

УДК 612.115.3-615.273.53

РОЛЬ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕАКЦИЯХ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА НА ВАЗОПРЕССИН

© 2022 г. М. Е. Григорьева¹, *, М. Г. Голубева¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

*e-mail: mgrigorjeva@mail.ru

Поступила в редакцию 16.01.2022 г.

После доработки 21.02.2022 г.

Принята к публикации 28.02.2022 г.

Представлены современные данные литературы и обобщенные результаты собственных исследований по изучению механизмов действия вазопрессина в организме. Рассмотрен широкий спектр физиологических эффектов этого нейропептида, его строение, синтез, рецепторы. Подчеркивается связь между синтезом и освобождением вазопрессина и активацией холинэргической системы. Особое внимание в обзоре уделяется эффектам этого нейропептида на систему свертывания крови. Делается акцент на выяснение степени участия центральных и периферических холинорецепторов в реакциях системы гемостаза на вазопрессин. Описывается ведущая роль этих рецепторов в усилении фибринолиза и активности тканевого активатора плазминогена под действием пептида. Суммированные в обзоре данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения механизмов, обеспечивающих реализацию данного эффекта вазопрессина, для его использования в клинической практике с целью предупреждения и лечения тромботических осложнений с наибольшей эффективностью и минимальным побочным действием.

Ключевые слова: вазопрессин, холинорецепторы, система гемостаза, фибринолиз, активатор плазминогена

DOI: 10.31857/S0042132422030048

ВВЕДЕНИЕ

Анализ как отечественной, так и зарубежной литературы показывает, что в последние годы проблема широкого распространения тромботических осложнений при самых различных заболеваниях продолжает оставаться одной из актуальных проблем современной фармакологии и медицины. Понятно, что тромбоз – это комплексный и динамический процесс, вовлекающий во взаимодействие эндотелий, клетки крови, свертывающие факторы плазмы, фибринолиз и гемореологические факторы. Тромбозы, возникающие в результате атеросклеротических изменений со стороны сосудистой стенки, до сих пор являются основной причиной различных патологий и даже смерти (Струкова, 2012). К факторам, предрасполагающим к тромбообразованию, можно отнести: оперативное вмешательство, травму, нарушения обмена веществ, малоподвижный образ жизни, возраст.

Современные представления о механизмах свертывания крови способствуют правильному пониманию причин и патогенеза предтромбоза и тромбоза. Общеизвестно, что в организме наряду с системой свертывания крови функционирует

физиологическая противосвертывающая система, основным агентом которой, помимо антикоагулянта гепарина, является тканевой активатор плазминогена (ТАП), относящийся к системе фибринолиза (Ляпина, Григорьева, 2018). Основным осложнением при применении тромболитических средств, наряду с кровоточивостью, является возникновение тромботических осложнений (или так называемых ретромбозов). Понятно, что во избежание подобных осложнений необходимо продолжать поиск новых препаратов и их комбинаций с целью повышения их эффективности для профилактики и лечения тромботических нарушений.

Уже более 50 лет внимание многих ученых сосредоточено на создании лекарственных препаратов на основе регуляторных пептидов. Отмечается, что в основе разработки таких лекарственных средств лежит принцип разделения активностей природных соединений. Путем поэтапного протеолиза исходной молекулы возможно выделение минимального фрагмента, ответственного за тот или иной эффект (Голубович и др., 2003; Ашмарин, 2007; Голубева, 2020). Н.Ф. Мясоедовым была предложена концепция направленного конструирования пептидов с

определенными физиологическими свойствами, которая основывается на использовании структуры природных пептидов с известным физиологическим действием (Мясоедов, 2016). Были открыты также пептиды, обладающие противовирусной защитой, что в связи с событиями последнего времени может представлять определенный интерес (Андреева и др., 2011).

Занимаясь длительное время проблемами регуляции гемостаза, мы обратили внимание на нейропептид вазопрессин и синтезированные на его основе малые регуляторные пептиды, лишенные периферической гормональной активности. Интерес к этому пептиду связан с многообразием его физиологических эффектов в организме (Тюзиков и др., 2015; Mavani et al., 2015). Для нас был интересен тот факт, что при введении в кровоток вазопрессина наблюдается одновременное увеличение свертывающего потенциала крови и значительное повышение уровня ТАП. При этом вопрос о механизмах повышения фибринолитической активности при использовании этого нейропептида до сих пор остается открытым.

ВАЗОПРЕССИН, ЕГО СТРОЕНИЕ, СИНТЕЗ И ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Данные об открытии нейрогипофиза встречаются еще в конце XIX в. Благодаря классическим работам Винсента Дю Виньо, а также других авторов в начале 1950-х гг. была установлена полная аминокислотная последовательность вазопрессина и окситоцина, причем намного раньше, чем для других пептидных гормонов (Du Vigneaud et al., 1957; Russell, Leng, 2000). За расшифровку структуры этих гормонов американский химик Дю Виньо был удостоен Нобелевской премии.

Напомним, что вазопрессин — нейрогипофизарный гормон белково-пептидной природы с молекулярной массой 1084 Да, принимающий участие в осуществлении многих физиологических функций организма. Он влияет на выработку условных рефлексов, консолидацию памяти, на обмен углеводов и липидов, подавляет диурез, стимулирует гипертензию, регулирует выделение АКТГ аденогипофизом, стимулирует митоз в хондроцитах, тимоцитах и гепатоцитах. Понятно, что прессорное и антидиуретическое действие аргинил-вазопрессина (AVP) хорошо документировано. Другие важные эффекты AVP включают в себя воздействие на восприятие боли и структуру кости, а также имеют непосредственное отношение к различным компонентам метаболического синдрома (Тюзиков и др., 2015). К ним относятся влияние на уровень глюкозы в крови, уровень липидов и артериальное давление. AVP также может играть роль в прогрессировании хронического заболевания почек и влиять на физиологические изменения, связанные со старением, ненормаль-

ным социальным поведением и когнитивной функцией. Многие авторы отмечают важные клеточные ответы, включая пролиферацию клеток, воспаление и контроль инфекции, а также их связь с AVP. Наконец, отмечаются эффекты AVP на гемостаз и ось гипоталамус—гипофиз—надпочечники. Широкий спектр действия AVP необходимо учитывать для возможности более эффективного целевого клинического применения нейропептида.

Биосинтез вазопрессина — это типичный пример образования небольших пептидных гормонов из больших молекул белков-предшественников в эукариотических клетках (Голубева, 2020). Вазопрессин синтезируется в крупноклеточных ядрах переднего гипоталамуса, сохраняется в задней доле гипофиза (нейрогипофизе) и секретруется в кровь. Это девятичленный пептид, который состоит из шестикомпонентной петли, образующей за счет дисульфидного мостика, двух остатков цистеина и боковой цепи, включающей три аминокислотных остатка. В зависимости от того, какая из двух аминокислот находится в 8-ом положении (лизин или аргинин), различают две формы вазопрессина — лизил-вазопрессин или аргинил-вазопрессин. Поскольку лизил-вазопрессин значительно слабее (70% гормональной активности аргинил-вазопрессина) и основные исследования выполнены с аргинил-вазопрессинном, в дальнейшем, говоря о вазопрессине, мы будем учитывать именно эту форму пептида. Наличие в третьем положении фенилаланина делает этот гормон активным антидиуретическим и вазоактивным агентом (Golubeva, Grigorjeva, 2007).

Физиологические реакции организма на вазопрессин осуществляются через взаимодействие его со специфическими рецепторами. Рецепторы к вазопрессину были обнаружены в почке, мозге, гипофизе, гладкой мышце сосудов и на тромбоцитах. Эти рецепторы могут быть подразделены на три подтипа — V1, V2 и V3, через два из которых осуществляется прессорное и антидиуретическое действие. V1a- и V1b-рецепторы связаны с фосфатилинозитольным циклом и увеличением концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле, которое приводит к сокращению гладкой мышцы сосуда, что является основанием прессорного эффекта. V2-рецепторы активируют аденилатциклазу в дистальном медулярном нефроне и осуществляют свое действие через увеличение цАМФ (циклический аденозинмонофосфат) в этих клетках (Robert, Clauser, 2005). Третий тип рецепторов V3 обнаружен в аденогипофизе, где вазопрессин приводит к выделению аденокортикотропина. Влияние пептида на поведение, и прежде всего на память, осуществляется через центральные рецепторы.

Особый интерес представляет вопрос о том, под действием каких стимулов AVP может освобождаться из запасов хранения для осуществления тех или иных физиологических эффектов.

АЦЕТИЛХОЛИН И ХОЛИНОРЕЦЕПТОРЫ

В последнее время появились исследования, указывающие на связь между синтезом и освобождением AVP и активацией холинэргической системы (Nagano et al., 2018). Напомним, что ацетилхолин, который является классическим нейромедиатором, осуществляет передачу нервного возбуждения в центральной нервной системе (ЦНС), вегетативных ганглиях, окончаниях парасимпатических и двигательных нервов, образуется в терминальной части холинэргических нейронов из ацетилкоэнзима А и холина при участии холинацетилтрансферазы. После высвобождения в синаптическую щель ацетилхолин быстро гидролизует ферментом ацетилхолинэстеразой на холин и ацетат. Он передает сигналы через две подгруппы рецепторов, а именно мускариновые рецепторы (mAChR) и никотиновые рецепторы (nAChR). Холинэргические рецепторы (холинорецепторы) – комплексные белковые структуры, локализованные на постсинаптических мембранах, как в периферической, так и в ЦНС. Они могут располагаться на пресинаптических мембранах холинэргических нейронов и в синапсах с другим типом нейромедиатора. Холинорецепторы выполняют функцию регулятора высвобождения нейромедиатора в синаптическую щель. В настоящее время описана эволюция mAChR в ряду позвоночных животных (Pedersen et al., 2018). Отмечая возможности использования пептидов в качестве лекарственных средств, необходимо напомнить об еще одной важной стороне их применения. Многие из них являются нейротоксинами и могут использоваться при изучении механизмов действия различных биорегуляторов (Tsetlin, 2020; Unwin, 2020). Так, при открытии никотинового рецептора ацетилхолина (nAChR) – первого открытого рецептора нейромедиатора, и изучении подробностей его изоляции, структурной характеристики, клонирования и выяснения механизмов действия, была установлена ведущая роль нейротоксина белка змеиного яда (Changeux, 2020; Rahman, 2020). Собственно, по типу чувствительности к мускарину (алкалоид *Amanita muscaria*) и никотину (алкалоид *Nicotinia tabacum*) выделяют соответственно М-холинорецепторы (мускариночувствительные) и N-холинорецепторы (никотиночувствительные), причем ингибиторы холинэстеразы (ИХЭ) способны усиливать холинэргические эффекты как в никотиновых, так и в мускариновых рецепторах (Арушанян, Боровкова, 2016). N-холинорецептор является гетерооли-

гомерным комплексом, состоящим из четырех разных белковых субъединиц, названных соответственно их молекулярной массе (в кДа): α (40), β (50), γ (60), δ (65). М-холинорецепторы находятся в окончаниях пост-англионарных волокон парасимпатической нервной системы, в некоторых сосудах и в ЦНС. Выявлено несколько подтипов М-холинорецепторов – М₁-, М₂-, и М₃-холинорецепторы. N-холинорецепторы находятся в ганглиях симпатической и парасимпатической нервной системы, нервно-мышечных синапсах, клубочках каротидных синусов, хромоаффинной субстанции мозгового вещества надпочечников, в клетках ЦНС (Sine, 2012).

Помимо хорошо известной физиологической роли в ЦНС и периферической нервной системе (ПНС), вегетативной нервной системе и нервно-мышечном соединении, установлена широкая экспрессия AChR в различных органах человека, что предполагает их роль в других биологических процессах, помимо синаптических. Накапливающиеся данные показали, что процессы в раковых клетках, такие как пролиферация, апоптоз, ангиогенез и даже эпителиально-мезенхимальный переход, опосредуются сверхэкспрессией AChR в различных типах опухолей (Chen et al., 2019). В настоящее время существует острая необходимость в разработке специфического антагониста AChR, который ингибировал бы прогрессирующее рост раковых клеток с минимальным вмешательством в нормальную регулируемую ацетилхолином систему в организме человека. Результаты исследований последних лет продемонстрировали значимость дисфункции холинэргической системы в развитии целого комплекса неврологических заболеваний. Одной из наиболее широко используемых групп фармакологических средств для их лечения являются ингибиторы холинэстеразы.

ХОЛИНОРЕЦЕПТОРЫ И ОСВОБОЖДЕНИЕ ВАЗОПРЕССИНА

Мы уже отмечали, что многие исследования последних лет указывают на связь холинэргической системы с реакциями освобождения AVP из ЦНС. В связи с этим особый интерес представляют исследования по влиянию ацетилхолина и его предшественников, в частности холина, на высвобождение AVP. При исследовании внутрицеребровентрикулярного введения холина происходило зависимое от времени и дозы повышение уровня AVP, которое блокировалось предварительным введением ингибитора никотиновых рецепторов мекамиламином, но не антагонистом мускариновых холинорецепторов – атропином. Холин вызывал гораздо большее повышение уровня AVP в плазме у осмотически стимулированных или кровоточащих крыс, чем у нормальных животных. Причем концентрации ацетилхо-

лина и холина в диализате гипоталамуса значительно увеличивались после внутривенного введения холина. Авторы полагают, что холин увеличивает уровень AVP в плазме, косвенно стимулируя центральные никотиновые рецепторы через усиление синтеза и высвобождения ацетилхолина, и увеличивает способность осмотической стимуляции или кровотока активизировать высвобождение AVP (Savci et al., 2002). В более позднем исследовании авторов показано, что при внутрижелудочковом введении цитидин-5'-дифосфат холина (ЦДФ-холин) или холина, также происходило время- и дозозависимое увеличение AVP в плазме. Предварительная обработка крыс гемихолинием-3, высокоаффинным нейронным ингибитором захвата холина (20 мкг; внутрицеребрально), блокировала ответ AVP на ЦДФ-холин (1 мкмоль; внутрицеребрально). Предварительная обработка крыс мекамиламином (50 мкг; внутривенно), неселективным антагонистом никотиновых рецепторов, отменяла повышение уровня вазопрессина в плазме, вызванное ЦДФ-холином, в то время как атропин (10 мкг; внутривенно), неселективный антагонист мускариновых рецепторов, не изменял ответ. Следовательно, внутрижелудочково введенный ЦДФ-холин может повышать уровень AVP в плазме за счет активации центральных никотиновых холинэргических рецепторов при активации пресинаптических холинэргических механизмов (Cavun et al., 2004).

При изучении роли мускариновых рецепторов было высказано предположение, что мускариновые рецепторы ацетилхолина также участвуют в секреции AVP, поскольку внутрижелудочковое введение мускариновых агонистов индуцирует высвобождение пептида в кровотоки. Оставалось неясно, какой подтип участвует в регуляции секреции AVP, но отмечалось, что рецепторы M_2 высоко экспрессируются в гипоталамусе. Для выяснения этого вопроса использовали мышей с нокаутом рецептора M_2 . Необходимо было установить, регулирует ли рецептор M_2 синтез AVP в паравентрикулярных и супраоптических ядрах гипоталамуса. Количество AVP-иммунореактивных нейронов у мышей с нокаутом по рецептору M_2 было значительно снижено в супраоптических, но не в паравентрикулярных ядрах, по сравнению с мышами дикого типа. Уровень AVP в плазме у мышей с нокаутом по рецептору M_2 также был значительно ниже, чем у мышей дикого типа, а объем мочи и частота мочеиспускания, а также потребление воды у мышей с нокаутом рецептора M_2 были значительно выше, чем у мышей дикого типа. Экспрессия рецептора AVP V2 в почках мышей с нокаутом рецептора M_2 была сравнима с таковой у мышей дикого типа, а повышенное мочеиспускание у мышей с нокаутом ре-

цептора M_2 было значительно снижено при введении десмопрессина, специфического агониста рецептора V2, что позволяет предположить, что рецепторы V2 в почках мышей с нокаутом по рецептору M_2 не повреждены. Эти результаты предполагают, что рецепторы M_2 способствуют синтезу AVP в супраоптических ядрах и играют определенную роль в регуляции и поддержании жидкости в организме (Nagano et al., 2018).

Нейроны, содержащие AVP, были идентифицированы в лимбических структурах, включая гиппокамп и миндалевидное тело. Показано, что области паравентрикулярного и супраоптического ядер содержат AVP-нейроны, получающие холинэргическую иннервацию, и также являются иммунореактивными к интерлейкину ИЛ-1 бета. Вызванное ацетилхолином высвобождение AVP противодействует атропину или мекамиламину, что указывает на то, что как мускариновые, так и никотиновые рецепторы опосредуют холинэргический эффект в этих областях мозга. ИЛ-1 бета (100 Ед/мл) не влиял на базальное высвобождение AVP из гипоталамуса, но значительно усиливал индуцированное ацетилхолином высвобождение AVP. Этот эффект полностью блокировался в присутствии нейтрализующих антител к ИЛ-1 бета, атропину (10 мкМ) или мекамиламину (10 мкМ). ИЛ-6, как и ИЛ-1 бета, также усиливал индуцированное ацетилхолином высвобождение AVP, но в меньшей степени. Ни фактор некроза опухоли- α , ни гамма-интерферон не влияли на базальное или индуцированное ацетилхолином высвобождение AVP из гипоталамуса. Ни один из протестированных цитокинов не оказал никакого влияния на базальное или индуцированное ацетилхолином высвобождение AVP из миндалин (Raber et al., 1994).

ВАЗОПРЕССИН И ГЕМОСТАЗ

AVP обычно присутствует в крови в небольших концентрациях (1–5 пг/мл). В таких концентрациях пептид не оказывает влияния на показатели системы гемостаза. Из литературы известно, что уровень AVP, необходимый для изменения реакций свертывания и фибринолиза, значительно выше, чем физиологические значения пептида в крови (Шитикова, 2000). При возрастании концентрации AVP в кровотоке отмечается повышение свертывающей и фибринолитической активности крови. Увеличение свертывающего потенциала обеспечивается, во-первых, активацией каликреин-кининовой системы, во-вторых, за счет освобождения в кровь прокоагулянтов и, прежде всего, фактора (Ф) VIII. Усиление фибринолитической активности определяется значительным повышением уровня ТАП, но не снижением активности ингибитора ТАП (Шиффман, 2000).

Развитие чувствительных радиоиммунных методов позволило более подробно изучить концентрационные взаимоотношения для этих реакций пептида. Введение AVP добровольцам показало, что увеличение фибринолиза происходит при плазменных концентрациях около 15–20 пг/мл, а увеличение ФVIII и фактора Виллебранда (ФВб) при дозе 20–25 пг/мл (Grant, 1993). Хотя такие концентрации AVP не отмечаются при нормальных состояниях, они находятся в пределах тех колебаний уровня пептида, которые наблюдаются при физическом стрессе. Таким образом, AVP, изменяя содержание в крови ФVIII, ФВб и ТАП, в определенных специфических условиях может быть регулятором свертывания крови и фибринолиза.

Для коррекции геморрагических нарушений, например, при гемофилии А и болезни Виллебранда, особый интерес представляет аналог AVP — DDAVP или десмопрессин. Первоначально этот пептид применялся для коррекции нарушений диуреза, например, при несахарном диабете или ночной полиурии (Cohn et al., 2017). *In vivo* DDAVP индуцирует освобождение больших мультимеров ФВб, который играет ведущую роль в первичном гемостазе (Mannucci, 2019; Kiuouptsi, Reinhardt, 2020). Особый интерес исследователей связан с участием эндотелиальных V2-рецепторов в синтезе и освобождении не только ФВб, но и ТАП под действием DDAVP, который, являясь специфическим агонистом этого типа рецепторов, осуществляет свое действие через активацию цАМФ-зависимых механизмов (Kaufmann et al., 2000).

Однако до сих пор остается неясным вопрос о роли AVP в регуляции отдельных звеньев в системе свертывания крови и, прежде всего, тромбоцитарного звена гемостаза. Полагают, что основное действие пептида связано с взаимодействием со специфическими рецепторами на тромбоцитах.

В настоящее время пептиды, полученные на основе AVP, применяются в геморрагических клиниках и при нарушениях диуреза. Использование таких пептидов актуально не только при геморрагических заболеваниях, но и при коррекции кровотечений, вызванных использованием антикоагулянтных и антиагрегатных средств, в практике врачей-кардиохирургов при тромбоцитических осложнениях, например, при ишемических инсультах различной природы.

При изучении тромбоцитических осложнений, которые являются бичом современной медицины, особое внимание уделяется поиску новых мишеней для тромболитической терапии. Известно много агонистов активации тромбоцитов, но эндогенных ингибиторов тромбоцитов идентифицировано значительно меньше. К по-

следним относятся простациклин и оксид азота (NO). Предполагают, что эндогенным ингибитором активации тромбоцитов является ацетилхолин. Измеряли влияние ацетилхолина или его аналогов на активацию тромбоцитов человека *ex vivo*. Ацетилхолин и его аналоги ингибировали активацию тромбоцитов, что измерялось по транслокации P-селектина и конформационным изменениям гликопротеина IIb/IIIa. С другой стороны, было обнаружено, что антагонисты рецептора ацетилхолина, такие как панкуроний, усиливают активацию тромбоцитов. Кроме того, препараты, ингибирующие ацетилхолинэстеразу, такие как донепезил, также ингибируют активацию тромбоцитов, что позволяет предположить, что тромбоциты выделяют ацетилхолин. Донепезил и другие ингибиторы ацетилхолинэстеразы могут вызывать кровотечение у пациентов, но лежащие в их основе механизмы не совсем понятны. Было обнаружено, что ингибирование тромбоцитов ацетилхолином опосредует NO. Эти данные позволяют предположить, что ацетилхолин является эндогенным ингибитором активации тромбоцитов, и холинергическая система может быть новой мишенью для антитромботической терапии (Bennett et al., 2019).

ВАЗОПРЕССИН И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ

Эффект повышения ТАП под действием вазопрессина был установлен еще в начале 1960-х гг. XX в. (Schnek, Kaulla, 1961). Авторы связывали это с вазоконстрикторным эффектом пептида и отмечали ведущую роль гипоталамо-гипофизарной системы в освобождении ТАП под влиянием пипрессина (синтетический вазопрессин, смесь аргинил- и лизил-вазопрессина). Поскольку выделение ТАП при этом блокировалось атропином, вероятно, при попадании пептида в кровоток происходит активация холинергических механизмов.

Однако мнения по поводу механизмов, лежащих в основе выделения ТАП под действием AVP, достаточно противоречивы. Существует гипотеза, что AVP может вызывать освобождение ТАП из сосудистого эндотелия через вторичный мессенджер, так называемый плазминоген-активатор-релизинг гормон. По-видимому, он является небольшим вазопрессинподобным пептидом, который синтезируется и освобождается на гипоталамо-гипофизарном уровне (Голубева и др., 1999). Но выделить этот пептид до настоящего времени не удалось, что требует дополнительного подтверждения этой гипотезы. Известна и другая точка зрения. Некоторые авторы (Kaufmann et al., 2000) считают, что AVP может оказывать прямое воздействие на сосудистую стенку через взаимо-

действие со специфическими V1-рецепторами на эндотелии, стимулируя освобождение ТАП.

Поскольку, несмотря на существующие гипотезы, вопрос о механизме выделения ТАП под действием AVP до сих пор остается открытым, мы поставили перед собой цель установить степень участия центральных или периферических холинэргических структур в реакции системы фибринолиза на появление в кровотоке этого нейропептида.

В наших экспериментах была предпринята попытка выявить, какие именно холинорецепторы принимают участие в этом процессе. Для этого AVP вводили на фоне предварительной блокады периферических и центральных M-холинорецепторов атропином или только периферических – метацином, поскольку последний не проходит гематоэнцефалический барьер (Справочник Видаль, 2020). Было установлено, что внутривенное введение крысам вазопрессина приводило к значительному повышению фибринолитической активности крови, обусловленной увеличением активности ТАП. При применении пептида на фоне периферической блокады M-холинорецепторов метацином показатели фибринолитической активности и активности ТАП почти не изменяются, тогда как на фоне атропина эти реакции системы гемостаза практически полностью блокируются (Golubeva, Grigorieva, 2007). Таким образом, результаты собственных экспериментов показали, что изменения фибринолитической активности и активности ТАП при введении AVP блокируются холиноблокаторами, причем ведущими в усилении фибринолитического действия вазопрессина, по всей вероятности, являются центральные холинэргические структуры.

В других экспериментах мы поставили целью определить степень участия периферических сосудистых механизмов в реакциях системы фибринолиза при перфузии AVP и его аналогами изолированного сосудистого бассейна у крысы. Используемый в этой серии метод перфузии изолированного сосудистого ложа задней части тела экспериментального животного позволяет изучить механизмы прямого влияния различных агентов на эндотелий без их взаимодействия с другими органами и системами. Было показано, что AVP и его аналоги, имеющие глициламид на С-конце молекулы, вызывали высвобождение ТАП эндотелиальными клетками и, соответственно, значительное увеличение его активности в перфузатах. На основании этого можно предположить, что повышение активности ТАП при перфузии сосудистого ложа крысы вазопрессин и его аналогами происходит за счет периферических сосудистых механизмов (Григорьева и др., 1999). Кроме того, эти результаты подтвердили ранее полученные нами данные о необходи-

мости С-концевого глициламида в молекуле пептидов вазопрессинового ряда для усиления фибринолитической активности (Григорьева и др., 1997). Таким образом, эти пептиды могут вызывать освобождение ТАП из эндотелия, действуя на него непосредственно. Хотя не исключаются и другие пути реализации этого эффекта через центральные механизмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема широкого распространения тромботических осложнений при развитии многих заболеваний до настоящего времени продолжает оставаться одной из актуальных проблем физиологии и медицины. Из этого вытекает основная задача современной фармакологии – создание новых высокоэффективных лекарственных средств и их комбинаций, обладающих широким спектром биологической активности с минимальными побочными эффектами. К таким препаратам можно отнести полифункциональные пептидные биорегуляторы, которые участвуют в реализации многих систем организма, но при синтезе таких лекарственных средств возможно разделение активностей природного соединения.

К классу пептидных биорегуляторов принадлежит и вазопрессин – нейрогипофизарный гормон белково-пептидной природы, принимающий участие в осуществлении многих физиологических функций организма. Он влияет на выработку условных рефлексов, на обмен глюкозы, углеводов и липидов, на состояние системы гемостаза, подавляет диурез, стимулирует гипертензию, регулирует выделение АКТГ аденогипофизом, оказывает действие на физиологические изменения, связанные со старением и когнитивной функцией. Исследования последних лет указывают на связь холинэргической системы с реакциями освобождения AVP из ЦНС для осуществления тех или иных его физиологических эффектов.

Анализ результатов клинико-экспериментальных исследований и собственных данных по влиянию AVP и его аналогов на систему свертывания крови позволяют подтвердить вывод о сложном полимодальном действии пептидных биорегуляторов, к которым относятся и пептиды вазопрессинового ряда. Несомненно, широкий спектр действия вазопрессина необходимо учитывать для возможности более эффективного целевого применения этого пептида, в том числе при использовании в тромболитической терапии и для профилактики предтромбозов и тромбозов. На изучение этой проблемы направлены усилия и клиницистов, и экспериментаторов. Согласно общепринятому мнению, AVP проявляет двуправленный эффект в отношении свертывания крови, усиливая как ее прокоагулянтные, так и

фибринолитические свойства. На наш взгляд, для использования этого нейропептида и его аналогов при лечении тромботических осложнений с наибольшей эффективностью и минимальным побочным действием целесообразно усилить проявление его фибринолитического действия. Для решения этого вопроса важно понимание механизмов повышения фибринолитической активности и активности ТАП под действием AVP. Результаты наших собственных экспериментов позволяют говорить о том, что в этом процессе участвуют как центральные, так и периферические механизмы. Очевидным является не только факт участия холинэргических структур в освобождении вазопрессина и реализации его фибринолитических эффектов, но и факт освобождения ТАП при непосредственном действии AVP и его аналогов на эндотелий. Тем не менее, поскольку обе концепции (о центральном и периферическом освобождении ТАП при появлении AVP в крови) имеют право на существование, становится очевидным, что подходы к пониманию механизмов, обеспечивающих реализацию данного эффекта вазопрессина, намного шире, чем можно предположить. Выявление всех тонкостей регуляции системы гемостаза AVP его аналогами может открыть большие перспективы для предупреждения и лечения тромботических осложнений. Вполне возможно, что благодаря пониманию этого вопроса один из основных неклассических физиологических эффектов AVP найдет прямое применение в клинической практике.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева Л.А., Мезенцева М.В., Наровлянский А.Н. и др.* Перспективы создания новых пептидных лекарственных препаратов, обладающих противомикробной и иммуномодулирующей активностью // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1. № 2. С. 171–176.
- Арушанян Э.Б., Боровкова Г.К.* Лекарственные средства, влияющие на функцию эфферентных нервов: учебное пособие. Ставрополь: СтГМУ, 2016. 72 с.
- Ашмарин И.П.* Структурно-функциональная классификация регуляторных пептидов // Нейрохимия. 2007. Т. 24. № 2. С. 180–185.
- Голубева М.Г.* Нейропептид вазопрессин и его структурные аналоги в регуляции системы гемостаза. М.: Ким Л.А., 2020. 144 с.
- Голубева М.Г., Калишевская Т.М., Григорьева М.Е.* Вазопрессин, его аналоги и система гемостаза // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 1999. № 4. С. 3–11.
- Голубович В.П., Тонкович И.Н., Фиглевский В.А.* Моделирование процесса деградации пептидных соединений в русле крови // Тез. Всерос. симп. по химии и биологии пептидов. М., 2003. С. 13.
- Григорьева М.Е., Голубева М.Г., Смирнова М.П., Кауров О.А.* Влияние пептидов вазопрессинового ряда на освобождение фактора Виллебранда и активатора плазминогена эндотелиальными клетками // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 1999. № 4. С. 17–20.
- Григорьева М.Е., Калишевская Т.М., Голубева М.Г. и др.* Влияние модифицированных форм вазопрессина на систему гемостаза крыс // Изв. РАН. Сер. биол. 1997. № 2. С. 238–241.
- Ляпина Л.А., Григорьева М.Е.* Сопряженность процессов свертывания и противосвертывания крови. М.: Ким Л.А., 2018. 88 с.
- Мясоедов Н.Ф.* Инновационные лекарства: от фундаментальных исследований к производству // Вестн. РАН. 2016. Т. 86. № 6. С. 488–494.
- Справочник Видаль 2020. Лекарственные препараты в России / Ред. Е.А. Толмачева. М.: Видаль Рус, 2020. 1120 с.
- Струкова С.М.* Основы физиологии гемостаза. М.: МГУ, 2012. 130 с.
- Тюзиков И.А., Калинин С.Ю., Ворслов Л.О., Тишова Ю.А.* Вазопрессин: неклассические эффекты и роль в патогенезе ассоциированных с вазопрессином заболеваний // Урология и нефрология. 2015. № 3. С. 38–50.
- Шутикова А.С.* Тромбоцитарный гемостаз. СПб: СПбГМУ, 2000. 227 с.
- Шиффман Ф.Дж.* Патофизиология крови. Пер. с англ. М.–СПб.: БИНОМ-Невский Диалект, 2000. 448 с.
- Bennett J.A., Ture S.K., Schmidt R.A. et al.* Acetylcholine inhibits platelet activation // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2019. V. 369. № 2. P. 182–187.
- Cavun S., Savei V., Ulus I.H.* Centrally injected CDP-choline increases plasma vasopressin levels by central cholinergic activation // Fundam. Clin. Pharmacol. 2004. V. 18 (1). P. 71–77.
- Changeux J.-P.* Discovery of the first neurotransmitter receptor: the acetylcholine nicotinic receptor // Biomolecules. 2020. V. 10 (4). P. 547–552.
- Chen J., Cheuk I.W.Y., Shin V.Y., Kwong A.* Acetylcholine receptors: key players in cancer development // Surg. Oncol. 2019. V. 31. P. 46–53.
- Cohn J.A., Kowalik C.G., Reynolds W.S. et al.* Desmopressin acetate nasal spray for adults with nocturia // Exp. Rev. Clin. Pharmacol. 2017. V. 10 (12). P. 1281–1293.
- Du Vigneaud V., Ressler Ch, Swan J. et al.* The synthesis of lysine vasopressin // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 5572–5575.
- Golubeva M., Grigorjeva M.* Effect neurohypophysial hormones and their synthetic analogs on the haemostasis

- system // *Progress in Neuropeptides (Handbook)*. N.Y.: Novo Science Publishers, 2007. P. 254–271.
- Grant P.J. Regulation of haemostasis. The role of arginine vasopressin // *Desmopressin in bleeding disorders*. N.Y.: Plenum Press, 1993. P. 1–11.
- Kaufmann J.E., Okshe A., Wollheim C.B. et al. Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP // *J. Clin. Invest.* 2000. V. 106. № 1. P. 107–116.
- Kiouptsi K., Reinhardt C. Physiological roles of the von Willebrand F-factor VIII interaction // *Subcell. Biochem.* 2020. V. 94. P. 437–464.
- Mannucci P.M. New therapies for von Willebrand disease // *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2019. V. 2019 (1). P. 590–595.
- Mavani G.P., DeVita M., Michelis M. Review of the nonpressor/and nonantidiuretic action of the hormone vasopressin // *Front. Med.* 2015. V. 2. P. 19.
- Nagano H., Sobue Y., Matsuyama H. et al. Muscarinic M₂ receptor promotes vasopressin synthesis in mice suprachiasmatic nuclei // *J. Endocrinol.* 2018. V. 237 (2). P. 207–216.
- Pedersen J., Bergqvist Ch., Larhammar D. Evaluation of the muscarinic acetylcholine receptors in vertebrates // *ENEURO*. 2018. V. 5 (5). P. 1–54.
- Raber J., Pich E.M., Koob G.F., Bloom F.E. IL-1 beta potentiates the acetylcholine-induced release of vasopressin from the hypothalamus *in vitro*, but not from the amygdala // *Neuroendocrinology*. 1994. V. 59 (3). P. 208–217.
- Rahman M.M., Teng J., Worrell B.T. et al. Structure of the native muscle-type nicotinic receptor and inhibition by snake venom toxins // *Neuron*. 2020. V. 106. № 6. P. 952–962.
- Robert J., Clauser E. Vasopressin receptors. Structure/function relationships and signal transduction // *J. Soc. Biol.* 2005. V. 199 (4). P. 35–39.
- Russell J.A., Leng G. *Veni, vidi, vici*: the neurohypophysis in the twentieth century // *Exp. Physiol.* 2000. V. 85. Spec. №. P. 1S–6S.
- Savci V., Goktalay G., Ulus I.H. Intracerebrovascular choline increases plasma vasopressin and augments plasma vasopressin response to osmotic stimulation and hemorrhage // *Brain Res.* 2002. V. 28. № 942 (1–2). P. 58–70.
- Schnek S., Kaulla K. Fibrinolysis and nervous system // *Neurology*. 1961. V. 2. № 11. P. 959–969.
- Sine S.M. End-plate acetylcholine receptor: structure, mechanism, pharmacology, and disease // *Physiol. Rev.* 2012. V. 92 (3). P. 1189–1234.
- Tsetlin V. Acetylcholin and acetylcholine receptors: textbook knowledge and new data // *Biomolecules*. 2020. V. 10 (6). P. 852–858.
- Unwin N. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 Å resolution // *J. Mol. Biol.* 2005. V. 346. P. 967–989.

The Role of Cholinergic Receptors in the Reactions of the Haemostasis System on Vasopressin

M. E. Grigorjeva^a, * and M. G. Golubeva^a

^aLomonosov Moscow State University, Biology Department, Moscow, Russia

*e-mail: mgrigorjeva@mail.ru

The review presents current literature data and generalized results of our own research on the mechanisms of vasopressin action in the organism. A wide range of physiological effects of this neuropeptide, its structure, synthesis, and receptors are considered. The connection between the synthesis and release of vasopressin and the activation of the cholinergic system is emphasized. The review pays special attention to the effects of this neuropeptide on the system of blood coagulation. The emphasis is on clarifying the degree of participation of central and peripheral cholinergic receptors in the reactions of the hemostasis system to vasopressin. The leading role of cholinergic receptors in enhancing fibrinolysis and the activity of tissue plasminogen activator under the action of a peptide is described. The summarized in the review data allow us to conclude that it is necessary to further study of the mechanisms that ensure the realization of this vasopressin effect for its use in clinical practice in order to prevent and treat thrombotic complications with the greatest effectiveness and minimal side effects.

Keywords: vasopressin, cholinergic receptors, haemostasis system, fibrinolysis, plasminogen activator