

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

Т.А. Замощина, Е.Ю. Просекина,
Т.А. Томова

ОСНОВЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ
СИГНАЛИЗАЦИИ.
ПРОСТАНОИДЫ
И РЕГУЛЯТОРНЫЕ
ПЕПТИДЫ

Учебное пособие



ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**Т.А. Замощина, Е.Ю. Просекина,
Т.А. Томова**

**ОСНОВЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ
СИГНАЛИЗАЦИИ.
ПРОСТАНОИДЫ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ
ПЕПТИДЫ**

Учебное пособие

Томск
2009

УДК 612:591.1(076.5)
ББК 28.707.3я73
З 26

З 26 **Замощина Т.А., Просекина Е.Ю., Томова Т.А.**
Основы межклеточной сигнализации. Простаноиды
и регуляторные пептиды: Учебное пособие. – Томск:
Томский государственный университет, 2009. – 86 с.

В пособии излагается информация об организации функционального пептидного континуума, о структуре и функциях 15 сигнальных молекул пептидного происхождения, их вторичных мессенджерах, рецепторах и механизмах сопряжения.

Для студентов и магистрантов Биологического института, специализирующихся на кафедре физиологии человека и животных, а также для биологов широкого профиля.

УДК 612:591.1(076.5)
ББК 28.707.3я73

Рецензенты:

д.б.н., профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии СибГМУ

Г.А. Суханова;

д.б.н., профессор кафедры медико-биологических дисциплин ТГПУ

Т.В. Ласукова

СОДЕРЖАНИЕ

Список принятых сокращений	4
Тема 1. Простагландины	6
Тема 2. Регуляторные пептиды	17
Тема 3. Классификация нейропептидов	26
Тема 4. Бомбезин. Холецистокинин.	36
Тема 5. Вазоактивный интестинальный пептид (VIP). Эндотелины	42
Тема 6. Опиоидные пептиды	48
Тема 7. Брадикинины	54
Тема 8. Ангиотензины	60
Тема 9. Вазопрессин. Пептиды сердечно-сосудистой системы (атриопептиды)	67
Тема 10. Нейротензин. Глипролиносодержащие пептиды	73
Тема 11. Кокальцигенин (кальцитонин – ген-родственный пептид)	79
Рекомендуемая литература	85

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление
АДМ – адреномедуллин
АКТГ – адренокортикотропный гормон
а/к – аминокислоты
АПФ – ангиотензин превращающий фермент
АР – адренорецепторы
АТ I, АТ II – ангиотензины
АТФ – аденозинтрифосфат
АХ – ацетилхолин
АЦ – аденилатциклаза
БАВ – биологически активное вещество
БК – брадикинины
ВИП – вазоактивный интестинальный пептид
ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
ГТ – гипоталамус
ГК – глюкокортикоиды
ГТФ – гуанозинтрифосфат
ГЦ – гуанилатциклаза
ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
ДА – дофамин
ДАГ – диацилглицерол
ДПК – двенадцатиперстная кишка
ДОФА – 3,4-диоксифенилаланин
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИТФЗ – инозитолтрифосфат
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
КА – катехоламины
ЛГ – лютеинизирующий гормон
ЛТ (ЛТА₄, ЛТВ₄, ЛТС, ЛТD, ЛТЕ) – лейкотриены
ЛЭ – лей-энкефалин
МРСА – медленно реагирующая субстанция анафилаксии
МЭ – мет-энкефалин
НА – норадреналин
НП – нейропептиды
НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
ПГ (ПГЕ₂, ПГD₂, ПГF_{2α}, ПГH₂, ПГG₂) – простагландины

ПГ₁ (ПГ₂) – простаглицлины
Р – рецептор
РП – регуляторные пептиды
СМ – сигнальная молекула
ССТ – соматостатин
ТСГ – тиреостимулирующий гормон
ТХ (ТХА₂, ТХВ₂) – тромбасаны
ФАТ – фактор активации тромбоцитов
ФЛС – фосфолипаза С
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ЦНС – центральная нервная система
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
ЭПР – эндоплазматический ретикулум
ЭЭГ – электроэнцефалография
ANP – атриальный натрийуретический пептид
В₁, В₂ – брадикининовые рецепторы
BNP – мозговой натрийуретический пептид
СCh – холецистокинин
СGRP – кокальцигенин
Сох (Сох I, Сох II) – циклоксигеназа
сРG – циклический пролил-глицин
ЕТ – эндотелины
ЕТА, ЕТВ – эндотелиновые рецепторы
Gi, Gs-белки – ГТФ-зависимые белки
GP – глицил-пролин
LX – липоксины
NK₁, NK₂ – рецепторы субстанции Р
PG – пролил-глицин
PGR – пролил-глицил-пролин
TP – тромбосановые рецепторы
VPAC₁, VPAC₂ – рецепторы VIP

ТЕМА 1. ПРОСТАГЛАНДИНЫ

Простагландины (ПГ) и родственные им производные арахидоновой кислоты, которые в совокупности называются простааноидами или эйкозаноидами, являются одними из наиболее сильнодействующих регуляторов клеточных процессов. Простагландины и некоторые другие биологически активные липиды и пептидолипидные кислоты формируются из одного предшественника путем взаимосвязанных цепочек ферментативных реакций. Почти все они являются карбоновыми кислотами. Это тромбоксаны (ТХ), гидропероксиэйкозатетраеновые кислоты, гидроксиейкозатетраеновые кислоты, лейкотриены, липоксины и эпоксиэйкозатетраеновые кислоты.

Термин эйкозаноиды (от греческого *icos* – двадцать) используется для названия этой группы соединений, так как все они могут быть получены из полиненасыщенных жирных кислот с C_{18} -, C_{20} - и C_n -углеродными скелетами. Среди этих жирных кислот арахидоновая кислота является наиболее важным предшественником биосинтеза эйкозаноидов у человека. Две 18-углеродные жирные кислоты (линолевая и α -линоленовая кислоты) и 20-углеродная арахидоновая кислота относятся к незаменимым (эссенциальным) жирным кислотам, которые необходимы для полноценного питания многих видов животных и человека. Информация об эссенциальных жирных кислотах лежит в основе многих систем питания человека.

У большинства млекопитающих арахидоновая кислота образуется из линолевой кислоты путем десатурации и удлинения цепи до дигомолиноленовой кислоты с последующей десатурацией. Однако линолевая и линоленовая кислоты не синтезируются у человека, то есть должны поступать с пищей. Источником полиненасыщенных эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот является жир рыб, обитающих в холодных водах.

Эйкозаноиды не депонируются в клетке, их синтез регулируется содержанием предшественников свободных жирных кислот. Арахидоновая кислота высвобождается из липидов мембраны и из других жиров фосфолипазами, которые активируются специфическими и неспецифическими стимулами. В ответ на эти стимулы, варьирующие в разных клетках, фосфолипаза A_2 или комбинация фосфолипазы С и диглицеридлипазы отщепляют этерифицированную арахидоновую кислоту из специфических глицерофосфолипидов, входящих в состав липидного бислоя клеточной мембраны. Количество внутриклеточной свободной арахидоновой

кислоты частично контролируется встраиванием арахидоната в липиды клетки. Это реакетилирование регулируется двумя ферментами: арахидонил-КоА-синтетазой, которая катализирует образование активной формы арахидоновой кислоты и арахидонил-КоА-трансферазой. При дальнейшей трансформации фосфолипидного пула может образовываться **фактор активации тромбоцитов (ФАТ)** – сильный патофизиологический медиатор астмы и шока. Ингибирование любого из этих ферментов ведет к повышению внутриклеточного уровня свободной арахидоновой кислоты.

Свободная арахидоновая кислота метаболизируется в основном двумя ферментативными путями, в неодинаковой степени выраженными в различных клетках: простагландины и тромбоксаны образуются циклооксигеназным путем, а лейкотриены – липооксигеназным. Не в каждой клетке образуются все эти продукты. Например, в сосудистой эндотелии синтезируются прежде всего ПГЕ₂ и ПGI₂, а в тромбоцитах – тромбоксан.

Простагландины, история и номенклатура. Гольдблат и фон Эйлер независимо друг от друга нашли в семенной жидкости человека вазоактивную жирную кислоту, которая снижала артериальное давление у кролика. Фон Эйлер назвал это активное вещество простагландином, так как считал, что оно синтезируется простатой (сейчас известно, что это вещество образуется в семенных пузырьках). Он предположил, что простагландин играет роль в транспорте спермы. В 1962 г. Бергстрём определил структуру первых двух простагландинов и назвал их простагландины E и F (ПGE и PGF) соответственно их способности растворяться в эфире или фосфатном буфере.

Сегодня номенклатура простагландинов включает 10 специфических молекул, обозначаемых буквами от A до J, которые различаются радикалами, присоединенными в положении 9 и 11 циклопентанового кольца. Для биосинтеза простагландинов могут использоваться арахидоновая, дигомолиноленовая и эйкозапентаеновая кислоты. Поэтому каждая группа ПГ состоит из трех серий под номерами 1, 2 и 3. Эти номера определяют степень насыщения (сатурации) алифатической боковой цепи.

Биосинтез простагландинов. Первые две реакции биосинтеза простагландинов из полиеновых жирных кислот катализируются простагландинэндопероксидсинтетазой. Этот связанный с мембраной гемопро-теид, который имеется у большинства животных, обнаружен во всех клетках организма (кроме эритроцитов и лимфоцитов). Синтез простагландинов из арахидоновой кислоты начинается с оксигенации и циклизации пентанового кольца (циклооксигеназный этап) и приводит к образованию эндопероксидов. Циклооксигеназный путь ингибируется нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС), например аспи-

рином и индометацином. Существуют две циклооксигеназы (Cox): Cox I и Cox II. Эти изоферменты гомологичны на 60% и отличаются функционально. Так, аспирин и индометацин сильнее ингибируют Cox I, чем Cox II, а флурбипрофен лишь несколько сильнее ингибирует Cox I по сравнению с Cox II. В организме доминирующей формой является Cox I.

Эндоперекиси являются промежуточными субстратами для гистоспецифического синтеза разных биологически активных простагландинов. В зависимости от ткани ПГН₂ конвертируется в ПГГ₂ цитозольным ферментом простагландин-D-синтетазой, в то время как ПГЕ₂ образуется под действием мембраносвязанной простагландин E-синтетазы. Оба фермента используют как кофактор восстановленный глутатион. Не выделен фермент, восстанавливающий ПГН₂ до ПГФ_{2a}. Однако ПГФ_{2a} может образовываться из ПГЕ при помощи двух других ферментов: простагландин E-9-кеторедуктазы и 15-гидроксипростагландинде-гидрогеназы. Присутствие этих двух ферментов (а не их регуляция) определяет, какие эндоперекисные продукты доминируют в определенной ткани.

Биосинтез простациклина и тромбксана. Агрегирующие тромбоциты высвобождают тромбксан А₂ (ТХА₂), который образуется из того же предшественника (ПГН₂), что и простагландины, но отличается тем, что содержит оксан-оксетановое кольцо. Оксетановое кольцо ТХА₂ спонтанно гидролизуются ($t_{1/2}=30$ с) до биологически неактивного полуацетального тромбксана В₂ (ТХВ₂). ТХА₂ в отличие от ТХВ₂ вызывает сокращение гладкой мускулатуры и агрегацию тромбоцитов в низких наномолярных концентрациях. Образование ТХА₂ катализируется цитохром Р-450-подобным гемтиолатным белком, тромбксансинтетазой, которая в основном находится в тромбоцитах и макрофагах. Кроме ТХА₂, образуются эквимольные количества гидроксигептадекатриеновой кислоты и малонового диальдегида, однако их биологические функции неизвестны. В отличие от ТХА₂ простациклин (ПГ₁), образующийся в основном в эндотелии сосудов и в гладкомышечных клетках, сильно ингибирует агрегацию тромбоцитов и расслабляет гладкую мускулатуру. Он синтезируется связанным с мембраной цитохром Р-450-подобным ферментом – простациклинсинтетазой. ПГ₁ гидролизуются спонтанно ($t_{1/2}$ около 3 минут) до биологически неактивного соединения. Таким образом, ТХА₂ и ПГ₁ образуются из одного предшественника двумя очень похожими, но гистоспецифическими ферментами. Эта особенность отражает их противоположные (даже антагонистические) биологические свойства. Оба этих соединения быстро гидролизуются до неактивных продуктов, содержание которых легко измерить радиоиммунным методом.

Метаболизм арахидоновой кислоты. Кроме метаболических превращений по циклооксигеназному или липооксигеназному пути, арахидо-

доновая кислота окисляется микросомальными цитохром Р-450-монооксигеназами. В экспериментальных условиях продукты этих реакций действуют на тонус сосудов, транспорт ионов, рост клеток, передачу сигнала, гормональные реакции, гемостаз и гемопоэз. Эта ферментативная система окисляет некоторые метаболиты арахидоновой кислоты, которые проявляют свою биологическую активность только после метаболических превращений в клетке. Кроме того, оба типа окисления могут осуществляться одновременно с образованием производных тригидроксиарахидоновой кислоты (липоксинаов). Эти и другие, близкие по структуре соединения, исследуются в связи с их действием на гладкую мускулатуру сосудов и эпителий органов пищеварения и почек.

Липооксигеназы, гидропероксиэйкозатетраеновые кислоты и липоксины. Третий, основной путь оксигенации арахидоновой кислоты, осуществляется липооксигеназами, которые встраивают молекулу кислорода в полиненасыщенные жирные кислоты. Тканевая специфичность липооксигеназ определяется положением углерода, несущего гидропероксигруппу вещества. У человека арахидоновая кислота прежде всего превращается в нестабильные перекиси, которые затем образуют соответствующие гидроксидериваты. Ферменты 5-липооксигеназа и 12-липооксигеназа широко распространены в тканях и клетках крови млекопитающих и практически идентичны, за исключением двух аминокислот, определяющих положение субстрата в фермент-субстратном комплексе. Значительная активность 15-липооксигеназы определяется только в зоонофилах. В отличие от циклооксигеназ, липооксигеназы присутствуют и в растениях, например, в картофеле и соевых бобах. Это свидетельствует о том, что липооксигеназный путь оксигенации полиеновой жирной кислоты филогенетически более древний. И 5-, и 12-липооксигеназы вносят свой вклад в образование различных тригидроксиэйкозатетраеновых кислот, в том числе липоксинаов LXA и LXB.

Биосинтез лейкотриенов. Лейкотриены (ЛТ) являются биологически активными веществами, которые синтезируются 5-липооксигеназой в нейтрофилах, моноцитах, макрофагах, тучных клетках и кератиноцитах, а также в легких, селезенке, головном мозге и сердце. До того как стала известной их структура, их определяли в перфузатах легкого как медленно реагирующую субстанцию анафилаксии (МРСА), которая высвобождается при иммунологической реакции. МРСА является смесью пептидолейкотриенов ЛТС, ЛТD и ЛТЕ. Название «лейкотриен» отражает факт их открытия в лейкоцитах и конъюгированную триеновую структуру, определяющую характерный ультрафиолетовый спектр поглощения. Число в названии лейкотриена определяет количество двойных свя-

зей. Синтез лейкотриенов идет только 5-липоокси-геназным путем. В лейкоцитах человека один фермент отвечает и за синтез предшественника лейкотриенов и за его дальнейшую трансформацию в ЛТА₄. Этот продукт либо гидролизуется до ЛТВ₄ или его изомеров, либо превращается в ЛТС_д посредством конъюгации с пептидом глутатионом при помощи глутатион-S-трансферазы. Отщепление глутаминовой кислоты приводит к образованию ЛТД₄, а дальнейшее отщепление глицинового остатка дипептидазой – к образованию ЛТЕ. 5-липооксигеназа нейтрофилов человека стимулируется ионами кальция, которые могут переносить фермент из цитозоля к мембране. Этот механизм регулирует участие нейтрофилов в развитии воспаления. В настоящее время активно изучается регуляция циклооксигеназы и липооксигеназы цитокинами, факторами роста и онкогенами.

Метаболизм простагландинов. Простагландины быстро метаболизируются в организме. Около 97% внутривенной дозы ПГЕ₂ исчезает из плазмы через 90 с. Ферменты деградации простагландинов широко распространены в организме и наиболее активны в легких, почках, селезенке, жировой ткани и кишечнике. Особенно интенсивно проходит инактивация циркулирующих простагландинов в сосудах легких. Гидроксильная группа при С15, которая необходима для проявления биологической активности всех простагландинов, окисляется до соответствующего кетона ферментом простагландин-15-гидроксиде-гидрогеназой. 15-кетосоединение восстанавливается до 13,14-дигидродеривата простагландинредуктазой. Эти две первые реакции проходят за несколько минут. Вторая же фаза катаболизма простагландинов (окисление боковых цепей) более длительна. В данном случае образуются полярные дикарбоновые кислоты, которые выделяются с мочой в свободном виде. При метаболизме по другому пути под действием специфической оксидоредуктазы образуются соответствующие 13,14-дигидропроизводные. Основные метаболиты ТХВ₂ в плазме и моче – это 11-дегидро-ТХВ₂ и 2,3-динор-ТХВ₂ соответственно.

Механизмы действия протанондов эйкозаноидов. Эйкозаноиды – это короткодействующие, высокоактивные местные медиаторы, которые вызывают огромное количество биологических эффектов путем связывания со специфическими рецепторами наружной клеточной мембраны. Некоторые из этих рецепторов выделены, солубилизированы и даже клонированы. Все они связаны с G-белком. Однако их фармакологическая специфичность определяется не особыми системами внутриклеточных эффекторов или вторичных посредников, а распределением и количеством рецепторов на разных типах клеток. Например, ПЕ1₂ подавляет агре-

гацию тромбоцитов, связываясь с рецепторами, которые специфически активируют аденилатциклазу. Это приводит к повышению внутриклеточного уровня цАМФ, что в свою очередь активирует специфические протеинкиназы. Киназы фосфорилируют белки внутриклеточных кальциевых насосов, что повышает концентрацию ионов кальция в клетке. ПГД₂ также подавляет агрегацию тромбоцитов, активируя аденилатциклазу, но посредством взаимодействия с другими рецепторами. Связывание же ТХА₂ со специфическими рецепторами тромбоцитов активирует метаболизм фосфатидилинозитола, что приводит к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата (ИТФ₃) – другого вторичного посредника. ИТФ₃ мобилизует внутриклеточный кальций и вызывает агрегацию тромбоцитов. ЛТВ₄ посредством вторичного образования ИТФ вызывает активацию, дегрануляцию полиморфноядерных лейкоцитов и образование супероксид-аниона.

Таким образом, сокращение гладкой мускулатуры под действием эйкозаноидов может опосредоваться высвобождением Ca⁺⁺, а релаксация – образованием цАМФ. Действие эйкозаноидов на ряд систем организма, в том числе иммунную, можно объяснить таким же образом. Многие из сократительных эффектов эйкозаноидов, затрагивающих гладкую мускулатуру, можно предупредить снижением внеклеточной концентрации Ca⁺⁺ или применением блокаторов кальциевых каналов.

Рецепторы простаноидов. Делятся на 4 типа, условно обозначаемыми DP, EP (EP₁ – EP₄), FP, TP.

DP-рецептор представляет собой трансмембранный гликопротеид, состоящий из 7 доменов и 359 аминокислотных остатков. Селективные агонисты по аффинитету соотносятся друг с другом следующим образом – ПГД₂ > ПГЕ₂ > ПГФ₂α > ПЦ. Механизм сопряжения аденилатциклазной через G-активирующие белки. Наибольшая плотность рецептора определена в васкулярных гладких мышцах, ЖКТ, тромбоцитах и мозге. Именно этот тип рецептора имеет отношение к регуляции сна, дезагрегации тромбоцитов, вазодилатации, расслаблению гладкой мышцы ЖКТ, матки.

EP₁-рецептор состоит из 7 трансмембранных доменов и 402 аминокислотных остатков. Наибольшее к нему сродство имеют ПГЕ₂ и простаглицлин. Механизм сопряжения фосфоинозитольный, который контролирует уровень свободного кальция в цитозоле клетки. Наибольшая плотность определена в сосудах почек, легких и гладкой мышце кишечника. Возбуждение этого типа рецепторов сопровождается спазмом гладкой мышцы.

EP₂-рецептор также трансмембранный белок, состоящий из 7 доменов и 358 аминокислотных остатков. Наибольшее к нему сродство имеют ПГЕ₂ и ПГД₂. Механизм сопряжения аденилатциклазной и G-активи-

рующие белки. Наибольшая плотность определена в гладких мышцах бронхов, трахеи, плаценте, кишечнике, желудке, на нейтрофилах. Этот тип рецепторов отвечает за релаксацию гладкой мышцы в указанных органах и понижение активности нейтрофилов.

EP₃-рецептор имеет 7 трансмембранных доменов, но 390 аминокислотных остатков. Наибольшее к нему сродство имеют ПГЕ₂ и простаглицлин. Механизм сопряжения аденилатциклазный и Гингибирующие белки. Наибольшая плотность у человека определена в почках, поджелудочной железе, кишечнике, желудке, сердце, печени, половых органах, надпочечниках, плаценте. Этот тип рецепторов отвечает за спазм гладкой мышцы, понижение желудочной секреции и понижение липолиза.

EP₄-рецептор состоит из 7 трансмембранных доменов и 488 аминокислотных остатков. Механизм сопряжения аденилатциклазный и Гактивирующие белки. Наибольшая плотность у человека определена в гладкой мышце кишечника, в тимусе, бронхах, сосудах сердца, желудке. Возбуждение этого типа рецепторов вызывает вазодилатацию, расслабление гладкой мышцы и угнетение дифференцировки и пролиферации Т-лимфоцитов.

FP-рецептор. Состоит из 358 аминокислотных остатков. Наибольшее к нему сродство имеет ПГF_{2α} и ПГD₂. Рецептор ассоциирован с фосфолипазой С и регулирует содержание свободного кальция в цитозоле клетки. Наибольшая плотность выявлена в яичниках, простате, тонком кишечнике, сосудах глаза. Рецепторы отвечают за спазм гладкой мышцы, лютеолизис (лизис желтого тела), понижение внутриглазного давления.

IP-рецептор. Наибольший к нему аффинитет имеет простаглицлин, поэтому этот тип рецепторов называется простаглицлиновый. Состоит из 7 трансмембранных доменов и 386 аминокислотных остатков. Механизм сопряжения аденилатциклазный через G-активирующие белки. У человека в наибольшем количестве этот тип рецепторов выявлен в аорте, легких, сердце, почках. Рецептор отвечает за вазодилатацию, ингибирование агрегации тромбоцитов.

TP-рецептор. Этот тип рецепторов имеет наибольшее сродство к тромбксану, поэтому носит название тромбксановый. Имеет 7 трансмембранных доменов и состоит из 343 аминокислотных остатков. Механизм сопряжения – фосфоинозитольный. рецептор контролирует уровень свободного кальция в цитозоле. Наибольшая плотность определена в тимусе, селезенке, легких, почках, сердце. Взаимодействие этого типа рецепторов с агонистом сопровождается вазоконстрикцией, бронхоконстрикцией и агрегацией тромбоцитов.

Функциональная значимость простагландинов и тромбоксанов.

Анализ плотности распределения простагландиновых и тромбоксановых рецепторов, а также механизмов их сопряжения показал, что основные эффекты простагландинов и тромбоксанов касаются функционирования гладкой мускулатуры и тромбоцитов. Другие важные мишени – это ЦНС, вегетативные постганглионарные нервные терминали, чувствительные нервные окончания, эндокринные органы и жировая ткань.

А. Гладкая мускулатура:

1. **Сосуды.** Гладкую мускулатуру артерий человека расслабляют ПГЕ₂ и ПGI₂. Эти и другие простагландины вызывают вазодилатацию. Напротив, ТХА₂ и ПGF_{2α} являются вазоконстрикторами, особенно в отношении вен. Простаглицлин, который в основном синтезируется в эндотелии, первоначально считался циркулирующим гормоном. Однако почти весь ПGI₂ (простаглицлин) немедленно разрушается. В микроциркуляции играет также важную роль другой продукт эндотелиального происхождения – ПГЕ₂. Вместе с ПГЕ₂ и ПGI₂ из эндотелия высвобождается сильный эндотелиальный фактор релаксации, которым является оксид азота. Действие оксида азота в гладкой мускулатуре сосудов опосредуется растворимым ферментом гуанилатциклазой; этот эффект не блокируется НПВС. Следовательно, регуляция микроциркуляции зависит не только от синтеза простагландинов в эндотелии.

2. **ЖКТ.** Действие простагландинов и лейкотриенов на гладкую мускулатуру желудочно-кишечного тракта различно. Продольная мускулатура сокращается под действием ПГЕ и ПGF_{2α}, круговая – при участии ПGI₂ и ПGF_{2α}, а расслабляется под действием ПГЕ_{2α}. Введение ПГЕ₂ или ПGF_{2α} приводит к спастическим болям.

3. **Дыхательные пути.** Гладкая мускулатура дыхательных путей расслабляется ПГЕ₁, ПГЕ₂; и ПGI₂, а сокращается под влиянием ТХА₂ и ПGF_{2α}.

Б. Тромбоциты. Как уже обсуждалось, агрегация тромбоцитов в значительной степени регулируется эйкозаноидами. ПГЕ₁, и особенно ПGI₂ значительно подавляют агрегацию, а ТХА₂ – усиливает.

В. Репродуктивные органы:

1. **Женские репродуктивные органы.** Действие простагландинов на матку имеет огромное клиническое значение. Они стимулируют беременную матку в любой срок, что используется в клинике при проведении медицинского аборта.

2. **Мужские репродуктивные органы.** Роль простагландинов, обнаруживаемых в сперме, точно не определена. Основной их источник – это семенные пузырьки; предстательная железа и яички синтезируют очень малые количества простагландинов. Сперма мужчин, способных к репро-

дукции, содержит около 400 мкг/мл ПГЕ и ПГФ и их 19-гидрокси-метаболитов. Причем ПГЕ приблизительно в 20 раз больше, чем ПГФ, хотя их соотношение варьирует у разных мужчин. Однако у одного человека это соотношение остается постоянным, пока не меняются возрастные характеристики спермы. Факторы, регулирующие количество простагландинов в сперме, неизвестны, но показано, что тестостерон усиливает их синтез. Тромбоксаны и лейкотриены в сперме не обнаружены. Мужчины со сравнительно низкой концентрацией простагландинов в семенной жидкости страдают бесплодием. Большие пероральные дозы аспирина снижают содержание простагландинов в сперме.

Г. Центральная и периферическая нервные системы:

1. **Лихорадка.** При введении в желудочки мозга ПГЕ₁ и ПГЕ₂ повышается температура тела. Пирогены высвобождают интерлейкин-1, который в свою очередь активизирует синтез и высвобождение ПГЕ₂. Этот процесс блокируется аспирином и другими антипиретиками.

2. **Сон.** У некоторых видов животных, в том числе у приматов, инфузия в желудочки мозга ПГД вызывает естественный сон (по анализу ЭЭГ).

3. **Нейротрансмиссия.** ПГЕ подавляет высвобождение норадреналина из симпатических пресинаптических нервных окончаний. Тот факт, что НПВС усиливают высвобождение норадреналина, позволяет предположить, что простагландины играют физиологическую роль в нейротрансмиссии. Следовательно, вазоконстрикция после лечения ингибиторами циклооксигеназы может быть связана с повышенным выбросом норадреналина, а также с ингибированием эндотелиального синтеза вазодилататоров (ПГЕ₂ и ПГГ₁).

Д. Нейроэндокринная система. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что некоторые эйкозаноиды вызывают высвобождение гормона роста, пролактина, тиреостимулирующего гормона (ТСГ), адренокортикотропного гормона (АКТГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ). Однако соответствующие фармакологические эффекты у пациентов, получающих препараты ПГЕ, не отмечены. ЛТС₄ и ЛТД₄ стимулируют секрецию ЛГ и рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона.

Эффекты метаболитов липооксигеназного пути. Относительно недавно установлено, что ЛТС₄ в очень высоких разведениях специфически усиливает высвобождение ЛГ и рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона из изолированных клеток передней доли гипофиза крыс. Следовательно, продукты липооксигеназного пути могут выполнять нейротрансмиттерную функцию. Эпоксиды арахидоновой кислоты также повышают выделение ЛГ из клеток гипофиза. Однако они значительно менее активны, чем ЛТС₄.

Биологические функции разных форм гидрокси- и гидропероксидных азидных кислот неизвестны, но их фармакологическая активность очень существенна. Например, некоторые из них стимулируют миграцию гладкомышечных клеток аорты даже при таких низких концентрациях как 1 фмоль/л. Этот эффект может быть полезен для утолщения внутреннего мышечного слоя после повреждения эндотелия, вызванного, например, ангиопластикой. Некоторые стереоизомеры этих кислот являются сильными ингибиторами Na^+ , K^+ -АТФазы роговицы. ЛТВ₄ – один из наиболее сильных хемоаттрактантов для нейтрофилов. Он усиливает их адгезию и дегрануляцию, а также образование радикалов кислорода в этих клетках. Пептидолейкотриены, особенно ЛТС₄ и ЛТД₄, являются сильными бронхоконстрикторами и вызывают увеличение проницаемости микроциркуляторного русла, экссудацию плазмы и секрецию слизи – то есть обладают свойствами МРСА. Более того, они снижают сократительную способность миокарда и коронарный кровоток, приводя к сердечной недостаточности. Другие факторы (например, ФАТ) высвобождаются при анафилаксии и запускают её. Считается, что лейкотриены играют роль в развитии воспаления, особенно при хронических заболеваниях.

ЛХА и ЛХВ подавляют цитотоксичность натуральных киллеров. ЛХА действует на нейтрофилы, как ЛТВ₄ и ЛТС₄, – на сосуды. Таким образом, множество соединений, образующихся в липооксигеназном пути, регулируют специфические клеточные ответы, важные при воспалении и иммунных реакциях. Метаболиты цитохромного Р-450-пути влияют на транспортные функции нефрона напрямую или посредством метаболизма в активные соединения.

Подавление синтеза эйкозаноидов. Кортикостероиды блокируют все известные пути синтеза эйкозаноидов, возможно, через стимуляцию синтеза нескольких ингибиторных белков, которые называются липокортинами. Липокортины уменьшают активность фосфолипазы А₂, вероятно, за счет нарушения связывания фосфолипидов и, следовательно, предотвращения высвобождения арахидоновой кислоты. Нестероидные противовоспалительные средства (аспирин, индометацин, ибупрофен) блокируют образование и простагландинов, и тромбксана, ингибируя активность циклооксигеназы. Например, аспирин является длительно действующим ингибитором циклооксигеназы тромбоцитов и, соответственно, биосинтеза ТХА₂, так как он необратимо ацетилирует фермент. Тромбоцитарная циклооксигеназа не может быть восстановлена биосинтетическим путем, так как тромбоцит не имеет ядра.

Появление селективных ингибиторов тромбксансинтазы и антагонистов ТХА₂ рецепторов потребовало значительных усилий. Полученные

соединения весьма полезны для определения эффектов ТХА₂ *in vitro* и *in vivo*. Сейчас исследуются возможности их использования в терапии легочной гипертензии и преэклампсии. Селективные ингибиторы липооксигеназного пути еще только разрабатываются. За некоторыми исключениями, НПВС не подавляют активность липооксигеназы в концентрациях, которые значительно ингибируют циклооксигеназу. В действительности, предотвратив превращение арахидоновой кислоты циклооксигеназным путем, НПВС могут активизировать метаболизм субстрата через липоксигеназный путь, приводя к повышению уровня в частности флогогенных лейкотриенов. Даже внутри циклооксигеназного пути подавление синтеза одного деривата может усилить синтез другого продукта, ферментативно связанного с первым. Поэтому исследователи пытаются разработать препараты, которые ингибируют и циклооксигеназный и липооксигеназный пути.

ТЕМА 2. РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ

Регуляторные пептиды (РП) – биологически активные вещества, состоящие из последовательной цепочки аминокислотных остатков, и выполняющие в организме человека и животных множественную полифункциональную роль. Одна и та же молекула в зависимости от тканей и органов способна быть нейротрансмиттером, нейромодулятором, нейрогормоном и локальным гормоном. По сравнению с другими системами межклеточной сигнализации пептидная система оказалась наиболее многочисленной (уже открыто свыше тысячи природных РП, они образуют более 40 семейств) и полифункциональной, причем нередко функции пептидов перекрываются.

Система регуляторных пептидов образует так называемый функциональный континуум (функционально непрерывную систему). Кроме обеспечения разнообразнейших комплексов биологической активности пептидный континуум выполняет ещё одну функцию – образование сложных регуляторных цепей. Каждый из РП обладает способностью индуцировать выход в кровь, в цереброспинальную жидкость, в межклеточные среды организма определённых РП. Частным случаем этой системы взаимной индукции является действие либеринов и статинов гипоталамуса на выход гормонов гипофиза. Каждый РП, выход которого индуцирован другим пептидом, в свою очередь, может индуцировать выход следующего РП – так, что возникает каскад регуляторных процессов. Сейчас трудно судить о том, сколь длинной может быть такая цепь. Известно, однако, что многие РП, период полураспада которых измеряется минутами, способны вызывать многочасовые и даже многосуточные эффекты после введения в организм. Вероятно, основой этого и являются такие цепи регуляторных процессов. Биологический смысл существования длительных регуляторных процессов, складывающихся из кратковременных этапов, очевиден. В отличие от систем, основанных на долгоживущих регуляторах, такая система является более гибкой в меняющейся ситуации, при поступлении новых сигналов и т.п.

Основным законом упорядоченной регуляторной миссии РП является принцип «Что? Где? Когда?» (Что? – какой пептид? Где? – в каком локусе организма имеет место быть его экспрессия? Когда? – когда происходит его синтез?). Этот принцип достигается благодаря способности пептидов к оптимальному и мобильному сочетанию синтеза и/или рилинга соответствующего пептида в нужном месте и в нужное время.

Строение РП. Пептиды построены как комбинации аминокислот. Выделяют 3 категории регуляторных пептидов. Признаками, определяющими принадлежность пептида к той или иной категории, являются: аминокислотный состав, период полураспада, срок жизни, степень сродства к рецепторам, наличие или отсутствие специализированного белка-предшественника, наличие или отсутствие белка-транспортёра, наличие органа-продуцента данного пептида.

К I категории РП – классической – относятся пептиды дистантного типа действия с низким временем полураспада, с высоким сродством к рецепторам. Это малые и средние по размеру пептиды – от 2 до 60 аминокислотных остатков, имеют специализированный белок-предшественник, а также специальный белок-носитель. У большинства пептидов этой категории есть орган-продуцент.

РП II категории выявлены сравнительно недавно – это глипролины, малые пептиды, количество аминокислот от 2 до 7, высокое содержание пролина. Сюда включена и часть экзорфинов. У представителей данной категории очень высокий срок полураспада, низкое сродство к рецепторам, неспециализированный белок – предшественник (коллаген, эластин). Пептиды оказывают дистантное действие на систему крови и слизистую оболочку желудка и кишечника.

РП III категории обладают низким сродством к рецепторам, не имеют специализированного белка-предшественника, количество аминокислот от 2 до 60. Представителей этой группы квалифицируют как тканеспецифичные пептиды местного значения. В связи с низким сроком полураспада невозможно их дистантное действие.

Биосинтез (процессинг) регуляторных пептидов. Биохимическая «кухня» синтеза пептидов оказывается единой для любых систем организма. Общий принцип биосинтеза всех достаточно изученных РП состоит в образовании относительно больших пептидов-предшественников, из которых после завершения трансляции выщепляются протеиназами соответствующие РП. Как правило, в состав пептида – предшественника входит несколько основных последовательностей и так называемая сигнальная последовательность, способствующая миграции предшественника внутри клетки после завершения трансляции в шероховатой эндоплазматической сети (первые несколько минут) и отщепляемая в конце этой части пути. Многие пептиды-предшественники образуют промежуточные соединения с гликозидами, которые тоже оказывают стабилизирующее действие на некоторых стадиях процессинга и влияют на отбор мест атаки протеиназами.

Протеиназы, обеспечивающие выщепление НП, в течение нескольких десятков минут или часа после трансляции (в комплексе Гольджи, при

перемещении по аксону и при формировании везикул), не являются высокоспецифичными. В значительной мере точное высцепление обусловлено наличием в последовательности аминокислот пептидов - предшественников парных остатков. Они в первую очередь атакуются протеиназами, близкими по характеру действия к катепсину В и трипсину. Высцеplяемые в этой фазе процессинга фрагменты во многих случаях уже представляют собой активные РП. В ряде случаев эти фрагменты подвергаются дальнейшему протеолизу опять с образованием новых РП. На этой фазе описано участие не только трипсинподобных, но и ряда других протеиназ, специфичность которых тоже не очень высокая.

Рецепция регуляторных пептидов. РП взаимодействуют с рецепторами, которые являются специализированными мембранными структурами, где информационный сигнал превращается в физиологический акт. В настоящее время не вызывает сомнений существование специализированных обособленных рецепторов регуляторных пептидов. Кроме того, мембранные молекулярные образования, специфически связывающие РП, в некоторых случаях являются частью рецепторов классических нейромедиаторов. Примером этому служат ГАМК_A-рецепторы, являющиеся рецепторами эндозепинов.

Физиологические процессы, возникающие в клетке после контакта РП со своими рецепторами на её мембране, вызывают активацию системы вторичных посредников. При этом часть пептидов может индуцировать образование только одного типа вторичных посредников, а другая – может изменять содержание нескольких типов в зависимости от типа рецепторов.

НЕЙРОПЕПТИДЫ

Нейропептиды (НП) – универсальные пептидные регуляторы, которые занимают важное место в химической передаче информации, прежде всего, в нервной клетке. В категорию НП включают обычно малые и средние по размеру пептиды – от 2 до 50–60 аминокислотных остатков. Более крупные пептиды, в число которых входит ряд гормонов, некоторые факторы роста клеток и ряд других факторов, содержат, как правило, свыше 100 аминокислотных остатков, и их относят обычно к категории регуляторных белков. Большинство НП представляет собой линейные пептиды. С-концевые аминокислоты в них нередко амидированы, N-концевые остатки глутаминовой кислоты часто представлены пироглутаматом. Другие модификации а/к остатков встречаются редко. НП образуются в ре-

зультате ограниченного протеолиза больших пептидов-предшественников и секретируются с помощью механизмов, подобных тем, которые известны для медиаторов непептидной природы.

Локализация НП. НП широко представлены в мозге и периферической нервной системе. Содержание пептидов варьирует в пределах 10^{-12} – 10^{-9} М. Кроме того, в ряде органов и тканей не нервными клетками синтезируются и секретируются пептиды, идентичные или близкие многим НП. Это заставляет считать НП частью общей системы регуляторных пептидов организма. В то же время возникают некоторые терминологические трудности. Так, например, пептиды, образующиеся в эндокринных железах, кардио-миоцитах, клетках ЖКТ и системами иммунитета, способны влиять на деятельность периферической и ЦНС. Хотя они имеют не нейрональное происхождение, по-видимому, их следует относить к НП, тем более что почти во всех тщательно проведенных экспериментах в ЦНС тоже обнаруживаются нейроны, синтезирующие пептид, идентичный найденному на периферии (табл. 1).

Таблица 1

Место нейропептидов среди других веществ,
осуществляющих межклеточную передачу информации

Тип и характер действия	Природа
<i>Непептидные нейромедиаторы</i> Преимущественно перенос информации в пределах синапса	Ацетилхолин, моноамины, некоторые аминокислоты и др.
<i>Регуляторные пептиды</i> Могут переносить информацию в синапсе, в других зонах непосредственного межклеточного контакта и/или осуществлять дистантную регуляцию	Малые и средние регуляторные пептиды (в том числе и нейропептиды) – до 50 а.о.
<i>Непептидные гистогормоны</i> Переносят информацию преимущественно через межклеточные контакты, в пределах одной ткани или близлежащих тканей	Простагландины, лейкотриены, тромбоксаны и др.
<i>Гормоны</i> Не переносят информацию в синапсе, дистантные регуляторы	Адреналин, стероидные гормоны, белковые гормоны, крупные пептиды (более 50 а.о.), три- и тетраидогиронин

Особенности пептидергической передачи. Пептидергические нейроны широко представлены в центральной и метасимпатической нервных системах. Пептидергический нейрон имеет принципиальное сходство с любым другим нейроном и обладает биохимическими и физиологическими механизмами синтеза, депонирования, секреции пептидного посредника. Пептидергический синапс также принципиально не отличается от синапса любой другой химической природы. Однако часто пептид вы-

деляется из окончания пептидергического нейрона не в синапсе, но непосредственно в глию или в кровь и выполняет функцию внесинаптического модулятора либо нейрогормона. Кроме того, пептиды могут выделяться не только из окончаний пептидергических нейронов, но и из терминалей других, непептидергических нейронов. В таком случае пептид выступает в роли синаптического модулятора (котрансмиттер, комодулятор).

Тем не менее, для пептидергической передачи выделяют следующие особенности:

1. НП существуют довольно долго в биологических жидкостях организма – от 10 мс до 1–2 ч, что определяет возможность их длительного регуляторного воздействия на клетку.

2. Все НП имеют общего предшественника биосинтеза.

3. Биосинтез НП осуществляется путем его выщепления протеазами из пептида-предшественника.

4. Продукты распада НП являются биологически активными соединениями, они обладают своим спектром биологической активности, нередко противоположным спектру активности своего предшественника, т.е. наблюдается трансформация их активности.

5. Характерной особенностью пептидергической передачи является множественность нейропептидов. Их количество столь велико (> 50), что дает возможность для бесконечного их сочетания и взаимовлияния.

6. После секреции НП в синаптическую щель и взаимодействия с постсинаптическими рецепторами не происходит их обратного поглощения пресинаптической мембраной или глиальной клеткой.

Процессинг нейропептидов. Процессинг нейропептидов состоит в образовании относительно больших неактивных пептидов-предшественников, из которых после завершения трансляции выщепляются протеиназами соответствующие НП. Этот процесс осуществляется на шероховатом ЭПР и строго контролируется геномом клетки.

В состав пептида-предшественника входит одна или несколько основных (или триггерных) аминокислотных последовательностей. Они могут значительно отличаться друг от друга по структуре и относиться к разным классам нейропептидов. Кроме того, в молекулу пептида-предшественника обязательно входит несколько сигнальных последовательностей, которые служат местом расщепления протеиназами или способствуют миграции предшественника в терминаль аксона пептидергического нейрона. Сигнальными последовательностями являются следующие: аргинин-аргинин, лизин-лизин, лизин-аргинин, аргинин-лизин. В пептиде-предшественнике может насчитываться до 200–300 аминокислотных последовательностей. Помимо последних в его молекулу входят

гликозидные катионы, которые временно связываются с ним, оказывая стабилизирующее действие на молекулу в процессе её транспорта в терминаль и определяют места атаки протеиназами.

Известно несколько предшественников синтеза нейропептидов, но хорошо изучены только три. Они являются основными источниками эндорфинов и энкефалинов. Это – проопиомеланокортин, проэнкефалин А, проэнкефалин В.

Проопиомеланокортин имеет 265 аминокислотных последовательностей, содержит в своем составе бета-эндорфин, АКТГ, альфа-, бета-, гамма-меланоцитстимулирующий гормон. Его минимальная триггерная последовательность – метэнкефалиновая. Синтез его локализован в клетках передней и промежуточной долей гипофиза, гипоталамуса и некоторых других областей мозга, а также в желудочно-кишечном тракте, плаценте и легких. Из этого предшественника образуется АКТГ1-39; АКТГ 1-24; АКТГ 18-39, альфа-, бета, гамма-меланоцитстимулирующие гормоны, бета-, гамма- и альфа-эндорфины, метэнкефалин и некоторые другие менее известные нейропептиды.

Проэнкефалин А состоит из 263 аминокислотных последовательностей. Триггерная последовательность – лей-энкефалин. Этот предшественник представляет собой основной источник различных энкефалинов.

Проэнкефалин В состоит из 256 аминокислотных последовательностей, основной источник эндорфинов. Минимальной триггерной последовательностью является лей-энкефалин.

Кроме того, показано, что нейроактивные продукты могут образовываться при расщеплении альбумина, иммуноглобулина G, т.е. эти биоорганические молекулы можно рассматривать в качестве предшественников нейропептидов и других регуляторных пептидов.

Необходимо подчеркнуть, что все нейропептиды образуются не одновременно в одном нейроне или одной терминали, а избирательно в зависимости от набора протеиназ в данном нейроне или нервном окончании.

Пути инактивации нейропептидов. Изучены недостаточно. Известно, что:

1. Нередко ферменты, расщепляющие пептид – аминопептидазы, карбоксипептидазы, ассоциированы с пептидными рецепторами, которые могут находиться на постсинаптической мембране или располагаться внесинаптически (например, на гладкомышечной клетке, клетках крови).

2. Образующийся при взаимодействии пептида с рецептором комплекс подвергается интернализации в цитозоль клетки и транспортируется 1) либо в лизосому и там пептид расщепляется аминопептидазами и карбоксипептидазами; 2) либо воздействует на цитозольный рецептор.

3. Ферменты деградации могут быть на одном этапе общими для многих пептидов, а на некоторых этапах исключительно специфичными. Более того, иногда в деградации могут участвовать ферменты метаболизма классических медиаторов. Например, для вещества Р таким ферментом может быть холинэстераза.

4. Очень часто для многих пептидов в организме не совпадают распределения максимальных плотностей ферментных систем синтеза и расщепления, самих пептидов и их рецепторов, что указывает на то, что все эти процессы наблюдаются в разных областях.

5. Деградация пептидов происходит достаточно быстро до аминокислот. Экзогенный энкефалин расщепляется в плазме собаки и человека в течение 2 мин, меланоцитстимулирующий гормон – 1,6 мин, АКТГ – 2–5 мин, субстанция Р – 3–4 мин.

6. Многими авторами отмечается видоспецифичность скорости расщепления одного и того же пептида.

7. Замечено, что скорости расщепления пептидов *in vivo* и *in vitro* не совпадают. Некоторые пептиды (альфа-меланоцитстимулирующий гормон) не расщепляются *in vitro*.

8. Многие исследователи отмечают, что некоторые экзогенные и эндогенные пептиды (одни и те же) могут расщепляться разными ферментными системами.

Нейропептидные рецепторы. Физиологический эффект нейропептидов реализуется через мембранные и цитозольные рецепторы. Они являются высокоспецифичными. К каждому нейропептиду обнаружен свой рецептор, а иногда и два. Рецепторы нейропептидов представляют собой:

- как самостоятельные белково-липидные комплексы, где липиду отводится не менее значительная роль, чем белку;
- так и комбинированные рецепторы, иногда представляющие собою часть рецептора для классических нейротрансмиттеров;
- конформационно подвижные структуры;
- способны к кластеризации. На поверхности мембраны в так называемой рецепторной ямке они группируются по 2–12 молекул вместе в комплексе с гликокалексом и могут интернализировать в цитозоль для взаимодействия с цитозольными рецепторами;
- большинство нейропептидов в растворе представляют собой конформационно подвижные структуры и их взаимодействие с рецептором лучше всего объясняется на основе концепции «динамического фармакофора» или взаимно индуцированного соответствия лиганда и рецептора;

– в качестве механизмов сопряжения могут использоваться все известные механизмы. Нередко один рецептор сопряжен одновременно с двумя механизмами.

Взаимосвязь между нейропептидургической системой и классическими нейротрансмиттерами. В настоящее время вполне определенно установлено, что:

- нейропептиды и амины могут синтезироваться и храниться в одной нервной клетке;
- депонирование нейропептидов и классических медиаторов осуществляется либо в одних и тех же везикулах, либо в разных.

В связи с этими данными сформировалась концепция о существовании в организме млекопитающих диффузной нейроэндокринной системы, клетки которой одновременно продуцируют моноамины и неро-пептиды. Эта система в англо-американской литературе носит название «APUD» (amino precursor uptake and decarboxylation). Для этой системы характерно:

1. Во-первых, общее эмбриологическое происхождение из одного предшественника. Клетки «APUD» системы распределены по ЦНС и соматическим органам. Они продуцируют моноамины и более 40 физиологически активных пептидов, 15 из них имеют общую локализацию в мозге и гастроэнтеральном тракте.

2. Филогенетически нейропептиды являются более древними регуляторами, несмотря на сложное строение по сравнению с классическими нейромедиаторами. И в действительности, эволюционный путь формирования новой нейроактивной олигопептидной последовательности оказывается гораздо короче, чем формирование непептидного медиатора. Так, например, филогенетическое формирование норадреналина из тирозина требует возникновения сразу трех новых ферментов (ДОФА-декарбоксилазы, тирозингидроксилазы и ДА-бета-гидроксилазы) на основе изменения трех генов. Формирование пептидной последовательности типа АКТГ4-7 требует лишь небольшого числа миссинг-мутаций в ограниченном участке одного гена.

3. Общность нейропептидов и моноаминов проявляется и в устройстве активного центра рецепторов моноаминов и пептидных регуляторов. Он состоит из ароматического остатка и (+) заряда, что является возможной причиной взаимодействия пептидов с некоторыми рецепторами моноаминов.

Функциональная значимость нейропептидов. Многие из НП выполняют функции нейромедиаторов, передающих сигнал в пределах синапса. При этом НП, как правило, «сотрудничают» с непептидными медиаторами; в одном и том же нервном окончании отмечены определён-

ные комбинации непептидного нейромедиатора с одним, двумя, а иногда и тремя НП. В зависимости от частоты и длительности импульсации они выделяются совместно или раздельно. Иногда такие НП называют конейротрансмиттерами или конейромедиаторами. Следует отметить, что биохимические свойства НП определяют функциональные отличия от классических медиаторов. Наиболее очевидными являются следующие:

1. Большая продолжительность существования НП в жидких средах организма, в особенности НП среднего и большого размера с числом аминокислотных остатков, превышающим 14–20; это обуславливает длительность внутрисинаптической модуляции и возможность дистантного действия на отдалённые синаптические системы.

2. Наличие определённой, нередко высокой и специфичной активности у продуктов неполного протеолиза НП; протеолиз ряда пептидов рассматривают не как простую инактивацию, а трансформацию их активности.

3. Большое число различных НП, намного превосходящее численность обычных нейромедиаторов; это создаёт не только количественные, но и качественно новые возможности взаимосвязи разнообразных НП и нейромедиаторов в пределах одного нейрона, одной терминали.

Кроме участия в передаче сигнала в синапсе НП способны осуществлять передачу информации и на более значительные расстояния – в небольших зонах, в органе и даже в пределах целого организма. В этом случае их функции неотличимы от функции гормонов (в том числе и гистогормонов). Объектом дистантного действия НП являются пре- и постсинаптические зоны нейронов, а также другие клетки. НП могут при этом облегчать или тормозить передачу импульса и оказывать другие влияния на состояние нейрона, т.е. функционировать как нейромодуляторы. В разных отделах и подотделах мозга, в различных нейронах одни и те же НП могут выполнять или нейромедиаторные (конейромедиаторные), или дистантные нейромодуляторные функции, а иногда сочетать их.

ТЕМА 3. КЛАССИФИКАЦИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ

Современная классификация НП основана на сочетании трёх принципов: функционального, структурного и топологического (по месту синтеза) (см. табл. 2).

Кокальцигенин – CGRS (CALCITONIN GENE RELATED PEPTIDES). Биологическая активность кокальцигенина проявляется очень наглядно – введение всего лишь $\approx 10^{-14}$ моля этого НП под кожу человека вызывает довольно длительное расширение артериол, усиление кровотока и (особенно совместно с веществом P) диapedез из сосудов форменных элементов крови. Вместе с ВИП и Y-пептидом кокальцигенин участвует в регуляции тонуса сосудов мозга, коронарных сосудов и др.

Атриопептиды. До последнего времени считались факторами сугубо периферического происхождения и действия. Главный их источник – кардиомиоциты предсердия. Атриопептиды значительно усиливают диурез и особенно натрий-урез. Сейчас, однако, доказано, что атриопептиды синтезируются и в головном мозге. Пока мало изучены их функции в ЦНС.

Эндозепины. Являются негативными регуляторами рецепторов ГАМК. Если сама ГАМК служит тормозным медиатором, участвующим в разнообразных процессах, в том числе в транквилизации – снижении чувства тревоги, страха, беспокойства, то эндозепины, напротив, вызывают беспокойство, тревогу, появление страха и в опытах на грызунах проконфликтное поведение. По-видимому, подавление ГАМК-ергической трансмиссии, очень широко представленной в мозге, позволяет предполагать у эндозепинов и другие проявления биологической активности, но исследования этой группы НП начаты сравнительно недавно. Известно, что эндозепин состоит из 100 аминокислотных остатков, его активные фрагменты – малые 18- и 6-членные пептиды. Рецепторы к ним являются частью рецепторов ГАМК (ГАМК_A-рецепторов) или самостоятельные рецепторы, прочно связанные с рецептором ГАМК.

Соматостатин (ССТ). Соматостатин был впервые выделен в 1973 году из гипоталамуса крупного рогатого скота. Состоит из 14 аминокислотных остатков. Один из рилизинг-факторов гипоталамуса тормозного типа. Был впервые идентифицирован иммуноцитохимически в одиночных волокнах симпатической нервной системы вместе с НА. ССТ угнетает высвобождение НА. Позже он был выявлен в холинергических нейронах парасимпатического волокна сердца (vagus), ослаблял интенсивность выделения АХ. Такое действие ССТ на высвобождение классических медиаторов связано с его пресинаптическим модулирующим действием.

Таблица 2

Классификация нейропептидов (по: Ашмарин И.П., 1999)

№	Семейство нейропептидов	Группа нейропептидов	Подгруппа нейропептидов	Представители
	2	3	4	5
1	Гипоталамические либерины и статины	Либерины Статины		Тиролиберин, кортиколиберин, гонадотропин, соматотлиберин Соматостатин, меланостатин
2	Опиоидные пептиды	Энкефалиновые опиоиды Параванкефалиновые опиоиды	Дериваты проокинормеланокортина Дериваты продинорфина Дериваты проэнкефалина А Дерморфины Казаморфины	β - μ - и α -Эндорфин, мет-энкефалин Динорфины, лей-энкефалин, α - и β -неоэндорфин, леуморфин, риморфин Адренорфин, лей-энкефалин, «октапептид», «септапептид» Дерморфин-7 β -Казаморфин-7
3	Меланокортины	Кортикотропины Меланотропины		Адренокортикотропин и его фрагменты α -, β -, γ -Меланотропин
4	Вазопрессин-тошны	Вазопрессины Тошны		Арг-вазопрессин, Лиз-вазопрессин Окситоцин, мезотоцин, вазотоцин
5	«Панкреатические пептиды»			Нейропептид Y, пептид YY, панкреатический пептид
6	Глюкагон-секретины	Глицентины VIP-группа		Глицентин, глюкагон VIP, пептид гистидин-изолейлин, секретин
7	Пептиды, сходные с гастрином			Гастрин-14, -17, -34, холецистокинин-33, -8 и -4.
8	Таккиенины			Вещество P, нейрокинин А, Кассинин
9	Мотилин			Мотилин
10	Нейротенины			Нейротенин, нейромедия N, ксенопепсин
11	Бомбезины			Гастрин-рилизинг пептид, Бомбезин, литорин
12	Кивины			Брадикинин, каллидин
13	Автиотенины			Автиотенины I-IV

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5
14	Кальцитонины			Кальцитонин, кальцитонин-ген-родственный пептид (СGRP)
15	Эндозеины			Эндозеины
16	Галагии			Галагии
17	Эндотелины			Эндотелины I, II, III.

В симпатических путях спинного мозга – в Р-ергических волокнах, в коре больших полушарий – в ГАМК-ергических волокнах, где ССТ способствует высвобождению субстанции Р и ГАМК.

В организме человека ССТ существует в 2-х биологических формах: линейной и циклической. Предшественник – ССТ-28 => ССТ-14. В разных тканях ССТ-28 и ССТ-14 обнаружены в различных соотношениях. Предшественником ССТ-28 и ССТ-14 является просоматостатин-140 (состоит из 140 аминокислотных остатков). В ходе процессинга просоматостатина возможно 4 места расщепления и образуется 7 соматоподобных пептидов с разной молекулярной массой, но только для ССТ-28 и ССТ-14 обнаружена биологическая активность.

Локализация. 75% соматостатина локализуется в пищеварительном тракте и 25% – в мозге. Наибольшая активность ССТ – в гипоталамусе, желудке, кишечнике и поджелудочной железе, где он идентифицируется в ССТ-содержащих нейронах ЦНС и метасимпатической НС. Меньшая их плотность – в лимбической системе и коре, базальных ганглиях, гипофизе, гиппокампе, миндалинах, проекционных нейронах ствола мозга.

ССТ-содержащие нейроны присутствуют также в специализированных сенсорных системах – обонятельной (обонятельная луковица), зрительной (сетчатка), слуховой (внутреннее коленчатое тело).

Соматостатин обнаружен и в эндокринных D-клетках слизистой оболочки желудка (антральный отдел), поджелудочной железы, щитовидной железы.

Период полураспада ССТ-14 2–4 минуты, что больше по сравнению с другими пептидами.

Рецепторы и механизмы сопряжения. ССТ оказывает действие на клетку посредством соматостатиновых рецепторов (SST). Различают 5 типов (SST_{1,2,3,4,5}). Все типы рецепторов связаны с G-белками. У крыс идентифицирован ген, который контролирует синтез этого рецептора. Расшифрована молекулярная структура рецептора. Рецептор – это олигопептид из 7 трансмембранных доменов. В ЦНС плотность рецепторов распределяется в убывающем порядке следующим образом: кора, таламус, гипоталамус, стриатум, продолговатый мозг, спинной мозг (задние рога, центральное серое вещество).

Рецептор SST₁ – ассоциирован с АЦ через G_{inb}-белки, т.е. ССТ понижает уровень цАМФ в клетке. Это наиболее распространённый тип рецепторов, но максимальная его плотность обнаружена в гипоталамусе. Во многих регионах мозга возбуждение этого типа рецептора сопровождается угнетением импульсной активности нейронов. С этим типом рецептора связываются обе формы соматостатина, однако у ССТ-14 средство

немного выше. Известны антагонисты SST₁ рецептора синтетического происхождения.

SST₂ – контролирует деятельность Ca²⁺ и K⁺-каналов, ингибируя их активацию. Наибольшая плотность этого рецептора обнаружена на нейронах голубого пятна, гипофиза и на клетках слизистой желудка. Через этот тип рецепторов проявляются универсальные ингибирующие свойства SST-14. SST-14 ингибирует импульсную активность нейронов голубого пятна, синтез гормона роста, тормозит наступление парадоксальной фазы сна, выработку соляной кислоты. Имеются синтетические антагонисты.

SST₃ – делятся на подтип А и В. Подтип А ассоциирован с АЦ через G_i-белки. Подтип В ассоциирован с ФЛС через G_s белки. Встречается во многих структурах мозга, в мышечном слое желудка, где контролирует моторику желудка и кишечника, ослабляя её.

SST₄ – ассоциирован с АЦ через G_i-белки. Известны агонисты синтетического происхождения, но их аффинитет меньше в 10 раз, чем у природного соматостатина. Наибольшая плотность этих рецепторов обнаружена в сетчатке глаза, плаценте, головном мозге. Установлена их важная роль в опознании зрительного образа, в регуляции деятельности плаценты.

SST₅ – рецептор имеет 2 подтипа: первый тип ассоциирован с аденилатциклазой через G_i-белки; второй тип ассоциирован с ФЛС С через G_s-белки. SST через эти рецепторы ингибирует освобождение гормона гипофиза в кровь и инсулина из поджелудочной железы, кроме того осуществляет антипролиферативный эффект в гладких мышцах сосудов, т.е. тормозит фиброзное разрастание стенки сосуда и уменьшение его просвета в связи с этим.

Таким образом, через рецепторы 2 и 5 типа SST-14 и SST-28 ингибируют секрецию гипофизарных гормонов (АКТГ, гормона роста, пролактина, тиреотропина и гонадотропина). Через рецепторы 1 и 5 типа – ингибирует освобождение глюкагона и инсулина в кровь.

Физиологические эффекты соматостатина

SST – первый гормон, который синтезирован методами генной инженерии.

1. SST ингибирует общие секреторные пути в секреторных и эндокринных клетках, тормозя освобождение ряда гастроинтестинальных пептидов из эндокринных клеток.

2. Этот пептид проявляет общие седативные свойства, пролонгирует действие снотворных средств и, одновременно потенцирует действие

аналептика – стрихнина. Аналептики – это вещества, которые возбуждают жизненно важные центры (сосудодвигательный и дыхательный). Ускоряет наступление медленной фазы сна и блокирует наступление парадоксального сна. Подавляет возбуждение нейронов в ГТ, коре больших полушарий, коре мозжечка, стволе мозга.

3. Пептид обладает сродством к опиоидным рецепторам, выступая в роли парциального агониста, может оказывать анальгетическую (обезболивающую) активность. Но, с другой стороны, он может функционировать как антагонист системы эндорфинов.

4. В малых дозах (3–5 нмоль), введённый в 3 желудочек, подавляет поглощение воды и пищи (т.е. блокирует пищевое и питьевое поведение). Подавляет активность вентромедиального ядра ГТ, которое имеет отношение к потреблению пищи и воды.

5. ССТ принимает участие в регуляции иммунных реакций организма. Увеличивает (индуцирует) выделение гистамина из тучных клеток, который обеспечивает патофизиологические механизмы иммунных реакций.

6. Принимает участие в формировании термогенеза, подавляет термопродукцию, расширяет сосуды кожи, оказывая гипотермическое действие в холодной и термонейтральной среде. В жаркой среде нейропептид активирует теплопродукцию, вызывает периферическую вазоконстрикцию – в результате повышается температура тела. Кроме того, ССТ способен инвертировать эффект термогенеза (гипотермический) бомбезина и нейротензина (более мощных гипотермических агентов).

7. ССТ имеет отношение к организации деятельности циркадиального ритмоводителя – супрахиазматические ядра, т.к. ССТ-ергические нейроны являются главными пейсмейкерами, задающими фазу и период генетически детерминированных циркадных ритмов.

8. Оказывает влияние на моторику и всасывание в кишечнике.

Участие соматостатина в патогенезе некоторых болезней. Соматостатин участвует в развитии нейродегенеративных заболеваний. Уменьшение содержания ССТ в коре больших полушарий и гиппокампе, а также деструкция ССТ-нейронов (как деградация и др. нейронов) выявляется при болезни Альцгеймера (старческое слабоумие). Пониженное содержание ССТ во фронтальной коре и гиппокампе выявлено при болезни Паркинсона. Обнаружено повышенное содержание данного пептида в базальных ганглиях при хорее Гентингтона.

У больных шизофренией снижено содержание ССТ в гиппокампе.

Акромегалия связана с избытком соматотропина гипофиза, который контролируется ССТ. Синтетический аналог последнего под названием октреотид или сандостатин сейчас является лучшим средством для лечения этого недуга.

ССТ тормозит секрецию глюкагона у больных диабетом, в течение 2 часов на 75%, снижает в крови содержание глюкозы, задерживает всасывание углеводов после приёма пищи.

Вещество(субстанция) Р. Один из медиаторов и модуляторов сенсорных импульсов; гипотензивный и противострессорный фактор; индуктор нейрогенного воспаления. Своё название вещество Р получило от англ. слова «powder», поскольку первооткрыватели его биологической активности работали с высушенными в виде порошка экстрактами тканей.

Впервые обнаружено в 1931 г. в головном мозге и кишечнике крупного рогатого скота. Это вещество усиливало сокращение изолированной кишки кролика и вызывало временную гипотензию при внутривенном введении.

Позже пептид был выделен из нервной системы млекопитающих, птиц, пресмыкающихся, земноводных, рыб, круглоротых.

Состоит из 11 аминокислотных остатков. Предшественником вещества Р является бис-бис-гастрин. Изучены пути расщепления этого пептида. Период полураспада 3–4 минуты. В гидролизе принимают участие: п-про-дипептидиламинопептидаза, post-prolin-расщепляющий фермент, катепсин Д (кислая протеиназа + нейтральная эндопептидаза + нейтральная м-эндопептидаза).

Кроме того, в расщеплении субстанции Р могут принимать участие ферменты холинергической системы (ацетилхолинэстераза синапсов и псевдохолинэстераза крови).

После расщепления пептида холинэстеразами образуются 3 аминокислотных последовательности: **Arg – Pro – Liz – Pro – Gln – Gln – Phe – Phe – Gly – Lei – Met.**

Распределение. У млекопитающих вещество Р обнаружено в нескольких проекционных путях коры больших полушарий и внутригипоталамических связях, в стриарных и базальных волокнах, которые направляют свои проекции в средний мозг (в чёрную субстанцию).

Наличие субстанции Р в стриатуме позволяет предположить, что она играет роль в контроле двигательных функций базальными ганглиями. Р-ергические стрионигральные пути обеспечивают обратную связь между стриатумом и ДА-ергическими нейронами чёрной субстанции, которая контролирует холинергический нейрон базальных ганглиев.

Вещество Р содержится в дорзальном ядре шва и в уздечке гиппокампа, обеспечивая связь между отдельными нейронами этих образований; в продолговатом мозге, в частности, в ядре тройничного нерва; спинномозговых симпатических ганглиях, дорзальных рогах спинного мозга. Установлено, что первичные афференты, направляющиеся в спинной

мозг и образующие аксондендритные контакты в желатинозной субстанции дорзальных рогов, содержат субстанцию Р.

Кроме того, обнаружено вещество Р и в хромафинной ткани надпочечников, причем этот пептид контролирует освобождение адреналина из клеток.

В большом количестве субстанция Р содержится в экзокринных железах гастроинтестинального тракта, в частности, слюнных железах. Обнаружены его значительные количества в нервных волокнах интрамурального сплетения желудка и кишки, которые идут в непосредственной близости к кровеносным сосудам или вокруг них. Распределение нейронов, содержащих субстанцию Р, таково, что их количество увеличивается в проксимально-дистальном направлении, меньше в пищеводе и желудке и больше – в кишке. Эти нейроны модулируют холинергическую передачу в гастроинтестинальном тракте.

Установлено, что в нейронах вещество Р находится в пресинаптических везикулах, синтез осуществляется в соме, с помощью быстрого аксонального транспорта осуществляется перемещение в терминаль аксона. Механизм освобождения вещества Р из пресинаптических окончаний контролируется Ca^{2+} . В этом участвуют медленно-активирующие Ca^{2+} -каналы L-типа.

Рецепторы. Связывание рецепторами вещества Р отмечается в септуме, гиппокампе, гипоталамусе, таламусе, стриатуме, коре больших полушарий, среднем мозге, мозжечке, чёрной субстанции, симпатических ганглиях.

Рецепторы идентифицированы только фармакологически. Получены селективные агонисты и антагонисты вещества Р. Предполагают наличие 2 типов рецепторов вещества Р: NK_1 и NK_2 . Но оказывается, что субстанция Р может взаимодействовать и с рецепторами моноаминов. Чаще всего эффекты вещества Р опосредуются через моноаминовые рецепторы (может изменять сродство этих рецепторов к моноамину). Часто вещество Р обнаруживается в моноаминергических синапсах. Вещество Р находится в реципрокных отношениях с НА- и серотонинергическими системами мозга.

Спектр физиологической активности вещества Р:

1. Деполаризирующее действие на мотонейроны спинного мозга, которое оказывается в 200 раз сильнее действия глутамата, но в отличие от глутамата, вещество Р оказывает медленное деполаризирующее действие.

2. Выявлена анальгетическая активность. Хорошо известно, что субстанция Р хранится в первичных сенсорных волокнах и связана с передачей боли, поэтому её введение значительно понижает болевой порог или

вызывает гипералгезию. Однако, есть сведения о том, что низкие дозы субстанции Р обладают и анальгетическими свойствами, которые опосредованы налоксончувствительными механизмами. После введения в мозг субстанции Р наблюдали продолжительный анальгетический эффект у мышей в течение 60 мин. Кроме этого было показано, что низкие дозы вызывали гипералгезию при одновременном применении налоксона. Объясняется этот эффект тем, что субстанция Р обладала двойным действием: в низких дозах вызывала выделение эндорфинов, а в высоких дозах – прямое возбуждение нейрональной активности.

3. Обладает противотревожными, антиагрессивными и противофобическими (снижает проявление страха) свойствами.

4. Улучшает процессы краткосрочной памяти.

5. Имеет отношение к термогенезу: увеличивает теплопродукцию и теплоотдачу. Повышенное содержание субстанции Р приводит к рассеиванию тепла.

6. Уменьшает частоту сердечных сокращений, за счёт угнетения высвобождения НА из симпатических нервов и стимулирующего влияния на вагусные преганглионарные нейроны, стимулируя высвобождение АХ.

7. Спазмогенный эффект на гладкомышечные органы: ЖКТ, бронхи, мочеполовая система, но спазмолитический эффект в отношении мелких кровеносных сосудов, что понижает АД и улучшает кровоток в органах.

8. В физиологических концентрациях нормализует цикл сон-бодрствование, структуру сна.

9. Стимулирует освобождение вазопрессина, окситоцина, пролактина.

10. При взаимодействии с соматостатином вещество Р оказывает модулирующее влияние.

11. Является возбуждающим нейромодулятором в энтеральных ганглиях желудка, что способствует повышению секреции желудочного сока, увеличивает слюноотделение, секрецию поджелудочной железы и печени.

12. Субстанция Р обладает ярко выраженным поведенческим эффектом. На первый план выступает её свойство депрессанта. Субстанция Р тормозит исследовательское поведение, отчётливо снижает спонтанную моторную активность, усиливается груминг как показатель внутреннего торможения.

13. Циркулирующая субстанция Р может быть гормональным регулятором почек. Инфузия собакам субстанции Р вызывала диуретический эффект, сопровождавшийся повышением экскреции калликрена.

Участие субстанции Р в патогенезе некоторых болезней. Установлено, что субстанция Р является индуктором нейрогенного воспаления, связанного с гипервозбуждённой нервной системой. Субстанция Р, с од-

ной стороны, стимулирует секрецию гистамина тучными клетками, а с другой стороны, улучшает кровоток в синовиальной ткани.

Очевидно, нарушение Р-ергических процессов в центральной нервной системе может играть роль в развитии дегенеративных процессов, в частности синильной (старческой) деменции Альцгеймера, болезни Паркинсона. В последнем случае обнаружено резкое понижение содержания вещества Р в чёрной субстанции.

Видимо не только дегенеративные процессы нервной системы могут запускаться нарушениями в Р-ергической системе. Оказывается, что эмоциональная нестабильность, тревожный синдром и продуктивная симптоматика при шизофрении также сопровождаются недостаточностью в системе Р-ергического контроля. Так, установлено, что при шизофрении снижено содержание субстанции Р в миндалине, структуре, осуществляющей иерархию мотивов.

ТЕМА 4. БОМБЕЗИН. ХОЛЕЦИСТОКИНИН

БОМБЕЗИН. Тетрадекапептид бомбезин впервые выделен группой итальянских учёных в 1971 г. из кожи европейской лягушки (*Bombina orientalis*). Позже этот пептид выделен из ЖКТ птиц, млекопитающих, нервной системы человека и животных.

Состоит из 14 аминокислотных остатков, молекулярная масса составляет 1620 кДа.

Tyr – Gln – Arg – Leu – Gly – Asp – Gln – Trp – Ala – Val – Gly – His – Leu – Met – NH₂

c-конец бомбезиноподобных пептидов обуславливает их физиологические свойства.

Локализация. Источником бомбезина является нейроэктодерма. Высокое содержание бомбезина и его рецепторов обнаружено в лимбической системе – гиппокампе, гипоталамусе (паравентрикулярное ядро + преоптическая зона + передний гипоталамус), миндалинах, перегородке, в продолговатом, среднем и заднем мозге. Причем наибольшее количество рецепторов обнаружено в синаптосомальной фракции серого вещества периакведуктарного пространства. Центральное серое вещество даёт начало одной из антиноцицептивных систем мозга, поэтому предполагают, что бомбезин имеет отношение к организации антиноцицептивной системы организма. Высвобождение бомбезина из синаптосом осуществляется при деполяризации мембраны, т.е. потенциалозависимое высвобождение. Бомбезин тесно взаимодействует как с моноаминергическими процессами, так и с другими пептидергическими системами мозга. Распределение бомбезина в мозге совпадает с распределением вещества P, возникает предположение об едином происхождении, т.е. эти пептиды могут являться частями 1 крупной молекулы-предшественника.

В ЖКТ локализуется в эндокринных клетках и межмышечном и подслизистом сплетениях.

Кроме того, у человека – в бронхиальном и бронхиальном эпителии лёгких плода и новорожденного, у крыс – в сыворотке крови, у амфибий – помимо головного мозга и ЖКТ – в коже.

Физиологические эффекты бомбезина:

1. При введении бомбезина в желудочки мозга повышается содержание метаболитов ДА в стриатуме, обонятельных луковицах, гипоталамусе, что свидетельствует об активации ДА-ергической системы мозга либо через увеличение освобождения, либо через повышение чувствительности моноаминергических рецепторов к своим агонистам.

2. Бомбезин подавляет пищевое поведение вследствие ощущения животными насыщения, а также увеличения желудочного давления и моторной активности, что вызывает появление болевых ощущений и прекращение потребления пищи. Определённую роль в подавлении пищевого поведения может играть увеличение выброса в кровь гастрина и холецистокинина под действием бомбезина, которые в свою очередь повышают чувство сытости.

3. Внутрижелудочковое введение бомбезина изменяет локомоторную активность, приводит к разнообразным изменениям в поведенческих реакциях организма. К ним относятся появление выраженного груминга, увеличение спонтанной моторной активности и исследовательского поведения, нарушения потребления пищи и воды.

4. Бомбезин является мощным гипотермическим фактором. Бомбезинергические нейроны мозга отвечают за наиболее эффективную реакцию, к которой прибегает организм для быстрого снижения температуры тела (т.е. перераспределение кровотока из ядра тела на периферию). Бомбезин не влияет на сократительный термогенез, но ограничивает прирост несократительного термогенеза. Терморегуляционное действие бомбезина осуществляется через снижение секреции тиролиберина. Неспецифическими антагонистами гипотермического эффекта бомбезина являются тиролиберин, соматостатин, налоксон, ПГЕ₂. Введение этих БАВ до введения бомбезина блокирует его эффект, а введение после – прекращает падение температуры тела.

5. Бомбезин вызывает анальгезию, т.е. обладает антиноцицептивным действием.

6. В эксперименте продемонстрировано стимулирующее его действие на выброс гипофизом гормона роста, пролактина, фолликулостимулирующего гормона при одновременно подавляющем эффекте на выброс тиролиберина.

7. Вызывает сокращение гладкомышечных элементов различных органов: желчного пузыря, матки, сосудов, в частности приносящего сосуда почки, что вызывает снижение диуреза.

8. Стимулирует ренин-ангиотензиновую систему. Введение пептида непосредственно в почечную артерию вызывало увеличение секреции ренина только данной почкой, что свидетельствует о его прямом влиянии на юкстагломерулярный аппарат. Введение высоких доз бомбезина способствует увеличению выработки почкой эритропоэтина.

9. Изменяя регуляцию сосудистого тонуса, бомбезин способствует увеличению систолического артериального давления и нарушает процесс сохранения тепла в организме, при этом он повышает частоту сердечных сокращений.

10. Возбуждает активность гладкой мускулатуры желудка, но замедляет его опорожнение, что связано со специфическим связыванием бомбезина с рецепторами в гладкой мускулатуре пилорического отдела желудка. В результате этого повышается мышечный тонус привратника и происходит задержка пищи в желудке. Импульсация от механорецепторов стенки заполненного пищей желудка по чувствительным нервам *vagus* передается в ЦНС, в результате чего подавляется пищевое поведение.

11. Стимулирует выброс гастрина и холецистокинина. При этом в зависимости от способа введения усиливает или подавляет выработку соляной кислоты. Способствует секреции желудочной слизи и бикарбонатов, снижает концентрацию пепсина в желудочном соке.

12. Повышает концентрацию глюкагона, глюкозы, способствует расщеплению гликогена. Кроме того, бомбезин является индуктором внешнесекреторной активности поджелудочной железы – влияет на секрецию амилазы, бикарбонатов, панкреатического пептида.

13. Энтеральные бомбезинергические нейроны модулируют действие экзокринных клеток слизистой кишечника и желудка к стимулирующим факторам. Например, пептид усиливают транспорт анионов сквозь слизистую оболочку кишечника. Оказывает влияние на выброс клетками ЖКТ ССТ, ВИП, мотилина, нейротензина.

14. Бомбезин является регулятором гипоталамо-гипофизно-адреналовой оси, инъекции пептида в желудочки мозга увеличивает в крови содержание АКТГ, кортикостерона, адреналина. Эффекты бомбезина сопряжены с активностью кортиколиберина.

ХОЛЕЦИСТОКИНИН (CCh). CCh выделен из мукозы кишечника параллельно с гастрином в 1970 г. В 1975 г. выделен из ЦНС.

Пептид состоит из 33 аминокислотных остатков. Относится к группе гастрина по номенклатуре. Имеются доказательства об общности эволюционного происхождения холецистокинина и гастрина.

Предшественником является препрохолецистокинин, состоящий из 115 аминокислотных остатков, и включающий CCh-58, -9, -33, -22, -8, -7, -5, -4 – все они имеют биологическую активность. Лучше всего изучены CCh-33, -8, -4.

В организме существуют сульфатированный и несulfатированный холецистокинин, они имеют разную биологическую активность и связываются с разными рецепторами.

В метаболизме участвует целый ряд CCh-превращающих ферментов. Они расщепляют молекулу препрохолецистокинина до мелких С-концевых фрагментов, состоящих из 12 и 8 аминокислотных остатков.

Фермент эндопептидаза, активность которой зависит от двухвалентных катионов, расщепляет связь между триптофаном в 30 положении и метионином в 31 положении в молекуле препроССh и самого ССh.

Локализация. Пептид обнаружен иммуногистохимически:

1. В наибольших концентрациях во фронтальной коре, причём приблизительно 90% ССh в мозге человека и животных идентифицировано как ССh-8. Тела нейронов, содержащих ССh, находятся преимущественно в области вентрального тегментума (покрышка). Их аксоны в составе медиального переднемозгового пучка достигают центрального ядра миндалины, обонятельной луковицы, каудальной области прилежащего ядра, которое тесно соприкасается с ДА-ергическими нейронами.

3. В коре больших полушарий (III и IV слои) ССh выявлен в телах не пирамидных биполярных клеток, которые многочисленны на ранних этапах постнатального онтогенеза, в зрелом возрасте их количество уменьшается.

4. Гиппокамп: во вставочных нейронах пирамидного и гранулярного слоя, где ССh сосуществует вместе с ГАМК и глутаматом.

5. Нейроны, содержащие ССh, обнаружены в ГТ и нейроаденогипофизе.

6. ССh обнаружен в периферических нервах, входящих в ауэрбахово и мейснерово сплетения, а также в мышечном слое слизистой толстой кишки.

7. В центральной и в автономной нервной системе ССh находится как в телах, так и в отростках, терминалях аксонов. Зарегистрировано Ca^{2+} -зависимое высвобождение ССh при деполяризации пресинаптических нервных окончаний.

8. ССh выявлен в эндокринных клетках ЖКТ (верхние отделы тонкой кишки), из которых ССh выделяется в результате воздействия на клетки продуктов переваривания жира и белка (в основном триптофан и фенилаланин).

9. ССh обнаружен в мышечной стенке мочевого пузыря.

Рецепторы холецистокинина. Выделяют 2 типа ССh рецепторов как в ЦНС, так и на периферии: ССh₁ и ССh₂. Они могут локализоваться как на пре-, так и на постсинаптической мембране. Эндогенными агонистами являются ССh и гастрин. Оба рецептора состоят из 7 трансмембранных доменов и сопряжены с G-белками.

Высокая плотность ССh₁ определяется в ЖКТ (поджелудочная железа, пилорический сфинктер), в структурах головного мозга (ядро солидарного тракта в среднем мозге, интерпедункулярное ядро таламуса, дорзальное ядро шва, nucleus accumbens, вентральный тегментум). Наибольшее сродство к этому типу рецепторов имеет сульфатированный ССh-8 и церуленин. Механизм сопряжения: через G-стимулирующие белки, рецептор ассоциирован с фосфолипазой С.

Возбуждение этих рецепторов, находящихся на ацинарных клетках поджелудочной железы сопряжено с ростом концентрации ИФ₃ и ДАГ. Это приводит к активации Са-зависимых протеинкиназ, которые стимулируют синтез и освобождение трипсина.

В некоторых клетках ЦНС этот тип рецепторов ассоциирован с аденилатциклазным механизмом сопряжения и активацией фосфолипазы А₂, запускающей каскад распада арахидоновой кислоты, с образованием продуктов её распада ПГ, лейкотриенов и тромбоксанов. Полагают, что существуют подтипы СС₁. Через этот тип рецепторов реализуются следующие эффекты СС: синтез и освобождение секрета поджелудочной железы; стимуляция моторики желчного пузыря и кишечника; модификация ДА-контролируемого поведения и ноцицепция (участвует в проведении болевых ощущений).

Наибольшая плотность СС₂ рецепторов обнаружена в: стриатуме, коре, лимбике, ядре вагуса, слизистой желудка и гладкой мускулатуре. В лимбике этот тип рецепторов локализуется рядом с ДА-ергическими нейронами, что указывает на модулирующую роль СС в отношении ДА-ергического синапса.

Наибольшее сродство к этому типу рецепторов имеет гастрин, обеспечивающий регуляцию деятельности ЖКТ. Большое сродство к СС₂ рецепторам имеют также СС₄ и несультатированный СС₈.

СС₂-рецепторы, локализованные на париетальных клетках слизистой желудка сопряжены с фосфолипазой С. Через этот тип рецепторов реализуется усиление СС-нейронной активности во многих структурах мозга, ноцицепция, тревога, внимание, память, дыхание, освобождение ДА и серотонина из пресинапса, модуляция серотонин- и ДА-зависимого эмоционально-мотивационного поведения.

Оба типа рецепторов клонированы для крыс, лягушки и человека. Они имеют большое сродство у этих видов. Установлено, что СС₂ полностью идентичны гастриновым рецепторам желудка. На генной карте человека определён участок ДНК, кодирующий центральный СС₂ и гастриновый рецепторы желудка, этот участок ДНК идентичен. Таким образом, сегодня следует признать существование только СС₂-рецепторов и отсутствие самостоятельных гастриновых рецепторов.

Физиологическая роль холецистокинина:

1. СС является мощным ингибитором пищедобывательного поведения. Во-первых, показано, что пептид контролирует ДА и серотонинзависимую форму эмоционально-мотивационного, в том числе и пищевого поведения, модулируя оборот медиаторов через пресинаптический механизм. Во-вторых, он угнетает центр голода.

2. ССh повышает высвобождение гормона роста, но подавляет высвобождение ССТ.

3. Принимает активное участие в ноцицепции.

4. Участвует во всех видах деятельности ЖКТ, модулируя секреторную и моторную функции в зависимости от исходного уровня. Обеспечивает большую часть секреции панкреатических ферментов, возникающей в ответ на приём пищи, сокращение желчного пузыря при одновременном расслаблении сфинктера Одди. При этом пептид тормозит секрецию соляной кислоты, замедляет эвакуацию из желудка, тормозит расслабление нижнего пищеводного сфинктера, дна желудка, вызывает стимуляцию сократительной активности тонкой и толстой кишки, ускоряя транзит по кишке. Эффекты ССh на гладкие мышцы ЖКТ в зависимости от отдела могут быть прямыми, опосредованными нейронами энтеральной нервной системы, или смешанным. При этом опосредованный нервной системой моторный эффект может быть либо стимулирующим, либо тормозным.

5. ССh-8 является умеренным нейролептиком, поскольку ослабляет проявления бреда и галлюцинаций при психозах.

Участие в патогенезе некоторых болезней:

1. ССh-4 – является индуктором состояния страха и тревожности, паники, что связано с активацией DA-ергической системы через ССh-рецепторы второго типа. В настоящее время синтезированы антагонисты ССh-4, с помощью которых удаётся снизить уровень тревожности и панических реакций как в опытах на животных, так и в первых клинических исследованиях.

2. При шизофрении снижается содержание ССh-8 в височной коре, гиппокампе, миндалине, а также отмечается снижение аффинного связывания ССh-8. Известно, что ССh-8 подавляет DA-ергическую передачу, поэтому предпринимаются попытки использовать ССh-8 для купирования шизофренического синдрома, в комплексе с обычными нейролептиками.

3. У больных Хореей Гентингтона на 50% отмечается понижение содержания ССh в чёрной субстанции.

ТЕМА 5. ВАЗОАКТИВНЫЙ ИНТЕСТИНАЛЬНЫЙ ПЕПТИД (VIP). ЭНДОТЕЛИНЫ

ВАЗОАКТИВНЫЙ ИНТЕСТИНАЛЬНЫЙ ПЕПТИД. Пептид был открыт шведскими исследователями Said и Muttа в 1970 г. Они выделили его из слизистой оболочки желудка свиней. Пептид вызывал вазодилатацию бедренной артерии у собак. Впоследствии были показаны его свойства нейротрансмиттера и нейроэндокринного гормона. Своё название пептид получил благодаря мощной продолжительной вазодилатации, которую он вызывал при системном введении. В 1974 г. определён его аминокислотный состав и последовательность аминокислотных остатков. ВИП состоит из 28 аминокислотных остатков. Структура пептида оказалась близкой к глюкагону и секретину, поэтому он и относится к данному семейству. Гомологом ВИП является нейропептид РНІ (peptid-histidine-isoleicin), который образуется из того же предшественника и имеет ряд общих с ВИП биологических свойств. Долгое время пептид считался исключительно кишечным гормоном. Но в 1976 г. было обнаружено его наличие и выявлены пути метаболизма в ткани мозга собаки, что натолкнуло исследователей на мысль о важной роли ВИП в регуляции функций ЦНС.

ВИП образуется из предшественника пре-про-ВИП, который кроме ВИП последовательности содержит дополнительные последовательности нескольких биологически активных пептидов: гистидин-изолейцин, гистидин-метионин, гистидин-валин.

Локализация. С помощью иммуногистохимических методов установлено, что распределение ВИП в ЦНС очень широкое, но неоднородное: наиболее высокое содержание ВИП обнаружено в коре больших полушарий, гиппокампе, миндалевидном комплексе, полосатом ядре, гипоталамусе. В ЦНС выявлено три ВИП-ергических проводящих пути:

а) длинный двусторонний путь, соединяющий миндалину, супрахиазматическое ядро и различные гипоталамические ядра;

б) восходящий путь от центрального серого вещества переднего мозга к гипоталамусу и миндалине;

в) путь, идущий от дорзальной части супрахиазматического ядра к перивентрикулярным ядрам гипоталамуса.

В периферической нервной системе ВИП найден в вегетативных интрамуральных нейронах, иннервирующих гладкие мышцы ЖКТ, в нервах гладких мышц дыхательных путей и кровеносных сосудов, нервах экзокринных желёз. Например, в поджелудочной железе проходят ВИП-содержащие

нервные волокна. Внутривисцеральные ганглии содержат ВИП, отростки их клеток иннервируют сосуды, эндокринные и экзокринные клетки.

Эндокринные D-клетки, содержащие ВИП, распространены в слизистой оболочке желудка и кишечника (увеличение содержания пептида в дистальном направлении: в толстом кишечнике в 1000 раз больше, чем в желудке), в бронхах, лёгких, поджелудочной железе, в мочеполовой системе.

ВИП присутствует в клетках сетчатки, причём его содержание меняется в зависимости от освещённости;

ВИП может сосуществовать и с другими медиаторными веществами:

а) с АХ – кора больших полушарий, сетчатка, энтеральные нейроны, парасимпатические нервы кровеносных сосудов слюнных желёз, где ВИП и АХ участвуют в координации функций слюнных желёз, усиливая местный кровоток;

б) с ГАМК – кора больших полушарий, гиппокамп;

в) с субстанцией Р и лей-энкефалином – первичные сенсорные нейроны.

Физиологические эффекты ВИП. ВИП участвует во многих физиологических процессах и, прежде всего, деятельности ЦНС.

1. Является нейромедиатором в холинергических постганглионарных нейронах вегетативной нервной системы, обеспечивая расслабление гладких мышц кровеносных сосудов, дыхательных путей, кишечника, сфинктеров.

2. Является нейромодулятором в холинергических нервах вегетативной нервной системы, взаимодействуя с мускариновыми рецепторами. Было показано, что ВИП потенцирует активирующее влияние ацетилхолина на оборот фосфоинозитидов в нервной ткани. Ацетилхолин ингибирует высвобождение ВИП, причём атропин снимает эффект ингибирования.

3. ВИП стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы, вызывая выделение бикарбонатов и воды, активирует моторику и секрецию во многих отделах пищеварительной системы. В тоже время ВИП тормозит секрецию соляной кислоты и пепсина желудком, стимулированную гастрином и гистамином, снижает уровень гастрина после принятия пищи.

4. ВИП является стимулятором выхода многих регуляторных пептидов.

5. Кроме того, ВИП стимулирует секрецию пролактина из гипофиза и катехоламинов из мозгового вещества надпочечников.

6. Является стимулятором функций органов репродукции, участвует в формировании полового поведения.

7. Имеет отношение к регуляции циркадианных ритмов.

8. Регулирует метаболизм гликогена в коре больших полушарий головного мозга.

9. Способствует продолжительному существованию нервных клеток.
10. В иммунной системе пептид ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов через подавление продукции интерлейкина-2.
11. Стимулирует секрецию электролитов.
12. Предупреждает разрушительные последствия окислительного повреждения;
13. Стимулирует липолиз, гликогенолиз и увеличивает выделение инсулина.

Рецепторы ВИП. По международной классификации рецепторов (IUPHAR, 1998) рецепторы ВИП делят на 2 типа: VPAC₁ и VPAC₂.

VPAC₁ – впервые выделены из лёгкого крысы, состоят из 7 трансмембранных доменов, 457 аминокислотных остатков. По плотности распределения этого типа рецептора органы и ткани располагаются следующим образом у крыс: печень > лёгкое > кора больших полушарий головного мозга > гиппокамп > тонкий кишечник > тимус; у человека: лёгкое > простата > лейкоциты, печень, кора больших полушарий головного мозга, гипоталамус, тонкий кишечник, сердце, селезёнка > плацента, почки, тимус, яичко.

VPAC₁ могут быть ассоциированы через G-стимулирующие белки с аденилатциклазой или фосфолипазой С. Получены селективные агонисты и антагонисты для этих рецепторов.

VPAC₂ – впервые выделены из обонятельной луковицы у крысы. Состоят из 7 трансмембранных доменов, 438 аминокислотных остатков. В ЦНС наибольшая плотность распределения VPAC₂ рецепторов определяется в таламусе, СХЯ, гиппокампе, стволе, спинном мозге и ганглиях дорзальных корешков. В висцеральных органах наибольшая плотность обнаружена в поджелудочной железе, желудке, сердце, скелетных мышцах, почках, яичке, жировой ткани. Что касается механизмов сопряжения, то VPAC₂-рецепторы через G-стимулирующие белки могут быть ассоциированы с аденилатциклазой или фосфолипазой С. Для этого типа рецепторов синтетически получены селективные агонисты и антагонисты. Основными эффектами возбуждения этого типа рецепторов является расслабление сосудов гладкой мускулатуры, желудка и дыхательных путей.

ЭНДОТЕЛИНЫ. Были открыты в 1988 г. группой японских учёных как эндотелиевый пептидный фактор с мощным вазоконстрикторным действием. Активность эндотелинов связана в первую очередь с эндотелием и гладкой мускулатурой сосудов, а также затрагивает функции практически всех органов, включая лёгкие, ЦНС, репродуктивную систему и надпочечники.

Молекула эндотелина представляет собой крупный бициклический полипептид, составленный комбинацией 21 аминокислоты. Помимо эн-

дотелина-1 (ЕТ-1), известны две его изоформы – эндотелины 2- и 3-, отличающиеся друг от друга некоторыми вариациями аминокислотной последовательности в кольцевой структуре, тогда как состав С-конца молекулы постоянен. Активность эндотелинов во всех тканях-мишенях определяет их кольцевая структура и гидрофобные аминокислоты в С-терминале.

Биосинтез указанных эндотелинов происходит при гидролизе генетически различных «изопрещественников».

ЕТ-1 образуется в результате ограниченного протеолиза эндотелин-превращающим ферментом (ECE) «большого эндотелина» (В=ЕТ), молекула которого включает 38 аминокислотных остатков и который был выделен в 1990 г. из эндотелиальных клеток аорты и сонной артерии быка. ECE расщепляет связь между Trp(21) и Val(22) с образованием конечного продукта. На сегодняшний день ECE остаётся единственной пептидазой, участвующей в синтезе «зрелого» эндотелина. ECE относится к группе мембранносвязанных металлопротеиназ. Фермент содержит короткий N-концевой цитозольный домен из 56 аминокислотных остатков, трансмембранный домен и большой экстрацеллюлярный домен с активным центром. Субъединицы фермента связаны дисульфидными мостиками. Локализация ECE выявлена в большинстве тканей млекопитающих: эндотелии сосудов, лёгких, сердце, почках, мозге, плаценте, поджелудочной железе и надпочечниках. Существует несколько изоформ, различающихся структурно и функционально. Для них характерны различия в субстратной специфичности, рН-оптимуме, тканевой и субклеточной локализации.

Биологический синтез эндотелина-1 происходит в 3 этапа:

1. протеолитический гидролиз макромолекулы препрезндотелина-1 (112 аминокислотных остатков) и образование презндотелина-1 (40 аминокислотных остатков). В этом процессе участвует фурин-подобная конвертаза.

2. С-концевой гидролиз презндотелина-1 до «большого эндотелина», состоящего из 38 аминокислотных остатков.

3. Превращение большого эндотелина в эндотелин-1 с участием эндотелин-превращающего фермента.

Образование ЕТ-1 происходит в эндотелиальных клетках, как на поверхности, так и внутри клеточной мембраны эндотелия, а также на поверхности подлежащих гладкомышечных клеток. ЕТ-1 действует паракринным способом на рецепторы гладких мышц сосудов, вызывая их сокращение и рост, и аутокринно-/паракринным способом на эндотелиальные клетки, вызывая рилизинг вазорелаксантов и рост-стимулирующих факторов – NO и простациклина.

Рецепторы и механизмы сопряжения. Идентифицировано несколько подтипов рецепторов, специфически связывающих эндотелины – ЕТА и ЕТВ типы.

ЕТА-рецепторы клонированы, состоят из 7 трансмембранных доменов, 427 аминокислотных остатков. Синтезированы селективные антагонисты, но агонистов нет. ЕТА-рецепторы локализуются в гладкой мускулатуре сосудистых клеток и в кардиомиоцитах, лёгких, мозге. Взаимодействие эндотелина-1 с ЕТА-рецепторами вызывает активацию эффекторных систем, включая фосфолипазы С, D, А₂, аденилат- и гуанилатциклазы и свои эффекты реализует ЕТ1 и ЕТ2: вазоконстрикция, положительный инотропный эффект, ишемические патологические механизмы мозга.

ЕТВ-рецепторы клонированы, состоят из 7 трансмембранных доменов, 442 аминокислотных остатков. Этот тип рецепторов не имеет предпочтительности по отношению к изоформам ЕТ. Есть селективные агонисты и антагонисты. ЕТВ-рецепторы локализуются в эндотелиальных клетках сосудов мозга, сердца, лёгких, кишечника, сетчатке глаза, стриатуме. Взаимодействие ЕТ-3 с ЕТВ-рецепторами активирует фосфатидилинозитол-специфичную фосфолипазу С с последующей аккумуляцией цГМФ при участии NO, приводящая к вазодилаторному эффекту пептида.

В настоящее время установлено наличие двух подтипов ЕТВ-рецепторов, имеющих различную локализацию в сосудистой системе: ЕТВ₁ подтип обнаруживается в эндотелиальных клетках сосудов и участвуют в эндотелий-зависимой вазодилатации; присутствующие в гладкой мускулатуре ЕТВ₂ рецепторы опосредуют вазоконстрикторный эффект.

Физиологическая роль эндотелинов. Физиологическая значимость эндотелинов весьма разнообразна.

1. Эндотелины играют ведущую роль в регуляции функционального состояния эндотелия, в первую очередь, интимального слоя артерий и вен различных сосудистых регионов.

2. Участвуют в поддержании тонуса кровеносных сосудов, а также сосудов бронхиального дерева, эндотелины выполняют роль непосредственных вазоконстрикторных факторов.

3. Установлена нейрогенная активность эндотелинов. ЕТ могут играть определённую роль в центральных механизмах, связанных не только с кардиоваскулярным контролем, но и с поведенческими реакциями. Показано, в частности, что ЕТ-1 и ЕТВ рецепторы локализованы в структурах стриатума, где весьма значительно представлена допаминергическая иннервация. Активация эндотелиновых рецепторов при повреждении структур мозга или прямое введение пептида приводит к релинзingu допамина.

4. Эндотелины принимают участие в релизинге других биологически активных соединений в эндотелии и эндокринных железах. ET-1 вызывает секрецию КА из хромоаффинных клеток надпочечников. Предполагают, что «семейство» эндотелинов играет важную роль в дифференцированном высвобождении адреналина из надпочечников в условиях стресса.

5. Вводимый центрально ET-1, вызывает бифазное изменение артериального давления. Этот эффект опосредован симпатической нервной системой и релизингом вазопрессина.

6. Эндотелины снижают экспрессию провоспалительных агентов – цитокинов.

Нарушение «нормального» сбалансированного метаболизма системы эндотелинов может стать существенным фактором развития патологических процессов.

Патологическая роль эндотелинов. Эндотелин-1 оказывается причастным к развитию следующих заболеваний:

- 1) ишемическая болезнь сердца;
- 2) острый инфаркт миокарда;
- 3) нарушение сердечного ритма;
- 4) лёгочная и системная гипертензия при бронхиальной астме;
- 5) атеросклеротические повреждения сосудов;
- 6) специфические сосудистые изменения;
- 7) почечная патология;
- 8) ишемические повреждения мозга (церебро-вазальная патология).

ТЕМА 6. ОПИОДНЫЕ ПЕПТИДЫ

Открыты в 1975 г. – энкефалины выделены из мозга свиньи, а эндорфины из головного мозга крупного рогатого скота. Уникальной физиологической функцией опиоидов является контроль антиноцицептивной системы организма. Кроме того, представители этого семейства действуют подобно природным анальгетикам (морфину и опиум).

Энкефалины – это пентапептиды, состоят из 5 аминокислотных остатков:

Лей-энкефалин (ЛЭ): -Tyr-Gly-Gly-Phe-Lei-;

Мет-энкефалин (МЭ): -Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-.

Предшественником ЛЭ является проэнкефалин А и продинорфин, предшественником МЭ – проопиомеланокортин. Также предшественниками энкефалинов могут быть цитохром В и гемоглобин. Гидролиз осуществляется 3 типами пептидаз, которые имеют жесткую привязанность к определённым тканям:

- аминопептидаза;
- дипептидиламинопептидаза;
- энкефалиндипептидилкарбокисептидаза.

Кроме того, в гидролизе участвует киназа-2. В расщеплении эндогенных и экзогенных пептидов участвуют разные ферментные системы. Наиболее высокая энкефалиназа отмечается в изолированных микрососудах мозга, которые имеют низкую связывающую способность энкефалина.

Эндорфины имеют более длинную структуру от 16 до 31 аминокислотных остатков: α -эндорфин – 16 а/к остатков, β -эндорфин – 31 а/к остатков, γ -эндорфин – 17 а/к остатков. Предшественником эндорфинов является проопиомеланокортин, из которого они выселяются специфическими и неспецифическими протеазами. Расщепляются эндогенные и экзогенные эндорфины разными ферментными системами.

Локализация опиоидных пептидов в ЦНС. Иммуногистохимические методы исследования выявили преимущественную локализацию эндогенных опиоидов в телах нейронов и нервных терминалях ЦНС, прежде всего на путях восприятия и проведения боли: в задних рогах спинного мозга, в сером веществе околоспинального пространства, медиальных ядрах таламуса, гипоталамусе, некоторых отделах лимбической системы (миндалина, перегородка). Вместе с тем доказана и различная локализация нейронов, содержащих эндорфины и энкефалины.

Короткоаксональная энкефалинергическая опиоидная система представлена в стволе и спинном мозге, а длинноаксональная β -эндорфи-

нергическая система локализуется в гипоталамусе и среднем мозге. Высокое содержание β -эндорфина содержится в гипофизе (передний и промежуточный), высокая плотность терминалей выявлена вокруг желудочков мозга (особенно III и IV), а также моноаминергических нейронах голубого пятна. Энкефалины обнаружены в значительных количествах в бледном шаре, хвостатом ядре, медиальном гипоталамусе.

Внемозговая локализация опиоидов. ОП обнаружены не только в ЦНС, но и во многих других органах и тканях.

1. Надпочечники – место активного синтеза, основной поставщик циркулирующих в периферической крови опиоидных пептидов. Синтез опиоидов происходит в хромоаффинных клетках мозгового вещества надпочечников.

2. Энкефалинергические нейроны локализуются в межмышечном Ауэрбаховом сплетении в кишечнике, нервных окончаниях плаценты, надпочечников и мочевого тракта.

3. Энкефалины обнаружены в секреторной ткани поджелудочной железы, в клетках сердца, ЖКТ, лёгких почек, тимуса, селезёнки, гепатоцитах.

4. Система крови: эндорфиноподобные молекулы синтезируются лейкоцитами человека, макрофагами селезёнки мышей.

Таким образом, эндогенные опиоидные пептиды могут проявлять свою биологическую активность в различных органах и тканях – местах их синтеза или доставки с кровью.

Процесс нейросекреции опиоидов связан с мембранной деполяризацией и поступлением свободного Ca^{2+} в цитоплазму нейрона. Последующая активация АЦ приводит к увеличению количества опиоидных пептидов в клетке.

Реализация специфических свойств опиоидов происходит при взаимодействии с опиоидными рецепторами (ОР).

Рецепторы ОП. До недавнего времени выделяли 5 типов опиоидных рецепторов – μ -, ξ -, σ -, δ -, и κ -. С 1998 г. классификация ОР изменилась, согласно которой выделяют 3 типа рецепторов: δ - как OR_1 , κ - как OR_2 , μ - как OR_3 . ξ - и σ - упразднены, к ним не выявлено специфических агонистов. Считают, что это неспецифические места связывания опиоидов. Опиоидные рецепторы локализуются на постсинаптической мембране в пептидергических синапсах и на пресинаптической мембране непептидергических синапсов. Большинство моноаминергических синапсов контролируется пептидергическими рецепторами ОП. В основном опиоиды тормозят выделение классических медиаторов.

ОР имеют универсальное строение, все 3 типа рецепторов представляют собой трансмембранный белок из 7 доменов.

Агонисты: энкефалины, эндорфины. Антагонисты: налтрексон и налоксон. Налтрексон – имеет родство ко всем типам ОР, используется в медицинской практике при отравлении морфином, а также для купирования «-» действия опиатов на дыхательный центр. Налоксон – имеет родство ко всем ОР, при чём родство зависит от дозы, используется для лечения алкоголизма.

OR₁ (δ -)рецепторы. Наибольшая плотность распределения в обонятельной луковице, неокортексе, полосатом теле, nucleus accumbens; меньшая плотность – таламус и гипоталамус. На периферии наибольшая плотность – гладкие мышцы кишечника. Рецепторы ассоциированы с АЦ через Gi-белки. Агонисты – лей-энкефалин (эндогенный) и дельторфин (экзогенный), антагонист – налтриндол (экзогенный).

Через этот тип рецепторов опиоидные пептиды осуществляют антиноцицептивный контроль, центральную регуляцию сердечно-сосудистой системы, центральную и нецентральную регуляцию моторной активности ЖКТ, центральную регуляцию иммунного ответа, когнитивные функции (обучение, память). OR₁ вовлекаются в эйфорогенное действие опиатов и имеют отношение к развитию наркомании, лекарственной зависимости. Имеются 2 подтипа, которые идентифицированы фармакологически, но в классификацию рецепторов не включены.

OR₂ (κ -)рецепторы. Наибольшая плотность распределения – миндалина, гипоталамус, полосатое тело, nucleus accumbens. Рецепторы ассоциированы с АЦ через Gi-белки, но они другого типа, чем у OR₁. Возбуждение этого типа рецепторов сопровождается ингибированием кальциевых каналов (\downarrow АЦ \rightarrow запускается процесс ингибирования Ca²⁺-канала). Эндогенный лиганды – динорфины, экзогенный – кетациклазоцин. Имеются экзогенные избирательные антагонисты.

Через OR₂-рецепторы контролируется: антиноцицепция, диурез, нейроэндокринные функции, седативные эффекты. OR₂-рецепторы имеют 3 фармакологически идентифицированных подтипа.

OR₃ (μ -)рецепторы. Наибольшая плотность распространения – полосатое тело, неокортекс (3,4 слой), таламус, nucleus accumbens, гиппокамп, миндалина, околососудоводное серое вещество и желатинозная субстанция спинного мозга. Рецепторы ассоциированы с АЦ через Gi-белки $\rightarrow \downarrow$ [цАМФ] \rightarrow открываются каналы для входа K⁺ и развивается гиперполяризация мембраны клетки-эффектора. Эндогенные агонисты – МЭ и β -эндорфин, экзогенные – морфин, кодеин, промедол. Имеются агонисты.

Через OR₃-рецепторы реализуется анальгетическое действие ОП, эйфорогенное, гипотермическое, миоз, брадикардия, угнетение дыхательного центра. Кроме того, опиоиды через данный тип рецепторов контро-

лируют нейроэндокринные функции и иммунные (осуществляется стимуляция клеток-киллеров, повышение титра антител в ответ на введение антигена). Эти же рецепторы обеспечивают модуляцию пептидов в обучении и памяти, лекарственной зависимости.

OR₁- и OR₃-рецепторы могут быть ассоциированы друг с другом аллостерически и представлять собой сопряжённый комплекс, встроенный в липидную мембрану.

Физиологические функции опиоидных пептидов.

1. Эндогенные антиноцицептики (анальгетики). МЭ – вызывает кратковременную анальгезию, а ЛЭ – более длительную, при чём активируя систему «+» подкрепления. α -эндорфин обладает низкими антиноцицептивными свойствами, β -эндорфин – более высокими анальгетическими свойствами.

Ноцицептивная система воспринимает, проводит болевое ощущение и формирует эмоциональный, вегетативный и двигательный компонент реакции на боль. Боль воспринимают болевые, баро-, хемо-, терморепторы (которые включаются при сильном раздражении). Вещества, которые раздражают ноцицептивные рецепторы называются медиаторами боли – серотонин, гистамин, брадикинин. Существует специфические и неспецифические пути проведения болевого возбуждения:

1. **Специфический** – быстрый, малонейронный, воспринимает эмоционально-неокрашенную, но точно локализованную боль. Этот путь идёт через задние рога спинного мозга, вентральные ядра таламуса, заканчивается в задней центральной извилине коры (поля S₁ и S₂). Для такой боли характерен двигательный компонент.

2. **Неспецифический** – медленный, многонейронный, с многочисленными переключениями, воспринимает эмоционально-окрашенную, но плохо локализованную боль. Пролегает этот путь через ретикулярную формацию, неспецифические ядра таламуса, лимбическую систему и заканчивается в верхней лобной и теменной извилинах коры. Такая боль имеет выраженный эмоциональный и вегетативный компонент.

Антиноцицептивная система нарушает восприятие боли, проведение болевого импульса и формирования вегетативных и моторных функций.

Центром антиноцицептивной системы является скопление короткоаксонных энкефалинергических нейронов вокруг сильвиевого водопровода (центральное серое вещество). Аксоны нейронов центрального серого вещества образуют восходящие проекции к коре, лимбике, базальным ганглиям, гипоталамусу, ретикулярной формации и нисходящие проекции – к задним рогам спинного мозга.

Вторым центром антиноцицептивной системы являются эндорфинергические скопления нейронов в гипоталамусе, их аксоны направляются в передний и средний мозг.

Третьим центром антиноцицептивной системы являются ядра шва среднего мозга, особенно большое ядро шва. По происхождению является серотонинергической.

Между I, II, III центрами антиноцицептивной системы существуют связи, как и с ноцицептивной системой.

Механизм восприятия боли. Болевой импульс активирует нейроны центрального серого вещества, происходит усиление энкефалинергической импульсации по нисходящим путям к нейронам задних рогов спинного мозга (неспецифическая регуляция). В результате повышается порог болевой чувствительности. Активация восходящей энкефалинергической импульсации приводит к угнетению лимбика, ретикулярной формации, таламуса, в результате подавляются вегетативные и эмоциональные реакции на боль, повышается порог болевой выносливости.

Физиологическое и патологическое значение опиоидных пептидов. Энкефалины и эндорфины имеют значение в развитии наркомании к морфину, другим экзогенным опиоидам, к формированию алкогольной зависимости. В развитии зависимости имеет значение механизм обратной связи между синтетическими и рецепторными механизмами. При экзогенном введении лекарств синтез эндогенных понижается, и может доходить до минимума при длительном применении больших доз. Снижается чувствительность рецепторов к опиатам. При внезапной отмене лекарств рецепторы испытывают недостаточную стимуляцию, возникает абстинентный синдром (синдром отмены), проявляющийся в виде психического и физического дискомфорта, спазмов мышц кишечника, скелетных мышц, что побуждает (заставляет) к повторному применению наркотических средств.

Энкефалины, эндорфины – антистрессоры, входят в стресс-лимитирующую систему организма.

Энкефалины, эндорфины участвуют в обучении и формировании памяти, отвечают за систему «+» положительного подкрепления.

Опиоиды модулируют секреторную и моторную функции пищеварительной системы, а также процессы всасывания в кишечнике.

ОП угнетают активность ферментов поджелудочной железы и улучшают в ней процессы микроциркуляции.

ОП контролируют ряд эндокринных функции на уровне гипоталамуса, гипофиза и надпочечников.

ОП снижают секрецию лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, усиливают выделение соматотропина, пролактина.

ОП контролируют иммунную систему, обладают иммуномодулирующим действием.

Участвуют в регуляции тонуса дыхательного центра (как правило они его угнетают – снижая частоту дыхания), уменьшают лёгочную вентиляцию.

ОП повышают выделение серотонина нервными окончаниями.

ОП уменьшают диурез, уменьшая АД.

Энкефалины вовлечены в процесс развития, особенно клеточной пролиферации и дифференцировки.

ОП (синтетический аналог даларгин) стимулирует заживление кожных ран, ускоряет регенерацию нервной и костной ткани.

ТЕМА 7. БРАДИКИНИНЫ

В 1949 г. обнаружено БАВ, которое было в крови собак после внутривенного введения трипсина или змеиного яда. Это вещество отличалось от гистамина и ацетилхолина, обладало гипотензивным свойством и способствовало медленным сокращениям отрезка тонкой кишки морской свинки. Это БАВ получило название «медленно сокращающие» или брадикинины.

Брадикинины (БК) – это полипептиды, состоящие из 9–10 аминокислотных остатков и представлены двумя БАВ:

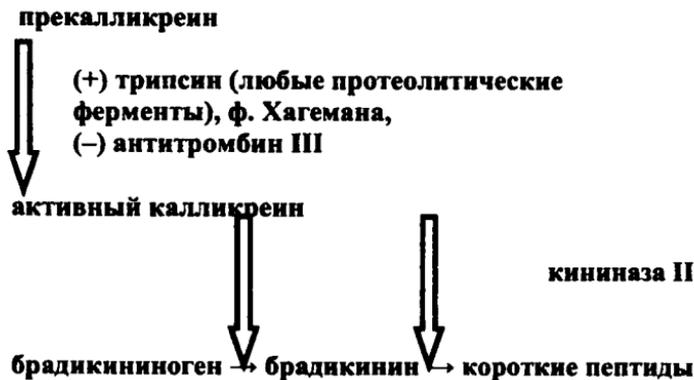
1. Плазменный брадикинин, находящийся в сосудистом русле и состоящий из 9 аминокислотных остатков – **Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg**.

2. Тканевой брадикинин (каллидин, лизин-брадикинин), состоящий из 10 аминокислотных остатков – **Liz-Arg-Pro-Ala-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg**.

Гораздо позже была установлена связь между плазменным и тканевым брадикинином, а также ферментом калликреином (это тканевая и плазменная протеаза), который был открыт в 30-х годах прошлого столетия.

В организме существует система, регулирующая определённые стороны гомеостаза калликреин-кининовая система, осуществляющая взаимосвязь между системой регуляции сосудистого тонуса и системой свёртывания крови (фибринолиза).

Метаболизм. Брадикинин является продуктом неактивного предшественника брадикининогена. Он содержится в α_2 -глобулиновой фракции белков плазмы. Активация брадикининогена осуществляется в нужный момент, в нужном месте сосудистого русла. Поэтому брадикинин считали локальным гормоном сосудистого русла и стенки сосудов. Образование брадикининов контролируется ферментом – калликреином, который синтезируется в железистой и эпителиальной канальцевой клетках, в лейкоцитах, гладко-мышечных клетках сосудов, дистальных канальцах почек и собирательных трубочках. В сосудистом русле и тканях калликреин содержится в неактивной форме прекалликреина, которая активируется под действием фактора Хагемана (12 фактор свёртывания крови) (см. схему).



Существуют плазменные и тканевые ингибиторы:

1) антитромбин III (входит в группу антитромбопластинов, тормозит образование и действие протромбиназы), который может блокировать образование активной формы калликреина либо напрямую, либо через фактор Хагемана;

2) в метаболизме брадикининов участвует группа ферментов:

а) киназа II, она является ключевым ферментом и отщепляет С-концевые дипептиды –Phe-Arg-;

б) эндопептидаза, гидролизует связь между –Phe-Ser-;

в) карбоксипептидаза, отщепляет – Arg-.

Все эти остатки используются для повторного синтеза.

Киназа II или ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) – основная функция заключается в превращении ангиотензина I (АТ₁ в физиологически активную форму ангиотензин II (АТ₂), а также в деструкции брадикинина путём удаления С- концевого дипептида. Таким образом, АПФ можно рассматривать как ключевой фактор, связывающий ренин-ангиотензиновую и калликреин-кининовую системы. Локализация АПФ:

1) в эндотелии кровеносных сосудов сердца, лёгких, мозга, почек и других органов, где локальное образование АП или гидролиз БК способствует поддержанию тонуса резистивных сосудов;

2) в сердечной ткани, где АПФ как фактор локальной ренин-ангиотензиновой системы причастен к сократительной функции миокарда, росту кардиомиоцитов и как патологическое выражение сердечной недостаточности: возникновение вазоспазма, гипертрофии, желудочковых аритмий;

3) в сыворотке крови, где уровень активности АПФ относительно невелик, поддерживается инкрецией из тканей (лёгких, в первую очередь) и

служит генерализованному образованию АПФ. АПФ обнаружен также в мононуклеарных клетках, Т-лимфоцитах и в фибробластах;

4) в эпителиальных клетках, таких как ресничная кайма почек, кишечника и других, вовлечённых в адсорбционные и транспортные процессы;

5) разнообразна локализация АПФ в тканях мозга: в эндотелии сосудов мозга, телах и аксонах нейронов. Высокая активность выявлена в гипофизе, базальных ганглиях, чёрной субстанции. В стрио-нигральной зоне высокая активность АПФ коррелирует с повышенным содержанием субстанции Р, откуда делается вывод о роли этого фермента в регионарной регуляции уровня данного пептида.

Важной особенностью организации калликреин-кининовой системы является каскадный принцип взаимодействия с чередованием неактивных, активных и тормозящих активность компонентов. Это позволяет:

а) быстро образовывать большое количество БК в нужном месте в нужное время;

б) контролировать кининообразование на разных этапах;

в) ограничивать кининообразование определённой зоной кровообращения;

г) взаимодействовать кининовой системе с другими системами, регулируемыми гемостаз и гемодинамикой (ренин-ангиотензиновая система, система свёртывания и фибринолиза).

Рецепторы. Различают 2 типа рецепторов: V_1 и V_2 , они идентифицированы фармакологически, расшифрована их организация, проведено клонирование.

V_1 более чувствительны к N-терминальному фрагменту БК и каллидина, которые являются предшественниками расщепления под действием карбоксипептидилпептидазы.

V_2 имеют больший аффинитет к БК и каллидину, а не к их фрагментам.

V_1 и V_2 – трансмембранные белки, состоящие из 7 трансмембранных доменов, связанных с G-белками, т.е. G-протеиновые рецепторы. V_1 состоит из 353 аминокислотных остатков, а V_2 – из 364 аминокислотных остатков.

V_2 рецепторы являются постоянными компонентами плазматических мембран многих клеток организма, через них опосредуются большинство эффектов брадикининов. После активации V_2 рецептора агонистом развивается немедленная их десенситизация и интернализация внутрь клетки. Это обеспечивает очень короткий и локальный ответ клетки на действие БК. Эта особенность выявлена как в опытах *in vivo*, так *in vitro*. Связано это с C-терминальным концом молекулы рецептора, обращённого внутрь клетки, он значительно длиннее чем у V_1 рецепторов и содержит аминокислоты

кислоты, которые быстро подвергаются процессам фосфорилирования-дефосфорилирования.

Механизмы трансдукции у V_2 рецепторов связаны с активацией:

1) **фосфолипазы C** с последующим гидролизом, что обеспечивает увеличение $[Ca^{2+}]$ – рецепторы гладких мышц бронхов, матки, кишечника → реализуется спазмолитическое действие;

2) **фосфолипаза A**, что запускает расщепление арахидоновой кислоты и повышает синтез простагландинов – рецепторы сосудов → сосудорасширяющий эффект.

Максимальная плотность распределения V_2 рецепторов в ЦНС – сенсорные нейроны коры, на периферии – интима сосудов, в гладкомышечных органах. Эти рецепторы отвечают за вазодилатацию, спазм гладкомышечных органов, контроль продукции NO, простагландинов, через них опосредуются болевые реакции.

V_1 рецепторы не являются постоянными компонентами плазматической мембраны, они появляются только при патологиях. Основным их индуктором является интерлейкин – 1β , который стимулирует появление этих рецепторов как в опытах *in vivo*, так *in vitro*. V_1 рецепторы не способны к десенситизации и интернализации, поэтому опосредуемые ими физиологические эффекты БК более длительны. С-конец короткий, не имеет аминокислотных остатков, которые быстро фосфорилируются и дефосфорилируются. Механизмы трансдукции такие же как и у V_2 рецепторов. V_1 рецепторы возникают в результате высокой активности брадикининовой системы при патологии. На генетическом уровне V_1 рецепторы являются видоизменёнными V_2 рецепторами.

Максимальная плотность распределения V_1 рецепторов в аорте, лёгочной артерии. Они контролируют спазм гладкой мышцы, тканевую репарацию и болевые реакции.

Выявлен и третий тип БК-рецепторов – V_3 – не входит в номенклатуру рецепторов. Он не имеет функциональной значимости и функциональных свойств и идентифицируются пока как места связывания брадикининов. Максимальная плотность обнаружена в эмбриональной ткани. Этот тип рецепторов клонирован, состоит из 7 трансмембранных доменов. Агонист – орнитокинин (у птиц), антагонисты к нему не выявлены, они отвечают за вазодилатацию. Максимальная плотность распределения – в эмбриональной ткани фибробластов; у взрослых сердце, лёгкие, печень. Механизм сопряжения: через G-стимулирующие белки с АЦ или ФЛС.

Физиологическая роль брадикининов:

1. Брадикинины являются фактором сокращения гладких мышц кишечника, матки, бронхов (больше каллидин).

2. БК расширяет большинство артериальных сосудов, понижает тонус, АД, увеличивает скорость местного кровотока, повышает минутный объём крови, за счёт постоянной нагрузки (больше у плазменного брадикинина).

3. БК увеличивает сосудистую и клеточную проницаемость, становясь тем самым в патологических ситуациях причиной отёка. Избыток БК → отёкообразование сосуда → сужение просвета сосуда → могут возникать атеросклеротические бляшки → нарушается кровоток, микроциркуляция.

4. БК является медиатором боли, как периферической (инициирует болевую реакцию), так и центральной болевой реакции (обезболивающее действие, центральный БК-вый путь увеличивает активность антиноцицептивной системы).

5. БК участвует в центральной регуляции сосудистого тонуса и АД, что было показано недавно. Микроинъекции БК в околотройничное ядро приводит к повышению системного АД, а разрушение этого ядра одновременно с введением БК, устраняет гипертензивные эффекты брадикинина, вводимого в мозг.

6. Центральные гемодинамические эффекты синтетических гипотензивных средств, опосредуются через регуляцию БК. Эти вещества влияют на трансляционный кодон и мРНК кининогена и усиливают экспрессию мРНК кининовых V_2 рецепторов.

7. БК спинного мозга участвует в передаче сенсорной информации. БК-содержащие нейроны являются вставочными в дорзальных рогах спинного мозга, здесь же были обнаружены V_2 рецепторы, которые участвуют и в болевых реакциях.

8. Дипсогенный эффект – способствует формированию мотивации жажды. Это действие сопряжено с изменением под влиянием БК иммунореактивности с-Fos белка (мембранный белок) в крупноклеточном ядре ГТ. Эксперименты с АП и ингибитором АПФ (каптоприл) показали, что в мозге существуют как минимум две пептидергические системы, отвечающие за мотивацию жажды: ангиотензиновая и брадикининовая.

9. БК обладают свойствами нейромодулятора адренергических синапсов.

10. Кардиальные функции кининов, связанные с существованием собственной калликреин-кининовой системы сердца:

а) кининообразующая система представлена в миокарде и эндотелии коронарных сосудов;

б) кинины высвобождаются при ишемии миокарда;

в) локально введённый БК вызывает улучшение кардиальной функции;

г) торможение деградации кининов (ингибиторы АПФ) приводит к улучшению показателей функции сердца;

д) антагонист B_2 рецепторов ухудшает ишемию миокарда, однако эффект здесь может быть двояким.

Патологическая роль брадикининов. Вазомоторные эффекты и влияние на сосудистую проницаемость этой системы обуславливают её возможное участие в ИБС и инфаркте миокарда. Кроме того, при ишемии кинины могут усиливать связанные с КА нарушения ритма, поскольку известно, что БК облегчает рилизинг НА из симпатических нервных окончаний.

Воздействие этой системы на ткани, сосудистую проницаемость, определяет её участие в различных формах воспаления (панкреатиты, артриты, атеросклеротические изменения в сосудах, травмы, отёки).

Воздействие на экстравазальную (внесосудистую) гладкую мускулатуру обеспечивает её участие в бронхиальной астме, патологии беременности и родов.

Врождённые или приобретённые дефекты свёртывающей системы крови может быть или из-за недостатка ф. Хагемана, или недостатка компонентов калликреин-кининовой системы, что приводит к образованию тромбозов.

Экзогенная регуляция калликреин-кининовой системы.

1. Существуют вещества, которые потенцируют выход БК:

а) вещества с прокалликреин-кининовым действием – трипсин, химотрипсин и другие;

б) вещества, предупреждающие разрушение БК – это ингибиторы АПФ – каптоприл, эналаприл и другие.

2. Вещества-ингибиторы калликреин-кининовой системы:

а) антиферментативные вещества, угнетающие активность ферментов поджелудочной железы – апротинин (ингитрил, контрикал, гордокс);

б) ингибиторы калликреин-кининовой системы стенки сосудов (ангиопротекторы), обладающие антикининовым, противоотёчным, противовоспалительным действием на сосудистую стенку – пармидин.

3. Синтезированы селективные антагонисты брадикининовых рецепторов, которые более избирательно, локально контролируют физиологическое действие БК.

ТЕМА 8. АНГИОТЕНЗИНЫ

Биосинтез ангиотензинов. Основные этапы включают ферментативное отщепление ангиотензина I от ангиотензиногена с помощью ренина, превращение ангиотензина I в ангиотензин II с помощью превращающего фермента (АПФ) и расщепление ангиотензина II несколькими пептидазами.



Ренин. Ренин представляет собой аспартилпротеазу. Фермент специфически катализирует гидролитическое отщепление декапептида ангиотензина I от ангиотензиногена. Ренин синтезируется из препрогормона, который сначала превращается в неактивный проренин, а затем в активный конечный продукт – гликопротеид, состоящий из 340 аминокислот.

Большая часть ренина, циркулирующего в крови, имеет почечное происхождение. Но ферменты с рениноподобной активностью присутствуют в некоторых тканях вне почек, в том числе в кровеносных сосудах, матке, слюнных железах и коре надпочечников. Их физиологическая роль аналогична почечному ренину. В почках ренин синтезируется и хранится в особом отделе нефрона, юкста-гломерулярном аппарате, который состоит из афферентной и эфферентной артериол и плотного пятна (*macula densa*). Афферентная артериола и в меньшей степени эфферентная содержат специализированные гранулярные клетки, называемые юкстагломерулярными клетками, которые являются местом синтеза, хранения и высвобождения ренина. Плотное пятно – специализированный сегмент канальца, тесно связанный с сосудистым компонентом юкстагломерулярного аппарата. Юкстагломерулярный аппарат (ЮГА) иннервируется адренергическими нейронами симпатической нервной системы и имеет на мембране клеток β_1 - и β_2 -адренорецепторы.

Скорость секреции ренина почками является основным фактором, определяющим активность ренин-ангиотензиновой системы. Секреция ренина контролируется рядом структур, в том числе сосудистыми рецепторами почек, плотным пятном, симпатической нервной системой и ангиотензином II.

А. Почечный сосудистый рецептор. Сосудистые рецепторы почек функционируют как рецепторы растяжения. Уменьшение растяжения приводит к увеличению высвобождения ренина, и наоборот. Рецепторы расположены в афферентной артериоле, но, полагают, что юкстагломерулярные клетки могут сами по себе чувствительны к изменению растяжения стенок сосуда.

Б. Плотное пятно. *Macula densa* содержит иной тип рецепторов. Они чувствительны к изменениям доставки натрия или хлора в дистальный каналец. Уменьшение их доставки приводит к стимуляции секреции ренина, и наоборот. Установлено, что эти реакции опосредуются люминальным механизмом сочетанного транспорта Na^+ , K^+ , 2Cl^- , чувствительного к изменениям концентрации Cl^- в проксимальном каналце.

В. Симпатическая нервная система. В контроле секреции ренина важную роль играет симпатическая иннервация юкстагломерулярного аппарата. При увеличении активности нервного аппарата почек усиливается секреция ренина, тогда как денервация почек приводит к его подавлению. Норадреналин стимулирует секрецию ренина, прямо влияя на юкстагломерулярные клетки. Этот эффект опосредуется β -адренорецепторами и активацией аденилатциклазы с образованием цАМФ. В некоторых ситуациях норадреналин вызывает не прямое усиление секреции ренина через пресинаптические α_2 -рецепторы. Такая стимуляция связана с сужением афферентной артериолы, последующей активацией сосудистого рецептора почек и снижением доставки хлорида натрия к плотному пятну. В других случаях стимуляция α -адренорецепторов может подавлять секрецию ренина.

На скорость секреции ренина оказывают влияние адреналин и норадреналин, находящиеся в циркуляции. Эти катехоламины могут действовать посредством тех же механизмов, что и норадреналин, который высвобождается из симпатических нервов почек.

Г. Ангиотензин II. Ангиотензин II угнетает секрецию ренина. Этот механизм, связанный с прямым действием пептида на юкстагломерулярные клетки, является основой «короткой петли» отрицательной обратной связи, контролирующей секрецию ренина. Нарушение этого механизма антагонистами ренин-ангиотензиновой системы приводит к стимуляции секреции ренина как из ЮГА, так и из тканей.

д) фармакологические вещества на средние ренины. Секреция ренина изменяется при действии многих фармакологических агентов. Его усиливают вазодилататоры (гидралазин, миноксидил, нитропруссид), агонисты β -адренорецепторов (изопроterenол), антагонисты α -адренорецепторов и большинство диуретиков и анестетиков.

Ангиотензиноген. Ангиотензиноген – пептид, находящийся в циркуляции, от которого ренин отщепляет ангиотензин I. Ангиотензиноген образуется в печени. У человека это гликопротеид с молекулярной массой примерно 57 000. Концентрация ангиотензиногена в крови человека меньше, чем Km (концентрация, вызывающая 50%-ную от максимума реакцию) для взаимодействия ренина и ангиотензиногена. Следовательно, это важный фактор, определяющий скорость образования ангиотензина.

Синтез ангиотензиногена повышается под влиянием кортикостероидов, эстрогенов, гормонов щитовидной железы и ангиотензина II. Концентрация ангиотензиногена в плазме увеличивается у больных с синдромом Кушинга и у пациентов, получающих лечение глюкокортикоидами. Она возрастает при беременности и у женщин, принимающих эстрогенсодержащие оральные контрацептивы.

Ангиотензин I. Состоит из 10 аминокислот – Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu. Хотя ангиотензин I содержит пептидную последовательность, необходимую для проявления всех эффектов ренин-ангиотензиновой системы, он не является биологически активным. Для активации он должен быть превращен в ангиотензин II с помощью конвертирующего фермента. На ангиотензин I могут также оказывать действие aminopeptidазы плазмы или тканей с образованием ангиотензина II под влиянием конвертирующего фермента.

Конвертирующий фермент (пептидилдипептидаза, кининаза II). Конвертирующий (превращающий) фермент является дипептидилкарбоксипептидазой, которая катализирует отщепление дипептидов от C-конца некоторых пептидов. Наиболее важные его субстраты – ангиотензин I, который он превращает в ангиотензин II, и инактивируемый им брадикинин. Кроме того, он расщепляет энкефалины и субстанцию P, но физиологическое значение этих реакций неясно. Ангиотензин II не гидролизуется конвертирующим ферментом из-за наличия пролинового остатка в предпоследнем положении. Этот фермент широко распространен в организме. В большинстве тканей он располагается на люминальной поверхности клеток эндотелия сосудов и таким образом тесно контактирует с циркулирующей кровью.

Физиологическая роль ангиотензина II. Ангиотензин II состоит из 8 аминокислотных последовательностей – Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-

Phe. Ангиотензин II оказывает существенное воздействие на гладкую мускулатуру сосудов, кору надпочечников, почки и мозг. Благодаря этим эффектам ренин-ангиотензиновая система играет ключевую роль в регуляции баланса жидкости и электролитов и поддержании АД. Гиперактивность ренин-ангиотензиновой системы может привести к гипертензии и нарушениям водно-электролитного гомеостаза. Ангиотензин II является очень активным веществом: при пересчете на молярные концентрации он примерно в 40 раз активнее, чем адреналин.

1. Сердечно-сосудистая система. Основной компонент прессорной реакции на внутривенное введение ангиотензина связан с прямым сокращением гладкой мускулатуры сосудов, особенно артериол. Кроме того, ангиотензин II повышает АД за счет влияния на автономную нервную систему. Прессорная реакция на ангиотензин может сопровождаться незначительной рефлекторной брадикардией или проходить без нее. Ангиотензин II оказывает также прямое положительное инотропное действие на сердце.

2. Нервная система. Ангиотензин II влияет на периферическую нервную систему. Он стимулирует автономные ганглии, повышает высвобождение адреналина и норадреналина из мозгового вещества надпочечников и облегчает симпатическую передачу за счет влияния на адренергические нервные окончания. Последний эффект связан с увеличением высвобождения, так и с уменьшением обратного захвата норадреналина.

Ангиотензин II оказывает центральное действие, проявляющееся усилением жажды (дипсогенный эффект), и увеличивает секрецию вазопрессина и АКТГ.

3. Надпочечники. Ангиотензин II прямо действует на клубочковую зону коры надпочечников, стимулируя биосинтез и секрецию альдостерона. В больших дозах он увеличивает и секрецию глюкокортикоидов.

4. Почки. Ангиотензин II непосредственно влияет на почки и вызывает сужение почечных сосудов, повышает проксимальную канальцевую реабсорбцию натрия и, как уже упоминалось, подавляет секрецию ренина.

5. Пrolиферация. Ангиотензин II является митогеном в отношении мышечных клеток сосудов и сердца и может вносить вклад в развитие сердечно-сосудистой гипертрофии. Ряд данных указывает на то, что ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента замедляют или предупреждают морфологические изменения после инфаркта миокарда, приводящие к застойной сердечной недостаточности.

Рецепторы ангиотензина II и механизм действия. Рецепторы ангиотензина II обнаружены во многих тканях, в том числе в гладкой мускулатуре сосудов, коре надпочечников, почках, матке и мозге. Подобно ре-

цепторам других полипептидных гормонов, рецепторы ангиотензина II расположены на плазматической мембране клеток-мишеней, что обеспечивает быстрое начало клеточной реакции.

Выделено четыре типа рецепторов ангиотензина II, названные AT_1 – AT_4 , которые отличаются по родству к пептидным и непептидным антагонистам и чувствительности к веществам, восстанавливающим сульфгидрильные группы. Кроме того, AT_1 -рецепторы у грызунов имеют еще два подтипа – AT_{1A} и AT_{1B} . AT_1 - и AT_2 -рецепторы млекопитающих и человека клонированы. Установлено, что ген AT_1 -рецептора у человека находится в третьей хромосоме, а у грызунов гены AT_{1A} и AT_{1B} -рецепторов локализируются в разных хромосомах – в 17 и 2 хромосоме, соответственно.

Рецепторы AT_1 и AT_2 – трансмембранные белки, состоящие из 7 доменов, относятся к семейству G-протеин-ассоциированных рецепторов. AT_1 -рецепторы обладают высоким родством к лозартану, тогда как AT_2 -рецепторы имеют низкий аффинитет к лозартану. Ангиотензин II и саралазин связываются в равной степени с обоими подтипами рецепторов. Связывание ангиотензина II с AT_1 -рецепторами, но не с AT_2 -рецепторами, уменьшается при действии таких восстановителей сульфгидрильных групп, как дитиотрейтол. Соотношение подтипов рецепторов варьирует в разных тканях.

AT_1 -рецептор человека, крысы, мыши состоит из 359 аминокислотных остатков. Механизмы сопряжения в разных тканях неодинаковые. Рецептор может быть ассоциирован либо с фосфолипазой C и ростом концентрации внутриклеточного кальция (в сосудах), либо с фосфолипазой A_2 и образованием простаглан-динов, либо с ингибированием аденилатциклазы. Наибольшая плотность рецепторов – в гладкой мышце сосудов, почках, печени, надпочечниках, сердце, гипофизе.

Большинство известных эффектов ангиотензина II опосредуются AT_1 -типом рецепторов. Связывание ангиотензина II с AT_1 приводят к сокращению гладкой мускулатуры сосудов, увеличению пролиферативных процессов в тканях, выбросом в кровь альдостерона и антидиуретического гормона, повышением тонуса симпатической нервной системы.

AT_2 -рецептор состоит из 363 аминокислотных остатков, ассоциирован с гуанилатциклазой или фосфатазой. Наибольшая плотность этих рецепторов обнаружена в фетальных тканях. С этим типом рецепторов связаны антипролиферативные эффекты ангиотензина, вазодилатация и запуск апоптоза.

Метаболизм ангиотензина II. Ангиотензин II быстро исчезает из циркуляции и имеет период полувыведения 15–60 с. Он метаболизирует-

ся во время прохождения через большинство сосудистых бассейнов (важным исключением являются легкие) различными пептидазами которые объединяют под общим названием ангиотензины. Большинство метаболитов ангиотензина II биологически неактивны, но начальный продукт действия аминопептидаз сохраняет выраженную биологическую активность.

Антагонисты ренин-ангиотензиновой системы. В настоящее время существует много средств, которые блокируют образование или действие ангиотензина II. Эти вещества могут подавлять секрецию ренина, его ферментативную активность превращение ангиотензина I в ангиотензин II или влиять на рецепторы ангиотензина II.

Некоторые вещества, влияющие на симпатическую нервную систему, подавляют секрецию ренина. Примерами могут служить клонидин, пропранолол и метилдопа. Клонидин подавляет секрецию ренина за счет связанного с центральным действием угнетения нервной активности в почках. Он может оказывать и прямое интратенальное действие. Аналогичный механизм характерен для метилдопы. Пропранолол и другие β -адреноблокирующие препараты действуют за счет блокады интра- и экстраклеточных β -рецепторов, участвующих в нервном контроле секреции ренина.

Действие ренина может быть заблокировано пентапептидом пепстатин, который ингибирует также эффект других протеаз, таких как пепсин и катепсин D. Применение пепстатина *in vivo* ограничивается его малой растворимостью, но уже синтезирована более растворимая форма – N-ацетил-пепстатин. На основе синтеза аминокислотной последовательности, воспроизводящей область расщепления ангиотензиногена, созданы конкурентные ингибиторы ренина. Основная трудность их использования связана с низкой растворимостью. Однако один из этих пептидов (Pro-His-Pro-Phe-His-Phe-Phe-Val-Tyr-Lys) достаточно растворим и является эффективным ингибитором ренина *in vivo*. Недавно были созданы ингибиторы ренина, действующие при приеме внутрь. Некоторые из них активны, имеют высокую специфичность в отношении ренина и понижают АД у больных с гипертонией.

Из яда южноамериканской гадюки *Bothrops jararaca* выделен нонapeптидный ингибитор конвертирующего фермента. Высокую активность проявляет и синтетическая форма этого пептида тепротид. Однако он активен только при внутривенном введении. В настоящее время широко применяется целый класс ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), эффективных при приеме внутрь и действующих на его активный центр. Типичными представителями этого класса являются каптоприл и эналаприл. Синтезировано много новых активных ингибиторов АПФ. Следует заметить, что ингибиторы АПФ не только блокиру-

ют превращение ангиотензина I в ангиотензин II, но и ингибируют разрушение других веществ, включая брадикинин, субстанцию P и энкефалины. Последний эффект участвует в антигипертензивном действии ингибиторов АПФ и объясняет такие побочные реакции как кашель, сосудистый отек. Широкие исследования доказали ценность ингибиторов АПФ при гипертензии и застойной сердечной недостаточности. Кроме того, установлено, что эти средства могут также оказывать защитное действие при диабетическом поражении сосудов почек.

Антагонисты ангиотензина. Замена фенилаланина в положении 8 молекулы ангиотензина II алифатическими остатками (глицин, аланин, лейцин, изолейцин или треонин) приводит к образованию активных антагонистов действия ангиотензина II. Замещение N-концевой аспарагиновой кислоты саркозином (N-метилглицин) удлиняет период полусуществования пептидов и тем самым увеличивает их активность. Наиболее известен из антагонистов **саралазин**.

Sar-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Ala

Он проявляет некоторую агонистическую активность и может оказывать прессорное действие, особенно при низком уровне ангиотензина II в циркулирующей крови. В целом аналоги ангиотензина менее эффективны по способности понижать АД, чем ингибиторы АПФ. Это различие отражает как парциальную агонистическую активность аналогов ангиотензина, так и потенцирование действия брадикинина ингибиторами АПФ.

Был создан новый класс непептидных антагонистов ангиотензина II. Один из них – лозартан, является активным и специфичным конкурентным антагонистом АТ₁-рецепторов ангиотензина. Лозартан активен при приеме внутрь и не проявляет агонистической активности. Он понижает АД у больных с эссенциальной гипертензией и используется в качестве эффективного средства для терапии гипертензии и застойной сердечной недостаточности. В настоящее время синтезировано и используется в медицинской практике несколько соединений данного класса.

ТЕМА 9. ВАЗОПРЕССИН. ПЕПТИДЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ (АТРИОПЕПТИДЫ)

ВАЗОПРЕССИН (ВП, антидиуретический гормон, АДГ). ВП представляет собой циклический пептид, состоящий из 9 аминокислот – Cys-Tyr-Phe-GluNH₂-AspNH₂-Cys-Pro-Tyr-GlyNH₂. Вазопрессин человека и млекопитающих содержит аргинин в положении 8. Аргинин-вазопрессин идентичен антидиуретическому гормону. ВП выделяется задней долей гипофиза. Но образуется в нейронах супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса из предшественника, состоящего из 168 аминокислот. Из ядер гипоталамуса ВП аксональным транспортом доставляется в гипофиз. Стимулами для освобождения ВП из гипофиза и секреции вазопрессина в гипоталамусе являются: повышение осмотического давления крови до 280 мосм/кг, гиповолемиа, артериальная гипотензия. Чувствительными к изменениям осмотического давления крови являются осморорецепторы. Они локализованы в разных структурах головного мозга, но наибольшая их плотность обнаружена в гипофизе и указанных выше ядрах гипоталамуса. Нейроны супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса содержат вакуоли, заполненные жидкостью с эталонным осмотическим давлением. При дегидратации вакуоли сморщиваются, что является сигналом для секреции вазопрессина. Кроме того, ВП выделяется при снижении объема циркулирующей крови (ОЦК) и артериальную гипотензию. На изменение ОЦК реагируют сосудистые рефлексогенные зоны каротидного синуса и дуги аорты. Через барорецепторы этих зон, симпатическую нервную систему возбуждаются нейроны супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса.

Физиологическая роль вазопрессина. ВП играет важную роль в долгосрочном контроле АД, который осуществляется благодаря его способности увеличивать реабсорбцию воды в дистальных канальцах почек. Кроме того, существуют свидетельства того, что вазопрессин участвует в краткосрочной регуляции АД за счет сосудосуживающего действия. Пептид повышает общее периферическое сопротивление при введении в дозах, меньших, чем те, которые необходимы для максимальной концентрации мочи.

Кроме того, центральный вазопрессин регулирует процессы обучения и памяти, алкогольную мотивацию, терморегуляцию и половое поведение.

Рецепторы вазопрессина и антагонисты. Действие вазопрессина опосредуется активацией специфических мембранных рецепторов. Выделяют два типа рецепторов вазопрессина – V_1 и V_2 . V_1 подразделяются на два подтипа – а и б. Все рецепторы вазопрессина клонированы, расшифрована полностью их структура. Они состоят из 7 трансмембранных доменов. Вазопрессин имеет большее сродство к V_2 -рецепторам.

V_1 -эффекты сопряжены с активацией фосфолипазы С или A_2 , образованием инозитолтрифосфата и повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , либо увеличением синтеза протагландинов. V_1 -рецепторы находятся в гладких мышцах сосудов, кишечника, мочевого пузыря, тромбоцитах, гепатоцитах, семенниках, ЦНС. Они ответственны за сосудосуживающее действие пептида, активацию гликогенолиза, агрегацию тромбоцитов, секрецию АКТГ, улучшение процессов обучения и памяти, повышение чувствительности организма к внешнему свето-темновому циклу и стабилизацию циркадианной системы.

V_2 -эффекты опосредуются активацией аденилатциклазы и Gактивирующие белки. Через этот тип рецепторов осуществляется антидиуретическое действие вазопрессина, увеличивается реабсорбция мочевины, расширяются сосуды.

Синтезированы пептиды, подобные вазопрессину, которые селективны в отношении вазоконстрикторного или антидиуретического действия. Наиболее избирательным современным синтетическим V – сосудосуживающим агонистом является $[Phe^2, Ile^1, Orn^8]$ вазотоцин. Селективные V_2 -антидиуретические аналоги представлены L-деамино[D-Arg⁸]аргинин-вазопрессином (dDVAP) и L-деамино[Val⁴, D-Arg⁸]аргинин-вазопрессином (dVDAPV). Имеются и специфические антагонисты вазоконстрикторного действия вазопрессина. Одним из наиболее активных V-антагонистов является [1-(β-меркапто-β,β-циклопен-гаметиленпропионовая кислота)-2-(0-метил)тирозин]аргинин-вазопрессин. Это соединение обладает также анти-окситоциновым эффектом, но не ингибирует антидиуретическое действие вазопрессина. Оно не взаимодействует с другими прессорными веществами типа ангиотензина и норадреналина. Недавно получено сообщение об активном конкурентном антагонисте V_1 -рецепторов, эффективном при приеме внутрь. Известны и антагонисты антидиуретического действия вазопрессина. Антагонисты вазопрессорного действия особенно полезны для изучения роли эндогенного вазопрессина в регуляции функции сердечнососудистой системы. Антагонисты не оказывают влияния на сердечнососудистую систему, когда их вводят животным с уровнем вазопрессина в крови в пределах нормы или ниже. Однако при их введении крысам или собакам в условиях обезво-

живания, когда уровень вазопрессина в крови повышен, происходит быстрое снижение АД или общего периферического сопротивления. Блокада вазопрессина понижает также АД у животных с недостаточностью надпочечников и нарушает регуляцию АД при кровотечении.

Имеются доказательства того, что вазопрессин может быть использован в создании экспериментальной гипертензии у животных и задействован в патогенезе некоторых форм гипертензии у человека.

АТРИОПЕПТИДЫ. Представление о сердце как об эндокринном органе возникло в начале 70-х гг. прошлого столетия на основании открытия кардиопептидов. Данная группа пептидов регулирует объем жидкости и осмотическое давление на разных уровнях организма: клеточном, тканевом, органном системном. Атриопептиды стабилизируют функции сердечно-сосудистой системы посредством изменения АД, частоты сердечных сокращений, объема крови, сосудистого тонуса, вазомоторных реакций. В капиллярах пептиды регулируют проницаемость воды, ионов натрия, хлора и других осмотически активных веществ.

Предсердный натрийуретический пептид (ANP) – основной представитель группы натрийуретических пептидов. Впервые этот пептид был открыт де Болдом в 1984 г., как эндокринный фактор, секретиремый клетками предсердия у крысы и у человека. Позже пептид был идентифицирован в структурах головного и спинного мозга. На сегодняшний день иммуногистохимическими исследованиями выявлена локализация ANP и его рецепторов, помимо мозга и сердца, в почках и надпочечниках. ANP секретируется популяцией миоэндокринных клеток, которые Ca^{2+} - и механозависимо выделяют пептид при растяжении правого предсердия и ушек венозной кровью. Чувствительность указанного механизма весьма высока. Например, секреция ANP заметно усиливается при повышении венозного возврата, вследствие перехода из вертикального положения в горизонтальное или при погружении в воду. Другим фактором, стимулирующим секрецию ANP, является повышение частоты сердечных сокращений. Механизм этого феномена связан с повышением напряжения стенок предсердий. В меньших количествах этот пептид образуется в желудочках, кровеносных сосудах, в ЦНС, вегетативных ганглиях и других структурах. Атриопептид действует как в месте образования (паракринное действие), так и на значительном удалении (эндокринное действие). ANP обнаружен в симпатической нервной системе, в холинергических волокнах преганглионарных нервов. ANP не является единственным пептидом, который синтезируется в сердце. В конце 80-х гг. в мозге свиньи был исследован пептид сходный по химической структуре и физиологической активности с ANP. Он был назван **мозговым натрийуретическим**

пептидом (BNP). Его наивысшая концентрация обнаружена в предсердии, а содержание в мозге в 3 раза выше, чем ANP.

Структура атриопептидов. Для структуры атриопептидов характерно наличие кольца из 17 аминокислот. Кроме того, данная группа пептидов обладает перекрёстной аффинностью к рецепторам.

ANP человека представляет собой С-концевую структуру ANP-предшественника (99-126), включающего 126 аминокислотных остатков. Имеются видовые различия в структуре ANP у цыплёнка, крысы, лягушки, человека. Такие же различия отмечены и для BNP, который у человека состоит из 32 аминокислот.

К этому же семейству относится и пептид почек уродиталин (32 аминокислоты).

Инактивация ANP осуществляется протеазами крови, сосудов, почек и других органов. Основным ферментом, гидролизующим атриопептиды, является нейтральная эндопептидаза, которая с различной кинетикой гидролизует структурно неодинаковые соединения. В частности, этот фермент разрушает BNP в 15 раз менее интенсивнее, чем ANP. Недавно выделена металлопептидаза из печени, которая гидролизует ANP и брадикинины.

Рецепторы атриопептидов и механизмы сопряжения. Структура рецепторов представляет собой трансмембранный белок, содержащий экстрацеллюлярный пептид-связывающий домен, трансмембранный домен, экстрацеллюлярный киназа-гомологичный домен и домен ГЦ.

Связываясь с рецепторами, пептид через G-стимулирующие белки стимулирует ГЦ, а также активирует киназу. Происходит повышение внутриклеточной концентрации цГМФ и активация киназы. Всё это стимулирует цепь процессов фосфорилирования различных белков клеток-мишеней.

Некоторые эффекты кардиопептидов могут опосредоваться ингибированием АЦ и снижением внутриклеточной концентрации цАМФ. Было также установлено, что модулируемые атриопептидами процессы ионного транспорта включают: Ca^{2+} -активируемые и АТФ-зависимые K^+ -каналы, Ca^{2+} -каналы L-типа, СГ-зависимые каналы, Na^+/K^+ -АТФ-азу. Эти пептиды модулируют не процессы проведения ионных каналов, а процессы кинетики.

По международной классификации выделяют три типа рецепторов: А, В, С. Первые два типа ответственны за большинство биологических эффектов ANP. Активация этих типов рецепторов стимулирует мембранный фермент – ГЦ. Основными конечными эффектами стимуляции А и В рецепторов на клеточном уровне являются:

- 1) снижение внутриклеточной $[Ca^{2+}]$ в различных клетках-мишенях;
- 2) торможение поступления Na^+ в эпителиоциты почечных канальцев;
- 3) повышение проницаемости калиевых каналов в ЦНС, гладких мышцах, эритроцитах.

C-рецепторы (от англ. clear – очищать) – локализованы внутриклеточно. Эти рецепторы связывают ANP, что приводит к снижению его концентрации в плазме и уменьшению влияния этого пептида на клетки-мишени.

Физиологические эффекты атриопептидов.

1. ANP вызывает развитие гипотензивного эффекта. Действие пептида на кровеносные сосуды приводит к их расширению, вследствие снижения тонуса гладких мышц сосудистой стенки. Расширение сосудов, обладающих выраженной резистивной функцией (артериолы), приводит к снижению общего периферического сопротивления, а дилатация аккумуляющих сосудов – к снижению возврата крови к сердцу.

2. ANP повышает проницаемость капилляров, что сопровождается переходом жидкости из сосудистого русла в ткани и уменьшение объёма циркулирующей крови.

3. ANP увеличивает ЧСС, воздействуя на миогенные пейсмейкеры. При увеличении объёма венозного возврата, пептид усиливает сокращение кардиомиоцитов, предотвращая возможное механическое повреждение сердца.

4. Атриопептиды являются связующим звеном между почками и сердцем. Регулируют экскрецию жидкости, перераспределение её в организме сердечно-сосудистой системой.

5. Кардиопептиды регулируют активность Na^+/H^+ -обменника, K^+ - и Cl^- -каналов, участвуя тем самым в регуляции объёма клеток и объёма жидкости в малых и больших полостях организма.

6. В почках ANP резко усиливает диурез и натрийурез, в сотни раз превосходя по эффективности одно из сильнейших мочегонных средств – фуросемид.

7. Действие ANP на такие структуры ЦНС, как срединное возвышение, ГТ, гипофиз, дно III желудочка и другие, проявляется в подавлении жажды и солевого аппетита, торможении секреции АДГ и кортикотропина → ↓секреции ГК.

8. ANP является нейромодулятором синаптической передачи в симпатических ганглиях.

9. ANP тормозит активность СНС: через подавление холинергических влияний на постганглионарные нейроны, через подавление высвобождения НА из постганглионарных нервных волокон.

10. ANP ингибирует высвобождение КА в мозговом слое надпочечников и их действие на эффекторы.

11. Повышает чувствительность рецепторов вагусных афферентных волокон, расположенных в устьях полых вен, лёгочного ствола и дуги аорты → это приводит к активации парасимпатических влияний, в частности, к снижению ЧСС.

12. В кровеносных сосудах ANP подавляет высвобождение из эндотелия сосудосуживающих веществ – эндотелинов.

13. Имеет отношение к развитию психических нарушений, связанных со стрессом.

14. У крыс ANP оказывает кардиопротекторное действие.

15. ANP подавляет синтез ДА, стимулированный карбахолином.

16. ANP является умеренным анксиолитиком, снижает чувство тревоги.

ТЕМА 10. НЕЙРОТЕНЗИН. ГЛИПРОЛИНСОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИДЫ

НЕРОТЕНЗИН. Нейротензин был выделен из ГТ крупного рогатого скота в 1973 г. Иммуногистохимическими методами выявлена высокая концентрация нейротензина в пищеварительной системе (кишечник) и во многих областях ЦНС млекопитающих, прежде всего – в ГТ, миндалине, прилежащем ядре, чёрной субстанции и вентральном тегментуме. Особое внимание привлекает высокое содержание нейротензина в ДА-ергических областях мозга, наблюдается высокая плотность участков связывания нейротензина на ДА-ергических нейронах вентрального тегментума и чёрной субстанции. Нейротензин ассоциируется с мезолимбической ДА-ергической системой, этот пептид взаимодействует с той же ДА-ергической системой, что и ХЦК. Кроме того, нейротензин обнаружен и в других ДА-ергических системах мозга, например, в нейронах аркуатного ядра, в нервных окончаниях срединного возвышения.

Совместная локализация ДА и нейротензина обнаружена также в амакриновых клетках сетчатки, а с НА – в ядре солитарного тракта.

Рецепторы нейротензина и механизмы сопряжения. Рецепторы локализуются на пре- и постсинаптических мембранах, высвобождение – Ca^{2+} -зависимое при деполяризации. Рецепторы к нейротензину локализуются в таламусе, ГТ, коре головного мозга, мозжечке, главных клетках желудка.

Механизмы сопряжения: через ФЛС $\rightarrow \uparrow [\text{Ca}^{2+}]$.

Физиологическая роль нейротензина:

1. Вызывает гипертензию.
2. Вызывает гипергликемию.
3. Увеличивает проницаемость сосудов.
4. Увеличивает секрецию гормона роста, лютеинизирующего гормона и фолликулостимулирующего гормона.
5. Усиливает гипотермический эффект, участвует в центральной регуляции температурного контроля.
6. Участвует в центральной регуляции поведенческих и соматических реакций организма.
7. Обладает антиноцицептивным эффектом.
8. Модулирует активность АКТГ и кортикостероидов в условиях стресса.
9. Участвует в реализации антипсихотических эффектов галоперидола.

10. Совместная локализация нейротензина и прогестерона в ядрах вентролатерального ГТ, имеет отношение к регуляции сексуального поведения.

11. Нейротензин участвует в регуляции циркадной активности ГТ, т.е. имеет отношение к регуляции «биологических часов» здорового человека.

12. Усиливает выделение гистамина тучными клетками.

13. Усиливает секрецию вазопрессина.

14. Тормозит секрецию желудочного сока, вызванную пентагастрономом.

15. Стимулирует хемотаксис нейтрофилов человека.

16. Тормозит моторику желудка и кишечника.

17. Изменяет кровоток в органах пищеварительной трубки без прямого действия на сердце.

18. Пресинаптическое действие нейротензина в ДА-ергических синапсах ведёт к высвобождению ДА.

Роль нейротензина в патологических процессах.

1. При гипертонии уровень нейротензина снижается в 2 раза.

2. При шизофрении увеличивается содержание нейротензина во фронтальной коре и снижается его содержание в спинно-мозговой жидкости.

3. При хорее Гентингтона повышается содержание нейротензина в хвостатом ядре.

4. При болезни Паркинсона снижается связывание нейротензина с рецепторами.

ГЛИПРОЛИНСОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИДЫ. Как известно, препятствием к применению РП в качестве лекарственных средств явились их относительно короткое время жизни (время полураспада от нескольких минут до 1–2 ч) и быстрый гидролиз в желудке и кишечнике. Исследования многих лабораторий мира в течение последних двух десятилетий были направлены на получение стабильных аналогов РП. В результате были созданы препараты **семакс** и **селанк**, представляющие собой соединения пролил-глицил-пролина (PGR) с адренокортикотропином 4–7 и тафцином соответственно. Изучение механизмов действия указанных пептидов побудило обратить особое внимание на стабилизирующий трипептид PGR, а в дальнейшем и на другие пептиды этого ряда. PGR обнаруживается в плазме крови через 5 часов после введения. Установлено, что срок полураспада PGR после системного введения составляет более суток, а основными метаболитами PGR являются дипептиды PG и GP. Наиболее же впечатляющим оказалась способность глипролинов преодолевать протеолиз в ЖКТ и поступать в кровоток в неизменном виде, хотя при внутрижелудочном и внутрикишечном введении концентрация PGR в

крови была в 2,5 раза меньше, чем при внутрибрюшинном введении. Скорее всего, это связано с более быстрой деградацией пептида до аминокислот пептидазами ЖКТ. Имеются данные и о том, что глипролины преодолевают гематоэнцефалический барьер, а, следовательно, могут оказывать прямое действие на системы ЦНС.

К настоящему моменту, к семейству глипролинов относят PG, GP, PGP, cPG, GPGG, GPG, PGG.

Нет количественных оценок содержания глипролинов в крови, хотя данные об относительно высоком содержании там пролинсодержащих пептидов опубликованы давно. Прямые указания на наличие определенных концентраций пролинсодержащих простейших пептидов в тканях представлены лишь в работах Р.У. Островской и Т.А. Гудашевой (1996), выявивших циклический дипептид cPG в ткани мозга крыс в концентрации около 3 мМ.

Происхождение глицилпролинов. Глипролины имеют два вероятных источника образования – эндогенный и экзогенный. Эндогенный путь в свою очередь складывается из двух процессов. Первый связан с синтезом коллагена в фибробластах. По причинам пока не ясным 20–40% продуктов синтеза выделяется наряду со зрелым коллагеном в виде олигопептидов, включающих преимущественно менее 5 аминокислотных остатков. Второй процесс – катаболизм коллагена (энтеростатина, эластина – других белков, богатых PGP, GP и PG фрагментами), связанный с выходом простейших пролинсодержащих ди- и трипептидов. Что касается экзогенного пути, то имеются прямые указания на проникновение в кровь из кишечника значительных количеств гидроксипролинсодержащих пептидов при приеме желатина, а также, при переваривании соединительнотканых и пищевых белков в ЖКТ, например, казоморфинов, глюторфинов и др. Известно, что около 50% продуктов протеолиза белка в тонком кишечнике входят в энтероциты в виде дипептидов и в меньшей доле – трипептидов через апикальную мембрану в интактном виде с помощью специфических транспортных систем.

Из числа других РП, содержащих глипролиновые последовательности, упоминаются заслуживают гонадолиберины, содержащие дипептидные фрагменты GP, который также является составной частью таких РП, как кальцитонин, гастрин, нейромедин N, галанин, β – меланоцитстимулирующий гормон и др. PG входит в состав брадикинина, хромостатина, нейропептида Y и др.; PGP и GPG – хромастатина и др., а PGG – нейропептида Y.

Распределение глипролинов в организме. Изучение распределения меченого тритием PGP после внутрибрюшинного и внутримышечного

введений показало, что максимальная концентрация пептида обнаруживается в системном кровотоке через 30 и 15 мин после введения соответственно. Отмечено накопление пептида в различных органах (печени, желудке, тонком кишечнике, почках, сердце и мозге). Количественная характеристика аккумуляции пептида определяется способом введения, временем, прошедшим после введения соединения и состоянием организма. Иммунизационный стресс может изменять распределение радиоактивной метки между органами, вызывая ее накопление в тканях желудка и мозга.

Механизм действия глипролинов. Раскрытие механизмов действия глипролинов на сегодняшний день остается особым направлением исследований, пока мало разработанным. Тем не менее, следует последовательно рассматривать далее две возможности: 1) глипролины являются соединениями, транспортирующими глицин к тканевым мишеням; 2) глипролины имеют специализированные рецепторы. Эта проблема должна быть объектом дальнейших исследований.

Физиологическая роль глицилпролинов. Исследования роли отдельных фрагментов β -эндорфина в регуляции ноцицепции привели к обнаружению активности концевой дипептида – GP. В относительно невысоких дозах порядка 0,5 мг/кг он проявлял способность снижать анальгетическое действие морфина. Уменьшение болевой чувствительности после внутрибрюшинного введения PGP (1 и 10 мг/кг) установлено на модели вызова абдоминальных болей.

При предварительном введении PGP влиянию алкоголя удельная активность ферментов утилизации нейромедиаторов моноаминоксидазы А (МАО А), моноаминоксидазы Б (МАО Б) и ацетилхолинэстеразы (АХЭ) во фракциях митохондрий моторной коры и хвостатого ядра не отличаются от контроля. Однако по сравнению с показателями активности этих ферментов в условиях алкогольной интоксикации отмечены определённые сдвиги, а именно: некоторое снижение удельной активности МАО Б и АХЭ в обоих образованиях мозга и нарастание удельной активности МАО А, особенно (более чем в 2 раза) в структурах хвостатого ядра. Введение перед действием алкоголя PGP по сравнению с контролем увеличивает содержание ДА в коре и (особенно) в хвостатом ядре, в коре также увеличено содержание НА. Изменяются под влиянием пептида и компоненты серотонинергической системы (5'-окситриптофол, 5'-оксининдолуксусная кислота).

Анализ действия GP, PG, PGP, GPGG, глицина и пролина на семьяносящем протоке крысы не выявил каких-либо изменений в тоне мускулатуры протока. Это позволило выдвинуть предположение о том, что

данные вещества вряд ли могут быть ассоциированы с α – адренергическими структурами данной экспериментальной модели. Пролинсодержащие пептиды и аминокислоты модулировали эффекты ацетилхолина. GP и глицин усиливали тормозный эффект нейромедиатора, PG и пролин вызывали ослабление эффекта ацетилхолина на сердце. Пептиды обладали более выраженным действием на эффекты медиатора, чем составляющие их аминокислоты.

Показано, что глипролины влияют на поведение животных. Установлена способность PGP снижать пищедобывательную активность крыс, оказывая влияние на динамику массы крыс, замедляя возрастание массы. Вместе с тем, PGP обладает способностью подавлять секрецию инсулина и экзокрецию поджелудочной железы, а также проявляет аноректическую активность. У cPG обнаружена антиамнестическая активность (предотвращение эффекта электрошока в тесте пассивного избегания) и способность стимулировать консолидацию памяти.

Глипролины (PG, PGP, GPGG) оказывают значительное влияние на антикоагулянтно-фибринолитический потенциал плазмы крови и на фазу первичного гемостаза. Очевидно их ингибирующее действие на тромбоцитарный и плазменный гемостаз. Они не только блокируют агрегацию тромбоцитов, но и подавляют стадии тромбино- и фибринообразования, ингибируют активность фибриназы. Таким образом, глипролины являются антитромботическими и тромболитическими факторами. Глипролины увеличивают время релаксации плазмы, уменьшают активность фактора XIIIa, увеличивают активность тканевого активатора плазминогена. Так, трипептид PGP после неоднократного внутривенного и интраназального введения увеличивает скорость фибринолиза, уровень тканевого плазминогена, уменьшает количество ингибиторов плазмина.

PGP, GP, PG усиливают частоту и амплитуду сокращений лимфатических сосудов брыжейки крыс.

Установлено, что PGP не влияет на скорость деградации энкефалина в сыворотке крови человека, т.е. не обладает способностью ингибировать активность энкефалиназа. GP способен ингибировать в небольшой степени ангиотензин – превращающий фермент.

PGP, PG, GP при их предварительном введении действию стресса препятствуют как усилению активации тучных клеток в подкожной клетчатке и брыжейке крыс, так и развитию стрессогенных нарушений микроциркуляции русла брыжейки крыс.

PGP практически не влиял на базальную секрецию бикарбонатов. Однако PGP снижал секрецию бикарбонатов, увеличенную стимуляцией блуждающего нерва.

Пептиды PGP, GP обладают противовоспалительным действием – уменьшают относительное количество нейтрофилов и увеличивают их сохранность в области повреждения СОЖ. Вместе с тем, глипролины стимулируют хемотаксис и образование супероксида нейтрофилами.

На кольцевых сегментах левой дуги аорты крыс показано дозозависимое уменьшение норадреналинового тонуса посредством пептидов PGP, PG, GP. Пептиды PGP, PG реализуют свой сосудорасширительный эффект с участием эндотелия. Вазодилаторный эффект GP не зависит от клеток эндотелия и, по-видимому, обусловлен прямым влиянием пептида на гладкую мышцу сосуда. PGP, PG используют NO в качестве вторичного посредника расширяющего действия. Большие дозы GP (10^{-4} Моль) не дают восстанавливаться адреналиновому тонуусу сосудов после прекращения прямого действия этого пептида.

Короткие пролинсодержащие пептиды PGP, PG, GP обладают эффективным протекторным и лечебным противовоспалительным действием. Однако, защитное свойство пептиды оказывали в зависимости от модели язвообразования. Значительный протекторный противовоспалительный эффект отмечен у PG, PGP, GPGG на этаноловой и индометациновой моделях язвообразования. При общепринятых моделях язвообразования этаноловой и индометациновой превалируют периферические механизмы, тогда как при стрессорной модели определяющими являются центральные. В отличие от этих пептидов GP защищает слизистую желудка от повреждений центрального генеза (стрессорная модель язвообразования). Выявлены лечебные противовоспалительные свойства этих пептидов и при ежедневном введении после развития максимальной язвы. PGP и GPGG способны ослаблять секрецию соляной кислоты в желудке, стимулированную раздражением блуждающего нерва, усиливать кровоток и уменьшать болевой синдром. Вдобавок, PGP способен снижать базальную секрецию соляной кислоты в желудке.

Трипептид PGP, не влияя на базальный кровоток в желудке, *in vivo* увеличивает кровоток, уменьшенный индометацином и этанолом. Несмотря на то, что PG через час после введения несколько уменьшает базальный кровоток СОЖ, он так же, как и PGP, постепенно возвращает к исходному уровню желудочный кровоток, сниженный индометацином. Последнее, по мнению авторов, есть один из возможных механизмов защитного действия глипролинов в отношении СОЖ. GP по сравнению с PGP и PG наиболее сильно и длительно уменьшает базальный кровоток в СОЖ наркотизированных крыс и не обладает способностью корректировать нарушенный индометацином кровоток.

ТЕМА 11. КОКАЛЬЦИГЕНИН (КАЛЬЦИТОНИН – ГЕН-РОДСТВЕННЫЙ ПЕПТИД)

Кокальцигенин (CGRP) был открыт в 1982 г., а в 1984 г. выделен и охарактеризован как возможный нейромедиатор первичных афферентов, наряду с субстанцией Р.

Распределение CGRP. Показано широкое распределение этого пептида в центральной и периферической нервной системе. У человека, обезьян, лошадей, свиней, кошек, морских свинок, крыс, мышей, лягушек особенно высокая плотность нервных волокон с CGRP в спинном мозге обнаружено в областях, получающих сенсорные входы, и в меньшей степени – в симпатических и парасимпатических отделах. Наиболее высокое содержание CGRP показано в ядрах миндалины, стриатуме, ядре и спинном тракте тройничного нерва, желатинозной субстанции и задних рогах спинного мозга. Умеренное содержание этого пептида найдено в ядрах промежуточного мозга, ядре солитарного тракта, срединном возвышении. Содержащие CGRP тела нейронов, локализируются в преоптической области, ГТ, вентромедиальном таламусе, ядрах миндалины, гиппокампе, мозжечке, сенсорных и моторных ядрах черепных нервов. CGRP присутствует в парасимпатических нервах внутриглазных мышц и кровеносных сосудов, сенсорных нервах роговицы, в амакринных клетках сетчатки. Характерно сосуществование CGRP с веществом Р в телах и аксонах сенсорных нейронов. Распределение CGRP в периферических тканях коррелирует с локализацией дистальных окончаний сенсорных нервов эпидермиса, дыхательных путей, сердечно-сосудистой системы, ЖКТ, мочеполовой системы.

Рецепторы кокальцигенина. Распределение рецепторов CGRP в головном и спинном мозге соответствует распределению содержания самого пептида. В настоящее время известно 2 типа рецепторов CGRP: CGRP₁ и CGRP₂.

Физиологическая роль CGRP:

1. Оказывает влияние на электрическую активность сенсорных элементов, увеличивает частоту разрядов афферентных волокон.
2. Выполняет роль медиатора в переднем мозге, снижает частоту разрядов нейронов коры больших полушарий и ГТ.
3. Обладает широким спектром фармакологической активности по отношению к дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной системе.

4. Является сильным вазодилататором, модулирует тонус кровеносных сосудов.

5. Оказывает как сокращение, так и расслабление гладкой мускулатуры.

АДРЕНОМЕДУЛЛИН (АДМ). АДМ – один из «молодых» по времени исследования физиологически значимых регуляторных пептидов. Интерес к АДМ в большей мере ограничивается рассмотрением его роли при кардио-васкулярной патологии, в первую очередь, при инфаркте миокарда, лёгочной гипертензии, почечной недостаточности, в кардиохирургии. Выявлено значительное увеличение содержания АДМ при выше упомянутых заболеваниях.

АДМ – пептид, выделенный впервые в 1993 г. из клеток феохромоцитомы человека, относится к числу наиболее эффективных вазоактивных факторов. Пептид выявляется в крови, сердце, васкулярных тканях, лёгких, почках, эндокринных железах, спинномозговой жидкости.

Строение АДМ. Химическая структура АДМ составлена комбинацией 52 а/к остатков, которая на 21% соответствует гомологии CGRP. Аминокислотная цепочка компануется в пространственные кольца, связуемые дисульфидными мостиками.

АДМ, как и его структурный аналог N-про-АДМ (N-концевой 20-членный фрагмент), образуются в результате ферментативного гидролиза препро-АДМ. Судя по структуре, АДМ и N-про-АДМ гидролизуются тканевыми протеиназами, однако конкретная информация представлена скудно.

Оба активных АДМ-пептида вызывают гипотензивные эффекты и в равной мере тормозят базальную секрецию АКТГ в культуре клеток гипофиза, однако, молекулярные механизмы их действия, по-видимому, различаются. АДМ стимулирует продукцию NO эндотелиальными клетками, тогда как N-про-АДМ действует как пресинаптический тормозный медиатор адренергической иннервации сосудов.

Синтез и релизинг АДМ в сосудистых клетках стимулируется цитокинами и ГК.

Рецепторы АДМ и механизмы сопряжения. Исходно установлено, что физиологические эффекты АДМ реализуются через CGRP₁. C-концевой фрагмент АДМ является их антагонистом в сосудистых клетках. Рецепторы к этому пептиду обнаружены также в надпочечниках и в мозге. Исследования молекулярных механизмов, объясняющих мембранные и рецепторные эффекты адrenomедуллинов малочисленны. Однако, в принципе речь идёт о тех же системах – стереотипных трансдукторных механизмах, разнообразно и специфически включающихся в реализацию физиологического ответа. В неонатальных миоцитах сердца пептид стимулировал активность цАМФ и цГМФ.

Физиологическая роль АДМ:

1. АДМ вызывает депрессорный и отрицательный инотропный эффекты.
2. АДМ и N-про-АДМ принадлежит немаловажная роль в регуляции натрий- и диуретического гомеостаза. Пептиды стимулируют диурез, подавляют секрецию альдостерона и натрия. Адреномедуллины влияют непосредственно на почечный кровоток и функцию канальцев.
3. В мозге АДМ тормозит потребление воды и соли.
4. Длительная инфузия АДМ вызывает развитие гипотензивного эффекта.
5. АДМ на перфузируемом препарате предсердия крысы снижает вызванную нагрузкой секрецию ANP, не влияя на его базальный уровень.
6. АДМ стимулирует релизинг окситоцина в секреторных клетках.
7. В исследованиях беременных женщин обнаружено повышенное содержание пептида в плазме крови, которое не коррелировало с его уровнем в цереброспинальной жидкости. Считают, что продуцируемый плацентой и фетальными мембранами пептид участвуют в контроле сократительной активности миометрия.

Роль АДМ в патологии:

1. Уровень АДМ в плазме крови существенно увеличен при инфаркте миокарда. Это обстоятельство послужило поводом для исследования пептида в качестве возможного прогностического показателя в комплексе с натрийуретическими факторами.
2. Повышенный уровень АДМ в крови выявлен при различных формах гипертензии.
3. Уровень АДМ повышен в крови при гипердинамической циркуляции.

ГАЛАНИН. Выделен из кишечника свиньи, в 1983 г. К. Tatemoto. Иммуногистохимическими методами определено его распределение в центральной и периферической нервной системе. Причём, распределение эндогенного галанина коррелирует с распределением его рецепторов. Есть сведения о сосуществовании галанина с классическими медиаторами:

- а) с АХ в базальных ганглиях, в нейронах переднего мозга, дающих проекции к гиппокампу;
- б) с ГАМК в ГТ;
- в) с ДА в нейронах аркуатного ядра, дающих проекции к срединному возвышению.

Физиологическая роль галанина:

1. Принимает участие в регуляции процессов памяти и обучения.
2. Оказывает ингибирующее влияние на высвобождение АХ и субстанции Р из пресинаптических нервных окончаний в метасимпатической нервной системе.

3. Потенцирует высвобождение НА из терминалей постганглионарных симпатических нервов.

4. Модулирует высвобождение КА и АХ в ЦНС.

ПАНКРЕАТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ. НЕЙРОПЕПТИД Y (НПУ). НПУ был открыт в 1982 г. K. Tatemoto. Обнаружен в структурах ЦНС и периферической нервной системы.

Распространение НПУ. Клеточные тела, содержащие НПУ находятся в коре больших полушарий, базальных ганглиях, гиппокампе, ГТ, ядре солитарного тракта. Особенно высокое содержание этого пептида наблюдается в периферических нервах сердечно-сосудистой системы и в регулирующих её нервных центрах. Много клеточных тел с НПУ локализируются в вентролатеральной области продолговатого мозга, даёт проекции в спинной мозг, который сам не содержит клеточных тел с НПУ. Содержащие НПУ нервные волокна, образуют сплетения вокруг мозговых сосудов, обильно снабжают эпикард, миокард, эндокард, коронарные сосуды, а также кровеносные сосуды лёгких, почек, желудка, селезёнки, брыжейки и других органов разных видов млекопитающих, в том числе и человека. Более высокая плотность периваскулярных сплетений с НПУ отмечается в венах по сравнению с артериями. Большинство этих нервов принадлежит постганглионарным симпатическим нейронам. Кроме симпатической нервной системы, НПУ содержится в кишечных ганглиях (межмышечных и подслизистых ганглиях).

НПУ может сосуществовать с некоторыми другими нейропептидами и классическими нейромедиаторами: в коре больших полушарий с ГАМК, в энтеральных ганглиях с ВИП, в мозговом веществе надпочечников с энкефалинами, в стриатуме, ГТ, коре больших полушарий с соматостатином. Наиболее характерным является сочетание НПУ с КА: нейроны головного мозга, периферическая симпатическая нервная система, постганглионарные волокна симпатических нервов сердечно-сосудистой системы, мозговое вещество надпочечников. Известно, что одновременное высвобождение НПУ и НА в системный кровоток у человека отмечается при состояниях физиологического стресса.

Рецепторы НПУ и механизмы сопряжения. Специфическое связывание НПУ с рецепторами прослежено в коре больших полушарий, гиппокампе, ГТ, среднем мозге, стриатуме, продолговатом мозге, в гладких мышцах сосудов почек. Содержание НПУ и его рецепторов изменяется при патологиях и с возрастом. Специфическое связывание НПУ происходит только в присутствии Ca^{2+} и ингибируется антагонистами Ca^{2+} -каналов.

Выделяют 5 типов рецепторов НПУ: Y_1 (в мозге, в симпатических нейронах), Y_2 , Y_3 , Y_4 , Y_5 (дорзальный ГТ, супрахиазматическое ядро ГТ, передний ГТ, красное ядро, вентромедиальное ядро). Механизмы сопряжения включают: 1). Ca^{2+} -зависимые ПК, в регуляции активности рецепторов участвует процесс фосфорилирования белков и 2). Через Gi-белки $\rightarrow \downarrow$ АЦ $\rightarrow \downarrow$ внутриклеточной концентрации цАМФ.

Физиологическая роль НПУ:

1. НПУ оказывает модулирующее влияние на метаболизм моноаминов в ЦНС. При введении НПУ в желудочки мозга увеличивается концентрация НА в стволе мозга, ГТ, гиппокампе.

2. НПУ оказывает влияние на нейронную активность в отделах ЦНС, регулирующих деятельность сердечно-сосудистой системы.

3. НПУ участвует в регуляции АД, повышает.

4. НПУ оказывает прямое сосудосуживающее влияние на коронарные сосуды.

5. НПУ оказывает прямое действие на гладкие мышцы кишечника, ингибируя моторику толстой кишки.

6. Помимо прямого нейромедиаторного эффекта, НПУ обладает модулирующим влиянием на НА-кую синаптическую передачу на пре- и постсинаптическом уровнях. На пресинаптическом уровне – подавляет высвобождение НА, на постсинаптическом уровне – регулирует аффинность постсинаптических α_2 -рецепторов, что выражается в усилении НА-ергических ответов.

Нейропептид YY (НПУУ). Был открыт и выделен в 1982 г., как и НПУ, К. Tatemoto. Выявляется в головном мозге в очень низких концентрациях, тогда как в эндокринной системе наоборот, преобладает по сравнению с НПУ. Содержащие НПУУ тела нейронов обнаружены в продолговатом мозге. В периферической нервной системе НПУУ локализуется в нейронах энтеральных ганглиев. Специфическое высокоаффинное связывание НПУУ в головном мозге прослеживается в гиппокампе, гипофизе, ГТ, миндалине. На периферии – гладкие мышцы кровеносных сосудов. НПУУ связывается с пре- и постсинаптическими рецепторами НПУ. По своему физиологическому действию НПУУ является как правило агонистом НПУ.

МОТИЛИН. Впервые изолирован Брауном в 1978 г. из слизистой оболочки свиней. Было показано, что во время голодной периодической деятельности желудка и ДПК уровень мотилина в крови повышался одновременно с началом усиления двигательной активности. Для данного пептида характерно наличие видовой специфичности: антитела к мотилину свиньи не вступают в реакцию с мотилином собаки. Пептид состоит из 28 аминокислотных остатков.

Физиологическая роль мотилина:

1. Увеличивает моторику желудка и ДПК.
2. Возбуждает секрецию пепсина желудком и секрецию поджелудочной железы.
3. Ускоряет эвакуацию содержимого желудка.
4. Усиливает кровообращение по слизистой оболочке желудка и кишки.
5. Понижает синтез протеина.
6. Сокращает нижний пищевой сфинктер.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Ашмарин И.П., Каменский А.А., Ляпина Л.А. и др.* Глипролины как самостоятельные регуляторы и стабилизаторы других пептидов // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* 2002. № 1. С. 24–27.
2. *Ашмарин И.П., Каменский А.А., Ляпина Л.А. и др.* Глипролины как самостоятельные регуляторы и стабилизаторы других пептидов // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* 2002. № 1. С. 24–27.
3. *Ашмарин И.П., Каразеева Е.П., Ляпина Л.А., Самонина Г.Е.* Регуляторная активность простейших пролинсодержащих пептидов PG, GP, PGP и GPGG и возможные источники их биосинтеза // *Биохимия.* 1998. Т. 63, вып. 2. С. 149–155.
4. *Биохимия мозга* / Под ред. И.П. Ашмарина. СПб.: Госуниверситет, 1999. 328 с.
5. *Гомазков О.А.* Нейропептиды и мозг. М., 1997. 170 с.
6. *Гомазков О.А.* Пептиды в кардиологии. М.: МАТЕРИК АЛЬФА, 2000. 143 с.
7. *Гомазков О.А.* Нейропептиды и ростовые факторы мозга. М., 2002. 239 с.
8. *Гомазков О.А.* Нейрохимия ишемических и возрастных патологий мозга. М., 2003. 200 с.
9. *Катиунг Б.Г.* Базисная и клиническая фармакология: В 2 т. М.; СПб.: Бином-Невский Диалект, 1998. Т. 1. С. 347–378.
10. *Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И.* Рецепторы. Москва; Волгоград: Семь ветров, 1999. 640 с.
11. *Середенин С.Б.* Регуляторные пептиды – глипролины // *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2002. № 4. С. 417–419.
12. *Тутельян В.А., Хавинсон В.Х., Малинин В.В.* Физиологическая роль коротких пептидов в питании // *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* 2003. Т. 135, № 1. С. 4–10.
13. *Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Южанов В.В. и др.* Пептидергическая регуляция гомеостаза. СПб.: Наука, 2003. 194 с.
14. *Шатаева Л.К., Хавинсон В.Х., Радионова И.Ю.* Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотезы). СПб.: Наука, 2003. 222 с.
15. *Эдеева С.Е., Копылова Г.Н., Бакаева З.В. и др.* Протекторные и терапевтические эффекты глипролинов при психоэмоциональном стрессе, вызванном введением холецистокинина-4 // *Бюл. exper. биологии и медицины.* 2008. Т. 145, № 3. С. 270–274.
16. The IUPHAR compendium of receptor characterization and classification / P.A. Humphrey, R.R. Ruffolo et al. London: Cambridge, 1998. 267 p.

Учебное издание

**Татьяна Алексеевна Замощина, Елена Юрьевна Просекина,
Татьяна Александровна Томова**

**ОСНОВЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ.
ПРОСТАНОИДЫ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ**

Учебное пособие

Издание подготовлено в авторской редакции
Оригинал-макет – А.И. Лелоюр
Дизайн обложки – А.В. Бабенко

Подписано к печати 16.02.2009 г. Формат 60х84/16.
Ризография. Бумага офсетная. Гарнитура Times.
Усл. печ. л. 4,9. Тираж 50 экз. Заказ № 26.

Отпечатано на оборудовании
редакционно-издательского отдела
Томского государственного университета
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36. Корп. 4. Оф. 111
Тел. 8+(382-2)–52-98-49

Digital Library (repository)
of Tomsk State University
<http://vivaldi.nsc.ru>

1-989822

Томский госуниверситет 1878



Печата библиотека 00735138