

# Беломорские просторы для сравнительной физиологии

О.П.Балезина,

*доктор биологических наук,  
ведущий научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных  
биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова*

**С**равнительная физиология выделилась в самостоятельную науку в начале XX в. Энтузиаст зарождающегося направления датский физиолог А.Крог (Нобелевская премия 1929 г. за сравнительный анализ механизмов дыхания у животных), одним из первых уловивший уникальные возможности и плодотворность сравнительного подхода в физиологических исследованиях, писал: «Для любого конкретного вопроса физиологии природа имеет идеальный объект исследования. <...> Я не сомневаюсь, что существует множество животных, которые просто созданы для определенных физиологических целей, но боюсь, что большинство из них неизвестны тем физиологам, для которых они “созданы”. Поэтому мы должны обратиться к зоологам, чтобы открыть для себя эти объекты и просто приложить к ним свои руки» [1].

Популярность сравнительного физиологического подхода достигла апогея в середине XX в., когда А.Ходжкин и А.Хаксли, используя экзотический объект — гигантский аксон моллюска, раскрыли механизмы возбуждения нейронов. В кулуарах Нобелевского комитета во время присуждения авторам открытия Нобелевской премии в 1963 г. ходила ядовитая шутка, что ее достоин и гигантский аксон кальмара. Триумф такого подхода породил последующие обращения исследователей к новым объектам. Так, на крупных мышечных волокнах ракообразного был открыт качественно новый Са-механизм генерации потенциала действия. В конце XX в. к исследованию ганглиев морских моллюсков обратился Э.Кэндел (Нобелевская премия 2000 г. «за раскрытие клеточных механизмов памяти и поведения»). Изученные им ганглии аплии с относительно небольшим числом очень крупных нейронов оказались как будто специально созданными для изучения механизмов нейронной пластичности и нейронной памяти.

В России к середине XX в. существовало минимум две школы сравнительной и эволюционной физиологии — московская и петербургская. Московскую возглавлял Х.С.Коштоянц, заведующий кафедрой физиологии животных биофака МГУ,

для которой сравнительно-физиологические исследования были традиционными. Растущая популярность этого направления в мире и в России в середине XX в. счастливо совпала по времени с образованием Беломорской биостанции МГУ. Для нашей кафедры она стала основной научной базой для полевых экспериментов и остается ею до сих пор.

Первым, кто в 60-х годах поставил в физиологии вопрос о возможной донервной активности и функции медиаторов у животных, был ученик Коштоянца Г.А.Бузников. Для изучения низкомолекулярных регуляторов зародышевого развития на ББС он выбрал иглокожих (морских ежей), в нервной системе которых предполагалось наличие серотонина и других медиаторов. Изучая яйцеклетки и ранние эмбрионы своих объектов, Бузников обнаружил в «донервных» клетках на очень ранних стадиях развития синтез серотонина и адреналина, который резко усиливался сразу после оплодотворения, за 1.5—4 ч до первого клеточного деления, т.е. до начала формирования нервной системы! В последующем, после многочисленных проверок, эти уникальные факты, полученные в первых нехитрых экспериментах на яйцах морского ежа, стали основанием для монографии Бузникова «Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития» (1968). В последние годы наличие специфических компонентов донервной серотонинергической системы установлено у развивающихся зародышей иглокожих с помощью иммуоцитохимии, высокоскоростной жидкостной хроматографии—масс-спектрометрии.

## Первые успехи физиологов

Все началось более 50 лет назад с поездки на далекую биостанцию молодого сотрудника кафедры физиологии животных Дмитрия Сахарова. Его исследования нервной системы беломорских моллюсков оказались настолько захватывающими, что стали предметом многолетних исследований ученого, и спустя 25 лет вышла монография Д.А.Сахарова «Генеалогия нейронов». Она до сих пор остается одной из настольных книг физиологов, изуча-

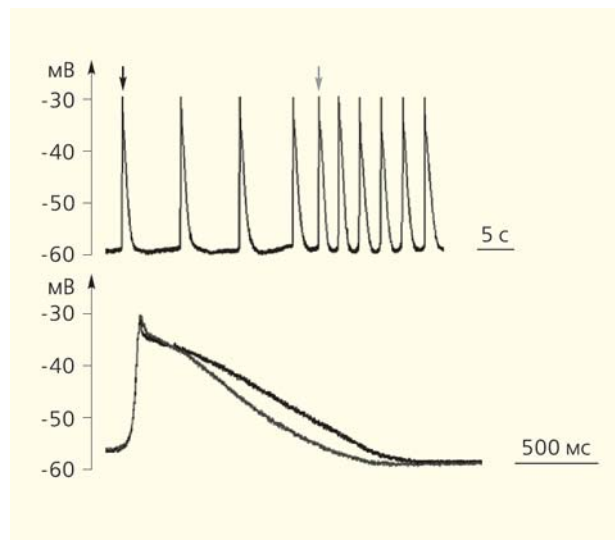
ющих нервную систему моллюсков. А тогда, в конце 50-х годов, благодаря разработанной Сахаровым программе первая группа студентов во главе с М.Г.Удельновым прибыла на ББС на учебную практику по сравнительной физиологии.

На первых порах (в 50—60-х годах) физиологическая лаборатория на ББС представляла собой деревянную постройку, отапливаемую русской печью, где не было водопровода, постоянного протока морской воды, холодильника. Исследования требовали большой энергии и энтузиазма и, конечно, не могли обходиться без участия инженера кафедры Л.И.Чудакова, творившего чудеса изобретательности для обеспечения физиологов стабильно работающими осциллографами, компактными усилителями собственного изготовления, источниками питания и многими другими приборами.

Оказалось, что физиологи ничуть не хуже «полевиков» справляются с экспедиционным бытом и могут успешно работать в любых условиях: они создали оригинальные экспериментальные задачи, развернули современные лаборатории, решавшие не только учебные, но и фундаментальные научные проблемы. Выбор объектов и методов для анализа функциональных систем беломорской фауны во многом определялся проблематикой и направлениями кафедры физиологии животных, а также актуальными вопросами физиологии в середине XX в.

К концу 70-х годов благодаря энтузиазму директора станции Н.А.Перцова, энергии стройотрядов и всех приехавших на ББС сотрудников появился большой Аквариальный корпус с водопроводом и отоплением, проточной морской водой, холодильниками и дистилляторами. В нем были оборудованы электрофизиологические установки, которые по оснащению и научным возможностям не уступали аналогичным приборам на биофаке в Москве. Тогда же на ББС начались микроэлектродные исследования возбудимых систем, в том числе сердца аннелид, нейронов зрительной системы рыб, мускулатуры беспозвоночных и позвоночных животных. Остановимся на некоторых из этих работ.

Для понимания эволюции миогенной автоматии особую роль играют сердца кольчатых червей — единственной группы беспозвоночных, имеющих замкнутую кровеносную систему. В середине 70-х годов выпускница кафедры физиологии животных Н.В.Андреева начала микроскопические и электрофизиологические исследования сердец пескожила (*Arenicola marina*). В те годы уже знали, что у моллюсков и членистоногих с незамкнутой кровеносной системой сердца отличаются реактивным механизмом ритмики. Надо было понять, сохраняется ли такой механизм и у аннелид, имеющих замкнутую кровеносную систему. Изучение потенциалов действия (ПД) в разных зонах сердца пескожила показали, что все они миогенного типа. Неожиданностью оказалась от-



Пейсмекерные потенциалы действия (ПД) сердечных клеток пескожила до (черная стрелка) и после (серая стрелка) аппликации ацетилхолина (АХ). Внизу — изменение формы ПД за счет укорочения фазы плато под действием АХ.

ветная реакция сердца на ацетилхолин: она была учащенной (в отличие от моллюсков). Ювелирные опыты Андреевой позволили заключить, что ритмическая работа сердца аннелид имеет не реактивную (как у других беспозвоночных), а истинно миогенную природу, независимую от внешних воздействий.

В середине 80-х годов аспирант А.Лукьянов начал изучать электрическую активность сердца беломорской трески. На разработанном им уникальном препарате изолированного сердца впервые выявлена кластерная организация водителей ритмов (пейсмекеров) сердечных клеток рыбы. В составе кластера клетки были неоднородны и образовывали генераторную и переходную зоны с разной активностью.

Изучение микроанатомии и функциональной организации хемосенсорных систем рыб с применением электрофизиологических и поведенческих методов началось в 70—80-х годах. При изучении чувствительности обонятельной системы тресковых рыб к широкому спектру химических сигналов обнаружили ее высокую избирательность к биологически значимым химическим стимулам и чрезвычайно медленную адаптацию к ним. Оказалось, что при возбуждении других сенсорных систем чувствительность к запахам в обонятельной системе рыб может меняться. Впервые были изучены особенности взаимодействия обонятельной системы с системой тройничного нерва у рыб и роль этого взаимодействия в восприятии запахов. Многолетние комплексные исследования, проводимые под руководством Г.А.Малюкиной, позволили обнаружить способность многих видов морских рыб различать запа-

хи своего и чужих видов, а также большую роль обонятельной рецепции в формировании внутривидовых взаимоотношений и пищевого поведения трески и наваги. В оригинальных поведенческих экспериментах была доказана важная роль химической рецепции в формировании различных эколого-физиологических адаптаций у морских рыб.

### Современный этап физиологических исследований

Немалую роль в работе физиологов на ББС сыграла политика директора станции Александра Борисовича Цетлина, по мнению которого на станции очень важно сохранить многопрофильные исследования, в том числе и физиологические, как это принято на всех крупных морских биостанциях.

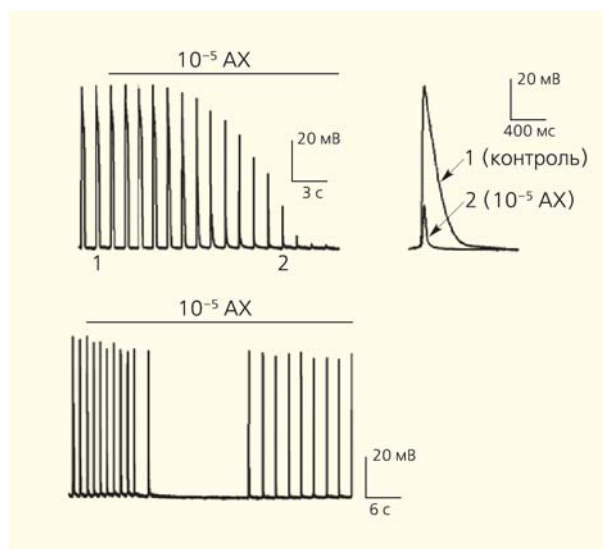
Летом 2006 г., после восстановления электропитания станции, начался новый этап сравнительно-физиологических исследований. В 2007—2009 гг. благодаря энтузиазму и личному участию сотрудника нашей кафедры Д.В.Абрамочкина в Аквариальном корпусе полностью переоборудовали физиологическую лабораторию, и студенческая практика стала проходить на современном уровне.

В последние пять лет в обновленной лаборатории получен интересный материал, раскрывающий специфику пейсмекерной активности сердцец позвоночных и беспозвоночных животных. Основными объектами стали сердца беломорской трески и пескожила.

Вопрос о роли и механизмах действия ацетилхолина (АХ) на работу сердца имеет уже вековую



Д.В.Абрамочкин в физиологической лаборатории.



Изменения потенциалов в сердце трески *Gadus morhua* под влиянием АХ. Вверху — быстрое падение амплитуды ПД под действием АХ. Справа показан одиночный импульс. Внизу — снижение ритмической активности вплоть до полной остановки пейсмекера.

историю, но до сих пор остается весьма актуальным. На ББС получены новые данные о подавлении экзогенным ацетилхолином (в физиологических концентрациях) электрической активности изолированного предсердия трески (*Gadus morhua*) с образованием в нем локальных невозбудимых зон. При этом АХ мог не менять ритм работы пейсмекера, но значительно подавлял генерацию потенциала действия в предсердном миокарде. Подобное явление, описанное ранее лишь в сердце лягушки, как оказалось, характерно и для рыб [2, 3].

Фармакологическое тестирование избирательных блокаторов мускариновых холинорецепторов показало, что не только  $M_2$ -, но и  $M_3$ -холинорецепторы опосредуют влияние ацетилхолина на электрическую активность клеток предсердия трески. По мнению авторов работы,  $M_3$ -тип мускариновых холинорецепторов может претендовать на роль одного из универсальных посредников парасимпатической регуляции сердца у позвоночных животных [4—6].

Другая интересная работа проводилась на асцидиях. У этих морских животных мускулатура необычна и по ультраструктуре, и по функциям. У сидячей формы морфологи не могут однозначно отнести мышечные клетки ни к гладкомышечным, ни к соматическим, поэтому особенно интересна электрическая и сократительная активность туловищной мускулатуры сидячей формы асцидии. Активность мышечных полосок асцидий изучалась еще в 80-х годах. Уже тогда выяснили, что периодические сокращения асцидий подавлялись блокаторами  $Ca$ -каналов L-типа. Эстафету

этих исследований на новом этапе подхватили молодые сотрудники и аспиранты кафедры В.С.Кузьмин и Е.В.Волкова. В результате в 2012 г. появилась статья, где впервые описана спонтанная электрическая активность туловищной мускулатуры асцидии *Styela rustica* [7].

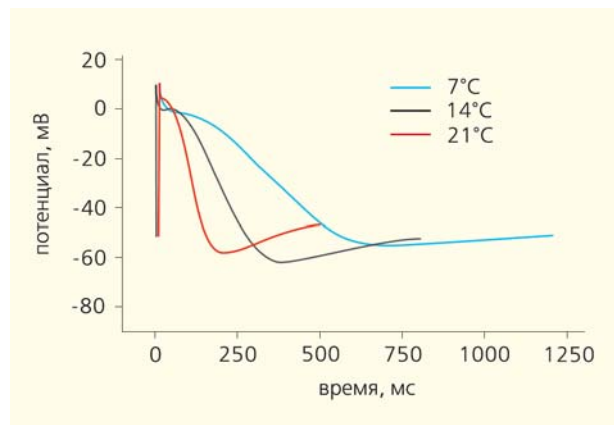
Итак, за 2007—2012 гг. по материалам, полученным на Белом море, сотрудники кафедры физиологии человека и животных опубликовали шесть статей в иностранных и отечественных журналах [2—7], многие находятся в печати или только планируются. Все эти работы — результат коротких месячных экспедиций на ББС — не только открыли новые факты, но и дали пищу для размышлений и стимул для дальнейшей работы. Они еще вызвали немалый резонанс в научном сообществе.

### Первая Международная школа по сравнительной физиологии на ББС

Бурная активность физиологов на биостанции не осталась незамеченной иностранными коллегами, работающими в смежных областях сравнительной физиологии. Появились вопросы о возможных исследованиях на ББС, что и стало толчком для проведения на станции Первой международной школы по сравнительной физиологии.

В сентябре 2012 г. на биостанцию приехали более 20 «школьников» и 12 лекторов из России и разных стран Европы. Для участников школы были подготовлены новый удобный лекционный зал, а также оборудованная на самом современном уровне физиологическая лаборатория Аквариального корпуса. Список объектов и лабораторных задач, предоставленных в распоряжение школьников на две недели их пребывания на станции, впечатлил бы любого: отведения электрической активности сердец рыб, ЭКГ свободноплавающих рыб, синаптические потенциалы мускулатуры пескожила, Са-сигналы светящейся элитры (чешуйки) многощетинкового червя *Harmothoe imbricata* и изолированных кардиомиоцитов трески (*Gadus morhua*), локомоторная активность мышечной полоски асцидий (*Styela rustica*) и многое другое. Некоторые из школьников впервые на биостанции увидели микроэлектроды, научились отводить биопотенциалы и воочию наблюдали внутриклеточные Са-сигналы.

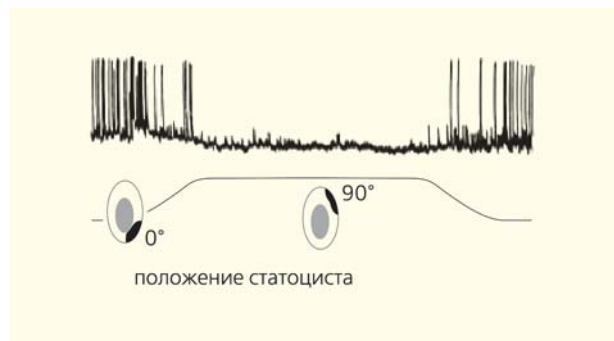
Открылась школа лекцией директора станции А.Б.Цетлина о флоре и фауне Белого моря и моим докладом «Сравнительная физиология — прошлое, настоящее и вызовы будущего». Огромное впечатление произвели выступления Х.Шилс (Манчестерский университет, Великобритания) о специфике Са-зависимых механизмов сокращений в сердцах рыб и температурных адаптациях [8]. Мы впервые узнали, что у рыб (в отличие от амфибий и млекопитающих) эффектив-



Потенциалы действия трески, зарегистрированные при разных температурах среды [8].

ность сокращения кардиомиоцитов зависит не столько от ретикулярного кальция, сколько от кальция, входящего по Са-каналам L-типа. Оказалось также, что при изменениях температуры воды форма и амплитуда потенциала действия миоцитов рыб существенно меняется, определяя колебания уровня внутриклеточного кальция. Причем наибольшая продолжительность потенциала действия (а значит и Са-сигналов, и сокращений) характерна для низких температур воды — порядка 7°C.

Ю.В.Панчин (Институт проблем передачи информации РАН) рассказал о рефлекторном поведении одного из красивейших морских моллюсков — клиона [9]. При спокойном вертикальном плавании и во время охоты в мозг животного приходят сигналы от органов равновесия — статоцистов (расположенных в хвосте), которые сообщают о положении тела клиона в толще воды. Аfferентная сигнализация от рецепторных клеток статоциста, активируя нейроны и их взаимодействия, приводит к формированию команд, подаваемых от ганглия к мышцам моллюска. Для этого пришлось «прозвонить» множество нейронов



Электрическая активность рецепторной клетки статоциста, затухающая при перемене положения тела моллюска на 90° [9].

в головном ганглии и обнаружить те, которые участвуют в формировании целых ансамблей, осуществляющих двигательные программы животного.

В краткой статье невозможно перечислить все направления работ и упомянуть всех участников. Хочется только отметить, что, несмотря на неизбежные для первого опыта накладки и организационные трудности, школа стала новым веским свидетельством растущего международного престижа биостанции, ее привлекательности и для отечественных, и для зарубежных ученых, а кроме того, еще раз убедила нас, что у сравнительной физиологии большое будущее.

### Физиологическая практика

В заключение хочется отметить, что на ББС велись не только фундаментальные сравнительно-физиологические исследования, но и многолетняя очень интересная и важная практика студентов-физиологов 3-го курса. Много душевных и физических сил отдали сотрудники кафедры Г.Ю.Юрьева и Н.Е.Бабская, старший инженер Л.И.Чудаков. Студенты самостоятельно выполняли многочисленные учебные задачи: осваивали методы регистрации электрической активности брюшной нервной цепочки нерейса (*Nereis pelagica*), сократительной активности амбулакральных ножек морской звезды (*Asterias rubens*) и усонюгих рачков баянусов (*Balanus*), а также решали другие экспериментальные задачи. Излишне говорить, как много давала будущим физиологам-экспериментаторам такая практика!

В трудные годы, когда начались перебои с финансированием, а потом — отключения электри-

чества на ББС, эстафету организации проведения летней практики физиологов принял на себя доцент кафедры И.Ю.Сергеев (ныне — заместитель декана биофака по практикам). Благодаря его героическим усилиям учебная практика студентов-физиологов продержалась все 1990-е годы.

Сейчас, в начале XXI в., уже нет с нами многих физиологов-«беломорцев» — Г.А.Малюкиной, Л.И.Чудакова, Ц.В.Сербенюк, М.Е.Удельнова. Но мы не сомневаемся, что пока студенты спрашивают, состоится ли у них беломорская практика, добрая и полезная традиция нашей кафедры учиться и развивать сравнительную физиологию на ББС будет жива и все новые поколения выпускников будут вспоминать о ней как о лучших днях своей студенческой и научной жизни.

Излишне напоминать, что XXI в. — век геномики, но она не решит своих проблем без расширения круга исследуемых объектов и сравнительно-физиологических исследований трансгенных организмов. Наконец, тревожные проблемы экологии вынуждают все внимательнее вглядываться в природу, чтобы найти в ней ответы на вопросы, к чему призывал еще А.Крог. Значит, современный физиолог просто обязан быть образованным в области сравнительной физиологии, понимать и учитывать эволюционные особенности каждой функции, хорошо ориентироваться в адапционном потенциале каждого органа в изменяющихся условиях среды. Воспитывать таких специалистов с широким кругозором и новым физиологическим мышлением, для которых сравнительный подход в их исследованиях не будет ограничен работами на лягушках и крысах, и помогает практика студентов-физиологов на ББС, популярность которой растет с каждым годом. Поэтому мы говорим: «ББС МГУ, спасибо, что ты у нас есть!». ■

### Литература

1. Krog A. The Progress of Physiology // Am. J. Physiol. 1929. V.90. №2. P.243—251.
2. Абрамочкин Д.В., Сурис М.А., Сухова Г.С. и др. Индуцированное ацетилхолином подавление электрической активности рабочего миокарда предсердия трески // Докл. РАН. 2008. Т.419. С.73—76.
3. Абрамочкин Д.В., Кузьмин В.С., Сухова Г.С., Розенштраух Л.В. Феномен холинергической невозбудимости в предсердном миокарде низших позвоночных // Росс. физиол. журн. им.И.М.Сеченова. 2009. Т.95. №6. С.573—582.
4. Abramochkin D.V., Kuzmin V.S., Sukhova G.S., Rosensbtraukh L.V. Cholinergic modulation of activation sequence in the atrial myocardium of non-mammalian vertebrates // Comp. Biochem. Physiol. A. 2010. V.155. №2. P.231—236.
5. Abramochkin D.V., Tennova N.V., Hirazova E.E. et al. Bioelectrical activity in the heart of the lugworm *Arenicola marina* // J. Comp. Physiol. B. 2010. V.180. №5. P.645—651.
6. Abramochkin D.V., Borodinova A.A., Rosensbtraukh L.V. Effects of acetylcholinesterase inhibitor paraoxon denote the possibility of non-quantal acetylcholine release in myocardium of different vertebrates // J. Comp. Physiol. B. 2012. V.182. №1. P.101—108.
7. Kuzmin V.S., Volkova E.V., Sukhova G.S. Cholinergic regulation of body-wall muscle contraction of the ascidian *Styela rustica* (Linnaeus, 1767) // Russ. J. of Mar. Biol. 2012. V.38. №3. P.228—236.
8. Shiels H.A., Vornanen M., Anthony P., Farrell A.P. Effects of temperature on intracellular [Ca<sup>2+</sup>] in trout atrial myocytes // J. Exper. Marine Biol. 2002. V.205. P.3641—3650.
9. Panchin Y.V., Arshavsky Y.I., Del'agina T.G. et al. Control of locomotion in marine mollusk *Clione limacina*. Neuronal mechanisms of spatial orientation // J. Neurophys. 1995. V.73. №5. P.1924—1937.