

**Министерство образования Российской Федерации  
Самарская государственная сельскохозяйственная академия  
Самарский Государственный Университет**

Посвящается светлой памяти  
Серых Валентины Николаевны

**М.М. Серых, В.В.Зайцев, Н.А. Кленова, А.М. Петров, В.Г. Подковкин,  
М.Ю. Языкова**

## **ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭНДОКРИНОЛОГИИ**

Допущено Министерством сельского хозяйства Российской Федерации в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности 310800-«Ветеринария»

Под редакцией профессора М.М. Серых  
и профессора В.Г. Подковкина

**Самара  
2004**

ББК 48:725

УДК 619: 616. 4: 577. 2

О 75

Рецензенты:

Доктор медицинских наук, профессор, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией Самарского государственного медицинского университета  
Л.Т. Волова

Доктор биологических наук, профессор, зав кафедрой биологии и экологии  
Чувашской государственной сельскохозяйственной академии  
Н.Г. Игнатьев

Серых М. М., Зайцев В.В., Клёнова Н.А. и др.

О 75 Основы молекулярной эндокринологии:

Учебное пособие.- Самара, 2004.-144 с.

В учебном пособии изложены современные представления о механизмах действия информонов (гормонов, нейромедиаторов, гистогормонов, антител и других биологически активных молекул) – веществ, передающих межклеточную информацию и тем самым участвующих в регуляции метаболизма, гомеостаза, адаптационных процессов и резистентности; показана роль циклических нуклеотидов, кальция, оксида азота, эйкозаноидов и других посредников, а также специфических рецепторов тканей-мишеней, в проявлении действия информонов; подчеркнута определяющая роль гипоталамуса и его информонов в интеграции нервной, эндокринной и иммунной систем регуляции в организме животных; отмечена роль информонов в межклеточной коммуникации между макроорганизмами и микробными ассоциациями в микросимбиозах; рассмотрены основные принципы гормональной терапии и использования информонов в животноводстве, в том числе для регуляции процессов воспроизводства животных.

Пособие предназначено для студентов по специальности «Ветеринария» и других биологических специальностей вузов; может быть использовано для послевузовской подготовки аспирантов, преподавателей и практических работников.

## Оглавление

	<b>Введение</b>	<b>6</b>
1	Системы, принимающие участие в регуляции гомеостаза и функций многоклеточных организмов (М.М.Серых)	9
2	Роль гипоталамуса и гипофиза в интеграции нервной, эндокринной и иммунной систем регуляции (М.М. Серых)	17
3	Механизмы действия информонов (М.М. Серых)	28
3.1.	Информоны, связывающиеся с внутриклеточными рецепторами (М.М. Серых, М.Ю. Языкова)	29
3.1.1.	Стероидные гормоны	29
3.1.2.	Тиреоидные гормоны	43
3.1.3.	Ретиноевая кислота	46
3.2.	Информоны, связывающиеся с рецепторами на поверхности клетки (М.М. Серых)	48
3.2.1.	Циклические нуклеотиды и их биологическая роль	48
3.2.1.1.	Роль цАМФ у микроорганизмов	50
3.2.1.2.	Циклические нуклеотиды - посредники биологических эффектов информонов у животных (М.М. Серых, Н.А. Клёнова)	54
3.2.2.	Информоны, оказывающие биологический эффект через ассоциированную с рецепторами тирозинкиназную активность	61
3.2.3.	Действие информонов, опосредованное фосфоинозитидами и кальцием (М.М. Серых, Н.А. Клёнова)	63
3.2.4.	Кальций -основной регуляторный катион клеток (Н.А. Клеиова)	64
3.2.5.	Рецепторы, обладающие свойствами ионных каналов	66
3.2.6.	Регуляторные функции оксида азота (М.М. Серых, Н.А. Клёнова)	69
3.3.	Роль эйкозаноидов в регуляции внутриклеточных процессов(М.М. Серых)	71
4.	Роль информонов в регуляции репродуктивной функции животных (А.М. Петров, М.М. Серых)	75
5.	Информоны и адаптация (В.Г. Подковкин, М.М. Серых)	80
6.	Информационные молекулы в межклеточных взаимодействиях (Н.А. Кленова)	94
6.1.	Интегрины	94
6.2.	Иммуноглобулины	97
6.3.	Кадгерины	97
6.4.	Селектины	98
6.5.	Внеклеточный матрикс	99
6.5.1.	Взаимодействие компонентов в экстрацеллюлярном Матриксе (ЭЦМ)	102
6.6.	Цитокины	103

6.6.1.	Регуляция активности цитокинов	105
6.7.	Факторы роста	106
7.	Роль информонов в межклеточной коммуникации между макроорганизмами и микробными ассоциациями в микросимбиозах (М.М.Серых, А.М. Петров)	110
8.	Некоторые возрастные особенности регуляторных процессов у животных (М.М. Серых, М.Ю. Языкова)	116
9.	Применение гормонов (В.В. Зайцев)	124
	Рекомендуемая литература	145

## Введение

На разных этапах эволюции живых организмов (от одноклеточных до высших позвоночных), наряду с усложнением организмов, происходило усложнение и совершенствование регуляции протекающих в организме процессов обмена веществ.

Как известно, под регуляцией понимают совокупность контрольных механизмов, обеспечивающих как гомеостаз, так и адаптацию живого организма к изменениям внешней или внутренней среды.

У одноклеточных организмов, постоянно обменивающихся веществом и энергией с окружающей средой, решающую роль в регуляции биохимических реакций (а, следовательно, и обусловленных ими функций) играют жесткая и закономерная фиксация ферментов на мембранах клетки и клеточных органелл, активация ферментов с помощью различных ионов, субстратная индукция синтеза ферментов, изменение их активности под влиянием конечных продуктов реакции. То есть у одноклеточных организмов происходит регуляция процессов обмена веществ, в том числе в ответ на воздействие внешней среды, преимущественно за счет внутриклеточно (аутокринно) действующих метаболитов.

У многоклеточных организмов появление множественности структур и функций, их дифференциация и специализация, эволюционно обусловили возникновение разнообразных форм, механизмов и уровней межклеточных взаимодействий, в том числе межклеточного управления с помощью гистогормонов (цито-, паракормонов), которые образуются чаще тканенеспецифично, поступают в межклеточную жидкость и обеспечивают саморегуляцию тканевых элементов в пределах близлежащих клеток (паракринно). Разновидностью паракринной регуляции можно считать юкстакринное действие, когда биорегулятор не попадает в межклеточную жидкость, а передача сигнала происходит при непосредственном контакте рядом расположенных клеток – через их плазматические мембраны.

У позвоночных в процессе эволюции возникло огромное множество (около  $10^{15}$ ) специализированных клеток, дифференцированных на 20 клеточных типов, объединяющихся в высокоспециализированные ткани, органы и системы, для координации функций которых формируется централизованный аппарат управления. Но при этом у высших животных, в том числе и у млекопитающих, в процессе эволюции сохранились контрольные механизмы, имеющиеся и у других видов (ауто-, паракринные и др.)

У животных и человека схематично, в известной мере относительно, можно представить несколько «этажей» регуляции:

аутокринная регуляция на субклеточном уровне – при участии метаболитов внутренней среды клеток;

- паракринная и юкстакринная регуляция с помощью гистогормонов и непосредственных контактов клеток;

**эндокринная регуляция** – путем координации деятельности клеток и тканей при посредстве гормонов, образующихся в специализированных железах внутренней секреции, обладающих стабильностью химической структуры и способных проявлять свое регуляторное воздействие на значительном расстоянии от места их синтеза (дистантно);

- **нервная регуляция**, обеспечивающая наиболее быструю и общую реакцию других контрольных систем на те или иные воздействия.

У высших животных все «этажи» регуляции тесно взаимосвязаны, а централизованный аппарат управления (нервная и эндокринная системы) дополнен эволюционно более молодой иммунной системой.

Все биологические регуляторные системы функционируют путем высвобождения химических веществ (лигандов), взаимодействующих с рецепторами (то есть через так называемые лиганд – рецепторные взаимодействия).

Для обеспечения относительно стабильной активности организма необходима регуляция систем его жизнеобеспечения на всех уровнях – от молекулярного до популяционного, с использованием биохимических, физиологических и поведенческих механизмов, соответствующих уровню организации и условиям жизни данного вида.

В предлагаемом читателям учебном пособии особое внимание обращается преимущественно на биохимические механизмы регуляции метаболических процессов, возникших в процессе эволюции на молекулярном уровне.

В связи с тем, что медиаторы, гормоны, цитокины и другие химические вещества не принимают непосредственного участия в метаболических процессах, а несут лишь регуляторную функцию, их иногда именуют специфическими регуляторами (**информонами**), а область биологической науки, занимающуюся изучением их роли и механизмов действия, получила название **«Молекулярная эндокринология»** (В.А. Ткачук, 1983).

Исследования в области молекулярной эндокринологии интенсивно развиваются. Полученные при этом данные свидетельствуют о единстве многих лиганд – рецепторных взаимодействий у различных видов живых организмов, вследствие весьма раннего появления в эволюции молекул (стероидных, пептидных и других), способных выполнять регуляторные функции. Например, инсулин или подобные ему пептиды обнаружены у позвоночных в  $\beta$  - клетках поджелудочной железы, в клетках кишечника и мозга, а также в нервной системе ряда высокоорганизованных беспозвоночных (моллюсков, насекомых), у простейших (инфузорий) и бактерий (А.Д. Ноздрачев и др., 2002). Функцию хемосигналов у микроорганизмов могут выполнять и другие регуляторные пептиды (соматостатин, кортикотропин, опиаты, катехоламины и другие гормоноподобные вещества), через которые, в частности, могут взаимодействовать микроорганизмы кишечника животных и человека как между собой, так и с макроорганизмом (А.Л. Бурмистрова, 1997). Возможно даже изменение состава и соотношения микрофлоры кишечника у животных путем активации нейроэндокринноиммунных механизмов регуляции парэн-

терально введенными в организм регуляторными пептидами (В.В. Зайцев и др., 2002).

Многие данные, полученные в последние годы в области молекулярной эндокринологии, имеющие большое теоретическое и практическое значение, еще недостаточно обобщены и отражены в имеющихся учебниках и учебных пособиях.

При написании данного учебного пособия учтен многолетний опыт преподавания биохимии гормонов, молекулярной эндокринологии, иммунологии, межклеточных взаимодействий и некоторых других дисциплин в Самарском государственном университете и в Самарской государственной сельскохозяйственной академии. Надеемся, что оно поможет студентам в более углубленном усвоении материалов, изложенных в физиологии, биохимии, фармакологии, многих клинических и других дисциплинах.

Авторы будут признательны всем, кто сочтет возможным высказать замечания и рекомендации по структуре и содержанию нашего издания.

## 1. Системы, принимающие участие в регуляции гомеостаза и функций многоклеточных организмов

У высших животных в регуляции метаболических процессов принимают участие специализированные нервная, эндокринная и иммунная системы. Однако у них сохранилась и неспецифическая регуляция, за счет сигнальных эффектов метаболитов, которая может быть не только аутокринной, но и паракринной, и дистантной. Например, жирные кислоты, поступаая из жировых депо или печени в мышцы, могут в высоких концентрациях тормозить скорость гликолиза и разобщать сопряжение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Глюкоза, переходя из печени в кровь, может в различных органах и тканях оказывать разнообразные эффекты: в жировой ткани стимулирует гликолиз и ингибирует синтез жирных кислот; в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы – через глюкорцепторы (специфично) стимулирует синтез инсулина, в  $\alpha$ -клетках – ингибирует синтез глюкагона. От концентрации в крови аминокислот, действующих через аминокрепторы, зависит секреция соматотропина и инсулина, участвующих в регуляции белкового обмена. Ионы кальция стимулируют образование кальцитонина и тормозят синтез паратгормона, а также принимают участие в регулировании различных сторон клеточного метаболизма. Глутаминовая кислота из печени и мышц может быть внешним регулятором в нервной и других тканях. Функции гистогормонов, обеспечивающих саморегуляцию тканевых элементов, их метаболическую, секреторную, ростовую активности, региональное кровообращение, могут выполнять биогенные амины (гистамин, серотонин, триптамин), производные полиненасыщенных жирных кислот (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены), полисахариды (гепарин), регуляторные пептиды (местные факторы роста эпидермиса, эндотелия, нервов; вазоактивные кинины – брадикинин, каллидин), белки (интерлейкины и др.). Гистогормоны являются короткоживущими соединениями, действующими преимущественно паракринно.

В настоящее время все более накапливается данных о тесной интеграции и взаимосвязи нервной, эндокринной и иммунной систем (В.Б.Розен, 1994; А.Л.Бурмистрова, 1997; Г.Н. Крыжановский и др., 1997; М.И. Балаболкин, 1998; А.А. Ярилин, 1999; Р.М. Хаитов и др., 2000), об их объединении в единую, нейроэндокринноиммунную систему, в которой они взаимодействуют по принципу взаимной регуляции, осуществляемой нейромедиаторами, нейропептидами, трофическими факторами, гормонами, лимфокинами, через соответствующий рецепторный аппарат. Общими свойствами нервной, эндокринной и иммунной систем являются высокая степень специализации на сигнальных функциях и дистантность посылаемых ими сигналов.

В организме человека и животных нейроэндокринноиммунная система регуляции, выступая в качестве централизованного аппарата управления, выполняет всеобъемлющую функцию по координации деятельности всех органов и систем как единого целого, обеспечивая адаптацию организма к посто-



янно меняющимся факторам внешней и внутренней среды, результатом чего является сохранение гомеостаза, необходимого для поддержания нормальной жизнедеятельности организма и его резистентности (Рис.1.).

Составные части централизованного аппарата управления жизнедеятельностью большинства организмов могут иметь как специфичные для них, так и сходные или даже полностью совпадающие механизмы влияния на клетку.

Центральная нервная система осуществляет регуляторную функцию преимущественно посредством импульсно-медиаторного механизма передачи специализированных сигналов, сочетающих в себе электрический (внутриклеточный) и химический (медиаторный, локальный, межклеточный) способы. Известно около 100 медиаторов (нейротрансмиттеров), которые можно рассматривать как гистогормоны, продуцируемые пресинаптической мембраной и вовлекаемые в нервный контроль (паракринную регуляцию) путем действия на постсинаптическую мембрану (цитоплазматическую мембрану соседней клетки).

В центральной нервной системе роль медиаторов выполняют ацетилхолин, норадреналин, дофамин, серотонин, глицин, гаммааминомасляная и глутаминовая кислоты. Паракринно могут действовать и нейромодуляторы – химические вещества, выделяемые аксонами и дендритами не в синаптическую щель, а в межклеточное пространство и воздействующие на соседние нейроны (не имеющие контакта с первым нейроном) путем диффузии. Медиаторы, как правило, обладают кратковременным, а модуляторы (чаще пептидной природы) более долговременным действием (Г.Шеперд, 1987). Катехоламины могут действовать как модуляторы и как специфические медиаторы. Большинство медиаторов могут быть как возбуждающими, так и тормозными. Например, ацетилхолин на сердце оказывает тормозящее, а на скелетные и гладкие мышцы кишечника – возбуждающее действие. Характер действия определяется не медиатором, а свойствами рецепторов на постсинаптической клетке.

Нервная ткань обладает способностью воспринимать слабые раздражители, что объясняется ее высокой возбудимостью. Реакции нервной системы имеют высокую скорость развития (скорость проведения возбуждения 120-130 м/с).

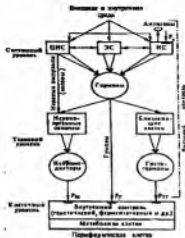


Рис. 1. Уровни, формы и механизмы экстраклеточного специализированного управления жизнедеятельностью клеток (по В.Б. Розену, 1994)

$R_m$ ,  $R_g$ ,  $R_{gt}$ ,  $R_a$  – рецепторы медиаторов, гормонов, гистогормонов и антигенов соответственно, ИС, ЭС – иммунная и эндокринная системы

Нервная регуляция отличается точной адресностью – нервные импульсы направляются к строго определенным нервным окончаниям, где и оказывают свое действие.

Эндокринные железы реализуют свои функции управления гуморально, с помощью гормонов, к которым относят специфические вещества, обладающие стабильностью химической структуры, необходимые для регуляции процессов обмена веществ, выделяемые железами внутренней секреции непосредственно в кровь и в лимфу. В известной мере большинство эндокринных желез и вырабатываемые ими гормоны можно рассматривать как гуморальное звено (эффекторное) рефлекторной дуги. При этом связь между нервной и эндокринной системами осуществляет гипоталамус с помощью нейросекреторных клеток, продуцирующих под влиянием нервных импульсов пептидные гормоны (либерины и статины), которые регулируют в гипофизе образование тропных гормонов, стимулирующих функции других желез внутренней секреции.

Представление о железах внутренней секреции и гормонах усложнилось после того, как стало известно, что некоторые органы и ткани, в которых происходит синтез биологически активных веществ, соответствующих

прежнему определению гормона, не являются эндокринными железами в классическом смысле. Например, сердце выделяет предсердные натрийуретические пептиды, печень-ростовые факторы (соматомедины), гипоталамус (часть головного мозга) – нейропептиды (либерины и статины). Гипоталамические нейроны, выделяя нейротрансмиттеры в синаптические щели, действуют как составная часть нервной системы, а выделяя свои продукты в кровь – как клетки желез внутренней секреции. Некоторые гормоны эндокринных желез (например, эстрадиол) действуют не только на отдаленные клетки мишени, но и паракринно, и аутокринно.

Иммунная система участвует во взаимной регуляции путем продуцирования молекул - цитокинов, гормонов, антител, а также непрерывной циркуляцией подвижных элементов этой системы – иммунокомпетентных лимфоцитов и вспомогательных клеток (моноцитов, нейтрофилов и других).

Нервная и эндокринная системы участвуют в регуляции обмена веществ, в адаптации, в защите организма от физических, химических и других факторов. Иммунная система осуществляет контроль дифференцировки клеток в организме и защищает его от антигенов – биологических объектов, несущих чужеродную генетическую информацию, к которым нет рецепторов у нервной и эндокринной систем (Рис.2).

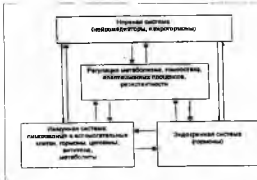


Рис. 2. Схема взаимосвязи нервной, эндокринной и иммунной систем регуляции (Фролов Ю.П., Серых М.М. и др., 2001)

Уникальность иммунной системы состоит в том, что ее клетки могут одновременно выполнять рецепторные, секреторные и эффекторные функции и, обладая подвижностью, мобильно осуществлять свою сенсорную, регуляторную и защитную роль в то время и в том месте организма, когда, где, и с какой интенсивностью это требуется.

Таким образом, нервная и эндокринная системы как бы осуществляют химический и физический мониторинг через «стационарные посты» (нейроны, специализированные эндокринные клетки и другие структуры) наблюде-

ния за химическими и физическими показателями, а иммунная система осуществляет генетический мониторинг — как через «стационарные посты» (макрофаги и лимфоциты в различных тканях), так и через мобильные группы клеток (моноциты и лимфоциты крови, лимфы, межклеточной жидкости). При осуществлении изменений химических, физических и биологических показателей гомеостаза, регуляторные системы включают свои механизмы его поддержания на необходимом для организма уровне.

Нервная, эндокринная и иммунная системы регуляции выступают, с одной стороны, как самостоятельные, а с другой — как тесно взаимосвязанные системы, о чем свидетельствует наличие хорошо развитой симпатической и парасимпатической иннервации желез внутренней секреции, центральных и периферических лимфоидных органов, а также обнаружение в них общих гормонов, медиаторов и других биологических регуляторов. Например, некоторые нейроны головного мозга секретируют эндорфины и энкефалины, которые являются также составной частью, действующим началом лейкоцитарного интерферона, миелопептидов костного мозга, тимозина (гормона тимуса) и некоторых других гормонов. Некоторые гистогормоны (гистамин, серотонин), а также истинные гормоны (вазопрессин, окситоцин, норадреналин) одновременно являются нейромедиаторами. Соматотропин образуется и в гипофизе и в лимфоцитах. Ацетилхолин, норадреналин, серотонин помимо нервных клеток образуются и в лимфоцитах. ИЛ-1 продуцируется преимущественно моноуклеарными фагоцитами. Его продуцентами также являются нейтрофилы, В-лимфоциты, естественные киллеры, клетки нейроглии, нейроны головного мозга, периферические симпатические нейроны, мозговое вещество надпочечников.

На основе принципиально общей функции гистогормоны, нейромедиаторы, гормоны, антитела обозначают как «информоны» - вещества, передающие межклеточную информацию (Табл. I).

Таблица I

Основные механизмы передачи межклеточной информации различными типами информонов (по В.П. Розену, 1994)

Тип информона	Место образования	Распространение действия	Основной механизм передачи
Гистогормоны (адреналин, пролактин, факторы роста, регуляторные белки и др.)	Различные клеточные популяции (как правило)	Локальные эффекты	По клеточным контактам, гуморальный (паракринный)
Нейромедиаторы и нейромодуляторы (ацетилхолин, норадреналин, дофамин, γ-аминобутирическая кислота, серотонин и др.)	Пресинаптические терминалы нейронов	Локальные эффекты действия (действие на соседние клетки)	По синаптическим контактам (синаптический)
Гормоны (инсулин, гормон роста, эстрогены, андрогены, витаминостероиды и др.)	Специализированные популяции эндокринных клеток (как правило)	Дистантные эффекты	Гуморальный (эндокринный)
Антитела (специфические иммуноглобулины)	Плеоморфные лимфоидные клетки (клетки лимфоцитов)	Дистантные эффекты	Гуморальный

Информоны секретируются в межклеточное пространство, не могут быть использованы в качестве пластического и энергетического материала, способны взаимодействовать с белками-рецепторами в реагирующих клетках и через их посредство направлено изменять характер клеточного метаболизма.

Одна из важных, но нерешенных до конца проблем биологии заключается в том, чтобы выяснить, каким образом гормоны и медиаторы оказывают свое мощное действие на процессы обмена веществ, каким образом различные по величине и по химической природе молекулы нередко оказывают сходное действие на процессы обмена веществ в зависимых от них клетках.

Делалось много попыток объяснить механизмы действия гормонов и медиаторов. Выдвигались теории объясняющие эти механизмы, приводились данные в подтверждение каждой из теорий, но полученные на одном или нескольких информонах.

Множественность теорий, объясняющих действие информонов, обусловлена отсутствием единого механизма их действия. На данном этапе развития науки наибольшее внимание уделяется исследованиям молекулярных уровней действия информонов, позволяющим подойти к выяснению механизмов управления фундаментальными процессами активации генов и передачи наследственной информации.

В настоящее время известно, что информоны различной природы могут иметь как различные пути проявления своего влияния на клетки и на организм в целом, так и общие.

В большинстве случаев в основе механизмов инициации эффекта информонов в клетке закономерен лежит однотипная функционально сопряженная триада молекул:

- 1) информон – внеклеточный сигнальный регулятор;
- 2) рецептор-специфический клеточный приемник, который, в процессе образования информон-рецепторного комплекса, преобразует сигнал первичного (внеклеточного) регулятора;
- 3) акцепторы – регуляторные структуры клетки, непосредственно взаимодействующие с информон-рецепторным комплексом и включающие цепи эффекторных информон-индуцируемых процессов.

Информоны, даже поступая во все органы и ткани, проявляют свое действие только в определенных тканях и органах-«мишенях». Так, например, кортикотропин вызывает непосредственные изменения только в коре надпочечников, глюкагон – только в печени, адреналин – в печени и мышцах. Такая органная специфичность характерна для большинства информонов и зависит от наличия в органах и тканях специфических рецепторов – химических соединений, после взаимодействия с которыми проявляется действие информона. Рецепторы имеют различную химическую природу. Известны рецепторы – простые белки, рецепторы – гликопротеиды, рецепторы – нуклеопротеиды и др. Рецепторы информонов способны к конформационным измене-

ниям, могут представлять собой группу молекул, отдельные молекулы или функциональную группу данной молекулы. В некоторых случаях рецепторами информонов служат мембранные ферменты, с которыми информон образует комплекс информон-рецептор, подобный фермент-субстратному. В одной и той же ткани возможно наличие рецепторов для различных информонов. Даже информоны сходного действия могут иметь в одной и той же ткани различные рецепторы. Например, реакции гликолиза в печени ускоряют и адреналин, и глюкагон, так как в печени есть специфические рецепторы и для адреналина, и для глюкагона. В мышцах же на реакции гликолиза оказывает влияние только адреналин, так как в мышцах есть рецепторы для адреналина и нет рецепторов для глюкагона. Некоторые гормоны, в частности кортикостероиды, в отличие от большинства других гормонов, не имеют ярко выраженного органа-мишени и оказывают влияние на метаболические процессы во многих органах и тканях. Следовательно, реализация биологического эффекта информона находится в зависимости не только от его наличия в крови, в лимфе или в межклеточной жидкости, но и от наличия функционирующего рецептора в тканях-мишенях. Блокада специфических рецепторов ведет к нечувствительности органов-мишеней к нормально синтезируемым информонам.

Локализация рецепторов в клетках различна. Они могут находиться в наружной клеточной мембране, в цитоплазме, в ядре. Место нахождения рецептора в значительной степени обуславливает механизм действия информона, который специфически взаимодействует с данным рецептором.

О существовании тесных функциональных взаимоотношений между нервной, эндокринной и иммунной системами свидетельствует обнаружение в них не только общих информонов, но и рецепторов к ним. В клетках центральной нервной системы и в железах внутренней секреции, также как и в клетках иммунной системы, имеются рецепторы к интерлейкинам, миелопептидам, гормонам тимуса пептидной природы и другим информонам иммунной системы, обладающим нейротропным действием. В иммунной системе хорошо развита симпатическая и парасимпатическая иннервация центральных и периферических лимфоидных органов. Выявлено наличие рецепторов к нейромедиаторам и гормонам как в лимфоидных органах, так и на отдельных иммунных лимфоцитах и вспомогательных клетках (тучных, макрофагах и др.), в частности к катехоламинам, холинергическим веществам, нейро- и миелопептидам. Лимфоциты и макрофаги в тимусе, костном мозге, селезенке, лимфатических узлах могут приближаться к нервным окончаниям и своими собственными рецепторами вступать с ними в непосредственный контакт и тем самым воспринимать нейрорегуляторные влияния.

Известно также, что не только воздействие со стороны нейроэндокринной системы влияет на развитие иммунного ответа, но и изменение функциональной активности иммунной системы (сенсibilизация, стимуляция выработки лимфокинов и монокинов) приводит к характерным сдвигам электрофизиологических показателей нейрональной активности. Гормон тимуса тимопоэтин усиливает продукцию кортикостероидов, а тимэктомия приводит к

снижению активности щитовидной и половых желез у тимэктомированных животных.

В связи с общностью структуры многих информонов и рецепторов к ним в различных системах регуляции, поступление антигена в организм вызывает активацию в нем не только иммунной системы, но и нервной, и эндокринной систем, которые по принципу обратной связи могут усилить или ослабить иммунный ответ.

Таким образом, общим для всех биологических регуляторных систем является их функционирование путем высвобождения химических веществ, взаимодействующих с клеточными рецепторами.

Роль первичных регуляторов могут выполнять молекулы информонов, экспрессированные на мембранах клеток, в которых они образовались. В этих случаях необходимы непосредственные межклеточные контакты, во время которых поверхностные молекулы одних клеток (будучи в составе клеток) выполняют роль внеклеточных сигнальных регуляторов (лигандов), а поверхностные молекулы других клеток – функцию рецепторов.

## 2. Роль гипоталамуса и гипофиза в интеграции нервной, эндокринной и иммунной систем регуляции

Как указано выше, нервная, эндокринная и иммунная системы регуляции у высших позвоночных животных тесно связаны между собой и образуют единую нейроэндокринноиммунную систему регуляции. Различные уровни центральной нервной системы, включая кору головного мозга, участвуют в регуляции функций эндокринных желез и иммунной системы. Импульсы из центральной и периферической нервной системы стимулируют или тормозят деятельность эндокринных желез, органов и клеток иммунной системы, поддерживая определенный функциональный уровень деятельности желез внутренней секреции и реактивность иммунной системы.

При выключении связи с нервной системой эндокринные железы функционируют на низком (базальном) уровне, обеспечивающем минимальные нужды организма в гормонах. Когда же организм подвергается каким-либо неблагоприятным воздействиям или испытывает потребность в большем, по сравнению с нормальным, количестве гормона, нервные импульсы стимулируют функцию желез внутренней секреции и тем самым обеспечивают повышенный синтез гормонов и их поступление в кровь. В частности, резкое увеличение концентрации в крови кортикотропина происходит при стрессе, а лютропина — перед овуляцией. Яркими примерами зависимости внутренней секреции от центральной нервной системы служат процессы овуляции у кролика и яйцекладки у голубя. У крольчихи овуляция наступает под влиянием гонадотропных гормонов гипофиза, выделяющихся в естественных условиях только после акта спаривания. Кроме того, овуляцию можно вызвать путем механического, электрического раздражения влагалища или шейки матки, а также электрической стимуляции у крольчихи определенных участков головного мозга. У крольчихи же, которая изолированно сидит в клетке, выхода яйцеклетки из фолликула не происходит. Не приводит к овуляции и спаривание в случае, если нарушена связь гипофиза с центральной нервной системой. Только после спаривания наступает яйцекладка у голубки; при изолировании же ее в клетке откладывание яйца не происходит. Однако, если за стеклянной перегородкой посадить самца, яйцекладка у голубки наступает лишь под влиянием зрительных раздражений, вызываемых самцом.

Овуляция и яйцекладка, таким образом, представляют собой нервно-рефлекторные акты, так как раздражение соответствующих нервных окончаний передается в центральную нервную систему, отсюда в гипофиз, в котором выделяются гормоны, вызывающие овуляцию и яйцекладку.

С другой стороны, следует отметить и влияние гормонов на деятельность высших отделов центральной нервной системы. Удаление различных желез внутренней секреции, гипо- и гиперфункция эндокринных желез, введение гормонов извне оказывают влияние на высшую нервную деятельность, меняя правильное соотношение раздражительного и тормозного процессов в коре



головного мозга. Однако рассмотрение этих вопросов не входит в нашу задачу.

Каким же образом осуществляется влияние центральной нервной системы на железы внутренней секреции? Вначале это влияние пытались объяснить наличием иннервации передней доли гипофиза, и «мотором эндокринных функций» считали аденогипофиз. Затем, с открытием в гипоталамусе процесса нейросекреции, центр регуляции был перенесен в гипоталамус, а к настоящему времени и он оказался лишь в «первом уровне контроля», которым управляют другие вышележащие отделы мозга. Однако не вызывает сомнения, что гипоталамусу принадлежит особая роль в регуляции функций организма. В гипоталамусе человека и животных образуются первые биологически активные гормональные вещества дистантного действия, которые получили название рилизинг-факторы (либерины) и ингибиторные факторы (статины). Эти вещества не попадают в общий круг кровообращения, а по специальной, так называемой воротной (портальной) системе сосудов поступают в гипофиз, а там каждое из них избирательно – в определенные клетки-мишени. Рилизинг-факторы стимулируют биосинтез и выделение гипофизарных гормонов; последние через общий круг кровообращения поступают в соответствующие органы, на которые направлено их действие (рис 3). Например, кортикотропин, достигая коры надпочечников, стимулирует синтез кортикостероидов; лютропин, постулая в яичники, стимулирует синтез эстрогенов и т.д. Гормоны периферических желез, выделение которых регулируется гипофизарными гормонами, поступают в общий круг кровообращения и влияют на биохимические, а через них – и на физиологические реакции организма.

Таким образом, гипоталамус является связующим звеном между центральной нервной системой и железами внутренней секреции. Под его контролем находится деятельность гипофиза, связанная с выделением гормонов, осуществляющих регуляцию периферических эндокринных желез и роста. В системе гипоталамус-гипофиз импульсы, приходящие по нервным путям со всего организма, переключаются на гуморальный путь. Эта система в комплексе является по-существу первым уровнем контроля, способным поддерживать базальную секрецию гормонов.

При регуляции суточной ритмики и особенно в условиях стресса этот уровень является недостаточным и не может обеспечить соответствующей активации аденогипофиза. В данных случаях в гипоталамус должны поступать сигналы в виде импульсации либо химических факторов, способных его активировать нервным или гуморальным путем.

В гипоталамус нейрогенные стимулы следуют по многочисленным афферентным путям, направляющимся в разные его отделы, через которые гипоталамус получает обширную информацию о состоянии внешней и внутренней среды организма и преобразует ее в гормональные влияния.

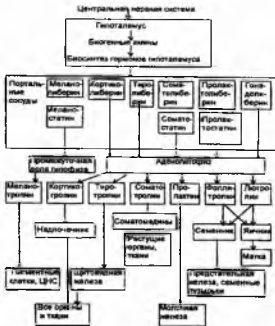


Рис. 3. Схема гормональной регуляции функций организма

Вероятно, все отделы мозга оказывают через гипоталамус соответствующие влияния на аденогипофиз. Эти влияния могут носить как активизирующий, так и тормозной характер.

В регуляции функций гипоталамуса принимают участие гормоны периферических эндокринных желез, действующие на гипоталамус по принципу обратной связи. В последние годы важную роль в регуляции секреции гипоталамических гормонов отводят биогенным аминам (норадреналину, дофамину, адреналину, серотонину и др.). Известно, например, что адреналин и норадреналин активируют гипофиз и усиливают выброс кортикостероидов в кровь. Основным катехоламином гипоталамуса является норадреналин, которого в гипоталамических ядрах содержится в 8-10 раз больше, чем в коре головного мозга. В гипоталамусе норадреналин имеет исключительно экстрагипоталамическое происхождение, синтезируясь в нейронах.

Гипоталамус по содержанию биоактивных веществ является «фармакологической лабораторией», богатой гистамином, дофамином, норадреналином и другими веществами, роль некоторых из них еще недостаточно выяснена.

Следовательно, функция гипоталамуса находится под контролем нейрогенных стимулов и гуморальных сигналов, поступающих в гипоталамус по афферентным путям или с кровью. В регуляции функций гипоталамуса остается много неясного, но все больше накапливается данных о том, что в гипо-

таламусе для более гибкого управления эндокринными процессами приспособлены медиаторные субстанции, которые выделяются на терминальных частях аксонов, заканчивающихся в гипоталамусе.

К гормонам гипоталамуса относят рилизинг-факторы и ингибирующие факторы, которые продуцируются специальными клетками гипоталамуса, постулают по портальной системе в гипофиз и избирательно стимулируют клетки его передней доли к секреции тропных гормонов.

Вначале считали, что секреция каждого гипофизарного гормона контролируется соответствующим специфическим рилизинг-фактором (унитарная концепция). Последующие исследования показали, что некоторые из исследованных препаратов гипоталамических гормонов регулируют освобождение не одного гипофизарного гормона, а двух. Например, высвобождение лютропина (ЛГ) и фоллитропина (ФСГ) контролируется концентрацией одного и того же гормона – гонадолиберина (люлиберина). Тиролиберин стимулирует продукцию тиротропина и пролактина; соматостатин тормозит секрецию соматотропина и тиротропина. В то же время в регуляцию процесса высвобождения кортикотропина (АКТГ), контролируемого в основном кортиколиберином, может быть вовлечен и ряд других гормонов (антидиуретический гормон, катехоламины и др.).

Вопрос терминологии в отношении гормонов гипоталамуса до сих пор окончательно не решен. Для обозначения гормонов гипоталамуса, стимулирующих освобождение гипофизарных гормонов, часто используют название рилизинг-фактор (от английского «release» – освобождать), например, тиротропин-рилизинг-фактор (ТРФ), соматотропин-рилизинг-фактор (СРФ) и т.п. Для обозначения же гормонов гипоталамуса, тормозящих освобождение гормонов гипофиза, часто используют название «ингибирующий фактор». По общепринятой номенклатуре пептидных гормонов гипоталамические рилизинг-факторы (гормоны) должны иметь окончание «либерин» (напр. ТРФ – тиролиберин; СРФ – соматолиберин и т.д.), а гипоталамические рилизинг-ингибирующие факторы (гормоны) – окончание «статин» (напр., соматостатин, т.е. соматотропин-рилизинг-ингибирующий фактор). Использовать сокращения не рекомендуется.

Считают, что в гипоталамусе существует, по крайней мере, шесть стимуляторов и три ингибитора секреции аденогипофизарных гормонов (Табл.2).

Из гормонов гипоталамуса получены в чистом виде кортиколиберин, соматолиберин, тиролиберин, люлиберин и соматостатин, их структура установлена и подтверждена химическим синтезом. Последние три являются олигопептидами, состоящими соответственно из 3, 10 и 14 аминокислот. Продолжается изучение и других гормонов гипоталамуса.

Тиролиберин – первый гормон гипоталамуса, у которого удалось установить химическую структуру. Он представляет собой низкомолекулярное соединение с молекулярной массой 412 Да. Это трипептид со следующей аминокислотной последовательностью: пироглутамил-гистидил-пролинамид (Рис 4).

Гипоталамические гормоны, контролирующие освобождение гормонов гипофиза (Биохимия гормонов и гормональной регуляции. М., 1976)

Прежнее название	Новое название
Кортикотропин-рилизинг-фактор	Кортиколиберин
Тиреотропин-рилизинг-фактор	Тиролиберин
Рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона	Люлиберин
Рилизинг-фактор фолликулостимулирующего гормона	Фоллиберин
Рилизинг-фактор ростового гормона, или соматотропин-рилизинг-фактор	Соматолиберин
Соматотропин-ингибирующий фактор, или соматостатин	Соматостатин
Пролактин-ингибирующий фактор	Пролактостатин
Пролактин-рилизинг-фактор	Пролактолиберин
Рилизинг-фактор меланостимулирующего гормона	Меланолиберин
Меланоцитингибирующий фактор	Меланостатин

Примечание. В настоящее время выяснено, что функции люлиберина и фоллиберина выполняет один и тот же гормон гипоталамуса—гонадолиберин (люлиберин).

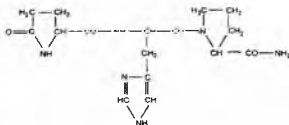
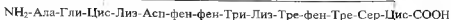


Рис. 4. Молекулярная структура тиролиберина

Вторым химически исследованным гормоном гипофиза является гонадолиберин (люлиберин) – декапептид со следующей последовательностью аминокислот:

Пиро-Глу-Гис-Три-Сер-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли-NH<sub>2</sub>

Соматостатин оказался 14-членным пептидом со специфической последовательностью аминокислот:



И в тиролиберине, и в люлиберине оба конца полипептидной цепи (NH<sub>2</sub>- и COOH-) не свободны, а блокированы, так как на N-конце находится циклическая пироглутаминовая кислота (вместо глутаминовой), в которой отсутствует свободная аминогруппа, а на С-конце OH- группа конечного карбоксила замещена NH<sub>2</sub>- группой. Такая структура рилизинг-факторов сообщает им относительно устойчивость к действию пептид-гидролаз.

Соматостатин отличается от тиролиберина и люлиберина тем, что в нем концевые аминокислоты имеют свободные аминогруппу и карбоксильную группу.

Из гормонов гипоталамуса наибольшее число аминокислот входит в состав соматолиберина (44) и кортиколиберина (41).

Изучение химической структуры и механизма действия гипоталамических гормонов затруднено чрезвычайно малой их концентрацией в гипоталамусе а отсюда и большими трудностями их получения. Так, для получения 1мг препарата тиролиберина, гомогенного по всем критериям, Burgus R. и Guillemin R. пришлось переработать 7 т гипоталамусов, отобранных из 500 т ткани мозга от 5 млн овец (Цит по: Биохимия гормонов и гормональной регуляции. М., 1976).

Известные в настоящее время гормоны гипоталамуса имеют, как указано выше, относительно небольшие размеры, они лишены видовой специфичности и рассматриваются как своеобразные химические сигналы, посредством которых осуществляется передача нервных импульсов на эндокринную систему.

Первичное действие рилизинг-факторов состоит в освобождении соответствующих гипофизарных гормонов, что может быть связано с изменением проницаемости клеточных мембран и влиянием рилизинг-факторов на биосинтез гормонов гипофиза. Гормоны гипоталамуса обладают чрезвычайно высокой биологической активностью, для проявления их гормонального эффекта обязательна интактность аденогипофизарных клеток.

В результате взаимодействия гормонов гипоталамуса с определенными клетками гипофиза происходит регуляция секреции гормонов передней доли гипофиза: соматотропина, кортикотропина, фоллитропина, лютропина, пролактина, тиротропина, а так же гормона промежуточной доли – меланотропина.

Гормоны передней доли гипофиза участвуют в регуляции основных биологических процессов, характеризующих жизненный цикл каждого индиви-

дуума. Такие биологические явления как рост и размножение позвоночных животных в значительной мере зависят от нормальной деятельности гипофиза; его гормоны участвуют в регуляции всех видов обмена веществ: водного, минерального, углеводного, белкового и жирового. Многие из этих функций гипофиз регулирует путем стимуляции деятельности других желез внутренней секреции: коры надпочечников, щитовидной железы, половых желез и др. (Рис.3).

Многие гипоталамические гормоны, в частности тиролиберин, кортиколиберин и соматостатин, обнаруживаются в других отделах нервной системы и в ряде периферических тканей. Например, соматостатин в поджелудочной железе тормозит секрецию инсулина и глюкагона, в желудочно-кишечном тракте – ингибирует перистальтику. Кроме того, соматостатин входит в число более чем 40 пептидов, продуцируемых нейронами центральной и периферической нервной системы (Р.Марри и др., 1993).

Ключевым звеном аппарата нервной регуляции иммунной системы также является гипоталамус, а влияние других отделов мозга опосредуется гипоталамусом. Гипоталамус получает информацию о нарушении антигенного гомеостаза сразу же после внедрения иммуногена в организм, через различные нейротрансмиттерные и нейрогормональные системы, от рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток. Эти системы взаимосвязаны и дублируют активирующие и тормозящие нейрорегуляторные влияния на функции иммунологической защиты, что повышает надежность иммунорегуляторного аппарата и обеспечивает возможность компенсации нарушений отдельных его звеньев (Крыжановский Г.Н. и др., 1997).

Гипоталамус участвует в регуляции иммунного ответа через симпатическую и парасимпатическую иннервацию органов иммунной системы, а также посредством продукции нейрогормонов (либеринов и статинов), стимулирующих или ингибирующих синтез гормонов в аденогипофизе. Известны регуляторные «оси»:

- гипоталамус-гипофиз-тимус;
- гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа;
- гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников;
- гипоталамус-гипофиз-половые железы.

Через эти «оси» гипоталамус влияет на синтез гормонов соответствующих желез, а через них – на иммунную систему.

Центральные и периферические органы иммунной системы иннервируются холинергическими, норадренергическими, серотонинергическими проводящими путями и пептидергическими волокнами, содержащими метэнкефалин, субстанцию Р и другие нейропептиды.

Нервные окончания в тимусе, костном мозге, селезенке, лимфатических узлах и других лимфоидных органах приближаются к лимфоцитам на расстоянии, сравнимые с таковыми для контактов с мышечными и сосудистыми клетками. Лимфоциты и макрофаги вступают в непосредственный контакт с нервными волокнами и своими собственными рецепторами воспринимают нейрорегуляторные влияния (Ярилин А.А., 1999).

Регуляторные факторы могут проникать в лимфоидные органы и гуморальным путем. Т-лимфоциты, В-лимфоциты, макрофаги и их предшественники могут вступать в контакт с гуморальными регуляторными факторами, так как имеют рецепторы ко многим нейромедиаторам, нейропептидам, нейрого르몬ам и гормонам эндокринных желез. Так, например, известно, что Т-лимфоциты и В-лимфоциты имеют рецепторы к норадреналину, адреналину, ацетилхолину, серотонину, вазопрессину, глюкокортикоидам,  $\beta$ -эндорфину, фактору роста нервов, тироглобину; ЕК-клетки – к  $\gamma$ -эндорфину, норадреналину; макрофаги – к норадреналину, адреналину, субстанции Р,  $\beta$ -эндорфину, глюкокортикоидам. Количество рецепторов, экспрессированных на поверхности лимфоцитов и макрофагов, резко повышается при активации лимфоцитов и макрофагов антигеном. Например, у стимулированных антигеном макрофагов экспрессируется до 40 тысяч рецепторов, связывающих кортикостероиды.

Присоединение соответствующего лиганда к рецепторам стимулирует в клетках иммунной системы комплекс циклазных ферментов, которые включают последующие, характерные для каждого типа клеток, внутриклеточные процессы.

Для функционирования иммунной системы исключительно важное значение имеет уровень секреции пептидных гормонов (тимозин, тимолин, Т-активин и др.) эпителиальными клетками тимуса; их уменьшение в крови снижает способность Т-лимфоцитов к активации (в частности, к выработке ИЛ-2) и, как следствие, к снижению интенсивности иммунного ответа. Секрецию тимусных гормонов стимулируют прогестерон, соматотропин, пролактин; подавляют – глюкокортикоиды, андрогены, эстрогены. Ацетилхолин и холинергические стимулы в тимусе способствуют пролиферации и миграции тимоцитов, а сигналы, принимаемые  $\beta$ -адренорецепторами, – подавляют пролиферацию лимфоцитов и повышают их дифференцировку.

Медиаторы вегетативной нервной системы и гормоны могут оказывать действие, подобное действию на тимус, на иммунную систему в целом, а именно, холинергические стимулы активируют иммунную систему, а адренергические – угнетают. Тироксин усиливает пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов; инсулин – пролиферацию Т-клеток;  $\alpha$ -эндорфин стимулирует гуморальный иммунный ответ;  $\beta$ -эндорфин стимулирует клеточный и подавляет гуморальный иммунный ответ. Кортикостероиды индуцируют апоптоз тимоцитов и других покоящихся лимфоцитов, особенно в стадии отрицательной селекции, снижают секрецию цитокинов и гормонов тимуса; кортикотропин снижает количество лимфоцитов в циркуляции и их функциональную активность; катехоламины (адреналин и норадреналин) подавляют пролиферацию и усиливают дифференцировку лимфоцитов (особенно Т-хелперов) и их миграцию в лимфатические узлы.

Гормоны и цитокины, образующиеся в тимусе и в отдельных клетках иммунной системы, в свою очередь, могут оказывать влияние на активность эндокринной и нервной систем. Изменения электрической активности гипота-

ламических структур, наступающие после поступления антигена в организм, сохраняются на протяжении всего периода индуктивной и продуктивной фаз иммунного ответа, с изменением ультраструктуры нейронов, синапсов, астроцитов, уровней окситоцина, вазопрессина, дофамина, норадреналина, серотонина в различных отделах мозга. Гормон тимуса тимопоэтин и ИЛ-2, продуцируемый фагоцитами, В-лимфоцитами, ЕК-клетками, усиливают секрецию глюкокортикоидов, тем самым ограничивая (подавляя) иммунный ответ.

В осуществлении взаимосвязи нервной, эндокринной и иммунной систем регуляции по поддержанию динамического, в том числе иммунного, гомеостаза важная роль принадлежит опиоидным пептидам, в секреции которых принимают участие клетки всех трех основных систем регуляции.

Нейроны, иммунокомпетентные клетки, клетки гипофиза и некоторых других эндокринных желез не только синтезируют идентичные физиологически активные вещества, но и имеют идентичные к ним рецепторы. Так, например, в костном мозге, тимусе, селезенке, стимулированных Т-лимфоцитах (в том числе в Т-хелперах), в макрофагах обнаружен, подверженный регуляции, ген проопиокортина, идентичный гену некоторых секреторных клеток гипофиза, а также отражающая его структуру мРНК. Как известно, из проопиокортина, состоящего из 134-х аминокислотных остатков, при ограниченном протеолизе образуются кортикотропин (АКТГ), в состав которого входят 39 аминокислотных остатков, и  $\beta$ -липотропин, насчитывающий у свиньи и овцы 91 аминокислотный остаток (Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998). У свиньи и овцы молекулы  $\beta$ -липотропина, хотя и имеют одинаковое количество аминокислотных остатков, существенно различаются в последовательности аминокислот. Однако последовательности аминокислот с 61 по 91 у всех исследованных видов животных и у человека одинаковы и при специфическом протеолизе  $\beta$ -липотропина из них образуются (в ткани мозга, аденогипофизе, иммунокомпетентных клетках, макрофагах) биологически активные пептиды, обладающие опиатоподобным действием: метэнкефалин (61-65),  $\alpha$ -эндорфин (61-76),  $\gamma$ -эндорфин (61-77),  $\delta$ -эндорфин (61-79),  $\beta$ -эндорфин (61-91). Все они принимают участие (как медиаторы) в нейроэндокринноиммунных взаимодействиях и, подобно морфину, снимают болевые ощущения.

Суммарная активность синтезируемых в лимфоидной системе опиоидов сравнима с активностью наиболее интенсивного их продуцента – гипофиза, причем процессинг проопиокортина в гипофизе и лимфоцитах осуществляется одинаковым образом.

Эффект от взаимодействия какого-либо из опиоидных пептидов с рецепторами различных клеток может быть различным, в зависимости от того, на какой ответ запрограммирована та или иная клетка при активации данного рецептора. Например,  $\beta$ -эндорфин нейронального, костномозгового, лимфоцитарного происхождения (независимо от происхождения), связываясь с опиоидными рецепторами центральной нервной системы, оказывает анальгетический эффект, а воздействуя на лимфоциты  $\beta$ -эндорфин вызывает (в зависи-



мости от дозы) изменение величины иммунного ответа, активирует ЕК-клетки, повышает синтез ИЛ-2 и модулирует его экспрессию на Т-лимфоцитах, а также стимулирует хемотаксис макрофагов и других лейкоцитов. В свою очередь, ИЛ-1 и ИЛ-2 повышают экспрессию генов проопиокортина в клетках гипофиза и секрецию ими  $\beta$ -эндорфина (Крыжановский Г.Н. и др., 1997).

Помимо опиоидных пептидов, в осуществлении нейроэндокринноиммунных взаимодействий принимают участие, как указано выше, и другие биологически активные вещества, в том числе ацетилхолин, норадреналин, серотонин, дофамин, гипоталамические либерины, соматотропин, кортикотропин, нейротензин, вазопрессин, интерлейкины и другие. Гормон тимуса тимозин воспринимается нейрональными структурами, вызывая у животных изменение поведенческих реакций; стимулирует активность регуляторных систем гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников, гипоталамус-гипофиз-гонады; в гипофизе – стимулирует секрецию эндорфинов; в иммунной системе – стимулирует иммунный ответ.

О несомненности взаимосвязи иммунной системы с нервной и эндокринной свидетельствуют и факты, приводимые Р. М. Хаитовым и соавт. (2000). В частности, лимфоциты общаются со всеми остальными тканями и друг с другом не иначе, как мигрируя сквозь стенки сосудов, то есть функционирующие системы лимфоцитарного иммунитета зависят от состояния кровеносной системы. Во же время известно, что проницаемость кровеносных сосудов регулируется (управляется) не только нервной и эндокринной системами, но и цитокинами, продуцируемыми лимфоцитами и вспомогательными клетками как в норме, так и (особенно выражено) при ответной воспалительной реакции на внедрение в организм чужеродных агентов. Известно также, что, при нормальном иммунном ответе на суперантигены (энтеротоксины А и В стафилококка), цитокин  $TNF_{\alpha}$  (фактор некроза опухолей), продуцируемый Т-лимфоцитами (хелперами) после связывания антигена, гуморальным путем достигает гипоталамуса, в котором имеются рецепторы для  $TNF_{\alpha}$ . При этом стимулируется продукция в гипоталамусе кортиколиберина, с последующим повышением секреции кортикотропина в гипофизе и, соответственно, кортикостероидов в коре надпочечников, то есть происходит межсистемная активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, в результате чего индуцируется апоптоз (запрограммированная гибель) активированных суперантигенами лимфоцитов и «остановка» деструктивного компонента иммунного ответа. Адреналэктомированные животные, при их иммунизации теми же суперантигенами, погибают при явлениях разлитых воспалительных процессов, индуцируемых цитокинами активированных лимфоцитов. Аналогичная внутрисистемная индукция апоптоза тимоцитов (до 95-99%), при их развитии и селекции в тимусе, происходит при участии кортикостероидов, синтезируемых эпителиальными клетками тимуса.

Межсистемная связь иммунной системы с другими интегрирующими системами прослеживается и во время беременности, когда самка не отторгает не только аллогенный плод, но и тканевый трансплантат самца-отца. Однако

этот трансплантат отторгается сразу же после прекращения беременности. Данный феномен природный, достоверный, хотя его молекулярные механизмы еще не известны (Жаитов Р.М. и др, 2000).

Таким образом, нервная, эндокринная и иммунная системы взаимодействуют по принципу взаимной регуляции, которая обеспечивается комплексом взаимосвязанных механизмов, в том числе участием дублирующих факторов регуляции. Эти механизмы регуляции действуют на клеточном, системном и межсистемном уровнях, обеспечивая высокую степень надежности нейроэндокринноиммунных процессов регуляции.

В то же время высокий уровень реактивности всех систем регуляции и сложность организации их аппарата являются факторами риска развития иммунологических, неврологических и эндокринных расстройств, так как при патологии одной системы повышается риск расстройства и других систем. В частности, нарушения нейроэндокринных механизмов регуляции могут играть важную роль в патогенезе иммунологических расстройств, а иммунологические механизмы могут участвовать в патогенезе нервных и эндокринных болезней. При срыве компенсаторных механизмов может возникнуть сочетанная патология нервной, эндокринной и иммунной систем, независимо от первичной локализации патологического процесса в той или иной системе (Крыжановский Г.Н. и др., 1997).

Приведенные выше факты указывают на то, что центральным звеном, координирующим нейроэндокринноиммунные взаимоотношения, является гипоталамо-гипофизарная система.

Формирование нейроэндокринноиммунных взаимодействий закладывается уже в раннем онтогенезе.

В пренатальный период гипоталамо-гипофизарная система осуществляет не только регуляторную, но и морфогенетическую функции, контролируя созревание иммунной системы и включение ее в регуляцию иммунологических функций. В частности, выраженность эндокринной функции гипофиза плода коррелирует с массой тимуса и созреванием в нем лимфоцитов.

Большинство млекопитающих рождается с примерно одинаковой степенью зрелости нервной и иммунной систем. Как известно, неврологическая и иммунологическая память по наследству не передаются, по наследству передаются лишь механизмы формирования памяти.

В постнатальный период завершается дифференцировка нейронов и антигеннезависимая дифференцировка клонов Т- и В-лимфоцитов. В этот же период, для сохранения динамического гомеостаза, координации деятельности всех органов и систем, адаптации к факторам внешней и внутренней среды, в организме животных и человека, как указано выше, нервная, эндокринная и иммунная системы объединяются в общую нейроэндокринноиммунную систему, в которой они взаимодействуют по принципу взаимной регуляции, осуществляемой нейромедиаторами, нейропептидами, трофическими факторами, гормонами, цитокинами через соответствующий рецепторный аппарат.

### 3. Механизмы действия информонов

Хотя механизмы, посредством которых различные информоны оказывают специфическое действие на свои клетки-мишени, еще не до конца расшифрованы, в настоящее время достигнуты значительные успехи в изучении действия информонов на внутриклеточные процессы обмена веществ. В частности, выяснено, что механизмы действия разных информонов имеют ряд общих этапов, а их специфические эффекты в клетках-мишенях могут опосредоваться как прямым влиянием на мембранные процессы, так и через системы внутриклеточных «вторых посредников» и действием на рецепторы в ядре клетки. Особенно специфична первая стадия, на которой начинается связывание информона со своим специфическим рецептором и происходит узнавание информоном своих клеток-мишеней.

Выявлено 2 основных типа циторепции информонов:

- 1) *внутриклеточный* (преимущественно ядерный), по которому рецептируются стероидные, тиреоидные гормоны и ретиноевая кислота;
- 2) *поверхностный* (мембранный), по которому рецептируются белково-пептидные гормоны, катехоламины и все известные негормональные информоны (ацетилхолин, цитокины, антитела и др.)

При внутриклеточном типе рецeпции информоны относительно свободно проникают внутрь клетки, затем в ядро, где избирательно связываются с рецепторными белками хроматина, регулируя уровень транскрипции и синтеза белков. Такие эффекты информонов обычно длительны и отставлены во времени (часы, сутки).

При мембранном типе регуляции гормоны и другие информоны вначале взаимодействуют с мембранными рецепторными белками, не проникая внутрь клетки. Эффекты информонов при этом типе рецeпции опосредуются путем подключения внутриклеточных медиаторов. В плазматической мембране акцепторами являются информонзависимые ферментные системы и ионные каналы. В ряде ферментных систем собственно акцепторным местом являются регуляторные мембранные белки, функционально сопряженные с этими ферментами. В случае рецепторов инсулина, ряда факторов роста каталитически активная система (тирозинкиназа) внедрена в состав самой рецепторной молекулы. Наиболее известны внутриклеточные медиаторы — цАМФ, цГМФ, ДАГ (диацилглицерин), Ф<sub>3</sub>И (трифосфоинозитол), протеинкиназы, Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>. Зависимые от ферментов посредники очень быстро образуются в мембране, а исходные катионные медиаторы почти мгновенно входят внутрь клетки через ионные каналы из внеклеточного пространства. Характерной чертой информонов, действующих с поверхности клетки, являются быстрые, немедленные эффекты (с, мин), обусловленные активацией уже синтезированных белков.

Приведенная классификация типов рецeпции информонов в известной мере условна. Имеются сведения о том, что для одного и того же информона

рецепторы могут быть локализованы как на поверхности цитоплазматической мембраны, так и внутри клеток. В частности, для стероидных и тиреоидных гормонов помимо внутриклеточных рецепторов выявлены специфические рецепторы на клеточной мембране, связанные с аденилатциклазной системой, взаимодействие с которыми усиливает (или ускоряет) проявление гормонального эффекта. Кроме того, сопряжение белково-пептидных информонов с аденилатциклазной системой, генерирующей цАМФ, а также с  $Ca^{2+}$  - каналами, является одним из наиболее значимых, но не единственным путем проведения сигнала от информона внутрь клетки. В настоящее время накоплен обширный материал, показывающий возможность проникновения белково-пептидных гормонов в клетки путем пиноцитоза (интернализации) и существования для них внутриклеточных рецепторов (В.Б. Розен, 1994; М.А. Гаврилин, 1995), в том числе внутриядерных рецепторов для соматотропина, инсулина, пролактина, фактора роста нервов, эпидермального фактора роста, некоторых интерферонов. Возможно, что именно через внутриклеточные медиаторы эти информоны оказывают длительные, отставленные во времени эффекты, обусловленные их влиянием на биосинтетические процессы в клетке.

### **3.1. Информоны, связывающиеся с внутриклеточными рецепторами**

#### **3.1.1. Стероидные гормоны**

Стероидные гормоны у человека и животных образуются в коре надпочечников (кортикостероиды), в мужских и женских половых железах (андрогены и эстрогены), в желтом теле яичников (прогестерон), в плаценте (эстрогены, прогестерон), в печени и почках (кальцитриол).

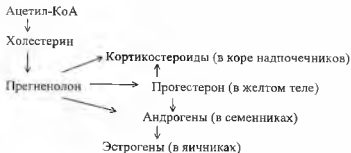
Стероиды по химической природе являются производными циклопентанопергидрофенантрена, построенного из трех шестичленных и одного пятичленного колец. Предшественником всех стероидных гормонов служит холестерин, источником которого может быть экзогенный (поступающий в организм с пищей) или эндогенный (синтезируемый в организме) холестерин. Синтез эндогенного холестерина происходит преимущественно в печени (около 80%) из ацильных остатков ацетил-КоА через образование мевалоновой кислоты, сквалена, ланостерина и других промежуточных соединений.

Первые реакции синтеза стероидных гормонов, включая синтез прегненолона и прогестерона, являются общими, расхождение заключительных путей их синтеза происходит в различных железах внутренней секреции (рис. 5).

**Кортикостероиды** по биологической активности делят на 2 группы: глюкокортикоиды и минералокортикоиды. У человека и животных истинными глюкокортикоидами, то есть секретируемыми корой надпочечников, являются кортизол (гидрокортизон, соединение F) и кортикостерон (соединение В),

обладающие катаболическим эффектом в большинстве тканей; в печени же они проявляют анаболический эффект, стимулируя синтез белка.

Кортикостероиды, кроме того, повышают резистентность организма к различным раздражителям (адаптогенный эффект), а в больших дозах оказывают противовоспалительное и десенсибилизирующее действие. Минералокортикоиды (наиболее активным из них является альдостерон) стимулируют задержку  $\text{Na}^+$  в крови и выведение  $\text{K}^+$  и  $\text{H}^+$ .



**Рис. 5.** Общая схема синтеза стероидных гормонов

В регуляции синтеза кортикостероидов участвует гипоталамо-гипофизарная система, которую можно рассматривать в качестве составной части «оси» гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников (рис. 6).

Передняя доля гипофиза продуцирует кортикотропин (АКТГ). Это простой белок, состоящий у человека из 39 аминокислотных остатков, соединенных в одну цепь. В функциональном отношении видовой специфичностью не обладает, но по аминокислотному составу отличается от аналогичных гормонов животных. Считают, что фрагмент цепи между 4 и 10 аминокислотными остатками ответствен за биологическое действие гормона, а 15-21 остатки – за фиксацию на тканевом рецепторе. Основное физиологическое действие АКТГ – стимуляция продукции глюкокортикоидов и отчасти минералокортикоидов в коре надпочечников; кроме того он непосредственно способен ускорять липолиз. Содержание АКТГ в крови возрастает под воздействием кортиколиберина, вырабатываемого гипоталамическими секреторными клетками, и уменьшается под влиянием глюкокортикоидов, содержащих ОН-группу в положении 11 кольца циклопентанопергидрофенантрена, особенно синтетических фторпроизводных аналогов гормона (дексаметазон). Уровень АКТГ растет при стрессорных воздействиях; в физиологических условиях гормон секретируется порциями. Максимум содержания АКТГ в крови утром, минимум – около полуночи. Концентрация в крови колеблется в значительных пределах с неправильными периодами длительностью в несколько десятков минут.



**Рис. 6.** *Схема регуляции синтеза кортикостероидов и их участия в регуляции обмена веществ*

**Андрогены** в эмбриональный период влияют на дифференцировку пола зародыша, а в период полового созревания стимулируют сперматогенез и формирование общего статуса мужской особи. Отсюда объяснение наличия в семенниках двух генераций клеток Лейдига (в зародышевых и при половом созревании), в которых синтезируется тестостерон. На обмен веществ в организме андрогены оказывают анаболический эффект, стимулируя синтез белка и снижая скорость катаболизма аминокислот. Единственный орган, на который андрогены действуют катаболически – это тимус. Видимо именно усиленная секреция тестостерона при половом созревании играет важную роль в развитии значительной возрастной инволюции тимуса.

**Эстрогены** стимулируют рост и развитие женских половых органов и вторичных половых признаков, специфически влияют на обмен веществ в организме в целом и в отдельных органах (матке, молочной железе, яичниках и др.), на сохранение беременности, процесс родов и т.д.

Синтез половых гормонов регулируется тропными гормонами гипофиза (рис. 7) – фоллитропином и лютропином, стимулирующим у мужчин интерстициальные клетки половых желез; отсюда еще одно название этого гормо-

на – ИСГ (интерстициальные клетки стимулирующий гормон). Оба гормона – гликопротеиды, состоят из 2 субъединиц ( $\alpha$  и  $\beta$ ), каждая из которых представляет собой единую полипептидную цепь с присоединенными углеводами.  $\alpha$ -Субъединицы гидрофобны, легко разрушаются протеолитическими ферментами, одинаковы для ФСГ, ЛГ и тиротропина. Специфичность гормонов определяется строением их  $\beta$ -субъединиц, которые гидрофильны и устойчивы к действию ферментов. Однако эффект этих трех тропных гормонов реализуется только при наличии связанных между собой ковалентными связями обеих субъединиц.

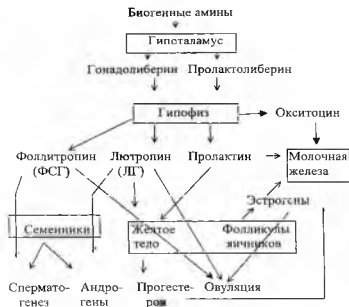
Продукция ФСГ и ЛГ передней долей гипофиза стимулируется гонадолиберинном и тормозится гормонами половых желез и щитовидной железы. К гипофизарным гонадотропинам близок по химическому строению хориогадотропин (ХГ-хорионический гонадотропин, гликопротеид, состоящий из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц), вырабатываемый плацентой и обладающий активностью обоих гипофизарных гормонов. Появление его в организме служит ранним диагностическим признаком развивающейся беременности. Плацентой вырабатывается также хориомаммотропин (ХС-хорионический соматомаммотропин, плацентарный лактоген) – полипептид, состоящий из 191 аминокислотного остатка (одна цепочка). Он отличается от соматотропина 29 аминокислотными остатками.

Мужские и женские половые гормоны продуцируются под влиянием ФСГ и ЛГ. Женские половые гормоны эстрогены – полярные стероиды, содержащие 18 углеродных атомов. Эстриол, эстрадиол и эстрон вырабатываются у самок фолликулами, желтым телом и при беременности плацентой. У самцов эстрон в значительно меньших количествах синтезируется в семенниках. Желтое тело продуцирует еще один гормон – прогестерон и его производное – 20-оксипрогестерон.

Содержание тропных и половых гормонов колеблется в зависимости от фаз полового цикла и периодов овуляции. Пик ЛГ совпадает с овуляцией. Содержание эстрогенов в крови в течение цикла изменяется в 250 раз с максимумом в фазу овуляции. Концентрация прогестерона в крови самок растет по мере созревания фолликула и овуляции и резко возрастает в период расцвета желтого тела. В период беременности содержание ХГ в крови сначала увеличивается, затем его концентрация падает. Содержание эстрогенов в крови увеличивается постепенно вплоть до родов в 1000 раз по сравнению с минимальными величинами у небеременных. Степень прироста прогестерона не так велика, но имеет ту же динамику.

Мужские половые гормоны (андрогены) – это стероиды, содержащие 19 углеродных атомов. В семенных железах вырабатывается тестостерон, в сетчатой зоне коры надпочечников – дегидроэпиандростерон, оксиандростерон и этиохоланолон. Мужские половые гормоны секретируются также корой надпочечников и яичниками у женщин, а женские половые гормоны – у мужчин, однако в гораздо меньших количествах, чем у лиц противоположного пола. Половые гормоны образуют парные соединения с серной и глюко-

роновой кислотами, подвергаются окислительно-восстановительным реакциям.



**Рис. 7.** *Схема регуляции синтеза половых гормонов и их участия в регуляции функции половых желез и молочной железы*

В крови эстрогены и тестостерон связываются со специфическим белком из группы  $\beta$ -глобулинов. Специального белка для связывания прогестерона нет.

Прогестерон, наряду с преднизолоном, является непосредственным предшественником кортикостероидов (в коре надпочечников) и половых гормонов (в половых железах), а так же конечным продуктом (гормоном) в желтом теле и плаценте. Прогестерон вызывает переход слизистой оболочки матки из фазы пролиферации, вызываемой эстрогенами, в секреторную фазу, а после оплодотворения способствует ее переходу в состояние, необходимое для развития оплодотворенного яйца. Кроме того, прогестерон уменьшает возбудимость и сократимость мускулатуры матки; препятствует созреванию фолликулов в яичнике; стимулирует развитие альвеол в молочной железе совместно с глюкокортикоидами; оказывает супрессорный эффект на иммунную систему беременных, предохраняя тем самым аллогенный плод от отторже-



ния. Эстрогены и прогестерон тормозят действие пролактина, который после родов интенсивно стимулирует лактацию.

В механизме действия стероидных гормонов преобладает внутриклеточный тип рецепции, который характеризуется преимущественно ядерной локализацией рецепторов. Стероиды, являясь малыми неполярными молекулами, легко проходят через клеточные мембраны внутрь клетки и затем в ядро, где соединяются со специфическими для каждого гормона рецепторами, в том числе с рецепторными белками хроматина. В настоящее время идентифицированы специфические рецепторы для прогестерона, андрогенов, эстрогенов, альдостерона, глюкокортикоидов.

Избирательное связывание гормонов тканями-мишенями наиболее выражено в отношении половых гормонов. Эстрогены, меченые тритием, вводимые в физиологических концентрациях интактным и кастрированным животным, захватываются преимущественно маткой, влагалищем, молочными железами, передней долей гипофиза и теми областями гипоталамуса, которые ответственны за регуляцию секреции гонадотропинов.

Андрогены специфически, избирательно действуют в отношении мужского репродуктивного аппарата, а также гипофиза и гипоталамических структур, контролирующей половую функцию.

В отличие от половых гормонов, глюкокортикоидные стероиды (гидрокортизон и кортикостерон) не отличаются достаточно определенной тропностью физиологического действия. Рецепторы глюкокортикоидов обнаружены почти во всех исследованных тканях, за исключением тканей матки, простаты и семенных пузырьков, которые не являются их прямыми мишенями. Поэтому глюкокортикоиды действуют на все ткани, но наиболее активно глюкокортикоиды включают органы, участвующие в обмене гормонов: печень, почки, слизистую оболочку кишечника и др. Поглощение глюкокортикоидов различными тканями обусловлено не только весьма широким спектром действия этих гормонов, но и способностью последних метаболизировать гормоны.

В отличие от других кортикоидов альдостерон имеет четко выраженные ткани-мишени своего действия: эпителиальные клетки почек, слюнных и половых желез, слизистой оболочки кишечника.

Внутриклеточные рецепторы стероидных гормонов обладают чрезвычайно большим сродством к определенным гормонам. Так, например, сродство цитоплазматического рецептора матки к эстрадиолу на 1-5 порядков выше по сравнению со сродством связывающего половые стероиды глобулина плазмы. Это позволяет внутриклеточному рецептору конкурировать с сывороточными белками за очень низкие количества стероидов, циркулирующих в плазме. Как правило, внутри каждой группы стероидов биологическая активность отдельного представителя обнаруживает прямую корреляцию с интенсивностью его взаимодействия с рецептором. Связывание стероида с цитоплазматическим рецептором происходит спонтанно и не требует энергетических затрат. В каждой клетке содержится огромное количество рецепторов. Так, на одну клетку матки количество рецепторов для эстрогенов составляет от 10000 до 100000 молекул.

Для всех стероидных гормонов показано их влияние на процессы биосинтеза белка. Это влияние осуществляется путем активации РНК-полимеразы, стимуляции синтеза рРНК и мРНК.

Стероидные гормоны вызывают специфическую активацию транскрипции повторяющихся последовательностей генома. Ядерные РНК матки, например, индуцированные двумя типами половых гормонов – эстрогеном (эстрадиолом) и андрогеном (тестостероном), существенно различаются последовательностью нуклеотидов в них.

В ядрах клеток-мишеней стероид-рецепторные комплексы специфически соединяются с хроматином. Взаимодействие с хроматином происходит с участием всего стероид-рецепторного комплекса, в результате этого взаимодействия может быть дерепрессия и инициация транскрипции как большого числа одинаковых генов (например, для рРНК), так и относительно небольшого количества специфических уникальных генов. Стероид-рецепторный комплекс может связываться как с гистонами, так и с кислыми негистоновыми белками (рис. 8).

Не исключая полностью возможности дерепрессии генов путем связывания комплексов гормон-рецептор с гистонами, Б.О. Мэлли и У. Шрадер (1977) пришли к выводу, что гистоны, ввиду их относительной однотипности, не могут играть роль «какцепторов» гормонов в хромосомах. По их мнению, более вероятно и более доказано в связывании комплекса гормон-рецептор роль негистоновых белков, которые гораздо разнообразнее гистонов. В одном ядре может содержаться свыше 500 видов негистоновых белков, состав их значительно варьирует в разных тканях. Предполагают, что сродство хроматина к комплексам гормон-рецептор зависит от присутствия в нем специфической фракции негистоновых белков.

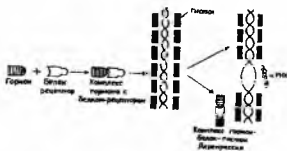


Рис. 8. Схема гормональной дерепрессии гена (Рачев Р.Р., Еценко Н.Д., 1975)

В лаборатории Б.О. Мэлли и У. Шрадера был выделен комплекс прогестерона с белком-рецептором из клеток яйцевода курицы, затем рецептор для прогестерона удалось отделить от всех остальных белков и изучить некоторые его особенности. Оказалось, что молекула рецептора состоит из двух субъединиц (А и В) полипептидной природы. Молекулярный вес каждой из субъединиц превышает 100000, обе они имеют сигарообразную форму и в молекуле димера, вероятно, лежат бок о бок. У каждой субъединицы имеется один участок для связывания прогестерона. Субъединицы А и В различаются по своей способности присоединяться к ядерному материалу. Полный димерный рецептор присоединяется только к хроматину из клеток-мишеней. Субъединица В обладает такой же специфичностью, как и димерный рецептор. Субъединица А не присоединяется к хроматину, но обнаруживает одинаковое сродство к «голой» ДНК независимо от того, происходит ли ДНК из клеток-мишеней или из клеток других тканей.

Для активации генов требуется присутствие гормона; рецепторные белки без гормона не оказывают никакого действия. Гормон, присоединяясь к димеру, изменяет его свойства. Комплекс рецептора с гормоном, в отличие от свободного димера, при соответствующих условиях легко расщепляется на две субъединицы и приобретает специфическую биологическую активность.

На основании проведенных исследований Б.О. Мэлли и У. Шрадер выдвинули предположение о том, что при активации генов прогестероном каждая из двух субъединиц рецептора особым образом взаимодействует с хроматином (рис. 9). Молекула рецептора, присоединив две молекулы гормона, переходит в ядро, где связывается со специфической фракцией негистоновых белков хромосомы. Какие гены будут при этом активированы, зависит от субъединицы В, взаимодействующей со специфическим белком в определенном участке хроматина, после чего происходит отделение от димера субъединицы А, взаимодействующей в свою очередь с определенным участком ДНК.

Субъединица В, очевидно, только «отыскивает» нужный ген, присоединяясь в участке, определенном одним из негистоновых белков, а субъединица А непосредственно взаимодействует с ДНК и стимулирует синтез информационной РНК.

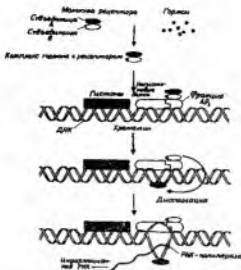


Рис 9. Схема активации генов прогестероном (Мелли Б.О., Шрадер У, 1977)

*Фракция  $AP_3$  — специфическая фракция негистоновых белков, взаимодействующая с субъединицей В*

Вероятно, активируемые гены расположены рядом с соответствующими акцепторными участками специфических негистоновых белков хромосомы.

Взаимодействие субъединицы А с ДНК позволяет молекуле РНК-полимеразы присоединиться к точке инициации, после чего некоторый участок ДНК транскрибируется, и образовавшаяся информационная РНК используется в качестве матрицы для синтеза белка.

Предложенная Б.О. Мэлли и У. Шрадер схема активации генов стероидными гормонами весьма интересна, основана на некоторых экспериментальных данных, но во многом является гипотетичной. Остаются неизвестными природа взаимодействия между субъединицей А и ДНК и каким образом комплекс гормон-рецептор изменяет прикртую или неактивную точку инициации транскрипции, делая ее доступной для РНК-полимеразы, а также как происходит выключение регулируемого гена, когда на нем уже синтезировалось достаточное число молекул РНК. Кроме того, изучение структуры рецепторов стероидных гормонов, входящих в суперсемейство рецепторных белков, локализованных преимущественно в ядре, показало, что большинство из них представлены одним белком. Исключение составляют лишь рецеп-

торы ТЗ и прогестерона, представленные двумя белками (у прогестерона – субъединицами А и В).

Таким образом, рецепторы стероидных гормонов, соединяясь с гормоном, не только задерживают гормон, но и способствуют его накоплению в ядре клеток вследствие того, что в клетках-мишенях комплексы стероидных гормонов со специфическими белками-рецепторами проникают в ядро и присоединяются к хромосомам.

Стероидные гормоны, обладая способностью легко диффундировать внутрь клеток и так же легко вновь возвращаться в кровяное русло, проникают, по-существу, во все клетки. Однако они могут избирательно стимулировать лишь небольшую часть клеток, имеющих в своем составе специфические белки-рецепторы, не оказывая на остальные заметного влияния. В клетках-мишенях стероидные гормоны играют роль индукторов синтеза специфических белков. Однако, как показано выше, активация генов у животных под влиянием стероидных гормонов отличается от активации генов индукторами, открытой Жакобом и Моно у бактерий, и является более сложной.

Это связано с тем, что в клетках животных, в отличие от бактерий, имеется обособленное от цитоплазмы ядро, в котором ДНК образует химический комплекс с различными белками. Кроме того, у высших организмов во всех клетках содержится один и тот же набор молекул ДНК, но разные клетки специализированы на синтезе совершенно различных белков. Именно наличие в клетках-мишенях специфических белков-рецепторов, обладающих высоким сродством к тем или иным стероидным гормонам и, в комплексе с ними, к определенным участкам хроматина, обуславливает проникновение гормонов в ядро клетки и осуществление функции стероидных гормонов у животных.

Эффект стероидных гормонов может осуществляться как на уровне трансляции, так и на уровне транскрипции. Стероидные гормоны способны повышать синтез РНК и белка и индуцировать синтез мРНК, и рРНК заново.

Изложенный механизм действия характерен для всех классов стероидных гормонов. Однако, если большинство стероидных гормонов не изменяется при образовании гормон-рецепторного комплекса, то для проявления биологического действия андрогенов необходим их анаболизм, что является уникальной и характерной особенностью андрогенов.

Основной андроген – тестостерон – циркулирует в крови в виде устойчивого комплекса с белками плазмы. В какой-то степени тестостерон, как и другие стероидные гормоны, проникает во все клетки, но только в клетках-мишенях подвергается интенсивному метаболизму. Основным метаболитом тестостерона является 5 $\alpha$ -дегидротестостерон, который специфически, с высоким сродством, связывается с цитоплазматическим рецепторным белком, образуя андроген-рецепторный комплекс. При этом рецепторный белок подвергается конформационным изменениям, что ведет к активации гормон-рецепторного комплекса и усилению его способности связываться с ядерными акцепторными местами.

Активированный андроген-рецепторный комплекс переносится в ядро, где удерживается определенное время связывающимися местами хроматина, стимулируя многие биохимические процессы, после чего разрушается или вытесняется из ядра под действием пока еще невыясненного механизма.

Клетки некоторых тканей специфически взаимодействуют с различными гормонами. Например, в матке животных имеются специфические рецепторы для эстрадиола, прогестерона и тестостерона, способные (в комплексе с соответствующим гормоном) специфически акцентироваться хроматином. При этом происходит качественно различная транскрипция и последующая биотрансформация мРНК в матке.

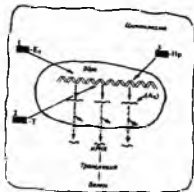
В одних и тех же клетках яйцевода кур синтез овальбумина, кональбумина, овомукоида и лизоцима независимо регулируется эстрадиолом, прогестероном и тестостероном, но только комбинация этих гормонов воспроизводит физиологическое соотношение скорости синтеза указанных белков. В этом случае можно говорить о полииндукторном характере передачи генетической информации у высших организмов (Рис. 10).

Рецепторные молекулы стероидных гормонов в отсутствие гормона слабо связаны с ядерным хроматином и находятся в клетке в динамическом равновесии между ядром и цитоплазмой, с сильным сдвигом равновесия в сторону ядра.

Биохимический механизм транскрипции генов в клетках млекопитающих при участии стероидных гормонов не вполне ясен. Но уже известно, что для проявления регулирующего эффекта стероидных гормонов транскрибируемые гены должны находиться в участках «открытого», то есть транскрипционно-активного, хроматина.

В таких генах присутствуют последовательности нуклеотидов, сходные с энхансерными, выполняющие роль гормончувствительных (гормонсвязывающих) элементов (ГЧЭ), способные связывать комплексы гормон-рецептор и модулировать частоту транскрипции. ГЧЭ обычно находятся рядом с гормонзависимыми структурными генами с их 5'-конца, то есть перед местом инициации транскрипции.

Рецепторы стероидных гормонов входят в суперсемейство рецепторных белков (глюкокортикоидов, минералокортикоидов, прогестинов, андрогенов, эстрогенов, диоксивитамина D<sub>3</sub>, трийодтиронина, ретиноидов), локализованных и действующих преимущественно в ядре, состоящих из 427–984 аминокислотных остатков, имеющих высокую степень гомологии первичной структуры и общие черты пространственной структуры их главных функциональных доменов (В.Б.Розен, 1994). В подавляющем большинстве случаев каждый рецептор суперсемейства представлен одним белком. Среди известных рецепторов стероидных гормонов лишь рецептор прогестерона из клеток яйцевода птиц представлен, как указано выше, двумя белками (субъединицами А и В).



**Рис. 10.** Полииндукторная регуляция стероидами передачи генетической информации на примере регуляции клетки матки (Биохимия гормонов..., 1976):

*E<sub>2</sub> – эстрадиол; Пр – прогестерон; Т – тестостерон; 1–3 – рецепторы соответствующих половых гормонов; (A<sub>n</sub>) – поли(A) – полимераза*

В состав рецепторов данного суперсемейства входят 4–5 доменов, два из которых (ДНК-связывающий и гормонсвязывающий) функционально более значимы и абсолютно необходимы. Специфичность гормонального эффекта определяет ДНК-связывающий домен (состоящий из 60–70 аминокислотных остатков), который активируется после присоединения гормона к гормонсвязывающему домену (состоящему приблизительно из 250 остатков аминокислот). Следовательно, рецептор стероидных гормонов является аллостерическим белком, имеющим как акцепторный домен, так и эффекторный, между которыми находится короткий сопрягающий фрагмент. С помощью сопрягающего фрагмента после присоединения гормона к акцепторному домену происходит активирующий аллостерический переход в активное состояние ДНК-связывающего домена.

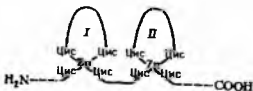
ДНК-связывающие домены стероидных рецепторов содержат по два «цинковых пальца» для распознавания и специфического связывания ГЧЭ на ДНК-мишени, после чего меняется процесс транскрипции и, в конечном счете, синтезируется молекула нужного белка. Два пальца формируются двумя атомами цинка, каждый из которых связан с 4 остатками цистеина аминокислотной цепи (рис. 11). Можно предположить, что в рецепторе прогестерона гормонсвязывающие домены имеются и в А- и в В-субъединицах, а ДНК-зависимый – лишь в субъединице А.

В результате стимуляции генома стероидными гормонами возможен синтез внутриклеточных медиаторов, участвующих в регуляции внутриклеточ-

ных процессов. В частности, противовоспалительное действие глюкокортикоидов опосредуется белком липокортином 1 (ЛК-1), образующимся при стимуляции генома кортизолом. ЛК-1 ингибирует внутриклеточную фосфолипазу  $A_2$ , уменьшая тем самым синтез арахидоновой кислоты – предшественника простагландинов и лейкотриенов. Рецепторы к ЛК-1 обнаружены и на наружной поверхности клеточных мембран, в том числе в аденогипофизе и гипоталамусе. При этом предполагается выход ЛК-1 из клетки и его взаимодействие со своими рецепторами на поверхности клетки.

Аналогично действию других стероидных гормонов действует и гормон кальцитриол – дигидроксивитамин  $D_3$  ( $1,25-(OH)_2-D_3$ ), являющийся производным витамина  $D_3$ , который последовательно подвергается гидроксильрованию сначала в печени (при С-25), а затем в почках (при С-1). Кальцитриол из почек поступает в кровь, где связывается со специфическим глобулином – транспортным белком для холекальциферола и его различных метаболитов. Этот транспортный белок обладает особенно высоким сродством к 25-гидрокси-формам (Лейкок Дж., Вайс П, 2000).

Клетки-мишени для кальцитриола присутствуют в костях, почках, желудочно-кишечном тракте, коже, поджелудочной железе, головном мозге, молочной железе. В гормончувствительных тканях кальцитриол, будучи стероидом, проникает в свои клетки-мишени, связывается с внутриклеточными рецепторами и индуцирует синтез мРНК и соответствующих белков. В кишечнике кальцитриол увеличивает синтез кальцийсвязывающего белка, ответственного за транспорт кальция через мембрану клеток слизистой оболочки кишечника, в почках – увеличивает реабсорбцию кальция и фосфора в почечных канальцах, в костной ткани – стимулирует пролиферацию остеобластов, синтез белка в них, кальцификацию костного матрикса.



**Рис. 11.** *Металлозависимая двухпетлевая структура ДНК-связывающего домена ядерных рецепторов: 1,2 – 1-я и 2-я петли (В.Б. Розен, 1994)*

Синтетический витамин  $D_2$  (эргокальциферол), превращаясь в организме в активированную форму, оказывает те же эффекты, что и  $1,25(OH)_2 D_3$  (В.Б. Розен, 1994). Кроме того, кальцитриол активизирует мембранные кальциевые каналы различных клеток, инициирует синтез инозитол-3-фосфата и других



вторичных посредников, высвобождающих кальций из внутриклеточных депо.

### Внегеномное действие стероидных гормонов

Помимо описанных выше длительных и отставленных во времени (часы, сутки) эффектов стероидных гормонов путем регуляции уровня транскрипции и синтеза белка, выявлено и внегеномное действие стероидных гормонов, нередко сопровождающееся очень быстро проявляющимися эффектами. Например, акросомальная реакция, индуцируемая прогестероном, протекает секунды спустя после контакта спермы с этим гормоном. В сперматозоидах прогестерон вызывает акросомальную реакцию после связывания с мембранным рецептором, расположенным на внешней стороне мембраны головки сперматозоида и отличающимся высоким сродством к гормону. Через мембранный рецептор опосредовано действие прогестерона и на созревание ооцитов, находящихся на ранней стадии развития. Причем, на начальных стадиях прогестерон вызывает ингибирование аденилатциклазы и, соответственно, снижение уровня цАМФ в клетке. Эти рецепторы к прогестерону по своему строению оказались аналогами «классического» рецептора прогестерона, а на поверхности сперматозоидов совершенно не похожими на него (Рис. 11а).

С внегеномным действием через мембранные рецепторы связывают быстрое повышение концентрации ионов кальция в клетках эндометрия и ооцитах при участии эстрадиола; быстрое альдостерон-зависимое увеличение концентрации ионов кальция в скелетной мускулатуре, которому предшествует возрастание уровня инозитолтрифосфата; изменение рН цитозоля мононуклеарных лейкоцитов в щелочную сторону (за счет ионов натрия).

Особый интерес представляет участие глюкокортикоидов в апоптозе. В подверженных апоптозу клетках обнаружен мембранный рецептор, взаимодействуя с которым они инициируют нарушение митохондриальных функций, что влечет за собой гибель клетки. Обнаружено также преимущественно внегеномное действие глюкокортикоидов на активацию NO-синтазы и на различные стрессовые реакции.

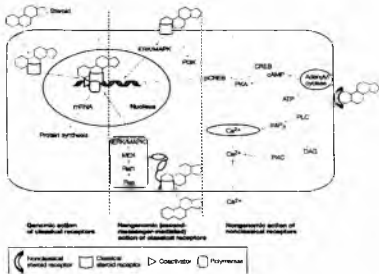


Рис. 11а. Схема множественного действия стероидных гормонов с помощью различных путей:

механизм, включающий прямую активацию рецепторов (слева), протеинкиназный каскад активации с помощью классических рецепторов (в центре), путь, включающий цАМФ, липазный, протеинкиназный, ионный механизмы, активируемые через неклассические стероидные рецепторы (справа)

CREB – цАМФ-связывающий белок; DAG – диацилглицерол; ERK/MAPK – внеклеточная митоген-активируемая протеинкиназа; InsP3 – инозитолтрифосфат; MEK, MAPK, ERK – протеинкиназы; pCREB – фосфорилированный цАМФ-связывающий белок; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; PKA – протеинкиназа А; PKC – протеинкиназа С; PLC – фосфолипаза С.

### 3.1.2. Тиреоидные гормоны

Из всех известных гормонов, образующихся в организме животных и человека, тиреоидные гормоны (трийодтиронин и тетраiodтиронин – тироксин) обладают наиболее широким спектром действия. При введении тиреоидных гормонов в организме животных повышается активность около 100 различных ферментов, оказывающих влияние на множество физиологических функций. В частности, тиреоидные гормоны активируют кальций-зависимую АТФ-азу, пируваткиназу, цитохромоксидазу, протеинкиназный каскад мито-

ген-зависимых протеинкиназ и др. Под контролем тиреоидных гормонов находится ряд важнейших биохимических реакций белкового, углеводного, липидного и водно-солевого обмена, а также процессы роста и дифференцировки клеток, в том числе нейронов, в организме.

При недостаточности тиреоидных гормонов у новорожденных, дети остаются умственно отсталыми (кретинизм) из-за недостаточного развития синапсов в человеческом мозге, гипоплазии коры больших полушарий и задержки миелинизации нервных волокон. Без ликвидации гормональной недостаточности в первые недели после рождения изменения становятся необратимыми. Тироксин и его аналоги участвуют в регуляции интенсивности и эффективности биоэнергетических реакций клетки; их действие распространяется на структуру и функции ряда субклеточных частиц: ядер, митохондрий, рибосом, клеточных мембран и др.

Основная доля тиреоидных гормонов в плазме крови представлена тироксином. Концентрация трийодтиронина ( $T_3$ ) составляет лишь 3% концентрации тироксина в плазме.

Гормоны щитовидной железы переносятся кровью главным образом (99,95%) в виде комплексов с определенными белковыми фракциями плазмы, они могут связываться и с тканевыми белками. Перенос тиреоидных гормонов из крови в ткани определяется главным образом конкуренцией между белками плазмы и тканей, способными связывать гормоны.

Периферические эффекты тиреоидных гормонов возрастают параллельно повышению концентрации их свободной формы в крови и в значительной мере зависят от соотношения между  $T_4$  и  $T_3$ , так как  $T_3$  гораздо активнее, чем  $T_4$ . Тироксин может превращаться в трийодтиронин вне щитовидной железы. Около 80% циркулирующего  $T_3$  в сыворотке крови является производным от  $T_4$ , вследствие его периферического дейодирования (Балаболкин М.И., 1998). В ряде случаев гипертиреоза повышается лишь количество  $T_3$  при нормальном уровне  $T_4$  в плазме крови.

Тироксин и его аналоги способны взаимодействовать с клеточными мембранами и митохондриальными кристами, с ядерными компонентами и структурными элементами эндоплазматического ретикулума.

При одном и том же эффекте тироксина на клеточном уровне, на органном уровне возникает ряд различных функциональных проявлений (ускорение сердечной деятельности, повышение нервной возбудимости, повышение метаболической активности в печени и т.д.), а на уровне организма они объединяются в многочисленные симптомы, что создает впечатление чрезвычайно большого разнообразия в действии тиреоидных гормонов.

В периферических тканях молекулы тиреоидных гормонов претерпевают ферментативные (дез-, трансаминирование, дейодирование и др.) и неферментативные превращения, в результате которых возникает ряд промежуточных соединений, обладающих биологической активностью.

В реализации гормонального эффекта  $T_3$  и  $T_4$  на молекулярном уровне большое значение придается образующимся при дейодировании  $T_3$  и  $T_4$  высокоактивным йодным радикалам  $I^-$  и  $I^+$

Дейодирование тиреоидных гормонов осуществляется во всех тканях, метаболизм которых чувствителен к этим гормонам.  $I^-$  и особенно  $I^+$  являются высокоактивными радикалами, способными взаимодействовать со всеми клеточными структурами и функциональными макромолекулами.

Образующиеся при дейодировании  $T_3$  и  $T_4$  радикалы  $I^-$  и  $I^+$  могут связываться с ненасыщенными жирными кислотами мембранных фосфолипидов и с другими компонентами клеточных мембран, образуя с ними комплексы и изменяя электрофизиологические свойства мембран.

Изменение состояния мембран может обусловить широкий спектр изменений метаболического, энергетического и функционального характера. В результате действия тиреоидных гормонов на клеточном уровне повышается или понижается проницаемость мембран, что сопровождается ускорением или замедлением потока ионов (главным образом  $Na^+$  и  $K^+$ ,  $Cl^-$  и  $Ca^{++}$ ) и молекул (аминокислот, жирных кислот, метаболитов). Тироксин и трийодтиронин стимулируют активность мембранной и саркоплазматической кальций-зависимой АТФ-азы, контролирующей поступление кальция из цитозоля. Этот эффект опосредуется действием протеинкиназы С, активность которой контролируется фосфолипазой С. В митохондриях происходит ускорение транспорта электронов и разобщение окислительного фосфорилирования (при гиперфункции щитовидной железы).

Однако эффект гормонов щитовидной железы в клетках не ограничен лишь цитомембранами. Вторым основным объектом их действия является генетический и белоксинтезирующий аппарат клетки, с деятельностью которого связаны процессы транскрипции, трансляции, а также рост, дифференцировка клеток, органов и организма в целом.

Гормоны щитовидной железы, по-видимому, свободно проникают в ядро без посредничества дополнительных факторов. Рецепторы, избирательно связывающие  $T_3$  и  $T_4$ , локализованы в ядре. В ядре может быть до 8000 рецепторов. Эти рецепторы специфически взаимодействуют с соединениями, имеющими дифенил-эфирную структуру и атомы йода в 3-м и 5-м положениях, то есть с тироксином и трийодтиронином. Этим можно объяснить преимущественную локализацию  $T_3$  и  $T_4$  в ядре, в котором обнаруживают до 60-80% йода тироксина.

Рецепторные места для  $T_3$  и  $T_4$  идентичны и гормоны конкурируют за них. Ядерные рецепторы обладают в 10 раз более высоким сродством к  $T_3$ , чем к  $T_4$ . Это указывает на то, что именно трийодтиронин является внутриклеточной формой гормона щитовидной железы. Биологическое действие тиреоидных гормонов более чем на 90-92% осуществляется за счет  $T_3$ , а  $T_4$  является своего рода прогормоном  $T_3$ . Об этом же свидетельствует тот факт, что тироксинсвязывающий глобулин (ТСГ) плазмы крови, в комплексе с которым находится 75-80% тиреоидных гормонов, сильнее связывает именно  $T_4$ , ограничивая его проникновение в клетки в гораздо большей степени, чем проникновение  $T_3$ .

Как указано выше, ядерные рецепторы тиреоидных гормонов аналогичны (по структуре) рецепторам стероидных гормонов. Выявлено 2 вида рецепто-

ров тиреоидных гормонов:  $\alpha$ -1, состоящий из 410 аминокислот и  $\beta$ -1 – из 456 аминокислот. Каждый рецептор содержит 3 домена: аминотерминальный, центральный ДНК-связывающий домен с двумя цистеин-цинковыми пальцами и карбокси-терминальный домен.

Первым этапом механизма действия тиреоидных гормонов в регуляции белкового синтеза является связывание гормона с гормонсвязывающим (карбокси-терминальным) доменом рецептора. Образующийся гормон-рецепторный комплекс затем присоединяется (посредством ДНК-связывающего домена) к гормон-чувствительному элементу ДНК, что ведет к изменению активности РНК-полимеразы на  $T_3$ -чувствительном гене и, как следствие, к инициации транскрипции мРНК и синтезу соответствующих белков. Усиленный синтез определенных типов РНК представляет собой предпосылку и для стимулирования реакций, протекающих на уровне трансляции.

Следует обратить внимание на скоординированность регуляции тиреоидными гормонами процессов биосинтеза белка в рибосомах с действием их на другие субклеточные структуры, в частности, на митохондрии. Так, основным поставщиком ГТФ, используемого в биосинтезе белка в цитоплазме, служат реакции субстратного фосфорилирования в цикле трикарбонных кислот. Именно эти реакции фосфорилирования, в отличие от окислительного фосфорилирования, не чувствительны к разобщающему действию тиреоидных гормонов. Поэтому возрастание синтеза ГТФ в ходе усиления реакций цикла трикарбонных кислот при гипертиреозе может в значительной мере покрывать потребности в ГТФ для синтеза белка.

В настоящее время не исключается прямое действие тиреоидных гормонов на транспортные механизмы плазматических мембран (например, на транспорт аминокислот), в результате образования цАМФ и, возможно, путем стимуляции мембранной АТФазы (Лейкок Дж., Вайс П., 2000).

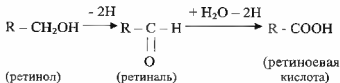
Таким образом, в настоящее время признается несколько возможных путей реализации гормонального эффекта тиреоидных гормонов: первый – дейодирование  $T_3$  и  $T_4$ , с образованием высокоактивных радикалов йода, второй – депрессия генов путем активации ядерных рецепторов и третий – через активирование аденилатциклазной системы.

### 3.1.3. Ретиноевая кислота

Ретиноевая кислота представляет собой гормон – продукт окисления ретинола (витамина А) в печени.

Ранее считалось, что активной формой витамина А является образующийся из растительных каротинов (при участии каротиназы) ретинол. В настоящее время известно, что ретинол является предшественником гормона – ретиноевой кислоты, которая поступает из печени в кровь, а из нее – в клетки мишени.

Ретинол – циклический непредельный спирт – состоит из шестичленного кольца ( $\beta$  иона), двух молекул изопрена и первичной спиртовой группы ( $-CH_2OH$ ). В печени гидроксильная группа сначала превращается в альдегидную с образованием ретиналя, а затем в карбоксильную группу



Ретиналь входит в состав родопсина зрительного пурпура сетчатки глаза, а ретиноевая кислота выполняет гормональную функцию (В.Б. Розен, 1994; Дж.Ф. Лейкок, П.Г. Вайс, 2000).

Рецепторы ретиноевой кислоты входят в суперсемейство рецепторных белков ядерного типа рецепции. Взаимодействие ретиноевой кислоты с рецепторами ведет к активации генов в клетках мишенях.

В клетках мишенях ретиноевая кислота стимулирует синтез мРНК и белков, в том числе антител и компонентов мембран, влияет на эпителизацию слизистых оболочек и кожи, на рост костей и мягких тканей, синтез хондронтин-сульфата, дифференцировку почечных канальцев, ряда желез, сперматозоидов.

### 3.2. Информоны, связывающиеся с рецепторами на поверхности клетки

Для наиболее многочисленной группы гормонов и других информонов (белковых, полипептидных гормонов гипоталамуса, гипофиза, поджелудочной железы, кальцитонина, паратгормона, гастрина, секретина, катехоламинов, ацетилхолина, серотонина, цитокинов и др.) клеточная мембрана, как правило, непроницаема и, чтобы повлиять на внутриклеточные процессы, эти гормоны должны вступить во взаимодействие с рецепторами плазматических мембран своих клеток-мишеней.

Трансмембранные рецепторные системы обычно многокомпонентны и содержат в своем составе собственно рецепторные белки, гормонсвязывающие участки, которые локализованы на наружной поверхности цитоплазматической мембраны, а также регуляторные (сопрягающие) и каталитические белки (или субъединицы), с активными центрами, ориентированными в сторону цитоплазмы (то есть находящимися на внутренней стороне мембраны). Последующее (после связывания гормона с рецептором) воздействие гормона возможно через посредство образующихся в клетке «вторых посредников» (цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат, диацилглицерол, ионы кальция и др.).

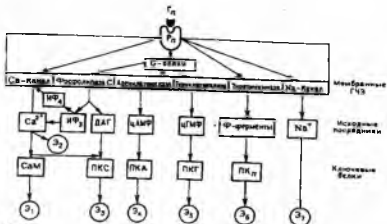


Рис. 12. Пути и механизмы трансмембранного проведения гормональных сигналов (Розен В.Б., 1994)

Г – гормоны, Р – рецепторы, G – белки – ГТФ-связывающие белки, ИФ<sub>4</sub> – 1, 3, 4, 5-тетрафосфоинозитол, ИФ<sub>3</sub> – 1, 4, 5-трифосфоинозитол, ДАГ – диацилглицерол, Ф-ферменты – фосфорилированные ферменты, ПКС, ПКА, ПКГ, ПК<sub>II</sub> – протеинкиназы Ca-, цАМФ-, цГМФ-зависимые и другие соответственно, Э – эффекты, СаМ – кальмодулин, ГЧЭ – гормончувствительные элементы

Существуют альтернативные пути и механизмы трансмембранного проведения гормональных и других сигналов (рис.12), которые взаимосвязаны, хотя и характеризуются присущим каждому из них соответствующим типом специализированных регуляторных белков, ферментов или ионных каналов. Наиболее распространенным и наиболее изученным является аденилатциклазный путь передачи регуляторных сигналов.

### 3.2.1. Циклические нуклеотиды и их биологическая роль

В реализации эффекта большой группы информонов роль «вторичного посредника» принадлежит циклическому аденозинмонофосфату (цАМФ). В настоящее время выявлена важная биологическая роль цАМФ у многих видов организмов, как у одноклеточных, у которых отсутствует эндокринная регуляция, так и у высших животных – при наличии централизованных систем регуляции.

цАМФ является составной частью аденилатциклязной системы регуляции, которая имеет как общие для всех организмов черты, так и специфические особенности, возникающие в процессе эволюции. Поэтому для более полного представления о регуляции биохимических процессов на клеточном уровне у высших животных, представляется целесообразным рассмотреть вначале химическую природу цАМФ и его роль у микроорганизмов.

Как известно, в живом организме для обеспечения процессов ассимиляции, для работы мышц, секреторных и других процессов универсальным источником энергии является аденозинтрифосфат (АТФ), а для некоторых из них – другие аналогичные трифосфаты.

Гидролиз АТФ с освобождением энергии катализирует аденозинтрифосфатаза (АТФаза).

Выявлен и другой путь превращений АТФ, с участием аденилатциклазы (АТФ-пирофосфатлиаза, циклизующая; КФ 4.6.1.1.), который ведет к образованию цАМФ (рис.13), без освобождения энергии.

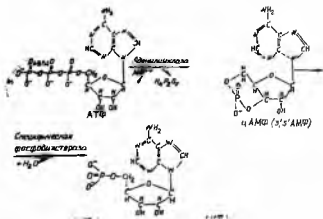


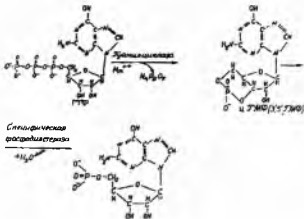
Рис. 13. Превращения АТФ с участием аденилатциклазы и фосфодиэстеразы

Ферменты АТФаза и аденилатциклаза имеют различную локализацию – АТФаза локализована на внешней поверхности мембраны, аденилатциклаза (ее каталитическая субъединица) – на внутренней.

цАМФ впервые обнаружен Сазерлендом и Роллом (1958), в нем остаток фосфорной кислоты присоединен к рибозе через 3' и 5' положения в виде замкнутого цикла.



При участии фосфодиэстеразы цАМФ может подвергаться гидролизу в нециклический 5'АМФ.



Известен и другой циклический нуклеозидмонофосфат – цГМФ, который образуется при участии гуанилатциклазы (Рис. 14).

Рис. 14. Превращения ГТФ с участием гуанилатциклазы и фосфодиэстеразы

Циклическая форма нуклеозидмонофосфатов представляет собой биологически активную молекулу, принимающую участие в регуляции ряда биологических процессов у микроорганизмов, животных и растений; нециклическая форма биологически неактивна.

### 3.2.1.1. Роль цАМФ у микроорганизмов

У одноклеточных цАМФ может выполнять гормоноподобную функцию, действуя внесклеточно, обеспечивая межвидовое и внутривидовое взаимодействие у некоторых видов миксомицетов (Дж.Боннер, 1970). В частности, почвенная амeba – *Dictyostelium discoideum* в качестве источника питания использует почвенные бактерии, выделяющие во внешнюю среду привлекающее амеб вещество – цАМФ. При исчерпании запасов пищи амебы сами резко увеличивают (примерно в 100раз) продукцию цАМФ и примерно в 100 раз у амеб повышается чувствительность к цАМФ. Таким образом, у амеб примерно в 10000 раз повышается интенсивность химического притяжения, вследствие чего они начинают мигрировать навстречу друг другу, образуя агрегат («слизевик»), имеющий форму гильзы длиной 1-2мм, включающий до 100тыс. клеток и более. Слизевик может передвигаться по почве или среди гниющих листьев в поисках лучших условий, затем останавлива-

ется, принимает форму полого стебля, поддерживающие клетки которого отмирают, а на вершине стебля образуется округлая шапочка, содержащая споры.

Дж. Боннер предполагает, что именно реакция на цАМФ бактерий и другие вещества помогла одиночным предкам миксомицетов находить свою пищу, а в процессе эволюции тот же механизм химического привлечения стал использоваться для внутривидовой агрегации амёб, что способствовало их выживанию и более эффективному распространению спор.

У многих микроорганизмов, а также в организме животных и у растений, цАМФ выполняет преимущественно не гормональную (внеклеточную) функцию, а является внутриклеточным посредником информонов (метаболитов – у микроорганизмов; гормонов, медиаторов и цитокинов – у животных).

У микроорганизмов цАМФ принадлежит ведущая роль в регуляции катаболитной репрессии. Под катаболитной репрессией понимают торможение или прекращение синтеза ферментов, индуцируемых субстратами для их метаболизма, в присутствии легко мобилизуемых соединений. В частности, глюкоза вызывает катаболитную реессию β-галактозидазы у *E.coli*, что препятствует гидролизу лактозы, которая в отсутствие глюкозы (или при ее низкой концентрации в питательной среде) индуцирует синтез β-галактозидазы. Оказалось, что глюкоза снижает уровень цАМФ в клетках *E.coli*, вызывая быстрый выход из клетки уже имеющегося в ней цАМФ и ингибируя образование нового цАМФ. Добавление к среде цАМФ снимает реессию синтеза β-галактозидазы и, следовательно, способствует гидролизу лактозы и катаболизму продуктов гидролиза лактозы.

цАМФ у многих микроорганизмов стимулирует синтез не только β-галактозидазы, но и синтез большого числа других ферментов, являющихся объектом катаболитной репрессии, участвующих в метаболизме углеводов, аминокислот и пиридинов и не влияет на синтез ферментов, не чувствительных к катаболитной репрессии.

Какова же роль цАМФ в торможении катаболитной репрессии и индуцировании синтеза катаболитных ферментов?

Дерепрессирующее действие цАМФ у бактерий может происходить на уровне транскрипции или на уровне трансляции.

Для ферментов, чувствительных к катаболитной репрессии, проявляющейся на уровне транскрипции, дерепрессирующее действие цАМФ происходит не путем прямого взаимодействия этого нуклеотида с ДНК, а через связывающий цАМФ белок-регулятор (ЦСБ). Этот белок имеет и другие названия: белок активатор катаболизма (БАК), цАМФ – рецепторный белок (ЦРБ).

Участие цАМФ в регуляции транскрипции показано на рис.15. Данная схема предполагает вероятность постоянного функционирования нескольких генов-регуляторов и, следовательно, постоянный синтез регуляторных белков, кодируемых ими (Р, РНК-полимераза, БАК, АЦ). Один из регуляторных белков (Р) имеет специфическое сродство к гену – оператору, присоединяется к нему, блокируя тем самым движение РНК-полимеразы к структурным

генам и предотвращая транскрипцию мРНК. Для снижения сродства связывания белка-репрессора (Р) с оператором необходимо присутствие молекул индуктора, в данном случае лактозы, которая препятствует присоединению белка Р к оператору и открывает возможность транскрипции.

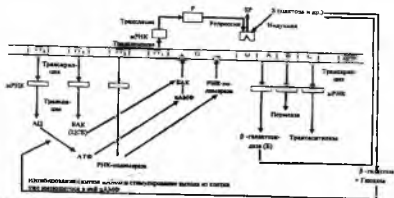


Рис 15. Схема регуляции биосинтеза белка путем индукции и репрессии транскрипции в лактозном опероне у *E. coli* (Ю.П. Фролов, М.М. Серых, 2000)

П – промотор, О – оператор, А.В.С – структурные гены, S – субстрат, SP – комплекс субстрата с репрессором, Р – репрессор, блокирующий оператор, БАК (ЦСБ) – белок активатор катаболизма (цикλοςвязывающий белок), цАМФ – циклический АМФ, АЦ – аденилатциклаза

Однако для регуляции лактозного оперона необходимо наличие в клетке не только белка-репрессора (Р) и индуктора - лактозы, но и других регуляторов. Дело в том, что РНК-полимераза, кодируемая  $GP_2$ , с помощью своей субъединицы  $\sigma$  (сигма) "узнает" участок гена-промотора, примыкающий непосредственно к оператору, присоединяется к нему и начинает транскрипцию лишь после присоединения к другому участку промотора (удаленному от оператора) специального белка - активатора катаболизма (БАК), кодируемого  $GP_1$ .

БАК является аллостерическим белком основного характера и благодаря этому может связываться с промотором ДНК и с цАМФ. Но если БАК по отношению к цАМФ обладает высоким сродством, то по отношению к ДНК - низким сродством, которое повышается в присутствии цАМФ. Присоедине-

ние цАМФ к БАК вызывает в нем конформационные изменения, необходимые для связывания БАК (в комплексе с цАМФ) с промотором.

цАМФ образуется из АТФ при участии фермента аденилатциклазы (АЦ), кодируемого  $\text{GPA}$ . В регуляции концентрации цАМФ в клетке принимает участие глюкоза - метаболит, образующийся при гидролизе лактозы. Глюкоза снижает уровень цАМФ в клетках *E. coli*, вызывая быстрый выход из клетки уже имеющегося в ней цАМФ и ингибируя образование нового цАМФ. В отсутствие (или при недостатке) цАМФ не может произойти активация БАК и его присоединение к промотору, без чего невозможно функционирование РНК-полимеразы. В результате синтез  $\beta$ -галактозидазы не происходит даже в присутствии достаточного количества индуктора (лактозы). Добавление к питательной среде цАМФ активирует БАК, стимулируя синтез  $\beta$ -галактозидазы и тем самым способствуя гидролизу лактозы и катаболизму продуктов гидролиза лактозы.

Для транскрипции мРНК необходимо одновременное наличие БАК и цАМФ. У мутантов *E. coli*, дефицитных по АЦ, синтез мРНК и  $\beta$ -галактозидазы не происходит в отсутствие цАМФ, а у мутантных по БАК без добавок этого белка. Максимальная скорость синтеза  $\beta$ -галактозидазы достигается только при одновременном внесении в среду цАМФ и БАК (при условии наличия в питательной среде достаточного количества лактозы).

При выращивании *E. coli* в отсутствие лактозы, ее клетки содержат ничтожное количество  $\beta$ -галактозидазы. Если же в питательную среду внести лактозу, то начинается образование  $\beta$ -галактозидазы, содержание которой может повыситься на 3 - 4 порядка (Крю Ж., 1979).

Таким образом, в данном случае субстрат путем дерепрессии оператора индуцирует появление большого количества фермента, способного использовать этот субстрат. Индуцированный синтез ферментных молекул начинается через 1-2 минуты после добавления индуктора. Если индуктор удаляют, то синтез прекращается через такое же время.

Повышение концентрации глюкозы - метаболита субстрата (лактозы), одновременно выполняющего роль индуктора, прекращает «работу» лактозного оперона вследствие резкого снижения концентрации цАМФ в клетке и невозможности присоединения (без цАМФ) БАК к промотору, что препятствует присоединению РНК-полимеразы к промотору и ее участию в транскрипции. То же самое происходит при добавлении в питательную среду избытка глюкозы, даже в присутствии достаточного количества субстрата-индуктора (лактозы).

Таким образом, у прокариотов для активации группы функционально связанных генов помимо индуктора (в данном случае - лактозы) необходим как бы сигнал голода (в данном примере - недостаток или отсутствие в клетке глюкозы), стимулирующий образование в клетке цАМФ, выполняющего роль инициатора начала транскрипции и последующей трансляции, которые приводят к повышению скорости процессов внутриклеточного метаболизма. Появление в клетке (или повышение концентрации) глюкозы в свою очередь

является сигналом для снижения концентрации цАМФ и, соответственно, для прекращения транскрипции и трансляции. Следовательно, у прокариотов сигналами, по которым изменяется содержание цАМФ в клетке, а отсюда скорость и направление метаболических процессов, являются колебания содержания метаболитов в клетке.

Влияние цАМФ на процесс трансляции изучено меньше, чем на транскрипцию. Предполагают, что цАМФ стабилизирует мРНК на рибосомах, то есть увеличивает время жизни мРНК, что позволяет последней дополнительно участвовать в синтезе белка.

### 3.2.1.2. Циклические нуклеотиды – посредники биологических эффектов информонов у животных

Исходя из концепции А.М. Уголева (1995) об универсальных функциональных блоках, которые мало меняются в ходе эволюции, близки или идентичны у организмов, стоящих на разных уровнях эволюционной лестницы, а также учитывая, что цАМФ выполняет роль универсального регулятора не только у прокариотов, но и у эукариотов, в том числе у млекопитающих, можно было предположить наличие сходного с прокариотами механизма инициации транскрипции и у высших организмов.

В настоящее время известно, что у млекопитающих и птиц, как у более сложных организмов, цепь химических реакций с участием цАМФ длиннее и сложнее, чем у одноклеточных и что у них помимо цАМФ во внутриклеточной регуляции принимает участие также цГМФ. Для появления биологического эффекта информонов, действующих через циклические нуклеотиды (в качестве посредников), необходимо наличие в наружной клеточной мембране специфических рецепторов, являющихся составной частью аденилатциклазной системы (АЦ-системы), катализирующей превращение АТФ в цАМФ, или гуанилатциклазной системы (ГЦ-системы), катализирующей превращение ГТФ в цГМФ.

Мембранная часть АЦ-системы млекопитающих представлена тремя компонентами: рецепторным, регуляторным и каталитическим.

**Рецепторный компонент** (рецепторная субъединица – Р) является одноцепочечным гликопротеином (400-420 аминокислотных остатков), имеющим семь пронизывающих мембрану гидрофобных  $\alpha$ -спирализованных фрагментов, соединяющихся между собой выходящими на поверхности мембраны сегментами (петлями) пептидной цепи (по три на каждой стороне мембраны). Находящиеся на наружной поверхности мембраны петли и N-концевой сегмент (к которому присоединены два углеводных компонента) формируют информончувствительный центр (ИЧЦ) обладающий специфическим средством к определенному информону. С-концевой сегмент полипептидной цепи свободно погружен в цитозоль.

В АЦ-системе возможно наличие одновременно двух рецепторных субъединиц – Р<sub>1</sub> (стимулирующей) и Р<sub>2</sub> (ингибирующей), специфичных соот-

ветственно для информонов стимуляторов ( $I_s$ ) и ингибиторов ( $I_i$ ) данной АЦ-системы.

Регуляторный компонент представляет собой смесь двух типов ГТФ-связывающих белков (Г-белков, нередко обозначаемых как G-белки): стимулирующего ( $G_s$ ) и ингибирующего ( $G_i$ ). В составе каждого из них имеются  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы, причем  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы  $G_s$  и  $G_i$  идентичны, а  $\alpha$ -субъединицы ( $\alpha_s$  и  $\alpha_i$ ), являющиеся продуктами разных генов, ответственны за проявление Г-белками соответственно активирующей или ингибирующей активности по отношению к каталитической субъединице. В отсутствие информона Г-белок связывает ГДФ.

Присоединение информона (И) к ИЦЦ ведет к образованию информон-рецепторного комплекса (ИР), что сопровождается изменением конформации трансмембранных фрагментов и примембранных петель рецепторной субъединицы и, как следствие, повышением сродства ИР-комплекса к Г-белкам. В результате взаимодействия комплексов И-Р и Г-белок-ГДФ, происходит диссоциация последнего (отщепление от него ГДФ) и присоединение к  $\alpha$ -субъединице Г-белка ГТФ (т.е. замена комплекса Г-белок-ГДФ на комплекс Г-белок-ГТФ). Комплекс Г-белок-ГТФ активирует каталитический компонент АЦ-системы.

В некоторых видах рецепторов идентифицированы очень близкие к Г-белкам АЦ-системы дополнительные белки, в частности, белок трансдукции, участвующий в сопряжении света с фотоактивацией сетчатки глаза.

Каталитический компонент АЦ-системы (каталитическая субъединица) представлен одной полипептидной цепью и в отсутствие Г-белков практически неактивен. С одной и той же каталитической субъединицей могут быть сопряжены комплексы  $I_s$ - $P_s$ - $G_s$  и  $I_i$ - $P_i$ - $G_i$ , оказывающие противоположные эффекты. Конечный результат при этом зависит от соотношения соответствующих (S и I) И-Р-Г комплексов (Д.Греннер, 1993; М.И.Балаболкин, 1998).

Каталитическая субъединица (собственно аденилатциклаза) своим активным центром выходит на внутреннюю поверхность мембраны.

Таким образом, когда рецептор стимулирующего информона свободен, ГТФ-связывающий белок соединен с ГДФ и в этом состоянии аденилатциклаза неактивна. Если же к стимулирующей рецепторной субъединице ( $P_s$ ) присоединяется соответствующий ей информон ( $I_s$ ), ГДФ в ГТФ-связывающем белке заменяется на ГТФ и этот новый комплекс активирует аденилатциклазу – в цитоплазме начинается синтез цАМФ.

Аденилатциклаза в тканях у животных локализована в плазматических мембранах, а в некоторых клетках является компонентом внутриклеточных мембран (митохондрий, микросом и др.) Гуанилатциклаза обнаруживается как в мембранах, так и в цитоплазме.

Мембраносвязанные формы гуанилатциклазы состоят из одной полипептидной цепи, содержащей рецепторный сегмент, локализованный на внешней поверхности плазматической мембраны, внутримембранный домен и каталитический участок (на внутренней поверхности мембраны) – одина-

ковый у разных форм фермента. Растворимая форма гуанилатциклазы состоит из двух субъединиц и является гемсодержащим ферментом.

Аденилатциклаза и гуанилатциклаза в клеточной мембране находятся в неактивной форме и активируются соответствующими информонами. Образующиеся при этом циклические мононуклеотиды ( $\alpha$ АМФ или  $\alpha$ ГМФ), в свою очередь активируют внутриклеточные ферменты-протеинкиназы.

$\alpha$ АМФ обнаружен практически во всех тканях многоклеточных организмов и во многих биологических жидкостях млекопитающих. Так же широко распространен и  $\alpha$ ГМФ.

Информон (гормон, медиатор, гистогормон и др.) в АЦ- и ГЦ-системах представляет собой первый «посредник» эндокринной железы, нейронов, клеток иммунной системы и др. Молекула  $\alpha$ АМФ или  $\alpha$ ГМФ – второй «посредник», реализующий эффект информона на субклеточном уровне через соответствующую А или Г протеинкиназу (рис. 16).

Известно 5 классов протеинкиназ, переносящих концевой фосфатный остаток на различные группы в структуре белка (Н.Б.Гусев, 2000):

- 1) переносят остаток фосфата на спиртовые группы серина и треонина;
- 2) переносят остаток фосфата на спиртовую группу тирозина;
- 3) переносят остаток фосфата на атомы азота гистидина, лизина и аргинина, с образованием фосфоамидных связей;
- 4) фосфорилируют остатки цистеина в структуре белка;
- 5) фосфорилируют остатки аспартата и глутамата в структуре белка.

Наиболее подробно изучены первые 2 класса протеинкиназ, которые в ходе фосфорилирования превращают нейтральные спиртовые группы белка в сложный эфир, несущий большой отрицательный заряд в ранее нейтральной области, что может приводить к значительным изменениям в структуре и свойствах белка.

В литературе описано около 200 представителей серин-треониновых и тирозиновых протеинкиназ. Предполагают, что в геноме млекопитающих содержится около 1000 генов (примерно 1% всех генов), кодирующих различные протсинкиназы.

В активном центре протеинкиназ имеются как минимум 2 субстратсвязывающих участка (для АТФ или другого нуклеозидтрифосфата и для белка-субстрата, на который переносится фосфатная группа) и 1 каталитический, обладающие достаточно высокой специфичностью. Кроме того, практически все протеинкиназы имеют регуляторные центры связывания низкомолекулярных клеточных метаболитов или других сигнальных молекул ( $\alpha$ АМФ,  $\alpha$ ГМФ,  $\text{Ca}^{2+}$ , специальные фосфолипиды и др.); центры связывания регуляторных белков; участки, которые могут фосфорилироваться, обеспечивающие, соответственно, регуляцию активности протеинкиназ низкомолекулярными соединениями, регуляцию специфическими белками – активаторами или ингибиторами и регуляцию путем фосфорилирования.

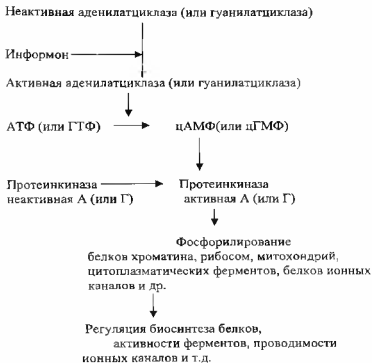


Рис.16. Общая схема регуляции метаболических процессов в клетках при участии циклических нуклеотидов.

Специфичность эффекта конкретного информона определяется рецепторными белками клеточной мембраны, функционально связанными с аденилатциклазной или гуанилатциклазной субъединицами АЦ- или ГЦ-систем. цАМФ и цГМФ могут воспроизводить в определенных клетках по существу все специфические эффекты, вызываемые данным информоном. Рецепторы информонов клеточных мембран контролируются генами, которые и определяют специфический набор этих рецепторов.

Количество цАМФ в тканях определяется активностью двух ферментов – аденилатциклазы, катализирующей превращение АТФ в цАМФ, и фосфодиэстеразы, гидролизующей цАМФ с образованием 5'АМФ (рис.13). Фосфодиэстеразы различаются по сродству к цАМФ и цГМФ.

Внутриклеточная концентрация цАМФ (около 1 мкМ/л) на 3 порядка ниже концентрации АТФ. Внеклеточный цАМФ у млекопитающих обладает слабой биологической активностью. Концентрация цГМФ в клетке в 4-10 раз ниже чем цАМФ.



Первоначально казалось, что у эукариотов роль цАМФ, содержание которого в клетке регулируется гормонами и другими биологически активными веществами, сводится лишь к активации протеинкиназ путем присоединения цАМФ к их регуляторной (рецепторной) субъединице (Н.А.Юдаев и др., 1975). Сходство с прокариотами обнаруживалось лишь в одном. И у бактерий, и у животных цАМФ влияет на процессы обмена веществ путем взаимодействия с обладающим к нему сродством белком: у бактерий вызывая конформационные изменения БАК в комплексе цАМФ-БАК, способствуя присоединению БАК, а затем и РНК-полимеразы к промотору; у животных - связывая регуляторную субъединицу и тем самым активируя фосфорилирующую каталитическую субъединицу протеинкиназы (рис. 17), которая, фосфорилируя гистоновые или негистоновые белки хроматина (рис. 18), вызывает дерепрессию определенных участков ДНК и стимулирует синтез строго определенных для каждого гормона фракций РНК.

Считалось, что комплекс цАМФ с регуляторной субъединицей малоактивен и остается в цитоплазме. В последующем появились данные, что возможна транслокация в ядро и самостоятельное функционирование в нем и каталитической, и регуляторной (в комплексе с цАМФ) субъединиц цАМФ-зависимых протеинкиназ. Для проверки предположения о том, что регуляторная субъединица протеинкиназы может влиять на уровень транскрипции, непосредственно взаимодействуя с матрицей по типу цАМФ-связывающего белка бактерий, было изучено изменение матричной активности хроматина под влиянием обработки регуляторной субъединицей в системе *in vitro*. Оказалось, что гомогенная регуляторная субъединица протеинкиназы из мозга свиньи при добавлении в стандартную РНК-полимеразную систему увеличивает матричную активность хроматина за счет увеличения числа мест инициации РНК. На основе экспериментов высказано предположение, что транслокация в ядро регуляторной субъединицы осуществляется независимо от каталитической и определяется специфическим взаимодействием с молекулами цАМФ (М.В.Нестерова и др., 1982).

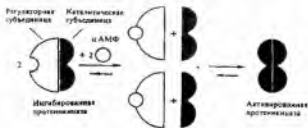


Рис. 17. Механизм активации протеинкиназы цАМФ (Gill, 1972 – из Н.А.Юдаева и др., 1975).



Рис. 18. Схема дерепрессии гена путем фосфорилирования гистонов-репрессоров: R - остаток лизина; R<sub>1</sub> - остаток серина; А, Т - азотистые основания; Д - дезоксирибоза

В соответствии с вышеизложенным можно считать вполне вероятным, что функциональный блок, регулирующий транскрипцию у прокариотов (цАМФ-БАК-промотор-РНК-полимераза), сохранился в процессе эволюции, выполняя подобную же функцию у животных и человека. Однако, вследствие усложнения структуры хроматина (наличие гистоновых и негистоновых белков, препятствующих доступу регуляторных эффекторов и РНК-полимеразы к промотору ДНК), у животных и человека универсальный функциональный блок регуляции транскрипции также усложнялся за счет каталитической субъединицы, которая соединена и функционально сопряжена с регуляторной (цАМФ-зависимой) субъединицей протеинкиназы. Инициация синтеза цАМФ (гормонами, медиаторами и другими биологически активными веществами) ведет к повышению концентрации цАМФ в клетке, присоединению цАМФ к регуляторной субъединице протеинкиназы, что приводит к отделению от нее и активации каталитической субъединицы. И каталитическая, и регуляторная субъединицы проникают в ядро, выполняя каждая свои функции. Каталитическая субъединица специфически фосфорилирует белки хроматина, деблокируя определенные участки ДНК, обеспечивая доступ к промотору комплекса цАМФ и регуляторной субъединицы, после присоединения которого к промотору иницируется присоединение к нему РНК-полимеразы и начало транскрипции.

Можно полагать, что каталитические (фосфорилирующие) субъединицы обладают специфичностью "узнавать" определенные белки хроматина, а через них и определенные участки ДНК. Комплекс же цАМФ с регуляторной субъединицей менее специфичен, активируя освободившиеся (при участии каталитической субъединицы) от белка опероны.

Появившиеся в процессе эволюции каталитические субъединицы про-

теинкиназ у животных участвуют, путем фосфорилирования белков, не только в регуляции активности генов, но и в регуляции активности ферментов (например, активация в клетках печени фосфорилазы и ингибирование гликогенсинтетазы), проницаемости мембранных каналов, функционирования рибосом, эндоплазматического ретикулума и др.

Ответ клетки на тот или иной гормон или другие биологически активные вещества, действующие через цАМФ-зависимые протеинкиназы, обусловлен набором в клетке тех или иных обладающих специфичностью действия протеинкиназ.

Стимуляторами АЦ-системы являются глюкагон, адреналин (через  $\beta$ -адренорецепторы), секретин, паратгормон, кальцитонин, тиролиберин, гонадолиберин, вазопрессин (антидиуретический эффект), тиротропин, лютропин, фоллитропин, кортикотропин, соматотропин (липолитический эффект), некоторые цитокины и др., ингибиторами — соматостатин, опиоиды, некоторые простагландины, гистамин, ацетилхолин (через М-холинорецепторы), норадреналин (через  $\alpha$ -адренорецепторы).

Одно время полагали, что цГМФ обладает функционально противоположным по сравнению с цАМФ действием. К настоящему времени получены данные о том, что цГМФ играет специфическую роль в действии информонов (Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин, 1998). В частности, мембраносвязанную гуанилатциклазу активирует предсердный натрийуретический пептид, в несколько десятков раз повышая концентрацию цГМФ, способствуя тем самым экскреции  $\text{Na}^+$  и воды в почках. Растворимую гуанилатциклазу активируют продукты перекисного окисления липидов, эндотелиальный фактор, оксид азота (NO), нитроглицерин и другие нитровазодилататоры, повышающие концентрацию цГМФ и, соответственно, активирующих цГМФ-зависимые протеинкиназы, фосфорилирующие ряд белков гладких мышц, в результате чего происходит расслабление гладких мышц и расширение сосудов.

Как указано выше в молекуле растворимой гуанилатциклазы имеется гем. Важную роль гема для проявления активности ГЦ показал Монкадо, который в 1987 году открыл, что образующийся эндогенно  $\text{NO}^*$  взаимодействует с гемом гуанилатциклазы и образует комплекс нитрозил-гем, превращая фермент в активную форму. Оказалось, что нитрозил-гемовые комплексы могут образовываться и с другими гемопротеидами: гемоглобином, миоглобином, каталазой. Гуанилатциклаза характеризуется более высоким сродством к комплексу, что определяет возможность его переноса с других гемсодержащих белков, но не наоборот (И.С. Северина, 1994).

Экспериментально показано, что тиолы способствуют активации ГЦ NO-соединениями. Отличительной особенностью растворимой ГЦ является ее способность активироваться свободными радикалами (единственный фермент), а антиоксиданты (например, карнозин) снижают степень активации его нитросоединениями, не влияя на базальную активность фермента. Связь гема с белковой молекулой лабильна и фермент в норме может быть частично гем-дефицитен. Чем больше гем-дефицитность, тем меньше стимулирующий эффект  $\text{NO}^*$

Как большинство вторичных посредников цГМФ является модификатором ферментативных реакций. Основной его эффект – ингибирование фосфолипаз классов А и С. Ингибирование фосфолипаз приводит к блокированию процессов отщепления арахидоновой кислоты и образования таких вторичных посредников как ДАГ и ИГФ. Другими словами цГМФ предотвращает распад фосфолипидов и ингибирует активацию процессов через общий механизм торможения мобилизации кальция. Таким образом, образование цГМФ при активации растворимой ГЦ является процессом обратимой регуляции блокирующей активности мембранных фосфолипаз.

### 3.2.2. Информоны, оказывающие биологический эффект через ассоциированную с рецепторами тирозинкиназную активность

Тирозинкиназная акцепторная система, избирательно фосфорилирующая белки-мишени только по тирозину, внедрена в состав самой рецепторной молекулы. Тирозинкиназный путь передачи информонального сигнала характерен для инсулина, соматотропина, соматомединов (ИРФ-1, ИРФ-2), пролактина, эпидермального фактора роста, фактора роста тромбоцитов, эритропоэтина, интерлейкинов (Розен В.Б., 1994).

Рецепторы, обладающие тирозинкиназной активностью, могут быть мономерными (рецепторы всех факторов роста, кроме ИРФ-1) и гетеродимерными (рецепторы инсулина, ИРФ-1) молекулами.

Мономерные рецепторы являются гликопротеинами (1190-1400 аминокислотных остатков), имеющими на наружной поверхности цитоплазматической мембраны N-концевой информончувствительный домен (примерно 625 аминокислотных остатков), трансмембранную часть (22-23 аминокислотных остатка) и внутриклеточный C-концевой домен с тирозинкиназной активностью.

Гетеродимерные рецепторы состоят из двух  $\alpha$ -субъединиц и двух  $\beta$ -субъединиц.  $\alpha$ -Субъединицы соединены между собой двумя –S-S-связями и на наружной поверхности плазматической мембраны формируют один информонсвязывающий центр, а в каждой из двух трансмембранных  $\beta$ -субъединицах сосредоточена тирозинкиназная активность.

Связывание соответствующего информона с моно- или гетеродимерным мембранным рецептором вызывает его конформационные изменения, сопряженные с активацией тирозинкиназы и последующим аутофосфорилированием остатков тирозина в  $\beta$ - субъединицах данного рецептора. Аутофосфорилирование рецептора, связанное с активацией тирозинкиназы, может иметь регуляторное значение, повышая и снижая присущую рецептору тирозинкиназную активность. Активный тирозинкиназный домен затем участвует в перекрестном фосфорилировании соседних рецепторов, что ведет к усилению первоначального сигнала и активации различных внутриклеточных белков, в том числе мембранных и цитозольных серин- или треонинкиназ. Тем

самым активная  $\beta$ - тирозинкиназная субъединица запускает каскад фосфорилирования–дефосфорилирования внутриклеточных сериновых и треониновых протеинкиназ и белков-мишеней, ведущий к активации и ингибированию ферментов, транспорта глюкозы, синтеза нуклеиновых кислот и белков и т.д.

Обладающие тирозинкиназной активностью рецепторы соматотропина выявлены в печени, жировой ткани, семенниках, желтом теле, скелетных мышцах, хрящевой ткани, мозге, сердце, почках, легких, поджелудочной железе, кишечнике, тимоцитах, лимфоцитах. Проявление действия соматотропина возможно путем стимуляции синтеза (главным образом в гепатоцитах печени) олигопептидов-соматомединов (инсулинподобных факторов роста ИФР-1 и ИФР-2) и путем непосредственного действия на клетки-мишени, имеющие рецепторы к соматотропину.

Рецептор к соматотропину относится к группе одноцепочечных рецепторов, имеющих семь трансмембранных фрагментов, но для проявления полной биологической активности требуется димеризация двух соседних рецепторов (М.И. Балаболкин, 1998). При этом внеклеточные домены двух рецепторных молекул комплексируются с одной молекулой соматотропина. В образовании гормонрецепторного комплекса с соматотропином крупного рогатого скота участвуют 18 аминокислотных остатков рецептора, а в рецепторе к гормону человека комплексообразование осуществляется 29 аминокислотными остатками.

Рецептор соматотропина на внутренней поверхности мембраны ассоциирован с тирозинкиназой, которая активируется при образовании гормонрецепторного комплекса, с последующим фосфорилированием белков цитоплазмы (в том числе митогенактивируемой протеинкиназы.) Кроме того, в настоящее время показана возможность интернализации (внедрения внутрь клетки) соматотропина и других полипептидных информонов, действующих через рецепторы с тирозинкиназной активностью (инсулина, пролактина, эпидермального фактора роста, фактора роста нервов, некоторых интерферонов); для них выявлено существование внутриклеточных, в том числе внутриядерных, рецепторов, взаимодействии с которыми может обусловить влияние информонов на активность генов и, как следствие, на биосинтетические процессы в клетке.

Есть предположение, что интернализированные информоны могут инициировать некоторые, особенно поздние, эффекты информонов внутри клетки (В.Б. Розен, 1994). Например, инсулин с поверхности клетки может вызвать немедленное фосфорилирование мембранных белков и тем самым значительное увеличение проницаемости мембран к глюкозе и аминокислотам, а его интернализация обуславливает такие более медленные эффекты, как ростовые и индуцирование синтеза гексокиназы.

Протекающие при интернализации процессы инвагинации участка мембраны, образования пиноцитотического пузырька (эндосомы) с информонрецепторным комплексом (в виде макрокластеров–агрегатов из 11-100 мономерных единиц информона, связанных и не связанных с рецептором),

его отщепления от мембраны, поступления внутрь клетки (деградации информона и рецепторов в фаголизосомах) и частичного возвращения (встраивания) рецепторов в мембрану, энергозависимы, т.е. требуют наличия АТФ. АТФ-азной активностью обладает периферический белок цитоплазматической мембраны – кластрин, выстилающий внутреннюю поверхность эндосомы в процессе ее формирования. В отношении инсулинрецепторного комплекса известно, что обычно содержащий его эндоцитотический пузырек в комплексе Гольджи соединяется с лизосомами, образуя фаголизому, где рецептор отщепляется от деградирующего комплекса и, по крайней мере часть его, возвращается на мембрану клетки. Существует состояние динамического равновесия между скоростью интернализации инсулинрецепторных комплексов, повторным включением рецепторов в структуру мембраны, а также скоростью их синтеза.

### 3.2.3. Действие информонов, опосредованное фосфоинозитидами и кальцием

В клетках млекопитающих обнаружен тип передачи регуляторного сигнала, в котором роль второго посредника выполняют продукты метаболизма фосфоинозитидов, которые совместно с ионами  $Ca^{2+}$  принимают участие в регуляции многих внутриклеточных процессов.

Фосфоинозитидный путь реализации регуляторного сигнала характерен для окситоцина, вазопрессина (вазопрессорный и гликолитический эффекты), ангиотензина II, холецистокинина, тиротропина, гонадолиберина. Он же является одним из путей действия соматотропина, инсулина, эпидермального (ЭФР) и тромбоцитарного (ТРФ) факторов роста, ацетилхолина, норадреналина (через  $\alpha_1$ -адренорецепторы) и др.

Мембранные рецепторы, сопряженные с фосфоинозитидным путем, не обладают собственной активностью ферментов или ионных каналов. Связывание информона с мембранным рецептором, находящимся в комплексе с ГТФ-связывающим белком ( $G_i$ -белком) может активировать фермент фосфолипазу С (ФЛС), входящую в систему вторых посредников, образующихся из минорных фосфолипидов мембран.  $G_i$ -белок, являющийся ингибитором для аденилатциклазы, для фосфолипазы С является стимулятором. Активированная ФЛС катализирует гидролиз фосфатидил-инозитол-бифосфата до инозитол-1,4,5-трифосфата (ИТФ) и диацилглицерола (В. А. Ткачук, 1998)

$\Phi_3I$  усиливает мобилизацию ионов кальция из внутриклеточных депо, главным образом из эндоплазматического ретикулума (ЭПР), в цитоплазму.  $Ca^{2+}$ , который мобилизован из запасов, чувствительных к  $\Phi_3I$ , по видимому, может сам стимулировать свое дальнейшее высвобождение из других (нечувствительных к  $\Phi_3I$ ) внутриклеточных запасов, в результате чего в цитоплазме быстро распространяются ионы  $Ca^{2+}$  –еще одного внутриклеточного посредника.

Ионы  $Ca^{2+}$  и диацилглицерола активируют кальцийзависимую протеинкиназу (ПКС), которая путем фосфорилирования некоторых белков (как в

цитоплазме, так и в ядре) стимулирует пролиферацию клеток, усиливает работу кальциевого насоса клеточной мембраны, что является частью механизма восстановления исходного уровня ионов кальция в цитоплазме.

Выполнив роль сигнальной молекулы, ДАГ подвергается превращению внутри клеток. Под действием специфической киназы он фосфорилируется до фосфатидной кислоты или дефосфорилируется специфической фосфатазой до моноацилглицерола, и затем гидролизуется липазой до глицерола и арахидоновой кислоты, являющейся также вторичным посредником. ДАГ является также субстратом для фосфолипазы  $A_2$ , с помощью которой тоже расщепляется с освобождением арахидоновой кислоты. Кроме ПКС<sup>2</sup> ДАГ способен активировать цГМФ –зависимую киназу.

ИТФ более гидрофильное соединение, легко мигрирует в цитоплазму и приходит в систему ЭПР, где депонируется внутриклеточный кальций. После поступления ИТФ в ЭПР происходит выброс кальция из ЭПР, что способствует быстрой реализации  $Ca^{2+}$ -зависимых процессов. Так как многие ферменты активируются в присутствии кальция, например, все виды протеинкиназ, фосфолипазы, фосфорилазы, выход кальция запускает серию многоступенчатого клеточного ответа. ИТФ, также как и ДАГ, быстро дефосфорилируется фосфомоноэстеразой, ведь сигнал не должен зависеть в клетке. Возвращение  $Ca^{2+}$  в ЭПР осуществляется  $Ca^{2+}$ -АТФ-зой с затратой энергии АТФ, как и выведение его из клетки после поступления через внешние кальциевые каналы.

### 3.2.4. Кальций – основной регуляторный катион клеток

Помимо усиления действия ДАГ при активации ПКС ионам  $Ca^{2+}$  принадлежит центральная роль в регуляции многих других клеточных функций.

Система мобилизации кальция тесно связана через определенные регуляторные звенья гуанилатциклазной системой и таким вторичным посредником как окись азота.

Вход кальция в клетки осуществляется либо в результате активации специфических кальциевых каналов, либо в обмен на ионы  $Na^+$ .

Различают  $Ca^{2+}$ -каналы, регулируемые мембранным потенциалом, и каналы, открываемые при связывании некоторых первичных сигнальных молекул с рецепторами, например, с рецепторами никотиновой кислоты. Особо важную роль потенциалзависимые каналы играют в клетках сердца и нервных клетках. Кальциевые каналы делят на 2 типа по отношению к блокирующим каналам дигидропиридинам (антагонисты кальция): L-каналы – чувствительные к дигидропиридинам и Т-нечувствительные к дигидропиридинам.

L-тип кальциевых каналов некоторых возбудимых клеток подвержен эффективной регуляции  $\beta$ -адреноэргическими агентами. Под их действием увеличивается поступление кальция в клетку. При этом  $\beta$ -агонисты увеличивают не ток  $Ca^{2+}$  через канал, а вероятность нахождения его в открытом состоянии. Этим объясняется, в частности, увеличение силы сердечных сокращений при поступлении в кровь катехоламинов.

Между вне- и внутриклеточной концентрацией свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в норме существует огромный (5000-10000 кратный) концентрационный градиент: во внеклеточной жидкости – 5мМ/л, в цитоплазме – 0,1-10мкМ/л, связанного с внутриклеточными органеллами (митохондриями и ЭПР) – 1-20мкМ/л. Однако вход внеклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетки резко ограничен. Процесс поступления в клетки внеклеточного кальция регулируется как количеством  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, так и стимулированием (или ингибированием)  $\text{Ca}^{2+}$ -насосов и транспортеров различными информонами, поддерживающими градиент концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  между цитоплазмой и внеклеточной жидкостью.

Существует несколько путей проведения регуляторного сигнала от информона через посредство ионов  $\text{Ca}^{2+}$ :

- 1) регуляция активности кальцийзависимых протеинкиназ (ПКС);
- 2) связывание белков: тропонина – в мышечных клетках, кальбиндина – в кишечнике, кальмодулина – в клетках большинства тканей;
- 3) активация фосфолипазы  $\text{A}_2$  ( $\text{ФЛА}_2$ ) и через нее – стимулирование метаболизма арахидоновой кислоты, с последующей активацией цГМФ – зависимой протеинкиназы (ПКГ), а также образование из арахидоновой кислоты простагландинов (ПГ), лейкотриенов (ЛТ), тромбксанов (ТК).

Большинство эффектов ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке обусловлено его взаимодействием с  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающим белком – кальмодулином (СаМ) – почти универсальным посредником (полифункциональным) эффектов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Кальмодулин (молекулярная масса 18000 Да, состоит из одной полипептидной цепи) почти у всех животных имеет одну и ту же аминокислотную последовательность, т.е. эволюционно это один из наиболее древних и в высшей степени консервативных животных белков (Ленинждер А, 1985). По структуре и функции СаМ гомологичен мышечному белку тропонину, является кальцийзависимым регуляторным белком, содержит 4 участка связывания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  по 2 центра связывания в каждом из двух «шаров гантели» (Н.Б. Гусев, 1998), т.е. спирализованных наиболее компактных N- и C-концевых последовательностей. Каждый центр связывания представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающую петлю (из примерно 12 аминокислотных остатков), внутри которой ион  $\text{Ca}^{2+}$  удерживается 6-8 кислородсодержащими лигандами (СООН-группой аспартата или глутамата, ОН-группой серина или треонина, аспарагином или глутамином –СО-NH<sub>2</sub> группой, карбонильным атомом кислорода пептидной связи –СО-NH-) – их боковые группы (аминокислоты или карбонильный атом кислорода) повернуты внутрь петли и непосредственно участвуют в связывании иона  $\text{Ca}^{2+}$  (Н.Б. Гусев, 1998).

Присоединение  $\text{Ca}^{2+}$  индуцирует изменение структуры СаМ, периприориентацию (переупаковку) петель и спиралей в его структуре.

СаМ способен регулировать более 30 различных процессов в клетке, модулируя активность других белков, в частности аденилатциклазы, гуанилатциклазы, NO-синтазы, участвующих в синтезе циклических нуклеотидов



и тем самым как бы связывая 2 универсальные регуляторные системы клетки (зависимую от циклических нуклеотидов и управляемую ионами кальция).

СаМ является регуляторной субъединицей СаМ-зависимых протеинкиназ (СаМ-ПК), киназы фосфоорилазы b, NO-синтазы, участвует в регуляции  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  АТФазы,  $\text{Ca}^{2+}/$  фосфолипид-зависимых протеинкиназ, фосфодиастераз циклических нуклеотидов (дефосфорилирование их), гликогенсинтетазы, миозинкиназы, ФЛА<sub>2</sub>, пироватдегидрогеназы, транспорта ионов, функционирования многих структурных элементов в клетке (микрофиламентов), влияя на клеточную подвижность, изменение формы клеток, высвобождение гранул, эндоцитоз, митоз и др.

Установлено, что выделение кальция из самых различных клеток во внешнюю среду зависит от присутствия во внеклеточном пространстве ионов натрия. Многими исследователями доказано, что существует система, обеспечивающая сопряженный разнонаправленный трансмембранный перенос ионов кальция и натрия.

Движущей силой переноса кальция является не только градиент натриевых ионов, но и трансмембранный потенциал, поскольку Na/Ca обмен имеет электрогенную природу:  $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ . Na/Ca обмен может обеспечивать как вход кальция в клетку, так и его выброс в межклеточное пространство в зависимости от потенциала на мембране и соотношения градиента  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ . Два разнонаправленных потока не всегда бывают симметричны, обмен значительно активизируется при присутствии АТФ с внутренней стороны мембраны. Процесс может быть подвержен тонкой регуляции, опосредованной протеинкиназными реакциями фосфорилирования и дефосфорилирования либо самого переносчика, либо соседнего с ним минорного белка.

Система Na/Ca обмена, по-видимому, вносит значительный вклад в регуляцию уровня внутриклеточного кальция. Согласно предположениям, на систему натрий/кальциевого обмена падает основная нагрузка в начальный момент после возбуждения клетки, когда велика концентрация свободного цитоплазматического кальция. При снижении уровня кальция в цитоплазме до 1 мкМ/л, удаление этого катиона из клетки обеспечивается за счет менее активной, но высокоаффинной  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы плазмолеммы.

Кальций является универсальным регулирующим звеном в клетке. Кроме ферментативной активности он участвует в регуляции активности других каналов, например, калиевых. Специфические  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемые  $\text{K}^+$ -каналы выявлены в самых различных клетках. Физиологическая роль этих пока не установлена. Предполагают, что они могут участвовать в передаче некоторых гуморальных сигналов. Существуют данные о том, что в регуляции активности  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых  $\text{K}^+$ -каналов принимает участие кальмодулин.

### 3.2.5. Рецепторы, обладающие свойствами ионных каналов

Некоторые мембранные рецепторные молекулы, обладая свойствами ионных каналов, одновременно являются и регуляторами активности этих

образуемых ими каналов. Модуляторами таких рецепторов могут быть как специфические информоны (ацетилхолин, глутамат, серотонин и др.), так и метаболиты (АТФ, ионы натрия, калия, кальция и др.).

Наиболее изучен N-холинорецептор (В.Б.Розен, 1994), являющийся гетеропентамером, состоящим из двух  $\alpha$ -субъединиц и по одной  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -субъединицы. Гликопротеиновые субъединицы  $\alpha$ , входя в состав ионного канала и участвуя в его функционировании, обуславливают специфическое связывание ацетилхолина, его синергистов и конкурентных антагонистов.

Ацетилхолин, как и другие медиаторы (нейротрансмиттеры), образуется в пресинаптическом нейроне холинергических нервов из ацетил-КоА и холина, при участии холинацетилтрансферазы, и накапливается в синаптических пузырьках. Каждый пузырек содержит в среднем 40 тысяч (от 10 до 100 тысяч) молекул ацетилхолина. Выделение ацетилхолина в синаптическое пространство из пресинаптического нейрона происходит при появлении в нем потенциала действия. Потенциал действия первично возникает при раздражении кожных рецепторов, проприорецепторов мышц, интерорецепторов внутренних органов, зрительных, слуховых, обонятельных, вкусовых и других анализаторов и распространяется с большой скоростью (120 – 130 м/с) посредством электрического потенциала. (Подробности первичного возникновения и протекания электрического тока через нейрон мы не рассматриваем).

При поступлении потенциала действия в нервное окончание пресинаптического нейрона, происходит деполяризация его мембраны, что вызывает быстрый ток ионов кальция в клетку. Ионы кальция стимулируют слияние мембраны синаптического пузырька с цитоплазматической мембраной и выброс ацетилхолина (путем экзоцитоза) в синаптическое пространство. Медиатор при этом высвобождается "квантами" (полным опорожнением каждого пузырька) – в норме по 100 – 300 квантов ацетилхолина при одном сильном импульсе. Такое количество ацетилхолина в синаптической щели обеспечивает его связывание с большим числом рецепторов на постсинаптической мембране.

Образуемые комплексы молекул ацетилхолина с рецепторами вызывают конформационные перестройки трансмембранных доменов  $\alpha$ -субъединиц, а затем и других субъединиц ацетилхолиновых рецепторов, обуславливая формирование и открывание каналов входа ионов натрия в клетку до концентрации, достаточной для возникновения на постсинаптической мембране потенциала действия. При этом на наружной поверхности мембраны возникает отрицательный заряд, а на внутренней – положительный (т.е. происходит перезарядка мембраны). Затем импульсы, поступившие на постсинаптический дендрит (если это межнейрональный синапс) передаются вдоль аксона следующему нейрону или же (в случае нервно-мышечного синапса) передаются по сарколемме, вызывая соответствующие эффекты, после чего ацетилхолин быстро инактивируется (путем гидролиза при участии ацетилхолинэстеразы).

Возникающий потенциал действия (спайк) продолжается не более 1 мс, после чего мембрана возвращается к состоянию покоя, при котором внутренняя сторона клеточной мембраны вновь заряжается отрицательно, а наружная положительно.

Восстановление потенциала покоя является энергозависимым процессом, осуществляемым преимущественно действием  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса).  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза представляет собой олигомерный трансмембранный белок, состоящий из двух  $\alpha$ - и двух  $\beta$ -субъединиц, участвующих в формировании канала для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . Каждая  $\alpha$ -субъединица (молекулярная масса 95 кДа) пронизывает мембрану насквозь и имеет участок связывания ионов  $\text{Na}^+$  и участок связывания АТФ (обладающий АТФ-азной активностью), обращенные внутрь клетки (т.е. на внутренней стороне мембраны), а также участок связывания стероидных ингибиторов (уабаина – строфантина, дигитоксигенина и др.), расположенный на наружной стороне мембраны. Углеводсодержащие  $\beta$ -цепи (молекулярная масса 40 кДа) находятся на наружной стороне мембраны.

Между двумя  $\alpha$ - и между  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицами легко образуются поперечные мостики;  $\beta$ -субъединицы пространственно разделены и не взаимодействуют друг с другом.

Активация  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса происходит за счет внутриклеточного АТФ (в присутствии ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ) путем фосфорилирования карбоксильной группы боковой цепи аспартата внутриклеточного участка  $\alpha$ -цепи АТФ-азы.  $\text{Na}^+$ -зависимое фосфорилирование сопровождается присоединением к центрам связывания трех ионов  $\text{Na}^+$  из цитозоля и конформационными изменениями в структуре белка, что ведет к открытию канала на наружной стороне мембраны и выведению через него ионов  $\text{Na}^+$  из клетки. После выведения ионов  $\text{Na}^+$ , два иона  $\text{K}^+$  из внеклеточного пространства присоединяются к ионсвязывающим центрам фосфорилированной АТФ-азы, стимулируя ее  $\text{K}^+$ -зависимое дефосфорилирование, т.е. удаление фосфатной группы путем гидролиза. Дефосфорилирование белка вызывает вновь конформационный переход, восстанавливающий исходную конформацию, открытие канала и вход ионов  $\text{K}^+$  внутрь клетки.

При гидролизе одной молекулы АТФ происходит перенос трех ионов натрия (наружу) и двух ионов калия (внутри клетки). Для активации АТФ-азы и переноса через мембрану ионы натрия должны быть внутри, а ионы калия снаружи. В качестве эффективного субстрата для работы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса используется только АТФ, находящийся внутри клетки.

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насос, отвечающий за перенос ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через клеточную мембрану против градиента концентрации, является одной из наиболее важных и широко распространенных активных транспортных систем в клетках животных. Эта система, соединяющая в себе каталитическую (АТФ-азную) активность и транспортную функцию, обеспечивает поддержание ионного состава внутриклеточной среды, в которой концентрация ионов  $\text{K}^+$  высока, а

$\text{Na}^+$  - низка. Работа  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса требует затраты значительного количества энергии - свыше 25% общего количества используемой организмом энергии.

В мембранах многих клеток имеется  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аза, являющаяся димером. Одна из субъединиц (молекулярная масса 100 кДа) пронизывает мембрану и содержит участок фосфорилирования специфическую боковую цепь, представленную остатками аспартата (как и в  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азе); вторая субъединица (молекулярная масса 55 кДа), связанная с первой, представляет собой гликопротеин.

$\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аза переносит ионы  $\text{Ca}^{2+}$  через мембраны против градиента концентрации за счет энергии АТФ; она, также как и  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза, подвергается конформационным изменениям в ходе гидролиза АТФ. Циклы конформационных изменений, обусловленных фосфорилированием и дефосфорилированием белка, обеспечивают перенос двух ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на одну гидролизуемую молекулу АТФ и поддерживают значительную разницу в концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  по обе стороны мембраны (например, в плазме крови 3 мМ/л, а в эритроцитах меньше 0,01 мМ/л).

В саркоплазматическом ретикулуме (СПР)  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аза составляет больше половины всех белков мембраны. Благодаря очень высокому сродству  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы к ионам  $\text{Ca}^{2+}$ , она эффективно переносит ионы  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля (где концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  меньше  $10^{-5}$  М) в саркоплазматический ретикулум (где концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  примерно равна  $10^{-4}$  М). Насыщение и накопление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в СПР происходит в состоянии покоя, что обеспечивает в этот период очень низкую концентрацию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  вокруг миофибрилл.

Нервный импульс, достигший области нервно-мышечного синапса, вызывает (с участием медиатора) деполяризацию постсинаптической мембраны (т.е. наружной мембраны мышечного волокна), распространяющуюся внутрь мышечного волокна по Т-трубочкам. Возникающее при этом, под влиянием нервного импульса, возбуждение мембраны СПР ведет к мгновенному высвобождению больших количеств  $\text{Ca}^{2+}$  и к запуску мышечного сокращения.

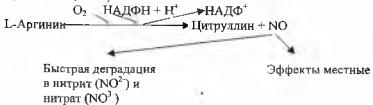
Во многих животных клетках имеет место вторично-активный транспорт, при котором градиент одного вещества используется для транспорта другого. В частности, поток ионов  $\text{Na}^+$  обеспечивает энергией транспорт глюкозы и аминокислот. При этом ионы  $\text{Na}^+$  и глюкоза (или аминокислота) связываются со специфическим транспортным белком и проникают в клетку одновременно. Ионы  $\text{Na}^+$ , которые входят в клетку вместе с глюкозой, выводятся из клетки  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азой. Именно от  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы и создаваемого в ходе ее работы трансмембранного градиента концентрации ионов  $\text{Na}^+$  зависят количество и скорость транспорта глюкозы и аминокислот.

### 3.2.6. Регуляторные функции окиси азота (NO)

Оксид азота, выступающий в роли одного из химических посредников, синтезируется из L-аргинина при участии семейства NO-синтаз (КФ 1.14.13.39), не требующих АТФ для своего функционирования.

NO-синтазы могут быть как конститутивными (исходно присутствующими в клетке), так и индуцибельными (образующимися под влиянием определенных стимулов).

В составе NO-синтаз выявлен гем. Гемовая часть NO-синтаз осуществляет окисление L-аргинина в цитруллин и образование при этом оксида азота, который быстро инактивируется, преобразуясь в нитрит и нитрат (Дж. Ф. Лейкок, П.Г. Вайс, 2000).



NO-газ, легко проникающий через клеточные мембраны и компоненты межклеточного вещества. Время его полужизни в среднем не более 5 секунд, расстояние возможной диффузии - 30мкм.

Конститутивные NO-синтазы, к которым относятся нейрональная и эндотелиальная формы синтаз, постоянно продуцируют умеренные («физиологические») количества оксида азота, вызывающего релаксацию (расслабление) кровеносных сосудов, угнетение агрегации тромбоцитов, участвующего в системах, мобилизующих внутриклеточный кальций, в межнейронных взаимосвязях, в изменении секреции гормонов гипоталамуса. В небольших количествах NO активирует растворимую форму гуанилатциклазы, тем самым повышая синтез цГМФ, активизирующего протенинкиназы (ПКК), фосфолипазы, регулирующей работу ионных каналов.

Индукцибельные NO-синтазы проявляют свою активность через некоторое время после внешнего воздействия на клетку (6-8 часов), необходимое для активации генов и начала синтеза данного фермента (Л.Р. Одыванова и др., 1997; А.А. Сосунов, 2000).

Индукцибельной является макрофагальная форма NO-синтаз, присутствующая в нейтрофилах и макрофагах. Макрофаги, стимулированные цитокинами лимфоцитов (при их контакте с чужеродными антигенами) или бактериальными липополисахаридами, способны синтезировать индуцибельную NO-синтазу (в нестимулированных клетках ее нет) в 100-1000 раз большем количестве, чем конститутивные и, соответственно, значительно большее количество NO, оказывающего цитостатическое и цитолитическое действие на бактериальные и раковые клетки.

Токсический эффект на клетки больших концентраций NO (синтезируемого индуцибельными NO-синтазами) обусловлен его прямым действием на железосодержащие ферменты или путем образования сильного окислитель-

ля – очень реакционного и токсичного пероксинитрита ( $\text{ONOO}$ ), способного повреждать ДНК.

Активность конститутивных NO-синтаз зависит от внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулина, а индуцибельных – не зависит от уровня  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулина, поскольку, как полагают,  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулин постоянно и прочно связан с ферментом.

### 3.3. Роль эйкозаноидов в регуляции внутриклеточных процессов

Эйкозаноиды (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены) выполняют функции местных информонов, т.е. участвуют преимущественно в паракринной регуляции. Они являются производными 20 углеродных (эйкозано-вых) полиненасыщенных жирных кислот, главным образом арахидоновой ( $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH} - \text{C}_{20} : 4$ ).

Из эйкозаноидов первыми были открыты простагландины, получившие название от предстательной железы (лат. *prostatata*), в плазме семенной жидкости которой (в экстракте простаты барана и в сперме человека) У.Эйлером были обнаружены вещества, стимулировавшие мышечную деятельность, в частности сокращение гладкой мускулатуры матки. В последующем простагландины выявлены в клетках всех органов и тканей, за исключением эритроцитов. Однако в наибольшем количестве простагландины обнаружены в органах и тканях репродуктивной системы и в легких.

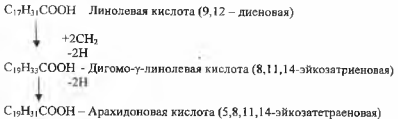
Главный предшественник простагландинов и других эйкозаноидов – арахидоновая кислота в свободном виде (неэстерифицированная) в клетках и межклеточном пространстве содержится в малом количестве. Ее источниками в организме являются продукты питания (арахисовое масло, молочный жир, фосфолипиды животных тканей) и синтез из других полиненасыщенных жирных кислот, содержащих обычно 18 углеродных атомов и две двойные связи, в частности из линолевой ( $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH} - \text{C}_{18} : 2$ ) – путем увеличения количества атомов углерода и двойных связей.

Линолевая кислота встречается в растительных жирах (подсолнечном, хлопчатниковом, соевом, арахисовом и др.); линоленовая – в льняном масле, часто и в других жирах вместе с линолевой; эйкозанопентаеновые – в рыбьем жире; арахидоновая – в арахисовом масле, в молочном жире, фосфолипидах животных.

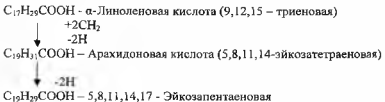
Арахидоновая, линолевая и другие полиненасыщенные жирные кислоты входят в состав фосфолипидов мембран, преимущественно глицеридов. В половых железах и в надпочечниках значительная часть арахидоновой кислоты образует эфиры с холестерином. Освобождение арахидоновой кислоты из фосфолипидов и ее эфиров с холестерином является лимитирующим этапом синтеза простагландинов.

Из фосфолипидов мембран арахидоновая и другие полиненасыщенные кислоты могут освобождаться при участии специфических фосфолипаз ( $A_2$  или C). Арахидоновая кислота помимо метаболизма по пути  $\beta$  окисления (свойственного всем жирным кислотам), может подвергаться превращениям

еще по двум ферментативным путям. Первый из них – циклооксигеназный ведет к образованию простаноидов (простагландинов – ПГ<sub>2</sub>, простацклинов – ПГ<sub>2</sub>, тромбоксанов - Т<sub>x</sub>), второй - липоксигеназный – к образованию лейкотриенов (ЛТА<sub>4</sub>, ЛТВ<sub>4</sub>, ЛТС<sub>4</sub>, ЛТД<sub>4</sub>), у которых из четырех двойных связей три являются конъюгированными.



Возможно образование арахидоновой кислоты из  $\alpha$ -линоленовой и превращение арахидоновой в эйкозапентаеновую.



Первые стадии синтеза по первому пути катализируются циклооксигеназой (простагландинсинтазой – КФ 1.14.99.1), и сопровождаются включением в структуру арахидоновой кислоты двух молекул кислорода, а также циклизацией участка в центре углеродной цепи молекулы арахидоновой кислоты, с образованием циклопентанового кольца. В результате образуются промежуточные продукты – простагландинэндоперекиси G<sub>2</sub> и H<sub>2</sub> (ПГG<sub>2</sub> и ПГH<sub>2</sub>), которые при участии простагландинизомераз превращаются в первичные простагландины ПГE<sub>2</sub> (растворимые в эфире) и ПГF<sub>2</sub> (растворимые в фосфатном буфере), а также в простацклин (ПГ<sub>2</sub>) и тромбоксан (Т<sub>x</sub>A<sub>2</sub>). К первичным простагландинам относят семейства IIE (ПHE<sub>1</sub>, ПHE<sub>2</sub>, ПHE<sub>3</sub>) и IIF (ПFI<sub>1</sub>, ПFI<sub>2</sub>, ПFI<sub>3</sub>). Простагландины других семейств (A, B, C, D, H, I) представляют собой продукты энзиматического превращения первичных и различаются друг от друга функциональными группами в циклопентановом кольце.

Второй – липоксигеназный путь (при участии 5-липоксигеназы) ведет к образованию из арахидоновой кислоты лейкотриенов, не содержащих циклической структуры, т.е. имеющих полностью открытую цепь с четырьмя

двойными связями (ЛТГ<sub>4</sub>, ЛТВ<sub>4</sub>, ЛТС<sub>4</sub>, ЛТД<sub>4</sub>, ЛТЕ<sub>4</sub>). Некоторые из лейкотриенов образуются в комплексе с глутамином (ЛТС<sub>4</sub>), при отщеплении от которого глутамата образуется ЛТД<sub>4</sub>, а при последующем отщеплении глицина – ЛТЕ<sub>4</sub>.

Особенности структуры простагландинов:

-наличие циклопентанового ядра и двух боковых углеводородных цепей (R<sub>1</sub>-от C<sub>8</sub> до C<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>-от C<sub>12</sub> до C<sub>20</sub>);

-все простагландины содержат гидроксильную группу у C<sub>15</sub> и двойную связь между C<sub>13</sub> и C<sub>14</sub>;

-различная степень ненасыщенности внутри семейств простагландинов (за пределами циклопентанового кольца), которую обозначают цифрами, стоящими за буквами: ПГЕ<sub>1</sub> – одна двойная связь между C<sub>13</sub> и C<sub>14</sub>, ПГЕ<sub>2</sub> – дополнительная двойная связь между C<sub>5</sub> и C<sub>6</sub>, ПГЕ<sub>3</sub> имеет 3 двойные связи (между C<sub>13</sub> и C<sub>14</sub>, C<sub>5</sub> и C<sub>6</sub>, а также дополнительную между C<sub>17</sub> и C<sub>18</sub>).

-у ПГФ<sub>2</sub>, имеющего такие же 2 двойные связи, как у ПГЕ<sub>2</sub> (между C<sub>13</sub> и C<sub>14</sub> и между C<sub>5</sub> и C<sub>6</sub>), различают 2 изомера по расположению гидроксила у C<sub>9</sub> (ПГФ<sub>2α</sub> – активный, ПГФ<sub>2β</sub> – неактивный).

Наиболее изучены производные арахидоновой кислоты ПГЕ<sub>2</sub> и ПГФ<sub>2α</sub>, а также ПГI<sub>2</sub> (простаглицлин), имеющий дополнительную связь между атомом кислорода у C<sub>9</sub> и C<sub>6</sub> – атомом боковой R<sub>1</sub>-цепи, и ТхА<sub>2</sub>, содержащей 6 – членный гетероцикл.

Различные ткани синтезируют только определенные простагоиды: ТхА<sub>2</sub> – в тромбоцитах (обладает мощным агрегирующим, усиливающим тромбообразование и сосудосуживающим действием; ПI<sub>2</sub> – в артериальной стенке, в желтом теле, фолликулах, матке (является антагонистом ТхА<sub>2</sub>); ПГЕ<sub>2</sub> и ПГФ<sub>2α</sub> продуцируются практически всеми тканями.

ПГЕ<sub>2</sub> и ПI<sub>2</sub> могут быть как в антагонистических, так и в агонистических отношениях. В частности, ПI<sub>2</sub> – индуцирует аллергические реакции, ПГЕ<sub>2</sub> – подавляет их, ПГЕ<sub>2</sub> расслабляет мускулатуру маточных труб, а ПГФ<sub>2α</sub> – усиливает их сокращение. Сокращение матки стимулируют и ПГЕ<sub>2</sub> и ПI<sub>2</sub>. По мере увеличения срока беременности происходит усиление сократимости матки в ответ на ПГЕ<sub>2</sub> и ПГФ<sub>2α</sub>: в середине беременности – усиление тонуса, ко времени родов – циклических сокращений матки.

ПГЕ<sub>2</sub> у животных участвует в регуляции секреции гонадолиберина гипоталамусом, являясь медиатором действия катехоламинов на секрецию гонадолиберина. Эстрогены через простагландины стимулируют синтез лютропина (ЛГ). Лютропин и фоллитропин (ФСГ), опосредованно через цАМФ, усиливают биосинтез простагландинов в фолликуле, тем самым стимулируют овуляцию. Механизм участия простагландинов в индукции разрыва фолликула окончательно не установлен.

ПГФ<sub>2α</sub> у млекопитающих (кроме человека и приматов, что остается загадкой) считается физиологическим лютеолизинном, участвующим в регрессии желтого тела путем прямого действия на лютеиновые клетки и опосредованно – через рецепторы гонадотропинов в лютеиновых клетках (разобшение рецепторов с аденилатциклазой – замедляются образование цАМФ, стерои-



догенез, диффузия гонадотропинов внутрь лютеиновых клеток). Без способности воспринимать лютропин и отвечать на него существование желтого тела невозможно. При этом снижается секреция прогестерона, необходимого для имплантации в матке оплодотворенной яйцеклетки.

Лейкотриены участвуют в регуляции иммунных процессов, повышают тонус коронарных сосудов, стимулируют сокращения гладкой мускулатуры кишечника и дыхательных путей; они вызывают сокращение мышечной ткани бронхов в 100-1000 раз меньших концентрациях, чем гистамин.

Лейкотриены часто называют медиаторами воспаления и аллергии, индуцирующими хемотаксис лейкоцитов в очаг воспаления (ЛТВ<sub>4</sub> – наиболее сильный хемоаттрактант), повышают проницаемость сосудов (особенно смесь ЛТС<sub>4</sub>, ЛГД<sub>4</sub> и ЛТЕ<sub>4</sub>), обуславливая выход жидкости из сосудистого русла – в этом отношении они намного (до 1000 раз) превосходят гистамин, серотонин, простагландины.

Таким образом, эйкозаноиды могут являться модуляторами действия других информонов, в том числе дистанционно действующих и внутрисинаптических, изменяя активность тех клеток, в которых они синтезировались.

Механизм действия простагландинов и других эйкозаноидов во многом еще неясен, нередко он опосредован через цАМФ. Простагландины повышают уровень цАМФ в тромбоцитах, цитовидной железе, желтом теле яичника, передней доле гипофиза, легких. В то же время простагландины снижают активность цАМФ в жировой ткани, (ингибируя липолиз), а в фолликуле яичника повышение концентрации цАМФ, вызванное гонадотропинами (ФСГ, ЛГ), ведет к усилению биосинтеза простагландинов (способствуя разрыву фолликула).

Противовоспалительное действие некоторых лекарственных препаратов связано с их ингибирующим действием на ферменты простагландинсинтазы (ацетилсалициловая кислота, парацетамол) и фосфолипазу А<sub>2</sub> (кортикостероиды).

Ацетилсалициловая кислота и парацетамол блокируют синтез простагландинов путем ацетилирования, и тем самым ингибируют фермента простагландинсинтазы. Ацетилированный фермент теряет активность, что ведет к снижению концентрации простагландинов, торможению образования АТФ (и тепловой энергии), снижению пирогенного эффекта некоторых простагландинов (в частности ПГЕ<sub>1</sub>).

Противовоспалительные кортикостероиды, ингибируя активность фосфолипазы А<sub>2</sub> и тем самым препятствуя освобождению арахидоновой кислоты из фосфолипидов мембран, полностью блокируют процесс образования всех эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов). Поэтому кортикостероиды являются более эффективными противовоспалительными средствами, чем ацетилсалициловая кислота и парацетамол, ингибирующие только циклооксигеназный путь и не влияющие на синтез лейкотриенов.

#### 4. Роль информонов в регуляции репродуктивной функции животных

Известно, что в основе существования различий полового поведения самцов и самок лежат факторы генотипа и окружающей среды. Заложённая в генотипе генетическая форма биологической памяти реализуется в процессе онтогенеза при участии иммунологической памяти (включающей элементы генетической памяти, но более сложной) и ещё более сложной нейрофизиологической памяти, формирование и развитие которых в значительной степени зависит от факторов внешней среды.

Половое поведение может проявляться и без предшествующего опыта, но опыт существенно модифицирует его.

В настоящее время не вызывает сомнений существование короткого критического периода в пренатальном или в раннем постнатальном развитии, когда половые железы продуцируют гормоны. Эти гормоны непосредственно воздействуют на развитие нервной системы в направлении, обеспечивающем в дальнейшем формирование полового поведения со специфическим ответом на внешние факторы.

Гормоны половых желез в эмбриональный период влияют и на дифференцировку пола зародыша. В частности, андрогены в период полового созревания стимулируют сперматогенез и формирование общего статуса мужской особи, в эмбриональный период влияют на дифференцировку пола зародыша в сторону мужской особи. Отсюда, объяснение наличия в мужских гонадах двух генераций клеток Лейдига (в зародышевых и при половом созревании), в которых синтезируется тестостерон. Отсутствие синтеза тестостерона (или его недостаток) в первой трети беременности у зародыша млекопитающих ведет к усилению в нем синтеза эстрогенов и дифференцировке пола зародыша в сторону женской особи.

Следовательно, уже в начале жизни выделение гормонов влияет на дифференцировку пола зародыша и на формирование в центральной нервной системе полового поведения. В дальнейшем в становлении и завершении репродуктивного периода имеет значение тесная взаимосвязь нервной и эндокринной систем, а сам репродуктивный период – это непрерывное взаимодействие и взаиморегуляция эндокринной, нервной и иммунной систем, некоторые из которых будут освещены в настоящем разделе. Особого внимания, по нашему мнению, заслуживают периоды беременности и новорожденности.

В самые ранние сроки после оплодотворения зигота начинает вырабатывать один из первых информонов – фактор ранней беременности (первый сигнал беременности), регулирующий процесс имплантации бластоцисты. Фактор ранней беременности обладает свойством ингибировать иммунные реакции, модулирует иммуносупрессивное действие информонов, образующихся в процессе беременности сначала в трофобласте, а затем в плаценте.

Плацента вырабатывает вещества, регулирующие отношения матери и плода, в том числе гормоны (хориональный соматотропин, гонадотропины, тиротропин, кортикотропин, эстрогены, прогестерон и др.), белковые факторы и цитокины ростстимулирующие (интерлейкины: ИЛ-1, ИЛ-2, колоние-стимулирующий фактор) и ростингибирующие (фактор некроза опухоли, ИЛ-6, трансформирующий фактор роста).

Продуцируемый плацентой жвачных и человека Т-интерферон (т-ИФ) предотвращает циклическую регрессию желтого тела, вызывая продолжительную секрецию прогестерона и поддерживая беременность.

Прогестерон, наряду с прегненолоном, является непосредственным предшественником кортикостероидов (в коре надпочечников) и половых гормонов (в гонадах), а также конечным продуктом (гормоном) в желтом теле и плаценте. Прогестерон вызывает переход слизистой оболочки матки из фазы пролиферации, вызываемой эстрогенами, в секреторную фазу, а после оплодотворения способствует ее переходу в состояние, необходимое для развития оплодотворенного яйца. Кроме того, прогестерон уменьшает возбудимость и сократимость мускулатуры матки; препятствует созреванию фолликулов в яичнике; стимулирует развитие альвеол в молочной железе; оказывает супрессорный эффект на иммунную систему беременных, предохраняя тем самым аллотенный плод от отторжения. Эстрогены и прогестерон во время беременности тормозят действие пролактина, который после родов интенсивно стимулирует лактацию.

Подавление иммунной системы матери (иммуносупрессия) прогестероном, кортикостероидами,  $\alpha$ -фетопротеинами, блокирующими антителами и другими информонами, синтезируемыми как в организме матери, так и в плаценте, позволяет эмбриону и плоду как бы ускользать от иммунной системы материнского организма.

Таким образом, эволюционно-приспособительные механизмы у самок животных позволяют вынашивать аллогенный плод. Формирующийся при беременности, при участии различных информонов, иммунный статус, характеризующийся состоянием временного (физиологического) иммунного дефицита, способствует нормальному протеканию беременности.

Вероятно, эволюцией определены и биологически целесообразные нейроэндокринные и иммунорегуляторные реакции на заключительном этапе беременности, когда происходит физиологическое отторжение плода, выросшего в утробе матери, но так и не ставшего подобным ей.

Механизмы инициации процессов, ведущих к отторжению плода у разных животных, еще недостаточно изучены. Имеющиеся данные позволяют полагать, что у овец основная роль в инициации родов принадлежит гипофизарно-надпочечниковой системе плода. Концентрация глюкокортикоидов в циркуляторном русле плода овцы постепенно нарастает в последние 15 дней беременности, резко повышается за 3-4 дня до родов и особенно перед рождением и в начале родового периода. Роды у овец задерживаются при внутривенном введении или адrenaлэктоми, а при введении плоду глюкокортикоидов индуцируются родовые схватки.

В конце беременности и с началом родового процесса повышается скорость секреции эстрогенов плаценты и снижается секреция прогестерона, что, с одной стороны, значительно снижает блокаду иммунного ответа по отторжению аллогенного плода, а с другой – повышает чувствительность к окситоцину и другим стимуляторам миометрия.

Повышение концентрации эстрогенов вызывает активацию синтеза простагландинов ( $PGF_{2\alpha}$ ,  $PGE_2$ ), которые вместе с другими производными арахидоновой кислоты (простациклином и тромбоксанами) выполняют основную роль в родоразрешении. Активированные простагландинами рецепторы действуют на сократительные белки миометрия через  $cAMP$  или  $Ca^{2+}$ .

Простагландины играют центральную роль в инициации родов во взаимодействии с другими информонами – окситоцином, пролактином, релаксином (продуцируемым децидуальной оболочкой и желтым телом). Окситоцин влияет на процесс родов путем стимуляции синтеза простагландинов, а также путем непосредственного усиления сократительной функции гладких мышц матки. Пролактин также способен индуцировать продукцию простагландинов в децидуальной оболочке и повышать сократительную способность миометрия.

Следовательно, у жвачных, в частности у овец, основным фактором, индуцирующим родовой процесс, является плод (активация его гипофизарно-надпочечниковой системы). В то же время имеются данные о том, что у человека и приматов контроль родовой деятельности имеет преимущественно паракринную природу, а основным иницирующим и контролирующим родовой процесс фактором у женщин являются плодные оболочки (Репродуктивная эндокринология/ Под ред. С.С. Йена, Р.Б. Джаффе. М.: Медицина, 1998, т. 1.- 707 с.).

К моменту рождения у плода завершаются процессы дифференцировки и развития основных систем регуляции в организме – нервной, эндокринной и иммунной, которые достигают высокого уровня функциональной активности и способны адекватно реагировать на меняющиеся условия внешней и внутренней среды.

У новорожденных животных нервная и эндокринная системы способны участвовать в регуляции обмена веществ, в адаптации, в защите организма от физических, химических и других факторов, а иммунная система – в осуществлении контроля дифференцировки клеток в организме и защите его от несущих чужеродную генетическую информацию биологических объектов, к которым нет рецепторов у нервной и эндокринной систем. В частности, у новорожденных поросят и ягнят в большинстве тканей определяются высокие концентрации гормонов надпочечников, поджелудочной и щитовидной желез, свидетельствующие о том, что ягнята и поросята рождаются с развитыми железами внутренней секреции и механизмами регуляции их деятельности (В.Ф. Лысов, В.И. Максимов, 1979-1999). В постнатальный период у сельскохозяйственных животных особенно высокими темпами структурно-функциональное совершенствование органов и систем происходит в первый месяц жизни, а в последующие возрастные периоды наблюдается их сниже-

ние. У овец и свиней имеются некоторые различия в концентрации гормонов в органах и тканях, вполне согласуемые с видовыми особенностями обмена веществ. В частности, у свиней постнатальное развитие сопровождается более высоким содержанием в тканях анаболических гормонов.

Новорожденные животные имеют иммунную систему, способную формировать клеточный и гуморальный иммунитет, но у них нет еще иммунологической памяти (информонов – Т- и В-клеток памяти) на антигенные раздражители. У новорожденных возможна пассивная иммунологическая память, передаваемая у жвачных, свиней и лошадей через антитела молозива матери (колостральный иммунитет), а у человека и приматов – через иммуноглобулины класса G (IgG), проникающие в кровь плода через плаценту (трансплацентарный иммунитет).

Следует учитывать, что как у первородящих, так и у сухостойных животных для нормального развития и функционирования молочной железы необходимо последовательное воздействие на нее различных информонов, участвующих в регуляции процесса роста протоков, альвеол, секреторных клеток молочной железы и секреции составных частей молока, в том числе всех необходимых новорожденным питательных веществ, витаминов, специфических и неспецифических факторов резистентности.

Как известно, до полового созревания зачатки молочной железы имеются у животных обоих полов. Первичным сигналом для начала роста молочных протоков служат эстрогены в комплексе с соматотропином гипофиза и стероидами надпочечников. Причем воздействие эстрогенов должно быть относительно длительным (от нескольких недель до нескольких месяцев у разных видов животных), что, вероятно, соответствует периоду от начала полового созревания самок до их физиологической зрелости. Для завершения роста протоков, альвеол и дифференцировки секреторных клеток на определенном этапе необходимо подключение к вышеуказанным гормонам прогестерона и пролактина. Прогестерон при половом созревании и в сухостойный период синтезируется в желтом теле, образующемся периодически после овуляции яйцеклетки.

Завершение роста и развития секреторного аппарата молочной железы происходит во время беременности, когда наиболее интенсивно функционирует кора надпочечников, а соматотропин и пролактин образуются как в гипофизе, так и в плаценте. Прогестерон во время беременности образуется в длительно функционирующем желтом теле и плаценте.

В конце беременности и особенно после родов пролактин, действуя через мембранные рецепторы секреторных клеток молочной железы, активирует синтез мембранных простагландинов, которые, в свою очередь, активируют синтез соответствующих мРНК и белков, минуя аденилатциклазную систему. Возможно, что вторым посредником внутриклеточного действия пролактина является цГМФ. Кроме того, реакция клеток-мишеней зависит от предшествующего воздействия инсулина и глюкокортикоидов (Репродуктивная эндокринология, 1998).

В процессе сосания, массажа молочной железы и механического выведения молока рефлекторно происходит синтез окситоцина в гипоталамусе и выведение его гипофизом в кровь. Достигая молочной железы окситоцин вызывает сокращения миоэпителиальных клеток альвеол и протоков, а также (в начале кормления детеныша или выведения молока) быстрое массивное выделение пролактина, необходимого для поддержания лактогенеза и накопления молока для следующего кормления.

Таким образом, для получения достаточного количества молока, в том числе молозивного, с необходимым количеством всех питательных веществ и факторов пассивного иммунитета, следует учитывать как возрастные, так и другие особенности развития молочной железы у животных.

## 5. Информоны и адаптация

Под адаптацией (лат. *Adaptatio* – приспособление) понимают процессы приспособления организма к новым условиям существования.

Способность организмов приспосабливаться к существованию в адекватных условиях среды приобретает ими в течение длительной видовой эволюции и реализуется в онтогенезе при изменении окружающей среды. Процессы адаптации возникают и развиваются в живых системах на этапах выраженных (неадекватных) изменений окружающей среды в условиях, исключающих возможность сохранения и поддержания нормальной жизнедеятельности без изменения организма в направлении, увеличивающем его шансы на выживание и размножение в этих условиях.

Способность к адаптации имеет определенные пределы, характерные для каждого индивидуума, вида, сообщества.

В неадекватных условиях, при воздействии сильнодействующих факторов, возможно развитие и полное завершение адаптации организма к изменившимся условиям среды. В некоторых случаях (при воздействии очень сильных факторов) достигается лишь частичная адаптация и даже возможен (при воздействии сверхсильных факторов) сдвиг адаптации в сторону патологии.

Сильные и сверхсильные факторы, относят к экстремальным факторам среды, предъявляющим к организму требования, превышающие ресурсы его адаптационной энергии и исключающие возможность полной адаптации организма к этим условиям (А.Г. Кузнецов, 1979).

Конкретные механизмы, обеспечивающие возможность возникновения приспособительных реакций, лежат на различных уровнях организации жизнедеятельности и реализуются у высших организмов при участии генетической, нервной, эндокринной и иммунной систем регуляции (через их информоны). В частности, на метаболическом уровне адаптация осуществляется путем регуляции обмена веществ и энергии, в соответствии с потребностями в них организма в данных конкретных условиях:

- в условиях холода активизируются процессы производства тепловой энергии (в том числе за счет разобшения процессов окисления и фосфорилирования и повышения использования бурого жира) и ее сохранения путем снижения теплоотдачи (за счет рефлекторного спазма периферических сосудов);
- в условиях значительного недостатка кислорода происходит активация систем дыхания, кровообращения, кроветворения, обеспечивающих повышенную доставку кислорода клеткам организма;
- при условии двигательной активности, в зависимости от ее интенсивности, возникает необходимость в стимуляции обмена веществ и энергии, регуляции частоты и силы сокращений сердца;
- процессы акклиматизации к новым климато-географическим условиям требуют участия в них всех систем регуляции на всех уровнях, в том

числе биохимических и молекулярных механизмов приспособления различных животных к разнообразным, нередко экстремальным условиям среды.

Биохимическая адаптация (с участием биохимических и молекулярных механизмов приспособления), конечным результатом которой являются поддержание гомеостаза, направлена на сохранение целостности и функциональной активности макромолекулы (нуклеиновых кислот, ферментов, структурных и сократительных белков), на обеспечение организма питательными веществами и источниками энергии, на поддержание регуляторных механизмов обмена веществ и его изменений в меняющихся условиях среды (П. Хочачка, Дж. Сомеро, 1988).

Поддержание гомеостаза обусловлено тем, что скорости и направления биохимических реакций подвержены адаптивному регулированию. Например, для поддержания уровня глюкозы необходима регуляция противоположно направленных путей обмена глюкозы – ее синтеза (глюконеогенеза) и распада (гликолиза).

Процессы биохимической адаптации сопровождаются включением трех основных типов адаптивных механизмов (реакций) Во многих случаях адаптивный ответ включает одновременно все три типа адаптивных реакций:

- приспособление макромолекулярных компонентов клеток или жидкостей организма (изменение количества уже имеющихся компонентов, например, ферментов, или их замещение новыми типами, например, изоферментами);
- приспособление микросреды, в которой функционируют макромолекулы (видоизменение качественного или количественного состава окружающей их среды – состава растворенных веществ, осмотической концентрации, pH среды и др.);
- приспособление на функциональном уровне, когда изменение эффективности макромолекулярных систем, в особенности ферментов, не связано с изменением числа имеющихся в клетке макромолекул или их типов (например, метаболическая регуляция путём увеличения или уменьшения активности ферментов).

Временные параметры биохимической адаптации варьируют в широких пределах – от долей секунды, в течение которых может измениться активность уже присутствующих в клетке ферментов (немедленная адаптация), до длительных периодов, необходимых для эволюционного изменения аминокислотных последовательностей (генетическая адаптация). Немедленная адаптация (например, при тренировке спортсменов или животных) и адаптивные реакции при акклиматизации (искусственном переселении животных в новые места обитания, с новыми условиями существования) протекают на фенотипическом уровне. Для приспособления организма к изменениям среды в этом случае может использоваться только та информация, которая уже содержится в его геноме с самых первых дней жизни (П. Хочачка, Дж. Сомеро, 1988). При этом могут быть использованы иммунологическая и неврологическая формы биологической памяти, формирующиеся в течение онтогенеза и не передающиеся по наследству. Иногда, при длительном пребывании жи-



вотных в новых условиях существования, акклиматизация может завершиться образованием новой популяции животных, с изменением генетической структуры особей данной популяции.

Следовательно, выбор того или иного механизма (или механизмов) адаптации в значительной мере определяется требованиями к ее скорости. Немедленная адаптация (например, при кратковременном действии сильного стрессора) осуществляется путем модуляции уже имеющихся ферментов, часто представляет собой лишь первую линию защиты организма от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Со временем на смену этой реакции приходят изменения в экспрессии генов (например, при длительном стрессе) или изменения на генетическом уровне (в ряду поколений).

У большинства животных из всех тканей наиболее развита мышечная, хорошо приспособленная для перемещения к чему-либо или от чего-либо, то есть для проявления реакций «борьбы или бегства», обеспечивающих адаптацию к острым или хроническим стрессам.

У позвоночных на долю мышечной ткани приходится до  $\frac{1}{4}$  общей массы тела.

Во время кратковременной интенсивной работы у человека может быть усиление анаэробного гликолиза в мышцах в 2000 раз. При тяжелой физической нагрузке, при общем повышении потребления кислорода в 8 раз (всем телом), по сравнению с покоем, у человека и других млекопитающих потребление кислорода в скелетных мышцах может увеличиваться более чем в 20 раз. При максимальной нагрузке общий обмен у человека может возрасти в 10 раз, а у лошади даже в 40 раз. Именно поэтому, реакциям биохимической адаптации высших животных и человека в ответ на сильные стрессорные воздействия, сопровождающиеся значительным усилением мышечной деятельности, будет преимущественно обращено внимание в данном разделе.

Биохимические адаптации возможны в трех функциональных блоках (I – катаболизма, II – анаболизма, III – роста и дифференцировки). В блоке I биохимические адаптации влияют на пути (гликолиз, цикл Кребса,  $\beta$ -окисление жирных кислот, распад аминокислот) и скорость образования АТФ, сопрягающих интермедиатов, а также на предотвращение накопления конечных продуктов катаболизма. В блоке II адаптации изменяют потребность в специфических продуктах биосинтеза и АТФ. То есть, в блоках I и II модулируются скорости определенных метаболических процессов или интенсивность работы (сокращение мышц, перенос ионов и т.д.), идущей с затратой АТФ. При адаптации в блоке III затрагиваются структурные (и как следствие – функциональные) компоненты клетки, в частности, структурная организация ионных насосов (встроенных в мембраны). Важным механизмом сопряжения главных функциональных блоков (I, II, и III) является циркуляция между ними сопрягающих факторов – АТФ и НАДФ\*Н.

При стрессе возникает комплекс неспецифических физиологических защитных реакций организма на любые стрессорные воздействия (факторы стресса):

- страх, травма, боль (например, при нападении хищника на жертву или преследовании ее);
- психологическая несовместимость индивидов в группе, сопровождающаяся драками, борьбой (например, при формировании групп молодняка животных после их отъема от матерей или при большом скоплении особей одного вида в тесном помещении, загоне или вольере);
- транспортировка животных;
- постоянный шум (в помещении или за его пределами);
- интоксикации и инфекции;
- высокая или низкая температура и т.д.

Комплекс симптомов, последовательно возникающих в организме животных при воздействии стрессоров, носит название адаптационный синдром. в котором различают стадии тревоги (активации защитных адаптационных процессов) резистентности (приспособление к возникшей трудной ситуации) и истощения (при сильном и длительном стрессе).

Адаптационному синдрому часто предшествует непродолжительный первичный шок (В. Б. Розен, 1994), характеризующийся более низким, по сравнению с нормальным, уровнем резистентности.

В ответной реакции при стрессе принимают участие все системы централизованного аппарата управления (нервная, эндокринная и иммунная).

Факторы стресса через нервные волокна активируют прежде всего две ткани – мозговое вещество надпочечников и гипоталамус.

Уже на стадии тревоги стрессор вызывает активацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. При этом через симпатическую нервную систему (интенсивный выброс катехоламинов окончаниями симпатических нервов) и секрецию катехоламинов надпочечниками обеспечивается быстрая мобилизация энергетических ресурсов (активация аденилатциклаза, протеинкиназ, фосфорилаз, и, как следствие, усиленный распад гликогена, окисление глюкозо-6-фосфата и синтез АТФ). При высокой кратковременной нагрузке используется главным образом гидролиз АТФ и его ресинтез за счет креатинфосфата (например, при быстром нападении хищника на жертву или при бегстве жертвы), а при нагрузке средней интенсивности происходит усиление анаэробного гликолиза (если требуется интенсивная нагрузка дольше 5 – 10 секунд). Синтез АТФ за счет креатинфосфата и анаэробного гликолиза может поддерживать интенсивную работу у человека в течение лишь 2 – 3 минут, за счет аэробного окисления углеводов – 20 минут, за счет жиров – в течение нескольких суток (П. Хочачка, Дж. Сомеро, 1988). Следовательно, для длительной работы должны вовлекаться процессы аэробного метаболизма углеводов и липидов, а при стрессе также и продуктов катаболических реакций.

При стрессе усиление секреции кортиколиберина гипоталамусом и кортикотропина гипофизом ведет к быстрому нарастанию секреции глюкокортикоидов корой надпочечников. Глюкокортикоиды вызывают выброс антител из лимфоидных клеток (повышая резистентность организма к инфекции), торможение синтеза белка и усиление его распада в соединительной

ткани, слизистых оболочках и мышцах (катаболический эффект). Они также стимулируют синтез ряда ферментов обмена аминокислот и глюконеогенеза в печени, тем самым усиливая синтез глюкозы и ее секрецию в кровь для пополнения энергетических ресурсов после распада гликогена под влиянием катехоламинов. Секретируемый надпочечниками адреналин, после проявления своего действия в печени и скелетных мышцах, быстро метаболизируется в них.

Гормоны коры надпочечников играют важную роль в адаптации к сильным стрессам, повышая глюконеогенез в печени и содержание глюкозы в плазме крови за счет активации катаболизма и использования при этом лактата и аминокислот в качестве субстратов для глюконеогенеза.

При различных формах стресса, помимо активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, активируется гипоталамо-гипофизарно-соматомединовая система, с увеличением секреции гипоталамусом соматолиберина, гипофизом – соматотропина, печенью – соматомединов. Соматотропин и соматомедины, наряду с глюкокортикоидами и катехоламинами, также относят к группе стрессовых гормонов (В.Б. Розен, 1994). Они, как и глюкокортикоиды, стимулируют глюконеогенез в печени и липолиз в жировой ткани, но, в противоположность кортикостероидам, усиливают синтез белка в различных тканях, в частности, синтез антител, а также поступление углеводов в мышечные клетки.

В стрессорных реакциях могут также участвовать тироксин, триiodтиронин, андрогены, глюкагон, вазоактивный интестинальный пептид и др. При стрессорной активации системы гипоталамус – гипофиз, наряду с усилением образования кортикотропина, из общего с ним предшественника (про-опиокортина) происходит, путем частичного специфического протеолиза, образование  $\beta$ -липотропина. В свою очередь  $\beta$ -липотропин является предшественником опиоидов и меланотропина, которые способны оказывать прямое влияние на мозг (вызывая возбуждение и обезбоживание), а также на симпатическую нервную систему. Кортикотропин, липотропин и меланотропин, кроме того, непосредственно стимулируют липолиз, дополняя тем самым эффекты глюкокортикоидов.

Соматолиберин-соматотропин-соматомединовая ось регуляции во многих отношениях является антагонистом кортиколиберин-кортикотропин-глюкокортикоидной. Вызывая, как и глюкокортикоиды, стимуляцию глюконеогенеза в печени и липолиз в жировой ткани, соматотропин и соматомедины (в противоположность кортикостероидам) усиливают синтез белка не только в печени, но и в других тканях, в частности, синтез антител В-лимфоцитами, а также (подобно инсулину) повышают входение глюкозы в мышечные клетки (вследствие, вероятно, тирозинкиназной активности рецепторов соматотропина). В связи с этим предполагается, что для нормального течения адаптационного синдрома существенны не только абсолютные концентрации глюкокортикоидов и соматотропина, но и их оптимальные соотношения в каждый данный момент стрессорного процесса (В.Б. Розен, 1994).

При слишком сильном или длительном стрессе возможно истощение защитно-приспособительных механизмов организма животного или человека и общий адаптационный синдром может перейти в стадию истощения (вторичный шок), характеризующуюся снижением резистентности организма, вплоть до летального исхода.

Следовательно, в реакции неспецифической адаптации в качестве главных регулирующих факторов включается несколько нейрогормональных систем, вносящих свой вклад в формирование этих реакций.

Биохимическая адаптация к факторам внешней среды, происходящая на молекулярном уровне, сопровождается вовлечением многих функциональных систем организма.

Нарушение гомеостаза, вызванное фактором внешней среды, или сигнал возможности такого нарушения, через высшие уровни регуляции, активирует системы, ответственные за адаптацию. В результате возникают две цепи явлений.

- 1) Мобилизация функциональной системы, которая доминирует (ответственна) в адаптации к данному конкретному фактору (тепло, холод, физическая работа, химические и биологические факторы, травмы).
- 2) Неспецифическая стандартная активизация стресс-реализующей системы, возникающая при действии любого сильного раздражителя.

В дальнейшем в данной функциональной системе, ответственной за адаптацию к данному конкретному фактору, увеличенная физиологическая функция активизирует генетический аппарат, возникает увеличение синтеза нуклеиновых кислот и белков. В итоге роста ключевых структур формируется так называемый «системный структурный след» (Ф.З. Мсерсон, 1988). Он приводит к увеличению функциональной мощности системы, ответственной за адаптацию к данному фактору. После формирования структурного следа устраняется нарушение гомеостаза и стресс-реакция становится ненужной.

Формирование системного структурного следа обеспечивает увеличение физиологических возможностей той или иной (доминирующей) системы не за счет увеличения клеточной массы, а за счет избирательной экспрессии определенных генов и роста именно тех клеточных структур, которые лимитируют функцию данной системы.

Так, при адаптации к физическим нагрузкам в скелетных мышцах возрастает число митохондрий, активность цитохромоксидазы и других ферментов дыхательной цепи.

При повторном стрессовом воздействии возрастает активность тирозингидроксилазы в надпочечниках и нервных центрах, что приводит к увеличению синтеза катехоламинов. Одновременно активизируются ферменты синтеза  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК), простагландинов, опиоидных пептидов, которые ограничивают силу и длительность стресс-реакции.

Таким образом, избирательно увеличивается активность определенных генетических комплексов – основа формирования системного структурного

следа. Он образуется в процессе адаптации к любому фактору, но его архитектура различна.

Если животному или человеку приходится спастись бегством от опасности, срочно выделяется адреналин. Активизируется гликогенфосфорилаза, тормозится синтез гликогена, выделяется глюкоза в кровь, обеспечивается избыточное питание мышцам. Происходит торможение функции пищеварительной системы, половых желез. Это необходимо для перераспределения ресурсов для спасения жизни. В крови повышается содержание аминокислот, жирных кислот, нуклеотидов, для чего активизируются процессы распада белков и других веществ. Избирательно сужаются сосуды, чтобы направить ресурсы в мышцы.

«Цена» стресса – при длительном стрессе происходит истощение ресурсов. Длительное сужение артерий, первоначально необходимое для перераспределения ресурсов, приводит к образованию язв желудка и кишечника (угнетение пищеварения), некрозам миокарда, нарушениям мозгового кровообращения. Активизация липаз, фосфолипаз, перекисного окисления липидов приводит не к интенсификации обновления и физиологически выгодным изменениям состава мембран, а к их повреждениям.

Все это оправдано в чрезвычайных условиях. Но для тех случаев, когда стресс повторяется, в процессе эволюции выработалась адаптивная реакция организма – возникновение структурного следа.

Структурный след, возникающий при адаптации к физическим нагрузкам характеризуется следующими чертами:

- на уровне центральной регуляции – возникновение временных связей, соответствующей структуры нейронов, обеспечивающих рациональные двигательные навыки, например работу определенных мышц для определенной нагрузки (полет птиц, плавание, бег, борьба), гипертрофия двигательных нейронов;

- на уровне гормональной регуляции – гипертрофия коркового и мозгового вещества надпочечников;

- на уровне сердца – гипертрофия миокарда, усиление АТФ-азной активности миозина, увеличение числа коронарных капилляров;

- на уровне двигательной системы – гипертрофия скелетных мышц, увеличение числа митохондрий, усиление способности утилизировать пируват, что предупреждает увеличение концентрации лактата в крови тренированных организмов. Лактат является ингибитором липаз, поэтому его накопление препятствует накоплению жиров. У тренированных организмов активно используются жирные кислоты, что повышает интенсивность и максимальную продолжительность работы.

Адаптация к холоду вызывает усиление синтеза нуклеиновых кислот и белков. В результате происходит формирование необходимых для адаптации структур. Наблюдается гипертрофия симпатических нейронов, щитовидной железы, рост числа митохондрий в мышцах и бурой жировой ткани, увеличивается пропускная способность систем снабжения кислородом. Эти измене-

ния могут частично быть полезными и при мышечной нагрузке. Такое явление называется перекрестным эффектом адаптации.

Адаптация к факторам, не связанным с физической работой, к социальным факторам, вызывает синтез нуклеиновых кислот и белков в нейронах. Возникают новые синапсы, связи с новыми нейронами. Нервные клетки не восстанавливаются, но находятся в постоянном движении, образуют новые связи.

Бывает простой структурный след ограниченной локализации: Например, после удаления почки или легкого развивается гипертрофия ларного органа.

Системный структурный след в течение определенного времени сохраняет результаты взаимодействия организма с факторами окружающей среды и в этом смысле представляет собой памятный след. Обычно он содержит избыточные компоненты, что влияет на резистентность организма к другим факторам.

Адаптация к повторным стрессовым воздействиям вызывает усиление антиоксидантных систем, что повышает резистентность организма к ишемии, ионизирующей радиации.

В процессе развития адаптации к любому фактору среды выделяются два основных этапа:

1. Срочная, несовершенная адаптация.
2. Долговременная, устойчивая адаптация.

Во всех случаях срочная адаптация реализуется мгновенно, но реакция организма протекает «на пределе», с утратой резервов, с низким, кратковременным результатом, сопровождается выраженной стресс-реакцией.

Долговременная, устойчивая адаптация характеризуется более совершенной, экономной реакцией организма на данный фактор среды, отсутствием выраженной стресс-реакции и возможностью нормальной жизнедеятельности в условиях действия этого фактора.

В основе перехода «срочной» адаптации в «долговременную» лежит формирование разветвленного структурного «следа» (структурного базиса адаптации) в той функциональной системе, которая ответственна за адаптацию к данному фактору среды. Формирование структурного «следа» обеспечивается активизацией синтеза нуклеиновых кислот и белков, закономерно возникающей в ответ на воздействие.

Приспособление к факторам, вызывающим интенсивную мышечную работу, представляет собой реакцию целого организма, направленную на решение двух задач – обеспечение работы мышц и поддержание при этом постоянства состава внутренней среды организма, т.е. гомеостаза.

Эти задачи решаются путем мобилизации специфической системы, ответственной в данном случае за выполнение мышечной работы, а также путем реализации неспецифической стресс-реакции. Эти процессы запускаются и регулируются центральным управляющим механизмом, имеющим два звена – нервное и гуморальное.

В ответ на сигнал о необходимости совершения мышечной работы нераное звено включает двигательную реакцию и обеспечивает соответствующую реакцию кровеносной, дыхательной и других систем, обеспечивающих выполнение соответствующей функции.

Одновременно происходит активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и симпато-адреналовой системы (САС), т.е. гормонального звена управления адаптационным процессом. Это звено можно назвать стресс-реализующей системой. Оно обуславливает возникновение стресс-реакции организма и обеспечение работы органов и тканей специфической функциональной системы на клеточном и молекулярном уровне.

Данная совокупность процессов закономерно возникает в любом организме в ответ на сильный раздражитель. Однако их течение в тренированном и нетренированном организме будет существенно различаться.

Первая стадия развития адаптации – срочная адаптация, «аварийная стадия».

Она характеризуется мобилизацией функциональной системы, ответственной за специфическую реакцию на данный фактор, до предельно достижимого уровня; выражается стресс-реакцией, сопровождающейся повреждениями; несовершенством самой двигательной реакции.

Ответ нетренированного организма может быть недостаточным по силе, продолжительности, неточным по координации движения, ритму исполнения. Обычно недостаточно эффективной и рациональной бывает в этом случае реакция системы кровообращения, дыхания и т.п. Причиной этого является несовершенная работа нейро-гормональной регуляции в нетренированном организме.

На этой стадии в ответ на нагрузку происходит возбуждение корковых, подкорковых и других нижележащих центров, избыточное по своему пространственному распространению (т.е. иррадирующее). Реакция несординированная, с подключением излишних мышц. Не сформированы динамические стереотипы, условнорефлекторные по своей природе, двигательные навыки.

Реакция стресс-реализующих систем проявляется значительным по величине и длительности высвобождением кортиколиберина, АКТГ, соматолиберина, соматотропина, катехоламинов, глюкокортикоидов, минералкортикоидов. Далее следует стимуляция или угнетение секреции гормонов следующей линии регуляции. Стимулируется секреция глюкагона, тиреоидных гормонов, альдостерона, вазопрессина, ренина, тиреокальцитонина. Угнетается секреция инсулина.

Главными результатами стресс-реакции являются: 1) мобилизация энергетических ресурсов организма и их перераспределение в органы, ответственные за реакцию на данный раздражитель; 2) усиление работы этих органов; 3) начало формирования структурной основы адаптации.

Ведущая роль в этих процессах принадлежит катехоламинам и кортикостероидам. Катехоламины через  $\alpha$ -адренорецептор и  $\beta$ -рецептор-аденилатциклазный комплекс стимулируют ключевые ферменты гликолиза,

гликогенолиза, липолиза, приводят к мобилизации углеводных и жировых депо. Кроме того, катехоламины через те же механизмы (рецепторы) стимулируют сократительную функцию сердца, облегчают нервно-мышечную передачу, увеличивают силу сокращения скелетных мышц.

Катехоламины стимулируют активность ферментов, гидролизующих липиды, фосфолипиды, активирующих перекисное окисление липидов. Это приводит к изменению липидного состава мембран, изменению липидного окружения мембраносвязанных ферментов, ионных каналов и рецепторов, что вызывает их активацию.

Важная роль принадлежит глюкокортикоидам. Они способствуют активизации белкового обмена, созданию фонда свободных аминокислот, их трансаминированию, индукции синтеза ферментов, в т.ч. транспортных АТФ-аз.

Большое значение в формировании структурной основы будущей устойчивой адаптации имеет активация секреции соматотропина, тиреоидных гормонов, андрогенов, которые являются индукторами синтеза нуклеиновых кислот и белков.

Чрезмерная активация адренергической системы при стрессе приводит к проявлению повреждающего эффекта. Адреналин вызывает излишнюю активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах клеток, что приводит к повреждению мембран и выходу ферментов. В результате наблюдаются язвенные повреждения желудка. Таким образом, положительные эффекты катехоламинов, выражающиеся в энергообеспечении адаптационного процесса переходят в повреждающие, отрицательные.

Одновременно происходит активизация стресс-лимитирующих систем. К ним относятся ГАМК-ергическая, серотонинергическая, система опиоидных и других регуляторных пептидов. Они модулируют и ограничивают активацию стресс-реализующих систем. Так, опиоидные пептиды ограничивают активность адренергической системы. Однако на начальном этапе адаптации их мощность недостаточна.

Мышечная деятельность приводит к снижению в мышцах креатинфосфата, гликогена, росту концентрации лактата, аммиака, что сопровождается быстрым развитием утомления. Лимитирующим фактором на данном этапе является АТФ-азная активность миозина работающих мышц.

Дыхание на этой стадии характеризуется увеличением частоты, а не глубины. Лимитирующими факторами являются емкость легких, выносливость дыхательных мышц, способность дыхательного центра поддерживать возбуждение.

Увеличение минутного объема сердца достигается за счет увеличения частоты сердечных сокращений (ЧСС), т.е. наиболее расточительным путем. Но и увеличение ЧСС ограничено энергетическим резервом миокарда, не восстанавливаемым во время диастолы. Лимитирующие факторы – интенсивность процессов возбуждения, энергообеспечение кардиомиоцита, недостаточность васкуляризации сердца.



Происходит перераспределение кровотока в пользу работающих органов. Вследствие ограниченного минутного объема сердца, возможна анемизация внутренних органов. Несмотря на перераспределение кровоснабжения, лимитирующим фактором может быть сердечная недостаточность по причине недостаточного кровоснабжения из-за недостаточного развития сосудистой системы кровоснабжения сердца.

В целом «аварийная» стадия развития адаптации характеризуется максимальной по уровню и неэкономной гиперфункцией системы, ответственной за адаптацию к данному фактору, утратой функционального резерва данной системы, явлениями чрезмерной стресс-реакции и повреждения. В результате поведенческие реакции организма оказываются неадекватными по интенсивности, длительности и точности.

#### Вторая, переходная, стадия долговременной адаптации.

В процессе тренировки возникает и стимулируется активация синтеза нуклеиновых кислот и белков, вызванная гормональными и другими факторами. Это приводит к избирательному росту определенных структур в клетках органов функциональной системы, ответственной за адаптацию к данному фактору. В результате «расширяются» звенья, лимитирующие адекватную ответную реакцию.

На уровне нейрогормонального звена, в результате увеличения синтеза белков развивается консолидация временных связей в нейронах головного мозга. В результате формируются условнорефлекторные стереотипы, обеспечивающие формирование двигательных навыков. Совершенствуется координация движений, исчезает участие «лишних» мышц, двигательная реакция становится более точной и экономной. Формируются условнорефлекторные «навыки» дыхания, кровообращения.

Увеличивается число митохондрий, усиливается мощность систем гликолиза, синтеза гликогена, метаболизма аммиака. Уменьшается уровень лактата, дефицит гликогена.

Таким образом, стресс-реакция становится менее необходимой для обеспечения адекватного ответа организма на внешний фактор. Вследствие этого повышается активность стресс-лимитирующих систем. Уменьшается степень повышения в крови содержания катехоламинов, кортикостероидов, распад белков, выделение ферментов из разрушенных структур, азотистого баланса.

Третья стадия процесса – стадия устойчивой адаптации. Характеризуется завершением формирования системного структурного «следа».

Первая черта системного структурного следа – изменение аппарата нейро-гормональной регуляции на всех уровнях. Формирование устойчивого условнорефлекторного динамического стереотипа. За счет экстраполяции эти изменения повышают возможность быстрой перестройки двигательной реакции в ответ на изменения требований среды.

Развивается гипертрофия мозгового слоя надпочечников, повышение мощности аппарата синтеза катехоламинов, увеличение их запаса в железе. Рост числа адренергических нервных волокон в сердце. Увеличение числа  $\beta$ -

адренорецепторов (или степени их мобилизуемости), активности аденилатциклазы и фосфодиэстеразы в тканях. Это сопровождается повышением адренореактивности тканей, что обуславливает меньшую активацию адренергической системы в тренированном организме, уменьшение «расходов» катехоламинов при обеспечении мышечной работы, «запасную» резервную мощность симпато-адренальной системы.

В результате у тренированных людей и животных в ответ на одну и ту же стандартную нагрузку происходит значительно меньшее высвобождение катехоламинов и менее существенное увеличение их содержания в крови и моче, чем у нетренированных.

Аналогично наблюдается гипертрофия коры надпочечников, изменения ультраструктуры кортикоцитов, приводящие к повышению способности синтезировать кортикостероиды. Данные изменения обеспечивают возможность длительного поддержания в тренированном организме адекватного уровня гормонов при длительной интенсивной нагрузке без истощения.

Результаты перестройки заключаются в том, что при предельных нагрузках степень активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, выброс кортикостероидов и повышение их содержания в крови в тренированном организме значительно меньше, «экономнее». Таким образом, уменьшается выраженность стресс-реакции, исчезает повреждающий компонент этой реакции.

Это возможно по двум причинам: 1) тренированная система, реагирующая на внешнее воздействие, не нуждается в интенсивных регулирующих стимулах, в т.ч. гормональных. Это связано с повышением в адаптированном организме мощности механизмов саморегуляции органов и их чувствительности к гормонам и медиаторам. 2) Ограничение активации стресс-реализующих систем связано с повышением функциональной мощности стресс-лимитирующих систем. Так, при тренировке крыс плаванием у них отмечено увеличение уровня опиоидных пептидов (лей-энкефалина, мет-энкефалина и  $\beta$ -эндорфина) в головном мозге и надпочечниках.

Перестройка гормонального звена регуляции приводит к повышению резервной мощности эндокринной функции поджелудочной железы. В отношении секреции глюкагона это проявляется в тренированном организме увеличением числа и размеров  $\alpha$ -клеток, секретирующих глюкагон. Таким образом, аппарат для синтеза гормона сформирован, и при необходимости может быть быстро запущен в действие.

Отмечается снижение секреции инсулина в покое, уменьшение инсулиновой реакции на глюкозу. Это связано с повышением чувствительности инсулиновых рецепторов и повышением активности инсулинзависимых ферментов. Снижение секреции инсулина в ответ на углеводную пищу уменьшает стимуляцию в печени синтеза триглицеридов. Эти изменения играют важную роль в благоприятном действии тренированности на жировой обмен, в предупреждении ожирения и развития атеросклероза.

Таким образом, в процессе формирования устойчивой долговременной адаптации в различных звеньях аппарата нейрогормональной регуляции той

системы, которая отвечает за реакцию на данный стимул, развиваются различные структурные изменения, повышающие функциональную мощность этого аппарата, обеспечивающие его устойчивое и экономное функционирование.

Вторая черта системного структурного следа адаптации состоит в увеличении мощности и одновременно экономности функционирования двигательного аппарата.

На уровне скелетных мышц вследствие активации синтеза нуклеиновых кислот и белков развивается выраженная гипертрофия, проявляющаяся в увеличении массы мышечных волокон («быстрого» или «медленного» типа) в зависимости от нагрузки.

Увеличивается энергообеспечение мышц. Это происходит вследствие роста мощности системы преобразования энергии, что выражается в увеличении числа и массы митохондрий, росте популяции ферментов гликолиза, гликогенолиза. Одновременно увеличивается содержание гликогена и активность гликогенсинтетазы. Усиливается АТФ-азная активность миофибрилл, связанная с изменением субъединичного состава миозина. Растет активность липопротеинлипаз, что повышает доступность триглицеридов и способствует утилизации жирных кислот. Увеличивается плотность капилляров и концентрация миоглобина, что вместе с ростом числа митохондрий приводит к повышению способности мышечной ткани утилизировать кислород из притекающей крови.

В тренированном организме не происходит значительного снижения концентрации гликогена (и креатинфосфата), а также подъема концентрации аммиака и лактата, играющих важную роль в процессе утомления. Это оказывается возможным за счет высокой резервной мощности систем энергообеспечения, соответствующих ферментных систем. Так, у спортсменов и тренированных животных при максимальной нагрузке уровень лактата в два раза ниже, чем у нетренированных. Уменьшение накопления аммиака связано с интенсификацией его включения в орнитиновый цикл за счет увеличения мощности соответствующих ферментных систем.

Третья черта системного структурного «следа» адаптации состоит в увеличении мощности и одновременно экономности функционирования аппарата внешнего дыхания и кровообращения.

Благодаря гипертрофии дыхательной мускулатуры, увеличению скорости и амплитуды сокращения возрастает жизненная емкость легких и степень утилизации кислорода. Повышается способность дыхательного центра поддерживать возбуждение на предельном уровне в течение длительного времени. Экономность работы дыхательной системы достигается увеличением объема вдоха, что позволяет поддерживать адекватным минутный объем вентилиации при меньшей частоте дыхания, т.е. при меньших энергетических затратах дыхательной мускулатуры. Кроме этого, повышение кислородной емкости крови и увеличение способности тканей использовать кислород из крови, создает условия для снижения нагрузки на дыхательные мышцы.

На уровне системы кровообращения структурный «след» адаптации выражается в развитии структурных изменений в сердце. Характер изменений в миокарде аналогичен тому, что мы рассмотрели в случае скелетных мышц.

Необходимо отметить, что «след», возникающий в процессе адаптации к физической нагрузке одновременно является основой повышения резистентности организма к ряду повреждающих воздействий и использования адаптации как средства профилактики, лечения и реабилитации при различных заболеваниях.

Ряд основных черт адаптации к другим факторам, особенно первая стадия – сходен, так как в природе ответом на любой сильный раздражитель является двигательная реакция. В тех случаях, когда подобный ответ не является адекватным, стресс-реакция наносит организму значительно больший вред.

Адаптация к действию электромагнитных полей также повышает резистентность организма к любым другим повреждающим факторам самой различной природы, то есть повышает неспецифическую резистентность организма. Это возможно благодаря развитию тех же адаптационных изменений в организме, которые мы рассмотрели.

Четвертая стадия процесса – стадия изнашивания системы, ответственная за адаптацию. Она не является обязательной, так как устойчивая адаптация к физической нагрузке может сохраняться в течение многих лет. Вероятность стадии изнашивания возрастает в двух случаях: 1) длительный перерыв в тренировке приводит к утрате структурного следа. 2) Нарушению устойчивой адаптации может способствовать ситуация, когда физическая нагрузка сочетается со стрессовой ситуацией.

## 6. Информационные молекулы в межклеточных взаимодействиях

Клетки, входящие в состав животных тканей, контактируют между собой через сложную сеть макромолекул, образующих межклеточный матрикс. Сложно построенный матрикс способствует поддержанию межклеточных структур и создает упорядоченный каркас, внутри которого клетки могут мигрировать и взаимодействовать друг с другом.

Расположение и соотношение клеток и внеклеточного матрикса в различных тканях различно. В соединительной ткани клетки располагаются в обширном внеклеточном матриксе, предполагающем сильно опосредованные взаимодействия клеток между собой. В эпителиальной ткани, где внеклеточного матрикса мало и клетки прилегают друг к другу, они непосредственно контактируют через поверхностные мембранные структуры.

Значительный интерес представляют механизмы межклеточных взаимодействий подвижных клеток животных (нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов) при их миграции через эндотелий, особенно при хоминге, то есть возвращении клеток некоторых линий (например, клеток иммунологической памяти) в те ткани, где они ранее были стимулированы.

Возникает вопрос – каким образом взаимодействуют клетки в различных тканях между собой, с внеклеточным матриксом, с клетками других тканей при миграции и т.д., какие факторы принимают участие в этих процессах?

К настоящему времени выяснено, что межклеточные взаимодействия обеспечиваются четырьмя группами факторов: адгезивными молекулами, внеклеточным матриксом, а также растворимыми медиаторами и онкогенами. Причем адгезивные молекулы, расположенные на одних клетках (например, на иммунокомпетентных) принято считать рецепторами, а на взаимодействующих с ними клетках (или на матриксе) – лигандами.

Адгезивные молекулы, обеспечивающие взаимодействия между клетками, а также между клетками и межклеточным веществом подразделяют на несколько классов: интегрины, селектины, иммуноглобулины, кадгерины, хоминговые рецепторы.

### 6.1. Интегрины

Интегрины функционируют как клеточно-субстратные и межклеточные адгезивные рецепторы. Термин «интегрин» был предложен Р. Хайнесом в 1987 году для интегральных мембранных рецепторов, которые через цитоскелет связывают одну клетку с другой или с внеклеточным матриксом.

Интегрины представляют собой гетеромерные молекулы белков, состоящие из нековалентно связанных  $\alpha$  и  $\beta$ -субъединиц и располагающихся трансмембранно.  $\beta$ -Субъединицы всех интегринов схожи, содержат четыре богатых цистеином последовательности и большую петлю на аминокислотном конце внеклеточного домена, стабилизированного внутрицепочечной

дисульфидной связью. Типичная  $\beta$ -субъединица имеет также нитевидный трансмембранный домен и короткий карбоксильный внутриклеточный домен. Несмотря на гетерогенность,  $\alpha$ -субъединицы также сходны по структурной организации. Экстраклеточный домен содержит  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающую область.

Связь интегринов с цитоскелетом осуществляется через таллин, винкулин и другие молекулы, взаимодействующие с актиновыми филаментами (рис. 19).

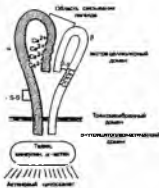


Рис. 19. Структура типичной молекулы интегрина [М.А. Пальцев, Иванов А.А., 1995]

Связывание интегринов с лигандами представляет собой катионзависимый процесс, протекающий с низкой аффинностью ( $10^{-7}$ М). Интегрины распознают специфическую аминокислотную последовательность в лигандах и связываются с ней. Наиболее изучена последовательность арг-гли-асп (RGD-последовательность), она содержится в фибронектине, ламинине, коллагене типа I.

Семейство интегриновых рецепторов обуславливает многие адгезивные свойства клетки. Они передают информацию, возникающую при взаимодействии внеклеточного домена с лигандами внеклеточного матрикса, внутрь клетки, влияя на организацию цитоскелета, форму клетки и ее подвижность. Передача сигнала может идти и в обратном направлении – из клетки во внеклеточный матрикс.

Интегриновые рецепторы имеют широкий спектр как внеклеточных, так и внутриклеточных лигандов. Однако изучен и хорошо известен только один тип адгезии – фокальная (через актиновые микрофиламенты). Однако интегрины могут взаимодействовать не только с актиновыми микрофиламентами.

Например, эпителиальный интегрин способен взаимодействовать с промежуточными филаментами в структуре полудесмосом. Полудесмосома представляет собой специализированные клеточные контакты эпителиальных клеток, стабилизирующие эпителиальный слой и обуславливающие его адгезию к подлежащей базальной мембране. Якорное место для промежуточных филаментов в полудесмосомах расположено не в цитоплазме, а на плазматической мембране. Вовлечение интегрина в структуру якорного центра промежуточных филаментов на внутренней поверхности плазматической мембраны может играть важную роль в сигнальной трансдукции, так как интегрин прямо или косвенно передает сигналы от клеточной поверхности к ядру, поскольку имеется тесная физическая связь между плазматической мембраной и ядерной оболочкой.

Часть подсемейства интегринов были впервые найдены как антигены, появляющиеся через несколько недель после стимуляции на лимфоцитах *in vitro*. Впоследствии эти антигены обнаружили на покоящихся лимфоцитах и других клетках и была показана их важная роль в осуществлении клеточной адгезии к внеклеточному матриксу. Данное семейство интегринов получило название VLA-интегрины. Каждый VLA-интегрин опосредует адгезию к одному из трех главных компонентов внеклеточного матрикса: к фибронектину, коллагену и ламинину.

VLA-интегрины экспрессируются на T- и B-лимфоцитах человека, на NK-клетках, обеспечивая адгезию этих клеток к внеклеточному матриксу через рецепторную связь с фибронектином, ламинином или коллагеном. Кроме того, интегрины этого семейства обеспечивают и межклеточную адгезию T-лимфоцитов к эндотелию сосудов, взаимодействуя с поверхностными адгезивными молекулами этих клеток.

Стабилизация адгезивных структур может требовать взаимодействия интегринов, при этом каждый интегрин может передавать различную информацию из внеклеточного микроокружения, определяя морфологию и физиологию клетки.

Лейкоцитарные интегрины объединены в подсемейство LEU-CAM, то есть лейкоцитарные клеточно-адгезивные молекулы. Они представлены тремя гетеродимерными адгезивными белками. Для стабилизации гетеродимерных структур необходимы двухвалентные катионы  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ . Экспрессия одного из рецепторов осуществляется только на лейкоцитах, двух других в норме проявляется также на моноцитах, макрофагах, нейтрофилах и NK-клетках. Все три интегрин данного подсемейства имеют основное значение в моноцитарной и гранулоцитарной адгезии к эндотелию и в осуществлении функции фагоцитоза. Дефицит данных адгезивных молекул приводит к нарушению адгезиозависимых функций: хемотаксиса, агрегации, фагоцитоза и развитию фатальных бактериальных инфекций.

Питоязлетины – подсемейство интегринов, функционирующих прежде всего как фибриноген- и витронектинсвязывающих рецепторов. Обычно экспрессируются на тромбоцитах. Связывание фибриногена происходит только

после активации тромбоцитов. Витронектиновый рецептор связывается с витронектином, фибриногеном, тромбоспонином и фактором Виллибранда (фактор свертывания крови). Связывание с этими лигандами ингибируется RGD-содержащими пептидами. Рецептор может вовлекаться в межклеточные взаимодействия, он более широко распространен, выявляется на большинстве мезенхимных клеток. Антитела к витронектиновому рецептору могут блокировать способность макрофагов к фагоцитозу нейтрофилов и лимфоцитов, которые должны быть подвергнуты апоптозу.

## 6.2. Иммуноглобулины

В это суперсемейство объединены антигензависимые рецепторы и антигены, имеющие один или более Ig-подобный домен и характерные для иммуноглобулинов внутрисульфидные связи. Существуют три иммуноглобулино-гомологичных области (С, V, H), каждая из которых имеет типичную длину и сходный набор аминокислотных остатков, связанных дисульфидными мостиками. Члены данного суперсемейства обладают доменами преимущественно H-типа и участвуют в межклеточных взаимодействиях как адгезивные молекулы. Иммуноглобулины связывают растворимые лиганды, играя важную роль в процессах активации и дифференцировки клеток.

Три члена суперсемейства иммуноглобулинов вовлекаются в Т-клеточно-эндотелиальное взаимодействие. На эндотелиальных клетках они являются поверхностными лигандами для взаимодействия интегринов. Активация эндотелия такими биологически активными молекулами как интерлейкин 1 (ИЛ-1), фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ) или эндотоксином, сопровождается усилением экспрессии иммуноглобулиновых рецепторов. Один из членов суперсемейства опосредует тромбоцитарно-эндотелиальную адгезию. Члены данного суперсемейства способны действовать как гомофильные клеточные адгезивные молекулы, то есть действовать одновременно как рецепторы и как лиганды. Запрограммированная экспрессия таких молекул в процессе развития организма обеспечивает необходимую информацию для поддержания межклеточных взаимодействий при гистогенезе.

## 6.3. Кадгерины

Кадгерины представляют собой кальцийзависимые адгезивные молекулы, которые опосредуют клеточную адгезию. Большинство членов данного семейства – трансмембранные гликопротеины. Классические кадгерины содержат по пять доменов. Конформация молекул стабильна только в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , кроме того, связывание внеклеточной частью ионов кальция является необходимым условием для обеспечения межклеточных взаимодействий. Цитоплазматический домен классических кадгеринов ассоциирован с цитоплазматическими белками катенинами, которые в свою очередь взаимодействуют с актиновыми филаментами (Д.Б. Иванов и др., 2001) (Рис. 20).



Кадгерины опосредуют гомофильную адгезию, т.е. агрегируют клетки, несущие на своей поверхности идентичные кадгерины. Они реализуют также такие типы межклеточных контактов, как: соединения между слоями глиальных клеток в миелиновых оболочках аксона; адгезивные контакты синапсов, где кадгерины «сшивают» пре- и постсинаптическую мембраны в участках, прилегающих к зоне секреции нейротрансмиттера; промежуточные диски между кардиомиоцитами.

Семейство кадгеринов делят на три субкласса: 1. E- кадгерины, найденные в эпителиальных клетках; 2. N-кадгерины, найденные в зрелой нервной и мышечной тканях; 3. P-кадгерины, найденные первоначально в плаценте и эпителиальных клетках, но экспрессируемые (как оказалось) также и клетками других тканей организма.

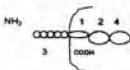


Рис.20. Схема строения кадгериновых рецепторов 1-катенины; 2 – актиновые филаменты; 3 – пять внеклеточных доменов кадгеринов (Д.Б. Иванов, 2001)

Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о том, что рецепторы клеточной адгезии могут влиять на форму, подвижность и рост клосток не только за счет механического прикрепления клеток друг к другу или к субстрату, но и путем активации процессов внутриклеточной сигнализации.

N-кадгерины могут регулировать прорастание аксонов путем непосредственного взаимодействия с рецептором нейрона, приводящей к активации каскада митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК). Не исключено, что кадгерины вносят свой вклад в регуляцию сигнальных процессов и опосредовано: сближение мембран соседних клеток при образовании адгезивных контактов может облегчать взаимодействие мембранных рецепторов и их связанных с мембраной лигандов на соседних клетках и активировать локальную сигнализацию.

#### 6.4. Селектины

Селектины имеют три характерные черты: переменное число повторов комплемент-регуляторных белков, домен эпидермального фактора роста (ЭФР) и N-концевой лектиновый домен. Хорошо охарактеризованы три члена этого семейства: L- селектин – лимфоцитарный хоминговый рецептор; P- селектин и E- селектин. Селектины являются уникальными адгезивными мо-

лекулами, поскольку их лиганды – С-концевые домены гликопротеинов, которые связываются с ними через N- концевой лектиновый домен селектинов.

L-селектины представлены на лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах и опосредуют эффект «катящихся» нейтрофилов вдоль сосудистой стенки, что является началом их адгезии к эндотелию и на конечном этапе приводит к накоплению их в зоне воспаления. Эндотелиальный лиганд, обеспечивающий взаимодействие клеток эндотелия с L- селектинами на поверхности лейкоцитов при эффекте «катящихся» клеток, еще не идентифицирован. Лиганды высокого эндотелия венул для L- селектинов и других предполагаемых хоминговых рецепторов названы сосудистыми адгессинами, что подчеркивает их роль в опосредовании тканеспецифической адгезии.

P- селектин представляет собой гликопротеид плотных гранул тромбоцитов, он хранится также в тельцах Вейбеля-Паладе эндотелиальных клеток. После стимуляции эндотелия тромбином, гистамином или перекисью водорода, P-селектин транслоцируется на поверхность клетки, а затем быстро реинтернализуется путем эндоцитоза. Обнаружено, что P-селектин опосредует транзиторную, обратимую адгезию лейкоцитов к гистамин- или тромбинактивируемому эндотелию в кооперации с фактором активации тромбоцитов (ФАТ), обуславливая феномен «катящихся» лейкоцитов. Активация эндотелиальных клеток рядом оксидантов приводит к протонированию экспрессии P- селектина на поверхности и связыванию нейтрофилов. Это подтверждает, что механизм реинтернализации, который контролируется в активированном эндотелии через рецепторы для тромбина и гистамина, может быть изменен медиаторами патологических процессов (медиаторами воспаления).

E- селектин выявляется на поверхности эндотелия и является селективным, характерным только для эндотелия. При стимуляции различными цитокинами (интерлейкины, фактор некроза опухолей), эндотоксином эндотелиальные клетки синтезируют и экспрессируют E-селектин. Для молекул E-селектина, также как и для P-селектина, важным структурным компонентом, обеспечивающим адгезивные свойства, является сиаловая кислота.

Количество поверхностных молекул, которые могут функционировать как межклеточные или клеточно-матриксные адгезивные белки, постоянно увеличивается, некоторые из них еще не отнесены к определенному классу.

### 6.5. Внеклеточный матрикс

Компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) наряду с факторами роста, цитокинами и гормонами, участвуют в межклеточных взаимодействиях, влияют на процессы, происходящие внутри клеток, на рост и дифференцировку. ЭЦМ представляет собой супрамолекулярный комплекс, образующий внеклеточное окружение. Он играет ключевую роль как в органогенезе, эмбриогенезе, посттравматическом заживлении, так и в канцерогенезе, опухолевой инвазии и хоминге опухолевых клеток.

Основные компоненты экстрацеллюлярного матрикса: I- коллагены IV типа, которые обеспечивают нерастворимость и механическую стабильность

матрикса, образуя опорную сеть. Коллагены IV типа представляют собой тройную спиральную нить, гетеродимер, состоящий из 2-х различных  $\alpha$ -цепей. Кроме того, в ЭЦМ обнаруживаются и другие типы коллагенов: I, II, III, V и др. 2- ламинин – является главным и наиболее постоянным адгезивным гликопротеином ЭЦМ. Он выполняет роль адгезивного субстрата для различных эпителиальных и мезенхимных клеток, усиливает пролиферацию и подвижность опухолевых клеток. Молекула ламинина состоит из трех различных полипептидных цепей. Цепи связаны дисульфидными мостиками и образуют крестообразную структуру, короткие отростки которой состоят из 2-х глобулярных доменов, соединенных палочкообразными сегментами. Длинный сегмент заканчивается глобулярным доменом, в котором выделяют фрагменты, активно участвующие в адгезии клеток

В молекуле ламинина обнаруживается фрагмент, содержащий RGD-последовательность, которая обеспечивает взаимодействие его с интегринавыми рецепторами клеток. В зависимости от типа клеток ламинин способен связываться с 5-тью типами интегриновых рецепторов. В ЭЦМ ламинин активно взаимодействует с другим белковым компонентом ЭЦМ – нидогеном. Нидоген формирует с ламинином прочный нековалентно связанный комплекс (рис.21). Выявлено три молекулярных домена нидогена. Большой N-концевой домен имеет повторы, подобные эпидермальному фактору роста (ЭФР). Нидоген с меньшей силой, чем с ламинином, способен взаимодействовать с коллагеном IV типа, и выступать, таким образом, в качестве связующего звена между различными компонентами ЭЦМ.

Фибронектин является вторым после ламинина ключевым компонентом ЭЦМ. Тканевой фибронектин (ФН), в отличие от содержащегося в плазме крови, нерастворим и вовлекается в разнообразные биохимические реакции: способствует адгезии и распространению эпителиальных и мезенхимальных клеток, стимулирует пролиферацию и миграцию эмбриональных и опухолевых клеток, контролирует дифференцировку и поддержание цитоскелета клеток. Молекула ФН обладает высокой молекулярной массой (550.000 D) и обычно представлена двумя полипептидными субъединицами, соединенными дисульфидными связями вблизи COOH-конца. Обнаруживаются пять функционально различных домена, позволяющие ФН взаимодействовать между собой, с молекулами коллагена и многими клеточными рецепторами. В молекуле ФН обнаруживается RGD-последовательность, ответственная за связывание с интегринавыми рецепторами клеток.

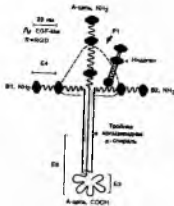


Рис. 21. Структура ламининнидогенного комплекса [ М.А. Пальцев, А.А. Иванов, 1995]

Одним из наиболее интересных классов молекул ЭЦМ являются протеогликаны. Эти молекулы содержат свыше 100 сульфатированных гликозаминогликановых цепей, соединенных с ядром молекулы белка, молекулярная масса которого может варьировать от 11000 до 220000 D. Протеогликаны способны занимать большое пространство ЭЦМ за счет высокой способности к связыванию воды. Гидратация элементов экстрацеллюлярного матрикса придает им эластичность, необходимую для соединительной ткани (например, хрящевой). На поверхности своих молекул протеогликаны несут значительный отрицательный заряд на сиаловых кислотах, что имеет важное физиологическое значение. Гликозаминогликановые цепи протеогликанов (ПрГл) обеспечивают взаимодействие с ФН, коллагеном и ламинином. Некоторые цитокины, например, фактор роста фибробластов (ФРФ) и трансформирующий фактор роста (ТФР) могут связываться и удерживаться ПрГл, действуя как локально фиксированные цитокины, что обуславливает их влияние на процессы, происходящие в данных органах и тканях.

Разнообразие ПрГл обусловлено природой их гликозаминовых цепей. Выделяют 4 основных группы ПрГл: (1) гепарин/гепарансульфаты, (2) хондроитин/дерматансульфаты; (3) кератансульфаты; (4) гиалуроновые кислоты. ПрГл могут присутствовать на клеточной поверхности и входить в состав ЭЦМ.

Кроме выше описанных соединений в состав ЭЦМ могут входить витронектин, тенаascin, трансподин и другие адгезивные молекулы.

Тенаascin - олигомерный гликопротеин (М.М. 100 000) обладает как адгезивными, так и антиадгезивными свойствами. Его молекула имеет мозаичную структуру, включающую повторы, подобные эпидермальному фактору роста (ЭФР), RGD- последовательность и  $\text{Ca}^{2+}$ - связывающую область.

**Трансподин** – содержит С- и N-концевые глобулярные домены, которые связывают Са<sup>2+</sup> и гепарин. Эти же области способны взаимодействовать с коллагеном, ФН, фибриногеном, ламинином, плазминогеном. В эндотелии и фибробластах тромбосподин проявляет свои антиадгезивные свойства.

### 6.5.1. Взаимодействие компонентов в ЭЦМ

Все компоненты ЭЦМ адгезивные молекулы, они способны к самоагрегации и взаимодействию между собой. Образованный благодаря этому взаимодействию супрамолекулярный комплекс обеспечивает прикрепление клеток, их связь между собой, выполнение клетками их специализированных функций. Фибронектин связывается между собой и с молекулами коллагена IV типа, гепарансульфатами, нидогеном. При этом фибронектин успешно взаимодействует с рецепторами клеток, осуществляя передачу сигналов, обеспечивающих эффективное взаимодействие между ними. С коллагеном IV типа, гепарансульфатом и нидогеном связывается ламинин, являясь как бы швом, формирующим структуру ЭЦМ. Протеогликаны являются важными связующими компонентами матрикса, так как взаимодействуют с фибронектином, ламинином, коллагеном и с поверхностными протеогликанами клеток. Они усиливают также взаимодействие между другими компонентами ЭЦМ (рис.22). С одной стороны, ПрГл способствуют клеточной адгезии, а с другой ингибируют ее. Протеогликаны, способствующие адгезии, используют RGD-последовательность интегриновых рецепторов, богаты гепарансульфатом и располагаются на клеточной поверхности. Хондроитин/дерматансульфаты препятствуют клеточной адгезии, связываясь с фибронектином и коллагеном типа IV, они способны маскировать интегриновые рецепторы как на этих белках, так и на клетках. Опухолевые клетки обладают пониженной способностью к адгезии, поскольку экспрессируют на своей поверхности большое количество хондроитин/дерматансульфатов.

ЭЦМ регулирует также процессы роста и дифференцировки, участвует в осуществлении воспалительного процесса, регенерации тканей. Регенирирующее воздействие на процессы роста и дифференцировку клеточно-матриксные молекулы оказывают через связывание медиаторов (простагландины, лейкотриены и др.), цитокинов и факторов роста.

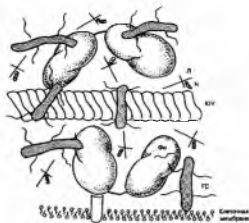


Рис.22. Структура экстрацеллюлярного матрикса. KIV-коллаген IV типа; Фн- фибронектин; ГС- гепарансульфат; Л- ламинин; Н- гиалурон (М.А. Пальцев, А.А. Иванов, 1995)

Компоненты ЭЦМ участвуют в осуществлении клеточной миграции. Клетки мигрируют из области низкой концентрации ЭЦМ в область более структурированного матрикса. Такая форма хемотаксиса получила название гаптотаксиса. Гаптотаксис имеет большое значение в процессе эмбрионального развития и является одним из механизмов опухолевой инвазии в нормальную ткань ( метастазирование).

## 6.6. Цитокины

Цитокины и факторы роста являются активными в очень низких концентрациях белками, оказывающими широкий спектр эффектов. В отличие от гормонов, регулирующих гомеостаз, данные регуляторы обеспечивают ответную реакцию на воспаление, иммунное повреждение, участвуют в осуществлении процессов репарации и регенерации тканей. Они по сути являются главными гуморальными факторами межклеточных взаимодействий, формируя сеть коммуникационных сигналов между клетками иммунной системы и клетками других органов и тканей. Цитокины могут не секретироваться, а только экспрессироваться на поверхность клеток, но их общим свойством является обязательное взаимодействие с специфическим рецептором и стимуляция синтеза вторичного мессенджера. Они оказывают как аутокринное, так и паракринное и даже эндокринное воздействие.

Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов с молекулярной массой от 10 000 до 45 000 D. Рассмотрим эффекты только самых известных цитокинов и факторов роста.

***Интерлейкин 1.*** Вызывает многочисленные биологические эффекты. Наиболее значительными из них являются активация лимфоцитов, а именно костимуляция Т-лимфоцитов, пирогенная активность. ИЛ-1 является в основном продуктом макрофагов, синтезируется как предшественник, активируется за счет ограниченного протеолиза специфической протеазой, существует в двух формах: ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ . Кроме лейкоцитов обнаруживается среди секретов эпителиальных клеток, нейронов и других клеток. Контроль экспрессии ИЛ-1 контролируется другими цитокинами: ФНО $\alpha$ , гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ), макрофагальным КСФ. Подавляет экспрессию ИНФ $\gamma$  (интерферон  $\gamma$ ), ИЛ-4, ИЛ-6,  $\beta$ -трансформирующий фактор роста (ТФР $\beta$ ). Активаторы синтеза цитокинов в различных клетках усиливают производство активных метаболитов арахидоновой кислоты по липоксигеназному пути – лейкотриенов. В свою очередь лейкотриены повышают продукцию простагландина E $_2$ , который ингибирует продукцию ИЛ-1 по механизму обратной связи.

Обнаружено два типа рецепторов для ИЛ-1: на Т-лимфоцитах и фибробластах ( M.M. 80 000 D) и на В- лимфоцитах с M.M. 68 000 D. Рецепторы обоих типов принадлежат к семейству иммуноглобулинов. ИЛ-1, связываясь с рецептором первого типа, быстро интернализуется, связываясь с рецепторами второго типа, долго остается на поверхности клеток. Период жизни рецепторов второго типа намного меньше, чем рецепторов первого типа

Модуляция под действием ИЛ-1 тех или иных процессов осуществляется путем повышения или понижения уровня экспрессии других рецепторов: повышение экспрессии для ТФР $\beta$ , понижение экспрессии собственных рецепторов, уменьшение числа рецепторов для ФНО $\alpha$ , снижение аффинности рецепторов эпидермального фактора роста (ЭФР).

***Фактор некроза опухоли*** Различают ФНО $\alpha$  и ФНО $\beta$ , структурно родственные цитокины, способные убивать определенные, чувствительные к ним клетки. ФНО $\beta$  получил название лимфотоксин, он является продуктом активированных Т-лимфоцитов. ФНО $\alpha$  (кахектин) выявлен как продукт стимулированных эндотоксином моноцитов. Позднее было показано, что Т-лимфоциты могут продуцировать оба фактора некроза опухоли, а моноциты - только ФНО $\alpha$ . ФНО $\alpha$  является центральным медиатором развития шока при сепсисе, вызванном бактериальным эндотоксином. Действие кахектина часто идентично с действием ИЛ-1, они действуют синергично на фибробласты, усиливая продукцию простагландина E $_2$ , вызывая агрегацию нейтрофилов и синтез тромбоксанов. Помимо этого, ФНО $\alpha$  вызывает экспрессию протоонкогенов c-myc, c-fos, c-jun. Протоонкогены содержат информацию о структуре онкогенных белков, являющихся главным образом митогенами.

***Интерлейкин 6*** Одна из основных функций данного цитокина – стимуляция продукции антител В-лимфоцитами. Первоначально описан как фак-

тор, освобождаемый Т-лимфоцитами. Наряду с ИЛ-1, ФНО $\alpha$ , ИЛ-6 способен регулировать острую фазу воспаления. Механизм сигнальной экспрессии гена, кодирующего ИЛ-6, пока не совсем ясен. Данные свидетельствуют о наличии двух сигнальных путей: через активацию протеинкиназы С и другой – через активацию аденилатциклазы. Рецептор для ИЛ-6 содержит Ig-подобный участок, не участвующий в приеме лиганда, и домены, имеющие общие особенности строения с гемопэтиновыми рецепторами. Сигнальная трансдукция ИЛ-6 осуществляется через мембранный гликопротеид, ассоциированный с рецептором ИЛ-6.

*Интерлейкин 4* – является членом подкласса иммуноиндуцированных цитокинов, образующих семейство, куда еще могут быть отнесены ИЛ-5, ИЛ-3 и ГМ-КСФ. Интерлейкин-4 был первоначально описан как «В-клеточный ростовой фактор», стимулирующий синтез ДНК в В-лимфоцитах. В настоящее время рассматривается как основной продукт субпопуляции Th 2-хелперов. Рецепторы экспрессируются на клетках в небольшом количестве, но при активации клеток их число резко возрастает.

ИЛ-4 стимулирует пролиферацию Ig-активированных В-клеток, Т-лимфоцитов, тучных клеток и тимоцитов, регулирует продукцию IgE и IgG $_1$  В-клетками, повышает антигенпредставляющую способность моноцитов, ингибирует продукцию ИЛ-1, ФНО $\alpha$  и ИЛ-6, являясь антагонистом цитокинов воспаления.

### 6.6.1. Регуляция активности цитокинов

В регуляции активности цитокинов участвуют несколько различных механизмов:

- 1). Регуляция секреции цитокинов;
- 2). Регуляция экспрессии рецепторов для цитокинов;
- 3). Регуляция активности цитокинов;

Большинство цитокинов секретируется только в ответ на воздействие антигенных, митогенных или других стимулов секреции цитокинов. Т-лимфоциты обычно антигенспецифичны, а секреция их макрофагами и другими клетками стимулируется эндотоксинами или другими цитокинами, а также вирусами. Гены, кодирующие синтез цитокинов и их рецепторов, регулируются многими транскрипционными факторами, эндогенными ( цитокины, кофакторы) и экзогенными ( вирусы, антигены) стимулами.

В отличие от индуцибельной природы цитокиновой секреции, экспрессия некоторых цитокиновых рецепторов ( ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6) осуществляется на клетках-мишенях постоянно. Активирующие стимулы увеличивают число таких рецепторов и усиливают ответную реакцию. Некоторые цитокины способны индуцировать секрецию других цитокинов или повышать экспрессию тех или иных цитокиновых рецепторов. В некоторых случаях, наоборот, цитокины выступают как антагонисты других цитокинов. Так, влияние ИНФ $\gamma$  является антагонистическим по отношению к действию ИЛ-4 на В-клетки. Кроме того, существуют специфические ингибиторы-цитокины, которые ли-



бо блокируют рецепторы, либо связывают сами цитокины. Другой способ специфического блокирования цитокинов при патологическом процессе – это использование растворимых рецепторов. Многие цитокины проявляют свое действие за счет связывания свободных цитокинов в растворе, предупреждая их связывание со специфическими рецепторами. Эти ингибиторы представляют собой, как правило, экстрацеллюлярный домен специфических мембранных рецепторов, находящихся в растворимой форме.

Растворимые формы рецепторов образуются не только для цитокинов, но и для факторов роста (ЭФР, инсулиноподобный фактор роста) и гормона роста. Выявлены растворимые формы и других мембранных молекул, таких как антигены главного комплекса гистосовместимости I класса. Широкое распространение таких молекул подтверждает, что присутствие растворимых рецепторов в биологических средах может быть проявлением общего регуляторного механизма активации растворимых медиаторов *in vivo*.

### 6.7. Факторы роста

Факторы роста – полипептиды с М.М. 5000 – 50 000 D. С каждым годом их количество растёт. Многие из выделенных факторов роста структурно подобны и их можно объединить в семейства. Подобно гормонам, факторы роста обладают широким спектром биологического воздействия на многие клетки. Они стимулируют или ингибируют митогенез, хемотаксис, дифференцировку клеток. Факторы роста продуцируются обычно неспециализированными клетками и действуют эндокринно, паракринно, аутокринно, а некоторые и интракринно. При интракринном воздействии факторы роста не секретируются из клетки, не нуждаются в поверхностных рецепторах, действуют как внутриклеточные посредники. Для регуляторных полипептидов, обладающих интракринным действием, характерно наличие сигнальной последовательности и особой внутриклеточной локализации.

Основные данные о факторах роста получены в исследованиях *in vitro*, в то же время мало известно о местах их синтеза и механизмах их действия *in vivo*. Последние исследования обнаружили заметную гомологию между полипептидами факторов роста и их рецепторов с одной стороны, и вирусными и клеточными онкогенами с другой, что несомненно доказывает ведущую роль факторов роста в развитии опухолей.

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) – полипептид с М.М. 6 000 D. Найден во многих нормальных и патологически измененных тканях. Он оказывает эндокринное, паракринное и экзокринное воздействие. Основным местом синтеза ЭФР служат слюнные железы, кроме этого выявлен в пилорических и дуоденальных железах, почечных канальцах, поджелудочной железе, передней доли гипофиза. Структура ЭФР подобна другим полипептидам, принадлежащим к этому семейству: активатору плазминогена, факторов свертывания X и XI и т. д. Рецептор для ЭФР хорошо изученный гликопротеид, найденный на многих клетках. Число рецепторов варьирует в зависимости от типа клеток. Наибольшее число их выявлено на клетках эмбрио-

нальных тканей и пролиферирующих отделах эпителия. Рецептор имеет М.М. 170 000 D и состоит из длинного экстрацеллюлярного домена с двумя богатыми цистеином мотивами, короткого трансмембранного домена и внутриклеточного домена, содержащего тирозинкиназу. Тирозинкиназная активность необходима как для трансдукции сигнала, так и для его реализации. Рецепторы для ЭФР связываются не только с ЭФР, но и с трансформирующим фактором роста (ТФР<sub>β</sub>), который является ведущим медиатором клеточной пролиферации в опухолях и в заживлении ран.

Тромбоцитарный фактор роста состоит из 2-х цепей А и В, связанных дисульфидными мостиками в АА и ВВ-гомодимеры и АВ-гетеродимер. Эти три изоформы отличаются как по физическим свойствам, так и способу секреции. Источники тромбоцитарного фактора роста (ТцФР) - α гранулы тромбоцитов, макрофаги и клетки эпителия. Структурная идентичность В-цепи и протоонкогена c-sis свидетельствуют о том, что ТцФР может играть определенную роль в вирусиндуцированной злокачественной трансформации индуцированных клеток. ТцФР связывается с двумя различными типами рецепторов. α-Рецептор (А-тип) связывает все три изоформы ТцФР, в то время как β-рецептор (В-тип) связывает с высокой аффинностью ВВ, с низкой АВ и не связывает АА изоформу. Рецептор для ТцФР является гликопротеидом с молекулярной массой 185 000 D, который путем аутофосфорилирования связывает ТцФР с клеточной поверхностью. Экстрацеллюлярный домен содержит пять Ig-подобных сегментов и связывает прежде всего ВВ-форму фактора роста.

Фактор роста нервных клеток (НФР) Фактор роста нервных клеток представляет собой комплекс белков, молекулы которых содержат α-, β- и γ-субъединицы. β-Субъединица с молекулярной массой 26 000 D является димером, состоящим из двух идентичных цепей и представляет активную форму фактора роста. НФР стимулирует рост нервной ткани, главным образом, холинэргических нейронов головного мозга. Рецептор для НФР- белок с М.М. 90 000 D. Он экспрессируется на холинэргических нейронах, чувствительных периферических и симпатических нейронах, клетках глии. Полагают, что НФР может играть важную роль в ответе нервных клеток на повреждение.

Инсулиноподобные факторы (ИФР) Сывороточные факторы, относящиеся к семейству инсулина, известны под названием соматомедин С и А. Представляют собой одноцепочечные полипептиды, имеющие до 65% гомологий аминокислотного состава. Инсулиноподобные факторы роста широко распространены во всех тканях и органах, в крови они циркулируют в комплексе со специфическими белками. ИФР принадлежат к семейству белков, обеспечивающих дифференцировку и пролиферацию клеток. Они способны оказывать инсулиноподобное действие. Данные факторы роста секретируются многими клетками и действуют ауто/ или паракринно. Циркулирующие в крови ИФР могут оказывать и эндокринное действие. Данные факторы роста

экспрессируются клетками некоторых опухолей, что подтверждает их возможную роль в злокачественном росте.

Основным фактором регулирующим продукцию ИФР является соматотропин. Гормон роста усиливает секрецию ИФР, подобным действием обладают в некоторой степени также эстроген, паратиреоидный гормон, инсулин. Действие ИФР опосредуется через специальные рецепторы мембранного типа, обладающие тирозинкиназной активностью.

Гепаринсвязывающий фактор (фактор роста фибробластов). Гепаринсвязывающие белки обладают митогенным действием на фибробласты, поэтому их назвали факторами роста фибробластов (ФРФ). Кислая и основная форма ФРФ связываются с высокой аффинностью со специфическими рецепторами, с низкой аффинностью с клеточной поверхностью и ЭЦМ через гепарансульфаты. Рецепторы ФРФ имеют много общего с рецепторами ТцФР: гликозилированную Ig-подобную петлю внеклеточного домена и внутриклеточный тирозинкиназный домен.

Биологическая активность ФРФ разнообразна, но в основном они являются митогенами для различных клеток нейроэктодермального и мезенхимального происхождения. Основная часть ФРФ остается клеточно-ассоциированной и только небольшая часть в условиях нормального роста может обнаруживаться в ЭЦМ.

Трансформирующий фактор роста. Представляет целое семейство гомологичных гетеродимерных белков: ТФР<sub>β</sub>-1, 2,3,4; активины и ингибины. Наиболее широко распространен ТФР<sub>β</sub>-1. Он синтезируется в виде большого прешедственника, содержащего гидрофобную сигнальную последовательность. Активная форма имеет ММ 25 000 D и представляет собой связанный дисульфидными связями гомодимер. Гетеродимер секретируется в виде латентного нековалентно связанного комплекса. Этот комплекс включает в себя сам ТФР<sub>β</sub>, латентно-ассоциированный пептид (ЛАП) и ТФР<sub>β</sub>-связывающий белок. Некоторые опухолевые клетки способны продуцировать активированную форму ТФР<sub>β</sub>. Высокий уровень ТФР<sub>β</sub> найден в тромбоцитах и костной ткани. Пролиферация многих клеток ингибируется трансформирующим фактором, например эндотелиальных, эпителиальных, лимфоидных. Механизм действия ТФР<sub>β</sub> зависит от природы межклеточных контактов и формы клеток, наличия или отсутствия специфических молекул ЭЦМ, также клеток, которые могут усиливать или изменять его действие.

Выделено три типа специфических высокоаффинных рецепторов для ТФР<sub>β</sub>. Рецептор 1-го типа, мономерный трансмембранный белок, имеющий низкую молекулярную массу, обладает высокой аффинностью к трансформирующему фактору. Функции двух других факторов неясны. Однако все три типа рецепторов экспрессируются на большинстве клеток.

ТФР<sub>β</sub> является ключевым регулятором клеточного роста и дифференцировки. Вместе с ФРФ трансформирующий фактор роста является фактором, модулирующим рост сосудов. Активная форма ТФР<sub>β</sub> способна также оказы-

вать эндокринное действие, связываясь в плазме крови с  $\alpha_2$ -макроглобулином.

Онкогенные белки. Клеточная пролиферация контролируется экспрессией протоонкогенов под действием факторов роста. По скорости экспрессии под действием факторов роста данные гены делят на быстро и поздно рострегулирующие. Онкобелки, образующиеся при экспрессии онкогенов, можно разделить на четыре основные группы по механизму их пролиферативного влияния. Первую группу составляют собственно факторы роста и их аналоги. Например, ЭФР, ТцФР. Во вторую группу можно включить рецепторы к факторам роста, в основном обладающие тирозинкиназной активностью (erbB, erbB2). Третья группа включает трансдукторы – GTF-связывающие белки, среди которых наиболее широко распространены представители семейства Ras. Четвертую группу составляют ядерные онкобелки, являющиеся факторами транскрипции (myc, fos, myb, jun). В клетке имеются также супрессорные гены, экспрессия которых приводит к синтезу антионкогенных белков, ингибирующих пролиферацию. Наиболее важными из них считают такие антионкобелки как p53, RB, p105 DCC и другие.

Совместная экспрессия онкогенов и антионкогенов, цитокинов и факторов роста, а также адгезивных молекул, позволяет регулировать жизнедеятельность клеток сложного многоклеточного организма: скорость пролиферации, дифференцировки, апоптоза клеток, реакции на чужеродные агенты.

## 7. Роль информонов в межклеточной коммуникации между макроорганизмами и микробными ассоциациями в микросимбиозах

Появление в процессе эволюции сапрофитов (микроорганизмов, питающихся за счет органических веществ неживых объектов), с последующим приобретением некоторыми из древних сапрофитов факторов патогенности, привело к их адаптации к существованию за счет биологических потенций других организмов, в том числе высших. Это послужило основой формирования специфических биологических систем - паразитоценозов, в которых организмы одного вида являются средой обитания и жертвами другого. Между ними идет непрерывная борьба.

В процессе биологической эволюции у микроорганизмов выработались приспособления к передвижению в пространстве и внедрению в тела очередных жертв по путям пищевых, репродуктивных и других экологических связей между живыми организмами. Эти приспособления обеспечивают в течение миллионов лет жизнь множества разнообразных микробных паразитов, которые могут быть локализованы в различных структурах тканей.

Агрессии микроорганизмов в той или иной степени подвержены все биологические виды. В свою очередь, выживаемость поражаемых видов зависит от их способности вырабатывать в процессе эволюции устойчивость к воздействию патогенных биологических агентов путем совершенствования факторов естественной резистентности и филогенетически более молодых механизмов регуляции специфического иммунного ответа.

Однако уже на ранних этапах эволюции происходило формирование не только антагонистических, но и симбиотических отношений между организмами.

С усложнением многоклеточных происходило совершенствование симбиотических отношений между макро- и микроорганизмами, достигших наибольшего развития у млекопитающих и птиц, у которых происходит формирование, особенно в желудочно-кишечном тракте, характерных для каждого вида микросимбиозов.

В желудочно-кишечном тракте человека и животных, преимущественно в толстом отделе кишечника (а у жвачных и в преджелудках), в симбиозе с макроорганизмами постоянно (в течение всей жизни) обитают облигатные (обязательные, резидентные, автохтонные) сапрофитные бактерии и транзитные (случайные, добавочные, аллохонные) микроорганизмы.

У человека и животных насчитывается микробных клеток больше числа клеток всех органов и тканей. Число облигатных анаэробных микроорганизмов (бифидобактерии и молочно-кислые) в 100-1000 раз превышает число аэробных (кишечная палочка и энтерококки).

Деятельностью микроорганизмов желудочно-кишечного тракта обусловлено поступление в организм животного бактериальных метаболитов, в том числе вторичных нутриентов и продуктов жизнедеятельности бактерий. Среди вторичных нутриентов (первичными являются все всосавшиеся в кровь

продукты гидролиза ферментами животного питательных веществ, а также витамины, минеральные и другие вещества пищи) могут быть модифицированные микрофлорой питательные вещества пищи (синтезируемые бактериями незаменимые аминокислоты, витамины и др.) и балластных веществ (лигнина, целлюлозы, гемицеллюлозы и других неперевариваемых пищеварительными ферментами). Некоторые балластные вещества подвергаются гидролизу при участии бактериальных ферментов до моносахаридов, летучих жирных кислот и др.

Продукты жизнедеятельности бактерий могут быть индифферентными, токсическими или регуляторными. У некоторых видов животных вторичные нутриенты бактериального происхождения (например, у жвачных в преджелудках) являются одними из главных источников питания (незаменимые аминокислоты бактериального белка, моносахариды, летучие жирные кислоты, витамины группы В и др.) Микрофлора в желудочно-кишечном тракте может быть локализована как на поверхности кишечника, так и в содержимом кишечника. Микрофлора кишечной стенки является облигатной, локализованной в интимной близости с эпителиальными клетками слизистой и обеспечивает индивидуальные особенности микрофлоры (колонизационную резистентность), отражающиеся в ее стабильности (А.Л.Бурмистрова, 1997). До 97% микрофлоры кишечной клетки представлено анаэробами: бифидо-, пропионобактериями и др. Микрофлора содержимого полости желудочно-кишечного тракта содержит как облигатную, так и транзитную микрофлору.

Одной из важнейших функций микрофлоры кишечника является ее участие, в кооперации с организмом хозяина, в обеспечении стабильности соответствующего микросимбиоза (приживание облигатной и элиминация транзитной микрофлоры), а тем самым повышение колонизационной резистентности.

Колонизационная резистентность находится, с одной стороны, под прессом транзитной микрофлоры, отражающей состояние окружающей среды, а с другой зависит от состояния организма хозяина (его возраста, состояния нервной, эндокринной и иммунной систем), который сам испытывает непосредственное давление окружающей среды.

Кишечная облигатная микрофлора имеет отношение к иммунной защите организма, участвуя в контроле состава и численности бактериальных популяций путем непосредственного угнетения условно-патогенной микрофлоры и путем стимуляции механизмов местного иммунитета (синтеза локальных антител, включая IgA). У безмикробных животных (в эксперименте), по сравнению с обычными, содержится в 10 раз меньше клеток, продуцирующих IgA и более низкое содержание в плазме крови общего белка,  $\alpha$ -,  $\beta$ -, и  $\gamma$ -глобулинов (А.М.Уголев, 1985).

Возникает вопрос - каким же образом организм хозяина участвует в поддержании, хотя и относительной, стабильности колонизационной резистентности и индивидуального постоянства облигатной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте?

Прежде всего организм-хозяин и микросимбиоценоз представляют собой физиологически и генетически единую, эволюционно сформировавшуюся систему, в которой произошла коадаптация двух систем (хозяина и паразитов). Единство сформировавшейся системы обеспечивается тем, что рецепторы и регуляторные молекулы эукариотических клеток хозяина специфичны по отношению к лигандам и рецепторам облигатных микроорганизмов. Специфичные лиганд-рецепторные взаимодействия могут быть врожденными – генетически обусловленными (видовыми и индивидуальными) и приобретенными (индивидуальными и групповыми). Например, у одноййцевых близнецов отмечается сходность доминирующих анаэробных популяций микрофлоры кишечника, а также сходность выделяемых микробами метаболитов. В то же время возможна приобретенная, главным образом количественная, коррекция колонизационной резистентности под влиянием экологических условий внешней среды, особенностей геохимических провинций, индивидуальных условий жизни.

Облигатные бактерии способны гармонично вписываться в "информационное поле" многоклеточных организмов, используя в интеграции с организмом хозяина многие из тех же сигнальных молекул, что используются для межклеточной коммуникации макроорганизма: молекулы адгезии (чаще выступающие в качестве лигандов) к внеклеточному матриксу (к фибронектину, коллагену, фибриногену), к определенным сахарам (Д-галактозе, N - ацетилгалактозамину, N - ацетилглюкозамину), некоторым последовательностям аминокислот, иммуноглобулинам. Бактериальные лиганды у представителей разных таксономических групп имеют строго индивидуальную химическую структуру (полимеры из уникальных для каждого вида субъединиц белковой, гликолипидной или гликопротеидной природы).

Фиксация на энтероцитах молекул IgA и нахождение в непосредственной близости от них облигатной микрофлоры препятствует адгезии к кишечной слизистой транзитной микрофлоры.

В создании местного иммунитета участвуют оба подкласса IgA (IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>). Секреторный димер IgA<sub>1</sub> - s(IgA<sub>1</sub>)<sub>2</sub> обладает наибольшим сродством к слизистой, ингибируя подвижность и рост посторонних бактерий и препятствуя их адгезии к энтероцитам. IgA<sub>2</sub> не имеет родства со слизистой оболочкой, но обладает устойчивостью к бактериальным пептид-гидролазам. Поэтому он поступает в просвет кишечника и действует как первая линия специфической иммунной защиты, предотвращая абсорбцию кишечных антигенов и патогенов.

Как указано выше, среди бактериальных метаболитов в кишечнике, помимо полезных и индифферентных, образуются и токсические вещества. Некоторые из токсических веществ обладают высокой физиологической активностью и, по-видимому, в процессе эволюции включились в регуляторные системы (гистамин, серотонин, тирамин, кадаверин и другие амины). Например, существует эндогенный (продуцируемый микробами) гистамин, при гиперпродукции которого бактериальной флорой возможно появление язв желудка и кишечника, а также аллергические реакции.

В качестве лигандов сигнальных молекул, используемых в микросимбиозе в качестве "универсального языка" общения между таксономически отдаленными организмами, особенно широко используются регуляторные пептиды, прошедшие долгий путь эволюционного развития от одноклеточных до многоклеточных. Структурная и функциональная консервативность некоторых регуляторных пептидов настолько высока в эволюции, что становятся вполне реальными как влияние данных информонов хозяина на регуляцию метаболических процессов микросимбиоттов, так и влияние информонов микробов на метаболические процессы в клетках хозяина. Например, известна реакция амёб на опиоидные пептиды, активация аденилатциклазы простейших адреналином, участие продуцируемых бактериями регуляторных пептидов в интеграции иммунной и нервной систем.

У инфузорий, грибов, бактерий обнаружено большое число регуляторных пептидов (инсулин, соматостатин, кортикотропин, опиаты, катехоламины и другие гормоноподобные вещества), которые выполняют функцию хемосигналов, их наличие иногда обозначают как "примитивный тип нервной системы" (А.Л.Бурмистрова,1997). Многие из бактерий выделяют в окружающую среду цАМФ, выступающий у них в качестве как внешнего сигнала, так и вторичного посредника, избирательно регулирующего экспрессию многих генов. В клетках и в внеклеточной среде среди бактерий, простейших и грибов выявляя иммунореактивный белок - тимозин L<sub>1</sub>, у бактерий и дрожжей - антигены, относящиеся к белкам семейства иммуноглобулинов, то есть подобные молекулам клеточной адгезии, поверхностным антигенам лимфоидных клеток, рецепторам ростовых факторов (интерлейкинов, интерферонов, эпидермального фактора роста). Многие из перечисленных регуляторных молекул и их рецепторов широко используются прокариотами. Например, некоторые представители *E.coli* имеют рецептороподобные структуры для связывания ИЛ-1 и используют его в качестве стимулирующего фактора роста. Эти и другие факты свидетельствуют о том, что в процессе восприятия сигнала, его трансформации и включения эффекторных ответов, у бактерий принимают участие регуляторные пептиды, в основе функционирования которых заложены те же принципы лиганд-рецепторного взаимодействия, которые характерны для эукариотических клеток хозяина.

Следовательно, организм животных и человека можно рассматривать как единую систему более высокого иерархического уровня, чем отдельный индивидум, в которой в ходе эволюции макроорганизм приобрел функцию доминанты и регулятора всей системы в целом. А.М. Уголев (1985) считает, что в метаболическом смысле макроорганизм является надорганизмом, а кишечная микрофлора - эволюционной формой существования большинства многоклеточных организмов.

В настоящее время все больше накапливается фактов и о возможности влияния бактериальных антигенов кишечника на макроорганизм через взаимосвязанные нервную, эндокринную и иммунную системы. Кишечная нервная система в значительной мере обладает автономностью, в ее состав у человека входит от 80 до 100 млн. нейронов (как и в спинном мозге). Многие



кишечные нейроны являются пептидергическими и вместе с адренергическими и холинергическими нейронами, а также в тесном сотрудничестве с АПУД системой (расположенными единично и группами агудоцитами эндокринными клетками, продуцирующими биогенные амины) и клетками иммунной системы, способны дешифровать и анализировать информацию от антигенов содержимого кишечника. Эту информацию, в значительной мере являющуюся отражением антигенного состава микроорганизмов окружающего мира, регуляторные системы передают в вышестоящие отделы централизованного аппарата управления, в том числе в головной мозг.

Эволюционно обусловленная общность сигнальных молекул (информонов) и рецепторов к ним в нервной, эндокринной, иммунной системах кишечника и в компонентах микросимбиоза, обеспечивает регулирование адаптивных возможностей макроорганизма в ответ на «агрессию» антигенов. При этом, генетически чужеродный антиген распознается только иммунной системой.

Иммунная система кишечника (GALT - gut-associated lymphoid tissues) входит в состав лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками органов, находящихся в контакте с внешним миром (включая респираторный и урогенитальный тракты). В ней преобладают субпопуляции Т- и В-лимфоцитов, обладающих хоминг-рецепторами к слизистым поверхностям.

Аферентным компонентом иммунного ответа (местом вхождения антигенов и инициации иммунного ответа) является преимущественно организованная лимфоидная ткань - пейеровы бляшки, М-клетки которых (дефицитные по лизосомам) транспортируют антигены из кишечной трубки к богатым лизосомами макрофагам фолликулов. Макрофаги предъявляют антигенные детерминанты иммунно-компетентным Т- и В-лимфоцитам, которые, распознав чужеродный антиген, активируются, приобретают способность к пролиферации и дифференцировке в мезентериальных лимфатических узлах, где превращаются в эффекторные (цитолитические Т-клетки, плазматические В-клетки) и в Т- и В-клетки памяти.

Эффекторные клетки и клетки памяти, имея хоминг-рецепторы (интегрины LРАМ-1, СД-44 и др.), возвращаются в слизистую оболочку - в диффузно расположенные в ней лимфоидные структуры (lamina propria) и в межэпителиальные компартменты, где осуществляют свои эффекторные функции (цитолитиз и продукцию антител - преимущественно sIgA) против тех антигенов, с которыми встречались их предшественники (иммунно-компетентные Т- и В-лимфоциты). При повторном поступлении антигена в иммунном ответе принимают участие клетки памяти.

При иммунном ответе антиген, распознаваемый макрофагами, Т- и В-лимфоцитами как генетически чужеродный, вызывает активацию не только иммунной системы, но и (через продукцию макрофагами и лимфоцитами цитокинов, интерлейкинов, нейропептидов и других информонов) нервной и эндокринной систем, которые по принципу обратной связи могут усилить или ослабить иммунный ответ. Таким образом, возникшая в ходе эволюции система микросимбиоза у животных может в значительной мере изме-

нять состав нутриентов, образующихся в желудочно-кишечном тракте из питательных и балластных веществ пищи, а также участвовать в создании первого адаптационного уровня защиты макроорганизма от антигенов, в том числе патогенов.

Участие микробиоценоза желудочно-кишечного тракта в адаптации макроорганизма к условиям среды обеспечивается тем, что облигатная микрофлора способна (А.Л.Бурмистрова, 1997):

- выступать в качестве активного "буфера", оказывая регуляторное влияние на транзитную микрофлору;
- являться физиологическим активатором иммунной системы, поддерживая необходимый уровень ее активности;
- быть преобразователем сигналов окружающей среды, путем приема информации от транзитной микрофлоры, ее реализации на уровне микробиоценоза и симбиоценоза, с последующей передачей информации через иммунную в другие регуляторные системы централизованного аппарата управления.

При этом индивидуальный микробный фенотип контролируется у животных иммунной системой, в зависимости от характера сигналов микробных ассоциаций микробиоценозов пищеварительного тракта и окружающей среды.

Важную роль в интегрировании нейроэндокринноиммунной регуляции метаболизма, гомеостаза и адаптации у высших животных в ответ на поступление в организм чужеродных антигенов, в том числе патогенов, принадлежит гипоталамо-гипофизарной системе. Эта регулирующая эволюционно обусловлена общностью сигнальных молекул (информонов) и рецепторов к ним в нервной, эндокринной, иммунной системах кишечника и центральных органах этих систем, а также в компонентах микросимбиоценозов.

## 8. Некоторые возрастные особенности регуляторных процессов у животных

Изучая механизм действия информонов, следует помнить, что для проявления действия того или иного информона необходимо наличие всех звеньев сложной цепи регуляторных процессов, совершающихся при участии информонов:

- клетка (эндокринной железы, нейрон, иммунной системы) – продуцент информона;
- активная форма информона;
- ткань или орган-мишень;
- для некоторых информонов необходимы посредники, передающие информацию от сигнальных молекул на внутриклеточные эффекторные системы.

Перечисленные звенья регуляторных процессов на различных этапах онтогенеза могут быть выражены неодинаково для различных информонов.

В частности, для проявления гормонального эффекта необходимо прежде всего наличие функционирующей эндокринной железы и ткани-мишени, способной реагировать на определенный гормон.

Образование гормонов и «созревание» тканей-мишеней в развивающемся организме не всегда совпадают во времени.

В ранний период эмбриогенеза, когда у зародыша нет даже зачатков эндокринных желез и вследствие этого не происходит образования гормонов, регуляторами основных клеточных процессов выступают другие функционально активные вещества (ацетилхолин, катехоламины, серотонин), которые могут быть обнаружены сразу после оплодотворения.

Ацетилхолин, катехоламины, серотонин продуцируются на начальных этапах онтогенеза неспециализированными клетками, и их иногда объединяют в группу, обозначаемую как цитогормоны с локальным характером действия.

У ранних эмбрионов цитогормоны являются внутриклеточными регуляторами (на начальной одноклеточной стадии), затем во время стадий дробления появляется межклеточная регуляторная функция, а в ходе дальнейшего эмбриогенеза биологически активные вещества приобретают более специализированные функции «донервных» медиаторов, связанных с различными формами межклеточных взаимодействий.

На более поздних стадиях онтогенеза наряду с действием цитогормонов начинают проявлять свое действие истинные дистантные гормоны, местом образования которых служат специализированные органы – железы внутренней секреции, а также медиаторы нервной системы (нейротрансмиттеры).

Промежуточное положение между цитогормонами и гормонами дистантного действия, функционирующими на поздних стадиях развития, занимают гормональные продукты, образуемые зачатками эндокринных желез.

Имеющиеся данные свидетельствуют о ранней биохимической дифференцировке клеток эндокринных желез в направлении осуществления ими генетически запрограммированных специфических синтезов, совпадающей по времени с началом появления морфологических отличий в клетках зачатка железы от клеток соседних тканей. Так, появление инсулина и глюкагона в зачатке поджелудочной железы плода человека обнаружено в возрасте 7 недель, зародыша крысы – в 11 дней, у куриного эмбриона – на 3-й день периода инкубации.

Функция ранних гормональных продуктов остается неясной. Будучи близкими по характеру образования и действия к первичным цитогормонам эти продукты зачатков эндокринных желез, по-видимому, функционально дополняют каким-то образом действие цитогормонов.

«Почерк становления и развития» разных желез эндокринной системы отличается значительной гетерогенностью, отражающей гетерохронности развития организма.

В эмбриогенезе у плода человека активность одних гормонов гипофиза (соматотропина и тиротропина) непрерывно нарастает, в то же время в инкретции других гормонов гипофиза (кортикотропина, лютропина и особенно фоллитропина у будущих женских особей) имеется максимум повышения который падает на средний период эмбриогенеза.

Резко выраженный максимум в содержании фоллитропина отражает формирование полового развития эмбриона в женском направлении. У будущих самцов этот максимум выражен гораздо слабее, вероятно, в связи с тем, что в первой трети беременности у будущих самцов появляется первая генерация клеток Лейдига, продуцирующих тестостерон, стимулирующий половое развитие эмбриона в сторону мужской особи. Вторая генерация клеток Лейдига появляется в семенниках после рождения – в период полового созревания.

В последние несколько недель беременности повышается синтез кортизола (гидрокортизона) корой надпочечников плода (Репродуктивная эндокринология, 1998, т.2). Кортизол индуцирует формирование и созревание различных ферментных систем печени плода (гликонеогенеза, аминотрансфераз, аргининсинтетазы и др.), созревание эпителия тонкого кишечника. У овец кортизол стимулирует созревание  $\beta$ -клеток поджелудочной железы у плода, секрецию в плаценте эстрогенов и простагландина F<sub>2a</sub> (ПГF<sub>2a</sub>), являющегося одним из факторов инициации родов. Концентрация глюкокортикоидов в циркуляторном русле плода овцы постепенно нарастает в последние 15 дней, особенно резко в последние 3 – 4 дня, что ведет к усилению синтеза эстрогенов, предшественником которых является прогестерон. Именно повышение отношения эстрогены / прогестерон вызывает активацию простагландинсинтазы и синтез в большом количестве ПГF<sub>2a</sub>, усиливающего сокращения матки (во взаимодействии с другими информонами – окситоцином, простагланцином, тромбоксанами и др.).

Считается, что начатое становление и прогрессивное развитие эндокринных желез происходит в эмбриогенезе и раннем постэмбриогенезе (В.Н.

Никитин, 1977, В.И. Максимов, 1999), максимальное развитие эндокринной функции наступает в ранней зрелости организма, а у взрослых организмов возможно увеличение дисгармонии в эндокринной ситуации организма. По данным В.И. Максимова (1999) у новорожденных поросят и ягнят эндокринная система находится в состоянии высокой функциональной активности. В последующие возрастные периоды отмечена разная степень изменения отдельных гормонов, в том числе и зависящая от вида животных. Так, например, в годовалом возрасте концентрация инсулина в поджелудочной железе у овец ниже, чем у новорожденных ягнят, а у свиней того же возраста выше, чем у новорожденных поросят. Это, вероятно, связано с более низкой концентрацией глюкозы в плазме крови жвачных животных, то есть согласуется с особенностями обмена вещества у овец и свиней.

Нормальное функционирование всех систем регуляции (нервной, эндокринной и иммунной) возможно лишь при тесном их взаимодействии. Формирование нейроэндокриноиммунных взаимодействий закладывается уже в раннем онтогенезе. Большинство млекопитающих рождается примерно с одинаковой степенью зрелости иммунной и нервной систем, когда эти системы не получают по наследству ни нейрологической, ни иммунологической памяти, чтобы их приобрести в течение индивидуальной жизни.

Центральным звеном, координирующим нейроэндокриноиммунное взаимодействие, является гипоталамо-гипофизарная система, которая осуществляет в пренатальном онтогенезе не только регуляторную, но и морфогенетическую функцию, контролируя в том числе созревание иммунной системы и включение ее в регуляцию иммунологических функций. В частности, выраженность эндокринной функции гипофиза плода коррелирует с массой тимуса и созреванием в нем лимфоцитов (Л.А. Захаров, М.В. Угрюмов, 1998).

В постнатальный период завершается формирование нейроэндокриноиммунных взаимодействий и объединение нервной, иммунной и эндокринной систем в общую нейроиммунноэндокринную систему. В этой системе они взаимодействуют по принципу взаимной регуляции, осуществляемой нейромедиаторами, нейропептидами, трофическими факторами, гормонами, цитокинами, через соответствующий рецепторный аппарат.

Нарушение взаимосвязи основных систем регуляции, в том числе ведущее к недостаточности выработки каких-либо информонов, может привести к тяжелым, иногда необратимым нарушениям регуляторных процессов в организме. Так, например, при недостаточности функции тимуса, в частности в отношении пептидных гормонов, возможно резкое понижение резистентности организма, вследствие иммунного дефицита, угрожающего жизни животного. При недостаточности в раннем возрасте функции гипофиза в отношении соматотропина, возможно развитие гипофизарной карликовости, нередко сопровождающейся бесплодием, вследствие одновременной недостаточности при этом синтеза гонадотропинов. При дефиците тиреоидных гормонов у новорожденных нарушаются процессы роста и дифференцировки клеток, в том числе нейронов (недостаточное развитие синапсов в мозге, гипоплазия коры больших полушарий и задержка миелинизации нервных воло-

кон), что ведет к умственной отсталости детей (кретинизму), а у животных к невозможности образования условных рефлексов. Нередки и аутоиммунные заболевания.

У взрослых животных для большинства информонов характерно постепенное снижение их синтеза и поступления в кровь и ткани, обусловленное постепенным падением функциональной полноценности эндокринных желез и органов иммунной системы к старости.

Однако в старости для некоторых желез (преимущественно продуцирующих тропные гормоны) возникает дисгармония между активностью некоторых гормонов гипофиза и стимулируемых ими гормонов периферических желез. В частности, в старости происходит расхождение в интенсивности инкреции тиротропина и тиреоидных гормонов, гонадотропинов и половых гормонов. Наиболее выражена дисгармония между гонадотропными гормонами гипофиза, образование которых с возрастом значительно возрастает, и половыми гормонами (андрогенами и эстрогенами), активность которых в старости падает вследствие деградации половых желез.

Состояние повышенной продукции некоторых тропных гормонов гипофиза в старости связано, по-видимому, с компенсаторной активацией, как «попыткой» организма стимулировать функцию деградирующих периферических эндокринных желез (особенно половых), а также со сниженной восприимчивостью гипоталамо-гипофизарной системы к обратному действию стимулируемых ею гормонов. Поэтому эндокринная ситуация в старости характеризуется не столько падением активности ряда желез, сколько дисгармонией в функционировании всей системы эндокринных желез, при резком снижении одних из них (тимуса, половых желез), сохранении на достаточном, хотя и сниженном уровне, эндокринной функции других (большинства эндокринных желез) и даже повышении инкреции третьих (прежде всего гонадотропинов гипофиза).

При изучении нейроэндокринных механизмов, связанных со старением, с помощью методов молекулярной биологии и иммуноцитохимии было показано, что в гипоталамических нейронах существует кроссинговер между близко расположенными генами вазопрессина и окситоцина.

Выделенные гибридные транскрипты кодировали N-терминальную часть предшественника вазопрессина, соединенную с C-терминальной частью предшественника окситоцина и наоборот. Иммуноцитохимическими методами удалось обнаружить, что гибридные белки локализованы в эндоплазматическом ретикулуме. Генетические рекомбинации в нейронах связаны со старением и, как показали эксперименты, могут быть следствием стресса. Например, при осмотическом стрессе в нейронах в условиях синтеза большого количества предшественника вазопрессина обнаружены матричные РНК как вазопрессина, так и окситоцина. Что касается старения, то было показано, что с возрастом у крыс увеличивается количество гибридных вазопрессин / окситоцин транскриптов, которые практически отсутствуют у однодневных и семидневных животных. Нарушение в механизмах защиты нейронов от нежелательных генетических рекомбинаций, связанное со старением

ем, приводит к появлению гибридных генов, представляющих угрозу нормальному функционированию нервных клеток. Поскольку не существует данных о секреции гибридных гормонов из нейронов, то, вероятно, их роль ограничивается повреждающим действием на саму нервную клетку.

В основе любого функционального гормонального эффекта лежит взаимодействие гормона с тканями-мишенями. Специфичность гормонального действия определяется не самим гормоном, а избирательным ответом органа-мишени. Для того, чтобы могло быть осуществлено взаимодействие между гормоном и тканью-мишенью, необходимо наличие в циркуляции свободной формы гормона не ниже порогового уровня, а также готовность ткани-мишени к осуществлению специфической реакции на действие гормона.

Реактивность ткани-мишени к гормону появляется только на определенной стадии развития, когда ткань, дифференцируясь, достигает необходимой ступени зрелости. В эффекторных клетках зрелой ткани-мишени появляются обладающие высоким сродством к гормону специфические белки, способные образовывать с гормоном комплексы, обеспечивающие прямое или опосредованное действие гормона на внутриклеточные компоненты, которые в зрелых тканях-мишенях обладают способностью реализовать конечные физиологические эффекты.

Специфическая рецепция гормонов в онтогенезе еще слабо изучена, так как исследование различных этапов развития гормональных мишеней методически сложно. Однако известно, что ткани-мишени приобретают способность реагировать специфическим образом на гормональное воздействие лишь в определенном возрасте.

В различных тканях очень рано обнаруживается способность к связыванию андрогенов, что отражает участие андрогенов в общих метаболических процессах. Избирательное же поглощение андрогенов тканями-мишенями проявляется в строго определенном возрасте зародыша (у крыс с 16-17-дневного возраста), когда поглощение андрогенов тканями-мишенями резко возрастает.

Многие ткани-мишени способны реагировать на действие гормона несколько ранее, чем появляется в крови зародыша и достигает необходимого порогового уровня соответствующий гормон, некоторые ткани-мишени, по-видимому, приобретают такую способность позже начала функционирования в организме соответствующих эндокринных желез.

Интенсивность взаимодействия рецепторов тканей-мишеней с гормонами в онтогенезе не остается постоянной. Комплексообразование белка-рецептора с эстрадиолом в матке у новорожденных крыс ниже, чем у одномесячных. У старых крыс клеточные рецепторы для соматотропина исчезают или количество их уменьшается.

Концентрация рецепторов с высоким сродством к глюкокортикоидам с возрастом прогрессивно уменьшается в расчете на единицу массы чувствительных к ним органов и тканей и на концентрацию белка в цитозоле. Хроматин печени эмбрионов крыс связывает в 10-14 раз меньше гидрокортизона, чем хроматин печени взрослых животных, а к четвертому дню после рожде-

ния – всего в 1,6-3 раза меньше, чем у взрослых крыс. У людей в возрасте 66-80 лет связывание гидрокортизона белками печени составляет лишь 13% от связывания его в возрасте 30-40 лет.

В некоторых случаях наблюдается отсутствие реактивности тканевых мишеней к гормонам, вводимым в организм в определенные возрастные периоды даже при наличии хорошо развитых рецепторов. Для отдельных тканей, в частности, установлена способность преждевременной индукции ферментов в ответ на воздействие определенных факторов и появление такой реактивности к гормону только в строго определенном возрасте. Так, например, тирозинаминотрансфераза и фосфоэнолпируваткарбоксилаза в печени индуцируются глюкокортикоидами в постнатальном периоде и не индуцируются при введении этих гормонов в пренатальном периоде даже при наличии достаточно развитых глюкокортикоидных рецепторов. Однако эти же ферменты могут быть в печени зародыша преждевременно активированы введением глюкогона, цАМФ и преждевременными родами. По-видимому, для проявления гормонального эффекта глюкокортикоидов по отношению к вышеназванным ферментам необходимо наличие каких-то дополнительных факторов, которые включаются в постнатальный период.

В различные периоды онтогенеза пока не удалось установить достоверных изменений концентрации в тканях цАМФ, играющего важную роль в механизме действия белковых, пептидных гормонов и катехоламинов. Активность аденилатциклазы у крыс наиболее высока в первые недели после рождения, затем с возрастом падает, причем по-разному в разных органах и тканях: в жировой ткани – в период от 1 до 3-месячного возраста, в гомогенатах печени – в период от 3 до 12-месячного возраста, без дальнейших изменений в старости. Такая же тенденция отмечена в отношении гуанилатциклазы. Активность фосфодиэстераз наиболее высока у крыс в течение первого месяца жизни и понижается с возрастом.

Развитие гормональных мишеней и их взаимодействие с гормонами на разных этапах онтогенеза во многом еще неясны. Известно, например, что некоторых гормонов у плодов содержится иногда во много раз больше, чем у взрослых, в то время как биологическая роль их на разных этапах развития плода является неизвестной. Так, активность зародышевой щитовидной железы по сравнению с материнской у крупного рогатого скота выше в 7 раз, у человека в 10 раз; концентрация тестостерона в ткани семенника у 18,5-дневного зародыша крысы в 100 раз выше, чем у крыс 2-месячного возраста.

В различные периоды онтогенеза роль гормонов может быть различна. На ранних этапах развития организма гормоны выступают преимущественно как индукторы роста и дифференцировки, а на более поздних этапах преимущественно как регуляторы размера или уровня функций. Как индукторы роста и дифференцировки гормоны являются абсолютно необходимыми агентами, а вызываемое ими действие носит необратимый характер. Действие гормонов как регуляторов функций (активационный тип гормонального действия) имеет обычно обратимый характер.



Гормональная функция периферических эндокринных желез в начальный период своей активности осуществляется относительно автономно. Высшие центры регуляции – гипоталамус и гипофиз – не оказывают своего влияния в течение ранних этапов развития эндокринных желез. Лишь позднее, в разной степени и в разные сроки зародышевого развития для разных желез гормональная функция попадает под контроль тропных гормонов гипофиза. Неодинакова в отношении различных желез и их зависимость от гипоталамуса. Установлено, что адренкортикальная функция у различных видов животных, а также у человека уже в пренатальном периоде находится под контролем зародышевого гипоталамуса.

Имеются данные о том, что гипофизарно-адреналовая система у человека и животных способна реагировать на стрессорные стимулы еще до рождения. Плоды крысы уже в 19 дней развития могут отвечать на введение адреналина значительным снижением уровня аскорбиновой кислоты в надпочечниках и увеличением кортикостерона в плазме крови, причем у гипофизэктомированных плодов (путем декапитации) введение одного адреналина не вызывает ответной реакции, введение адреналина после инъекции кортикотропина ведет к значительному снижению содержания аскорбиновой кислоты в надпочечниках, что свидетельствует о важной роли кортикотропина плода в стрессорной реакции.

С другой стороны, в литературе имеются указания на наличие рефрактерности к стрессорным стимулам у плодов крыс и в первое время после рождения (М.С. Мицкевич, 1978). Появление реактивности (снижение содержания аскорбиновой кислоты) в ответ на введение кортикотропина отмечено у 4-дневных, в ответ на хирургическую травму и электроток – у 7-8-дневных, на охлаждение – у 16-дневных крысят.

Вероятно, что ответная реакция на стрессорное воздействие у плодов и новорожденных животных зависит от характера и силы раздражителя. Наличие реактивности (повышение в крови кортикостероидов) на стрессорные воздействия (родовая травма, введение кортикотропина) отмечено у плодов и новорожденных детей.

Во многих случаях стресс-ареактивному периоду предшествует стресс-реактивный период, во время которого родовой стресс и воздействие новых условий вызывают относительную гиперфункцию гипоталамо-гипофизарной системы в течение первых дней жизни, так что дополнительный стрессор не может вызвать дальнейшую стимуляцию.

Длительность стресс-ареактивного периода зависит от общего развития новорожденного к моменту рождения – у более развитых новорожденных реактивность наступает раньше, чем у более слабых. Не исключено также, что стресс-ареактивность у животных после рождения обуславливается низким содержанием в этот период катехоламинов в гипоталамусе.

В процессе формирования нейроэндокринных механизмов испытывают на себе влияние как низшие уровни со стороны высших, так и высшие со стороны низших. Например, при дифференцировке гипоталамуса выявлена роль половых гормонов в становлении гипоталамического контроля половой

функции. Как было сказано выше, у самок гипофиз секретирует гонадотропины циклически, а у самцов на более постоянном уровне. Для обеспечения мужского типа гипоталамической функции гипоталамус в раннем онтогенезе должен обязательно подвергнуться воздействию мужского полового гормона. Если это как-либо предотвратить, то гипоталамическая регуляция гонадотропной функции у таких самцов приобретает типичный для самки циклический характер.

## 9. Применение гормонов

Гормоны и их препараты широко используются в медицине и ветеринарии для лечения болезней, вызванных гормональной недостаточностью.

В настоящее время удалось точно установить причины некоторых эндокринных заболеваний - они могут быть обусловлены как избыточной, так и недостаточной продукцией гормонов, дефектами рецепторов и посредников определенных гормонов, нарушением механизмов обратной связи. Зная свойства, физиологические и биохимические механизмы действия гормонов и выявив синдромы эндокринного заболевания, обусловленного дисбалансом гормонов, можно назначить соответствующее эффективное лечение.

При использовании гормонов необходимо учитывать видовую специфичность и возрастные особенности проявления действия некоторых гормонов.

Строгой видовой специфичностью гормонального эффекта у большинства животных и человека обладает соматотропин. В связи с этим эффективное лечение гипофизарной карликовости (вернее, ее профилактика) стало возможным лишь после получения человеческого соматотропина генноинженерным способом, причем влияние на процессы роста соматотропин оказывает лишь на ранних стадиях онтогенеза.

Некоторые гормоны, в частности инсулин, не обладая видовой специфичностью в отношении гормонального эффекта, имеют выраженную видовую иммунологическую специфичность. Поэтому для человека при сахарном диабете в течение многих десятилетий использовали лишь инсулин свиней, отличающийся от инсулина человека лишь по одной аминокислоте, а в последние годы - человеческий генноинженерный инсулин.

Йодосодержащие гормоны щитовидной железы (тироксин и трийодтиронин) участвуют в регуляции всех видов обмена веществ во все возрастные периоды и не обладают видовой специфичностью. Эти тиреоидные гормоны применяются при гипофункции щитовидной железы в любом возрасте. Однако лишь в раннем возрасте (в первые 1-3 месяца жизни ребенка) можно (введением тиреоидных гормонов) предупреждать развитие кретинизма - карликовости, сопровождающейся слабоумием вследствие нарушения дифференцировки нейронов при недостатке тиреоидных гормонов. В некоторых случаях, связанных с недостаточностью йода в пище (при эндемическом зобе), достаточно удовлетворить потребность организма в йоде путем использования, например, йодированной соли. При гиперфункции щитовидной железы (при базедовой болезни) нередко возникает необходимость частичного снижения ее функциональной активности, в том числе путем оперативного вмешательства.

Катехоламины и кортикостероиды также не обладают видовой специфичностью.

Катехоламины (адреналин, норадреналин, дофамин), принимающие участие в регуляции обмена углеводов, а также в обеспечении адаптации ор-

ганизма человека и животных к острым и хроническим стрессам, используются при некоторых нарушениях регуляции сердечно-сосудистой системы (при гипотонии, остановке сердца), при резком снижении содержания сахара в крови (при инсулиновом шоке.).

Глюкокортикоиды широко применяются в качестве мощного противовоспалительного средства как местного, так и при некоторых аутоиммунных заболеваниях (например, при ревматоидном артрите, ревмокардите и др.), при которых используется способность глюкокортикоидов угнетать реактивность иммунной системы.

Половые гормоны, влияющие не только на процессы размножения, но и оказывающие стимулирующее влияние на анаболические процессы (Йена С.С.К., Джаффе, 1998), применяются как для повышения воспроизводительной способности животных и человека, так и для усиления анаболических (восстановительных процессов) после перенесённых заболеваний, тяжёлых физических нагрузок. Особенно часто как «анаболики» используют синтетические аналоги андрогенов (анаболические стероиды), у которых значительно снижено андрогенное и усилено анаболическое действие.

Анаболические стероиды отнесены к допинговым веществам, запрещенным к использованию в период спортивных соревнований и с целью лечения, так как после кратковременного повышения работоспособности они, как многие другие допинговые вещества, вызывают её снижение, обусловленное неэкономичной деятельностью организма при физической нагрузке, предельным напряжением функции и исчерпанием ресурсов. В результате возможно усиление последствия нагрузок, удлинение процесса восстановления, развитие различных патологических состояний, вплоть до случаев смерти на соревнованиях или вскоре после них (В.И. Покровский, 1994).

Следует иметь в виду, что при длительном введении в организм человека и животных гормонов, особенно в больших дозах, по принципу обратной связи возможно угнетение синтеза собственных гормонов и даже атрофия клеток-продуцентов данных гормонов, с неблагоприятным исходом после прекращения применения гормонов. В частности, глюкокортикоидные препараты могут вызывать многочисленные и нередко опасные побочные эффекты (изъязвление слизистой оболочки и двенадцатиперстной кишки, остеопороз, снижение сопротивляемости к инфекционным болезням и их обострение), а при длительном применении глюкокортикоидов может развиться угнетение функции коры надпочечников (надпочечниковая недостаточность). При местном применении глюкокортикоиды могут вызвать атрофические изменения кожи и обострение кожных инфекционных процессов.

В связи с возможностью возникновения побочных эффектов гормональные препараты назначают только при наличии четких показаний к применению, а лечение гормонами должно проводиться под тщательным контролем врача.

При лечении эндокринных расстройств следует также учитывать то, что в основе патогенеза многих из них лежат аутоиммунные механизмы.

Аутоиммунные механизмы установлены при диффузном токсическом зобе, аутоиммунном тиреоидите и других заболеваниях щитовидной железы, при которых антигенами выступают тиреоглобулин, тиреопероксидаза, рецептор к тиреотропину. Аутоантитела к антигенам островков Лангерганса (в том числе  $\beta$ -клеток) выявляются у 50-70 % больных инсулинзависимым диабетом, к функциональной ткани надпочечников у 50-55 % больных аддисоновой болезнью (первичная атрофия коры надпочечников). Бесплодие у самцов и самок животных возможно не только за счет гормональных расстройств, но и при появлении антиспермальных антител в половых железах самцов и в половых путях самок (аналогичное возможно и у мужчин, и у женщин).

Гормональные препараты успешно используются в животноводстве для повышения продуктивности животных (соматотропин, инсулин, тиреоидные гормоны, анаболические стероиды и др.) Однако применение гормональных препаратов в животноводстве необходимо сопровождать жестким контролем остаточного содержания гормонов в готовых продуктах и должно быть прекращено за определенный срок до убоя животных на мясо (или получения другой продукции), достаточный для полного выведения гормонов из организма с целью получения продукции, свободной от введенных в организм гормонов. Всё же наибольшее распространение в животноводстве получило использование гормонов для регуляции процессов воспроизводства.

В современных условиях интенсификации животноводства возникла постоянная необходимость в активном регулировании процессов воспроизводства. Регуляция воспроизводства сельскохозяйственных животных служит решающей предпосылкой наиболее полного обеспечения населения продуктами питания.

Технологией промышленного производства молока предусматривается равномерное распределение отелов в течение года и ежегодное получение теленка от каждой коровы. Между тем во многих странах существенной причиной снижения экономической эффективности молочного и мясного скотоводства служит низкий показатель репродуктивной функции скота.

Вопросы регуляции процессов воспроизводства приобретают важное значение и в отрасли ягнцеводства. При этом обращают внимание на сокращение сроков между ягнениями за счет ликвидации сезонности и получение двух приплодов в год.

В отрасли свиноводства также имеется много неиспользованных резервов интенсификации воспроизводства: интенсивное выращивание и своевременное осеменение ремонтных свинок, повышение плодовитости маток, уплотнение опоросов, предупреждение эмбриональной смертности, снижение гибели поросят после рождения. Это позволит получать от каждой свиноматки в год 2,5-2,8 опороса (25-30 и более поросят).

Успехи биологической науки в изучении нейроэндокринных механизмов регуляции функций размножения создали необходимые предпосылки для разработки эффективных методов контроля воспроизводства основных видов сельскохозяйственных животных.

В настоящее время для контроля воспроизводительных функций сельскохозяйственных животных применяют следующие препараты – гонадотропины, андрогены, эстрогены, гестагены, простагландины и др.

Гонадотропины- гормоны, стимулирующие развитие и стимулирование половых желёз. Синтез и секреция гонадотропных гормонов происходит под действием соответствующих гипоталамических нейрогормонов в передней доле гипофиза, хорионический гонадотропин синтезируется во «временной» эндокринной железе- плаценте. К ним относятся лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ) гормоны, хорионический гонадотропин.

Андрогены (от греч. Andros- мужчина, gennaо- производить)- мужские половые гормоны. В эмбриональный период влияют на дифференцировку пола зародыша, а в период полового созревания стимулируют сперматогенез и формирование общего статуса мужской особи. К андрогенным препаратам относят метилтестостерон, тестостерона пропионат и тестэнат.

Эстрогены – женские половые гормоны. Стимулируют рост и развитие женских половых органов и вторичных половых признаков, специфически влияют на обмен веществ в организме в целом и в отдельных органах (матке, молочной железе, яичниках и др.).

Гестагены (от лат. Gestare- носить, быть беременной и от греч. Gennaо - производить) – препараты естественного гестагенного гормона прогестерона и его синтетических аналогов. В качестве гестагенных препаратов используют прогестерон, оксипрогестерона капронат, прегнин, норэтистерон и ализстренол.

Простагландины ненасыщенные соединения типа жирных кислот, с 20-ю углеродными атомами и 2 -3-мя ненасыщенными связями. Обнаружены в мозге, лёгких, почках и других органах и тканях животных. Наиболее изучен из них  $F_{2\alpha}$ , который выполняет важную роль в процессе размножения.

### Использование гормонов для ускорения полового созревания

В последнее время наблюдается заметный интерес к изучению путей и способов снижения возраста первого осеменения при условии наступления у животных и половой, и физиологической зрелости. Поэтому разработка рациональной техники вызывания и синхронизации половой зрелости у сельскохозяйственных животных имеет практический интерес.

Яичники свинок способны хорошо реагировать на экзогенные гонадотропины с наступлением времени, когда они достигают естественной половозрелости. В то же время, свиньи отличаются от крупного рогатого скота и овец тем, что у них не удается получить полноценные ооциты в очень раннем возрасте. Ряду исследователей не удалось добиться развития фолликулов и овуляции у поросят 2-месячного возраста или старше в результате обработки их гонадотропинами (Kather L., Smidt D., 1975; Oxsender W.D. et. al., 1979).

Обычно свинки достигают половозрелости в возрасте 6-8 месяцев, хотя время первой охоты может значительно колебаться в связи с генетическими и внешними факторами. Наблюдения за свиньями позволяют предполагать, что

наступление половозрелости не ограничивается функцией эстрогенного механизма обратной связи или секреторной активностью гипофиза или яичников. Очевидно, что у свинок, как и у молодняка других сельскохозяйственных животных, наступление половозрелости является следствием снижения активности тормозных механизмов и (или) уменьшения отрицательного действия стероидов яичника. В результате стимулируется пульсирующее выделение гонадотропин-рилизинг-гормона, и вследствие этого возрастает циклический выброс лютеинизирующего гормона, что в свою очередь активизирует функцию яичников.

Половое созревание у свинок наступает в возрасте 230-240 дней. Однако, в промышленных условиях содержания без применения методов, стимулирующих половое созревание при среднем возрасте 255 дней, менее 50% свинок могут быть половозрелыми.

Биотехнические методы ускорения полового созревания разработаны достаточно хорошо. Из ряда работ (Dziuk P.J., 1977; Baker R.D., Rajmahendran R., 1973; Schlegel et. al., 1978; Милованов В.К., Соколовская И.И., 1984; Остин К., Шорт Р., 1987; Полянцев Н.И., 1990) видно, что равновесие между стимулирующими и тормозящими факторами сдвигается введением извне гонадотропинов. Яичник, уже готовый к функционированию, побуждается экзогенными гонадотропинами к созреванию фолликулов и овуляции. Если синтез эстрогенов яичников, а затем и гестагенов достаточен для десенсибилизации гипоталамических ядер, то наступает половая зрелость. Если синтез гормонов яичников после вынужденной стимуляции недостаточен для десенсибилизации ядер, то циклы не наступают и обработка приводит к ложной половой зрелости.

Schilling E., Cerne F. (1972) наблюдали овуляцию и циклы более чем у 90 % 6-месячных свинок, обработанных смесью, состоящей из гонадотропинов (СЖК) и хориогонадотропинов человека. На 4-й и 5-й дни после обработки свинок осеменили. При убое животных через 30 дней 66% из них оказались супоросными. В другой подобной работе супоросность составила лишь 10-33 % (Rampasek G.V. et. al., 1976).

Для ускорения наступления половой зрелости кроме гонадотропинов применяют сочетание 200 ед фолликулостимулирующего гормона гипофиза (например, фоллестиман-вет) и 200-300 ед хориогонадотропина человека (ЧХГТ). Дополнительная инъекция ЧХГТ тремя днями позднее повышает эффективность (Бергфельд и др., 1977, цит. По В.К. Милованову, И.И. Соколовской, 1984).

В прошлом не придавали большого значения факторам, обуславливающим половое созревание крупного рогатого скота, хотя много говорилось в пользу сокращения нерепродуктивной фазы жизни телок как молочных, так и мясных пород, т.е. периода, который заканчивается первым результативным осеменением. В своей классической работе по воспроизводству крупного рогатого скота Дж. Хэммонд (1927) определил средний возраст наступления половой зрелости телок молочных пород-9 мес. По ранним обзорным данным

средний возраст полового созревания телок составил 8 (джерсен), 11 (фризы), 13 (айрширы) месяцев.

Наступление физиологической зрелости у телок определяется в первую очередь возрастом и массой тела, хотя они значительно колеблются в зависимости от породы. Физиологическая зрелость наступает, когда телка достигает  $\frac{2}{3}$  массы взрослых животных. Это зависит в первую очередь от уровня кормления, а не от возраста. Так, если кормление обеспечивает среднесуточный прирост около 500 г, то высокий результат осеменения может быть в возрасте 7-12 мес. В то же время снижение этого показателя до 200-300 г заметно влияет на возраст полового созревания.

Хотя еще недостаточны знания эндокринных механизмов, обуславливающих половое созревание, разработаны способы стимуляции охоты у неполовозрелых телок. С.П. Хомин (1985) телкам в возрасте 18-24 мес вводил по 25 мг прогестерона ежедневно в течение 10 дней. При этом в течение 30 дней после обработки прогестероном половая цикличность проявилась у 65,2 % телок, было оплодотворено за 2 половых цикла 90% телок.

Одним из основных факторов повышения продуктивности овец является получение от них приплода как можно в более раннем возрасте. Преимущество ранних случек заключается в снижении затрат на содержание животных перед началом размножения, сокращении периода жизни без приплода и в более быстрой отдаче от селекции и увеличении продолжительности продуктивной жизни.

В настоящее время накопилось много сведений о контроле и вызывании охоты у взрослых овец. В то же время мало известно о контроле размножения ярок. В целом гормональная обработка более эффективна ближе к моменту естественного начала половой активности ярок.

Некоторые исследователи (Foote W.C., Matthews D.U., 1969) показали возможность вызывания полового созревания ярок с помощью стероидов и гонадотропинов. Однако, по мнению других ученых, ярка в годовалом возрасте должна иметь соответствующую живую массу, чтобы принести нормальное здоровое потомство и производить достаточное количество молока для его выкармливания ((Hulet C.V., 1977; Ерохин А.И., 1995). Во Франции считают, что размножение ярок должно быть в том случае, если их возраст старше 7 мес и живая масса 60-65% массы взрослых овец. Лишь в этом случае их допускают к внутривлагалищному применению фторгестонацетата и введению гонадотропина СЖК (Thimonier J. et al., 1968).

У ярок необходимо всегда использовать гонадотропин СЖК, поскольку неизвестно, появились у них уже половые циклы или нет. В случае применения прегестагена (внутривлагалищно) и гонадотропина СЖК ожидается оплодотворяемость ярок 90% и более в первые 2-3 дня после обработки (Quirke J.F., 1978). Причем период между удалением губки с прегестагеном и началом охоты у ярок продолжительнее, чем у взрослых овец.

Так же успешно, как внутривлагалищные губки, применяется подкожное имплантирование прогестерона (375 мг) в сочетании с гонадотропином СЖК (Klene H.G., 1974). Некоторые исследователи в режим обработки ярок



включают использование эстрогена. Однако, при анализе этих работ не обнаружено дополнительного воздействия эстрогена по сравнению с обработкой прогестаген-гонадотропином СЖК.

### Синхронизация охоты и овуляции

Методы стимуляции и регулирования половых процессов вместе с искусственным осеменением являются составными частями технологии воспроизводства свиней, в которой биологические явления и технологические процессы согласованы для достижения оптимальной продуктивности, эффективности и улучшения условий труда. Важное условие при применении биотехнического регулирования - ритмичность производства, определяемая синхронизацией течки и овуляции. Ритм производства соотнобразуется с размером фермы. В условиях промышленной технологии на свиноматок действует ряд неблагоприятных факторов, таких как фиксированное содержание, отсутствие моциона и солнечной радиации и др. К тому же при раннем отъеме поросят растягиваются сроки осеменения и оплодотворения (Ю.Д. Клинский и др., 1985). Это обуславливает депрессию половой функции. Применение биотехнологических методов позволяет в значительной мере преодолеть отрицательное влияние перечисленных факторов и гарантировать плановое непрерывное получение приплода.

У взрослых свиноматок при раннем отъеме поросят для контроля сроков осеменения вначале испытывали прогестагены (хлормадиноацетат и др.). Однако, этот метод не получил распространения на практике из-за низкого эффекта синхронизации, снижения оплодотворяемости, образования фолликулярных кист (Н.И.Полянцеv, 1990).

Недавно создан синтетический прогестаген - ригумат. При его ежедневном скармливании в течение 18 дней в дозе 12,5-15,0 мг у большинства свиноматок на 7-8-й день после прекращения обработки отмечалось проявление охоты, причем результат осеменения не снижался по сравнению со спонтанной охотой. Однако срок от начала обработки до осеменения слишком растянут. Этот недостаток устраняется при применении ригумата в сочетании с гонадолиберинном, который вводят через 5 дней после начала скармливания ригумата с последующим осеменением через 30 часов.

Более приемлемым оказалось применение гонадотропных гормонов (СЖК и хорионгонадотропина) (А.Г. Нарижный, 1995). СЖК в дозе 1250 МЕ вводят подкожно на следующий день после отъема поросят. Через 80 часов инъектируют 750 ЕД хорионгонадотропина. Осеменяют свиноматок через 22-26 ч и повторно - через 42 ч. после введения хорионгонадотропина (без обнаружения течки и охоты). На одном из свинокомплексов Германии после обработки животных по данной схеме удалось получить по 11 живых поросят на опорос при оплодотворяемости 81,1% (И.Кениг, 1980).

В Германии и странах Восточной Европы для синхронизации охоты и овуляции у ремонтных свинок и взрослых свиноматок широко используют нестероидный гипофизарный ингибитор – металибур. Для удобства дозирования его выпускают в смеси с тальком под названием суисинхрон-премикс. Он оказывает влияние на гипоталамо-гипофизный комплекс, вероятно, уменьшая секрецию гонадотропинов, особенно лютеинизирующего гормона (ЛГ). Наблюдения позволяют предположить, что подпороговая циклическая активность появляется еще во время применения препарата. Путем лапаротомии примерно в середине периода скармливания были обнаружены различные по размеру фолликулы. Таким образом, вероятно, решающая фаза синхронизации – прекращение скармливания препаратом. Поскольку у большинства животных через 5-6 дней после окончания скармливания наступает полноценная течка, то можно сделать вывод, что в период прекращения скармливания гипоталамо-гипофизный функциональный комплекс растормаживается, гонадотропины поступают в кровь, стимулируя синтез эстрогенов. Эти гормоны вызывают признаки течки, а также сигнализируют в гипоталамус, и он выделяет гонадолиберин, вызывающий выброс ЛГ из гипофиза (А. Гордон, 1988).

Суисинхрон-премикс скармливают по 5 г (100 мг действующего вещества) ежедневно на протяжении 20 дней. Через 24 часа после прекращения дачи препарата инъецируют СЖК в дозе 10 МЕ на 1 кг массы тела животного.

Для синхронизации половой охоты у коров применяют 2 основных метода (Н.И. Полянцеv, 1990) :

подавление роста фолликулов в яичниках; при этом после прекращения действия препарата яичники начинают функционировать одновременно у всех обработанных животных;

– вызывание лизиса желтого тела с последующей стимуляцией роста фолликулов.

Для подавления гонадотропной функции гипофиза коровам и овцам вводят натуральные или синтетические прогестагены (прогестерон или его производные).

Существует несколько путей применения прогестерона и его аналогов: скармливание, имплантация, интравлагалищное введение, а также ежедневные или более редкие инъекции (Moore N.W., 1975).

Из отечественных прогестагенов для перорального применения пригоден мегестрол ацетат. Его скармливают в течение 12 дней в дозе 30-35 мг. Через 3-5 дней после прекращения дачи препарата у большинства животных проявляется охота, однако оплодотворенность составляет не более 42 %.

В Германии для синхронизации течки и охоты у крупного рогатого скота используют прогестагенный препарат бовисинхрон (хлормадилон ацетат). Он представляет собой жидкость, которую вводят в ротовую полость в дозе 1 мл 2 раза в день на протяжении 15 дней. После прекращения дачи препарата на 4-5-й день появляется хорошо выраженная течка, а на 7-й день наступит овуляция. Животных искусственно осеменяют во второй половине 5-го дня и через сутки - повторно. Этот препарат испытывали в течение 5 лет на 160 тыс.

телок. В результате чего время, затраченное на осеменение одного животного сократилось более чем в 3 раза; оплодотворяемость после первого осеменения составила 60%. Отелы проходили в сжатые сроки (10-14 дней), что облегчило формирование однородных групп первотелок.

Для имплантации под кожу в настоящее время используют силиконовые резинки, содержащие прогестерон пролонгированного действия. Имплантант помещают коровам под кожу в области средней трети шеи, подгрудка или наружной поверхности уха. После его удаления через 36-72 часа у коров проявляется синхронная охота.

Прогестерон вводят коровам также интравагинально с помощью полиуретанового пессария, пропитанного спиртовым или масляным раствором прогестагена. Гормон легко адсорбируется влажной стенкой. Недостатком этого метода является то, что пессарии у части коров выпадают, а также длительное его пребывание в половых путях может явиться причиной воспаления передней части влагалища.

Внутримышечно инъецируют масляные растворы прогестагенов. Для непрерывного поддержания в организме их высокой концентрации инъекции проводят ежедневно в течение 10-12 дней. Период полураспада прогестерона у коров короткий, что делает необходимым его повторное или продолжительное применение. Так в некоторых работах (Grosskopf J.F.W., 1974, С.П.Хомин, 1985), приемлемый уровень оплодотворения достигался 10-кратным введением прогестерона. Понятно, что по затратам времени и труда такой способ не может быть широко распространен.

В экспериментах по применению прогестагенов, как правило, отмечалось снижение оплодотворяемости у коров и телок в синхронизированную охоту на 15-30%. Это объясняется нарушением механизма продвижения по половым путям самки и снижения выживаемости сперматозоидов и яйца. Кроме того при синхронизации охоты этим методом наблюдается слабое проявление признаков половой охоты.

Для повышения эффекта синхронизации и оплодотворяемости коров в дальнейшем стали использовать прогестагены совместно с эстрогенами или гонадотропинами. Эстроген усиливает резорбцию желтого тела, в то время как прогестаген препятствует развитию фолликулов и овуляции. Гонадотропины ускоряют процесс деблокирования передней доли гипофиза (Полянцев Н.И., 1990).

Гонадотропины (СЖК, овариотропин) применяют в дозе 2000-2500 МЕ через 48 ч после окончания введения прогестерона (С.П.Беляков, 1972, А.Ахмедов, 1974).

Более перспективным является применение простагландина  $F_{2\alpha}$  и его аналогов. В связи с быстрым лютеолизом и снижением уровня прогестерона происходит выброс в кровь фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, возобновляется рост полостных фолликулов. При этом следует учитывать, что желтое тело чувствительно к воздействию простагландина только в его вторую фазу, продолжительность которой составляет 11-12 дней при 21-дневном половом цикле. Инъекция простагландина в

первые 4-5 дней после овуляции и в последние 2-3 дня перед началом течки неэффективна, так как в это время лютеиновые клетки не имеют достаточного количества циторецепторов. Чтобы охватить синхронизацией всех животных, не имея данных о наличии и функциональном состоянии желтого тела, инъекцию простагландина проводят дважды с интервалом 11 дней. В этом случае первой инъекцией достигается унификация функционального состояния половой системы; ко времени повторной обработки у всех животных яичники будут содержать функционально активное желтое тело. Повторная обработка обеспечивает резорбцию желтых тел и синхронное наступление состояния готовности к осеменению, которое проводят спустя 72 и 96 ч.

Главное преимущество синхронизации половой охоты таким способом состоит в том, что затраты времени на контроль эструса ограничен всего несколькими сутками, что повышает эффективность и рентабельность искусственного осеменения.

В последнее время разрабатываются способы синхронизации половой охоты у коров на основе применения простагландина  $F_{2\alpha}$  в комбинации с прогестеронами.

При этом наблюдается высокая степень синхронизации и хорошая оплодотворяемость коров после первого осеменения.

Следует, однако, отметить, что универсального способа синхронизации половой охоты коров не существует. Различные условия среды, особенно кормление, порода, технология, уровень и вид продуктивности животных, требуют различных методов, эффективность которых определяется их приспособленностью к конкретным условиям производства.

Попытки контролировать охоту и овуляцию у овец в случной сезон или вне его также основаны на стремлении смоделировать активность желтого тела. Последнее особенно касается способности продуцировать прогестерон в течение двух недель при резком и полном прекращении его секреции в конце полового цикла. Независимо от сезона, считалось также существенным повышение секреции эндогенного гонадотропина путем введения фолликуло-стимулирующего препарата по завершении обработки прогестероном. Самым дешевым, наиболее доступным и эффективным для этой цели является гонадотропин СЖК.

До 1964г размножение овец регулировали повторными введениями прогестерона или скармливанием прогестагенов. При использовании этих методов трудно достичь равномерного поступления в организм прогестерона, а также наблюдались большие затраты труда и времени. Т.Дж. Робинсон с сотрудниками (1964) упростили введение препарата. Они вводили овцам во влагалище губку, пропитанную препаратом. Первые лабораторные опыты показали возможность высокой оплодотворяемости у меринсовых овец после внутривлагалищной обработки прогестероном. Однако, результаты последующих широких полевых опытов, проведенных в Австралии, оказались неудовлетворительными. Дело в том, что проводились они в засушливые годы, в плохих кормовых условиях, кроме того, имелись организационные погрешности. Пропитанные прогестероном губки широко используются во Франции,

Ирландии, Великобритании и во многих других странах мира для контроля за размножением овец.

Во время полового цикла у овец в матке образуется простагландин  $F_{2\alpha}$ , который поступает в кровь, вызывая рассасывание желтых тел. Однако использование простагландинов в синхронизации охоты у овец ограничено, по сравнению с таковым в скотоводстве. Но имеется несколько работ (Hawk H.W., 1973; Douglas R.H., Giuther O.J., 1973), в которых однократное внутримышечное введение простагландина в дозе 10-15 мг вызывало рассасывание желтых тел. Другие авторы сообщали об эффективности 100 мкг (Troupson A.O. et al., 1976) или 125 мкг (Fairnie I.J. et al., 1976) аналога простагландина – клопростенола в вызывании рассасывания желтых тел у овец.

При трансплантации эмбрионов от высокопродуктивных доноров, основным условием хорошего приживления эмбрионов служит синхронность проявления половой охоты у доноров и реципиентов. В скотоводстве эта разница во времени проявления половой охоты не должна превышать 24 часа, оптимальные же результаты получают при разнице не более 12 часов (Завертяев Б.П., 1989).

Эмбрионы овец более толерантны к асинхронности донора и реципиента, чем эмбрионы коровы и допускается разница  $\pm 2$  дня (Сергеев Н.И. и др., 1988). Так, при пересадке эмбрионов овец в различные дни цикла и точно синхронизированной охоте между донорами и реципиентами получают 75 % приживляемости, при асинхронностях:  $\pm 1$  день – 72%,  $\pm 2$  дня – 70 % и  $\pm 3$  дня – 7% приживляемости.

### Гормональная стимуляция многоплодия

Возможность индуцирования множественных овуляций и получения таким путем дополнительного приплода, особенно у одноплодных животных, представляет большой интерес для науки и практики.

Этот метод более перспективен в мясном животноводстве, поскольку, при выращивании под коровой одного теленка для продукции используется меньше 30% веществ и энергии корма, остальные расходуются на поддержание жизни.

Следует отметить, что суперовуляция должна быть контролируемой, чтобы гарантировать получение двоен. Получение 3-х и более телят нежелательно, так как это ведет к ослаблению материнского организма, снижает жизнеспособность приплода.

Теоретические предпосылки и практическое применение гормонального вызывания множественной овуляции разработаны еще в 30-х годах в нашей стране под руководством академика М. М. Завадовского. В этих работах было показано, что если ввести в кровь самки гонадотропные гормоны, то это приводит к стимулированию созревания дополнительного количества фолликулов. В качестве источника гонадотропного гормона авторы использовали сы-

воротку жеребых кобыл (СЖК). Количество созревших фолликулов, как было установлено, зависело от дозы инъектированной СЖК.

Для стимуляции многоплодия в мясном скотоводстве до 70-х годов также использовали СЖК. Однако, в большинстве случаев обработка гонадотропином связана с удалением желтого тела и не имела большого успеха. Позднее, когда гонадотропины СЖК вводили в фолликулярную фазу, получали лучшие результаты. В 60-х годах в Уэльсе были проведены широкомасштабные исследования по вызыванию двойности. В основе лежало однократное введение 500 коровам гонадотропина СЖК на 16-17 день полового цикла (Gordon I et. al., 1962). При этом обратили внимание на тот факт, что даже если в ответ на экзогенный гонадотропин и овулировали два фолликула, корова может принести только одного теленка. Двойность чаще отмечалась в том случае, когда овуляции имели место в обоих яичниках, а не в одном (61,5 против 28,6%). Впоследствии это было подтверждено в различных исследованиях, в том числе по трансплантации эмбрионов. Результаты исследований половых органов более 8 тыс коров показали, что двойни в одном роге встречались значительно реже, чем в двух, хотя две овуляции в одном яичнике встречаются также часто, как в обоих (Al. Dahash S.V.A., David J.S.E., 1977).

Главным препятствием к применению гонадотропина СЖК для получения двоен у крупного рогатого скота являются заметные индивидуальные колебания в числе овуляций. В результате такой обработки у коровы может родиться до 5 телят, что является нежелательным. Получение двоен путем гормональной обработки имеет определенные трудности (рис. 23).

Американские ученые Bellows R.A, Short R.E. (1972) установили, что более стабильный суперовуляторный эффект дает применение гипофизарного фолликулостимулирующего гормона в количестве эквивалентном его содержанию в 16-24 гипофизах крупного рогатого скота. Лиофилизированный очищенный экстракт передней доли гипофиза вводили дробными дозами, так как гипофизарный гонадотропин имеет короткий период полураспада. При повторном применении этого препарата (в случае безрезультатного осеменения) яичники сохраняли чувствительность к гонадотропину.

Однако возможность применения гипофизарного гонадотропина ограничена из-за его высокой стоимости и необходимости многократных обработок.

Эти же авторы вызывали суперовуляторную реакцию яичников введением гонадотропина СЖК в дозе 3500 ЕД на 16-18-й день полового цикла с последующей инъекцией человеческого гонадотропина в дозе 2500 ЕД. При этом от осеменения в суперовуляторную охоту оплодотворение наступало у 64% животных, родилось 29 единцов и 23 двойни, от 71 коровы было получено 109 телят (152,8%).

В последние годы схемы вызывания суперовуляции с целью получения двоен дополнены применением простагландина  $F_2\alpha$  и его аналогов (А.М. Петров, Р.С.Воронин, М.М.Серых; 1999). В связи с этим изменены сроки инъекции ГСЖК-ее проводят между 8-12 днями полового цикла; через 24-48ч

инъектируют простагландин. Для улучшения овуляторной реакции в начале индуцированной стадии возбуждения полового цикла проводят обработку хорионгонадотропином или гонадотропным рилизинг-гормоном. Главная трудность при этом - высокая гибель эмбрионов у суперовулировавших животных. Так у телок она достигает 55%. Этим можно объяснить то, что по количеству двоен (с учетом уровня стельности) не удается выйти за пределы 20% (А. Гордон, 1989). Потери эмбрионов предотвращают инъекциями прогестерона на протяжении 3х недель после осеменения.

Наблюдения показали, что при двойнях роды протекают нормально. Хотя телята из двоен рождаются с меньшей живой массой, но к отъему они догоняют одиночек по росту и развитию (М. С. Кива, 1980; В. А. Зоранян, 1982). Следует отметить, что при гормонально вызванных разнополоых двойнях среди телочек 95%-фримартины (женские особи с недоразвитыми половыми органами, рождённые в разнополоых двойнях). Это случается в том случае, если сосуды одного плода анастомозируют с сосудами другого плода. Через такие анастомозы гормоны одного плода оказывают эндокринное влияние на развитие другого плода. При этом мужской плод рождается полноценным индивидом, а у женского плода нередко недоразвиваются половые органы и тёлочки рождаются бесплодными.

Строго контролируемые условия получения двоен обеспечивает метод трансплантации эмбрионов. В этом случае в каждый из рогов матки помещают по одному эмбриону. Разработка в будущем метода определения пола эмбриона позволит предотвратить рождение фримартинов. Однако предстоит решить проблему повышения выживаемости эмбрионов у реципиентов и телят-трансплантантов (Петров А.М., Воронин Е.С., 1995; Петров А.М. и др., 1999).

В технологических программах с целью увеличения многоплодия свиной на промышленных комплексах используют СЖК, хорионгонадотропин, ФСГ гипофизарный. Согласно методическим указаниям по стимуляции воспроизводительной функции свиноматок в условиях промышленной технологии (1985) стимуляцию полового созревания и многоплодия проводят на здоровых, хорошо развитых свинках в возрасте 6-6,5 месяца. Им вводят в область шеи одновременно 1500 ИЕ СЖК и 250 ИЕ хориогонина. На 5-6-й день охоты проявляют 85-90 % свинок; для ее обнаружения организуют дозированное общение с хрюком-пробником 2-3 раза в день. Примененные этого метода позволяют дополнительно получить 140-180 жизнеспособных поросят от 100 обработанных маток.

Для вызывания суперовуляции у взрослых свиноматок проводят инъекцию СЖК в дозе 1500 ИЕ на 15-16-й день полового цикла. Охота проявляется в течение последующих 3-4 дней. Хотя суперовуляторный ответ при этом достаточно высокий, численность помета возрастает незначительно (на 1-1,5 поросятка), что объясняется увеличением процента эмбриональных потерь.

В Германии для повышения оплодотворяемости и многоплодия свиноматок на комплексах применяют окситоцин, который добавляют к сперме непосредственно перед осеменением. При этом увеличивается уровень оплодо-

творяемости яйцеклеток. Этим способом удается повысить многоплодие на 0,2-0,4 поросенка (И.Кениг и др., 1980).



Рис. 23 Проблемы, связанные с получением двоен в результате гормонального индуцирования беременности у коров (по А.Гордону, 1988)

На одном из свинокомплексов Ростовской области для стимуляции многоплодия применяли сурфагон или окситоцин. Сурфагон вводили внутримышечно в дозе 10-15 мкг за 8-10 ч до осеменения, окситоцин в дозе 10-15 ИЕ через 4-5 мин после заключительного осеменения. В результате применения сурфагона многоплодие возросло почти на одного поросенка за один опорос. Окситоцин обеспечил незначительное увеличение этого показателя (В.В. Подберезный, 1988).

Применение сурфагона для стимуляции многоплодия также было эффективно на Алексеевском свинокомплексе Самарской области (В.К. Шитов, М.П. Ухтверов, 2001).



Послеубойный осмотр яичников показал, что под влиянием сурфагона происходит разрыв резервных фолликулов, в связи с чем уровень овуляции повышается в среднем на 14%.

Увеличение числа двойневых ягнений было бы экономически выгодно на многих овцефермах. На это могут оказать влияние условия разведения, кормления и содержания, а также использование многоплодных пород овец. Однако, есть примеры успешной гормональной стимуляции многоплодия, особенно на фермах с мощным числом двойневых ягнений, где селекция на плодовитость не ведется.

Гормональную стимуляцию многоплодия у овец уже давно применяют в нашей стране. В монографии академика М.М.Завадовского (1941) показано использование в этих целях гонадотропина СЖК, особенно широко применявшегося на каракульских овцах.

Опыты проведенные в разных странах показали, что значительного увеличения плодовитости можно достичь после введения 250-1000 ИЕ гонадотропина СЖК. При этом оплодотворяемость после первого и последующих случек не менялась (таблица 3).

Таблица 3  
Эндокринная стимуляция овец гонадотропином СЖК

Доза гонадотропина СЖК, ИЕ на одно животное	Обработанные овцы		Контроль		Автор
	N	Плодовитость	n	плодовитость	
500	15	1,67	15	1,47	Robinson T.S.
500	131	1.38	132	1.17	Wallace L.R., Lambourne L.S., Sinclair D.P.
1000	94	1.76	103	1.07	Wallace L.R., Lambourne L.S., Sinclair D.P.
500	20	1.80	20	1.15	Palsson H.
750	20	2.05	20	1.20	Palsson H.
250-500	452	1.71	435	1.52	Gordon I.
750-1000	595	1.89	562	1.49	Gordon I.
500	614	1.78	475	1.16	Palsson H.
11 ИЕ на 1 кг живой массы	57	1,45	59	1,25	Gordon I.

Нормальная овуляция у овец, как и у других млекопитающих, зависит от баланса стимулирующего влияния гипофизарных гонадотропинов на развитие полостных фолликулов в яичниках и обратного, тормозящего действия стероидных гормонов (в основном эстрадиола) на развитие этих фолликулов,

подавляющих выделение гонадотропинов. Количество эстрадиола зависит от числа и стадии зрелости фолликулов (Moog R.M., 1973). У овец с высоким числом овуляций имеются более развитые фолликулы, которые выделяют больше эстрадиола. Предполагают (Cumming I.A., Findley J.K., 1977), что более высокое число овуляций у многоплодных овец (финских ландрасов и романовских) связано с меньшей чувствительностью гипоталамо-гипофизарной системы к тормозящему обратному действию эстрадиола. Это позволяет поддерживать, а в критические периоды повышать выделение гонадотропинов для обеспечения роста и развития большого числа полостных фолликулов. Известно, что максимум один или два полостных фолликула служат источником эстрогенов, осуществляющих тормозящее обратное влияние (Baird D.T., Scaramuzzi R.S., 1976). Есть несколько путей, которыми можно ослабить такое влияние стероидов яичников на гипофиз.

Один из них заключается в использовании антиэстрогена или очень слабого эстрогена, которые уменьшают проявление подавляющего действия фолликулярных эстрогенов. К препаратам первой группы относятся кланифенцитрат, общепринятый в медицине для стимулирования овуляции у женщин, страдающих бесплодием (Cox L.W., 1975). В Австралии этот препарат применили на овцах в дозах 1-90 мг. Но при всех дозах кланифенцитрат оказал скорее эстрогенное действие, чем антиэстрогенное, что свидетельствует о том, что они были слишком высоки (Lindsay D.R., Robinson T.S., 1970). В другой работе применяли меньшие дозы, но реакция была слабой и неустойчивой, поэтому препарат не получил распространения.

#### Гормональная регуляция времени родов

Регулирование времени родов сельскохозяйственных животных позволяет проводить их в наиболее благоприятные сроки.

Биологическая изменчивость продолжительности супоросности, несмотря на синхронизацию течки и овуляции, варьирует от 109 до 119 суток. На крупных свиноводческих комплексах основной системы производства является непрерывное воспроизводство, которое позволяет формировать однородные группы животных для последующего выращивания и откорма. На предприятиях с однодневным ритмом производства (когда производственные группы формируют за один день) согласно проекту производственный цикл у свиноматок составляет 172 дня, в том числе супоросность-114, подсосный период-26 дней и продолжительность от отъема до плодотворного осеменения-32 дня. Однако, при анализе продуктивных показателей свиней на крупных свиноводческих комплексах: «Кузнецовский» мощностью 108 тыс. свиней в год и «Залесье» Ярославской области установлено, что фактическая продолжительность периода супоросности у маток составляет не 114 дней, как принято в расчетах проектировщиков, а 114,86-114,94 дней или фактически 115 дней. По данным Г.Ф.Жиркова (1996) продолжительность супоросности 114 дней была у 26,6, ранее этого срока опоросились-31,3, позже-41,15%.

Для технологии с однодневным ритмом на комплексе мощностью 108 тыс. свиней в год увеличение продолжительности супоросности на 1 день означает дополнительную потребность в 12 тыс. станкомест / дней или дополнительной секции для опороса на 30 свиноматок (Пономарев Н.В., 2001).

Отсюда следует, что возникает потребность в физиологическом сокращении супоросности у всех свиней, что способствовало бы рационализации работ по родовспоможению. Синхронизация опоросов дает возможность также сконцентрировать работы по уходу за животными и ветеринарному их обслуживанию.

Гормональные изменения в организме матери к концу супоросности начинаются с увеличением концентрации эстрогенов в крови, особенно в последние 2-4 недели. Однако, это не приводит к началу опороса. Уровень прогестерона медленно снижается в последние две недели супоросности. За несколько дней до опороса он снижается быстро до 2-3 нг/мл и ниже. Какой-либо связи между концентрациями лютеинизирующего гормона (ЛГ) и прогестерона, существовавшей в течение большей части супоросности, в последние два дня не наблюдается (Ellendorf F. et al., 1979). Возможно, в этот период роль ЛГ ослабевает.

В последние 1-2 дня супоросности уровень кортикостероидов в плазме крови матери несколько повышается, а у плодов значительно возрастает, по крайней мере, за неделю до рождения.

Известно, что полипептид релаксин у свиней образуется желтыми телами с 28-го до 105-го дня супоросности, запасается в них и выводится в кровь непосредственно перед опоросом, достигая пика за 12-14 ч до его начала. Это связано с переходом матки от состояния покоя к характерной для родов активности. Релаксин вызывает расслабление шейки матки, что характеризует полное раскрытие родового канала, облегчающее быстрые роды.

У свиней роды можно вызвать с помощью экзогенного глюкокортикоида. Такая реакция проявляется лишь после 100-го дня супоросности и только под действием больших доз препарата. Обработка свиноматки глюкокортикоидом вызывает падение уровня прогестерона в ее крови, что предшествует опоросу. Глюкокортикоид не прямым путем подавляет функцию желтых тел перед опоросом, а через стимуляцию синтеза в миометрии простагландина  $F_{2\alpha}$  и его выделение, что и вызывает лютеолиз.

Для вызывания опороса используют также окситоцин (Muhter M. E. Et al., 1975, Nara B.S., First N.L., 1977), но его применение эффективно только за несколько часов до начала этого процесса. Применить гормон можно только после того, как станет возможна молокоотдача. Позже было замечено, что окситоцин можно использовать и после обработки свиноматки простагландином  $F_{2\alpha}$ .

Другие стимуляторы гладкой мускулатуры, такие, как ацетилхолин, пилокарпин, эзерин и др. препараты имеют такие же недостатки, что и окситоцин. В процессе опороса включается значительно больше регуляторных веществ, а не только стимуляторы сокращения миометрия.

Наиболее успешно в последнее время для вызывания опороса применяется простагландин  $F_2\alpha$  и его аналоги. В результате введения супоросным свиньям простагландина  $F_2\alpha$  сразу начинается быстрое падение уровня прогестерона в плазме крови в связи с рассасыванием желтых тел. Введение простагландина вызывает также выделение релаксина (через 45 мин). Результаты исследования по применению простагландинов свидетельствуют о том, что в организме свиньи строгая последовательность процессов, приводящих к опоросу, начинается после введения препарата. Использование простагландинов не вредит здоровью поросят и не отражается на продолжительности опороса и молочной продуктивности. Однако, в случае введения простагландина на 106-й день супоросности может появиться нормальный по численности приплод, но поросята будут мельче и менее жизнеспособны, чем при введении на 111-112-й день. Это и понятно, так как любой способ вызывания преждевременного опороса заканчивается рождением мелких поросят. Чем ближе к нормальному сроку начинается опорос, тем больше вероятность выживания всех поросят.

Однократное внутримышечное введение природного простагландина  $F_2\alpha$  (5-12 мг) в 8 часов утра в конце супоросности вызывает опорос у большинства свиней (50-75%) в течение следующего дня. Успешно также для этой цели применяется активные аналоги препарата (например, 175 мг клопростенола).

В скотоводстве регулирование времени отелов позволит проводить их в наиболее благоприятные сроки. В производственных условиях контроль времени отелов с ночных часов на дневные приводит к более эффективному контролю над родами, что уменьшает потери телят.

Кроме того в некоторых случаях, как например, при токсемии, водянке плодных оболочек, нарушениях функции почек, сердечно-сосудистой системы и др. болезнях, целесообразно получать телят несколько раньше ожидаемого времени отела.

Несмотря на множество публикаций об эндокринном контроле отела, механизмы его обслуживающие понятны не полностью. Правда, совершенно точно известно, что созревание гипофизарно-надпочечниковой системы у плода овец стимулирует начало ягнения.

С помощью радиоиммунопроб показано, что в течение последних 60 дней стельности в периферической крови коров постепенно уменьшается концентрация прогестерона и значительно увеличивается концентрация эстрогенов. Уровень простагландина  $F_2\alpha$  повышается за 24-48 ч перед отелом и не снижается после него еще 10-20 дней. Уровень пролактина значительно повышается за сутки до отела, желтое тело перестает выделять прогестерон за 30-40 ч. Возможно, это вызвано одновременным действием глюкокортикоидов и эстрогенов плода, проникающих в плаценту. Вероятно у коровы образование эстрогенов в плаценте и прогестерона в желтом теле две самостоятельные системы. Поэтому в организме коровы не происходит увеличения превращения прогестерона в эстроген, как это наблюдается у овец.

В то же время у плода теленка, как и у плода ягнска, в 10 и более раз повышается уровень глюкокортикоидов в крови.

Из всех выдвинутых гипотез механизма вызывания родов у коров наиболее распространенной является гипотеза, основанная на изменении уровня в крови прогестерона и кортикостероидных гормонов.

Установлено, что за двое суток до родов наблюдается резкое снижение концентрации прогестерона, повышение уровня эстрогенов плаценты и увеличение простагландина  $F_2\alpha$  в маточной вене (Smith V. et al., 1973; Hunter R. et al., 1977). М.И. Прокофьев (1983) считает, что именно эти признаки предшествуют началу родов. Установление закономерностей эндокринных изменений, предшествующих родам и явилось теоретическим обоснованием применения препаратов простагландина  $F_2\alpha$  и адренкортикотропного гормона (АКТГ) для искусственного вызывания родов.

В настоящее время роды у коров вызывают инъекцией глюкокортикоидов коры надпочечников или простагландина  $F_2\alpha$  и в некоторых случаях - эстрогенов. Если в крови наблюдается высокая концентрация эстрогенов, то эффективными препаратами являются глюкокортикоиды или  $F_2\alpha$ , причем для раннего вызывания родов лучше использовать глюкокортикоиды (дексаметазон, бетаметазон и флюметазон). При низкой концентрации эстрогенов более надежным способом вызывания родов является предварительное введение эстрогенов, а затем глюкокортикоидов (Прокофьев М.И., 1983).

Однако стимулирование преждевременных родов нередко приводит к ряду осложнений, в частности, к задержанию последа. В этих случаях прибегают к дополнительной инъекции эстрогенов. Другим частым осложнением при преждевременном вызывании родов у коров является рождение мертвых телят и бесплодие, особенно если обработку проводят раньше 270-х суток стельности. Таким образом в регулировании времени отелов имеется ряд неразрешенных проблем, связанных в основном с нежелательными последствиями, сопутствующими индуцированным родам. Однако эти осложнения можно преодолеть. Уже в настоящее время умеренное использование гормональной стимуляции позволяет направленно сдвинуть роды в течение суток без вредных последствий как для стельной коровы, так и для новорожденного теленка. Так, инъекция простагландина  $F_2\alpha$  дает возможность раньше ожидаемого по времени отела получить живых телят от коров, подверженных токсемии, водянке плодных оболочек, нарушению функций почек и т.д. Сдвиг времени отелов с ночных часов на дневные позволит значительно усилить контроль над отелами со стороны обслуживающего персонала, что сократит потери телят при родах (Завертъяев Б.П.; 1983).

Продолжительность беременности овец зависит от таких факторов как число и пол плодов, порода и возраст барана и овцы. Так, в одном из обзоров по вопросу зависимости продолжительности суягности от породы (Terrill S.E.; 1968) было показано следующее: для скороспелых мясных пород (саутдаун, суффолк, гемпшир, дорсет-хорн) она составляет 144-147 дней, для позднеспелых тонкорунных пород (мериносы, рамбулье) - 149-151 день, для комби-

нированных длинношерстных пород (колумбия, корридель) – 147-149 дней. В целом считается, что продолжительность суягности мало изменчива.

В плане наиболее эффективного использования труда, уплотнение синхронизированного ягнения может представлять большой экономический интерес в практических условиях. Если обычно ягнение овец в отаре протекает в течение 7-10 дней, то после синхронизации охоты все овцы могут обьягниться за 48 часов, при этом большая часть ягнят рождается в дневное время. Стимуляция родов иногда может иметь и нетривиальное применение. Например, у каракульских овец наибольшую ценность представляет шкурка ягненка, находящегося на последних стадиях внутриутробного развития, поэтому стимулирование родов может с успехом заменить кесарево сечение.

За последние десятилетия существенно обогатились знания о механизмах гормональной регуляции родов у млекопитающих, что во многом связано с изучением этого вопроса на примере овец как экспериментальных моделей. В частности клинические опыты G.C.Liggins, и др.(1973) позволили установить роль гипофизарно-надпочечниковой системы плода при стимуляции акта родов. При удалении у плода гипофиза срок суягности продлевался на неопределенное время, в то время как введение ему синтетических адренокортикотропного гормона или глюкокортикоидов приводило к преждевременным родам. Было отмечено, что в последние 2 недели развития у плода увеличиваются надпочечники, а также повышается концентрация кортикостероидов (например, кортизола) и интенсивность их секреции. Это согласуется с мнением о том, что активация гипофизарно-надпочечниковой системы плода приводит к родам (Иена С.С.К., Джаффе Р.Б., 1998).

У овец кортизол активирует плацентарные ферменты, ответственные за превращения прогестерона в эстроген. Этот плацентарный эстроген воздействует на матку, которая, выйдя из-под прогестеронового контроля, вызывает синтез простагландина  $F_2\alpha$  и начинает сокращаться.

С помощью гормонов можно влиять на время ягнения двумя путями: задержкой его или ускорением. Сокращение продолжительности суягности возможно лишь до определенных пределов. Было установлено, что при сокращении продолжительности суягности на 5% ягнята утрачивают жизнеспособность (Dawes G.S.; Partu H.V.; 1965). На практике это означает: чтобы ягненок выжил, стимуляцию родов можно проводить не раньше чем за неделю до срока предполагаемого ягнения.

Введение прогестерона подавляет сокращение матки, в результате чего ягнение может задерживаться (Csapo A.I., 1977). Но при этом возникает проблема гибели новорожденных ягнят в связи с удлинением суягности, как это происходит в нормальных условиях. Поэтому препараты обычно используются для сокращения, а не для увеличения продолжительности суягности.

Дозы кортикостероидов следующие: дексаметазона – 15-20 мг, флуемтазона – 2 мг. Препараты вводят в последние 4 - 5 дней суягности. Для инъекции имеет значение даже время суток. Так у овец, обработанных в 20.00 ягнение наступает раньше и проходит быстрее, чем при обработке в 8.00 того же дня.

Таким образом, контролируемое проведение родов позволит овцеводам рациональнее организовать труд в сезон ягнения.

## Рекомендуемая литература

- Балабонкин М.И. Эндокринология. М.: Универсум паблишинг, 1998. 584 с.
- Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 1998. 704 с.
- Биохимия гормонов и гормональной регуляции. Сб. под ред. Н.А. Юдаева. М.: Наука, 1976. 379 с.
- Бурмистрова А.Л. Иммуный гомеостаз и микросимбиоз. Мета-морфозы и пути развития воспалительных заболеваний кишечника. Челябинск: Изд-во «Челяб. Дом печати», 1997. 216 с.
- Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных. Москва: ВО «Агропромиздат», 1988. 415 с.
- Завадовский М.М. Теория и практика гормонального метода стимуляции многоплодия сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1963. 670 с.
- Завертяев Б.П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота. Л.: Агропромиздат, 1989. 255 с.
- Иванов Д.Б., Филиппова М.П., Ткачук В.А. Структура и функции классических кадгеринов. Биохимия, 2001, т. 66. Вып. 10
- Крыжановский Г.Н., Мачаева С.В., Макаров С.В. Нейроиммунопатология. М., 1997. 273 с.
- Лейкок Дж. Ф., Вайс П. Г. Основы эндокринологии : Пер. с англ. М.: Медицина, 2000. 504 с.
- Максимов В.И. Гормональный статус органов животных в постнатальном онтогенезе. Автореферат докт. дисс. Казань, 1999. 41 с.
- Милованов В.К., Соколовская И.И. Теория и практика воспроизведения животных. М.: Колос, 1984. 278 с.
- Мицкевич М. С. Гормональные регуляции в онтогенезе животных. М.: Наука, 1978. 224 с.
- Остин К., Шорт Р. Гормональная регуляция размножения у млекопитающих. М. 1987. 305 с.
- Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 1995. 224 с.
- Петров А.М., Воронин Е. С., Серых М.М. Динамика основных иммунологических параметров телят-трансплантантов. М., 1999. 186 с.
- Полянцев Н.И. Воспроизводство в промышленном животноводстве. М.: Росагропромиздат, 1990. 240 с.
- Рачев Р.Р., Ещенко Н.Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. М.: Медицина, 1975. 295 с.
- Репродуктивная эндокринология : В 2 т. / Под ред. С. С. К. Иена Р.Ф. Джаффе. М.: Медицина, 1998. Т. 1. 707 с., Т. 2 432 с.
- Розен В.Б. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1994. 384 с.



- Ткачук В.А. Введение в молекулярную эндокринологию. М.: Изд-во МГУ, 1983. 256 с
- Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л.: Наука, 1985. 544 с
- Фролов Ю.П., Серых М.М. Управление биологическими системами. Клеточный уровень. Самара : Изд-во «Самарский университет», 2000. 116 с
- Фролов Ю.П., Серых М.М., Инюшкин А. Н., Чепурнов С.А. Управление биологическими системами. Организменный уровень. Самара: Изд-во «Самарский университет», 2001. 318 с
- Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М. : Медицина, 2000. 432 с
- Шеперд Г. Нейробиология : В 2-х т. Т.1. Пер. с англ. М. : Мир, 1987. 454 с
- Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 608 с

## СВЕДЕНИЯ О АВТОРАХ

**Серых Милон Матвеевич** - доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии и биохимии животных Самарской государственной сельскохозяйственной академии

**Зайцев Владимир Владимирович** - доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой физиологии и биохимии животных Самарской государственной сельскохозяйственной академии

**Клёнова Наталья Анатольевна** - доктор биологических наук, доцент кафедры биохимии животных Самарского государственного университета

**Петров Алексей Михайлович** - доктор ветеринарных наук, профессор, зав. кафедрой акушерства, гинекологии и искусственного осеменения Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина

**Подковкин Владимир Георгиевич** - доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии животных Самарского государственного университета

**Языкова Марина Юрьевна** - доктор биологических наук, доцент кафедры биохимии животных Самарского государственного университета.