассоциируют с нуклеиновыми кислотами.

Еще в 1940 г. Фенн (Fenn) указывал, что синтез белков сопровождается накоплением ионов калия, а при процессах катаболических наблюдается обратный процесс отдачи этих ионов. Недавние исследования французских ученых (Reinberg, Stolkowski, 1958; Stolkowski, Reinberg, 1959) показали, что полимеризация РНК является условием проникновения ионов калия в клетки, что под влиянием избыточного содержания калия во внеклеточной среде происходит увеличение содержания калия и полимеризированной РНК внутри клеток и что влияние внешних осмотических условий на содержание калия в клетках осуществляется через первичное воздействие на полимеризацию РНК.

Известно также, что нуклеопротейды состоят из субъединиц РНК и белка, связывание которых происходит посредством ионов магния. Из этих и подобных данных следует, что избирательное влияние на нуклеиновые кислоты рибонуклеазы

должно повлечь за собой не только нарушение синтеза белка (что хорошо известно), но и нарушение тех связей нуклеиновых кислот, которые поддерживают, в свою очередь, связи ионов со сложными нуклеопротеидными комплексами и обеспечивают нормальный баланс свободных и связанных ионов и их активный транспорт. Действительно, было показано, что рибонуклеаза тормозит нормальный уровень поглощения ионов кальция и стронция растительными клетками (Rosenthal, 1952; Tanada, 1955, 1956) и ионов калия — животными тканями, в том числе сердечной. В этих исследованиях было отчетливо показано, что под влиянием РНК-азы происходит нарушение регулируемого полимеризацией РНК процесса транспорта ионов калия и, следовательно, важного для процессов возбуждения состояния ионной асимметрии между внутри- и внеклеточными средами.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ПРОВЕДЕНИЕ РИТМИЧЕСКОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ В СЕРДЦЕ

Нами были поставлены опыты для выяснения роли нуклеиновых кислот в регуляции ритмической сократительной активности сердца, складывающейся, как известно, в результате взаимодействия собственно сократительных элементов сердца (миокарда) с теми специфическими элементами сердечной ткани (так называемый центр автоматии и проводящая система сердца), в которых возникают и распространяются ритмические процессы возбуждения.

В качестве агентов, воздействующих на нуклеиновые кислоты, в этой серии опытов были избраны, с одной стороны, рибонуклеаза, а, с другой стороны, — красители толуидиновый синий и нейтральный красный. Толуидиновый синий, как это показано и для животных и для растительных клеток, прокрашивает поверхностные структуры, причем это прокрашивание значительно снижается при действии рибонуклеазы, что указывает на связывание толуидиновым синим нуклеиновых кислот. Что касается нейтрального красного, то эта краска, по мнению Б. В. Кедровского, способна к прижизненной реакции с соединениями рибонуклеиновых кислот и благодаря особенностям своей химической структуры и, в частности, наличию в ней кольцевой группировки, напоминающей пиперазин, взаимодействует с внутриклеточными нуклеиновыми кислотами наподобие того, как в нормальном процессе обмена веществ происходит реакция взаимодействия между нуклеиновой кислотой и некоторой частью белковой молекулы, в состав которой также входит пиперазин (Шолохов и Кедровский, 1954).

В опытах на изолированном по методу Штрауба сердце лягушки было установлено, что при действии рибонуклеазы обычно

через 2 час.— 2 час. 30 мин. наступает своеобразный блок передачи возбуждения с предсердий на желудочек. Особенность блока заключается в том, что при продолжающейся нормальной ритмической активности предсердий в активности желудочка наблюдается периодическая смена фаз остановки фазами ритмической активности. Наличие прямой возбудимости желудочка на электрическое раздражение в фазы остановки желудочка при продолжающейся ритмической активности предсердий ясно указывает на то, что под влиянием рибонуклеазы происходят глубокие изменения в проводящей системе сердца. Эксперименты показали, что при введении в сердце рибонуклеиновой кислоты в начале очередной фазы остановки желудочка эта остановка снимается, т. е., иными словами, снимается блок передачи возбуждения с предсердий на желудочек.

Аналогичные явления были обнаружены также при перфузии сердца раствором толуидинового синего (1×10^{-5}). При действии этого красителя в среднем через 2 часа наступает характерная периодическая смена фаз остановки и активности желудочка при продолжающейся ритмической активности предсердий. Фазы остановки желудочка постепенно увеличиваются и могут достигать нескольких минут. Однако и в этом случае в фазе остановки сохраняется прямая возбудимость желудочка. Рибонуклеиновая кислота, вводимая в сердце в фазы длительной остановки желудочка, способна снять блок передачи возбуждения с предсердий на желудочек; в результате многократного введения рибонуклеиновой кислоты фаза остановки желудочка исчезает и восстанавливается ритмическая активность сердца как целого.

Опыты с нейтральным красным показали, что и при действии этой краски наступает нарушение координированной работы отделов сердца, выражающееся в том, что периодически появляются длительные остановки как предсердий, так и желудочка; при введении РНК удается частично или полностью восстановить нарушенный процесс ритмической активности сердца.

Считаю приятным долгом поблагодарить лаборанта Е. М. Ройтбург за техническую помощь в проведении этих опытов.

Приведенные данные ясно указывают на то, что расщепление нуклеиновых кислот, или изменение их строения, под влиянием рибонуклеазы или связывание нуклеиновых кислот химическими агентами (толуидиновым синим и нейтральным красным) приводит к блоку передачи возбуждения в сердце, т. е. что действие испытанных веществ проявляется в нарушении функции проводящей системы сердца. Эти данные свидетельствуют о том, что нормальное состояние и баланс нуклеиновых кислот в проводящей системе является необходимым условием проведения ритмической импульсации от места возникновения

импульсов («ведущий пункт» в правом предсердии) к желудочку сердца.

Мы пока ничего не можем сказать о способе участия нуклеиновых кислот проводящей системы сердца в процессе передачи ритмического возбуждения (ритмических импульсов). Ясно лишь то, что при действии веществ, нарушающих их целостность, нарушается и проведение возбуждения.

Для окончательного суждения о способе и путях влияния испытанных нами красителей, а также рибонуклеазы, на процессы проведения возбуждения в сердце, мы должны, конечно, иметь в виду иные, чем только те, которые мы предполагали, пути и способы действия и названных красителей и рибонуклеазы. Так, например, из литературы известно, что рибонуклеаза может действовать не только на нуклеиновые кислоты поверхностных структур, но проникать также и внутрь клетки (Brachet, 1954; Kaufmann, Das, 1954) и что действие этого энзима объясняется не только прямым влиянием на нуклеиновые кислоты путем их расщепления или образования комплекса с РНК с изменением ее строения (Brachet, 1955), но также тормозящим действием на окислительное фосфорилирование, необходимое, в свою очередь для синтеза нуклеиновых кислот (Allard и др., 1955; Ledoux и др., 1955).

ХОЛИНЭРГИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА И НУКЛЕОТИДЫ

Перейдем к результатам наших исследований, посвященных роли нуклеиновых кислот и их составных элементов в процессе передачи нервных влияний.

Как и в прежних наших исследованиях, посвященных выяснению роли тех или иных энзимо-химических систем в осуществлении влияния раздражения нервов и действия «химических передатчиков» нервного возбуждения, мы для выяснения роли нуклеиновых кислот и нуклеотидов в этих процессах применили метод блокирования названных веществ с последующим испытанием действия раздражаемого нерва и ацетилхолина. Вопрос о блокировании в случае нуклеиновых кислот и нуклеотидов встает перед нами в особой форме. Речь может идти и о веществах, создающих комплексы с нуклеиновыми кислотами, и о разнообразных антиметаболитах нуклеиновых кислот.

В качестве агентов, блокирующих нуклеиновые кислоты и нуклеотиды, мы применили трипафлавин нейтральный и акридиноранж. Мы исходили при этом из существующих литературных данных, указывающих на то, что акридиновые красители образуют с нуклеиновыми кислотами и нуклеотидами нерастворимые комплексы и то, что, в частности, в образовании комплекса краситель — нуклеиновая кислота (нуклеотид) большую роль играет адениловая группа; так например, в случае акридиноранжа

краситель соединяется с АМФ в отношении 1 : 1. Помимо этих красителей, мы применили также пиронин, используемый в гистологических исследованиях для выявления РНК.

В качестве антиметаболитов мы использовали аминоптерин, 6-азоуридин, 5-бромурацил и пирофосфаты. Кроме того, мы исследовали непосредственное влияние нуклеотидов, нуклеозидов и оснований на эффекты раздражаемых нервов и ацетилхолина.

Результаты опытов показали, что тормозящий эффект ацетилхолина и раздражения блуждающего нерва на ритмическую сократительную активность сердца полностью исчезают после действия на сердце трипафлавина нейтрального в разведении 1×10^{-4} .

Блокирующее влияние трипафлавина нейтрального на эффект блуждающего нерва на сердце может быть снято лишь при условии очень длительной отмывки — перфузией сердца раствором Рингера (15—25 мин.).

Мы поставили перед собой задачу восстановления заблокированных трипафлавином эффектов раздражаемых нервов и ацетилхолина при помощи аденина и рибонуклеиновой кислоты. На других объектах было достаточно отчетливо показано, что нуклеиновые, адениловая и гуаниловая кислоты, а также некоторые пуриновые и пиримидиновые основания (в частности, аденин) способны снимать эффекты угнетения физиологических процессов, вызванные акрифлавином.

Наши эксперименты в этом направлении показали, что лишь в отдельных опытах добавление аденина к раствору Рингера вызывает более быстрое, чем при отмывке, восстановление эффекта блуждающего нерва, выключенного трипафлавином. При даче трипафлавина вместе с аденином действие блуждающего нерва сохраняется. Следует отметить, что опыты в этом направлении нуждаются в дальнейшей проверке.

Приведенные экспериментальные данные указывают на то, что трипафлавин нейтральный выключает действие блуждающего нерва и ацетилхолина на сердце. Не исключена возможность, что нарушение «химической передачи» нервного возбуждения в данном случае происходит из-за взаимодействия трипафлавина с нуклеиновыми кислотами, что, в свою очередь, позволяет прийти к выводу об участии нуклеиновых кислот в той сложной энзимо-химической системе, которая обеспечивает химическую динамику нервного возбуждения и торможения. Вместе с тем мы должны иметь в виду, что влияние трипафлавина может осуществляться и через другие энзимо-химические звенья, учитывая, например, действие трипафлавина на окислительные процессы.

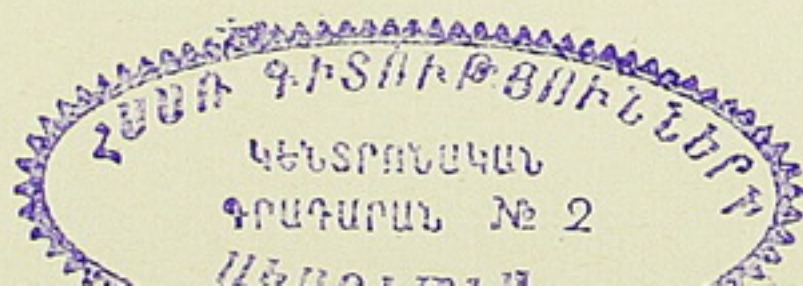
Столь же эффективным в смысле снятия эффекта блуждающего нерва и ацетилхолина на сердце оказался акридиноранж. Для анализа возможного способа действия акридиноранжа как агента, блокирующего передачу влияния блуждающего нерва и

ацетилхолина, важными представляются взгляды, развиваемые Сцент Джиорджи и его учениками (Szent Györgi, 1957) о том, что акридиноранж образует димер с какими-то активными группами белка,— по его мнению, вероятно, с гистидином, в силу чего становится возможным триплетное возбуждение с переносом энергии макроэргов к контрактильному белку. Развитие этих работ в группе Сцент Джиорджи привело к выводу, что акридиноранж может образовать димер с адениловой частью полинуклеотидов или самой адениловой кислотой (Szent Györgi, 1957). На основании этих данных можно предположить, что проявление типичного эффекта блуждающего нерва и ацетилхолина, осуществляемое первично на уровне рецептора мембраны белковой природы, в какой-то форме связано с названными группами. Если это так, то можно было предположить, что выключенный акридиноранжем эффект блуждающего нерва и ацетилхолина должен восстановиться при даче адениловой кислоты. Наши специальные опыты целиком подтвердили это предположение: адениловая кислота полностью восстанавливает блокированный акридиноранжем эффект блуждающего нерва и ацетилхолина.

В действии акридиноранжа обращает на себя внимание не только выключение типичного тормозящего влияния блуждающего нерва на сердце, но и трансформация его в стимуляторный. Очевидно, выключение адениловой группы делает невозможным действие ацетилхолина через эту группу и оно идет по другому пути с другим физиологическим эффектом. Как мы увидим ниже, уридин и урацил при своем непосредственном воздействии также ведут сначала к выключению тормозящего эффекта блуждающего нерва, а затем к трансформации его в стимуляторный.

Опыты с пиронином также отчетливо показали, что этот краситель быстро и эффективно выключает эффект тормозящего влияния блуждающего нерва (очевидно, из-за связывания РНК). Внесение в перфузионную жидкость РНК восстанавливает тормозящее действие блуждающего нерва.

Нами были испытаны в отношении воздействия на процесс передачи нервных влияний также такие антиметаболиты нуклеиновых кислот, как 6-азоуридин и 5-бром урацил. Как следует из опытов М. А. Посконовой, 5-бром урацил в концентрации 2×10^{-3} вызывает чрезвычайное удлинение тормозящего действия блуждающего нерва. Так, в одном из опытов, до действия 5-бром урацила длительность остановки ритмических сокращений сердца при раздражении блуждающего нерва равнялась 35 сек., а на фоне действия 5-бром урацила через 5 мин. после начала этого действия остановка длилась 65 сек., через 16 мин.—120 сек., через 35 мин.—305 сек. и, наконец, через 1 час 6 мин.—350 сек. В этом же опыте было показано, что очередное раздражение блуждающего нерва, данное очень быст-



ро вслед за введением уридина, длилось всего лишь 20 сек., т. е. уридин снимал резкое углубление тормозного влияния блуждающего нерва, возникающее при действии на аппарат сердца 5-бромурацила. В других опытах уридин полностью снимал торможение, вызываемое раздражением блуждающего нерва на фоне 5-бромурацила.

Важно отметить, что под влиянием 5-бромурацила происходит также значительное углубление и удлинение во времени остановки сердца, вызываемое ацетилхолином (1×10^{-7}); причем уридин снимает и этот эффект 5-бромурацила: как и в случае блуждающего нерва, ацетилхолин, данный очень быстро после введения уридина, не вызывает столь глубокой остановки сердечных сокращений, как на фоне 5-бромурацила.

В опытах М. А. Посконовой (1961) был выявлен очень интересный характер влияния нуклеозида уридина на действие блуждающего нерва на сердце. Выяснилось, что через несколько минут после начала дачи уридина обычный тормозящий эффект блуждающего нерва трансформируется в ярко выраженный стимулирующий эффект. Если начать опыт с отдельного раздражения чистого стимулирующего (симпатического) нерва и чистого тормозящего нерва (раздражение ядер блуждающего нерва в продолговатом мозгу) и установить типичные тормозящий и стимулирующий эффекты от раздражения того и другого нерва, то можно видеть, что в дальнейшем по ходу действия уридина раздражение обоих нервов, как правило, вызывает одинаковый стимуляторный эффект.

Аналогичное действие оказывает также урацил: в присутствии этого основания тормозящий эффект блуждающего нерва также трансформировался в ярко выраженный стимуляторный эффект.

К отличительным чертам действия уридина следует отнести то, что на фоне происходящего в его присутствии выключения тормозящего эффекта блуждающего нерва и трансформации этого эффекта в стимуляторный известные нам химические передатчики действия этого нерва — ацетилхолин и ионы калия, введенные в сердце, продолжают оказывать тормозящее влияние.

Одно из возможных объяснений трансформации угнетающего влияния блуждающего нерва в стимуляторный в присутствии уридина дают эксперименты нашей сотрудницы Т. Г. Путинцевой, показавшей, что в сердце лягушки при длительном действии ацетилхолина происходит образование и выделение термостабильного стимуляторного вещества. Путинцева показала также, что из ряда испытанных метаболических ингибиторов лишь разобщающие яды (азид натрия и 2,4-динитрофенол) тормозят выделение названного стимулирующего агента, что говорит о связи этого вещества с обменом макроэргических соединений. Возможно, что при наличии уридина выделяющиеся при раздраже-

нии тормозящего нерва кванты ацетилхолина находят максимально благоприятные условия для выделения стимулирующего вещества, которое, по предварительным данным хроматографического анализа, близко к уридин-фосфату (Путинцева и Турпаев, 1959, 1960; Путинцева, 1961а, 1961б).

Тормозящее действие блуждающего нерва на сердце быстро и полностью снимается также пирофосфатом, который, как известно, тормозит реакцию, необходимую для присоединения и переноса аминокислот к растворимой РНК. В литературе имеются также данные о блокирующем действии пирофосфата на нервно-мышечный синапс.

Таким образом, под влиянием рибонуклеиновой кислоты, рибонуклеазы, нуклеозидов, оснований, а также антиметаболитов типа 6-азоуридина или 5-бром урацила, или пирофосфата и, наконец, специальных красителей, образующих комплексы с нуклеиновыми кислотами, происходят глубокие изменения в основных процессах проведения и распространения возбуждения и состояния возбудимости (лабильности). Мы видели, что в пределах воздействия на сердце тем или иным из названных веществ, а вследствие этого и, вероятно, воздействия на фундаментальные процессы протеосинтеза и баланса макроэргов в возбудимой и проводящей системе сердца может иметь место вся гамма возможных трансформаций действия тормозящего нерва на сердце, а именно: резкое углубление и полное выключение тормозящего эффекта или превращение этого эффекта в стимуляторный. Мы видели также, что в условиях того же ряда биохимических изменений, связанных с нуклеиновыми кислотами, происходят глубокие изменения в аппарате передачи возбуждения с двигательного нерва на скелетную мышцу: наблюдаются значительные сдвиги лабильности (возбудимости) нерва и нарушение в самом процессе передачи возбуждения вплоть до полного блока передачи.

Роль составных элементов нуклеиновых кислот и, в частности, оснований в определении чувствительности рецепторного субстрата как к нервным импульсам, так и к непосредственному воздействию химических передатчиков нервных влияний выявляется в особых условиях действия температуры. Уже давно было известно, что повышение температуры до определенного уровня приводит к выпадению тормозящего действия блуждающего нерва на сердце. Как мы указывали выше, в нашей лаборатории Т. М. Турпаевым было показано, что при нагревании сердца лягушки до 40° исчезает чувствительность сердечной мышцы к ацетилхолину при сохранении нормальной возбудимости и сократительных свойств этой мышцы.

Имеющиеся в литературе данные о повышении резистентности некоторых растительных организмов (и, в частности, чувствительных к температуре мутантов *Neurospora crassa*) в присут-

ствии пуриновых и пиримидиновых оснований и, в особенности, аденина, навели нас на мысль изучить влияние этих веществ на наступающую при высокой температуре потерю чувствительности сердечной мускулатуры к действию блуждающего нерва и прямой мышцы живота лягушки к действию ацетилхолина. Опыты однозначно показали, что в присутствии аденина полностью сохраняется чувствительность сердца к действию блуждающего нерва (опыты совместно с М. А. Посконовой) и прямой мышцы к ацетилхолину (опыты совместно с С. П. Александрюк) при той степени и длительности действия высокой температуры, когда в отсутствие аденина чувствительность и к нервному, и к химическому раздражителю полностью исчезает или значительно снижается. Эти опыты ясно указывают на роль азотистых оснований нуклеиновых кислот в определении чувствительности рецептора ацетилхолина.

Названные выше исследования роли метаболитов в повышении резистентности растительных организмов к температуре выявили также большую защитную роль рибофлавина. Наши опыты показали, что в присутствии рибофлавина также сохраняется чувствительность прямой мышцы лягушки к ацетилхолину при действии такой высокой температуры, при которой в отсутствие рибофлавина названная чувствительность исчезает полностью.

Многие из приведенных фактов дают основание к выводу о том, что ацетилхолин в качестве передатчика нервного возбуждения и определенные вещества, блокирующие передачу возбуждения в периферических и центральных синапсах, оказывают свое влияние через взаимодействие с метаболитами нуклеинового обмена.

Известно, что и ацетилхолин и такие типичные блокирующие синаптическую передачу вещества, как кураре, атропин, гексаметоний и другие, относятся к группе четвертичных аммонийных соединений. В связи с этим особое значение для прямого экспериментального обоснования делаемого нами вывода приобретают новейшие данные французских авторов (Anbel — Sardon и др.) о способности ДНК и РНК образовывать соли с четвертичными аммонийными соединениями (например, с бромидом ацетил-триметил-аммония). Надо заметить, что в опытах названных исследователей реакция преципитации четвертично-аммонийных солей нуклеиновых кислот *in vitro* происходит при взаимодействии с высокомолекулярными четвертично-аммонийными соединениями.

В наших проверочных опытах такого же типа ни ацетилхолин, ни бромид тетраэтиламмония (как и бромид тетраметиламмония в опытах Анбель Сардона и др.) не давали реакции преципитации с обеими нуклеиновыми кислотами. Но это замечание не снимает возможности того, что по этому типу химической

реакции может происходить взаимодействие ацетилхолина и блокирующих синаптическую передачу четвертично-аммонийных соединений с нуклеиновыми кислотами *in vivo*.

Эти факты и соображения, а также многие из приводимых выше результатов позволяют предположить, что белок-рецептор ацетилхолина имеет нуклеопротеидную природу. Напомним, что, по данным Эренпрейса, кураре, использованный им для выделения рецептора-белка, не взаимодействует с мукополисахаридами, т. е., что белок-рецептор не является мукопротеидом.

Мы ясно отдаем себе отчет в том, что фактов, говорящих о роли нуклеиновых кислот и нуклеотидов в осуществлении передачи нервных влияний и, в частности, влияний ацетилхолина, еще недостаточно. Приведенные факты, добытые в нашей лаборатории, не свободны от критических замечаний и могут получить иное толкование, чем представленное мной. Но вместе с тем мы уже теперь можем прийти к выводу о том, что нарушение целостности структуры нуклеиновых кислот или их связывание влечет за собой серьезные расстройства в процессах возникновения, распространения и передачи нервных импульсов и что этого рода расстройства, в свою очередь, могут быть компенсированы введением рибонуклеиновой кислоты или тех или иных оснований или нуклеозидов.

Серьезным подкреплением представления об интимной связи нервных влияний с нуклеиновыми кислотами и вследствие этого с процессами протеосинтеза является специфика влияний секреторных нервов. Известно, что под влиянием этих нервов происходит не только выделение готового секрета с его ферментами белковой природы, но и регуляция секретообразования, т. е. в конечном счете синтез ферментов. Об этом же говорят современные данные о выделении катехоламинов из их комплекса с нуклеотидами под влиянием раздражения секреторных нервов надпочечных желез (Hillag, 1960).

Не исключена возможность, что дальнейшее расширение комплекса микроструктурных элементов, принимающих участие в акте передачи возбуждения и электрогенеза в области синаптических образований, должно прежде всего включить в названный комплекс также рибосомы.

О ЗНАЧЕНИИ ПРОНИЦАЕМОСТИ В МЕХАНИЗМЕ НЕРВНЫХ ВЛИЯНИЙ

При обсуждении вопроса о способе действия ацетилхолина в качестве химического передатчика нервных влияний вывод о взаимодействии этого «передатчика» с рецептором белковой природы в настоящее время получает, как мы уже указывали, солидную экспериментальную базу.

Однако вопрос о том, каков сложный механизм процесса изменения проницаемости мембранных структур при действии ацетилхолина, требует дальнейших исследований. Необходимо выяснить, является ли изменение проницаемости мембраны следствием комбинации ацетилхолина с рецепторным белком и действия молекулярных сил, приводящих к изменению структуры молекулы белка, перемещению в связи с этим положительных зарядов аминокрупп и вследствие этого облегчению прохождения ионов Na^+ , как это утверждает Нахмансон (1959). Или же в этом процессе принимают участие стимулируемые ацетилхолином энзиматические реакции, приводящие к деполимеризации белковых образований типа нуклео- и мукопротеидов, входящих в состав синаптических структур.

В 1947 г. мной было описано явление активирования процесса деполимеризации белкового комплекса гиалуроновой кислоты при нервном раздражении. Это выдвинуло перед нами вопрос о характере действия ацетилхолина (а также гистамина и адреналина) на систему «гиалуроновая кислота — гиалуронидаза».

Большая серия вискозиметрических определений, проведенных нашей сотрудницей Д. Е. Рывкиной, показала, что такие высокоактивные химические вещества, как ацетилхолин, гистамин и адреналин, участвующие, как известно, в процессах нервного возбуждения, оказывают активирующее влияние на гиалуронидазу, а также снимают специфическое тормозящее действие гепарина на этот фермент. Опыты с выяснением активирующего влияния ацетилхолина на гиалуронидазу были проведены на фоне контрольных опытов, которые имели задачей исключить известное неспецифическое активирующее влияние небольших количеств ионов хлора, вносимых в раствор с названными веществами.

Особенно интересны опыты с действием ацетилхолина и гистамина на гиалуронидазу в присутствии гепарина. Роль гепарина в системе «гиалуроновая кислота — гиалуронидаза» очень значительна. Оказывая угнетающее влияние на гиалуронидазу, гепарин, как и ряд других веществ, оберегает от деполимеризации белковый комплекс, являющийся субстратом действия названного фермента. Как показали наши опыты, ацетилхолин снимает угнетающее влияние гепарина на гиалуронидазу.

По-видимому, угнетающее влияние гепарина на гиалуронидазу является важным звеном химической динамики ткани в период покоя. При переходе ткани в состояние возбуждения, вызываемое нервным раздражением, химические агенты, сопутствующие нервному возбуждению, снимают угнетающее влияние гепарина, активируют гиалуронидазу и тем самым меняют состояние поверхностных структур, что имеет первостепенное значение для перехода химической динамики покоя в химическую динамику возбуждения.

В нашей лаборатории Н. Н. Деминым было показано, что ацетилхолин в определенных пределах может влиять на обмен белков в тканях, в частности он воздействует на активность тканевых протеиназ. Н. Н. Демин показал также, что ацетилхолин может воздействовать на обмен белков в тканях не только через влияние на протеолитические ферменты, но и путем изменения физико-химических свойств (а соответственно и строения) белковых частиц. Изучение сорбционной активности белков солевого экстракта скелетных мышц в отношении красителей (например, нильского голубого) показало, что ацетилхолин обладает способностью понижать связывание красителей белком. Однако каких-либо грубых нарушений структуры белков ацетилхолин не вызывает, о чем свидетельствует отсутствие какого бы то ни было влияния ацетилхолина на вязкость белковых растворов.

Таким образом, начинают выясняться биохимические пути воздействия нервной системы и, в частности, ацетилхолина на материальный субстрат проницаемости живых структур, имеющих белковую природу. Именно через этот биохимический процесс нервная система может изменять проницаемость клеточных структур и тем самым создавать новые отношения между внутри- и внеклеточной средами, что, как мы указывали многократно, имеет решающее значение в формировании процессов нервного возбуждения и торможения.

Сопоставляя приведенные выше данные об активирующем влиянии ацетилхолина на гиалуронидазу, с одной стороны, и активирующем влиянии на рибонуклеазу — с другой, мы можем заключить, что через эти энзиматические связи ацетилхолин может стимулировать процессы деполимеризации мукополисахаридов и комплексов нуклеиновых кислот, которые, в свою очередь, занимают важное место в структуре пограничных образований, или мембран. Тем самым мы можем прийти также к выводу, что эти процессы деполимеризации действительно лежат в основе вызываемого ацетилхолином физиологического явления деполяризации мембраны как начального звена процесса возбуждения.

Этот вывод не является новым для нас. Еще в 1948 г. по моему предложению Н. В. Вебер выполнила дипломную работу, посвященную выяснению вопроса об определении активности фермента гиалуронидазы в альтерированном участке мышцы, являющемся, как известно, источником возникновения тока покоя, а также выяснению возможности вызвать ток покоя без повреждения, действием препаратов гиалуронидазы на один из концов мышцы.

НЕКОТОРЫЕ СООБРАЖЕНИЯ ОБ ЭВОЛЮЦИИ БИОХИМИЧЕСКОЙ ОСНОВЫ ФУНКЦИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Наконец, следует отдельно выделить важный для понимания эволюции функций вопрос о функциональной роли особых физиологически активных веществ, получивших название химических передатчиков, или медиаторов, влияния нервной системы, на разных уровнях филогенеза и онтогенеза.

Общеизвестно, какое огромное значение для истории современной физиологии имело обоснование взгляда об участии разных химических агентов в разных по функциональному значению элементах нервной системы. Первоначальные факты в этом направлении, связанные с вскрытием роли двух типов химических агентов — ацетилхолина и адреналиноподобных веществ, привели к обозначению нервов и синапсов как «холинэргических» и «адренэргических». Для общей физиологии это деление имело, безусловно, большой смысл.

При обсуждении проблем эволюции функций нервной системы еще до сих пор можно слышать вопрос о том, какой химический механизм передачи нервных влияний более древний — «адренэргический» или «холинэргический». В какой-то мере постановка такого вопроса была оправдана существовавшим уровнем наших общепфизиологических знаний, когда были известны лишь два уже отмеченных выше типа химических агентов, или передатчиков нервных влияний.

На уровне современной сравнительной физиологии и биохимии нервной системы такая постановка вопроса ограничивает возможности эволюционного анализа рассматриваемой проблемы. Это происходит прежде всего потому, что круг химических агентов, принимающих участие в осуществлении различного рода нервных влияний, значительно расширяется, и теперь известно, что наряду с ацетилхолином, адреналином, норадреналином в осуществлении процессов возбуждения и торможения принимает участие целая система веществ, биосинтез которых осуществляется на основе трансформации разных аминокислот. Так, тирозин является основой образования адреналина, норадреналина, допамина, тирамина; триптофан-серотонина, триптамина, амфетамина; фенилаланин — тирамина; холин, необходимый для биосинтеза ацетилхолина, образуется из серина, а гистамин является продуктом трансформации гистидина. Стало известно также, что глутаминовая кислота является основой образования гамма-аминомасляной и гамма-амино-бета-оксимасляной кислот, которые принимают какое-то, в деталях еще невыясненное участие в осуществлении синаптических воздействий во многих нервных образованиях. К этому следует добавить, что и многие

аминокислоты сами по себе обладают высокой фармакологической активностью и, возможно, также принимают участие в химическом осуществлении тех или иных влияний нервной системы. Так, бета-аланин, а также гуанидинуксусная кислота оказывают, подобно гамма-аминомасляной кислоте, угнетающее влияние на синапсы центральной нервной системы. В нашей лаборатории еще в 1939 г. было показано блокирующее влияние глутаминовой кислоты на нервно-мышечный синапс.

Таким образом, правильная постановка вопроса об эволюции химической основы нервной деятельности приводит к рассмотрению роли целой системы химических агентов — продуктов обмена веществ, вовлекаемых в осуществление влияния нервной системы как в центральных, так и в периферических синапсах на разных уровнях развития животных.

Существующие факты из области сравнительной физиологии и биохимии позволяют более конкретно рассмотреть вопросы эволюционного порядка в отношении ацетилхолина (в единой биохимической системе с ферментами — холинацетилазой и холинэстеразой) и адреналиноподобных веществ в совокупности с близкими по химическому родству дериватами тирозина и триптофана.

Остановимся на фактах и выводах, касающихся биохимической системы «холинацетилаза — ацетилхолин — холинэстераза» у животных. Факт обнаружения ацетилхолина у бактерий и растений мы не можем обсудить подробно, так как у названных организмов путь биосинтеза и возможная роль этого вещества, или иная, чем у животных, или неизвестна нам.

Выяснилось, что названная биохимическая система, считавшаяся функционально специфической для элементов нервной системы, существует у простейших животных организмов, т. е. в донервный этап филогенеза животных, и играет у этих организмов определенную физиологическую роль. В этом направлении важные результаты были получены при определении холинэстеразы в дифференциально центрифугированном гомогенате инфузорий *Tetrahymena* (Seaman, 1951; Seaman, Houlihan, 1951). Оказалось, что холинэстераза (так же, как и ионы калия) избирательно локализована в так называемой субпелликулярной области, т. е. там, где проходят тончайшие фибриллы, функционально объединяющие базальные тельца отдельных ресничек и играющие, по-видимому, роль путей распространения возбуждения.

О физиологической роли системы «ацетилхолин — холинэстераза» у инфузорий говорят также наши опыты (Коштоянц и Кокина, 1957), указывающие на то, что специфическая реакция гальванотаксиса у парамеций (форма электрической возбудимости этих простейших) претерпевает существенные изменения под влиянием как антихолинэстеразных веществ, так и ацетилхолина. Было показано также (Коштоянц и Кокина, 1959), что регистрируемая при помощи внутриклеточных микроэлектродов

периодическая электрическая активность у паразитической инфузории — опалины (*Opalina gnapum*) существенно видоизменяется или угнетается, при действии антихолинэстеразных веществ и ацетилхолина, подобно тому, как это имеет место в отношении ритмической электрической активности клеточных элементов нервной системы.

Среди результатов исследований, проведенных с инфузориями, вызывает внимание также и то, что торможение холинэстеразы ведет к нарушению, вплоть до полной остановки, ритмических движений ресничек простейших (Seaman, Houlihan, 1951). Этот факт приобретает особенное значение, если учесть, что одной из важных сторон функционального значения системы «холинацетилаза — ацетилхолин — холинэстераза» является регуляторное влияние этой системы на ритмическую активность различного происхождения. Это показано в настоящее время как на целых организмах, так и на отдельных органах и органеллах на разных стадиях онтогенеза как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных.

Так, разносторонние фармакологические и биохимические испытания, проведенные оксфордским фармакологом Берном и его сотрудниками, показали, что под влиянием антихолинэстеразных веществ и антагонистов ацетилхолина происходит изменение частоты биения ресничек жаберных лепестков мидии (*Mytilus edulis*). Было установлено также, что в жаберных лепестках названного моллюска имеет место высокий уровень биосинтеза ацетилхолина, ответственного, очевидно, за ритмику ресничек (Vulbring и др., 1953). Теми же исследователями в убедительной форме было установлено значение ацетилхолина в ритмической активности сердца разных животных. Исходя из фактов подобного рода, Бёрн (Burn, 1956) пришел к важному выводу о том, что одной из важных сторон функциональной роли ацетилхолина является локальная регуляция автоматизмов всякого рода. Берн выдвинул и обосновал гипотезу о том, что ацетилхолин играет роль не только передатчика нервных влияний, но и «локального гормона». Эта гипотеза, подтверждаемая многими фактами, имеет солидную сравнительно-физиологическую базу и освещает один из моментов фило- и онтогенетического развития функционального значения ацетилхолиновой системы.

С эволюционной точки зрения, вопрос о возникновении и роли так называемых медиаторов нервного возбуждения и торможения должен рассматриваться в общем аспекте эволюции биохимической и физико-химической основы процессов, поддерживающих разные уровни состояния возбудимых тканей, — покоя, возбуждения и торможения.

Существующие достоверные факты о приуроченности системы «холинэстераза — ацетилхолин» к пограничным структурам различных клеток являются свидетельством участия этой систе-

мы в регуляции процесса избирательной проницаемости или активного транспорта ионов. Однако у нас имеются все основания полагать, что эта система — не единственный биохимический источник регуляции столь важного физиологического процесса, как активный транспорт ионов, а скорее важная составная часть более сложного биохимического источника этой регуляции. Вместе с тем, в свете проблем эволюции функций особенно важным представляется тот факт, что биохимическая система «ацетилхолин — холинэстераза» участвует как в регуляции проницаемости и в активном транспорте ионов в клеточных элементах, по структуре и по уровню филогенетического развития далеких от элементов нервной системы, например в эритроцитах (Коштоянц, 1936), так и в регуляции активного транспорта ионов в элементах нервной системы, а тем самым и в регуляции процессов нервного возбуждения и торможения.

Приведенные факты указывают на то, что ацетилхолиновая система уже в донервный этап имеет отношение к таким физиологическим процессам, как регуляция активного транспорта ионов, электрическая возбудимость и ритмическая или периодическая электрическая активность и, наконец, к таким процессам, как возникновение и распространение возбуждения и разные формы автоматических движений. С появлением в филогенезе животных нервной системы ацетилхолин и холинэстераза как агенты химической регуляции более древних форм включаются в сложную цепь биохимических процессов нервной системы, играя в этой цепи важную функциональную роль. Ацетилхолин, как правильно отмечает Берн, продолжая играть древнюю роль локального гормона, приобретает новую роль участника или «передатчика» процессов нервного возбуждения и торможения.

На основании приведенных фактов и некоторых выводов из них мы приходим к общему заключению о том, что еще до появления и морфологической дифференцировки элементов нервной системы одно из важнейших звеньев биохимической основы деятельности этой системы, а именно ацетилхолиновое звено, уже существует у простейших организмов, играя здесь важную физиологическую роль. На более поздних этапах филогенеза это древнее биохимическое звено вовлекается в сложный комплекс биохимических процессов, лежащих в основе разных видов функциональной активности нервной системы.

Что касается вопроса об адреналиновой системе, то в свете проблем эволюции функций нервной системы некоторая ясность в этот вопрос вносится, с одной стороны, разработкой тонких методов определения индивидуальных адреналиноподобных веществ или, точнее, ряда дериватов тирозина и триптофана (адреналина, норадреналина, серотонина, триптамина, допамина, тирамина и других), а с другой — сравнительным изучением распространения этих веществ у разных животных. Кроме того,

наиболее важное значение для достоверных эволюционных обобщений имеют сравнительные данные, вскрывающие характер действия и функциональное значение перечисленных веществ у животных на разных уровнях развития.

Действительно, сравнительно-физиологические данные указывают на то, что дериваты тирозина и триптофана, в том числе адреналиноподобные вещества, могут принимать участие в физиологических процессах не только в качестве передатчика процессов нервного возбуждения и торможения, но и других качествах. В этом отношении хорошей иллюстрацией могут служить сравнительные данные, полученные в опытах с кишечнополостными животными. Так, мной в 1936 г. были обнаружены адреналиноподобные вещества в щупальцах гидр (Коштойац, 1936), что позже нашло подтверждение в обнаружении серотонина в нематоцистах гидр (Welsh, 1957). Эти данные указывают на возможность участия названных веществ в разрядке стрекательной капсулы, а также в действии на жертву через водную среду (например, в гипнотоксическом действии гидр на дафний).

Тен Катэ и сотрудники (Ten Cate и др., 1955) показали, что адреналин и норадреналин вызывают учащение движения ресничек мерцательного эпителия щупалец актиний. Но это действие адреналина и норадреналина еще не говорит о их роли как передатчика, так как сам вопрос о существовании иннервации мерцательного аппарата актиний остается открытым.

Как известно, именно в нервной системе кишечнополостных (актиний) было описано явление фацилитации — облегчающего действия предшествующего неэффективного стимула для проявления действия последующего стимула той же интенсивности (Pantin, 1935). В поисках химической основы фацилитации Росс (Ross, 1945) показал, что у актиний *Calliactis parasitica* ни ацетилхолин, ни адреналин не вызывают облегчающего действия; по его данным, подобное действие оказывают тирамин и триптамин. Эти поиски привели к выводу о существовании особых групп химических агентов, именно «фацилитаторов», отличающихся по функциональному значению от типичных передатчиков, или «трансммиттеров», или «медиаторов» нервных влияний. По данным Росса, процесс передачи возбуждения к мышцам осуществляется у актиний при помощи триптамина, т. е. это вещество является у актиний медиатором.

Важными представляются выводы, полученные в опытах с моллюсками. У этих беспозвоночных в осуществлении влияния нервной системы особенную роль играет серотонин. Эта роль выражается, прежде всего, в участии серотонина в передаче нервных влияний. Так, в наших опытах мы имели возможность убедиться в том, что при раздражении интестинального нерва у виноградной улитки в сердце выделяются вещества, оказывающие на другое сердце (сердце-реципиент) действие, характерное

для серотонина. Серотонин оказывает на сердце улитки стимулирующее действие, адреналин этого действия не оказывает.

Возможно, что у моллюсков серотонин играет роль не только передатчика или «медиатора», но и своеобразную роль модулятора уровня чувствительности центральных синапсов (ганглиев) к текущему афферентному притоку. Опыты нашей лаборатории (Коштойац, совместно с П. Вольпе) показали, что при электрическом раздражении подошвы ноги виноградноулитки слабые неэффективные электрические стимулы дают ярко выраженный сократительный ответ мускулатуры ноги, если подвергнуть pedalный ганглий действию серотонина. Серотонин при аппликации на pedalный ганглий улиток, находящихся в состоянии спячки, вызывает у них типичный эффект пробуждения (возникает моторная активность) (Коштойац совместно с Фан Тянь-ци и Вольпе). Сравнительное изучение показало, что эта «реакция пробуждения», характерная для серотонина, не вызывается тирамином и триптамином. Приведенные и подобные им факты указывают на особое место серотонина в нервно-гуморальной регуляции моллюсков, что, впрочем, не означает, что другие амины (тирамин, триптамин, адреналин) не играют в этой регуляции никакой роли.

Особая роль серотонина у моллюсков не ограничивается взрослыми формами животных. В нашей лаборатории Г. А. Бузников и Б. Н. Манухин показали высокую чувствительность к серотонину (пороговая концентрация около 10^{-16} г/мл) эмбрионов ряда голожаберных моллюсков. Они пришли к выводу, что «локальным гормоном» ритмической моторной активности эмбрионов названных моллюсков является серотонин, а не ацетилхолин (о роли которого как локального гормона мы говорили выше).

В целом можно сказать, что с филогенетической точки зрения возникает вопрос о том, какие из продуктов трансформации тирозина, триптофана, фенилаланина (адреналин, норадреналин, серотонин, триптамин, тирамин и другие подобные вещества) используются для осуществления нейрогуморальной регуляции на разных стадиях филогенеза. Мы до сих пор не имеем систематических данных в этом направлении, а следовательно, и достаточных оснований для филогенетических обобщений. Между тем, это очень важный вопрос для понимания путей эволюции биохимических процессов, лежащих в основе развития функций. С определенной степенью вероятности можно предполагать, что так называемый «адренэргический» механизм передачи нервных влияний у разных животных осуществляется при помощи разных химических агентов, близких к адреналину, а именно: триптамина у актиний, серотонина у моллюсков, адреналина и норадреналина у аннелид и позвоночных. Из этих сравнительных данных следует, что было бы более правильным

говорить не об едином «адренэргическом» механизме процесса передачи нервных влияний на различных этапах развития нервной системы, а о вовлечении в этот процесс у разных животных серии аминов — дериватов тирозина (адреналин, норадреналин, тирамин), триптофана (серотонин, триптамин), фенилаланина (тирамин).

Очевидно, речь идет о происходящих в процессе филогенеза сложных молекулярных перестройках в структуре физиологически активных веществ, принимающих участие в осуществлении возбуждения и торможения в центральных и периферических сигналах. Исходя из биохимических данных о разных путях биосинтеза названных аминов, мы можем прийти также к выводу о глубокой зависимости перестроек частных сторон биохимизма органов и тканей и, в частности, нервной системы от эволюционной перестройки обмена веществ организма в целом в процессе филогенеза. На путях конкретного анализа этой проблемы эволюционная физиология обогатится новыми фактами, действительно важными для решения вопроса об эволюции функций и метаболизма нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА

- Бузников Г. А. и Манухин Б. Н. 1961.— Журн. общ. биол., 22, (3), 226—232.
- Карасик В. М. 1947. Физиол. журн. СССР, 33, 463.
- Коштоянц Х. С. 1936.— Бюлл. эксперим. биол. и мед., 2, 41—43.
- Коштоянц Х. С. 1948.— Докл. АН СССР, 60 (6), 1105—1107.
- Коштоянц Х. С. 1950.— Физиол. журн. СССР, 36, 92.
- Коштоянц Х. С. 1951.— Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. Изд-во АН СССР.
- Коштоянц Х. С. 1957.— Физиол. журн. СССР, 43 (7), 681—684.
- Коштоянц Х. С. 1958.— Докл. АН СССР, 120 (4), 926—928.
- Коштоянц Х. С. 1961.— Докл. АН СССР, 138 (3), 733—735.
- Коштоянц Х. С., Н. Н. Кокина. 1957.— Биофизика, 2 (1), 46—50.
- Коштоянц Х. С., Н. Н. Кокина. 1959.— Докл. АН СССР, 127 (3).
- Коштоянц Х. С. и Турпаев Т. М. 1946.— Докл. АН СССР, 54 (2), 181—183.
- Нистратова С. Н. и Турпаев Т. М. 1959.— Биохимия, 24, 171.
- Нистратова С. Н. и Турпаев Т. М. 1961.— Биохимия, 26 (5), 952—955.
- Посконова М. А. 1961.— Журн. общ. биол., 22 (4), 314—317.
- Путинцева Т. Г. 1961 а.— Тезисы V Междунар. биохим. конгресса. М.
- Путинцева Т. Г. 1961 б.— Физиол. журн. СССР, 47 (8), 1056.
- Путинцева Т. Г. и Турпаев Т. М. 1959.— Докл. АН СССР, 129 (6), 1442—1444.
- Путинцева Т. Г. и Турпаев Т. М. 1960.— Физиол. журн. СССР, 46 (1), 84—89.
- Сеченов И. М. 1935.— Избранные труды. М. ВИЭМ.
- Турпаев Т. М. 1955а.— Докл. АН СССР, 102, 323.
- Турпаев Т. М. 1955б.— Биохимия, 20 (4), 456—462.
- Турпаев Т. М. 1956. Тезисы докл. на совещ. по вопр. роли нейрогум. и эндокр. факторов в деят. нерв. системы.— Труды Ин-та физиологии им. И. П. Павлова. Л., стр. 85.
- Турпаев Т. М. 1958.— Биохимия, 23, 71.
- Турпаев Т. М. 1960.— Физиол. журн., 46 (9), 1056—1063.

- Турпаев Т. М. и Нистратова С. Н. 1959.— В кн. «Тиоловые соединения в медицине». Медгиз. УССР, Киев.
- Шолохов В. А., Кедровский Б. В. 1954.— Докл. АН СССР, 69, 1095.
- Aboud L. G. 1956.— Abstr. Comm. 20 Internat. Physiol. Congr. p. 9.
- Allard C., Lamirange G. de, Cantero A. 1955.— Biochem. et Biophys. Acta, 18, 578.
- Brachet J. 1954.— Nature, 174, 876.
- Brachet J. 1955.— Nucleic Acids. Academic Press, N. Y.
- Burn J. H. 1956.— Functions of autonomic transmitters, Baltimore.
- Bülbring E., Burn J. H., Shelley H. 1953.— Proc. Roy. Soc. 141, 445—446.
- Cate, ten J. et al. 1955.— Arch. Neerland. Zool. 11, 14—22.
- Chagas C., 1959.— Ann. N. Y. Acad. Sci. 81 (2), 345.
- Drury A. N. 1936.— Physiol. Revs. 16, 292.
- Drury A. N., A. Szent—György, 1929.— J. Physiol. 68, 213.
- Ehrenpreis S., 1959.— Science 129 (3363), 1613.
- Ehrenpreis S. 1960. Biochim. et Biophys. Acta 44, 561.
- Fenn W. O. 1940.— Physiol. Rev, 20, 377.
- Geiger A., Yamasaki S., 1956.— J. Neurochem. 1, 93.
- Grundfest H. 1960.— in «Inhibition in the nervous system and gamma-aminobutyric acid». Pergamon Press.
- Hillarp N.-A., 1960.— I Intern. Congr. Endocrinol. (Symp. IX, Lecture 6) Copenhagen.
- Kaufmann B., Das N. K. 1954.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 40, 1052.
- Ledoux L., Clerc J. Le, Brachet J. 1955.— Exp. Cell. Res. 9, 338.
- Nachmansohn D. 1959.— Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity Acad. Press; N—Y. London.
- Nachmansohn D., Meyerhof B. 1941.— J. Neurophysiol., 4, 348.
- Pantin G. F. A. 1935.— J. exper. Biol. 12, 389.
- Peruzzi P. 1946.— Boll. Soc. ital. biol. sperim. 22, 428.
- Reinberg A., Stolkowski J. 1958.— C. R. Acad. Sci. 246, 2420—2423.
- Robb J. S. 1956.— Am. J. Physiol., 187, 626.
- Rosenthal T. B. 1952.— J. Cell. Comp. Physiol., 40, 337.
- Ross D. M. 1945.— J. exper. Biol., 22, 21—31.
- Seaman G. R. 1951.— Proc. Soc. exper. Biol. Med. 76, 169—170.
- Seaman G. R., Houlihan R., 1951.— J. Cell. Comp. Physiol., 37, 309—321.
- Steward F. C., Millar F. K. 1954.— Symp. Soc. Exp. Biol., 8, 367.
- Stolkowski J., Reinberg A. 1959.— C. R. Acad. Sci., 248, 2400.
- Sutcliffe I. F. 1959.— Biol. Rev. 34, 159.
- Szent—Györgyi A. 1957.— Bioenergetics. Acad. Press, N. Y.
- Tanada T. 1955.— Plant physiol. 30, 211.
- Tanada T. 1956.— Plant physiol. 31, 251.
- Welsh J. H. 1948.— Bull. Johns Hopkins Hosp., 83, 568.
- Welsh J. H. 1957.— in «Recent Advances in Invertebrate Physiology» 161—171.



Хачатур Сергеевич Коштоянц

**Проблемы энзимохимии процессов возбуждения
и торможения и эволюции функций нервной системы**

Баховские чтения
XVII

*Утверждено к печати
Институтом биохимии
Академии наук СССР*

Редактор издательства Г. А. Бузников
Технический редактор И. Н. Дорохина

РИСО АН СССР № 128-17В. Сдано в набор 19/XI 1962 г.
Подписано к печати 15/I 1963 г. Формат 60×90^{1/16}. Печ. л 2

Уч.-издат. л. 2,0. Тираж 3000 экз.

Т-02018. Изд. № 1571. Тип. зак. № 1366.

Цена 14 коп.

Издательство Академии наук СССР.
Москва, Б-62. Подсосенский пер., 21

2-я типография Издательства АН СССР.
Москва Г-99. Шубинский пер., 10

14 в.

P 8250