

НАУЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

А. И. БРИСКИН

ПРОБЛЕМЫ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ НЕЙРО-ЭНДОКРИННОЙ
РЕГУЛЯЦИИ

(по материалам симпозиума в Ереване 26—30 октября 1972 г.)

Работами последних лет установлено важное значение нейросекреторной активности гипоталамуса, раскрыты механизмы регуляции секреции гипоталамических нейрогормонов и их взаимодействия с органами-мишенями. Полученные данные представляют большой теоретический интерес и имеют неоценимое значение для развития биологической и медицинской науки в будущем.

В этой связи привлекло к себе пристальное внимание обсуждение проблем гипоталамической нейро-эндокринной регуляции на симпозиуме по нейрохимии, проведенном в Ереване с 26 по 30 октября 1972 г. и организованном Обществом биохимиков Армении и Институтом биохимии АН Армянской ССР. Участниками симпозиума были академик А. Е. Браунштейн, академик АМН СССР В. Н. Орехович, академик АН Груз. ССР Н. А. Кометиани, академик АН АрмССР Р. Х. Бунятыян, член-корр. АН АрмССР А. А. Галоян, видные исследователи из США (Р. Гиймен, А. Лайта, Д. Тауэр, А. Турян, Д. Ловенштейн, Э. Нобль), проф. Ракич из Югославии и ряд ученых из Москвы, Ленинграда, Тбилиси, Ростова на Дону и других городов.

Проблемам гипоталамической нейро-эндокринной регуляции было посвящено специальное заседание, проходившее под председательством проф. Р. Гиймена (США) и члена-корр. АН АрмССР А. А. Галояна (Ереван). На этом заседании были заслушаны и подвергнуты широкому обсуждению четыре основных доклада: А. А. Галояна «Новые гормоны гипоталамо-нейрогипофизарной системы», Г. А. Левдиковой и В. Н. Ореховича «Коллагеноподобный фермент, выделенный из гипоталамуса», Р. А. Захарьяна и А. А. Галояна «Некоторые данные о молекулярных механизмах образования и выделения полипептидных нейрогормонов», Р. Гиймена, В. Вейл и Г. Грант «Химия гипоталамических факторов высвобождения. Изучение структурно-функциональных взаимоотношений ТРФ и ЛРФ».

В докладе А. А. Галояна отмечалось, что в руководимой им лаборатории еще 10 лет тому назад были получены данные, свидетельствующие о наличии интимных функционально-биохимических взаимоотношений между медиаторами и нейросекреторной активностью гипоталамуса. Было установлено, что основную роль в образовании и выделении нейросекретов (и гормонов, содержащихся в них) играет ацетилхолин-холинэстеразная система. При интрацистернальном или внутрикаротидном введении медиаторов наблюдаются не только различные сдвиги в содержании и характере распределения нейросекреторных гранул в микроструктурах гипоталамуса, но и отчетливое изменение работы сердца (усиление сердечных сокращений) и расширение коронарных сосудов. В настоящее время накоплен большой экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что гистамин и многие химические агенты М-холиномиметического ряда способствуют выбросу в кровь коронароактивных гормонов из мозга. С помощью различных методов экстракции и очистки из гипоталамуса и нейрогипофиза крыс, коров и свиней удалось выделить три фракции, две из которых оказывали сильное коронарорасширяющее действие. При внутривенном введении подопытным животным этих фракций в дозах 0,5—1,0 мкг/кг, условно названных препаратами «К» и «С», коронар-

ный кровоток увеличивался на 200–300%. Этот эффект продолжался несколько часов и не сопровождался заметными изменениями системного кровяного давления.

Удалось показать исключительно благоприятное влияние препаратов «К» и «С» при острой экспериментальной ишемии миокарда, которое сохраняется и после гипофизэктомии. Введение животным других биологически активных веществ (вазопрессин, окситоцин, ГАМК, серотонин, норадреналин, циклического АМФ, АКТГ и др.), которые могут быть выделены из гипоталамуса и нейрогипофиза, не вызывало характерных для действия препаратов «К» и «С» изменений коронарного кровотока. Препараты «К» и «С» существенно отличались от вышеуказанных соединений и по своим физико-химическим свойствам. Все это свидетельствовало о том, что выделенные из гипоталамуса активные фракции являются специфическими веществами, избирательно действующими на венечные сосуды. Действующие начала их, очевидно, имеют нейрогормональную природу. Будучи низкомолекулярными полипептидами, они комплексируются, как было установлено, со специфическими белковыми носителями и в случае необходимости легко отделяются от них.

С помощью электронного микроскопа показано, что нейросекреторные гранулы гипоталамуса, содержащие вышеописанные начала, сосредоточены в основном в нижних (III–VII) слоях, наибольшую коронарорасширяющую активность обнаружили экстракты, полученные из VII слоя и из нейрогипофиза. В крови, оттекающей из коронарных вен ишемизированного сердца животных, с помощью бумажной хроматографии и специального анализа выявлены низкомолекулярные вещества, в состав которых входит ряд нингидринположительных и ультрафиолетпоглощающих нингидринотрицательных соединений, обладающих способностью усиливать секрецию гипоталамусом коронарорасширяющих нейрогормонов. После повреждения гипоталамуса эффект этих соединений на коронарное кровообращение исчезает.

Стимулирующие выброс гипоталамических коронарорасширяющих гормонов вещества были выявлены в крови и при раздражении периферических волокон блуждающего нерва, иннервирующих поджелудочную железу. В условиях аллоксанового диабета, как показали исследования Р. А. Алексаняна, раздражение блуждающего нерва уже не приводит к расширению коронарных сосудов. Отсюда следует, что существует, по-видимому, определенная причинная связь между коронарной патологией и состоянием инсулярного аппарата, также находящегося, как известно, в тесной зависимости от гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

Доклад А. А. Галояна вызвал многочисленные вопросы и стал предметом оживленной дискуссии, в ходе которой подчеркивалось, что представленные в докладе данные существенно расширяют и дополняют наши представления о гипоталамусе как органе, осуществляющем взаимосвязь между центральной нервной системой и эндокринной регуляцией. Они позволили сформулировать оригинальную концепцию о возможности продуцирования в гипоталамусе, наряду с релизинг-гормонами, нейрогормонов совершенно иного назначения, а также возможности действия гипоталамических гормонов не через гипофиз, а парааденогипофизарным путем. На основании этих данных складывается стройная теория о материальном нейрохимическом субстрате взаимоотношений между центральной нервной системой и деятельностью сердца, в частности коронарным кровообращением. В сентябре 1972 г. Фармакологический комитет принял решение о проведении широкого клинического изучения препарата «С» в ряде ведущих клиник страны при нарушениях коронарного кровообращения. Складывается впечатление, что в лаборатории, руководимой А. А. Галояном, в течение последних лет создается важный научный центр по изучению нейрохимических основ деятельности гипоталамуса и ее роли в сложной системе нейроэндокринной регуляции. Большое теоретическое и практическое значение работ А. А. Галояна и его сотрудников подчеркнул в самом выступлении С. А. Мирзоян.

Заключая обсуждение доклада, Р. Гиймен (США) отметил: «Я совершенно уверен, что эти небольшие по своим размерам пептиды гипоталамуса представляют огромный теоретический и практический интерес, что блестяще было показано работами А. А. Галояна, известными в США уже много лет. Я думаю, что открытые им гормоны най-

дуг широкое клиническое применение, если учесть насколько распространены во всем мире сердечно-сосудистые заболевания».

С большим вниманием на оимпознуме был заслушан доклад Г. А. Левдиковой и В. Н. Ореховича, посвященный коллагеноподобному ферменту, выделенному из гипоталамуса и гипофиза. В докладе были сообщены результаты исследований, проведенных в 1972 г. и выявивших новый протеолитический фермент гипоталамо-гипофизарной системы. Он оказался способным расщеплять синтетический гексапептид по связи аланин—глицин пополам на 2 трипептида. После очистки примерно в 100 раз, благодаря которой фермент лишился многих примесей и прежде всего аминотетракарбокситрипептидаз, удалось установить, что он обладает своеобразной узконаправленной коллагеназоподобной активностью с широким оптимумом действия (рН 7—9). Не исключено, что образование рилизинг-факторов, представляющих собой пептиды небольшого размера, связано с действием именно такого рода протенназ в тканях гипоталамуса.

Председательствующий А. А. Галоян, высоко оценив упомянутый доклад, отметил, что в нем были представлены новые интересные данные, которые свидетельствуют о наличии тесной взаимосвязи между протеолитическими ферментами и пептидными гормонами. Особый интерес представляет высказанное В. Н. Ореховичем предположение о возможном существовании единого белкового пула, из которого образуются биологически активные полипептиды.

Молекулярным механизмам образования и выделения полипептидных гормонов гипоталамо-нейрогипофизарной системы был посвящен доклад Р. А. Захарьяна и А. А. Галояна. Авторами в постмитохондриальной рибосомальной фракции нейрогипофиза обнаружена цитоплазматическая фракция ДНК, имеющая двухцепочную структуру и составляющая 5% от общего количества ДНК. По нуклеотидному составу она идентична ядерной ДНК, но имеет меньший мол. вес и значительно интенсивнее метится P^{32} и H^3 -тимидином. С помощью автораддиографии было установлено, что цитоплазматическая ДНК появляется в цитоплазме при определенных состояниях клетки.

При сравнительном изучении совместно с лабораторией А. Н. Белозерского ДНК из тканей разных отделов головного мозга было выявлено отчетливое различие по содержанию в них 5-метилцитозина. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что уровень метилирования в гипоталамусе и нейрогипофизе значительно ниже по сравнению с другими отделами мозга. Можно полагать, что не только различные отделы мозга, но и различные группы нейронов отличаются друг от друга уровнем метилирования. Ингибирующее действие дексаметазона на образование и выделение АКТГ и кортикотропин-рилизинг фактора сопровождается изменениями в функционировании генома нервных клеток и в первичной структуре ДНК в сторону увеличения степени метилирования, а также нуклеотидного состава всех изученных фракций хромосомно-ядрышковой РНК головного мозга. Выявленные эффекты дексаметазона можно рассматривать как следствие его ингибирующего влияния на синтез ДНК-подобной РНК. Блокада глюкокортикоидами синтеза ДНК и транскрипции РНК является, по всей вероятности, существенным моментом в реализации эффектов гормонов коры надпочечников на генетический аппарат мозговой ткани, в частности их ингибирующего действия на образование и выделение кортикотропин-рилизинг фактора и АКТГ.

Структурнофункциональным взаимоотношениям тиреотропин-рилизинг фактора (ТРФ) и лактоген-рилизинг фактора (ЛРФ) был посвящен доклад проф. Р. Гиймена (США). В руководимой им лаборатории в 1962 г. были впервые получены данные, свидетельствующие о существовании вещества, которое затем было названо ТРФ. Но лишь спустя 7 лет (в 1969 г.) удалось сообщить о выделении ТРФ в виде гомогенного препарата. В 1970 г. после получения достаточных количеств синтетического ТРФ появилась возможность начать его клиническое изучение.

За 7 лет (с 1962 по 1969 гг.) удалось собрать ткань головного мозга от 5 миллионов овец, чтобы в конце концов получить 1 миллиграмм ТРФ, который по всем критериям являлся гомогенным препаратом. К этому времени было установлено, что ТРФ является трипептидом, состоящим из остатков глютаминовой кислоты, гистидина и пролина. Имевшиеся тогда в распоряжении методы исследования, в частности масс-спектроме-

трия, были недостаточно чувствительными для обеспечения возможности установления структуры молекулы ТРФ, если учесть, что для этой цели необходимо было использовать не менее 0,5 мг препарата. В связи с этим было решено синтезировать указанный трипептид во всех возможных вариантах с различной последовательностью входящих в него аминокислот, после чего исследовать биологическую активность всех полученных соединений.

Было синтезировано шесть трипептидов, которые, к сожалению, оказались неактивными. Только после длительной и чрезвычайно напряженной работы, в ходе которой было синтезировано множество разновидностей трипептида, было получено активное соединение с последовательностью аминокислот глютаминовая кислота—гистидин—пролин, обладающее всеми физиологическими и физическими свойствами, присущими нативному ТРФ. В ходе дальнейших исследований удалось синтезировать около ста аналогов ТРФ. Один из них (3-метилгистидин-ТРФ) превосходил в 10 раз по биологической активности исходный ТРФ. В то же время очень близкий к нему 1-метилгистидин—ТРФ оказался совершенно неактивным.

При изучении механизма действия ТРФ были получены данные, которые позволили предположить, что он опосредует свои эффекты через систему аденилциклаза—цикл. АМФ. Экспериментально удалось показать способность ТРФ в концентрациях, измеряемых пикомолями (*in vitro*) или наномолями (*in vivo*), вызывать высвобождение гипофизом тиреостимулирующего гормона (ТСГ) в течение нескольких секунд. Классической эффективной дозой ТРФ при введении его в периферическую вену подопытного животного является один нанограмм. Это действие ТРФ не тормозится антибиотиками, ингибирующими синтез белка. Биосинтез ТРФ осуществляется, по-видимому, в очень небольшой по площади зоне вентрального гипоталамуса, вес которой не превышает 1,0—1,5 мг.

Оказалось, что ТРФ стимулирует секрецию не только ТСГ, но и пролактина. В настоящее время имеется возможность из клеток опухоли гипофиза выделить два соответствующих вида рецепторов. Исследованиями, проведенными на лактирующих коровах, показано, что инъекция ТРФ приводит к значительному увеличению продукции молока. К сожалению, значение этих фактов для нормальной физиологии объяснить пока не представляется возможным.

В 1971 г. в лаборатории проф. Р. Гиймена и лаборатории А. Шелли (в Нью-Орлеане) удалось выделить еще один гипоталамический пептид, который был назван ЛРФ. С помощью двух ферментов—пиро-лактолил-карбоксипептидазы и химотрипсина—установлена структура овечьего ЛРФ, оказавшегося декапептидом. К настоящему времени синтезированы относительно большие количества (несколько грамм) ЛРФ и его аналогов. Некоторые из этих аналогов оказались антагонистами ЛРФ. В США к антагонистам ЛРФ проявляется значительный интерес, как к возможным средствам для контроля гонадотропной активности гипофиза, которые могут найти широкое клиническое применение взамен ниспользуемых в настоящее время стероидов.

Помимо вышеупомянутых пептидов, в лаборатории Р. Гиймена в сотрудничестве с д-ром Бергесом удалось выделить из гипоталамуса в чистом виде третий пептид, о существовании которого предполагали давно. Его молекула состоит из остатков 14 аминокислот. На конце ее имеется алланил-глицил, обе половины молекулы соединены между собой дисульфидным мостиком. Он обладает свойством тормозить секрецию гипофизом гормона роста.

В течение последних двух лет накоплены первые результаты клинического применения ТРФ и ЛРФ. С помощью радиоиммунологического метода было показано, что даже у больных с первичной микседемой, у которых, как известно, уровень ТСГ в плазме крови уже значительно повышен, назначение 0,5 мг ТРФ приводит к дальнейшему повышению секреции ТСГ. Этот факт служит убедительным доказательством того, что введение ТРФ в гораздо меньшей дозе (10 мкг) здоровым лицам должно стимулировать у них секрецию гипофизарного ТСГ. Во многих медицинских центрах США, а также в Европе и Японии ТРФ используется сейчас в диагностических целях у больных с различными формами опухоли гипофиза.

Применение синтетического ЛРФ у больных с недостаточностью гонадотропной функции гипофиза путем повторных назначений различных доз (от 10 до 150 мкг) показало, что через несколько часов после введения имеет место отчетливо выраженная стимуляция секреции ЛГ и ФСГ.

Таким образом, гипоталамические пептиды, характеризующиеся сравнительно простым строением, представляют теперь не только академический интерес, но и приобретают огромное практическое значение как чрезвычайно эффективные лекарственные средства. Свой доклад Р. Гиймен закончил словами: «Можно выразить уверенность, что такая же судьба ожидает, очевидно, гипоталамические коронарорасширяющие пептиды, открытые А. А. Галояном, блестящий доклад которого мы обсуждали в начале сегодняшнего заседания».

Доклад Р. Гиймена был высоко оценен присутствующими на симпозиуме учеными и вызвал многочисленные вопросы, отвечая на которые автор подробно осветил методы, используемые в его лаборатории для выделения и очистки рилизинг-факторов, а также для подтверждения их чистоты и гомогенности, для синтеза модифицированных аналогов. Значительный интерес был проявлен к вопросу о возможности проникновения рилизинг-гормонов в общий кровоток. Ведь известно, что некоторые из этих гормонов, например кортикотропин-рилизинг фактор, обнаруживаются в нейрогипофизе. Каково биологическое значение этого феномена? Р. Гиймен отметил, что между дном третьего желудочка и аденогипофизом имеется специальная система капилляров, которая представляется идеальным путем для переноса гипоталамических рилизинг-факторов в гипофиз. Р. Гийменом в сотрудничестве с Портером (США, Даллас) были выявлены ТРФ и ЛРФ в поргальных сосудах, берущих начало у дна третьего желудочка (базальный гипоталамус), и показано, что инъекция указанных пептидов в один из этих микрососудов приводит к освобождению соответствующих гормонов аденогипофиза. Можно полагать, что в нормальных физиологических условиях не происходит, очевидно, систематического высвобождения рилизинг-факторов в периферический кровоток. Во всяком случае, доказательств в пользу такого предположения до сего времени не получено. Однако в патологических условиях или во время циклических сдвигов это, вероятно, может иметь место. Так, было установлено, что при гипопитуитаризме после гипофизэктомии вполне возможен выход ТРФ в общую циркуляцию. На последней конференции эндокринологов в Вашингтоне было сообщено об обнаружении ЛРФ в крови и изменениях его концентрации в течение менструального и овариального циклов у здоровых женщин. В лаборатории Р. Гиймена и ряде других лабораторий были получены данные, указывающие на возможность циркулирования в крови какого-то фермента, который специфически инактивирует ТРФ при помощи неизвестного пока механизма. О существовании в периферической крови аналогичного фермента для ЛРФ пока никаких данных нет.

Заклячая обсуждение доклада Р. Гиймена, председательствующий А. А. Галоян обратил еще раз внимание на важное значение приведенных фактов о способности ТРФ стимулировать секрецию гипофизом не только ТСГ, но и пролактина. Интересно, что ТРФ одинаково действовал на мембранные структуры гипофиза как в норме, так и при наличии опухоли этого органа. В связи с этим нельзя исключить возможности того, что при патологических состояниях гематоэнцефалический барьер может становиться проницаемым для рилизинг-гормонов, а специфические рецепторы могут реагировать на их действие не обычной, а видоизмененной или своеобразной реакцией. Поэтому следует, очевидно, серьезно подумать об изучении возможности разных проявлений функции рилизинг-гормонов.

Еще задолго от открытия химической структуры рилизинг-гормонов Р. Гиймен предсказал, что они имеют полипептидную природу. Это обстоятельство сыграло решающую роль в правильной направленности нейро-эндокринологических исследований. В лаборатории Р. Гиймена проведена поистине гигантская работа по сбору и переработке 500 тонн ткани гипоталамуса для того, чтобы получить миллиграммовые количества выделенных факторов.

Исключительно важными являются данные о выделении в чистом виде и раскрытии структуры гипоталамического фактора, ингибирующего секрецию гормона роста. Все больше и больше накапливается фактов о наличии в гипоталамусе не только рилизинг-гормонов, но и соответствующих факторов ингибирования, т. е. веществ противоположно направленного действия.

Следует однако признать, что для поддержания гомеостаза в организме человека и животных необходимо наличие и более высокого уровня регуляции.

В целом прошедший симпозиум продемонстрировал огромные успехи, достигнутые за последние годы отечественными и зарубежными учеными, работающими в области нейрохимии. Наиболее значительные и важные достижения принадлежат по праву одной из самых молодых отраслей нейрохимии—нейро-эндокринологии, изучающей процессы, лежащие в основе взаимосвязи двух ведущих регуляторных систем—нервной и эндокринной, которые играют центральную роль в жизнедеятельности живых организмов. Узловым звеном этой взаимосвязи является гипоталамус, в ядрах которого продуцируются многочисленные нейрогормоны, обеспечивающие регулирующее влияние на все эндокринные железы. Отсюда понятно то исключительно большое внимание, которое привлекают к себе проблемы гипоталамической нейро-эндокринной регуляции, занимавшие центральное место в работе указанного симпозиума.