

**ВСЕСОЮЗНЫЙ СИМПОЗИУМ «ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ  
И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ»**

(27—29 декабря 1990 г., Нижний Новгород)

С 27 по 29 декабря 1990 года в Нижнем Новгороде проходил Всесоюзный симпозиум «Физиологическое и клиническое значение регуляторных пептидов». В организации симпозиума принимали участие Академия наук СССР, Академия медицинских наук СССР, министерство здравоохранения СССР, Горьковский научно-исследовательский педиатрический институт.

На симпозиуме были рассмотрены итоги исследований по проблеме регуляторных пептидов (РП), проведенных в нашей стране в течение последних лет и намечены наиболее перспективные направления дальнейших исследований.

В работе симпозиума приняли участие 139 человек. Было проведено одно пленарное и 7 секционных заседаний. Пленарное заседание было посвящено кардинальным проблемам современной пептидологии, на секционных заседаниях рассматривались фундаментальные и эволюционные проблемы физиологии пептидов, структура и функциональные свойства РП, мембранные и молекулярные механизмы действия РП на возбудимые структуры, структурно-функциональная организация передачи информации РП, РП в регуляции функций нервной и висцеральной систем организма, использование РП в клинической практике.

В докладе *А. М. Уголева* (Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, Ленинград) были изложены основные проблемы эволюции эндогенных регуляторных олигопептидов и представлен прогноз дальнейших исследований гормональной системы желудочно-кишечного тракта. Приведены многочисленные примеры структурного сходства и различия пептидных молекул, выделенных из эволюционно далеких биологических источников, показано функциональное разнообразие гомологических структур и функциональное сходство пептидов с сильно различающейся последовательностью аминокислотных остатков. Эта информация представляет собой богатейший материал для формулирования основных принципов эволюции функций, для объяснения явления полифункциональности (полипотентности) и для характеристики целого ряда других важнейших физиологических явлений.

Принципиальным вопросам методологии исследования биологического действия пептидов был посвящен доклад *И. П. Ашмарина* (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова) «Пря-

мые, косвенные и иллюзорные эффекты пептидов-бioreгуляторов». Докладчик обратил внимание на то, что заключения о новых физиологических функциях РП часто делаются на основании использования доз или концентраций РП, в  $10^3$ — $10^6$  раз превышающих их содержание в тканях и жидкостях организма. Следует при этом учитывать, что реальные концентрации свободных РП в  $10^2$ — $10^3$  раз ниже определяемых с помощью радиоиммунных и иммуноферментных методов, так как РП действуют и транспортируются связанными с белками-носителями. В связи с этим наиболее адекватно исследование эффектов концентраций в  $10^2$ — $10^3$  меньших, чем те, которые описываются как средние при использовании радиоиммунных и иммуноферментных методов. Неправомерны оценки эффектов РП, основанные только на повышении их концентрации; действительная оценка может быть дана только с учетом эффекта снижения концентрации РП. Решение вопроса о прямом или косвенном происхождении наблюдаемого эффекта РП возможно лишь при выявлении рецепторов к данному РП. Исходя из изложенных соображений, *И. П. Ашмарин* сформулировал минимальные требования к объективности оценки того, насколько выявленная биологическая активность данного РП обеспечивает его физиологические функции в организме. Минимальный комплекс тестов, позволяющих признать эффект пептида соответствующим его биохимическим и физиологическим функциям в организме включает:

а) изучение действия пептида в концентрациях, превышающих средние концентрации в тканях и жидкостях организма не более, чем в 100 раз;

б) изучение действия «сверхмалых» концентраций ( $10^{-12}$  М и менее);

в) изучение эффектов пассивной иммунизации к пептиду;

г) изучение эффектов активной иммунизации к пептиду;

д) выявление рецепторов к пептиду, локализованных в клетках, тканях и органах, прямо связанных с биохимическим и/или физиологическим эффектом.

Веским подтверждением положения о тесной взаимосвязи и взаимодействии эндогенных пептидов могут служить данные, приведенные в обстоятельном сообщении *П. К. Климова и Г. М. Барашковой* (Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, Ленинград). Согласно этим данным, отклонения от базального уровня либо из регуляторных пептидов обязательно воспринимаются рецепторами соответствующих структур как мозга, так и висцеральных органов, что приводит к изменениям содержания других пептидов в крови. Так, введение через ту же самую канюлю в бледный шар соматостатина снижало содержание в крови эндогенного гастрина, а введение метэксфалина, напротив, повышало содержание гастрина; введение субстанции «Р» вызывало незначительные изменения содержания в крови гастрина и инсулина, но достоверные изменения содержания соматостатина и вазопрессина. Инъекция субстанции «Р» в хвостатое ядро увеличивала содержание в крови инсулина в

течение 90 мин. Обобщая результаты многолетних исследований, *П. К. Климов* объяснил физиологическое действие регуляторных пептидов специфичностью молекулярного кода, многовариантностью рецепторов клеток-мишеней, каскадным действием пептидов. Он сформулировал «камертонный» принцип отражения содержания пептидов мозга в периферической крови, выдвинул представления о меняющемся «образе» пептидной мозаики при смене физиологических ситуаций, обосновал тесную взаимосвязь регуляторных пептидов с другими эндогенными веществами организма, в том числе—с моноаминами при рефлекторных актах в пищеварительной системе. Предложенный им «камертонный» принцип действия пептидов по существу отражает тот факт, что пептиды образуют всеобразные функциональные семейства в центральных звеньях, «прикосновения» к которым сказывается на сонатросных периферических звеньях («камертонный» эффект).

Выдвинутое *П. К. Климовым* представление о «камертонном» эффекте, как и каскадные однонаправленные регуляторные процессы, осуществляемые короткоживущими пептидами, отражают системный характер действия РП. РП функционируют не автономно, а в тесной связи с другими РП и эндогенными веществами так, что наблюдаемый эффект всегда представляет собой результат включения системы РП и других эндогенных веществ. Системному характеру эффектов РП был посвящен и доклад *Р. И. Кругликова* (Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии АН СССР, Москва), рассмотревшего место нейропептидов в нейрохимических механизмах обучения и памяти. В докладе были приведены данные об участии РП в регуляции функционирования нейрохимических систем, обеспечивающих интегративную деятельность мозга. В частности, было показано, что влияние РП на процессы обучения и памяти зависит от состояния нейромедиаторных систем мозга. В свою очередь, РП модулируют активность нейромедиаторных систем, модифицируя их влияние на процессы обучения и памяти.

Совокупность полученных данных позволяет видеть в системных эффектах РП механизм системной детерминации деятельности организма. *О. А. Гомазков* посвятил свой доклад проблеме уровней молекулярной и структурной организации системы РП в клетке. Выдвинутая автором концепция включает три основных положения, суть которых состоит в следующем. Все этапы синтеза РП и их секреция контролируются обратными связями, зависящими от характера и интенсивности вызываемого РП эффекта, реализующимися через соответствующие рецепторы, активация которых в конечном счете приводит к изменениям активности генетического аппарата клеток. В одной и той же клетке могут синтезироваться несколько предшественников и далее—РП. Вместе с тем биогенез РП в разных тканях носит специфический характер, определяемый особенностью данной ткани. Изложенные положения составляют теоретическую схему взаимосвязи между биосинтезом и функциями РП.

С обобщением многолетних исследований по эволюционным аспектам пептидологии выступила *Т. И. Солертинская* (Институт эволюционной физиологии и биохимии им. Н. М. Сеченова, Ленинград). Исследования, основанные на теории *А. И. Карамяна* о критических этапах развития интегративной деятельности мозга в филогенезе, позволили установить, что нейрохимическая пептидная регуляция поведенческой активности в эволюции реализуется по общему принципу развития от диффузных неспециализированных форм влияния к дискретным специализированным формам. Предполагается, что распределение и содержание РП в ядрах мозговых структур коррелирует с их влиянием на ЦНС.

Среди материалов, посвященных эволюционным аспектам пептидологии, большой интерес представляют также результаты изучения влияния РП на пищеварительные функции у рыб (*П. К. Климов, И. А. Шпарковский*, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова АН СССР, Ленинград; Мурманский морской биологический институт Кольского научного центра АН СССР). В хронических экспериментах на рыбах разного филогенетического уровня и экологической специализации исследованы влияния внутривенного или интрацентрального введения ряда РП на двигательную и миелектрическую активность пищеварительного тракта, интенсивность питания и пищевое поведение. Обнаружена зависимость эффектов РП от способа введения, исходного функционального состояния, видовых особенностей рыб, выявлены некоторые нейрохимические механизмы исследованных реакций. Высказано предположение о наличии у рыб рецепторов к некоторым РП.

Оригинальное представление об участии регуляторных пептидов в формировании и поддержании устойчивых функциональных состояний организма выдвинули *С. А. Титов, О. И. Маликонова* (Институт системных исследований АН СССР). Исходя из концепции акад. *И. П. Ашмарина*, в соответствии с которой освобождение или эндогенное введение определенного пептида вызывает запуск каскадного процесса выброса одних соединений при ингибировании освобождения других, авторы полагают, что каждый из освобожденных пептидов регулирует скорость выброса не только новых пептидов, но и тех, которые принадлежат предыдущим ступеням каскада. Таким путем формируется система с большим числом положительных, отрицательных и взаимоугнетающих обратных связей. Соотношение концентраций функционирующих пептидов и непептидных соединений создают определенный нейрохимический «фон» или «контекст», который в значительной мере предопределяет реакции организма на разнообразные воздействия. Авторы предполагают, что разработанные на основании этих предпосылок модели позволят оценивать состояние организма и прогнозировать, в частности, реакции на введение фармакологических препаратов.

Ряд сообщений был посвящен дизайну пептидов. В докладе *Л. К. Полевой* (Институт органического синтеза АН Латвийской

СССР) были рассмотрены молекулярные механизмы эффектов некоторых вазоактивных пептидов и особенности специфических клеточных рецепторов. Учет особенностей рецепторов позволяет осуществлять модификации природного пептида, направленные на повышение его стерической и функциональной комплементарности с рецептором.

*Т. А. Гудалиева* и соавт. (НИИ фармакологии АМН СССР) обобщили новый принцип пептидного дизайна. Этот принцип исходит из предположения о том, что многие лекарственные вещества с неизвестным механизмом действия проявляют свою активность через пептидергические рецепторы. Отсюда вытекает возможность конструирования новых биологически активных олигопептидов, исходя из структуры лекарственных веществ. Путем такого пептидного дизайна классического ноотропа пирacetama получена группа дипептидов-ноотропов, активность которых в  $10^3$  раз превосходит активность пирacetama. Интересно, что один из высокоактивных дипептидов—Pug-Asp-NH<sub>2</sub> представляет собой фрагмент и возможный метаболит вазопрессина. По данным *Р. У. Островской* и соавт. (НИИ фармакологии АМН СССР), такие дипептиды нормализуют высшие интегративные функции мозга, нарушенные различными повреждающими воздействиями. Большого внимания заслуживает выявленная авторами способность исследованных пептидов нормализовать врожденные нарушения процессов обучения и памяти у животных, подвергавшихся воздействию алкоголя в пренатальном периоде.

Физиологическим эффектам синтетических аналогов трех ранее неизвестных пептидов, выделенных из мозга быка, было посвящено сообщение *В. В. Шерстнева* и соавт. (Институт нормальной физиологии им. П. К. Анохина АМН СССР, Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР). Детально охарактеризовав поведенческие эффекты трех аналогов, авторы пришли к заключению о целесообразности дальнейшего изучения роли исследованных аналогов в механизмах агрессивности, обучения и памяти.

Убедительные данные о биологических эффектах пептидов семейства бомбезинов представили *А. Т. Марьянович* и соавт. (Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Ленинградский государственный университет). Как показали авторы, введение бомбезина в мозг вызывает брадикардию, системную гипертензию и вазодилатацию в специализированных органах теплоотдачи. Введение бомбезина кроликам с предварительно удаленными ушными раковинами не вызывает гипотермии. Сопоставляя влияние на терморегуляцию бомбезина, нейротензина и субстанции Р, авторы показали, что бомбезин повышает теплоотдачу без увеличения теплопродукции, а два других пептида стимулируют оба процесса. Факт существования в головном мозгу эндогенных бомбезиноподобных пептидов указывает, по мнению авторов, на их участие в центральных механизмах регуляции кровообращения.

*А. Е. Громова* и соавт. (Институт биофизики АН СССР, Институт белка АН СССР) провели сравнительный анализ влияния апа-

логов Леу-энкефалина на исследовательское поведение крыс. Авторами выявлена зависимость эффектов пептидов от времени и дозы введения вещества. Физиологическая активность исследованных аналогов Леу-энкефалина обусловлена их химической структурой.

Новые данные о биологических эффектах пептида дельта-сна (ПДС) привел в своем сообщении *В. М. Ковальзон* (Институт эволюционной морфологии и экологии животных им. А. Н. Северцова АН СССР). В тщательных исследованиях не удалось обнаружить гипногенной активности ПДС, но такая активность была обнаружена у некоторых аналогов ПДС с повышенной устойчивостью к аминокептидазам. Предполагается, что гипногенные эффекты аналогов ПДС связаны с их взаимодействием с нейропептидами, участвующими в регуляции сна. Как отмечает автор, в настоящее время формируется представление о ПДС как о тропотропном гормоне, который является новым, ранее не известным звеном эндокринной регуляции организма.

В докладе *А. М. Уголева, А. Д. Дмитриева и М. Б. Смирновой* «Кишка как двойной эндокринный орган» представлены экспериментальные доказательства того, что в эндорфинпродуцирующих клетках кишечника (нервных, эндокринных и клетках иммунной системы) могут иметь место два типа негативной регуляции синтеза эндорфинов: в одних клетках синтез эндорфинов может подавляться глюкокортикоидами, как это имеет место в клетках передней доли гипофиза, в других клетках синтез эндорфинов может подавляться дофамином, как это происходит в клетках промежуточной доли. Путем расчленения тонкого кишечника крысы на слизистый и мышечно-серозный слои показано, что до 80% иммунореактивного гастрина локализуется в мышечно-серозном слое. Таким образом, по крайней мере в тонком кишечнике крыс основными продуцентами пептидов могут быть нервные клетки, а не эндокринные, как считалось до сих пор.

*В. Г. Зилев, С. К. Рогачева, Л. И. Иванова* (кафедра нормальной физиологии I ММИ им. И. М. Сеченова) сообщили о повышении толерантности оборонительной мотивации к этанолу под влиянием субстанции Р. Обобщая собственные и литературные данные, авторы пришли к важному заключению о возможности использования пептидов в качестве средств, повышающих устойчивость организма к этанолу или подавляющих отрицательное влияние алкоголя на формирование целесообразного поведения.

Большое внимание участников симпозиума привлекло сообщение *М. В. Козловой и В. А. Коленчука* (Институт экспериментальной кардиологии ВКНЦ АМН СССР) о нейротрофических эффектах опиоидных пептидов и вещества Р. В экспериментах, проведенных на диссоциированных культурах спинного мозга, было обнаружено повышение выживаемости нейронов под влиянием Леу-энкефалина, далагина и субстанции Р. Отмечены усиление нейритного роста и изменения адгезивности. Как полагают авторы, отмеченные эффекты мо-

гут лежать в основе лечебного действия даларгина при боковом амиотрофическом склерозе.

Принципиальные вопросы классификации эндогенных регуляторных омегапептидов затронули в своих докладах *А. А. Замятнин* и *Т. В. Стрекало* (Институт нормальной физиологии им. П. К. Анохина АМН СССР, Москва). На основании анализа современных подходов к структурной классификации олигопептидов *А. А. Замятнин* пришел к заключению о том, что задача классификации олигопептидов сводится к сравнительному анализу первичных структур. Автором предложен 50%-ный критерий оценки гомологии первичных структур. Предлагаемый критерий может быть использован для анализа дипептидов и даже «монопептидов», то есть аминокислот. Что касается функциональной классификации эндогенных регуляторных омегапептидов, то основу такой классификации могут составить наборы клеток, обладающих рецепторами к данному пептиду и реализующих ту или иную форму функциональной активности.

С помощью компьютерного подхода продемонстрировано многообразие структур и функций физиологически активных олигопептидов, дана характеристика первого в нашей стране специализированного банка данных EROP—Moscow. Совокупность данных этого банка была рассмотрена как самостоятельный объект исследования, что позволило автору провести структурную классификацию природных аминокислотных последовательностей, в результате чего получены группы структурно и функционально родственных молекул. Результаты этой классификации в дальнейшем использовались для выявления функционально-значимых химических радикалов, характерных для физиологически активных веществ пептидной природы. О банке данных по структурно-функциональной организации и активности пептидов и белков-регуляторов сообщили *А. М. Ерошкин* и соавт. (НПО «Вектор», ВНИИ молекулярной биологии, Новосибирская область).

Большой интерес участников симпозиума вызвал доклад *А. И. Масюка, В. К. Рыбальченко* и соавт. (Институт физиологии Киевского университета), в котором рассматривалось взаимодействие вазопрессина и субстанции P с плазматической мембраной гепатоцитов.

Взаимодействие пептидных гормонов субстанции P с плазматической мембраной клетки начинается с их погружения в липидную фазу мембран. Затем вследствие изменения конформации молекулы субстанции P оказывается возможным ее взаимодействие с неспецифическими рецепторами, в результате которого активизируются системы вторичных посредников и реализуется соответствующий физиологический эффект. В этой связи интересно, что *А. А. Болдырев* в монографии «Биологические мембраны и транспорт ионов» (М., Изд. МГУ, 1985) высказал предположение о том, что безрецепторное действие нейропептидов осуществляется помимо влияния на специфические нейрональные рецепторы. Все более широкое применение начинают находить пептиды в клинической практике. На симпозиуме были

представлены материалы, отражающие две основные линии клинического использования пептидов. Первая из них—исследование изменений содержания пептидов в крови при различных заболеваниях, вторая—лечебное применение пептидов. По данным *Е. М. Стародуба* (Государственный медицинский институт, Тернополь), синтетические пептиды кальцитрин и далаггин оказывают выраженный лечебный эффект при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Обнадёживающие данные были приведены в сообщении *Г. А. Вартамяна, М. В. Неуйминой* и *А. Н. Чибисова* (НИИ экспериментальной медицины, Ленинград), посвященном участию нейропептидов в лечении центральных двигательных расстройств. Установлено, что при органических повреждениях центральных моторных систем (травма, опухоль, инсульт) в цереброспинальной жидкости проявляется низкомолекулярный пептидный фактор, имеющий отношение к клиническим проявлениям центрального пареза. Позднее в цереброспинальной жидкости появляется другой высокомолекулярный пептидный фактор, комплементарный первому и образующий с ним единый комплекс, который является важным фактором компенсаторно-восстановительных перестроек. Исходя из этого, авторами предложен метод ликворотерапии для лечения остаточных двигательных нарушений центрального генеза. Полученные данные свидетельствуют о выраженном лечебном эффекте, в происхождении которого определенную роль играют компенсаторные перестройки в нейродинамике мозга в виде активации стволовых образований и симметричных структур интактного полушария.

Помимо рассмотренных докладов на симпозиуме был представлен целый ряд интересных сообщений, затрагивающих различные аспекты пептидологии и использования пептидов в клинической практике.

В целом, материалы симпозиума свидетельствуют о возросшем методическом уровне исследований и повышении интереса к клиническим аспектам пептидологии. Намечилось сближение проблемы регуляторных пептидов с фундаментальными проблемами нормальной и патологической физиологии и нейробиологии. Можно ожидать, что концентрация усилий исследователей на наиболее актуальных направлениях пептидологии приведет к дальнейшему углублению представлений о роли регуляторных пептидов в жизнедеятельности организма.

КЛИМОВ К. П., КРУГЛИКОВ Р. И.