



#### **ШУБА**

**Ярослав Михайлович** – академік НАН України, завідувач відділу нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

## **П.Г. КОСТЮК – УЧЕНИЙ, ЯКИЙ ВИЯВИВ НОВІ ГРАНІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ПОДИНОКИХ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ**

---

Шановна Президіє!

Шановні колеги!

У попередніх виступах доповідачі вже згадували методику, яку використовували в лабораторії Платона Григоровича Костюка для того, щоб описати кальцієву провідність нейрона. Але я хотів би трошки детальніше зупинитися на цій темі.

Зазвичай людям, які не є фахівцями в галузі фізіології, дуже важко уявити, що такий, здавалося б, простий елемент, як кальцій, який присутній майже повсюдно в навколишньому середовищі, може відігравати настільки важливу роль у функціонуванні організму, зокрема в регулюванні сигнальних систем всередині нашого тіла. І в основі нашого сучасного розуміння цих процесів лежать дослідження Платона Григоровича Костюка.

Звичайно, Платон Григорович – це така монументальна постать, про яку можна говорити багато, але я спробую виокремити лише один епізод із його величезної наукової спадщини.

Вагомим досягненням Платона Григоровича і його наукової групи було те, що вони вперше в тілі нейрона зареєстрували і описали кальцієвий струм, тобто потік іонів кальцію, який переноситься ззовні крізь мембрану в цитоплазму клітини. Як виявилось, цей струм є дуже важливим для активації в клітині найрізноманітніших процесів.

Це відбувалося на початку 1980-х років. У цей період електрофізіологія була королевою біомедичних наук, подібно до того як легка атлетика вважають королевою спорту, і практично всі дослідники займалися електрофізіологією.

Тоді було відомо дві основні методики, які дозволяли виміряти трансмембранні струми ізольованих клітин. Перша – це так звана мікроелектродна техніка, коли в клітину вводять мікроелектроди і за їх допомогою під'єднують клітину до зовнішніх електричних ланцюгів, щоб стимулювати відповідь

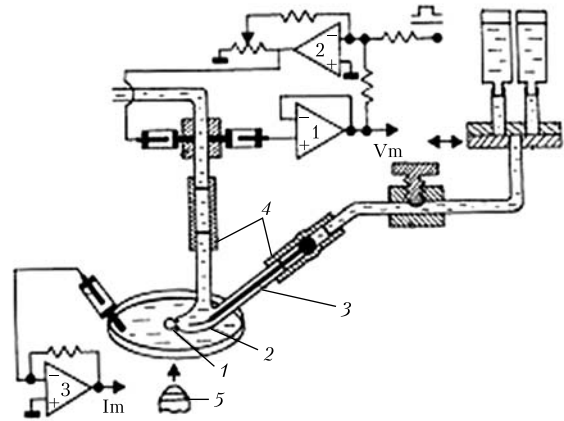
і вимірювати струми, що протікають через мембрану. А другу методику внутрішньоклітинного діалізу було розроблено в Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Вона полягає в тому, що клітину розміщують на порі, зробленій у поліетиленовій перегородці, і через цю пору можна змінювати потенціал на мембрані та реєструвати трансмембранні струми (рис. 1).

Саме з використанням цієї методики Платон Григорович зі своїми співробітниками вперше описали кальцієві струми і висунули концепцію, згідно з якою в мембрані нейрона поряд з традиційними і вже добре відомими тоді натрієвими і калієвими каналами наявні також і кальцієві канали (рис. 2).

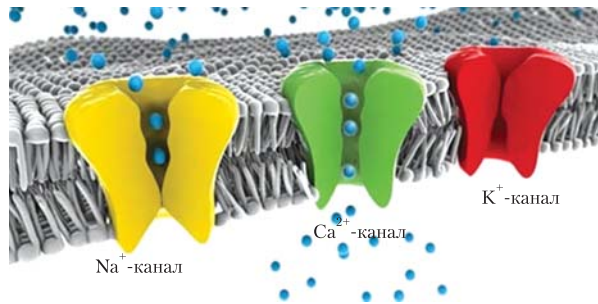
Кальцієвий канал у відповідь на певні зміни мембранного потенціалу пропускає іони кальцію, які потім всередині нейрона активують найрізноманітніші процеси. Однак, вимірюючи струми цілого нейрона, можна було судити про те, як працює ансамбль усіх кальцієвих каналів, які є в його мембрані, а от як функціонує один окремий кальцієвий канал, було невідомо. Доводилося робити лише непрямі висновки. Технічних можливостей для того, щоб виміряти струм одного каналу, тоді ще не було, хоча такі спроби робилися.

У 1981 р. два німецькі вчені, Ервін Неєр (Erwin Neher) і Берт Закман (Bert Sakmann), запропонували методику, яка надалі здобула назву patch-clamp, або метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани. До речі, Ервін Неєр є іноземним членом НАН України, і обидва вони були частими гостями Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця, переймали наш досвід роботи з методом внутрішньоклітинного діалізу, а потім адаптували його у своїх експериментах з більш сучасним електротехнічним обладнанням. У 1991 р. Ервін Неєр і Берт Закман отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини за розроблення методу вимірювання струму через поодинокі іонні канали клітинної мембрани.

Ми тоді працювали з пластиковою мікропіпеткою, за допомогою якої розділяли мембрану на внутрішньоклітинне і зовнішньоклітинне



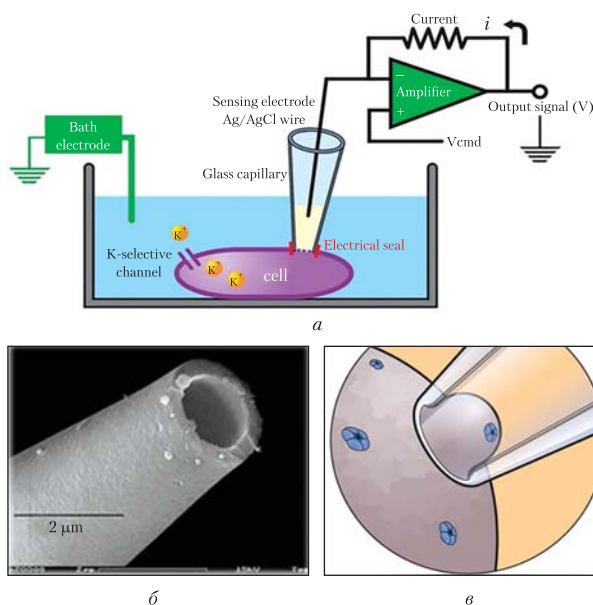
**Рис. 1.** Схема вимірювання трансмембранних струмів ізольованих клітин методом внутрішньоклітинного діалізу: 1 – клітина; 2 – V-подібна мікропіпетка, виготовлена з поліетиленової трубки, на вершині якої проколото пору; 3 – рухоме волокно, за допомогою якого руйнується клітинна мембрана, звернена всередину поліетиленової мікропіпетки; 4 – еластичні трубки для приєднання поліетиленової мікропіпетки до кола пропускання фізіологічних розчинів і підключення електронних пристроїв; 5 – об'єктив мікроскопа для візуального контролю



**Рис. 2.** Натрієвий, кальцієвий і калієвий канали в мембрані клітини

середовища (рис. 1). Німецькі колеги використали скло, перевагою якого була можливість виготовляти мікропіпетки з меншим отвором. Крім того, клітинна мембрана має властивість «злипатися» зі склом, що не потребує застосування спеціальних адгезивних сумішей для «склеювання» мембрани з периметром отвору.

На рис. 3 наведено схему методу patch-clamp і у збільшеному масштабі показано скляну мі-



**Рис. 3.** Метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани (метод patch-clamp): *a* – схема методики; *б* – мікрофотографія отвору мікропіпетки; *в* – захоплення піпеткою ділянки клітинної мембрани з іонним каналом

кропіпетку з отвором близько 1  $\mu\text{м}$ . За допомогою цього інструменту на поверхні клітини обмежують невелику ділянку мембрани площею приблизно  $1 \mu\text{м}^2$  (звідси і назва методу: patch англійською – «клаптик»), яка в ідеалі має містити один-єдиний потрібний для дослідження іонний канал, і вимірюють струм, що проходить через цей окремих канал.

Порівняно з традиційними експериментами на цілій клітині це означало підвищення роздільної здатності методу в тисячу разів: порядок амплітуди кальцієвого струму на цілому нейроні становить приблизно  $10^{-9}$  А, а на одному іонному каналі –  $10^{-12}$  А, тобто одну трильйонну частку ампера. Це настільки мала величина, що навіть якісь зовнішні наведені струми чи сторонні ефекти, зокрема тепловий шум у провідниках, можуть бути більшими за неї. Для того щоб виміряти такий струм, потрібно було вдаватися до багатьох різних хитрощів. Проте німецькі вчені зуміли подолати всі труднощі.

У 1981 р., як тільки з'явилася стаття Ервіна Неєра і Берта Закмана з описом методу patch-clamp, Платон Григорович одразу оцінив його переваги і вирішив, що ми маємо якнайшвидше опанувати цю нову методику в нашому інституті. Я тоді був аспірантом у його відділі і пам'ятаю, як Платон Григорович зайшов до мене в лабораторію і каже: «Слухай, Славо, нам не можна втрачати час. Ти продовжуй працювати над своєю дисертацією, але паралельно починай ставити цю методику і спробуй виміряти струм через окремих кальцієвий канал».

Сказати, що ці експерименти були надзвичайно копіткі, трудомісткі й високопрецизійні, – це нічого не сказати. Спробую пояснити, якою складною була така робота. Це були часи «залізної завіси», і не можна було просто поїхати і повчитися в авторів методики, перейняти їхній досвід, а отже, доводилося до всього доходити самим, буквально «винаходити велосипед», користуючись лише вкрай обмеженим описом, наведеним у статті Е. Неєра і Б. Закмана. До того ж давався взнаки радянський хронічний дефіцит усього: обладнання, реактивів, електронних елементів. Крім того, коли ми торкаємося скляною мікронною піпеткою клітинної мембрани, ми насправді не знаємо, куди саме потрапимо, адже немає жодної гарантії, що під нею виявиться саме той іонний канал, який нас цікавить, – можна захопити якийсь інший канал, натрапити на ділянку, на якій взагалі немає ніяких каналів або є одразу кілька каналів різних типів. Тобто доводилося багаторазово повторювати ці спроби з досить низькими шансами на успіх.

При цьому контакт, що утворювався між піпеткою і мембраною, був настільки міцним, що його практично неможливо було зруйнувати. В разі відведення піпетки від клітини мембрана тягнулася за піпеткою, і обмежений нею клаптик можна було зрештою відірвати. Цікаво, що коли на цьому відірваному клаптику таки виявлявся іонний канал, його активність можна було реєструвати навіть поза контактом із цитоплазматичним середовищем самої клітини.





Під час урочистого прийому на міжнародній конференції з нагоди 80-річчя Платона Григоровича Костюка. Ялта, 2004 р.



Вшанування Платона Григоровича Костюка у відділі з нагоди присвоєння йому звання «Герой України», травень 2007 р.



Відзначення 85-річчя Платона Григоровича Костюка в будинку відпочинку в Конча-Заспі, 2009 р.



Платон  
Григорович  
Костюк

Інша проблема, що поставала перед нами, була пов'язана з тим, що коли ми реєструємо струм на цілому нейроні, то працюємо з ансамблем із тисяч іонних каналів, які створюють загальний струм, і характеристики такого струму досить легко проаналізувати. Але, коли ми маємо справу з одним окремим каналом, слід зважати на те, що його функціонування має ймовірнісний характер — у якийсь момент він працює, в якийсь не працює, або, навпаки, може спрацювати кілька разів поспіль. Тому, щоб накопичити достатній для аналізу матеріал, потрібно було реєструвати тисячі таких спрацювань одного іонного каналу. Ясно, що обробити такий величезний масив даних вручну було фактично неможливо, а отже, потрібне було спеціалізоване програмне забезпечення. На початку 1980-х років це була зовсім нова методика, яку тільки-но починали опановувати в провідних лабораторіях світу, а тому готових програмних пакетів, які можна було б придбати, ще не існувало. Довелося самим розробляти такі програми для доступних на той час комп'ютерів, які хоч і були настільки великі за розмірами, що займали цілу кімнату, але за обчислювальними можливостями поступалися найпримітивнішому сучасному смартфону.

Результатом цієї складної і копіткої роботи стала наша стаття, яка вийшла в журналі «Доклады Академии наук СССР» в 1985 р. Принаймні в СРСР ми першими провели вимірювання за методом patch-clamp і описали активність одиничних кальцієвих каналів у мембрані нервової клітини. Трошки пізніше вийшли ще дві публікації в провідних міжнародних журналах, в яких ми запропонували розроблену нами кінетичну модель функціонування кальцієвого каналу і показали, що в мембрані нейрона існує кілька різних типів цих каналів. Сьогодні ці результати вже стали класикою електрофізіології.

На завершення хотів би показати кілька фотографій, які я знайшов у своєму архіві.

Перші два фото зроблено восени 2004 р. під час міжнародної конференції, що проходила в Ялті і була приурочена до 80-річного ювілею Платона Григоровича. Це був ще український Крим, і ніхто тоді навіть уявити собі не міг, що може бути інакше. Маю мрію, що наступний ювілей П.Г. Костюка ми зможемо відзначити у знов українському Криму. До речі, на лівому фото поруч з Платоном Григоровичем сидить його добрий друг, відомий електрофізіолог із Джорджтаунського університету (м. Вашингтон) професор Мартін Морад, який єдиний до-

зволяв собі звертатися до Платона Григоровича просто «Платон».

На цих світлинах є ще одна дуже цікава деталь: подивіться на характерний жест Платона Григоровича на фото ліворуч, як він піднімає руку, акцентуючи увагу на тому, що він каже, і такий самий жест можна побачити у його учня Олега Олександровича Кришталя на фото праворуч. Так буває, коли люди тривалий час працюють разом, багато спілкуються і мимоволі переймають звички одне в одного. Це також цікаве свідчення того, що постать Платона Григоровича впливала на нас, його учнів і співробітників, більше, ніж можна було очікувати.

Наступне фото — це 2007 рік і наш відділ нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Ми тоді зібралися, щоб поздоровити Платона Григоровича з присвоєнням йому звання «Герой України».

А нижче — світлина з події, про яку вже згадував у своєму виступі Сергій Васильович Ко-

місаренко. Це був останній раз, коли ми святкували день народження Платона Григоровича у його доброму здоров'ї. Як бачите, тоді зібрався весь «цвіт» української біомедичної науки: Костянтин Меркурійович Ситник, Сергій Васильович Комісаренко, Олександр Григорович Резніков, Микола Сергійович Веселовський, Олексій Олексійович Мойбенко, Ісаак Михайлович Трахтенберг.

І остання фотографія — мабуть, один з найкращих портретів Платона Григоровича. Я зробив це фото випадково, десь на початку 2000-х років, коли він зайшов до мене в кабінет з якимось поточним питанням. На жаль, оригінал цієї фотографії десь загубився, і вона «гуляє» в інтернеті не в найкращій якості. Однак саме таким, з доброзичливою і ледь іронічною посмішкою, ми і пам'ятаємо Платона Григоровича.

Дякую за увагу!

*За матеріалами засідання підготувала О.О. Мележик*

Yaroslav M. Shuba

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1451-7188>

P.G. KOSTIUK IS A SCIENTIST WHO DISCOVERED NEW FACETS OF SINGLE CALCIUM CHANNELS FUNCTIONING

Speech at the anniversary session of the general meeting of the National Academy of Sciences of Ukraine, dedicated to the 100<sup>th</sup> anniversary of Academician of the NAS of Ukraine P.G. Kostiuk, September 11, 2024

**Cite this article:** Shuba Ya.M. P.G. Kostiuk is a scientist who discovered new facets of single calcium channels functioning. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2024. (10): 28–33. <https://doi.org/10.15407/visn2024.10.028>