

УДК 66.094.53:577.122

РЕГУЛЯЦИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ И ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

ПАРСАДАНЯН Г. К.

Ряд нейротрансмиттеров, гормонов и других регуляторных агентов влияет на уровень фосфорилирования специфических белков в НС. Эти многоэтапные каскадные системы могут включать в качестве вторых мессенджеров cAMP, cGMP и Ca^{2+} . Обсуждается роль фосфопротеинов в синаптической передаче, равно как и в мобилизации запасных углеводов и липидов и в других метаболических процессах, происходящих в нервной ткани. Описываются свойства эндогенных фосфопротеинфосфатаз, занимающих важное место в сохранении динамического равновесия указанных каскадных систем.

Посттрансляционная ковалентная модификация белков занимает ведущее место в молекулярных механизмах биологической регуляции. По существующим оценкам установлено не менее 125 разных видов такой модификации белков, включая изменение их аминокислотных остатков [1]. Из них лишь небольшое число процессов можно считать легкообратимыми: а) фосфорилирование—дефосфорилирование, впервые показанное для гликоген-фосфоорилазы [2, 3]; б) ацетилирование—деацетилирование [4]; в) аденилирование—деаденилирование [5]; г) уридилирование—деуридилирование [6]; д) метилирование—деметиличрование [7] и е) переходы типа $SS \rightleftharpoons SH$.

Обратимая модификация белков предполагает наличие двух ферментов, один из которых ее вызывает, а другой возвращает видоизмененный белок в его исходное состояние «покоя». Поскольку ковалентные модификации часто приводят к изменению активности взаимопревращающихся ферментных белков, их рассматривали как «метаболические выключатели» для включения или выключения метаболических процессов в ответ на аллостерические стимулы. В настоящее время это рассматривается как процесс, приводящий к установлению динамического равновесия, которое может колебаться в широких пределах при изменении концентрации эффекторов, регулирующих активность ферментов, ответственных за данные взаимопревращения. Исключительную роль в этих каскадных системах как по своей распространенности, так и по значению модифицируемых ферментных и неферментных белков играют реакции фосфорилирования—дефосфорилирования.

В настоящем обзоре подвергнуто рассмотрению значение процессов фосфорилирования белков для функционирования ЦНС. Ввиду полифункциональности фосфопротеинов (ФП) нервной ткани соответствующее внимание в нем уделено как регуляции уровня фосфорилированности различных ферментов клеточного сока (контролирующих энергетический обмен) и ядерных гистонов (контролирующих синтез новых белков), так и изменению состояния фосфорилирования мембранных белков, участвующих в регуляции проницаемости и реализации синаптической передачи.

Вопросы, связанные с гормональной и клеточной регуляцией каскадных систем, участвующих в регуляции уровня фосфорилированности ФП в тканях, а также описание структуры и функции отдельных ФП рассмотрены в ряде обзоров, опубликованных за последние годы [8—12]. Многочисленные физиологические и биологические реакции организма регулируются ферментами, участвующими в метаболизме ФП, активность которых находится под контролем соответствующих гормонов или нейромедиаторов (рис. 1). Центральное место в этих процессах занимает сАМР, играющая роль посредника и усилителя поступающих сигналов. Стимуляция специфической аденилатциклазы, присутствующей в ткани-мишени, гормонами и нейромедиаторами приводит к интен-

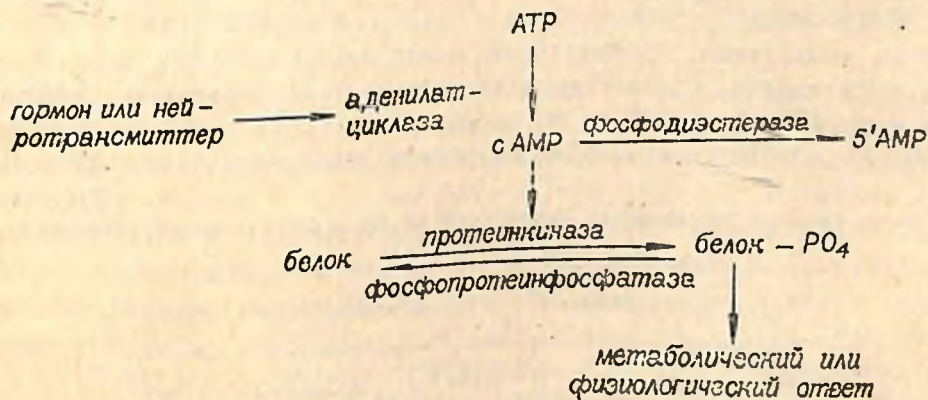


Рис. 1. Участие фосфорилирования белков в реализации биологических эффектов гормонов или нейромедиаторов, действующих через сАМР [36]

сивному превращению АТР в сАМР. Вновь образованный сАМР либо гидролизуетсся фосфодиэстеразой в 5'-АМР, либо активирует протеинкиназы (ПКазы), приводя к фосфорилированию субстратных белков. В свою очередь эти белки контролируют скорость определенных метаболических процессов. Список ферментов—ФП постоянно пополняется и ныне превышает 25 [10]. Значительная часть этих ферментов участвует в регуляции обмена углеводов и липидов ЦНС, требуемых для покрытия необходимых затрат энергии в клетке.

Фосфорилирование ядерных белков имеет решающее значение для регуляции функций генома эукариотов: фосфорилирование негистоновых ядерных белков стимулирует генетическую активность и изменяет схему транскрипции [13], а включение фосфатных групп в гистоны сни-

жает их репрессорный эффект в отношении матричной активности ДНК [14].

Субклеточная локализация ключевых ферментов, связанных с системой циклических нуклеотидов, сама по себе говорит о тесной связи между циклическими нуклеотидами и функцией нейромедиаторов. В опытах на коре больших полушарий головного мозга крыс показано, что, будучи тесно связанной с синаптическими мембранами, аденилатциклаза локализована преимущественно во фракции синапсом [15]. Там же локализована большая часть активности с-нуклеотид-зависимых ПКаз и фосфопротеинфосфатазы (ФПФазы) [16—18]. Таким образом, к настоящему времени в синаптической области обнаружен полный молекулярный аппарат, необходимый для функционирования сАМР в качестве второго мессенджера. Свойства специфических ФП нервной ткани, а также участие системы фосфорилирования—дефосфорилирования белков в синаптической передаче будут рассмотрены отдельно.

Во всех перечисленных выше процессах внимание исследователей было привлечено больше к ПКазам и вопросам их регуляции, чем к ФПФазам. Это можно объяснить тем, что выделение и очистка киназ вызывают меньше затруднений и динамический контроль этих систем проявляется в первую очередь на киназном этапе.

Классификация протеинкиназ. Регуляция многих ПКаз осуществляется веществами, являющимися медиаторами сигналов, поступающих извне клетки, и существующая система классификации основывается на специфической чувствительности ПКаз к этим агентам (табл. 1). сАМР-зависимая ПКаз, охарактеризованная как явно по-

Таблица 1

Классификация протеинкиназ, основанная на их регуляции специфическими агентами [10]

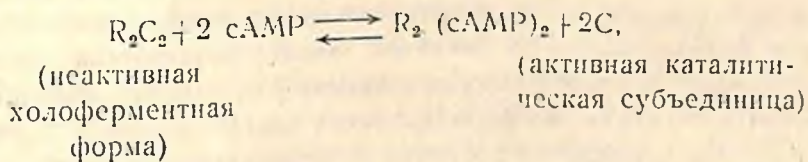
Формы протеинкиназ	Установленные разновидности
сАМР-зависимые	Типы I и II, отличающиеся природой регуляторных субъединиц, но имеющие сходные каталитические субъединицы
сGMP-зависимые	Одна
Ca ²⁺ -зависимые	Киназа фосфоорилазы и киназа легких цепей миозина
Зависимая от двухспиральной РНК	Одна
Неспецифические или "мессенджер-зависимые"	Множество

лифункциональный фермент [19], была первой из ПКаз, классифицированных по этому свойству. За ней последовала сGMP-зависимая ПКаз, обнаруженная в некоторых тканях, а том числе и в цитозоле клеток мозжечка [20]. В третью группу ферментов, классифицированных этим способом, входят Ca²⁺-зависимые ПКазы [21]. К ним, по-видимому, относится ПКаз мембран мозга, изученная Schulman,

Greengard [22]. Наиболее новой ПКазой, отнесенной к семейству ферментов, регулируемых специфическими агентами, является ПКаз, зависящая от двухнитевой РНК [10]. Неспецифические или мессенджер-независимые ПКазы образуют группу ферментов, для которых пока не обнаружены непосредственные эффекторы. Эти ПКазы называются по субстратам, на которые они воздействуют.

сАМР-зависимые ПКазы. Рис. 1 дает схематическое представление о механизме, с помощью которого сАМР может модифицировать или модулировать разнообразие биологических реакций.

Специфичность реакций на сАМР объясняется природой ПКаз в разных тканях. К настоящему времени накоплены данные, свидетельствующие о том, что сАМР-зависимые ПКазы нервной ткани могут вовлекаться в такие функциональные процессы, как регуляция биосинтеза нейромедиаторов в пресинаптических окончаниях [23, 24], реализация постсинаптического действия определенных НТ [25] и регуляция функции микротрубочек [26, 27]. Активация сАМР-зависимых киназ типов I и II происходит следующим образом:



где R—регуляторная, а C—каталитическая субъединицы. Отличие между двумя типами сАМР-зависимых ПКаз заключается в том, что ПКазы II способна к автофосфорилированию. Механизм этого процесса подробно изучен Е. С. Севериным и сотр. [28, 29]. Показано, что фосфорилирование каталитической субъединицы ПКазы II мозга свиньи по гистидину является промежуточным этапом в фосфотрансферной реакции, протекающей по типу «пинг-понг», после чего происходит перенос фосфата на регуляторную субъединицу. Этот процесс облегчает диссоциацию фермента под действием сАМР. Пока не выяснен смысл существования двух типов сАМР-зависимых ПКаз. Из-за отсутствия отличий в субстратной специфичности значение их, по-видимому, заключается в соответствующей локализации в клетке и (или) различной чувствительности к сАМР.

В тканях имеются термостабильные белковые ингибиторы сАМР-зависимых ПКаз, один из которых, так называемый «ингибитор типа II», обнаружен в мозгу [30]. Большое разнообразие природных субстратов сАМР-зависимых ПКаз внесло затруднения в критерии специфичности этих ферментов. Считалось, что субстраты этих ПКаз должны обладать определенной специфической трехмерной конфигурацией [31, 32]. Однако опыты с фосфорилированием малых пептидов [33] и денатурированными белками [34, 35] привели к выводу, что главную роль при определении специфичности играет первичная структура белковых субстратов. Для природных ферментных субстратов ПК характерны две аминокислотные последовательности: Lys-Arg-x-Ser(P) и Arg-Arg-x-Ser(P) [10]. В обеих последовательностях бросается в гла-

за наличие в ближайшем окружении Ser(P) пары основных аминокислот.

сGMP-зависимая ПКазы. О биологической роли сGMP известно гораздо меньше, чем о сАМР, однако имеющиеся данные свидетельствуют о важности его как межклеточного регулирующего вещества [36, 37]. По аналогии с сАМР-зависимой ПКазой было высказано предположение о существовании сGMP-зависимой киназы, способной реализовать биологические эффекты сGMP. Она была обнаружена в ряде тканей позвоночных, в том числе и в цитозоле клеток мозжечка [20], где позднее был обнаружен и специфический эндогенный субстрат для этой сGMP-зависимой ПКазы, оказавшийся цитоплазматическим белком с М 23 кД. [38]. сGMP-зависимый фермент катализирует фосфорилирование всех фракций гистонов [39]. Кроме того, как и сАМР-зависимый фермент, он может фосфорилировать ряд ферментов, участвующих в метаболизме гликогена и липидов [10]. Из внешних сегментов палочек сетчатки также выделена растворимая фракция, обладающая активностью сGMP-зависимой ПКазы [40]. Работы с синтетическими пептидами позволили предположить, что сАМР- и сGMP-зависимые ПКазы обладают сходной, но не идентичной субстратной специфичностью, что может быть опознано по линейной последовательности аминокислот, включающей участок фосфорилирования [41, 42]. Эти пептиды, соответствующие участкам фосфорилирования вокруг серина-32 и серина-36 в гистоне H_{2В} проявляли различия в предпочтении к сGMP- и сАМР-зависимым ПКазам.

Таблица 2

Нейромедиаторы, связанные с системой сАМР [38]

Нейротрансмиттер	Антагонист
Дофамин	Хлорпромазин
Серотонин	ЛСД
Норадреналин (3)	Пропранолол
Гистамин (H ₂)	Метамид
Октопамин	Фентоламин

Ca²⁺-зависимые киназы. Кальций является регуляторным агентом исключительной важности. Деполяризация мембран в пресинаптических нервных окончаниях (и в других секреторных структурах) вызывает приток внеклеточного кальция через специфические кальциевые каналы [43]. Биосинтез нейромедиаторов [44] и их высвобождение [45] из окончаний относятся к числу физиологических процессов, регулируемых Ca²⁺. По-видимому, некоторые из эффектов Ca²⁺ в пресинаптических нервных окончаниях могут осуществляться или модулироваться посредством фосфорилирования специфических белков вследствие активирования Ca²⁺-чувствительной ПКазы [36, 46]. Было установлено, что агенты, способствующие транспорту кальция через плазматические мембраны нервных окончаний, изменяют фосфорилирование специфических эндогенных белков в интактных синапсосах мозга крыс [47]. Однако в отмытых от цитоплазмы синапсосах такого фос-

фосфорилирования не наблюдали [48]. Выяснилось, что клеточный сок содержит термостабильный фактор, восстанавливающий Ca^{2+} -зависимое фосфорилирование в промытых мембранах.

Этот термостабильный Ca^{2+} -связывающий белок, кальмодулин [49], играет основную роль в модулировании эффектов Ca^{2+} на синаптическую передачу [50—52]. Кальмодулиновая гипотеза нейромедиации [50, 51] утверждает, что Ca^{2+} входит в пресинаптические нервные окончания в ходе деполяризации, связывается с кальмодулином и инициирует определенные биохимические процессы, модулирующие синаптическую активность. Ca^{2+} -рецепторный белок обнаружен не только в цитоплазме синапсом [50], но и в препаратах постсинаптических уплотнений и синаптических везикулах [53, 54].

Связанный с деполяризацией захват Ca^{2+} интактными синапсами стимулирует фосфорилирование белков DPH-L и DPH-M (м соответственно 50—52 кД и 60—64 кД) [55], а также белка с М 80 кД, служащего субстратом и для сАМР-зависимой ПКазы [47].

Ряд препаратов, ингибирующих Ca^{2+} -зависимое фосфорилирование синаптических белков (трифлюоперазин, фенитоин и диазепам), одновременно подавляет высвобождение нейромедиаторов [51, 56, 57]. Инактивирование лабильной кальмодулин-киназной системы синаптических везикул приводит к потере ими способности к высвобождению нейромедиаторов [58]. Активирование Ca^{2+} -зависимого фосфорилирования в синаптических везикулах и синаптических мембранах при проникновении Ca^{2+} в нервные окончания приводит к аллостерическим изменениям в специфических мембранных белках, что облегчает последующее взаимодействие синаптических везикул с синаптической мембраной [50]. В настоящее время установлено, что белки DPH-L и DPH-M, участвующие в высвобождении нейромедиаторов, идентичны тубулинам α и β . Ca^{2+} -стимулируемая тубулинкиназа отличается от сАМР-зависимых ПКаз [55].

Тубулин, главный цитоскелетный белок, может участвовать в модуляции взаимодействия между везикулами и мембранами. Это происходит за счет изменений в физико-химических свойствах тубулина при его фосфорилировании, приводящих к образованию нитевидных структур, четко отличающихся от микротрубочек [52, 55]. Таким образом, агрегация тубулина может образовывать важную биологическую систему для преобразования сигнала Ca^{2+} в структурные изменения, способствующие взаимодействию между мембранами и везикулами. Если мембранный тубулин подвергается столь же существенным изменениям при фосфорилировании, как и синаптоплазматический, это должно отразиться на структуре и проницаемости мембран.

Биосинтез нейромедиаторов также находится под контролем Ca^{2+} . В цитозоле клеток коры и ствола мозга обнаружена специфическая ПКаз, стимулируемая кальмодулином, которая фосфорилирует триптофан-5-монооксигеназу, участвующую в регуляции биосинтеза серотонина и катехоламинов [59]. Стимулируемая Ca^{2+} (15 мкМ) эндоген-

ная ПКазы осуществляет фосфорилирование миеллина в периферическом нерве [60].

Недавно описан также Ca^{2+} - и кальмодулин-связывающий белок, специфичный для нервной ткани [61]. Этот белок, кальциневрин, ингибирует процесс стимулирования кальмодулином некоторых ферментативных систем. Кальциневрин состоит из 2 субъединиц с М 61 кД (субъединица А) и 15 кД (субъединица В). Субъединица В, хотя и не идентичная кальмодулину, связывает 4 иона Са на молекулу. Таким образом, кальциневрин А взаимодействует с двумя Ca^{2+} -связывающими факторами: кальмодулином и субъединицей В. Из этих данных следует, что кальциневрин участвует в регуляции концентрации свободного Ca^{2+} в ЦНС [61].

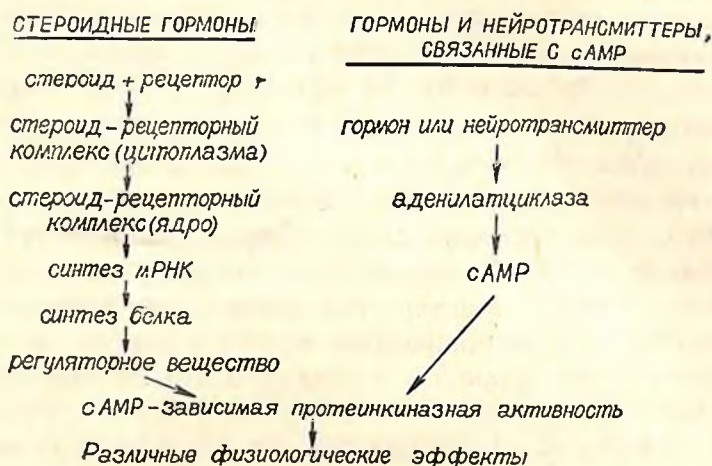


Рис. 2. Предполагаемая молекулярная основа биологического взаимодействия стероидных гормонов с гормонами и нейромедиаторами, эффект которых реализуется через cAMP [36]

Регуляция ПКазы стероидными гормонами. Множественные эффекты стероидных гормонов на ткани-мишени либо синергичны, либо антагонистичны действиям тех гормонов, чье участие в регуляции метаболизма реализуется через cAMP (рис. 2), но лишь в немногих случаях могут объясняться непосредственным влиянием этих гормонов на уровне cAMP [61]. Этот аспект особенно интересен, так как представители всех основных классов стероидных гормонов влияют на системы фосфорилирования белков в тканях-мишенях [62]. В любом случае введение соответствующего стероидного гормона влияло на аутофосфорилирование регуляторной субъединицы cAMP-зависимой ПКазы каталитической субъединицей этого фермента. Эффект специфичен в отношении соответствующей ткани, имеет место при малых дозах стероидных гормонов, проявляется в течение 1 ч после введения гормона и связан с изменениями в уровне активности cAMP-ПКазы [62]. Детальный механизм участия стероидных гормонов в аутофосфорилировании регуляторной субъединицы cAMP-зависимой ПКазы пока не ясен. Однако эф-

фekt этот опосредован и связан с индукцией синтеза белка *de novo* в противоположность прямому воздействию сАМР на ПКазу. Приведенные данные свидетельствуют, что фосфорилированные белки служат для медиации не только эффектов сАМР и тех регуляторов, которые действуют через сАМР, но управляются и рядом других альтернативных систем.

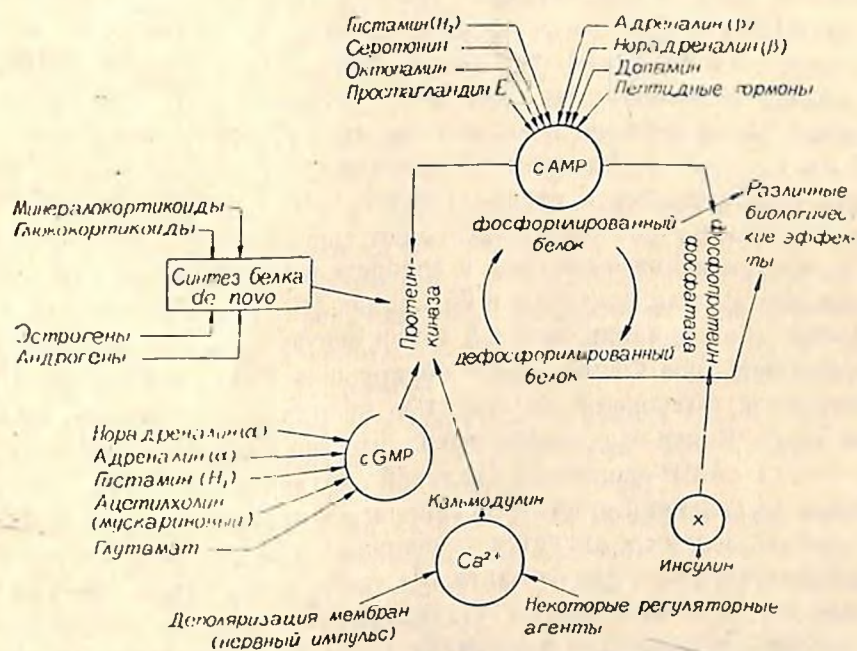


Рис. 3. Участие фосфорилирования белков в реализации биологических эффектов ряда регуляторных агентов [36]. В схеме приведены примеры эффектов ряда регуляторных агентов, ряд эффектов которых может опосредоваться через регуляцию фосфорилирования специфических белков. Не указаны некоторые регуляторы, эффект которых реализуется через сАМР, равно как и ряд регуляторных агентов, действующих, по-видимому, посредством транслокации

Таким образом, фосфорилирование белков является универсальным механизмом реализации эффектов многих биологических регуляторов. Концепция эта схематически представлена на рис. 3.

Классификация ФПФаз. Интенсивность и продолжительность периферического действия многих гормонов и нейромедиаторов, проявляющегося в фосфорилировании белков в тканях-мишенях, в значительной мере зависят от эндогенных ФПФаз, играющих важную роль в сохранении динамического равновесия многих каскадных систем. Противоречивость и фрагментарность сведений о ФПФазах не позволили пока создать общепринятой классификации этих ферментов. Поскольку аминокислотная последовательность, особенности трех- и четырехмерной конформации этих ферментов пока не изучены, сведения о количестве их изоформ в той или иной ткани основываются на таких признаках, как разная электрофоретическая подвижность, величина M , субстратная

специфичность. К середине 70-х годов стала преобладать точка зрения о существовании мультифункциональной ФПФазы, которая при осаждении этанолом переходит из высокомолекулярной формы в форму с M_{35} кД [63]. Позднее было высказано предположение о существовании холоферментной формы этого фермента, обозначенной как ФПФаза-Н, и ее каталитической субъединицы С, которая образует холофермент, соединяясь с ингибиторной субъединицей [64].

Многие данные противоречат, однако, гипотезе о мультифункциональной ФПФазе. Antoniw и др. [65] нашли, что активность мультифункциональной ФПФазы составляет лишь 75% от общей ФПФазной активности, остальная же ее часть принадлежит специфическим ФПФазам. Не исключена возможность, что субстрат-специфичные фосфатазы могут быть составлены из неспецифичной каталитической субъединицы, сочетающейся в разных комбинациях с регуляторными, которые тем или иным способом определяют специфичность фермента [66].

Первые сведения о наличии и распределении ФПФазы в различных отделах мозга были получены в 60-х годах [67, 68]. Присутствие в субклеточных образованиях нервной ткани фосфатазы, специфичной к дефосфорилированию ФПФаз, было обнаружено Маено и Greengard [17]. Значительной ФПФазной активностью обладала мембранная фракция ткани мозга. Ранее было установлено, что фракция синаптических мембран богата сАМР-зависимой ПКазной активностью [16]. Сочетание ФПФазы с указанной киназой предполагает активный обмен фосфата в мембранных белках и является уникальным для мозговой ткани. Наличие множественных форм фосфатазы в ткани мозга также впервые установлено Маено и Greengard [17]. В опытах на клетках нейробластомы и нейроглии, выращенных в тканевых культурах, доказано, что наличие 4-х форм ФПФазы свойственно клеткам одного типа, а не является следствием гетерогенности клеток коры. Наличие множественных форм ФПФаз (и ПКаз) в одной клетке обретает вполне определенный биологический смысл, если принять во внимание множественные функции, которые сАМР выполняет в любой клетке. Сведения о существовании отдельных фракций ФПФазы в нервной ткани содержатся также в сообщении Albin и Newburg [69]. С помощью ИОХ нам удалось изолировать 5 пиков ФПФазы из экстракта мозга крыс [70], отличавшихся по удельной активности, субстратной специфичности, термостабильности, рН оптимуму действия.

Регуляция активности ФПФаз. Согласно [10], активность ФПФаз управляется конкуренцией между разнообразными ФП-субстратами этого фермента, неконкурентным взаимодействием белкового модулятора (или модуляторов) с ФПФазой и специфическим взаимодействием лигандов с ФП-субстратами фермента, то есть эффектами, направленными на субстрат. Следует упомянуть также о модуляции активности ФПФазы низкомолекулярными лигандами и гормональным контроле процессов дефосфорилирования. В качестве примера первого типа регуляции можно указать на ингибиторное действие фосфорилазы *a* на реакцию дефосфорилирования гликогенсинтетазы [71]. Второй тип регу-

ляции осуществляется термостабильными белковыми ингибиторами, обнаруженными впервые в мышечной ткани [72]. Позднее нами [73] и другими авторами [74] было показано, что регуляторный эффект одного из белковых ингибиторов зависит от фосфорилирования его сАМР-зависимой ПКазой. Наличие подобных ингибиторов было установлено и в нервной ткани [75]. С помощью ИОХ удалось изолировать 4 пика этих белков, элюирующихся с колонки при различной ионной силе. Термообработка при 95° по-разному влияла на активность указанных ингибиторов из мозга крыс, один из которых оказался термостабильным белком. Имелись также существенные различия в эффективности этих модуляторов относительно отдельных молекулярных форм ФПФазы мозга. По-видимому, отдельные ФПФазы регулируются индивидуальными белками, чем обеспечивается оперативное и гибкое управление теми или иными клеточными процессами, находящимися под контролем ФПФаз. Интерес к подобному типу постсинтетической регуляции ФПФазной активности (белок - белковые взаимодействия) особенно возрастает в свете последних сообщений о существовании в некоторых тканях множественных форм ее белковых деингибиторов и активаторов [76, 77]. Возможно, что эти модуляторы связаны в тканях с каталитической субъединицей ФПФазы, составляя холоэнзимный комплекс (см. с. 92).

Регуляция ФПФаз факторами, направленными на субстрат (третий тип контроля), в нервной ткани пока не изучена.

При обсуждении модуляции активности ФПФазы низкомолекулярными лигандами особый интерес вызывают сведения о прямом эффекте сАМР на этот фермент. Было показано, что сАМР способен ингибировать активность фосфатазы фосфорилазы в некоторых тканях позвоночных [78]. Как было установлено [75], большинство молекулярных форм ФПФазы мозга также ингибируются сАМР в диапазоне концентраций 10^{-6} — 10^{-5} М. Этот процесс способствует, по-видимому, поддержанию высокого уровня фосфорилированных белков при повышении концентрации сАМР в нервной ткани (рис. 1). Из двухвалентных катионов Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} слабо активируют [17, 69, 78, 79], а Cd^{2+} , Zn^{2+} и Cu^{2+} ингибируют [17, 79] ФПФазу мозга. Сильное ингибирование фермента наблюдается в присутствии 10^{-3} М NaF [17, 69], 10^{-1} М п-ХМБ [69] и $2,5 \cdot 10^{-3}$ М Fe^{3+} [17, 69]. Низкомолекулярные фосфатные соединения—АТР, АДР, глюкозо-6-фосфат, β -глицерофосфат в физиологических концентрациях не влияли на активность ФПФазы мозга, тогда как ортофосфат (10^{-2} М) ингибировал этот фермент [17]. Транквилизаторы (фенотиазин и его производные) несколько снижали активность цитоплазматической ФПФазы из мозга крыс [80].

Небольшие по объему сведения относительно роли гормонов в процессах дефосфорилирования ФП сводятся, в основном, к предполагаемому эффекту инсулина. Согласно существующей гипотезе, действие инсулина начинается с продуцирования предполагаемого медиатора «х», который подавляет киназную систему и (или) активирует фосфатазную, в результате чего повышается образование дефосфорилирован-

ной или активной I-формы гликоген-синтетазы [81]. По-видимому, системы сАМР или сGMP не вовлекаются в механизм прямого действия инсулина, хотя и могут косвенно регулироваться через второй медиатор «х».

Все предварительные данные, на которых основана эта модель, получены не на нервной ткани [81]. В отношении последней имеется лишь сообщение о том, что аллоксан (10^{-3} М) ингибирует активность ФПФазы в цитоплазме клеток мозга [80].

Специфические ФП нервной ткани. За последнее десятилетие накоплен значительный материал, свидетельствующий о наличии ФП практически во всех отделах ЦНС и субклеточных образованиях мозга. Хотя функциональное значение событий, связанных с фосфорилированием белков ЦНС, в большинстве случаев выяснено пока недостаточно, за последние годы был идентифицирован ряд белковых компонентов, являющихся субстратами различных ПКаз. Установлена активация гликогенфосфорилазы, классического субстрата для действия сАМР, в ответ на вызванное нейромедиатором повышение содержания сАМР в мозгу у птиц и млекопитающих [82]. К числу других идентифицированных ФП ЦНС, роль которых в клеточной функции установлена, относятся пируватдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатаза, тубулин, миелин, актомиозин, рибосомные и ядерные белки [82]. Основным белком миелина головного мозга крысы является лучшим природным субстратом эндогенной ФПФазы [83]. Несколько белков миелина периферического нерва с М от 16 до 28 кД также являются ФП [60]. К числу ФП относится также целый ряд конституционных белков рибосом коры больших полушарий мозга крыс [84]. Кроме того, некоторые структурные белки мозга с неустановленной пока функцией также подвергаются сАМР-модулируемым изменениям при фосфорилировании. Наиболее охарактеризованным из них является белок S-100, сведения об остальных пока ограничиваются их ролью в качестве субстратов для фосфорилирования [82].

Еще в 1957 г. было высказано предположение, что изменения в фосфорилировании белка, происходящие в ответ на электрическую стимуляцию срезов коры головного мозга морской свинки, могут вовлекаться в регуляцию прохождения ионов через клеточные мембраны [85, 86]. Trevor и Rodnight [87] показали, что фосфосерильные группы белка, реагирующие на электрическую стимуляцию, находятся, несомненно, в мембранной фракции. Использование более современных подходов позволило установить, что синаптическое потенцирование Шефферовских коллатералей в срезах гиппокампа крыс приводит к подавлению Ca^{2+} -зависимого фосфорилирования белка с М 40 кД, связанного с фракцией синаптоплазматических мембран (СПМ) [88, 89]. По-видимому, это изменение не связано с механизмом, включающим сАМР, поскольку *in vitro* инкубация с сАМР не влияет на фосфорилирование полосы белка с М 40 кД [90]. Три других белка гиппокампа подвергаются, однако, в этих условиях усиленному фосфорилированию. Электри-

ческая стимуляция приводила к повышению фосфорилирования, главным образом, одного мембранного белка гинпокампа с M 50 кД [91].

Обнаружено фосфорилирование биологически активных пептидов β -липотропина, β -эндорфина, АКТГ, паратгормона и секретина сАМР-зависимыми и независимыми ПКазами мозга [92], в то время как люлиберин и ряд его фрагментов не являются субстратами для сАМР-зависимой ПКазы [93]. Субстратами для фосфорилирования могут также служить рецепторы нейромедиаторов. Ацетилхолиновый рецептор дисков электрического органа (electroplax) имеет свою сАМР-независимую ПКазу, связанную с ним, и изменения в степени фосфорилирования рецептора модифицируют его электрофоретические свойства [94].

В работах Greengard и сотр. [95, 96] было сообщено о локализации нескольких ФП во фракции синаптических мембран. Один из этих ФП—«протени I» является эндогенным субстратом сАМР и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых ПКаз, а второй—«G-субстрат» фосфорилируется сГМР-зависимой ПКазой. G-субстрат встречается практически только в клетках Пуркинье мозжечка млекопитающих. Протени I присутствует в окончаниях аксонов во всей НС, особенно в мембранах синаптических везикул и постсинаптических уплотнениях. Появление протени I в мозгу развивающихся крыс и морских свинок совпадает с формированием синаптических структур [97], что свидетельствует о его участии в синаптических процессах. Важным может оказаться тот факт, что фосфорилирование протени I является Ca^{2+} -зависимым. Появились сведения о наличии в нем двух разных участков фосфорилирования, один из которых находится под контролем сАМР, а другой— Ca^{2+} /кальмодулина [98]. Пока трудно объяснить функциональное значение такого регуляторного механизма посредством двух вторых мессенджеров.

Роль циклических нуклеотидов и фосфорилирования белков в функции нейрона. Накоплены доказательства, что сАМР, а также сГМР могут функционировать как внутриклеточные мессенджеры при действии определенных нейромедиаторов на клетки нервной ткани [38, 99, 100]. Молекулы нейромедиатора, высвобождаясь с окончаний пресинаптических нейронов, вызывают изменения в проницаемости мембран постсинаптического нейрона путем взаимодействия со специфическими рецепторами, расположенными на поверхности клеток. Молекулярная природа событий, при которых присоединение нейромедиаторов к их рецепторам сопрягается с изменением в ионных свойствах постсинаптической клеточной мембраны, пока еще не совсем понятна. Вырисовываются два основных направления, по которым могут протекать эти процессы [38].

Модель «рецептор—ионофор»: здесь предполагается, что одиотипные рецепторы нейромедиаторов прямо сопряжены с ионофором так, что присоединение НТ к рецептору вызывает конформационное изменение в ионофоре, приводя к изменению проницаемости мембран для специфических ионов.

Модель «рецептор—второй мессенджер»—второй основной тип механизмов, с помощью которых НТ могут влиять на электрические свойства постсинаптических нейронов посредством процесса, в котором связывание нейромедиатора со своим рецептором на внешней поверхности клеточной мембраны приводит к продукции другой молекулы, второго мессенджера, как, например, сАМР, на внутренней стенке клетки. Этот второй мессенджер может затем запустить последовательность биохимических реакций, которые обязательно приведут к изменению электрофизиологических свойств нейрональной мембраны. Такие изменения могут быть вызваны ковалентной модификацией мембранных белков, участвующих в регуляции проницаемости мембран для специфических ионов.

Можно предположить, что физиологические ответы, вызванные активацией двух классов рецепторов, должны носить разный характер. В первом случае, когда связывание нейромедиатора с рецептором вызывает конформационные сдвиги в ионофоре, изменение проницаемости, происходящее в результате этого одноэтапного неферментативного процесса, должно иметь очень краткий латентный период и длительность порядка нескольких миллисекунд. В противоположность этому эффект циклических нуклеотидов на проницаемость нейрональных мембран осуществляется, по-видимому, посредством последовательности ряда биохимических реакций; вследствие этого изменения в проницаемости, вызванные в ответ на циклические нуклеотиды, должны иметь гораздо большие латентность и длительность.

Обнаружение чувствительных к нейромедиаторам аденилатциклаз в нервной ткани, их региональное и субклеточное распределение, равно как и свойства этих ферментов, указывают на важную роль сАМР в физиологии синаптической передачи. Для каждого из НТ, перечисленных в табл. 2, в нервной ткани была обнаружена соответствующая аденилатциклаза, активируемая лишь определенным нейромедиатором. Большое сходство между свойствами рецепторов нейромедиаторов, выявляемыми в физиологическом эксперименте, и свойствами чувствительных к ним аденилатциклаз, установленных с использованием ряда физиологических и фармакологических агонистов и антагонистов, свидетельствует о тесном взаимодействии между молекулами рецепторов нейромедиаторов и аденилатциклазой. В литературе имеются сведения о том, что сGMP также участвует в медиации или модуляции некоторых эффектов нейромедиаторов на постсинаптических клетках [38].

Исследование циклических нуклеотидов в некоторых препаратах нейронов верхнего шейного ганглия [38] и мозжечка млекопитающих [101] позволило заключить, что в физиологических условиях синаптическая передача может приводить к повышению количества циклических нуклеотидов в определенных постсинаптических нейронах. От уровня сАМР в мозгу зависит активность мембранной и цитозольной ПКАз. Считают, что ПКАзы участвуют в синтезе белков транспортной

системы, что работа Na^+ -насоса, по-видимому, связана с фосфорилированием мембранных белков, и существует зависимость между степенью фосфорилирования этих белков и транспортом Ca^{2+} [85, 88]. Учитывая, что процессы дефосфорилирования способны влиять на проницаемость мембран и что дефосфорилирование, вероятно, требует меньшего числа участников реакции, высказывается предположение о важной роли ФПФаз в процессе синаптической передачи [190]. В постсинаптических клетках физиологическая роль циклических нуклеотидов может заключаться (но не ограничиваться) в генерации определенных медленных постсинаптических потенциалов [25], в регуляции функции микротрубочек и биосинтезе нейромедиаторов [38]. Увеличение уровня сАМР в ходе быстрого прохождения импульса может также служить для мобилизации резервов углеводов и липидов [102], компенсируя тем самым дополнительные затраты энергии, связанные с повышенной функциональной активностью нервной ткани. Примечательно, что в различных модельных системах сАМР может действовать на уровне транскрипции, регулируя синтез *de novo* ряда белков, обладающих специфическим функциональным значением [38]. Еще в 1974 г. П. А. Коменгани выдвинул тезис о том, что увеличение содержания сАМР в постсинаптических клетках в ответ на повышенное прохождение постсинаптического импульса может также приводить к изменению уровня синтеза определенных белков, играющих специфическую функциональную роль в синапсах, связанную с длительным хранением информации (обучением) или ее восстановлением (память) [99]. Позднее сочетание *in vivo* и *in vitro* подходов было использовано для сопоставления изменений в фосфорилировании белков мозга и различных поведенческих тестов. В этих исследованиях рассматривали фосфорилирование белков в условиях утраты навыков [103], электроконвульсивного шока [104] и вызванной АКТГ поведенческой реакции «груминга» (комфортное поведение) [105]. Последующие поведенческие исследования показали, что повышенное фосфорилирование синапсомных белков происходит при выработке навыков, поскольку у мышей, которых только экспонировали к условному и безусловному стимулу или у которых происходило отвыкание после предварительного обучения, не наблюдали подобного прироста количества ФП [106].

Синаптические и постсинаптические эффекты сАМР, по-видимому, предпочтительнее рассматривать не в изоляции, а как часть интегральной системы. Возможно, что синаптическая стимуляция не только повышает содержание сАМР до степени, достаточной для изменения проницаемости нейронов, но также инициирует последовательность событий, осуществляемых циклическими нуклеотидами. Эта последовательность может включать повышение или понижение синтеза или высвобождения НТ в ответ на синаптическую стимуляцию, инициацию внутриклеточного транспорта с целью перемещения вновь синтезированных продуктов, активацию обмена углеводов для покрытия необходимых затрат энергии в клетке и прямое воздействие на генетический ма-

тернал в ядре клетки, приводя к длительным изменениям в поведении [38].

Гипотеза о медировании эффектов нейромедиаторов через каскад запускаемых сАМР-реакций, приводящих к изменению проницаемости постсинаптических мембран, встречает и определенные возражения. Therien [107], которой удалось изолировать фракции синаптических мембран синаптических контактов, не обнаружила ФПФазной активности в последней фракции, в то время, как присутствие этого фермента необходимо для обращения сдвигов в притоке ионов, запускаемом при фосфорилировании белков. Неудача с выявлением ФПФаз могла быть, однако, следствием потери или инактивации ферментов в ходе очистки. Другим серьезным фактом является медленное фосфорилирование белков синаптических мембран в опытах *in vitro*, когда насыщение всех акцепторных участков для фосфорилирования достигается лишь через несколько минут [108, 109]. Не исключается, что процесс фосфорилирования может затрудняться вследствие потребления субстрата (АТР) конкурентной к ПКазе АТРазной активностью.

Нейропептиды и фосфорилирование белков синаптических мембран. За последние два десятилетия показано, что АКТГ, меланоцит-стимулирующий гормон (МСГ) и родственные пептиды влияют на адаптивное поведение животных и человека [110]. Позднее было открыто новое семейство нейропептидов (эндорфины), обладающих опиатоподобным действием. Установлено, что эндорфины, как и АКТГ, модулируют процессы обучения и памяти [111]. Принимают, что пептидные гормоны оказывают влияние на клетки-мишени, не проникая в них, а посредством системы вторых мессенджеров (сАМР, сGMP, Ca^{2+}). Специфичность их физиологических реакций определяется степенью фосфорилирования отдельных ФП.

По данным гель-электрофореза инкубация СПМ в присутствии АКТГ₁₋₂₄ приводила к понижению фосфорилирования по меньшей мере 5-ти индивидуальных белков [112]. М у этих белков был ниже, чем у тех ФП мозга, которые находились под контролем сАМР-зависимых ПКаз. Вовлечение разных белков и разнонаправленность эффектов пептидов и циклических нуклеотидов исключают реализацию эффектов пептидов через сАМР. Из синаптических мембран мозга крыс удалось выделить АКТГ-чувствительную ПКазу и один из её эндогенных субстратов: белок В-50 (М 48 кД). Выявлены ИЭТ для этой ПКазы (5,5) и её белка В-50 (4,5) [113]. Привлекает внимание то, что АКТГ и те его фрагменты, которые влияют на фосфорилирование белка В-50, одновременно индуцируют чрезмерный груминг [114].

Используя приемы, сходные с теми, что были предприняты в отношении индуцированных АКТГ изменений в мембранных ФП, Davis и Ehrlich [115] сообщили, что как Met⁵-энкефалин, так и Leu⁵-энкефалин ингибировали эндогенное фосфорилирование специфических мембранных белков F (М 47 кД) и H (М 15—20 кД). Ранее эти авторы по-

казали, что хроническая обработка крыс морфином приводила к изменениям в посмертном *in vitro* фосфорилировании этих белковых полос.

В концентрации 10 нМ β -эндорфин также ингибировал фосфорилирование белков F и H [116]; вызванное этим пептидом ингибирование происходит посредством взаимодействия со стереоспецифичными опиа́т-связывающими участками, причем полоса белка F является частью опиа́т-рецепторного комплекса [116]. Авторы постулируют, что ФП могут контролировать опознавание или (и) средство опиа́т-связывающих участков.

Эффекты АКТГ и опиа́дных пептидов не идентичны, поскольку ПКаз белка В-50 очень слабо изменяется под действием β -эндорфина. Единственным опиа́дным пептидом, ингибирующим фосфорилирование этой киназы, является динорфин₁₋₁₃ [117].

По-видимому, главной особенностью динорфина₁₋₁₃ и АКТГ является их решающее участие в ингибировании ПКазы белка В-50 и в способности этих пептидов вызывать чрезмерный груминг.

Механизм, при помощи которого реализуется участие АКТГ как нейрогормона, в синаптической передаче связывается в настоящее время с его влиянием на мембранные фосфолипиды—(поли)фосфоинозитиды [113]. Через специфические рецепторы на постсинаптических мембранах АКТГ осуществляет прямую регуляцию (ингибирование) мембранных ПКаз, не регулируемых сАМР. Понижение фосфорилирования ряда мембранных белков, в том числе белка В-50, определяет характер реакции клетки. Активирование мембранной липидкиназы зависит от степени фосфорилирования белка В-50. Понижение фосфорилирования В-50 приводит к активации липидкиназы и увеличению синтеза мембранных полифосфоинозитидов [118], чем и регулируется приток Ca^{2+} в клетку. Сдвиги в концентрации клеточного кальция приводят к изменениям в активности ПКаз и других ферментов. Если же АКТГ действует как нейромедиаторы, активируя через их рецепторы аденилатциклазу, то происходит повышение активности цитоплазматических ПКаз и синтез ФП [113].

В обоих случаях ФП выступают как спецификаторы (определители) конечной реакции клетки на её взаимодействие с этим пептидом.

Таким образом, информация, закодированная в АКТГ, переносится в клетки мозга скорее не через одну систему рецептор—второй мессенджер, а через несколько каналов. Из этого следует, что в основе поведенческих эффектов АКТГ лежат две различные системы мессенджеров в мозгу—одна, включающая сАМР, а другая— Ca^{2+} в качестве второго мессенджера.

Данные, приведенные в настоящем и некоторых других [10, 36, 38] обзорах, свидетельствуют о том, что фосфорилирование белков является универсальным терминальным механизмом регуляции многих звеньев метаболизма. Ряд регуляторных агентов, включая циклические нуклеотиды, Ca^{2+} и стероидные гормоны, ответствен за уровень фосфорилирования специфических белков в нервной и других

тканях. В дальнейших исследованиях предстоит ещё выяснить многие детали регуляции обмена ФП и их участие в поддержании клеточного гомеостаза.

REGULATION OF PROTEIN PHOSPHORYLATION AND DEPHOSPHORYLATION IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

PARSADANIAN H. K.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of Arm. SSR, Yerevan

A number of neurotransmitters, hormones and other regulatory agents affect the level of phosphorylation of specific proteins in nervous system. These multicyclic cascade systems may include as second messengers cAMP, cGMP and Ca^{2+} . The role that protein phosphorylation may play in synaptic transmission as well as in the mobilization of reserve carbohydrates and lipids and in other metabolic processes in nervous tissue are discussed. The properties of endogenous phosphoprotein phosphatases that occupy an important place in the mentioned cascade systems supporting their dynamic equilibrium are also described.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lodish H. F. Enzyme and microbial technol., 3, 177—183, 1981.
2. Fisher E. H., Krebs E. G. J. Biol. Chem., 216, 121—132, 1955.
3. Sutherland E. W., Jr., Wosilait W. D. Nature, 175, 169—171, 1955.
4. Gershey E. L., Vidaly G., Allfrey V. G. J. Biol. Chem., 243, 5018—5022, 1968.
5. Holzer H., Mecke D., Wulff K., Liess K., Hellmeyer L. Adv. Enzyme Regul., 5, 211—225, 1967.
6. Adler S. P., Mangum J. H., Magni G., Stadtman E. R.—In: Metabolic interconversion of Enzymes, Berlin, Springer, p. 399—424, 1974.
7. Kort E. N., Goy M. F., Larsen S. H., Adler J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 3939—3943, 1975.
8. Chock P. B., Rhee S. G., Stadtman E. R. Ann. Rev. Biochem., 49, 813—843, 1980.
9. Taborsky G. Adv. Prot. Chem., 28, 1—187, 1974.
10. Krebs E. G., Beavo J. A. Ann. Rev. Biochem., 48, 923—959, 1979.
11. Killilea S. D., Brand H., Lee E. Y. C. TIBS, 1, 30—33, 1976.
12. Hofmann F., Schultz G. Arznei.—Forsch., 30, 1991—1995, 1980.
13. Stein G. S., Spelsberg T. C., Kleinsmith L. J. Science, 183, 817—824, 1974.
14. Kamiyama M., Dastigie B., Defer N., Kruh J. Biochim. Biophys. Acta, 277, 576—583, 1972.
15. De Robertis E., Rodriguez de Lores Arnal G., Alberti M. J. Biol. Chem., 242, 3478—3493, 1967.
16. Maeno H., Johnson E. M., Greengard P. J. Biol. Chem., 246, 134—142, 1971.
17. Maeno H., Greengard P. J. Biol. Chem., 247, 3269—3277, 1972.
18. Gaballah S., Popoff C. J. Neurochem., 18, 1795—1797, 1971.
19. Walsh D. A., Perkins J. P., Krebs E. G. J. Biol. Chem., 243, 3763—3765, 1968.
20. Schlichter D. J., Casnellie J. E., Greengard P. Nature, 273, 61—62, 1978.
21. Krebs E. G., Stull J. T., England P. J., Huang T. S., Brostrom C. O., Vandenhede J. R.—In: Protein Phosphorylation in Control Mechanisms, Miami Winter Symp., 5, 31—45, 1973.
22. Schulman H., Greengard P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 5432—5436, 1978.
23. Morgenroth V. H., Hegstrand L. R., Roth R. H., Greengard P. J. Biol. Chem., 250, 1946—1951, 1975.

24. Lovenberg W., Bruckwick L., Hanbauer J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 2955—2960, 1975.
25. Greengard P. Nature, 260, 101—102, 1976.
26. Sloboda R. D., Rudolph S. A., Rosenbaum J. L., Greengard P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 177—184, 1975.
27. Soifer D. J. Gen. Physiol., 61, 265—276, 1973.
28. Nesterova M. V., Ulmasov K. A., Shlyapnikov S. V., Severin E. S. Biochim. Biophys. Acta, 660, 110—116, 1981.
29. Ульмасов К. А., Нестерова М. В., Северин Е. С. Биохимия, 45, 5, 835—844, 1980.
30. Szamltelski A., Guidotti A., Costa E. J. Biol. Chem., 252, 3848—3853, 1977.
31. Rubin C. S., Rosen O. M. Ann. Rev. Biochem., 14, 831—887, 1975.
32. Cohen P., Watson D. C., Dixon G. H. Eur. J. Biochem., 51, 79—92, 1975.
33. Daile P., Carnegie P. R. Biochem. Biophys. Res. Commun., 61, 852—858, 1974.
34. Bylund D. B., Krebs E. G. Biol. Chem., 250, 6355—6361, 1975.
35. Humble E., Berglund L., Titanji V., Ljungström O., Edlund B., Zetterqvist O., Engström L. Biochem. Biophys. Res. Commun., 66, 614—621, 1975.
36. Greengard P. Science, 199, 146—152, 1978.
37. Goldberg N. D., O'Dea R. G., Haddox M. K. Adv. Cycl. Nucl. Res., 3, 155—184, 1973.
38. Greengard P.—In: Proc. 7th Int. Congr. Pharmacol., Paris, 1978, p. 231—250, 1979.
39. Yamamoto M., Takai Y., Hashimoto E., Nishida Y. J. Biochem., 81, 1857—1862, 1977.
40. Lolley R. N., Brown B. M., Farber D. B. Biochem. Biophys. Res. Commun., 78, 572—578, 1977.
41. Lincoln T. M., Corbin J. D. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 3239—3243, 1977.
42. Glass D. B., Krebs E. G. Feder. Proc., 37, 1329, 1978.
43. Baker P. F., Hodkin A. L., Ridgway A. J. Physiol., 218, 709—719, 1971.
44. Partick R. J., Barchas J. D. Nature, 250, 737—739, 1974.
45. Katz B., Milbdt R. J. Physiol., 192, 407—412, 1967.
46. Sieghart W., Schulman H., Greengard P. J. Neurochem., 34, 548—553, 1980.
47. Krueger B. K., Forn J., Greengard P. J. Biol. Chem., 252, 2764—2769, 1977.
48. Shulman H., Greengard P. Nature, 271, 478—479, 1978.
49. Cheung W. Y. Science, 207, 19—27, 1980.
50. DeLorenzo R. J.—In: Antiepileptic Drugs: Mechanisms of Action, G. H. Glaser, D. Woodbury and K. Penry, ed., Raven Press, New York, p. 399—414, 1980.
51. DeLorenzo R. J. Ann. New York Acad. Sci., 355, 92—109, 1980.
52. Burke B., DeLorenzo R. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 991—995, 1981.
53. Grab D. J., Carlin R. K., Siekevitz P. Ann. New York Acad. Sci., 356, 55—72, 1980.
54. Grab D. J., Berzins K., Cohen R. S., Siekevitz P. J. Biol. Chem., 254, 8690—8696, 1979.
55. DeLorenzo R. J. Cell Calcium, 2, 365—385, 1981.
56. Weiss B., Proxaleck W., Cimino M., Barnette M. S., Wallace T. L. Ann. New York Acad. Sci., 356, 319—343, 1980.
57. DeLorenzo R. J., Burdette S., Holderness J. Science, in press.
58. DeLorenzo R. J., Freedman S. D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 80, 183—192, 1978.
59. Yamauchi T., Fujisawa H. FEBS Lett., 129, 117—119, 1981.
60. Petrati E. H., Sulakhe P. V. Can. J. Physiol. Pharmacol., 57, 1200—1204, 1979.
61. Thomson E. B., Greengard P. Metabolism 23, 159—113, 1974.
62. Liu A. Y.-C., Greangard P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 568—573, 1976.
63. Brandt H., Capulong Z. L., Lee E. Y. C. J. Biol. Chem., 250, 8038—8044, 1975.
64. Lee E. Y. C., Mellgren R. L., Killilea S. D., Aylward J. H.—In: Regulatory, Mechanisms of Carbohydrate Metabolism, Oxford, New York, Pergamon, 42, p. 327—346, 1978.

65. *Antoniw J. F., Nimmo H. G., Yeaman S. J., Cohen P.* Biochem. J., 162, 423—433, 1977.
66. *Imaoka T., Imazu M., Ishida N., Takeda M.* Biochim. Biophys. Acta, 523, 109—120, 1978.
67. *Rose S. P. R.* Nature, 194, 1280—1282, 1962.
68. *Rodnight R.*—In: Protides of Biol. Fluids, Amsterdam, p. 39—49, 1966.
69. *Albin E., Newburg R. W.* Biochim. Biophys. Acta, 377, 381—388, 1975.
70. *Парсаданян Г. К., Бунятян Г. Х.* ДАН СССР, 257, 1258—1261, 1981.
71. *Hers H.* Ann. Rev. Biochem., 45, 167—189, 1979.
72. *Huang F. L., Glinzman W. H.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 3004—3008, 1975.
73. *Toth G., Gergely P., Parsadanian H. K., Bot G.* Biochim. Biophys. Acta Acad. Sci. Hung., 12, 389—398, 1977.
74. *Burchell A., Foulkes J. G., Cohen P. T. W., Condon G. D., Cohen P.* FEBS Lett 92, 68—72, 1978.
75. *Parsadanian H. K., Ter-Tatevosian L. P., Buniatian H. Ch.* Brain Res., 246, 249—256, 1982.
76. *Deflein G., Goris J., Merlevede W.*—In: XI FEBS Meeting Abstr., A1—9102, Copenhagen, 1977.
77. *Khandelwall R. L., Zinman S. M.* Biochem. Biophys. Res. Commun., 82, 1340—1347, 1978.
78. *Hattori T.* Gifu Daigaku Igakubu Kiyo, 18, 280—291, 1970.
79. *Wu N. C., Martinez J. J., Ahmad F.* FEBS Lett., 116, 157—163, 1981.
80. *Hattori T.* Gifu Daigaku Igakubu Kiyo, 18, 325—332, 1970.
81. *Larner J., Roach P. J., Huang L. C., Brooker G., Murad F., Hazen R.*—In: Hormones and Energy Metabolism. Proceed. 12th Midwest Conf. Endor., Metabol., 103—123, 1979.
82. *Williams M.* TIBS, 4, 2, 25—28, 1979.
83. *Miyamoto E., Kakiuchi S.* Biochim. Biophys. Acta, 384, 458—455, 1975.
84. *Roberts S., Morelos B. S.* Biochem. J., 184, 233—244, 1979.
85. *Heald P. J.* Biochem. J., 66, 659—663, 1957.
86. *Heald P. J.* Nature, 193, 451—454, 1962.
87. *Trevor A. J., Rodnight R.* Biochem. J., 95, 889—896, 1965.
88. *Browning M., Dunwiddie T., Gispen W. H., Lynch G.* Neuroscience Abstr., 3, 1341, 1977.
89. *Browning M., Dunwiddie T., Bennett W., Gispen W. H., Lynch G.* Science, 203, 60—62, 1979.
90. *Lynch G., Browning M., Bennett W. F.* Fed. Proc., 38, 2117—2122, 1979.
91. *Bar P. R., Schotman P., Gispen W. H.* Eur. J. Pharmacol., 65, 165—175, 1980.
92. *Raese J. D., Boarder M. R., Makk G., Barchas J. D.*—In: Endog. and Exogen Opiate Agonists and Antagonists. Proceed. Ind. Narcotic Res., North Falmout, Mass., 1979, New York e. a., p. 243—246, 1980.
93. *Сарибекян Г. А.* ДАН АрмССР, 71, 4, 238—242, 1980.
94. *Gordon A. S., Davis C. G., Diamond I.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 263—267, 1977.
95. *Greengard P.* Feder Proc., 40, 1654, 1981.
96. *Sleghart W., Forn I., Greengard P.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 2475—2479, 1979.
97. *Lohmann S. M., Ueda T., Greengard P.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 4037—4041, 1978.
98. *Huttner W. B., Greengard P.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 5402—5406, 1979.
99. *Кометиани П. А.* О механизмах действия цАМФ, Тбилиси, Мецниереба, 1408, 1974.
100. *Кондратьев В. Е., Щипакина Т. Г.*—В кн: Катехоламинергические нейроны. М., Наука, с. 174—183, 1979.
101. *Bloom F. E.*—In: Reviews of Physiol. Biochem. and Exptl. Pharmacol., Berlin, Springer, 1975.

102. *Edwards C., Nahorski S. R., Rogers K. J. J. Neurochem.*, 22, 565—569, 1974.
103. *Routtenberg A. Progress in Neurobiol.*, 12, 85—113, 1979.
104. *Ehrlich Y. H., Reddy M. V., Keen P., Davis L. G., Daugherty J., Brunngraber E. G. J. Neurochem.*, 34, 1327—1330, 1980.
105. *Zwiers H., Wiegant V. M., Schotman P., Gispen W. H.*—In: *Mechanism, Regulation and Special Function of Protein Synthesis in the Brain*, p. 267—272, Elsevier, Amsterdam, 1977.
106. *Gispen W. H., Perumal R., Wilson J. E., Glassman E. Behav. Biol.*, 21, 358—363, 1977.
107. *Thérien H.-M., Mushynski W. E. Biochim. Biophys. Acta*, 585, 188—200, 1979.
108. *Ng M., Matus A. Neuroscience*, 4, 1265—1274, 1979.
109. *Weller M. Mol. Cell. Biochem.*, 27, 2, 71—78, 1979.
110. *De Wied D.*—In: *Frontiers in Neuroendocrinology*, Oxford Univ. Press, New York, p. 97—140, 1969.
111. *De Wied D., Bohus B., van Ree J. M., Urban I. J. Pharm. Exp. Ther.*, 204, 570—580, 1978.
112. *Zwiers H., Veldhuis D., Schotman P., Gispen W. H. Neurochem. Res.*, 1, 669—677, 1976.
113. *Wiegant V. M., Zwiers H., Gispen W. H. Pharmac. Ter.*, 12, 463—490, 1981.
114. *Gispen W. H., Isaacson R. L., Pharmac. Ter.*, 12, 209—246, 1980.
115. *Davis L. G., Ehrlich Y. H.*—In: *Modulators. Mediators and Specifiers in Brain Function. Adv. Expil. Med. Biol.*, 116, Plenum Press, New York, p. 233—244, 1979.
116. *Ehrlich Y. H., Davis L. G., Keen P., Brunngraber E. G.*—In: *Endogenous and Exogenous Opiate Agonists and Antagonists*, Pergamon Press, p. 229—232, 1980.
117. *Goldstein A., Tachibana S., Lowney L. I., Hunkapiller M., Hood L. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 6666—6670, 1979.
118. *Jolles J., Zwiers H., van Dongen C., Schotman P., Wirtz K. W. A., Gispen W. H. Nature*, 286, 623—625, 1980.

Институт биохимии
АН АрмССР, Ереван

Поступила 12. V 1982