

V СОБРАНИЕ ЕВРОПЕЙСКОГО ОБЩЕСТВА НЕЙРОХИМИКОВ

(август 1984 г., Будапешт, Венгрия)

С 21 по 26 августа 1984 г. состоялось очередное V Европейское собрание по нейрохимии в Будапеште. В его работе принимала участие советская делегация в составе 14-ти человек под руководством академика *П. Г. Костюка*. Советскими нейрохимиками по приглашению Оргкомитета нейрохимического собрания были прочитаны пленарная лекция (*Костюк П. Г.*) и симпозиальный доклад (*Галоян А. А.*), а также представлены 3 стендовых сообщения (*Абутидзе К., Гаршивили Т.* «Стимуляция липидной пероксидации в синапсомембранах и связывание спинодов»; *Оганесян В. С., Амбарцумян В. Г.* «Свойства мембраносвязанной формы фосфатаз-вспомогательной глутаминазы в синапсомембранах и митохондриях головного мозга крысы» и *Азарян А. В., Кирике Х., Бархударян Н. А., Галоян А. А.* «Некоторые свойства катепсина В из головного мозга человека и быка»).

Собрание открыл председатель Оргкомитета, президент Академии наук ВНР *Ja. Szentagothai*, отметивший огромные достижения нейрохимии, способствующие развитию биологии и медицины. Он особо подчеркнул успехи молекулярной нейрохимии и патологической нейрохимии, изучающей генетические дефекты нервной системы.

Следует отметить, что состоявшийся форум был наиболее представительным собранием Европейских нейрохимических обществ. В его работе приняло участие около 700 ученых, в том числе крупные нейрохимики США, Японии и других стран.

С большой пленарной лекцией «Ионные каналы—новые проблемы» выступил академик *П. Г. Костюк*. В его докладе была рассмотрена роль фосфорилирования белков нейромембран в организации биопотенциалов нейронов. Используя предложенный им метод перфузии одиночных нейронов, автор показал значение циклических нуклеотидов, реакции трансфосфорилирования в возникновении биопотенциалов мембран. Был выдвинут ряд новых положений в развитии этого направления.

Значительное место в работе конгресса занимали следующие вопросы: 1. Механизм выделения нейромедиаторов. 2. Рецепторы нейротрансмиттеров. 3. Трансмиттеры и нейроэндокринная регуляция. 4. Иммуноцитохимия трансмиттеров. 5. Бензодиазепины и рецепторы ГАМК. 6. Нейрохимия холинергических нейронов. 7. Моноамины у беспозвоночных.

Ряд заседаний был посвящен гангリオзидам, метаболизму неuropeптидов. Широко были представлены работы по нейрохимии Паркинсоновой болезни, старческого слабоумия и т. д.

В докладе *D. Cox* (Англия) были приведены данные о взаимоотношении энергетического состояния мозга и нейрональной функции, рассмотрены нейрохимические нарушения при гипогликемии и гипоксии. Установлено, что степень гипоксического состояния определяется увеличением содержания уровня, лактата, уровень же фосфокреатина при этом уменьшается. При глубокой гипоксии обнаруживается также изменение уровня адениннуклеотидов.

R. Jork и *H. Matthies* (ГДР) выступили с докладом о молекулярных аспектах формирования (processing) информации. Они исследовали макромолекулы (белки, гликопротеины, липиды), как важные компоненты структуры синаптических мембран,

и установили параллелизм между изменением поведенческих реакций при стимулировании электрическим током гипоталамуса и модификацией белков (исключение меченого лейцина и фукозы). Одновременно было показано, что нейротрансмиттеры оказывают влияние на гликозилирование белков в гиппокампе крыс. Изучено влияние допамина на включение в белки маннозы, галактозы и N-ацетил-глюкозамина.

Работа *H. Winkler* и соавт. (Австрия) была посвящена биосинтезу и созреванию растворимых белков хромаффинных гранул, в которых были идентифицированы дофамин- β -гидроксилаза и гликопротеин III, являющийся минорным компонентом растворимого лизата в составе хромаффина А, В. В хромаффинных гранулах были идентифицированы Leu- и Met-энкефалины. Наличие этих минорных компонентов в хромаффинных гранулах можно объяснить эндогенным протеолизом.

D. Annis (Франция) привел данные о роли микротрубочек и микрофиламентов (цитоскелет) в процессах выделения катехоламинов. Он изучал взаимоотношения хромаффинных гранул с белками цитоскелета. В исследованиях, проведенных с культурой хромаффинных клеток, было показано, что мембраны хромаффинных гранул могут быть связаны с микротубулином и актином.

Значительный интерес представлял доклад *M. Relja* (Югославия). Она показала наличие дофаминергических рецепторов в генитоуринарной системе, а также наличие дофаминергических структур в почках, мочевом пузыре, матке, vas deferens и в крови.

H. Zimmerman и соавт. (ФРГ) показали, что холинергические и порадренергические синаптические везикулы, хромаффинные гранулы, а также гранулы тромбоцитов содержат АТФ наряду с нейротрансмиттерами и различными физиологически активными соединениями. Установлено, что АТФ вместе с АХ играет важную роль в нейротрансмиссии в холинергических синапсах.

E. S. Vizi (Венгрия) привел большой фактический материал о выделении порадреналина Ca^{2+} -независимым механизмом и высказал предположение, что это выделение осуществляется из цитоплазмы нейрона. *M. Wollemann* (Венгрия) привела данные о молекулярных механизмах функционирования β -адренергических рецепторов. Как известно, *E. W. Sutherland* считал, что β -адренергический рецептор является субединицей аденилатциклазы. В последующем, однако, оказалось, что β -адренорецептор составляет комплекс вместе с нуклеотидсвязывающим белком (Ns или G/F -фактор) и аденилатциклазой.

На симпозиуме «Метаболизм нейропептидов» (председатель проф. *A. Lajtha*, США) было представлено 6 докладов и 18 стендовых сообщений. Доклад *J. Schwartz* и соавт. (Франция) «Метаболическая инактивация энкефалинов» был посвящен изучению субстратной специфичности «энкефалиназы» на модельных субстратах и аналогах Met-энкефалина. Сравнивая субстратную специфичность «энкефалиназы» относительно амидированного и деамидированного Met-энкефалина с таковой ангиотензинпревращающего фермента и термолизина, авторы приходят к заключению, что «энкефалиназу» следует отнести к классу дипептидил-карбоксипептидаз, то есть экзопептидаз, а не эндопептидаз. Показано расщепление холецистокинина—8 «энкефалиназой» из стриятума крыс и наличие этого фермента в плазме крови и цереброспинальной жидкости. Доказано, что сочетанное введение бестатина и тнорфана на 50% повышает уровень Met-энкефалина в стриятуме крыс уже через 1 ч, что свидетельствует об участии как аминопептидаз, так и металлзависимых эндопептидаз в метаболизме энкефалинов. В докладе *A. Kenny* и соавт. (Великобритания) «Структура, распределение и функции эндопептидазы—24.П» представлены данные, убедительно доказывающие, что эндопептидаза—24.П, ранее называемая «энкефалиназой», не дипептидил-карбоксипептидаза, а цинксодержащая, тнолзависимая эндопептидаза. Так, фермент гидролизует энкефалины с удлиненной по С-концу цепью: Leu-энкефалин-Arg⁶, Met-энкефалин-Arg⁶, Met-энкефалин-Arg⁶-Phe⁷ не менее эффективно, чем Leu- и Met-энкефалин (судя по K_{cat}/K_m , и во всех случаях расщепляет связь Gly³-Phe⁴. Фермент из коркового слоя почек крыс расщепляет ряд эндогенных пептидов: лучшей группой субстратов оказались тахикинины; луч-

шим субстратом—деамидированное вещество Р, расщепление которого происходит на два порядка эффективнее, чем деградация ЛГ (судя по K_{cat}/K_m). Получение моноклональных антител к эндонуклеазе—24.11 из коры почек позволило авторам с помощью иммуноаффинной хроматографии выделить в индивидуальном виде этот фермент из разных органов, в том числе из ткани мозга, где он локализован преимущественно в стриатуме и спинном мозгу. Фермент из разных органов отличается по степени гликозилирования. В докладе *P. Burbach* и соавт. (Нидерланды) «Протеолитическое расщепление нейропептидов до активных фрагментов» развивается концепция о том, что гормоны гипофиза являются предшественниками олигопептидов, обладающих поведенческими эффектами, но лишенных гормональной активности. Обобщены результаты исследований по процессингу синтаксическими мембранами головного мозга крыс олигопептидов—фрагментов аргинин-вазопрессина (AVP), аргинин-вазотонина (AVT), окситонина (OXT), АКТГ и β -эндорфина, обладающих или более выраженной, или независимой от пептида-предшественника активностью. Авторы выявили участие мембраносвязанной аминопептидазы в генерации олигопептидов, обладающих поведенческим эффектом, из всех 3 неопептидов—AVP, AVT, OXT. Самый короткий из образующихся фрагментов—[pGlu⁴, Cyt⁶]-AVP, -AVT, -OXT, что авторы объясняют образованием пироглутамильного остатка, защищающего гексапептид от дальнейшей деградации аминопептидазой. Эти гексапептиды [pGlu⁴, Cyt⁶] (1—9) в 1000 раз более эффективно влияют на реакцию активного избегания, чем AVP (1—9). В отличие от AVP, AVT, OXT протеолиз β -эндорфина до γ -эндорфина ингибируется эндонуклеазой, и только после образования γ -эндорфина под действием карбоксипептидазы образуется α -эндорфин. С помощью синтетического пентапептида Ac-Val¹⁵-Thr-Leu-Phe-Lys¹⁹-NHCH₃, имитирующего последовательность вокруг расщепляемой в β -эндорфине связи Leu¹⁷-Phe¹⁸, авторам удалось частично очистить « γ -эндорфингенерирующую эндонуклеазу» и охарактеризовать ее как тиазолзависимую растворимую металлопротеиназу с величиной M_r 200 кД и рН-оптимумом 8,5. Активные олигопептиды образуются также из АКТГ (1—39), α -MSH и des-acetyl- α -MSH. Авторы показали, что природа олигопептидов, образующихся из АКТГ (1—39) при инкубации с синтаксическими мембранами, зависит от рН среды. Тестирование в качестве предшественников активных олигопептидов АКТГ (1—16)-NH₂, des-acetyl- α -MSH и α -MSH показало, что их деградация осуществляется аминопептидазой, поэтому α -MSH устойчив к расщеплению.

Доклад *L. Graf* (Бенгрия) «Протеиназы и биосинтез, высвобождение и метаболизм нейропептидов» был посвящен обзору стратегических и методологических подходов, применяемых для изучения биосинтеза и метаболизма нейропептидов и критериев, которым должна удовлетворять протеиназа для зачисления ее в класс ферментов, осуществляющих процессинг. Приведены данные о выделении из секреторных гранул передней доли гипофиза свиньи сериновой β -липотропинрасщепляющей протеиназы, активной при рН 8,5. Ингибирование этой протеиназы трипептидом Boc-D-Phe-Pro-Arg тормозит вызванное высвобождение АКТГ и β -эндорфина из культуры клеток передней доли гипофиза крысы, но не влияет на превращение β -липотропина в β -эндорфин; в этой связи автор постулирует участие данной трипептидоподобной протеиназы в высвобождении гормона. *L. Graf* получил данные, ставящие под сомнение гипотезу *Knight* и *Klee* о том, что связывание Met-энкефалина рецептором способствует расщеплению пептида мембраносвязанной аминопептидазой: обнаружено, что скорость деградации Met-энкефалина, связанного с рецептором, значительно ниже, чем скорость деградации свободного Met-энкефалина и скорость его диссоциации от рецептора. Данные, приведенные в докладе *A. Ronaj* и соавт. (Бенгрия) «Эффект кантоприла на пресинаптическое ингибирующее действие Met-энкефалина—Arg⁶-Phe⁷ на изолированных органах», свидетельствуют о том, что ингибирующий эффект этого пентапептида на нервную передачу связан с трансформацией его в Met-энкефалин под влиянием ангиотензинпревращающего фермента. В докладе *А. А. Галояна* и соавт. (СССР) «О трех эндонуклеазах головного мозга» представлены материалы по выделению и характеристике трех, активных

при кислых значениях pH, протеиназах. С помощью биоаффинной хроматографии на пепстатин- и конканавалин А-сфарозе из гипоталамуса и коры больших полушарий головного мозга быка и человека получены в индивидуальном виде катепсин D, высокомолекулярная аспартильная протеиназа с M_r 90 кД и катепсин В; изучен спектр множественных форм этих ферментов, их физико-химические свойства: субстратная специфичность относительно белков и низкомолекулярных субстратов нафтиламидного и метилкумариламидного ряда, чувствительность к ингибиторам разных классов протеиназ, в том числе пептидил-диазометанового ряда и E-64 и др. Получение высокоочищенных препаратов внутриклеточных протеиназ из головного мозга представляет особый интерес для дальнейшего изучения их роли в метаболизме биологически активных пептидов и нейроспецифических белков.

По решению конгресса следующее VI Европейское собрание по нейрохимии состоится в г. Праге с 1—6 сентября 1986 года. Президентом Европейского нейрохимического общества избран проф. С. Тучек (Чехословакия).

ГАЛОЯН А. А.,

АЗАРЯН А. В.