

С. А. Булгаков, И. В. Гомогоров

**РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ В КАЧЕСТВЕ ВОЗМОЖНЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ПУЛЬМОНОЛОГИИ**

НИИ пульмонологии МЗ РСФСР (директор — академик АМН СССР проф. А. Г. Чучалин)

В последние годы к веществам пептидной природы проявляется глубокий интерес со стороны исследователей. Это объясняется в первую очередь их активным и многоплановым участием в различных физиологических процессах организма, в обеспечении многих жизненно важных функций. До сих пор нет единого обозначения этой группы веществ, как нет и единой классификации. Наиболее утвердившимися терминами являются «регуляторные пептиды», «биологически активные пептиды», «нейропептиды».

Образование большинства пептидов проходит через стадии формирования высокомолекулярных предшественников — препропептидов и пропептидов. Расщепление последних до коротких фрагментов (как правило, не более 40 аминокислотных остатков) и есть конечная стадия посттрансляционного процесса с образованием регуляторных пептидов [13]. Наиболее ярко этот процесс прослеживается при рассмотрении превращения проопиокортина, в результате посттрансляционного расщепления которого образуется целое семейство гормонов с разнородной биологической активностью, а именно: липотропины (бета- и гамма-), эндорфины (альфа-, бета-, гамма-), кортикотропин (АКТГ), меланотропины (альфа-, бета-, гамма-). До недавнего времени образование пептидных веществ из молекул-предшественниц рассматривалось преимущественно для гипофиза и надпочечников, однако J. Clements и J. Funder (1982) сообщили о возможной экспрессии гена проопиокортина в легких и щитовидной железе [11]. Данное сообщение крайне важно, так как положительно решает вопрос о синтезирующей функции легких в отношении пептидных соединений, подтверждает значимую роль легких в единой пептидергической системе организма.

За последнее десятилетие в легких обнаружено достаточно большое количество регуляторных пептидов, многие из которых обладают существенным действием на функции дыхания, включая воздействие на тонус и моторику бронхов, бронхиальную проводимость и секрецию, на тонус легочных и периферических сосудов [5, 8]. Укажем, что нейропептиды идентифицируются не только в нервных окончаниях и телах нейронов центральной и периферической нервной системы, большое их количество сосредоточено в эндокринных клетках основных гормональных узлов, в желудочно-кишечном тракте; достаточно широко они представлены и в дыхательной системе. В легочной ткани опре-

делено около 40 типов клеток с эндокринной активностью, они составляют как бы два звена гормонального аппарата легких. Первое звено представлено гормонпродуцирующими клетками, расположенными в эпителии воздухоносных путей и легких, второе — тканевыми базофилами с локализацией в соединительной ткани легкого [6]. Спектр пептидных соединений, продуцируемых эндокринными клетками бронхолегочной системы, достаточно широк, в их числе вазоактивный интестинальный пептид (ВИП), субстанция «П», бомбезин, пептид гистидин-метионин (ПГМ), кальцитонин-ген-связанный пептид (КГСП), нейрокинин, галанин, нейропептид «У», опиаты.

Эффективность биохимических процессов, связанных с обеспечением функций легких, происходит при взаимодействии пептидных веществ со специфическими рецепторами, локализованными в различных тканях бронхолегочной системы. Наряду с ранее открытыми рецепторами глюкокортикоидов, пролактина, адренкортикотропного гормона, инсулина, гистамина, β -адреномиметиков, недавно было сообщено об открытии в легочной ткани рецепторов опиатных пептидов. Как продемонстрировали H. N. Sargu et al., мишенью для циркулирующих эндогенных опиоидов (энкефалинов и эндорфинов) являются J-рецепторы, расположенные в альвеолах, примыкающих к легочным сосудам [15].

Широчайший спектр биологической активности нейропептидов, их эндогенное происхождение, коррегирующие способности при некоторых патологических состояниях привлекли к ним внимание как к потенциальным лекарственным средствам. Теоретические предпосылки начали реализовываться в последние годы в связи со значительными успехами в пептидной химии. Стал возможным синтез пептидов не только в промышленных объемах, а главное, стало реальностью изменение структуры веществ с заранее намеченными полезными свойствами. Можно рассчитать места расщепления молекул пептидов и, осуществляя замены аминокислотных остатков (нередко включая вместо L-аминокислот их D-аналоги), получить в итоге более стабильные медленно разрушающиеся вещества с большей биологической активностью. Описанный принцип был использован М. И. Титовым и В. А. Виноградовым при разработке первого отечественного пептидного лекарства — даларгина, нашедшего широкое применение в гастроэнтерологической практике [1, 3].

В отличие от молекулы природного лейцин-энкефалина (Тир-Гли-Гли-Фен-Лей) у даларгина глицин был заменен на D-аланин, а к C-терминальной части присоединен аргинин (Тир-Д-Ала-Гли-Фен-Лей-Арг). Введение в структуру энкефалина D-аланина способствует замедлению расщепления молекулы пептида энкефалиназами и другими пептидазами, а введение C-терминального аргинина придает пептиду положительный заряд, который препятствует его проникновению через гематоэнцефалический барьер. Крайне важно подчеркнуть, что, несмотря на произведенные замены, гексапептид даларгин остается стабильным фрагментом продуктов посттрансляционного расщепления препроэнкефалина В, т. е. фактически эндогенным пептидом организма, что определяет многие корректирующие эффекты препарата, а также отсутствие у лекарства побочных и нежелательных эффектов.

Создание терапевтического средства на основе регуляторных пептидов требует, однако, не только синтеза стабильного аналога, но и обязательного высокого его сродства к определенному типу рецепторов, обуславливающих его биологические эффекты. В силу этого необходимым этапом исследований представляется оценка взаимодействия пептидных соединений со специфическими рецепторами, которая, как правило, осуществляется при помощи радиолигандного метода. Помимо этого метода, при оценке рецепторной специфичности пептидов используются стандартные приемы на изолированных гладкомышечных препаратах. Так, классическими моделями для фармакологического тестирования рецепторной специфичности опиоидных пептидов являются подвздошная кишка морской свинки и семявыносящий проток мыши, в нервных окончаниях которых найдены опытные рецепторы [4].

В настоящее время невозможно понять и представить множественность эффектов регуляторных пептидов в организме без представлений о различных типах рецепторов, их гетерогенности.

Гетерогенность рецепторов для эндогенных веществ уже давно известна в фармакологии. Так, существует несколько типов адренергических и холинергических рецепторов, недавно охарактеризованы два класса рецепторов гистамина (H_1 и H_2) и т. п. Выявление этих субпопуляций рецепторов позволило создать ряд препаратов с избирательной агонистической и антагонистической активностью, широко применяющихся в клинической фармакологии (например, альфа- и бета-адреностимуляторы и блокаторы). В этой связи бурно развивающиеся в последние годы представления о гетерогенности и множественности рецепторов пептидных веществ имеют не только теоретический, но и клинический интерес. Весьма возможно, что уже в ближайшее время на основе этих представлений удастся синтезировать специфические агонисты и антагонисты с избирательным действием на жизненно важные функции организма. Частич-

но эти принципы были уже реализованы при разработке даларгина, при этом поиск эффективного аналога был направлен на взаимодействие с дельта-опиоидными рецепторами, обеспечивающими вегетативные и другие периферические эффекты эндогенных опиоидов.

Многочисленность регуляторных пептидов, их молекулярная и рецепторная гетерогенность, множественность биологических эффектов безусловно создают огромные сложности как в интерпретации их механизмов действия, так и при создании новых лекарственных соединений на основе пептидов. Несмотря на это, уже в настоящее время в мировой клинической практике применяется около 20 лекарственных препаратов, созданных на основе пептидов и их аналогов. Пептидные лекарства находят свое место в онкологии и иммунологии, акушерстве и ветеринарии, в неврологической и гастроэнтерологической практике. Достаточно широко обсуждается возможность создания средства для лечения патологии легких, в первую очередь бронхиальной астмы, на основе регуляторных пептидов [5, 10].

Из широкого круга нейропептидов, рассматриваемых в качестве возможных лекарственных средств в пульмонологии, в первую очередь внимание привлекает ВИП [8, 10]. Структурная формула ВИП состоит из 28 аминокислот, он был получен из легкого как вазодилаторный пептид, преимущественная локализация его в моторных нервах легких. ВИП-иммунореактивность локализуется в нервах и ганглиях, расположенных позади трахеи и вокруг бронхов, уменьшаясь к периферии, сокращаясь по частоте в мелких дыхательных путях. ВИП-иммунореактивные нервные структуры широко представлены и в легочных сосудах, ВИП-ергические волокна обнаруживаются в адвентиции легочных сосудов, особенно артериях средних размеров. ВИП-ергические нервы обнаружены в гладких дыхательных мышцах, вокруг бронхиальных сосудов, в слизистой носа, в зоне подслизистых желез. При помощи радиоиммунологического анализа с применением йода-125 обнаружены рецепторы ВИП и места их связывания. Рецепторы гормона установлены в гладкой мускулатуре легочных сосудов, крупных бронхов, трахеи и фактически не обнаруживаются в мелких бронхах.

ВИП рассматривается как наиболее мощный эндогенный бронходилататор, он в этом качестве в 50—100 раз активнее изопротеренола. Убедительно доказана его роль в регуляции тонуса гладкой мускулатуры крупных бронхов, но пептид не влияет на тонус мелких бронхов. Достаточно активно ВИП воздействует на мукоцилиарный клиренс и бронхиальную секрецию [9]. ВИП стимулирует выработку секрета бронхиальными железами, при этом отмечается нарастание уровня гликопротеинов, транспорта хлоридов. Многие исследователи фиксировали существенную дилатацию сосудов легких на фоне введения ВИП, при этом

эффект достигается за счет расслабления гладкой мускулатуры сосудов. Предполагается, что вазодилатирующий эффект рассматриваемого пептида потенциально почти в 10 раз более выражен, чем бронходилатирующий. Установлено воздействие ВИП на функциональную активность эндотелиальных клеток. ВИП отводится заметная роль в регуляции вентиляционно-перфузионных взаимоотношений.

В настоящее время действие регуляторных пептидов во многом связывается с изучением холинергических и неадренергических механизмов. Еще недавно холинергическая и адренергическая иннервация бронхолегочной системы казалась исключительной и общепризнанной, однако исследования последних лет указывают на наличие в легких нервных структур, которые относят к неадренергическим и нехолинергическим (НАНХ, или NANC). Первоначально они были идентифицированы в желудочно-кишечном тракте, несколько позднее выявлены в легких.

Существуют определенные доказательства, подтверждающие мнение о ВИП как нейротрансмиттере NANC-ингибирующих нервов в дыхательных путях [8]. ВИП продуцирует длительную релаксацию гладкой дыхательной мускулатуры, на которую не влияет адренергическая или невральная блокада, и одновременно имитирует NANC-опосредованную ингибирующую реакцию как *in vitro*, так и *in vivo*. ВИП также имитирует электрофизиологические изменения гладкой мускулатуры органов дыхания, происходящие при стимуляции NANC нервных структур. Электрическое возбуждение трахеобронхиальных препаратов приводит к высвобождению ВИП. Эта реакция блокируется тетродоксином, подтверждая, что она происходит за счет нервной стимуляции, при этом количество освобожденного ВИП зависит от величины нервной стимуляции. Хотя ВИП-рецепторы не имеют специфических блокаторов, инкубация трахеи кошки и морской свинки с высокой концентрацией ВИП приводит к тахифилаксии, а также к снижению числа NANC-релаксирующих нервов. Наряду с этим, в тех же экспериментах ответы на стимуляцию симпатических нервов и на введение изопроterenолола не были получены. Заслуживают внимания сведения об уменьшении ответа на экзогенный ВИП и на стимуляцию NANC при преинкубации трахеи морской свинки с антителами к ВИП. Тесная связь между активностью ВИП и NANC-обусловленной релаксацией в различных участках дыхательных путей крупных млекопитающих и человека также указывает на нейротрансмиттерные качества ВИП. И хотя данные в пользу ВИП как типичного нейротрансмиттера достаточно убедительны, в то же время до сих пор не выявлены специфические антагонисты его рецепторов, что не позволяет окончательно высказаться в пользу его нейротрансмиттерной функции.

Реакция гиперреактивности, характерная для бронхиальной астмы, напоминает воспалительный

процесс в дыхательных путях. Воспалительные клетки, реагирующие на астматический процесс (так же как макрофаги, базофилы, нейтрофилы), могут высвобождать различные пептидные вещества, тормозящие секрецию ВИП. Менее изучены энзиматические пути инактивации пептидных соединений, однако можно предположить, что при бронхиальной астме активные пептидазы, освобождаясь в структуры бронхолегочной системы, приводят к разрушению ВИП и ряда других пептидов. Происходящая быстрая деградация ВИП снижает тормозной эффект, оказываемый на холинергическую бронхоконстрикцию, что в итоге приводит к бронхиальному гиперответу при астме.

Заключая этот раздел, отметим, что роль ВИП в регуляции функции дыхания до конца не определена, так же как не выяснено влияние метаболитов аллергической реакции на биоактивность этого пептида. Возникающие сложности в разработке фармакологических соединений на основе ВИП объясняются в первую очередь теми фактами, что как ингаляционный, так и перфузионный вариант введения ВИП в организм сопровождаются его быстрой инактивацией. Введение пептида внутривенно в небольших дозах не вызывало бронходилатирующего эффекта, а при увеличении дозы наблюдались гипотония и тахикардия. ВИП не оказывал превентивного влияния при астме физического усилия; инфузия пептида астматикам вызывала бронходилатацию, но это действие было незначительно и скорее всего связано со вторичной (симпатоадреналовой) активностью, вызванной сердечно-сосудистыми эффектами гормона. Таким образом, несмотря на то, что ВИП обладает мощным бронходилатирующим действием *in vitro*, он не имеет столь выраженного влияния *in vivo* и поэтому не способен оказывать значительный терапевтический эффект. Будущее ВИП как потенциального лекарственного средства (бронходилататора) связывается с созданием более стабильного аналога путем направленного синтеза пептида либо с поиском новых соединений, которые активируют ВИП-рецепторы.

Еще одним регуляторным пептидом, с которым связываются надежды исследователей на создание на его основе лекарственного средства, является ПГМ. Он является человеческим эквивалентом пептида гистидин-изолейцина, состоит из 27 аминокислот, более чем на 50 % гомологичен с ВИП [8]. ПГМ кодируется тем же геном, что и ВИП, и имеет те же зоны распределения [12]. В силу этих обстоятельств прослеживается определенная близость этих двух пептидов в функциональных особенностях. Вместе с тем, определяются и значимые отличия между пептидами, в первую очередь в отношении влияния на тонус бронхов. ПГМ является более активным дилататором бронхов, чем ВИП. Эффект вазодилатации ПГМ уступает по биоактивности ВИП. Секреторная активность ПГМ превосходит таковую у ВИП. Оба пеп-

Эффекты нейропептидов на гладкие мышцы и секрецию в дыхательных путях у млекопитающих (по Charman et al., 1988)

Нейропептиды	Эффекты					
	бронхоконстрикция	бронходилатация	вазоконстрикция	вазодилатация	секреция	ионный транспорт
Вазоактивный интестинальный пептид	0	+++	0	+++	+	++
Пептид гистидин-метионин	0	+++	0	+	++	—
Субстанция «П»	++	0	+	++	++	+
Нейрокинин А	+++	0	+++	+++	++	—
Нейрокинин Б	+	0	++	0	++	—
Кальцитонин	+++	0	0	++	—	—
Нейропептид «У»	0	0	++	0	—	—
Галанин	0	0	—	—	—	—
Гастрин-релизинг пептид (бомбезин)	++	0	+	0	—	0

Примечание. 0 означает отсутствие эффекта, знак плюс — слабый эффект, два плюса — умеренный эффект, три плюса — сильный эффект, знак минус — нет информации.

тидных гормона являются синергистами бронходилатирующего эффекта.

Среди других нейропептидов, участвующих в обеспечении физиологических процессов в бронхолегочной системе, надо отметить семейство тахикининов и его представителя — субстанцию «П», бомбезин, нейрокинин, КГСП, нейропептид «У», галанин. Их функциональная активность в отношении органов дыхания интенсивно изучается, полученные данные отражены в сводной таблице. Несколько отличными данными мы располагаем в отношении опиоидных пептидов.

С середины 70-х годов, когда были открыты опиоидные пептиды, и по сегодняшний день ведется интенсивное изучение этого семейства пептидов. Пристальный интерес к эндогенным опиоидам обусловлен их широчайшим спектром биологической активности. Было продемонстрировано их активное участие в регуляции деятельности нервной, эндокринной, пищеварительной и сердечно-сосудистой систем, установлено влияние на ряд метаболических процессов, [4]. Первоначальные исследования показали, что энкефалины и эндорфины в основном сосредоточены в нервной системе и структурах мозга. Несколько позднее установили, что G-клетки, секретирующие гастрин в желудочно-кишечном тракте, способны продуцировать опиоидные пептиды. Установлено наличие энкефалинергических волокон в составе блуждающего нерва. Безусловный интерес представляют данные о локализации и функции выявленных в легочных клетках рецепторов эндогенных опиоидов. Выше упоминалось, что так называемые J-рецепторы, расположенные в альвеолах, примыкающих к легочным капиллярам, могут связываться с циркулирующими в крови опиоидными пептидами [15]. Предполагается, что эти рецепторы служат звеном для передачи импульса через афферентные пути в ядра гипоталамуса. С J-рецепторами во многом связывается бронхоконстрикторный эффект, который блокируется специфическим антагонистом даголом. В недавнем сообщении

D. Rogers, P. Barnes (1989) предполагается, что опиаты могут регулировать секрецию слизи посредством NANC-нервов в дыхательных путях человека [14]. В то же время не получено убедительных данных о способности эндорфинов регулировать ритм дыхания. Данные о быстрой деструкции экзогенного энкефалина, обеспечивающейся высокой ферментативной активностью в легких, в какой-то степени сдерживали направление работы по изучению роли опиоидных пептидов в пульмонологии. И все же семейство эндогенных опиоидных пептидов остается одним из многообещающих среди нейропептидов в плане разработки на их основе новых лекарств для лечения висцеральной патологии.

Помимо вышеупомянутых сложностей при разработке лекарственных препаратов на основе нейропептидов, к ограничивающим факторам надо отнести нерешенные проблемы по оценке способов доставки пептидов к центрам-мишеням в различных отделах легких, поиску агонистов и специфических блокаторов. Необходимо также решать вопросы изыскания максимально эффективных путей введения пептидных средств при лечении патологии легких, провести параллельные исследования по влиянию пептидов и их аналогов на функциональную активность легких, сердечно-сосудистую систему, желудочно-кишечный тракт, эндокринную и нервную систему. С интересом следует ожидать результатов по клинической апробации пептида, влияющего на уровень цАМФ [7], по изучению влияния на иммунный статус больных с затяжными пневмониями и хроническим бронхитом пептидного лекарства даларгина, обладающего выраженным иммуномодулирующим эффектом [2].

В заключение подчеркнем, что разработка и внедрение новых лекарственных средств на основе регуляторных пептидов является одним из перспективных направлений клинической фармакологии как всей внутренней медицины, так и современной пульмонологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Булгаков С. А. Синтетические опиоидные пептиды в лечении эрозивно-язвенных поражений желудочно-кишечного тракта: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1988.
2. Васильева Е. В., Сухих Г. Т., Виноградов В. А. и др. // Тер. арх.— 1984.— № 10.— С. 120—125.
3. Виноградов В. А., Смагин В. Г., Титов М. И. Нейропептиды в экспериментальной и клинической практике.— М., 1986.— С. 3—7.
4. Смагин В. Г., Виноградов В. А., Булгаков С. А. Лиганды опиатных рецепторов.— М.: Наука, 1988.
5. Чучалин А. Г. // Тер. арх.— 1989.— № 3.— С. 3—8.
6. Яглов В. В., Лоцилов Ю. А. // Гиг. труда.— 1988.— № 6.— С. 38—41.
7. Barnes P. J. // Amer. Rev. resp. Dis.— 1987.— Vol. 135.— P. 77—80.
8. Barnes P. J. // Experientia (Basel).— 1987.— Vol. 43., N 7.— P. 832—839.
9. Carstairs I. R., Barnes P. J. // J. Pharmacol. exp. Ther.— 1986.— Vol. 239.— P. 249—255.
10. Chapman I. D. et al. // Triangle.— 1988.— Vol. 27.— P. 113—120.
11. Clements J., Funder J. // Endocrinology.— 1982.— Vol. 111.— P. 2097—2102.
12. Itoh N., Obato K. et al. // Nature.— 1983.— Vol. 304.— P. 547—549.
13. Krieger D. T. // Fed. Proc.— 1988.— Vol. 39.— P. 2937—2941.
14. Rogers D. F., Barnes P. J. // Lancet.— 1989.— Vol. 29.— P. 930—931.
15. Sapru H. N. et al. // J. Pharmacol. exp. Ther.— 1981.— Vol. 217.— P. 228—234.

Поступила 18.12.90

REGULATORY PEPTIDES AS POSSIBLE PHARMACOLOGICAL AGENTS IN PULMONOLOGY

S. A. Bulgakov, I. V. Gomogorov

Summary

The article compiles data on neuropeptide impact upon respiratory function, including the impact upon tonus and motorics of the bronchi, bronchial patency and secretion, the tonus of pulmonary and peripheral blood vessels in normal and abnormal conditions. In particular, the influences of such regulatory peptides as vasoactive intestinal peptide (VIP), histidin-methionin peptide (HMP), bombesin, neurokinines, galantine, opiates are discussed. Findings concerning the role of non-cholinergic and non-adrenergic transmission and possible participation of biologically active substances as neurotransmitters are presented. The development of new pharmacological compounds based on regulatory peptides, in particular, for the treatment of lung abnormalities, primarily bronchial asthma, is also discussed.

Лекции

© Б. Т. Величковский, 1991

УДК 616.24:614.7

Б. Т. Величковский

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ПУЛЬМОНОЛОГИЯ¹

НИИ пульмонологии МЗ РСФСР, Москва

В своем сообщении хотелось бы осветить три вопроса: обосновать необходимость выделения в легочной патологии особого раздела — экологической пульмонологии, проанализировать характер молекулярных и клеточных механизмов развития подобных заболеваний органов дыхания и, наконец, показать, какие новые подходы открывает экологическая пульмонология при рассмотрении стратегии снижения антропогенной химической нагрузки на население и в терапии.

Проблема экологической пульмонологии возникла в связи с глубокими изменениями среды обитания человека. Благодаря своей производственной деятельности, человечество превратилось в природопреобразующую силу, влияние которой

стало проявляться быстрее и сильнее, чем ход естественной эволюции биосферы. В еще большей мере скорость развития техногенных изменений биосферы обгоняет адаптационные онто- и филогенетические возможности человеческого организма.

В этой критической ситуации принципиальное значение имеет выделение в биосферных процессах звена, наиболее опасного для здоровья человека. Здесь пока наблюдается явное разночтение в подходах и оценках. С точки зрения сохранения постоянства природной среды — воздуха, воды и почвы — критической средой является гидросфера, куда в конечном итоге аккумулируются основные загрязняющие агенты. С точки зрения сохранения постоянства внутренней среды живых существ критическим путем проникновения чужеродных веществ (ксенобиотиков) в организм являют-

¹ Лекция, прочитанная на I Всесоюзном конгрессе по болезням органов дыхания, Киев, октябрь 1990 г.