

УДК 577.156

©Коллектив авторов

МЕТАБОЛИЗМ ЭНКЕФАЛИНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

Л.Ф. ПАНЧЕНКО, Н.В. МИТЮШИНА*, Н.В. ФИРСТОВА*, М.Т. ГЕНГИН*

НИИ наркологии МЗ РФ, 121921, Москва, Могильцевский пер., 3;
факс (095) 241-09-81;

*Пензенский государственный педагогический университет имени В.Г. Белинского,
Пенза, Лермонтова ул., 37; факс (8412) 66-27-06

В обзоре обсуждаются особенности метаболизма энкефалинов при различных функциональных состояниях организма, различных видах патологии и при влиянии некоторых экстремальных факторов. Особое место отведено вопросу о взаимовлиянии и взаимосвязи энкефалинов с протеолитическими ферментами, участвующими в их синтезе и деградации. Делается вывод о том, что биологические свойства регуляторных пептидов, а также их участие в различных физиологических и патологических состояниях организма во многом обусловлены особенностями функционирования ферментативных систем обмена биологически активных пептидов.

Ключевые слова: регуляторные пептиды, энкефалины, метаболизм, процессинг, инактивация, протеолитические ферменты.

Энкефалины, как и все регуляторные пептиды, обладают широким спектром биологического действия. Выполняя в организме функции нейромодуляторов, нейромедиаторов и гормонов [1-3], энкефалины влияют на многие системы организма, включая нейромедиаторную [4], нейроэндокринную [5-7], иммунореактивную [8], на эмоциональное и психическое состояние организма [9, 10], характеризуются высокой анальгетической активностью [11, 12], а также антистрессорным действием [13, 14].

Такое разнообразие биологических свойств энкефалинов позволяет рассматривать их в качестве эндогенных регуляторов многих физиологических и патологических процессов в организме. В связи с этим, изучение механизмов функционирования энкефалинов открывает новые возможности медицинской практики в связи с перспективами их экзогенного введения в организм в качестве средств, идентичных или близких по природе к эндогенным при тех или иных патологиях центральной нервной системы (ЦНС).

Однако механизмы проявления такого рода полифункциональности регуляторных пептидов и особенности их действия при различных физиологических и патологических состояниях организма до сих пор остаются предметом дискуссии.

Не исключено, что такой широкий спектр биологических свойств опиоидов обусловлен функционированием протеолитических ферментов, участвующих как в процессинге, так и инактивации опиоидов.

На настоящий момент субклеточная локализация, физико-химические и каталитические свойства многих ферментов обмена опиоидных пептидов исследованы достаточно подробно. Однако их участие в физиологических и патологических процессах, взаимодействие с другими компонентами пептидэргической системы, а также механизмы регуляции их активности при различных функциональных состояниях организма и при воздействии различных экстремальных факторов мало изучены.

Целью обзора является рассмотрение взаимосвязи и взаимовлияния энкефалинов и ферментов их обмена, а также роли протеолитических ферментов в проявлении биологических свойств энкефалинов при различных функциональных состояниях организма.

1. Уровень энкефалинов при различных функциональных состояниях и патологических состояниях организма

Среди всех семейств регуляторных пептидов, особый интерес вызывают опиоидные пептиды, в частности, энкефалины, которые обладают наиболее широким спектром физиологического действия. Благодаря своему широкому распространению по всему организму, энкефалины принимают активное участие в регуляции функционирования мозга и организма в целом, а именно в контроле болевой чувствительности, процессах обучения, памяти, аппетита, жажды, дыхания, сексуальной и локомоторной активности, мышечного тонуса, в регуляции деятельности экстрапирамидной, лимбической, нейроэндокринной, иммунной и других систем, вовлекаются в развитие и патогенез многих психических и неврологических расстройств. Эти факты делают необходимым изучение роли опиоидных пептидов в этиологии и патогенезе алкоголизма, наркомании, шизофрении и многих других заболеваний.

Одним из основных критериев, показывающих участие регуляторного пептида в том или ином физиологическом или патологическом процессе, является изменение его уровня в соответствующем отделе мозга или органе. Например, увеличение содержания мет-энкефалина в стриатуме и связь его с многочисленными μ -рецепторами в этом отделе, индуцирует эффект эйфории, благодаря чему его называют "природным эйфоригеном или трансмисмиттером удовольствия". С другой стороны, увеличение уровня мет-энкефалина в таламусе и коре и взаимодействие его с μ -рецепторами – способствует появлению дисфорических ощущений и эпилептиформных припадков [15,16].

Анальгетический эффект опиоидных пептидов также связан с увеличением их синтеза и выделения из гипофиза. При этом повышенная концентрация энкефалинов была обнаружена в структурах головного мозга – стриатуме, гипоталамусе, соматосенсорной коре, плазме, спинном мозге и в спинномозговой жидкости (СМЖ) [11, 12, 17], т.е. в тех отделах центральной нервной системы, которые "ответственны" за восприятие боли и формирование анальгезии.

Показана дезинтеграция эндогенной опиоидной системы, а именно изменение регионального и тканевого распределения опиоидных пептидов, при возникновении стресса [9, 13, 17], физических нагрузках [18], а также некоторых формах патологии: гипертонии [19], ожирении [20], алкоголизме [15, 21], наркомании [22], шизофрении [23], эпилепсии [24], болезни Альцгеймера [10] и других неврологических и психических расстройствах центральной нервной системы. Например, у особей, предрасположенных к развитию алкоголизма и наркоманий, отмечается дефицит опиоидных пептидов и одновременное увеличение содержания нейропептидов, индуцирующих страх, агрессию и дисфорию [15, 21, 22]. Напротив, при стрессе уровень опиоидов в крови, СМЖ, структурах ЦНС и других тканях увеличивается [11, 25].

Таким образом, при различных функциональных состояниях и при некоторых патологических процессах в организме изменяется уровень биологически

активных энкефалинов. Однако механизмы такого рода регуляции остаются до конца не выясненными.

Согласно современным представлениям, одним из механизмов изменения уровня биологически активных пептидов в организме, их полифункциональности и биологического действия является интенсивность их метаболизма – скорость процессинга и деградации пептидов. В связи с этим, можно предположить, что в проявлении такого широкого спектра физиологических свойств энкефалинов одну из главных ролей играют протеолитические ферменты, определяющие количество их активных форм в организме, а также «качественный» состав секретируемых регуляторных пептидов [26-28].

2. *Метаболизм энкефалинов и ферменты их обмена*

Регуляция метаболизма активных регуляторных пептидов определяется большим спектром воздействий, изменяющих гомеостаз на любом уровне – уровне клетки (транскрипция, трансляция и посттрансляционный процессинг), ткани (секреция и инактивация нейропептидов), а также на уровне организма в целом [26, 28-30]. Именно эти морфогенетические и биохимические особенности биогенеза и определяют уровень активных регуляторных пептидов в организме. При этом, несомненно, важная регулирующая роль в метаболизме нейропептидов принадлежит протеолитическим ферментам.

Рассмотрим основные пути метаболизма энкефалинов.

Энкефалины, как и все регуляторные пептиды, являются секретируемыми продуктами и образуются путем посттрансляционного процессинга белковых предшественников [1, 31-33]. Секретируемые белково-пептидные продукты синтезируются на мембраносвязанных полисомах эндоплазматического ретикулума (ЭПР) [1, 31, 34]. Благодаря наличию на N-конце пре-про-формы нейропептида набора гидрофобных аминокислот, так называемой сигнальной последовательности, предшественник транслоцируется через мембрану ЭПР [31]. Внутри ЭПР сигнальная последовательность отщепляется от полипептидной цепи *сигнальной пептидазой*. После чего белок приобретает характерную для него третичную структуру, препятствующую обратному прохождению в цитоплазму [34, 35].

В 1984 году Gainer et al. [34] сформулировали гипотезу секреторных везикул, согласно которой процессинг биологически активных пептидов осуществляется в процессе передвижения молекул пропептидов по гранулярному ЭПР, комплексу Гольджи и в секреторных везикулах. Последние содержат полный набор ферментов процессинга, специфичный для данной клетки (ткани), а также специальные системы поддержки оптимальной pH среды.

Процессинг нейропептидов внутри секреторных гранул включает в себя эндо- и экзопроотеолитические реакции, а также окончательное гликолизирование, сульфатирование, амидирование и фосфорилирование N- и C-концевых аминокислотных остатков, что предохраняет образовавшийся продукт от дальнейшей деградации [30, 31].

В настоящее время известны три белковые молекулы, включающие в свою структуру последовательности энкефалинов: проопиомеланокортин, препроэнкефалин А (проэнкефалин), препроэнкефалин В (продинорфин) [1]. Образование активных пептидов из этих предшественников не происходит одновременно, а зависит от отдела нервной системы и от набора соответствующих протеолитических ферментов в данной клетке [31, 36].

Последовательности, определяющие структуру энкефалина, входящего в состав молекулы предшественника, фланкированы парами основных аминокислот – аргинина и/или лизина [1]. Структуры типа Arg-Lys, Arg-Arg, Lys-Lys, Lys-Arg узнаются ферментативными комплексами, осуществляющими протеолиз. В результате действия как эндо-, так и экзопептидаз секреторных везикул, так и внеклеточных ферментов, локализованных на внешней поверхности мембраны и в

биологических жидкостях организма, происходит полное освобождение активного пептида из его предшественника [1, 37].

В более ранних обзорах [27, 28] была описана современная классификация протеолитических ферментов, характеристика их основных физико-химических, биологических свойств и их роль в регуляции уровня биологически активных пептидов. Однако необходимо еще раз отметить, какие именно из перечисленных в этих обзорах протеолитических ферментов участвуют в метаболизме энкефалинов, и рассмотреть основные моменты процессинга и инактивации этих пептидов.

Протеолитические ферменты обладают специфичностью для каждого этапа расщепления. В секреторных везикулах различных тканей обнаружен целый ряд эндопептидаз, участвующих в процессинге энкефалинов и расщепляющих их предшественники по синглетным и дуплетным остаткам основных аминокислот: прогормон-конвертазы 1/3 и 2 [38], динорфин-превращающий фермент [39], тиоловая прогормон-конвертаза [40], энкефалинообразующий фермент [41], IRCM-сериновая протеиназа I [42].

Из внесклеточных ферментов в эндопротеолизе предшественников энкефалинов принимают участие: эндопептидаза 24.15 (КФ 3.4.24.15) [43], эндоолигопептидаза А (КФ 3.4.22.19) [44], а также ангиотензинпревращающий фермент (АПФ, КФ 3.4.15.1) [45, 46], проявляющий наряду с эндопептидазной и дипептидилкарбоксипептидазную активность.

Многие эндопептидазы обладают очень узкой субстратной специфичностью. Так, эндопептидаза, специфичная к связи Lys-Arg, не расщепляет связи Arg-Arg и Arg-Lys, что объясняют специфичностью фермента не только к гидролизуемой связи, но и, вероятно, к ближайшему аминокислотному окружению [47]. Расщепление может происходить иногда не по парам остатков основных аминокислот, а по моноостаткам аргинина, лизина или каких-либо других аминокислот. Например, тиоловая прогормон-конвертаза расщепляет предшественники энкефалинов с обеих сторон по моно- и диосновным остаткам аминокислот, но более высокую специфичность проявляет к моноосновным сайтам [48].

После действия эндопептидаз образуются пептиды, фланкированные остатками основных аминокислот, для отщепления которых необходимы специфические амино- и/или карбоксипептидазы. В процессинге энкефалинов важную роль играют экзопептидазы секреторных везикул, такие как аминокислотидазы-В-подобные [1, 26] и карбоксипептидазы-В-подобные ферменты [1, 26, 30, 49-51].

Наибольший интерес вызывает карбоксипептидаза Н (КПН, КФ 3.4.17.10) – один из основных ферментов конечной стадии процессинга энкефалинов в мозге. Этот фермент катализирует расщепление остатков основных аминокислот с С-конца пропептидов, превращая их в активные формы [50, 52, 53]. КПН была обнаружена в секреторных везикулах практически всех органов и тканей. С использованием меченой гуанидиноэтилмеркаптоянтарной кислоты – специфического ингибитора КПН, только в головном мозге крысы было обнаружено 44 точки локализации фермента [54]. Наибольшая активность КПН обнаружена в аденогипофизе [55, 56], хромоаффинных гранулах надпочечников [55] и клетках поджелудочной железы [57]. Более низкая (примерно на порядок) активность в задней доле гипофиза, стриатуме, гипоталамусе, гиппокампе, среднем мозге, коре больших полушарий, а также в слонных железах [52, 55, 58].

В большинстве случаев локализация фермента совпадала не только с распределением проэнкефалинов, но и с распределением многих регуляторных пептидов и их предшественников, таких как адренотропного гормона [59], вещества Р [60], вазопрессина [61], окситоцина [62], инсулина [57], глюкагона [63], натрийуретического фактора предсердий [64] и других пептидов. Причем показано, что K_m гидролиза аргининизированных производных этих нейропептидов карбоксипептидазой Н находится в пределах 20-70 мкМ [50, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 64].

что соответствует концентрации вышеперечисленных пептидов внутри секреторных везикул. Поэтому в настоящее время уже не вызывает сомнения тот факт, что, первоначально определенная как "энкефалинконвертаза", карбоксипептидаза Н участвует в процессинге многих регуляторных пептидов [27, 65].

В 1995 году, в лаборатории нейрoхимии Пензенского государственного педагогического университета имени В.Г. Белинского А.Н. Вернигорой и соавт. в головном мозге котов был обнаружен еще один карбоксипептидазо-В-подобный фермент, отщепляющий остатки С-концевых основных аминокислот, который получил название по специфическому ингибитору – фенилметилсульфонилфториду (ФМСФ) [66]. Тканевое и региональное распределение ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы (ФМСФ-ингибируемой КП) соответствует распределению нейропептидов и секретируемых белков, однако функции данной карбоксипептидазы в организме еще не выяснены. Субстратная специфичность нового фермента сходна с таковой у карбоксипептидазы Н, хотя ее физико-химические свойства совпадают с таковыми у лизосомальной карбоксипептидазы А (КФ 3.4.16.1, катепсин А) [66, 67].

Обращает на себя внимание факт, что при введении *in vivo* аргинизированного предшественника лей-энкефалина - лей-энкефалин-арг - предполагаемого субстрата карбоксипептидазы Н и ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы методом инстилляций на конъюнктиву глаза [68], ФМСФ-ингибируемая карбоксипептидаза и карбоксипептидаза Н головного мозга и надпочечников имели сходную динамику изменений активности. Было обнаружено, что однократное введение лей-энкефалин-арг вызывает быстрое (через 0,5 часа) и интенсивное увеличение активностей изучаемых ферментов, причем, увеличение активности ФМСФ-ингибируемой КП в изучаемых отделах головного мозга и надпочечниках было более выраженным по сравнению с изменениями активности КПН (рис.).

Известно, что карбоксипептидаза Н проявляет большее сродство к тем субстратам, у которых перед остатком основной аминокислоты находится остаток аланина или глицина, а ФМСФ-ингибируемая карбоксипептидаза преимущественно расщепляет субстраты, у которых предпоследними являются остатки лейцина и метионина [69]. Кроме того, показано, что K_m КПН по отношению к дансил-фен-ала-арг почти в 3 раза выше, чем по дансил-фен-лей-арг, а K_m ФМСФ-ингибируемой КП по дансил-фен-ала-арг почти в 2 раза ниже, чем по дансил-фен-лей-арг [66, 70]. Принимая во внимание вышеуказанные факты, было выдвинуто предположение о том, что КПН и ФМСФ-ингибируемая КП, участвуя в процессинге, отдают предпочтение различным регуляторным пептидам [66-68], при этом про-энкефалины являются, вероятно, более предпочтительным субстратом для ФМСФ-ингибируемой КП, нежели чем для КПН. Данная гипотеза ставит под сомнение положение о КПН, как об истинной энкефалин-конвертазе, ключевом ферменте обмена энкефалинов [53, 55, 68].

Помимо вышеперечисленных экзопептидаз секреторных везикул, в процессинг энкефалинов вовлекаются и внеклеточные экзопептидазы: карбоксипептидаза N (КФ 3.4.12.7) [71] и карбоксипептидаза М [72, 73].

Таким образом, в результате последовательного действия вышеуказанных ферментов, из высокомолекулярных предшественников высвобождаются активные энкефалины. Под влиянием какого-либо стимула (медиаторы, другие регуляторные пептиды, ЦАМФ), возникающего по типу обратной связи или поступающего от других секреторных клеток [36], происходит изменение концентрации ионов Ca^{2+} . Это приводит к выделению из клетки активных энкефалинов, которые мигрируют к клеткам-мишеням (через кровяное русло или синаптическую щель), где связываются со специфическими рецепторами. В последствии, они подвергаются расщеплению различными пептидазами, что приводит к их модификации или же к полной потере их биологической активности.

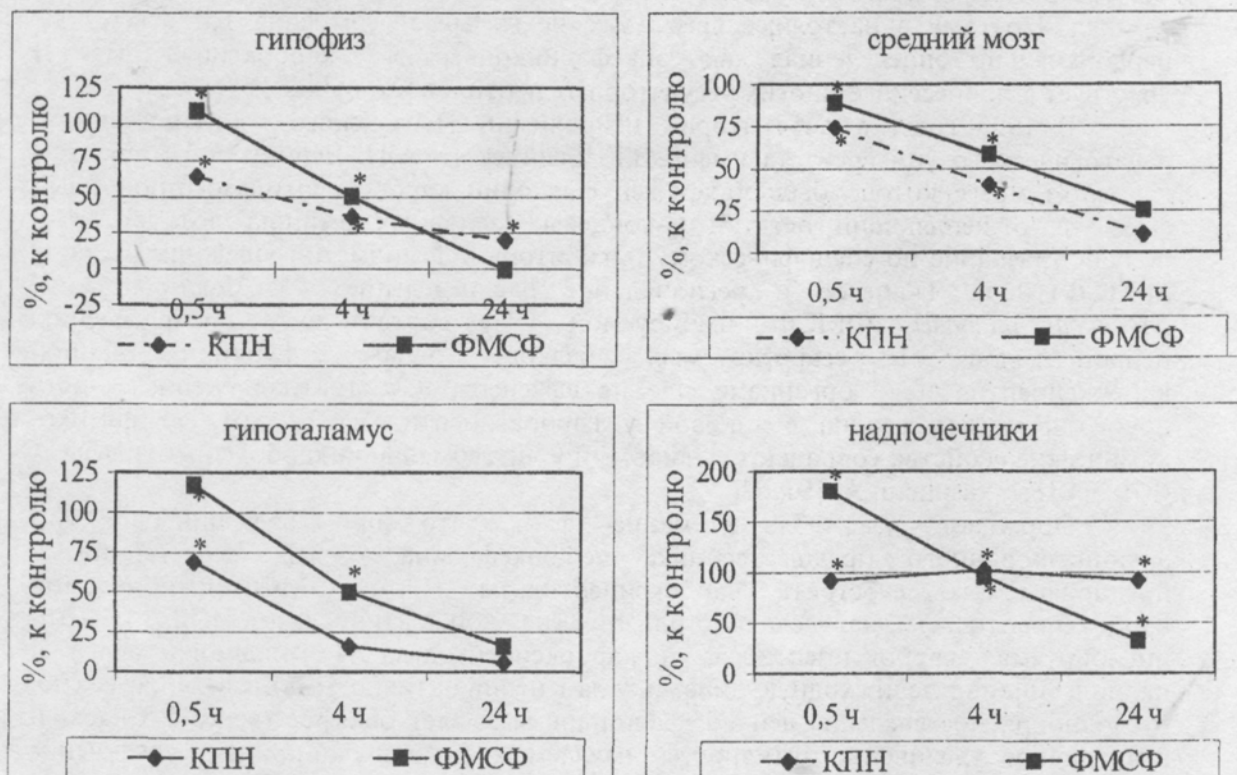


Рисунок.

Активность карбоксипептидазы Н и ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы отделов головного мозга и надпочечников при введении лей-энкефалин-арг (в % по отношению к контролю, * - показана достоверность отличий, $p < 0,05$)

В инактивации энкефалинов принимают участие, в основном, ферменты внешней поверхности мембраны и биологических жидкостей: ангиотензинпревращающий фермент [46], а также эндопептидаза 24.11 (энкефалиназа А, нейтральная эндопептидаза 24.11, КФ 3.4.24.11) [74], аминопептидаза М (КФ 3.4.11.2) [75] и ариламидаза (энкефалинаминанопептидаза, КФ 3.4.11.?) [76].

В отличие от внутривезикулярных ферментов, которые принимают участие преимущественно в регуляции набора секретируемых форм регуляторных пептидов, т.е. в регуляции их качественного состава, внеклеточные ферменты играют роль одного из регулирующих уровень активных энкефалинов факторов [27].

Обращает на себя внимание роль ангиотензинпревращающего фермента в метаболизме энкефалинов: фермент принимает участие как в процессинге энкефалинов, так и в их инактивации [46, 77], проявляя при этом дипептидилкарбоксипептидазную и эндопептидазную активности. Однако сродство вышеперечисленных ферментов процессинга к энкефалинам и их предшественникам существенно выше, чем у АПФ [78], поэтому ангиотензинпревращающий фермент скорее всего участвует в деградации энкефалинов, играя роль одного из регулирующих факторов в обмене энкефалинов.

Таким образом, протеолитическим ферментам принадлежит важная роль в обмене нейропептидов, причем действие внеклеточных ферментов носит регулирующий характер [27]. Однако уровень энкефалинов далеко не всегда может быть связан с определенным набором ферментов в клетке или же в биологических жидкостях организма, он может зависеть и от различных эндогенных механизмов регуляции активности пептидгидролаз. Поэтому при исследовании изменений уровня регуляторных пептидов при различных функциональных состояниях

организма, при влиянии на него факторов окружающей среды и при возникновении различных патологических процессов, важная роль уделяется вопросу о механизмах регуляции активности ферментов обмена регуляторных пептидов.

3. Механизмы регуляции активности ферментов обмена энкефалинов и их роль при функциональных состояниях организма

В целом, эндогенная регуляция активности протеолитических ферментов может осуществляться на различных уровнях функционирования организма: уровне экспрессии гена (увеличение активности ферментов происходит, в основном, за счет увеличения количества молекул ферментов, а не за счет повышения активности уже существующих), уровне процессинга неактивного предшественника и образования активной формы фермента, а также на уровне зрелой формы фермента [79]. Последний вызывает наибольший интерес у исследователей - кроме того, что активность некоторых ферментов может регулироваться ионами металлов, изменением pH, её также регулируют нейропептиды и их предшественники, а также эндогенные активаторы или ингибиторы пептидной природы.

Регуляция активности протеолитических ферментов энкефалинами и их предшественниками имеет важный биологический смысл, однако, изучению этого вопроса уделялось мало внимания, хотя именно исследование взаимовлияния регуляторных пептидов и ферментов их обмена в более полной мере приблизит нас к пониманию механизмов физиологического действия этих пептидов при различных функциональных состояниях организма и патологических процессах.

Показано, что активность ферментов внутривезикулярной локализации может ингибироваться *in vitro* их субстратами и продуктами каталитических реакций. Так, обнаружено подавление *in vitro* активности КПН субстратами - энкефалин-мет⁵-арг⁶, энкефалин-лей⁵-арг⁶, энкефалин-мет⁵-лиз⁶, энкефалин-лей⁵-лиз⁶ [55, 68, 70] и продуктами - мет- и лей-энкефалинами, веществом Р, арг-вазопрессинном, рилизинг-фактором лютеинизирующего гормона, циклическим соматостатином 14, тиротропин-рилизинг фактором [68, 80].

Напротив, *in vivo* активность некоторых ферментов обмена энкефалинов, в частности КПН и ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы головного мозга, надпочечников и семенников, при однократном введении методом инстилляции на конъюнктиву глаза лей- и мет-энкефалинов, а также предшественника лей-энкефалина - лей-энкефалин-арг активизируется, причем влияние лей-энкефалина на активность этих ферментов более выражено [68]. Такая активация протеолитических ферментов была обнаружена и при введении других регуляторных пептидов. Так, было обнаружено увеличение активности нейтральных протамин-расщепляющих протеиназ, Ca²⁺-зависимой, Ca²⁺-независимой и общей эндопептидазной активности в мозге под влиянием внутрибрюшинного введения δ -сон-индуцирующего пептида [81, 82]. Активация протеолитических ферментов под влиянием регуляторных пептидов *in vivo* говорит об инициации биологически активными пептидами реакций ограниченного протеолиза. Несоответствие влияния регуляторных пептидов *in vivo* и *in vitro* на активность ферментов их обмена, показывает существование эндогенных механизмов, опосредующих влияние энкефалинов и вовлекающихся в регуляцию активности этих ферментов. К сожалению, на настоящий момент эти механизмы пока не известны.

Для внесклеточных ферментов также отмечалось различие во влиянии регуляторных пептидов и их предшественников *in vivo* и *in vitro*. К примеру, активность ангиотензинпревращающего фермента *in vitro* подавлялась различными биологически активными пептидами и их предшественниками - продуктами и/или субстратами: лей- и мет-энкефалинами, лей-энкефалин-арг, β -эндорфином, β -липотропином, веществом Р, брадикинином, АКТИГ и его аналогами [68, 83, 84], а *in vivo* - активировалась лей-, мет-энкефалинами и лей-энкефалин-арг [68]. Однако поскольку для ангиотензинпревращающего фермента было обнаружено существование специфичных эндогенных активаторов и ингибиторов пептидной

природы [85], то не исключено, что энкефалины увеличивают активность этого фермента, каким-то образом влияя на активность или уровень эндогенных активаторов.

Обнаруженное ингибирование и активация ферментов процессинга и деградации энкефалинов субстратами и продуктами протеолиза, возможно, имеет важный биологический смысл, состоящий в регуляции уровня нейропептидов при патологических состояниях организма - алкоголизме, различных патологиях гипофиза и организма в целом, стресс-реакции и т.д. Такая эндогенная саморегуляция организма необходима для его защиты от возможного истощения, например в результате гиперфункции стрессорных агентов (гормонов, катехоламинов и т.д.) [14, 86].

Установлено, что многие факторы, влияющие на уровень регуляторных пептидов, сходным образом воздействуют и на активность некоторых ферментов обмена энкефалинов. Отмечено увеличение активности КПН, АПФ, энкефалиназы А и карбоксипептидазы N (КПН) при введении этанола [36, 87-91], активности КПН и АПФ при моделировании стресс-реакции [36, 89, 92-96] и введении резерпина [97] и каптоприла [97], активности КПН при введении глюкокортикоидов [98], активности энкефалиназы А при моделировании состояния морфинной толерантности [99, 100]. Такое повышение активности протеолитических ферментов является, вероятно, одним из звеньев неспецифической реакции организма в ответ на действие экстремальных факторов.

Необходимо отметить, что наблюдается генетическая закономерность в величине активностей ферментов процессинга и деградации регуляторных пептидов у животных, с различной мотивацией, что, видимо, определяет возникновение той или иной предрасположенности. Например, показано, что уровень активности карбоксипептидазы Н в различных отделах головного мозга у предпочитающих и непредпочитающих этанол крыс различался: активность фермента у неспредрасположенных к алгоголизму крыс была существенно выше [101], что соответствует отличиям в уровне энкефалинов в соответствующих отделах головного мозга у этих животных [15, 21]. Напротив, активность энкефалиназы А, инактивирующей энкефалины, у животных, исходно предпочитающих этанол, была ниже, чем у животных, полностью его отвергавших [102]. Кроме того, отмечалась генетическая закономерность в значении активности КПН, АПФ и КПН у крыс, предрасположенных и неспредрасположенных к стрессу [91-93, 95, 103], КПН и АПФ у мурицидных и немурцидных [36], энкефалиназы А у чувствительных и резистентных к морфину крыс [99, 100, 104]. Отмечалось, что у устойчивых к вышеперечисленным воздействиям животных изменения активности изучаемых ферментов были более выражены, чем у предрасположенных. Вероятно, что такие генетические различия в величинах активности протеолитических ферментов, свидетельствуют о неодинаковой интенсивности метаболизма регуляторных пептидов у этих животных, что может быть одной из причин различий в алгогольной и морфинной мотивациях, предрасположенности к стрессу, мурицидности и определять устойчивость животных к тем или иным воздействиям.

В области функциональной биохимии привлекает внимание обнаруженное пролонгированное действие короткоживущих энкефалинов и других регуляторных пептидов на организм. Однако механизмы проявления такого пролонгированного действия до сих пор остаются невыясненными. В связи с этим, изучение причин проявления длительного действия биологически активных пептидов на организм особо важно для исследования механизмов возникновения некоторых функциональных состояний организма и патологий, связанных в первую очередь, с изменением количественного состава определенных регуляторных пептидов. На наш взгляд, основной гипотезой возникновения пролонгированного действия биологически активных пептидов является концепция Ашмарина И.П. и соавт. [104-107] о функциональной непрерывности, регуляторном континууме. Такой

континуум характеризуется способностью каждого из регуляторных пептидов индуцировать выход определенной группы других пептидов, которые в свою очередь способны к такого же рода модулирующим эффектам. В результате чего вслед за прямыми эффектами того или иного пептида, может возникать целый ряд цепных или каскадных процессов образования одних и деградации других пептидов. Развитие таких цепных реакций в организме изменяет состояние всего пептидного континуума, причем на время более длительное, чем период проявления первичных эффектов регуляторных пептидов. Поскольку, как уже было сказано выше, интенсивность обмена нейропептидов определяется пептидгидролазами, участвующими в посттрансляционном процессинге и в инактивации биологически активных пептидов, то не исключена возможность, что образование таких сложных регуляторных цепей в организме осуществляется путем активации протеолитических ферментов.

Действительно, обнаружено, что при однократном введении лей- и мет-энкефалинов в организм крысы методом инстилляций на конъюнктиву глаза, активность карбоксипептидазы Н, ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы и ангиотензинпревращающего фермента повышалась, причем на протяжении длительного (до 10 суток) времени [68]. В других работах было показано длительное (от 3 до 14 суток) увеличение активности некоторых эндопептидаз под влиянием однократного введения δ -сон-индуцирующего пептида [81, 82]. Таким образом, можно предположить, что протеолитические ферменты вовлекаются в образование энкефалинами, а также другими регуляторными пептидами сложных регуляторных цепей и каскадов в организме, чем, видимо, и обусловлена их длительная активация. Вполне может быть, что именно путем такой длительной активации этих ферментов происходит «запуск» регуляторных цепей и каскадов, инициация одних и деградация других пептидов под влиянием энкефалинов.

Не исключена также возможность, что возникновение таких цепных реакций инициации образования и деградации одних регуляторных пептидов другими, лежит в основе возникновения и развития некоторых патологий и формировании ответа организма на различные воздействия. В связи с этим, изучение влияния и взаимовлияния регуляторных пептидов на ферменты их обмена представляют огромный интерес для выяснения механизмов регуляции активности протеолитических ферментов *in vivo* и могут служить основой для разработки методов коррекции активности данных ферментов при тех или иных патологиях ЦНС.

Таким образом, суммируя все вышеизложенное, очевидна взаимосвязь и взаимовлияние регуляторных пептидов и протеолитических ферментов в организме: энкефалины способны инициировать эндогенные механизмы регуляции активности ферментов, в свою очередь протеолитические ферменты способны регулировать уровень активных форм пептидов в организме, а также участвовать в «запуске» реакций регуляторного континуума, обуславливая нейромодуляторные свойства и биологическую роль регуляторных пептидов при различных функциональных состояниях организма. Поэтому, учитывая тесную взаимосвязь пептидгидролаз с регуляторными пептидами и, в частности – с энкефалинами, можно заключить, что изменение активностей протеолитических ферментов при различных функциональных состояниях организма, развитии патологий и влиянии некоторых экстремальных факторов, является неотъемлемой частью биологического действия этих пептидов, в определенной степени объясняющей индивидуальные особенности их физиологических свойств в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Harmar A.J.* (1987). *Transm. Mol. In the brain.*- 2, 17-26.
2. *Гомазков О.А.* (1991). Биологич. науки. 11, 5-19.
3. *Раевский К.С.* (1982). Итоги наук. и техн. ВИНТИ.- Фармакол. и химиотерапевтич. средства. 13, 185-213.
4. *North R.A., Williams J.T.* (1983). *Trends. Neurosci.* 6, 337-339.
5. *Бабищев В.Н., Миронов С.Ф.* (1981). Пробл. эндокринологии. 3, 78-85.
6. *Кареева Д.Н., Серов С.Ф., Оразбаева Л.К.* (1985) в сб. "Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии". Томск, 65-66.
7. *Armstrong J.D., Esbenshade K.L., Coffey M.T., Heimer E., Campbell R., Mowles T., Felix A.* (1990). *Domest-Anim-Endocrinol.* 7, 191-198.
8. *Carr D.J.* (1991). *Proc.-Soc.-Exp.-Biol. Med. Nov.* 198(2), 710-720.
9. *Замятин А.А.* (1992). Физиол. журн. 78(9), 39-49.
10. *Simon E.J.* (1991) *Med. Res. Rev.* 11, 357-374.
11. *Herz A., Millan M.* (1989). *Pharmacol.-Toxicol.* 52(3), 5-12.
12. *Viel E., Lefrant J.Y., Aya G., Eledjam J.J.* (1991). *Cah.-Anesthesiol.* 39(2), 75-82.
13. *Вальдман А.В., Орефолов В.А., Дмитриев А.Д.* (1988). Бюл. эксп. биол. мед. 99, 404-409.
14. *Лещманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Ласукова Т.В.* (1997). Усп. физ. наук. 28(1), 75-95.
15. *Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н.* (1985). Нейрохимия и фармакология алкоголизма. /М. Медицина.
16. *Cain D.P., Boon F., Corcoran M.E.* (1990). *Brain - Res.* 517(1-2), 236-244.
17. *Terenius L.* (1992). *Prog. Brain Res.* 92, 375-383.
18. *Storzo G.A.* (1989). *Sports-Med.* 7(2), 109-124.
19. *Kraft K., Diehl J., Stumpe K.O.* (1991). *Clin.-Exp.-Hypertens.* 13(4), 467-477.
20. *Naggert J.K., Fricker L.D., Varlamov O., Nishina P.M., Roulle Y., Steiner D.F., Carroll R.J., Paigen B.J. and Leiter E.H.* (1995). *Nat. Genet.* 10, 135-142.
21. *Буров Ю.В., Юхананов Р.Ю., Майский А.И.* (1983). Бюл. эксп. биол. мед. 7, 48-51.
22. *Gudehitlu K., Teiwani G., Bhargava H.* (1991). *Brain Res.* 553, 284-290.
23. *Watson S.J., Akil H., Berger P.A., et.a.* (1979). *Arch Gen Psychiatry.* 36, 220.
24. *Vajorek J.G., Lee R.J., Lomax P.* (1986). *Adv. Neurology.* 44, 489-500.
25. *Заец Т.Л., Сологуб В.К., Майзелис М.Я., Заблудовский А.Л., Шихов С.Н., Бородулин А.Г.* (1986). Бюл. эксп. биол. мед. №1, 10-11.
26. *Азарян А.В.* (1989). Пептидгидролазы нервной системы и их биологические функции. /Ереван. Айастан.
27. *Вернигора А.Н., Генгин М.Т.* (1996). Биохимия, 61, 771-785.
28. *Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Генгин М.Т.* (1995). Биохимия, 60, 1575-1579.
29. *Гомазков О.А., Григорьянц О.О.* (1989). Усп. совр. биол. 108(1), 109-124.
30. *Локишина Л.А., Былинкина В.С.* (1990). Усп. совр. биол. 109(2), 219-237.
31. *Дмитриев А.Д.* (1982). Итоги науки и техн.- ВИНТИ.- Фармакол. и химиотерапевтич. средства. 3, 7-49.
32. *Оболенская Н.Е.* (1989). Усп. совр. биол., 108(3), 337-341.
33. *Steiner D.F.* (1991). *Peptide Biosynthesis and Processing* (Fricker L.D., ed.).- CRC Press.- Boca Raton.- Florida. p.1-16.
34. *Gainer H., Russel J.T., Loh Y.P.* (1985). *Neuroendocrin.* 40(1), 171-184.
35. *Dalbey R.E., and Heijne G.* (1992). *Trends Biochem. Sci.*, 17, 474-478.
36. *Гомазков О.А.* (1993). Функциональная биохимия регуляторных пептидов. М.- Наука.
37. *Lynch D.R., Snyder S.H.* (1986). *Ann. Rev. Biochem.* 55, 773-799.
38. *Kirchmair R., Egger C., Gee P., Hogue-Angeletti R., Fisher-Colbrie R., Laslop A., and Winkler H.* (1992). *Neurosci. Lett.*, 143, 143-145.

39. Silberring J., Castello M.E., and Nyberg F. (1992). *J. Biol. Chem.* **267**, 21324-21328.
40. Azaryan A.V., and Hook V.Y.H. (1994) *FEBS Lett.*, **341**, 197-202.
41. Lindberg I., Yang H.-Y.T., and Costa E. (1984). *J. Neurochem.*, **42**, 1411-1419.
42. Cromlish J., Seidan N., and Chretien M. (1986). *J. Biol. Chem.*, **261**, 10850-10858.
43. Healy D.P., and Orlowski M. (1992). *Brain Res.*, **571**, 121-128.
44. Camardgo A.C.M., Gomes M.D., Toffoletto O., Ribeiro M.J.F., Ferro E.S., Fernandes B.L., Suzuki K., Sasaki Y., and Juliano L. (1994). *Neuropeptides*, **26**, 281-287.
45. Hui K.-S., Wang Y.-J., and Lajtha A. (1983). *Biochemistry*, **22**, 1062-1067.
46. Erdos E.G., Skidgel R.A. (1987). *Lab. Invest.* **56**, 345-348.
47. Robichon A., and Kuks P. (1991). *Endocrinology*, **128**, 1974-1980.
48. Azaryan A.V., and Hook V.Y.H. (1994). *Arch. Biochem. Biophys.*, **314**, 171-177.
49. Вернигора А.Н., Генгин М.Т. (1993). *Укр. биохим. журн.*, **65**(1), 3-12.
50. Вернигора А.Н., Генгин М.Т., Нукишин Н.Н. (1992). *Биохимия*, **57**(11), 1712-1719.
51. Fricker L.D., Devi I. (1990). *Anal. Biochem.*, **184**(1), 21-27.
52. Генгин М.Т., Вернигора А.Н. (1989). *Укр. биохим. журн.*, **61**(3), 62-66.
53. Fricker L.D., Snyder S.H. (1982). *Procl. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 3886-3890.
54. Lynch D.R., Venable J.C., Strittmatter S.M., Snyder S.H. (1988). *Biochimie*, **70**(1), 57-64.
55. Fricker L.D., Suppattapone S., Snyder S.H. (1982). *Life Sci.*, **31**, 1841-1844.
56. Hook V.Y.H., Loh Y.P. (1984). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Sci.*, **81**, 2776-2780.
57. Davidson H.W., Hutton J.C. (1987). *J. Biochem.*, **245**(2), 575-582.
58. Supattapone S., Fricker L.D., Snyder S.H. (1984). *J. Neurochem.*, **42**(4), 1017-1023.
59. Eipper B.A., Green C.B., Mains R.E. (1992). *Monogr. Natl. Cancer. Inst.*, **13**, 163-168.
60. Chesselet M.F., and Hook V.Y.H. (1988) *Regul. Pept.*, **20**, 151-159.
61. Rouille Y., Chauvet J., Acher R. (1992). *Biochem. Int.*, **26**(4), 739-746.
62. Norenberg U., Richter D. (1988). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **156**(2), 898-904.
63. Orscof C., Buhl T., Rabenhoi L., et al. (1989). *FEBS Lett.*, **247**(2), 193-196.
64. Lynch D.R., Venable J.C., Snyder S.H. (1988). *Endocrinol.*, **122**(6), 2683-2691.
65. Fricker L.D. (1988). *Ann. Rev. Physiol.* **50**, 309-321.
66. Вернигора А.Н., Нукишин Н.Н., Генгин М.Т. (1995). *Биохимия*, **60**(11), 1423-1427.
67. Генгин М.Т. (1991). *Нервная система. / Л.- ЛГУ, с. 29-30.*
68. Митюшина Н.В. (1999). *Влияние энкефалинов на активность ферментов регуляторных пептидов в головном мозге и периферических органах // автореф. дис. канд. биол. наук. / Москва.*
69. Вернигора А.Н., Нукишин Н.Н., Генгин М.Т. (1996). *Биохимия*. **60**, 1860-1866.
70. Fricker L.D., Snyder S.H. (1983). *J. Biol. Chem.*, **258**(18), 10950-10955.
71. Skidgel R.A., Jonson A.R., and Erdos E.G. (1984). *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 3471-3478.
72. Deggish P.A., Skidgel R.A., Kriho V.B., Li X.Y., Becker R.P., and Erdos E.G. (1990). *J. Biol. Chem.*, **265**, 15083-15089.
73. Johansson G.B., and Skidgel R.A. (1994). *FASEB J.*, **8**, A930.
74. Wascman C., Hamel E., Delay-Goyet P., and Roques B.P. (1987). *Brain Res.*, **436**, 205-216.
75. Gros C., Giros B., Schwartz J.-L., Vlaiculescu A., Costentin J., and Lecomte J. (1988). *Neuropeptides*, **12**, 111-118.
76. Hui K.-S., Hui M., and Lajtha A. (1988). *J. Neurosci. Res.*, **20**, 231-2340.
77. Ehlers M.R., Riordan J.F. (1989). *Biochem.*, **28**(3), 5311-5318.

78. *Barelli H., Vincent J.-P., and Checler F.* (1993). *Eur. J. Biochem.*, **211**, 79-90.
79. *Вернигора А.Н., Генгин М.Т.* (1995). *Биохимия*, **60**(12), 1491-1497.
80. *Hook V.Y.H., LaGamma E.F.* (1987). *J. Biol. Chem.*, **262**(26), 12583-12588.
81. *Менджерский А.М., Лысенко А.В., Ускова Н.И.* (1995). *Биохимия*, **60**(4), 585-593.
82. *Лысенко А.В.* (1993). Протеолитические процессы в мозге крыс при стрессе и адаптивном влиянии δ -сон индуцирующего пептида // автореф. дис. на канд. биол. наук./ Ростов-на-Дону.
83. *Arregui A., Iversen L.L.* (1979). *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 2693-2696.
84. *Kariya K., Okamoto H., Kakimoto M., et. al.* (1981). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **100**, 31-36.
85. *Елисеева Ю.Е., Барсукова И.С., Орехович В.Н.* (1988). Докл. АН СССР, **302**, 992-994.
86. *Maestrini G.J., Conti A.* (1991). *Int.-J. Neurosci.*, **61**(3-4), 289-298.
87. *Беляев Н.А., Генгин М.Т., Годына С.В., Калихевич В.Н., Панченко Л.Ф.* (1988). *Вопр. мед. химии*, **34**(4), 118-122.
88. *Вернигора А.Н., Генгин М.Т.* (1994). *Вопр. мед. химии*, **40**(1), 54-56.
89. *Вернигора А.Н., Генгин М.Т., Макарова В.В.* (1992). *Укр. биохим. журн.*, **64**(2), 45-49.
90. *Генгин М.Т., Вернигора А.Н.* (1993). *Укр. биохим. журн.*, **65**(1), 100-103.
91. *Генгин М.Т., Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Керимов В.Ю.* (1995). *Вопр. мед. химии*, **41**(4), 8-9.
92. *Вернигора А.Н., Генгин М.Т., Никишин Н.Н.* (1995). *Физиол. журн.*, **81**(5), 103-111.
93. *Вернигора А.Н., Генгин М.Т., Никишин Н.Н., Щетинина Н.В.* (1994). *Физиол. журн.*, **80**(4), 23-26.
94. *Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Генгин М.Т., Щетинина Н.В.* (1995). *Укр. биохим. журн.*, **67**(1), 52-56.
95. *Генгин М.Т., Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Щетинина Н.В.* (1994). *Укр. биохим. журн.*, **66**(2), 116-119.
96. *Генгин М.Т., Вернигора А.Н.* (1995). *Нейрохимия*, **25**(4), 307-310.
97. *Генгин М.Т., Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Митюшина Н.В.* (1995). *Вопр. мед. химии*, **41**(5), 37-39.
98. *Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Генгин М.Т.* (1995). *Укр. биохим. журн.*, **67**(6), 99-104.
99. *Панченко Л.Ф., Баронец В.Ю., Теребилина Н.Н., Аристова В.В., Литвинова С.В., Калюжный Л.В.* (1995). *Бюл. экспер. биол. мед.*, **11**, 492-494.
100. *Панченко Л.Ф., Шульговский В.В., Литвинова С.В., Теребилина Н.Н., Аристова В.В., Грудень М.А., Калюжный А.Л.* (1998). *Паллиативная медицина и реабилитация*, **2-3**, 161.
101. *Гомазков О.А., Панфилов А.Д., Ростовцев А.П., Комиссарова Н.В., Фомин В.В., Григорьянц О.О.* (1991). *Вопр. мед. химии*, **37**(4), 33-37.
102. *Беляев Н.А.* (1984). Состояние энкефалинэргической системы мозга крыс при воздействии этанола // автореф. дис. канд. мед. наук, Москва.
103. *Вернигора А.Н., Никишин Н.Н., Генгин М.Т., Щетинина Н.В.* (1994). *Укр. биохим. журн.*, **66**, 130-134.
104. *Панченко Л.Ф., Литвинова С.В., Аристова В.В., Теребилина Н.Н., Грудень М.А., Шумова Е.А.* (1997). Материалы IV Российского национального конгресса «Человек и лекарство», Москва, с.101.
105. *Ашмарин И.П., Обухова М.Ф.* (1986). *Биохимия*, **51**(4), 531-542.

106. *Ашмарин И.П., Каменская М.А. (1988). ВИНТИ инт. сер. физиолог. чел. и жив., 34.*
107. *Ерошенко Т.М., Титов С.А., Лукьянова Л.Л. (1991). Каскадные эффекты регуляторных пептидов./ М. Наука.*

Поступила 15.05.99.

**METABOLISM OF ENKEPHALINS AT DIFFERENT FUNCTIONAL
AND PATHOLOGY CONDITIONS OF THE ORGANISM**

PANCHENKO L.F., MITIUSHINA N.V., FIRSTOVA N.V., GENGIN M.T.

Research Institute for Narcology Ministry of Public Health, Mogiltsevskiy per. 3,
121921, Moscow; fax (095) 241-09-81;

Department of Chemistry, Penza State Pedagogical University,
Lermontova st. 37, 440026, Penza, fax (8412) 66-27-06.

The peculiarities of metabolism of enkephalins at different functional conditions of the organism, different pathology and at the influence of some extreme factors are considered. Some special attention is given to the problem of interrelation and interdependence of enkephalins with proteolytic enzymes, participating in their synthesis and degradation. It is concluded that the biological property of neuropeptides as well as their participation in different physiological and pathological conditions of the organism very much depend on the peculiarities of functioning of enzyme systems of metabolism of neuropeptides.

Key words: neuropeptides, enkephalins, metabolism, processing, inactivation, proteolytic enzymes.