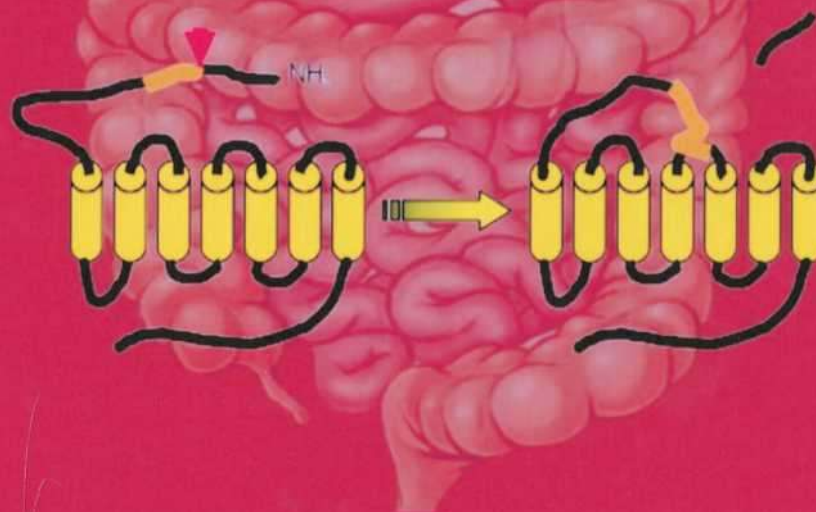


В.А.АЛЕЙНИК, С.М.БАБИЧ,  
М.А.ЖУРАЕВА

**ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-  
АКТИВИРУЕМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ  
В ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ  
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**



АНДИЖАН 2022

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

«УТВЕРЖДАЮ»  
Начальник Управления науки  
и образования д.м.н., профессор  
У.С.Исмаилов  
«02» 11 2022 г.

Алейник В.А., Бабич С.М., Жураева М.А.

**ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-АКТИВИРУЕМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В  
ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**  
(монография)

«Тасикланд»  
УФ Социал саноли  
илмори ва илмий филология  
мувожаатлари Бўлим  
02.11.22  
В.А.-М.Н.Ж.16

Ташкент-2022 г.

**Составители:**

**Алейник В.А.** – д.м.н., профессор кафедры физиологии Андижанского государственного медицинского института

**Бабич С.М.** – к.м.н., доцент заведующая кафедрой социальной гигиены и управления здравоохранением Андижанского государственного медицинского института

**Жураева М.А.** – д.м.н., доцент кафедры врачей общей практики №1 Андижанского государственного медицинского института

**Рецензенты:**

**Гадаев А.Г.** – д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней с курсом эндокринологии Ташкентской медицинской академии

**Хамракулов Ш.Х.** – д.м.н., доцент, заведующий кафедрой патологической физиологии Андижанского государственного медицинского института

Данная монография рекомендована к печати научным советом Андижанского государственного медицинского института от 24 сентября 2022 года. Протокол № 2

## ОГЛАВЛЕНИЕ

АННОТАЦИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	
1. РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ГИДРОЛАЗ В ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ	9
2. ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-АКТИВИРОВАННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, МЕХАНИЗМЫ ИХ РЕГУЛЯТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ	17
3. ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-АКТИВИРУЕМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА	27
3.1. Протеазо-активируемые рецепторы и экзокринная секреция	27
3.2. Роль рецепторов тромбина (PAR1 и PAR4) в регуляции экзокринной секреции	31
3.3. Протеазо-активируемые рецепторы и модуляция подвижности гладких мышц желудочно-кишечного тракта	32
3.4. Передача клеточных сигналов, запускаемая протеазо-активируемыми рецепторами в эпителиальных клетках ЖКТ	34
3.5. Роль протеазо-активируемых рецепторов при заболеваниях	36
3.5.1. Протеазо-активируемые рецепторы-2 при воспалении и боли поджелудочной железы	36
3.5.2. Протеазо-активируемые рецепторы в повреждении слизистой оболочки и защите пищевода, желудка и толстой кишки	40
3.5.3. Протеазо-активируемые рецепторы-2 и боль в толстом кишечнике	43
4. РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ГИДРОЛАЗ В МЕХАНИЗМАХ МОДИФИЦИРУЮЩИХ ВЛИЯНИЙ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ НА СЕКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА	45
4.1. Протеолитические гидролазы в модифицирующих влияниях пентагастрина на секреторную функцию желудка	45
4.2. Протеолитические гидролазы в модифицирующих влияниях лей-энкефалина на секреторную функцию желудка	55
5. РОЛЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ПРОТЕАЗ В ИЗМЕНЕНИИ УТИЛИЗАЦИИ ПЕЧЕНЬЮ ПЕНТАГАСТРИНА	68
5.1. Панкреатические протеазы в изменении утилизации печенью пентагастрина	68
5.2. Влияние панкреатических непротеолитических гидролаз на изменение утилизации печенью пентагастрина	74
5.3. Влияние различных доз трипсина на изменение утилизации	



печенью пентагастрина .....	77
5.4. Влияние приема пищи на изменение утилизации печенью пентагастрина .....	81
5.5. Изменение панкреатической секреции при введении различных доз трипсина в периферическую и портальную вены .....	86
<b>6. РОЛЬ ПРОТЕАЗО-АКТИВИРОВАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ В УТИЛИЗАЦИИ ПЕЧЕНЬЮ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ .....</b>	<b>91</b>
6.1. Изменение утилизации печенью пентагастрина под влиянием трипсина .....	91
6.2. Изменение утилизации печенью ХЦК-8 под влиянием трипсина .....	95
6.3. Роль печени в модификации пептидергических механизмов регуляции пищеварительных желез .....	100
6.4. Влияние трипсина и гексапептида-SLIGRL на изменение утилизации печенью пентагастрина .....	107
6.5. Влияние трипсина и гексапептида-sligrl на утилизацию печенью ХЦК-8 .....	113
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>118</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>132</b>

#### Аннотация

Интерес к протеазам значительно проявляется признанием того, что помимо пищеварительного переваривания белков, протеазы участвуют в регуляции очень многих физиологических процессов. Это регуляторное влияние связано взаимодействием с рецепторными участками. Наиболее изученными среди них являются протеазы, вовлеченные в свертывание крови, фибринолиз, систему комплемента, и обработку белковых предшественников гормонов, а также участие протеаз в сигнализации при взаимодействии с протеазо-активированными рецепторами. Протеазо-активируемые рецепторы (PARs) являются уникальным семейством рецепторов, связанных с G-белком, опосредующих специфические клеточные действия различных эндогенных протеиназ, включая тромбин, трипсин, триптазу, а также некоторые экзогенные ферменты. Все больше данных демонстрируют важную роль PAR в физиологии и патологии. PAR, особенно PAR1 и PAR2, распределяются по всему желудочно-кишечному тракту (ЖКТ), модулируя его различные функции. Одной из наиболее важных функций PAR желудочно-кишечного тракта является регуляция экзокринной секреции в слюнных железах, поджелудочной железе и эпителии слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. PAR также модулируют моторику гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта с участием множества механизмов.

#### Аннотация

Жуда кўп физиологик жараёнларда оксилларни тартибга солишда иштирок этадиган хазм қилиш жараёндан ташқари протеазаларни рецепторлар орқали бажариладиган регулятор фаолияти олимлар орасида катта қизиқиш ўйғотди. Ушбу регулятор фаолият фибринолиз рецепторлари билан боғлиқ. Улар орасида энг кўп ўрганилган протеазалар кон ивиш билан боғлиқ протеазалари, комплемент тизими ва гормонларнинг оксил предметларини қайти ишлаш, шунингдек протеазалар фаоллаштирилган рецептлари билан ўзаро таъсир кўрсатганда сигнализация вазифасини бажаришда иштирок этади. Протеаза фаоллаштирилган рецепторлари (PARs) g-протеин билан боғлиқ турли хил эндоген протеазаларнинг ўзига хос хужайра харакатларига, жумладан тромбин, трипсин, триптаза ва бази экзоген ферментларга воситачилик қилувчи ноёб рецепторлар оиласидир. Кўпроқ маълумотлар PARнинг физиология ва патологияда муҳим ролини намойиш этади. PAR, айниқса PAR1 ва PAR2, ошқозон ичак тракти бўйлаб тарқалади, унинг турли фаолитини модуляция қилади. Ошқозон ичак тракти PAR рецепторларнинг энг муҳим вазифаларидан бири сўлак безлари, ошқозон ости бези ва ошқозон ичак тракти эпителиясида экзокрин секрециянинг тартибга солиш ҳисобланади. PAR шунингдек, кўплаб механизмларни ўз ичига олган ошқозон- ичак тракти силлик мушакларнинг моторикасини модуляция қилади.

### Annotation

Interest in proteases is significantly manifested by the recognition that in addition to the digestive digestion of proteins, proteases involved in the regulation of many physiological processes. This regulatory effect is associated with interaction with receptor sites. The most studied among them are proteases involved in blood clotting, fibrinolysis, the complement system, and the processing of protein precursors of hormones, as well as the participation of proteases in signaling when interacting with protease-activated receptors. Protease-activated receptors (PARs) are a unique family of G-protein-coupled receptors mediating the specific cellular actions of various endogenous proteinases, including thrombin, trypsin, tryptase, as well as some exogenous enzymes. More and more data demonstrate the important role of PAR in physiology and pathology. PAR, especially PAR1 and PAR2, are distributed throughout the gastrointestinal tract (GI tract), modulating its various functions. One of the most important functions of the gastrointestinal tract PAR is the regulation of exocrine secretion in the salivary glands, pancreas and epithelium of the gastrointestinal mucosa. PAR also modulate the motility of the smooth muscles of the gastrointestinal tract with the participation of a variety of mechanisms.

### АННОТАЦИЯ

Интерес к протеазам значительно проявляется в признании того, что помимо пищеварительного переваривания белков, протеазы участвуют в регуляции многих физиологических процессов. Этот регуляторный эффект связан с взаимодействием с рецепторными участками. Наиболее изучены среди них протеазы, участвующие в свертывании крови, фибринолизе, системе комплемента, а также в переработке предшественников гормонов, а также участие протеаз в передаче сигнала при взаимодействии с протеазоактивными рецепторами. Протеазоактивные рецепторы (ПАР) представляют собой уникальную группу G-белочных рецепторов, осуществляющих специфические клеточные действия различных эндогенных протеиназ, включая тромбин, трипсин, триптазу, а также некоторые экзогенные ферменты. Все большее количество данных свидетельствует о важной роли ПАР в физиологии и патологии. ПАР, особенно ПАР1 и ПАР2, широко распространены в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), модулируя его различные функции. Одной из важнейших функций ПАР в ЖКТ является регуляция экзокринной секреции в слюнных железах, поджелудочной железе и эпителии желудочно-кишечной слизистой оболочки. ПАР также модулируют моторику гладкой мускулатуры ЖКТ с участием различных механизмов.

## ВВЕДЕНИЕ

Протесолитические ферменты составляют около 2% человеческого генома [304]. Поэтому протеазы участвуют в разнообразных биологических процессах, начиная от деградации пищевых белков в просвете желудочно-кишечного тракта до контроля клеточного деления. В последние годы накоплено большое количество данных показывающих, что на поверхности клеток протеиназы способны формировать или разрушать агонисты рецепторов, а также активировать и инактивировать рецепторы, в результате чего обеспечивать жизненно важный вклад в передаче сигнала, и, тем самым, повышать или снижать функциональную активность клеток. Протеиназы реализуют свои свойства через протеазо-активируемые рецепторы PARs (protease activated receptors) – уникальным классом рецепторов, распространенных во многих тканях организма, в том числе в мозге. В настоящее время идентифицировано 4 члена семейства PAR рецепторов (PAR1, PAR2, PAR3, PAR4) три из них активируются тромбином (PAR1, PAR3, PAR4), а два (PAR2, PAR4) трипсином [152, 246].

Активация PARs инициирует целый ряд сигнальных событий во многих типах клеток с различными последствиями, начиная от гемостаза и передачи боли. Некоторые сериновые протеазы, которые выделяются из крови (например, факторы свертывания крови), воспалительных клеток (например, тучных клеток и протеазы нейтрофилов), а также из различных других источников (например, эпителиальные клетки, нейроны, бактерии, грибки) могут расщеплять протеазо-активированные рецепторы (PARs) [45].

Сигнализация протеаз в тканях зависит от образования и выброса протеаз, наличия кофакторов, присутствия ингибиторов протеазы, а также активации и инактивации PAR. Многие протеазы, активирующие PARs, образующиеся в процессе повреждения тканей вносят важный вклад в ответ на травма, в том числе гемостаз, исправление, выживаемость клеток, воспаление и боль. Препараты, которые имитируют или влияют на эти процессы, в частности

агонисты PARs, являются привлекательными для терапии. В то время как ингибиторы протеаз и PAR антагонисты могут воспрепятствовать усугублению воспаления и боли. Решение в будущем проблем позволяющих понять роль протеаз и PARs в физиологических механизмах контроля и болезней человека, а также разработка селективных агонистов и антагонистов, могут быть использованы для исследования функций и лечения болезней [270, 269].

В настоящее время протеиназы не следует рассматривать только с традиционной точки зрения как пищеварительные ферменты, но и дополнительно в качестве сигнальных молекул, которые активно участвуют в регуляции многих физиологических и патологических состояний, особенно желудочно-кишечного тракта. Протеазы в целом теперь предлагается рассматривать как гормоны, которые могут осуществлять сигнализацию через протеазо-активируемые рецепторы [270].

Эта монография затрагивает значение протеаз и PARs, а также протеолитических процессов на поверхности клетки в передаче сигнала, в условиях физиологии и патологии. Эти механизмы малоизвестны для многих специалистов в области теоретической и клинической медицины, однако в настоящее время невозможно представить многие физиологические и патологические процессы без учета участия в них протеаз и PARs. Вследствие этого монография позволит ознакомить специалистов с ролью протеаз и PARs в регуляции физиологических и патологических состояний. В монографии отражены механизмы, которые влияют на сигнализацию PAR, и показана важность PARs в физиологическом контроле основных систем, а также значение PARs в патологии. Более подробно отображена роль PARs в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта. Кроме того в монографии представлен большой объем экспериментальных исследований, полученных авторами за последние годы, доказывающих участие протеаз в регуляции пищеварительных желез желудка и поджелудочной железы, а также печени в новых механизмах регуляции желудка и поджелудочной железы при

участии панкреатических протеаз и протеазо-активированных рецепторов печени.

## **I. РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ГИДРОЛАЗ В ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ**

Протеолитические ферменты, составляют около 2% человеческого генома. Не удивительно поэтому, что протеазы участвуют в разнообразных биологических процессах, начиная от деградации пищевых белков в просвете желудочно-кишечного тракта до контроля клеточного цикла [270].

В настоящее время протеазы не следует рассматривать только с традиционной точки зрения как пищеварительные ферменты или деструкции в кишечнике, но и дополнительно в качестве сигнальных молекул, которые активно участвуют в спектре физиологических и патологических состояний желудочно-кишечного тракта. Таким образом, протеазы в целом теперь предлагается рассматривать как «гормоноподобных» посредников, которые могут осуществлять сигнализацию через протеазо-активированные рецепторы или другие механизмы [270].

К числу фундаментальных достижений молекулярной биологии последних лет относится осознание протеолиза как особой формы биологической регуляции. Ограниченный протеолиз служит пусковым механизмом многих биологических процессов и обеспечивает быстрый физиологический ответ организма на меняющиеся условия или поступающий из вне сигнал [33, 206, 207]. Понимание регуляторной роли протеолитических ферментов имеет первостепенное значение для расшифровки молекулярных механизмов таких биологических явлений, как деление и трансформация клеток, дифференцировка и морфогенез, нейробиологические процессы и т. д. Этим определяется большой интерес к изучению протеолитических ферментов в медицине [33, 126].

Протеолитические ферменты участвуют в регуляции биологических процессов на разных уровнях [211]. Они контролируют концентрацию белковых и пептидных биорегуляторов на молекулярном уровне, включены в реализацию многих клеточных функций (биогенез структур, фагоцитоз, деление и т. д.) и тем самым играют важную роль в физиологии клетки. Первостепенная роль принадлежит протеолитическим ферментам в осуществлении ряда физиологических процессов, реализуемых определенными системами белков или отдельными тканями. В таких процессах, как свертывание крови, активация системы комплемента и т. д., протеолиз служит не только для запуска, но и для реализации всего процесса. Образую и инактивируя различные продукты – медиаторы, протеиназы участвуют в гормональной, нейро- и иммунорегуляции и тем самым вовлечены в координацию функционирования различных клеточных систем и интеграцию организма как целого [16, 33, 36, 297, 192, 105].

Существует пять протеолитических систем плазмы крови: свертывающая, противосвертывающая, кининовая и ангиотензин-рениновая, а также система комплемента. Все эти системы действуют по каскадному принципу с чередованием неактивных, активирующих и ингибирующих компонентов. Такой принцип организации позволяет в случае необходимости существенно ускорить физиологические процессы организма, а также тонко их регулировать на каждом этапе. Активация систем протеолиза способствует образованию биологически активных пептидов с противоположным характером действия, обеспечивая нормальное функционирование сложной системы гомеостаза. Протеолитические ферменты плазмы крови являются, как правило, сериновыми протеиназами. К ним относятся плазмин, тромбин, калликреин, ренин, которые регулируют активацию фибринолитической, свертывающей, кининовой и ангиотензиновой систем [36, 287, 51, 66].

Согласованное действие протеолитических систем обеспечивается общими активаторами. Общим активатором протеолитических систем крови

может быть трипсин. Трипсин, представляет собой сериновую протеиназу. Действие трипсина в организме более разностороннее. Кроме активации проферментов поджелудочной железы (химотрипсин, проластаза, профосфоорилаза) трипсин превращает проинсулин в инсулин, проренин в ренин, предшественника адренкортикотропного гормона в активный гормон. Установлено, что трипсин участвует в образовании кининов, активирует плазминоген, увеличивает концентрацию фибриногена [52, 338, 288, 294, 187].

Известны эффекты трипсина на биологические мембраны: повышение проницаемости, изменение электропроводности и поверхностного заряда, трипсин активирует аденилатциклазу, высвобождение альдостерона, увеличивает транспорт глюкозы по типу инсулина. Имеются данные о способности трипсина воздействовать на ферменты обмена нуклеиновых кислот и белка. Установлено, что трипсин способен индуцировать клеточную пролиферацию (синтез ДНК, фосфорилирование гистонов, метилирование ДНК). Принимает участие в ответе Т и В лимфоцитов на митогенный стимул [221, 237, 327, 302, 329].

В норме трипсин в плазме крови существует в неактивном состоянии из-за образования комплекса с ингибиторами. Увеличение активности трипсина в плазме, как правило, связано с повреждением поджелудочной железы и может быть патогенетическим фактором развития таких патологических состояний как язвенная болезнь, панкреатит, инфаркт миокарда, лучевая болезнь, нарушение микроциркуляции и развитие шоковых реакций. Повышение активности трипсина может являться рекомендацией для назначения ингибиторов протеолиза в терапии подобных состояний [17, 35, 58, 314, 154].

Уже давно считается, что трипсин обычно синтезируется только в поджелудочной железе. Однако было обнаружено, что экспрессия трипсина выявляется в тканях, не являющихся панкреатическими, у человека и мыши. Нозерн-блот-анализ нормальных тканей показал, что ген трипсина экспрессируется на высоких уровнях в поджелудочной железе, селезенке и



значительно в тонком кишечнике. В то же время гибридизация *in situ* и иммуногистохимия показали, что трипсин широко экспрессируется в эпителиальных клетках кожи, пищевода, желудка, тонкой кишки, легких, почек, печени и внепеченочных желчных протоков, а также селезеночных и нейронных клетках. В селезенке трипсиновое соединение было обнаружено в макрофагах, моноцитах и лимфоцитах. В мозге он был обнаружен в нервных клетках гиппокампа и коры головного мозга. Анализ с помощью желатиновой зимографии подтвердил наличие скрытой или активной формы трипсина в различных нормальных тканях мыши. Анализ обратной транскрипционно-полимеразной цепной реакции также подтвердил экспрессию генов трипсина в селезенке, печени, почках и головном мозге нормальных мышей. Такое широкое распространение трипсина предполагает его общие роли в поддержании нормальных функций эпителиальных клеток, системы иммунной защиты и центральной нервной системы [277, 280, 265, 191].

Секреторные протеиназы играют важную роль во многих физиологических процессах, таких как пищеварение, свертывание крови, фибринолиз и контроль артериального давления [243, 189]. Они также участвуют в различных патологических процессах, включая аномальную коагуляцию крови, воспаление, инвазию опухоли и атеросклероз. Металлопротеиназы и сериновые протеиназы [84] являются основными группами секреторных протеиназ [341].

Трипсин является одним из лучших охарактеризованных сериновых протеиназ. Давно известно, что трипсин продуцируется в виде зимогена (трипсиногена) в ацинарных клетках поджелудочной железы, секреторится в двенадцатиперстную кишку, активируется в зрелую форму трипсина энтерокиназой и функционирует как основной пищеварительный фермент [133, 121]. Однако, мало известно о распределении и функции трипсина в других нормальных тканях. На сегодняшний день четыре формы трипсина (или трипсиногена) были описаны у людей: трипсин 1 [199], трипсин 2 [309],

трипсин 3 [310] и трипсин 4 [124, 227, 190]. Трипсины 1 и 2 являются основными формами трипсина, которые выделяются с панкреатическим соком, активированные энтеропептидазой в тонком кишечнике они участвуют в пищеварении. Трипсин 3 или мезотрипсинген является не полностью оформленным трипсиногеном в соке поджелудочной железы человека [281, 315, 278, 283]. Тем не менее, мезотрипсинген однозначно чувствителен к активации в лизосомах катепсином и, таким образом, может быть досрочно активирован в воспаленной поджелудочной железе [310, 229]. Кроме того, мезотрипсин не зависит от полипептидных ингибиторов трипсина, таких как соевый ингибитор трипсина (SBTI) и секреторный ингибитор трипсина (hPSTI) [251, 279, 49], а также эффективно снижает и инактивирует эти ингибиторы [310]. Трипсиногена IV первоначально был идентифицирован в человеческом мозге и может быть одним из вариантов mesotrypsinogen [315, 191]. Трипсиноген 4 отличается от мезотрипсина в экзоне I в том, что ему не хватает узнаваемых сигнальных последовательностей. В эпителиальных клетках простаты, дыхательных путей и слизистой оболочки толстой кишки человека выявили мРНК, кодирующую трипсиногена 4, и энтеропептидазы, которая активизирует зимоген. В отличие от трипсина поджелудочной железы, трипсин 4 был полностью устойчив к ингибированию полипептидными ингибиторами. Таким образом, устойчивость трипсина 4 к эндогенным ингибиторам трипсина может способствовать длительной сигнализации [129].

Предполагается, что трипсиноген 4 в мозге может контролировать образование глиального фибриллярного кислого белка и обработку белка-предшественника амилоида, однако его физиологические функции не известны [190, 228]. Трипсины были так же выявлены в экстрапанкреатических тканях, включая эндотелиальные клетки, линии опухолевых клеток и нейроны [128, 252, 260, 95, 200, 284]. Тем не менее, свойства и функции этих экстрапанкреатических трипсинов полностью не поняты.

Содержание: [введение](#) | [1. Введение](#) | [2. Трипсин](#) | [3. Трипсиноген](#) | [4. Трипсиноген 4](#) | [5. Заключение](#)

Прошлые исследования показали, что у людей трипсины или трипсиноподобные ферменты продуцируются раковыми клетками желудка [76], яичника [214], легких [89], толстой кишки [118] и другими [269]. Трипсин, полученный из опухоли, вероятно, может способствовать инвазии и метастазированию опухоли путем разложения белков внеклеточного матрикса и активации латентных форм матричных металлопротеиназ (ММП) [303, 64]. Недавно обнаружили, что трипсин 2 экспрессируется сосудистыми эндотелиальными клетками вокруг опухолей желудка у пациентов с диссеминированной внутрисосудистой коагуляцией [43]. Трипсиноподобные ферменты наблюдались в некоторых нормальных тканях [193]. Ген трипсина 4 экспрессируется в мозге человека. Эти факты свидетельствуют о широком распространении и функционировании трипсина в нормальных тканях [191].

Было показано, что трипсин широко экспрессируется в эпителиальных клетках кожи, пищевода, желудка, тонкого кишечника, толстой кишки, легких, почек, печени и внепеченочных желчных протоков, а также лейкоцитов в селезенке и нервных клетках мозга. Трипсин эффективно гидролизует широкий спектр белков, включая пищевые белки и белки внеклеточного матрикса на карбоксильном конце аргининовых и лизиновых остатков. Кроме того, он эффективно активирует скрытые формы различных сериновых протеиназ и металлопротеиназ, которые участвуют в свертывании крови, фибринолизе или деградации внеклеточного матрикса. Например, трипсин более эффективен, чем плазмин и другие сериновые протеиназы в активации латентных форм многих ММП, включая стромелизин [230, 64] и матрилизин [325, 201]. Трипсин также способен обрабатывать мембранные рецепторы, такие как рецептор тромбина и рецептор, активированный протеиназой 2 [102, 246].

Неожиданно было установлено, селезенка имела самый высокий показатель экспрессии трипсина по отношению к другим тканям, за исключением поджелудочной железы. Моноциты и макрофаги в белой пульпе селезенки показали сильный сигнал для транскрипта трипсина, тогда как

лимфоциты проявляли слабый сигнал. Известно, что многие типы лейкоцитов конститутивно секретируют желатиназу В (ММР-9) и нейтрофильную коллагеназу (ММР-8), которые эффективно активируются трипсином [319, 125]. Активированные человеческие В-клетки и В-клеточные линии продуцируют трипсиноподобную протеиназу [67] тогда как Т-лимфоциты продуцируют несколько типов гранзимов [134] и триптазы. Выявлены две формы новых сериновых протеиназ с высоким сходством с трипсином из селезенки мыши. Анализ ПЦР показал, что селезенка мыши экспрессирует ген трипсина поджелудочной железы на высоком уровне. Предполагается, что трипсин селезенки играет определенные роли в иммунной защите.

Тонкий кишечник и желудок обнаруживали трипсин на высоком уровне. Ранее было обнаружено, что клетки аденокарциномы желудка секретируют трипсины 1 и 2 в латентных и активных формах [153, 312]. Таким образом, предполагается, что в желудке и кишечнике трипсины секретируются и функционируют как пищеварительные ферменты вместе с трипсинами, вызванными поджелудочной железой. Точно так же трипсин, продуцируемый различными типами эпителиальных клеток, особенно экзокринных желез, таких как желчный проток и нефрон почки, может функционировать при переваривании ненужных экскретированных белков в качестве «очистителя труб».

Стратифицированный плоскоклеточный эпителий в пищеводе и коже обнаруживал трипсин на относительно высоких уровнях. У мышей экстракты из этого эпителия, а также желудка и кишечника содержали активную форму трипсина. Это означает, что в этих тканях секретируемый скрытый трипсин (трипсиноген) непрерывно активируется активным трипсином эндогенным активатором, вероятно, энтерокиназой. Было показано, что ген энтерокиназы экспрессируется в пищеварительном тракте [238]. Для десквамации требуется протеолитическая деградация межклеточных когезионных структур в роговом слое и пролиферация клеток на поверхности кожи [272]. Недавно была описана

специфическая для кожи серинная протеиназа, называемая химотриптичным ферментом рогового слоя, и ожидается, что она будет вовлечена в десквамацию. Chymotryptic фермент Stratum имеет гомологию с трипсином, химотрипсином и калликреином, и его проинзим эффективно активируется трипсином [272]. Представляется вероятным, что трипсин, активированный энтерокиназой, участвует в десквамации как путем прямого разрушения межклеточных когезионных структур, так и путем активации скрытых форм химотриптичного фермента рогового слоя и MMP. В качестве другой возможности трипсин может быть вовлечен в рост и терминальную дифференцировку эпидермальных кератиноцитов.

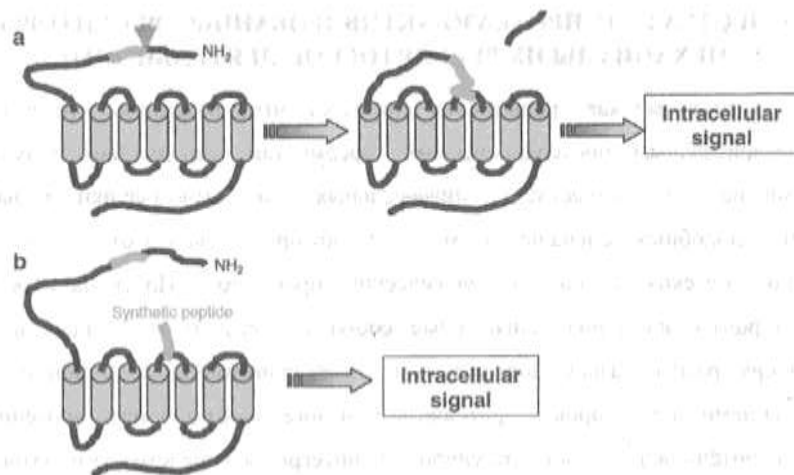
В проведенных исследованиях также была продемонстрирована экспрессия трипсинового гена в мозге человека и мыши. КДНК трипсина 4, белковый продукт которой не имеет сигнальной последовательности, был клонирован из библиотеки кДНК мозга человека. Кроме того, клонировали кДНК для двух трипсинподобных ферментов, экспрессированных в мозге человека, нейропсина [324] и нейрозина [313]. Нейропсин специфически экспрессируется в пирамидальных нейронах гиппокампа. Физиологические роли этих трипсинов и трипсин-родственных ферментов в центральной нервной системе, по-видимому, относятся к числу наиболее важных предметов, подлежащих изучению.

Экспрессия генов трипсина Ubiquitus предполагает их существенную роль в поддержании различных клеточных функций. Более того, aberrantная экспрессия тканевого трипсина, вероятно, будет вовлечена в различные патологические процессы, включая инвазию опухоли и воспаление. Дальнейшие исследования необходимы для уточнения подробных функций трипсина в каждом типе ткани и клетки [261, 268].

## 2. ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-АКТИВИРОВАННЫХ РЕЦЕПТОРЫ МЕХАНИЗМЫ ИХ РЕГУЛЯТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

В то время как традиционно считается, что протеиназы относятся к пищеварительным протеолитическим ферментам, теперь они получают признание в качестве универсальных и многофункциональных гормоноподобных сигнальных молекул, которые участвуют во многих физиологических и патофизиологических процессах. Протеиназы могут регулировать клеточные сигнальные события через их взаимодействие с большим разнообразием целей, в том числе прогормонами, кининогенами, хемокинами прекурсоров и протеиназами зимогенов. Кроме того, протеиназы также потенциально могут регулировать интегрины внеклеточного матрикса сигнализации и активировать рецепторы факторов роста, как и инсулина. Ключевой интерес с точки зрения протеиназо-опосредованной сигнализацией является способность протеиназ регулировать функции клеток путем расщепления и активации протеазо-активированных рецепторов (PAR) семейства G-белков [269].

Активация PARs существенно отличаются от других аналогичных рецепторных белков уникальным механизмом активации – с помощью так называемого “привязанного лиганда”. На первом этапе активации активирующая протеаза связывается с внеклеточной частью рецептора и отщепляет от него N-концевой фрагмент, в результате чего отщепляется небольшой конечный пептидный фрагмент и образуется новая N-концевая последовательность, которая и служит “привязанным лигандом”. “Привязанный лиганд” связывается с активным центром своей молекулы PAR в области второй внеклеточной петли, что приводит к конформации молекулы PAR и активации G-белков (Рисунок 1).



**Рисунок 1.** Схема активации протеазо-активированных рецепторов

Инактивация PAR рецепторов может происходить по механизму, сходному с механизмом активации, а именно, с помощью протеолиза. На разных типах клеток показано, что катепсин G может либо активировать, либо инактивировать PAR1 рецептор, а катепсин G и эластаза могут инактивировать PAR3. Такая разнонаправленная регуляция связана с тем, что одна и та же протеаза может расщеплять рецептор в различных сайтах, как активирующем, так и инактивирующем, и конечный результат зависит от эффективности протеолиза в той или иной позиции. При этом инактивация рецепторов может происходить как за счет отщепления от рецептора участка взаимодействия с активирующим пептидом, предотвращая дальнейшее связывание пептида с рецептором, так и за счет протеолитического отщепления N-концевого фрагмента, отличного от фрагмента, необходимого для активации [298, 18].

Установлено, что соответствующие гексапептиды, образованные вследствие протеолитической активации N-концевых последовательностей PAR1, PAR2 и PAR4 рецепторов обладают свойствами лигандов и способны

активировать соответствующие рецепторы без участия протеаз. Более того, PAR(AP) обладают способностью активировать рецептор даже после протеолитической инактивации последнего, если она не затрагивает связывающий домен рецептора. Таким образом, использование активирующих пептидов служит мощным инструментом в функциональных исследованиях протеазных рецепторов. Исключение составляет PAR3 рецептор, как правило, не активируемый пептидными агонистами, и, вероятно, являющийся корецептором для других типов тромбиновых рецепторов, PAR1 или PAR4 [331, 97, 69].

Предполагается, что PAR рецепторы могут регулироваться широким спектром различных протеаз. Субстратная специфичность сериновых протеаз, плазмина, тромбина, трипсина, калликреинов, тканевого активатора пламиногена в значительной степени перекрывается. В силу этого многие экстраклеточные сериновые протеазы могут в той или иной степени активировать или ингибировать протеазные рецепторы [266].

В головном мозге не все протеазы оказываются во внеклеточном пространстве в достаточных для этого концентрациях. Существенное перекрывание по субстратам протеаз в головном мозге может иметь значение для функционирования нейронов, например, в случае отсутствия какой-то протеазы другие ферменты могут компенсировать ее отсутствие. Более того, субстратная специфичность тромбина пересекается с субстратной специфичностью протеаз других семейств и даже других классов, в том числе цистеиновых протеаз катепсинов. Главное требование, расщепление полипептидной цепочки после остатка аргинина, выполняют и тромбин, и трипсин, и катепсины [109].

С помощью нескольких экспериментальных подходов было продемонстрировано, что протеазы имеют больше субстратов, чем было принято считать, а у катепсинов и трипсина так и вообще есть общие субстраты ранее [343]. Существующие методы предсказания субстратов протеаз [300]



указывают, что в экстраклеточной части протеазных рецепторов PAR всех типов высоковероятно находятся сайты расщепления катепсинами и даже калпазами, другим широко распространенным классом протеаз [301].

Наиболее хорошо изученными активаторами PARs являются сериновые протеазы гемостаза. Эти протеиназы осуществляют гемостазирующее и антигемостазирующее действие путем ограниченного протеолиза зимогенов, а активные формы ферментов могут передавать сигнал некоторым типам клеток через расщепление и активирование PARs. Так тромбин активирует PAR1 и PAR3 или PAR4 на поверхности тромбоцитов, приводя к их агрегации и вкладу в гемостаз [149]. TF-FVIIa-FXa комплекс инициирует сигнал путем расщепления и активирования PAR1 и PAR2 на различных типах клеток, включая эндотелиальные клетки, которые участвуют в воспалении [283, 215]. Тромбин может также проявлять противовоспалительное действие, которое зависит от локальной генерации APC и последующей активации PAR1 на эндотелиальных клетках [115].

Трипсин можно отнести к потенциальным активаторам PAR2 и PAR4, эффективность которого в передаче сигнала клеткам путем расщепления этих рецепторов зависит от синтеза и освобождения зимогена – трипсиногена, присутствия его активатора – энтеропептидазы и широкого спектра эндогенных ингибиторов трипсина. Трипсино-подобные сериновые протеиназы из различных тканей также активируют PAR2 и PAR4 на эпителиальных, эндотелиальных клетках, клетках слизистой кишечника и других тканях [78].

Согласованное действие протеолитических систем обеспечивается общими активаторами. Общим активатором протеолитических систем крови может быть трипсин. Трипсин, представляет собой сериновую протеиназу. Действие трипсина в организме более разностороннее. Кроме активации проферментов поджелудочной железы (химотрипсин, проэластаза, профосфорилаза) трипсин превращает проинсулин в инсулин, проренин в ренин, предшественника адренокортикотропного гормона в активный гормон.

Установлено, что трипсин участвует в образовании кининов, активирует плазминоген, увеличивает концентрацию фибриногена [270, 72].

На сегодняшний день у человека обнаружено 4 типа изофермента трипсина, они вырабатываются в неактивной или зимогенной форме. Три из них (трипсиноген - 1 трипсиноген - 2 и мезотрипсиноген - 3) активируются этеропептидазой - энтерокиназой в кишечнике. Трипсингены -1 и-2 также образуются эпителиоцитами пищевода, почек и легких, эндотелиоцитами кровеносных сосудов, а трипсиноген - 4 совместно с энтеропептидазой вырабатывается, как в головном мозге, так и во многих эпителиальных клетках и тканях, а взаимосвязь их с PAR может происходить при аутокринной или паракринной активации [190, 95].

Особый интерес, мезотрипсина и трипсина 4 вызывает устойчивость к воздействию большинства белковых ингибиторов трипсина, это дает возможность оказывать действие длительное время на PAR рецепторы. Однако, несмотря на широкое распространение, почти ничего не известно о контроле секреции или активации экстрапанкреатических трипсинов или их потенциальных функциях, как PAR активаторов [281, 310].

Различные протеазы способны, за счет протеолиза PAR в различных положениях, либо активировать, либо инактивировать рецептор и тем самым повышать или снижать функциональную активность клеток. При этом PAR2 может выступать как провоспалительный, также как и пртивоспалительный фактор, в зависимости от типа ткани и модели повреждения. Мощная активация различных типов PAR высокими концентрациями активирующих протеаз приводит к перегрузке цитоплазмы клетки кальцием и развитию деструктивных процессов, в то время как низкие концентрации, вызывающие умеренную активацию рецепторов [83].

Многообразное провоспалительное и митогенное действие трипсазы реализует через PAR2 и APs (APs – активирующие пептиды), хотя и существенно менее эффективно, чем трипсин. Есть основания полагать, что

триптаза передает сигнал клеткам, находящимся вблизи тучных клеток, таким как сенсорные нервы, которые экспрессируют PARs, участвуя тем самым в развитии воспаления и боли [45]. Химаза – сериновая химотрипсино подобная протеиназа тучных клеток, может подавлять сигнал от тромбина кератиноцитам, повреждая PAR1 [104].

Регуляторами активации PARs являются также некоторые протеиназы лейкоцитов, которые освобождаются из азурофильных гранул при воспалении. К ним относятся катепсин G, эластаза, протеиназа 3. Известно, что катепсин G освобождаясь из активированных нейтрофилов вызывает агрегацию тромбоцитов. Это действие катепсина G может реализоваться через PAR4. Катепсин G увеличивает концентрацию Ca<sup>2+</sup> в экспрессирующих PAR4 фибробластах, ооцитах и тромбоцитах [198, 259,]. Протеиназа 3 также секретируется из гранул активированных нейтрофилов на поверхность клеток, расщепляет пептидные фрагменты PAR2 в активационном центре и индуцирует ответ, связанный с обменом Ca<sup>2+</sup> в ротовом эпителии [112]. Об эластазе из гранулоцитов известно только как о протеиназе инактивирующей PAR1 и PAR2, а также многие другие рецепторы, не относящиеся семейству PARs [271].

Имеются сведения, что некоторые протеиназы бактерий, грибов, клещей могут участвовать в активации PARs млекопитающих [334, 65]. Среди них цистеиновые, сериновые протеиназы, коллагеназы, провоцирующие развитие аллергии в дыхательном эпителии. Эти протеиназы стимулируют освобождение цитокинов, в том числе сильного провоспалительного цитокина – интерлейкина 6, через активацию PAR1 на эпителиальных клетках дыхательных путей, инициируют воспалительные процессы, в том числе периодонтиты у человека [120, 59; 224], а также вызывают агрегацию тромбоцитов. Эти факты представляют особый интерес, так как указывают на новые механизмы, которыми бактерии влияют на клетки человека и могут, например, объяснить связь между периодонтитами и сердечнососудистыми заболеваниями и механизмы развития аллергии дыхательных путей [333, 60].

Удалось установить разветвленный, сложный ответ эндотелиальных клеток и гладкомышечных клеток сосудов на активацию PARs. Эффективность этой активации зависит от экспрессии рецептора и различных агентов, освобождаемых эндотелием, их прямого действия на гладкую мускулатуру сосуда. Показано, что тромбин и селективные агонисты PAR1 и PAR2 могут вызывать релаксацию крупных сосудов, таких как легочная и коронарные артерии, аорта, а так же более мелких артерий [42, 47]. Имеются данные, свидетельствующие о накоплении в этих условиях оксида азота (NO) за счет активации NO-синтазы в клетках эндотелия и освобождении продуктов циклооксигеназы. PARs могут стимулировать сократительные свойства ряда сосудов, как зависимыми так и независимыми от эндотелия механизмами, в том числе за счет рефлекторного гипертензивного ответа. Все это дает основание полагать, что в физиологических условиях PARs регулируют скорость кровотока [106, 71, 328].

Особенно важную роль могут играть PARs при воспалении и сепсисе, когда значительно возрастает уровень протеиназ, освобождаемых клетками, участвующими в воспалении, протеиназ гемокоагулирующего каскада и протеиназ из других источников. Одновременно повышается экспрессия самих PARs и увеличивается концентрация медиаторов воспаления, таких как фактор некроза опухоли, липополисахаридов, эндотоксина и других [56].

Все это приводит к повышенной активации PARs в сосудистой системе и сопровождается усилением гипотензивного ответа, увеличением проницаемости сосудов для белков и клеток плазмы крови [194]. В свою очередь это вызывает экстравазальные отеки, экспрессию адгезивных молекул, промотирующих инфильтрацию гранулоцитов в тканях. Все эти события инициируются протеиназами гемокоагулирующего каскада и клеток воспаления, в том числе нейтрофилов и тучных клеток [255, 204].

Активация PAR1 и PAR4 тромбином стимулирует пролиферацию эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов [219], а так же ангиогенез.

Усиление ангиогенеза под действием тромбина связано с увеличением концентрации фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), самого сильного фактора ангиогенеза. Показано, что PAR1 активируют, экспрессию рецепторов к VEGF и усиливают его митогенный эффект в эндотелиальных клетках [156, 111]. Кроме роли в развитии сосудистой системы, PARs участвуют в ответной реакции сосудов на механическое повреждение, а точнее в формировании васкулярного матрикса после повреждения [88, 321].

В последние годы особое внимание привлекает роль протеиназ и PARs в функционировании нервной системы [113, 250]. Протеиназы, активирующие PARs клеток нервной системы могут происходить из кровотока, клеток воспаления, которые являются резидентами или рекрутируются в нейральные ткани, а также их источником являются нейроны или астроциты. Протеиназы гемостаза могут служить сигнальными молекулами в нервной системе при травме и воспалении, когда возрастает проницаемость сосудов. Следует заметить, что эти протеиназы также экспрессируются в нервной системе, хотя и в низких концентрациях. Так протромбиновые транскрипты находят в некоторых отделах мозга, которые экспрессируют PAR1 [326, 218]. Сигнальными молекулами для нервной системы являются протеиназы лимфоцитов, такие как гранзим А из CD4+цитотоксических лимфоцитов, образующих инфильтраты в мозге при аллергических энцефаломиелитах [145]. Гранзим А активирует PAR1 на нейронах и астроцитах. Нейрональная ткань так же экспрессирует большое количество протеиназ, потенциально активирующих PARs [264]. В контроле процесса активации PARs в нервной ткани участвуют ингибиторы протеиназ, главным образом серпины. Ингибиторы сериновых протеиназ обнаружены в глиальных клетках, синапсах, капиллярах и гладкой мускулатуре сосудов в коре головного мозга. В контрольный механизм включается, особенно при травмах, экспрессированный на астроцитах тромбомодулин, в комплексе с которым тромбин активирует протеин С (РС). Последний, после активации, гидролизует

FVIII и FV гемокоагуляции, тем самым блокируя или снижая скорость гемокоагулирующего каскада [103].

О важной роли активации PARs в центральной нервной системе свидетельствует их широкое распространение в различных отделах мозга, содержащих типы клеток с существенными нейрохимическими и функциональными различиями [250]. PAR1 и PAR2 обнаружены также в периферической нервной системе [320]. Все четыре PARs экспрессируются в астроцитах [339, 38], один из важнейших сигналов этих рецепторов инициирует быстрое увеличение концентрации  $Ca^{+2}$  [344].

Многочисленные исследования патогенетических основ воспаления и боли показали, что в этих сложных процессах существенная роль принадлежит протеиназам, которые активируют PAR1 и PAR2, проводящие сигналы в нейронах периферической и центральной нервной системы и контролируют развитие воспаления и боли [151].

В настоящее время в литературе широко обсуждается участие PARs в регуляции дыхательной функции и развитии легочных болезней [262]. PARs экспрессируется многими типами клеток дыхательной системы. Так, PAR2 обнаружен в реснитчатых и базальных эпителиальных клетках и клетках гладкой мускулатуры трахеи и бронхов и эндотелии [69]. Важно подчеркнуть, что PARs проявляет двойственный эффект. С одной стороны индуцирует вазодилататорную функцию – бронходилатацию, с другой – бронхоконстрикцию, характеризующую, в частности, астматические признаки [117], проявляет как провоспалительное, так и противовоспалительное действие в легких. Эти двойственные эффекты PARs и его активаторов связаны с вовлечением множества факторов и сигнальных путей в различных отделах дыхательной системы. Так, например, активация PAR2 вызывает релаксацию трахеи и крупных бронхов с участием механизма, который зависит от состояния эпителия и опосредуется NO и простагландинами, однако PAR2 вызывает констрикцию более мелких бронхов путем прямого воздействия на

гладкомышечные клетки, вовлекая мобилизацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  [307, 231].

Ингибиторы протеиназ, в том числе активирующих PAR1 и PAR2, а также их агонисты рассматриваются как новые средства в терапии болезней воспалительного генеза и фиброза легких [132].

В последние годы стало известно о роли протеиназ и PARs в биологии и заболеваниях кожи [77]. В частности упоминается их участие в регуляции функций эпидермиса и дермы и развитии воспаления кожи, опосредованным протеиназами, активирующими PAR2, в том числе триптазой тучных клеток. Необходимо подчеркнуть, что кроме эндогенных протеиназ, активирующих PARs, в этом процессе могут участвовать экзогенные протеазы клещей, бактерий, грибов [209, 210].

PAR1 обнаружен в базальных слоях эпидермиса, в том числе в кератиноцитах, PAR3 – в базальных и супрабазальных слоях, фолликулах волос, миоэпителиальных клетках потовых желез, микроваскулярных эндотелиальных клетках [226]. В меланоцитах PAR2 не обнаружен, однако контролирует пигментацию кожи, регулируя фагоцитоз меланосом кератиноцитами [90].

Имеются подтверждения важной роли PAR1 в заживлении ран. Активация PAR1 стимулирует пролиферацию кератиноцитов и фибробластов, а также индуцирует ангиогенез, через экспрессию ангиогенина, обогащенного цистеином, и других факторов роста сосудов [331, 141].

В целом, несмотря на большой интерес к этой проблеме, выполненные исследования ещё не дают полной картины участия PARs в физиологических и патологических процессах в организме человека и требуют дальнейших поисков агонистов и антагонистов PARs, выявления ещё не известных протеиназ, способных активировать PARs, понять причины широкой распространенности открытых четырех PARs. Учитывая большое разнообразие

протеиназ, можно предположить, что, они осуществляют инициирование сигналов в различные клетки с помощью еще не известных PARs [114, 269].

### **3. ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-АКТИВИРУЕМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**

Протеазо-активированные рецепторы и их агонисты участвуют во множестве функций желудочно-кишечного тракта. PAR1 и PAR4 рассматриваются, как модуляторы секреции ионов, подвижности гладких мышц и целостности слизистой оболочки ЖКТ. При этом агонисты этих рецепторов, включая тромбин, становятся доступными для рецепторов-мишеней, например, во время воспаления. PAR2, рецепторы, активируемые трипсином, триптазой и многими другими эндогенными и экзогенными протеиназами, играют важную роль в регуляции экзокринной секреции ЖКТ. Помимо этого PAR2 присутствуют в нейрональных клетках, PAR2 экспрессируемые на сенсорных нейронах, участвует в регуляции подвижности гладких мышц ЖКТ и экзокринной секреции, и в модуляции целостности слизистой оболочки ЖКТ и обработке ощущения висцеральной боли. Вместе с тем PAR считаются ключевыми молекулами в регуляции функций желудочно-кишечного тракта и могут быть мишенями для разработки лекарств, в лечении различных заболеваний желудочно-кишечного тракта.

#### **3.1. Протеазо-активируемые рецепторы и экзокринная секреция**

Одной из наиболее важных функций PAR2 в организме млекопитающих, особенно в системе ЖКТ, является регуляция экзокринной секреции желез (Рисунок 1). Впервые было описано PAR2-опосредованное высвобождение амилазы из выделенных ацинусов поджелудочной железы крысы [68], PAR2 теперь признан одной из ключевых молекул в регуляции экзокринной секреции поджелудочной железы [245, 175, 170, 172, 296]. Агонисты PAR2 в зависимости от цитозольной  $Ca^{2+}$  мобилизации, усиливают не только секрецию

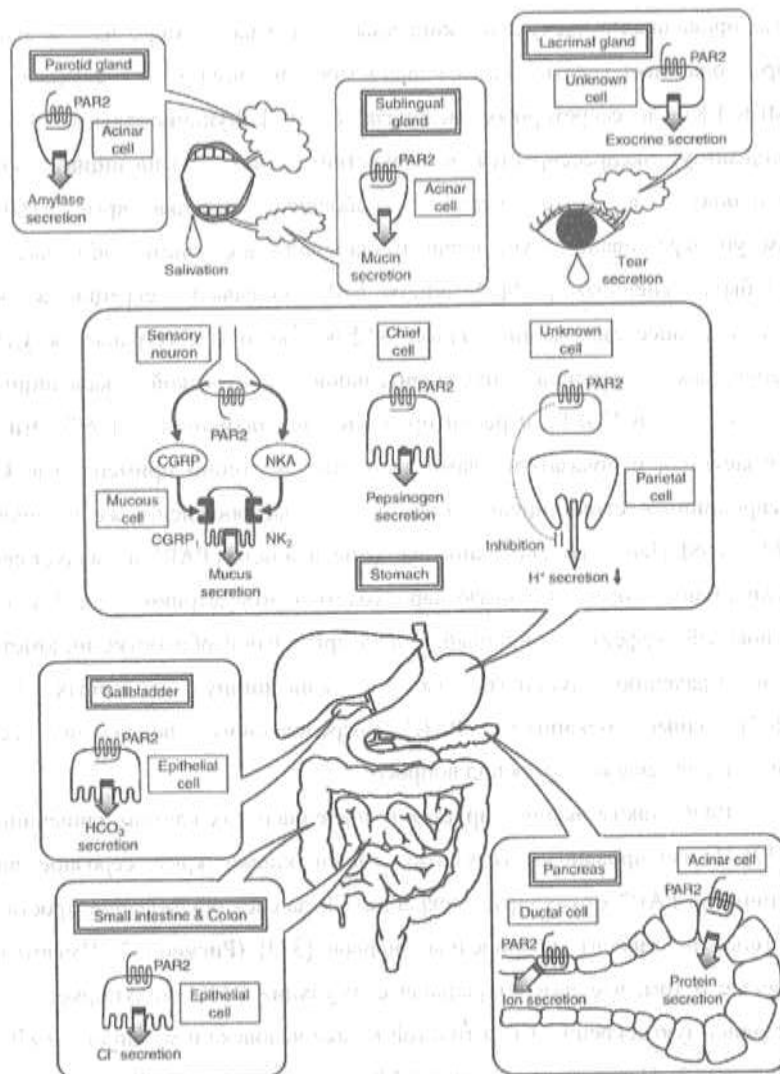


белка ацинарными клетками [293], но также транспорт ионов, таких как  $Cl^-$  и  $K^+$  в эпителиальных клетках протоков поджелудочной железы, возможно, посредством взаимодействия с базолатеральным PAR2 [245]. Базолатеральное применение агонистов PAR2 также увеличивает секрецию бикарбоната ( $HCO_3^-$ ) клетками протоков поджелудочной железы [239] (Рисунок 1), хотя активация апикального PAR2 может подавлять секрецию протоков  $HCO_3^-$  [50].

Пептиды, активирующие PAR2, вызывают быстрое слюноотделение *in vivo* [175] и секрецию белков, включая амилазу и муцины, в изолированных околоушных и подъязычных железах крысы, соответственно, *in vitro* [175, 177] (Рисунок 1). Окончательные доказательства роли PAR2 в экзокринной секреции слюны были получены при исследовании мышей с дефицитом PAR2 [164]. Интересно, что опосредованная PAR2 экзокринная секреция слюны усиливается у мышей с дефицитом рецептора  $M_3$ -ацетилхолина [249], подразумевая, что PAR2 может компенсировать нарушение функции слюны из-за дефицита рецептора  $M_3$ . Если это так у людей, PAR2 может стать целью для разработки лекарств для лечения дисфункций секреции слюны, таких как сухость во рту. Кроме того, поскольку родственные PAR2 пептиды способны вызывать секрецию слезы через PAR2-зависимые и независимые механизмы [248], агонисты PAR2 могут подходить для лечения экзокринной дисфункции, такой как синдром Шегрена.

Данные свидетельствуют о том, что PAR2 играет все более важную роль в регуляции экзокринной секреции в слизистой оболочке желудка (Рисунок 2).

Иммуногистохимические исследования [183] показывают, что PAR2 особенно распространен в главных клетках слизистой оболочки желудка крыс. Фактически, агонисты PAR2 вызывают секрецию пепсиногена в просвет желудка *in vivo*, эффект резистентный к омепразолу, ингибитору протонной помпы (ИПП), метиловому эфиру  $N^G$ -нитро-L-аргинина, ингибитору NOS или атропину, мускариновому веществу, антагонисту рецептора [183]. Вызванная PAR2 секреция пепсиногена также была подтверждена в



**Рисунок 2.** Роль PAR2 в экзокринной секреции. Следует отметить, что показанные здесь функции PAR2 не обязательно были продемонстрированы на людях. NKA - нейрокинин А; NK2 - рецептор нейрокина NK2; CGRP1 - рецептор CGRP1; PAR - рецептор, активируемый протеиназой (Kawabata,2008).

изолированных желудочно-кишечных клетках морских свинок, и предполагалось участие цитозольной мобилизации  $Ca^{2+}$  и активации пути MEK-ERK в секреторных механизмах [107]. Функциональный PAR2, по-видимому, экспрессируется в чувствительных к капсаицину сенсорных нейронах в слизистой оболочке желудка крыс [160], хотя иммуноокрашивание PAR2 нервных окончаний в слизистой оболочке желудка не было успешным [166]. Агонисты PAR2 вызывают секрецию желудочной слизи у анестезированных крыс, эффект, который устраняется удалением сенсорных нейронов предварительной обработкой капсаицином и антагонистами CGRP<sub>1</sub> и рецепторов NK<sub>2</sub> для тахикининов [167]. Эти данные согласуются с доказательствами того, что экзогенно применяемые CGRP и нейрокинин А стимулируют синтез и / или высвобождение желудочной слизи [144, 168]. Напротив, системное введение агонистов PAR2 подавляет секрецию желудочного сока, вызванную карбахолом, пентагастрином или 2-дезоксид-глюкозой, эффект, устойчивый к предварительной обработке индометацином или удалению чувствительных к капсаицину сенсорных нейронов [247]. Точные механизмы PAR2-опосредованного подавления секреции кислоты все еще остаются под вопросом.

PAR2 также экспрессируется в эпителиальных клетках кишечника [195, 119]. В изолированных сегментах тощей кишки крыс серозное введение агонистов PAR2 стимулирует секрецию  $Cl^{-}$  за счет образования простаноидов, которое не зависит от кишечных нервов [323] (Рисунок 2). Имеются также данные о том, что базолатеральная стимуляция PAR2 индуцирует нейронно-независимую секрецию  $Cl^{-}$  в толстой кишке человека и мыши *in vitro* [99, 217] (Рисунок 2). Напротив, активация PAR2 в просвете толстой кишки мышей, по-видимому, увеличивает параклеточную проницаемость толстой кишки [82, 276]. В последнее время была описана регуляция секреции электролитов PAR2 в желчном пузыре. В желчном пузыре дикого типа, но не PAR-2 лишенных мышей, серозно применяемые агонисты вызывают PAR2  $HCO_3^{-}$  секрецию

(Рисунок 2), которая не зависит от простаноидов [188]. Таким образом, PAR2 считается ключевой молекулой в регуляции транспорта эпителиальных ионов в пищеварительной системе.

### 3.2. Роль рецепторов тромбина (par1 и par4) в регуляции экзокринной секреции

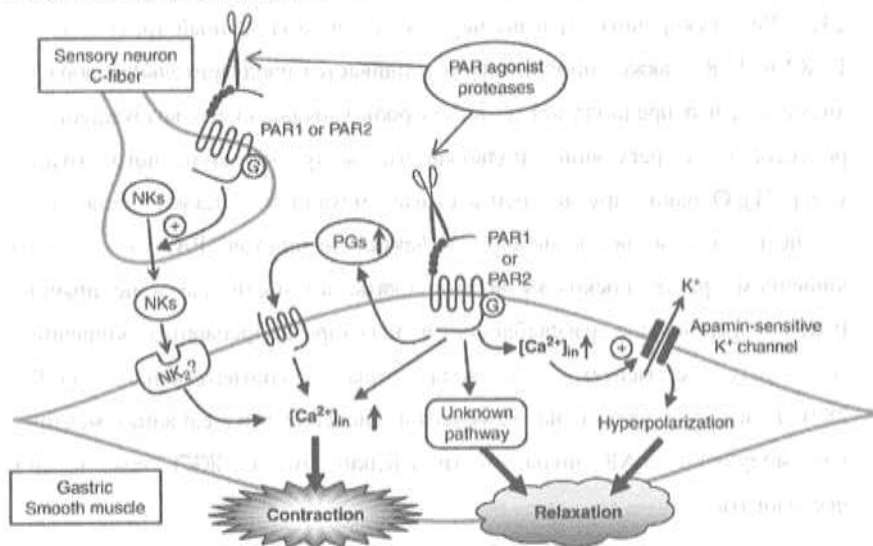
В отличие от PAR2, ни один из рецепторов тромбина, включая PAR1 и PAR4, не участвует в регуляции экзокринной секреции слюны или поджелудочной железы [245, 175, 177]. В слизистой оболочке желудка, однако, агонисты PAR1 подавляют вызванную карбахолом секрецию желудочной кислоты посредством ЦОГ-1-зависимого образования простагландинов [178]. Поскольку иммунореактивный PAR1 и COX-1 совместно локализованы в мышечных слизистых оболочках крыс и людей [178], предполагается, что простаноиды, происходящие из слизистой оболочки muscularis в ответ на стимуляцию PAR1, могут способствовать подавлению секреции кислоты желудочного сока. Хотя агонисты PAR1 также способствуют секреции пепсиногена *in vivo* [180], сами главные клетки слизистой оболочки желудка, по-видимому, не экспрессируют PAR1. PAR1 экспрессируется как на базолатеральной, так и на апикальной сторонах SCBN, новой нетрансформированной линии эпителиальных клеток двенадцатиперстной кишки человека. Стимуляция базолатерального PAR1 вызывает апикально направленную секрецию  $Cl^-$  [74], тогда как стимуляция апикального PAR1 приводит к апоптозу и увеличению проницаемости эпителиального монослоя [87]. PAR1 также экспрессируется на секретомоторных нейронах подслизистой оболочки толстой кишки мышей, и его активация подавляет секрецию  $Cl^-$ , вызванную нейронами [75]. Насколько нам известно, PAR4, по-видимому, не играет значительной роли в экзокринной секреции GI.

### 3.3. Протеазо-активируемые рецепторы и модуляция подвижности гладких мышц желудочно-кишечного тракта.

PAR1, PAR2 и PAR4 экспрессируются в клетках гладких мышц и / или соседних с ними клетках желудочно-кишечного тракта, модулируя подвижность гладких мышц. Роли PAR в модуляции подвижности очень сложны и сильно различаются в зависимости от видов и органов. Агонисты PAR2 и PAR1 вызывают сильное сужение изолированных продольных гладкомышечных полос желудка мышей, тогда как они вызывают временную релаксацию в тех же препаратах при предварительном сокращении карбахолом [92, 289]. В изолированном тонком кишечнике мыши агонисты PAR2 или PAR1 вызывают временную релаксацию с последующим сокращением [289]. Было подтверждено, что любые ответы на агонисты PAR2, как показано на препаратах гладких мышц GI от мышей дикого типа, полностью исчезают в препаратах от PAR2-дефицитных животных [289]. В препаратах двенадцатиперстной кишки крысы агонисты PAR2 вызывают медленно развивающееся и стойкое сокращение, тогда как агонисты PAR1 вызывают быстрое расслабление с последующим сильным сокращением [173]. Имеются также доказательства того, что агонисты PAR2 или PAR1 вызывают сокращение и / или расслабление в препаратах гладких мышц толстой кишки [94, 232, 234, 286]. Следует отметить, что агонисты PAR4 также сокращают полоски ткани толстой кишки крыс [235]. В препаратах слизистой оболочки пищевода крысы агонисты PAR1 вызывают сокращение, тогда как агонисты PAR4 вызывают расслабление [170]. Эти наблюдения согласуются с доказательствами того, что тромбин вызывает сокращение и расслабление при высоких и низких концентрациях соответственно [169]. Таким образом, модуляция подвижности гладких мышц ЖКТ с помощью PAR1, PAR2 и PAR4 является сложной, и ее физиологическая и патофизиологическая значимость все еще остается под вопросом. Интересно, что как агонисты PAR2, так и агонисты PAR1, вводимые системно, облегчают транзит через желудочно-кишечный

отракт у мышей [171], что может предсказывать защитную роль этих рецепторов, активируемых эндогенными протеиназами во время воспаления. PAR2-опосредованное расслабление в гладких мышцах толстой кишки нарушается после воспаления толстой кишки, вызванного декстран-сульфатом натрия (DSS) у крыс [286], что подразумевает участие измененных функций PAR2 в аномальной перистальтике кишечника во время воспаления кишечника.

Механизмы модуляции моторики желудочно-кишечного тракта с помощью PAR также очень сложны и включают несколько путей (Рис. 3). Считается, что в первую очередь PAR1, PAR2 и PAR4, присутствующие в мышечных клетках, опосредуют сократительную активность агонистов каждого рецептора в гладких



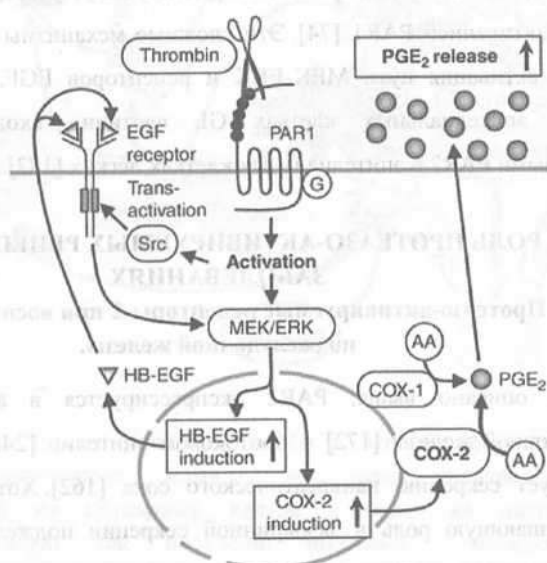
**Рисунок 3.** Механизмы регуляции подвижности гладких мышц ЖКТ с помощью PAR.  $[Ca^{2+}]_{in}$  -внутриклеточная (цитозольная) концентрация  $Ca^{2+}$ ; НК - нейрокинины; ПГ-простагландины; NK<sub>2</sub>-рецептор нейрокинаина NK<sub>2</sub>; G- G белок; GI - желудочно-кишечный тракт (Kawabata, 2008).

мышцах GI. Активация пути  $G_{q/11}$ -фосфолипазы  $C_{\beta}$  после активации каждого PAR должна играть центральную роль в возникновении сокращения гладких мышц [160, 234, 257, 137]. Однако в некоторых препаратах ЖКТ эндогенные простаноиды, образующиеся в результате активации PAR, могут способствовать вызванному мышечному сокращению посредством аутокринных и / или паракринных механизмов [282, 342, 289]. Кроме того, предполагается участие сенсорных нейронов в сократительной активности агонистов PAR в определенных областях желудочно-кишечного тракта [233, 235, 340, 289]. Релаксантная активность агонистов PAR в сегментах гладких мышц желудка и двенадцатиперстной кишки и толстой кишки мышей в основном связана с активацией апамин-чувствительных  $K^{+}$ -каналов, то есть  $K^{+}$ -каналов с низкой проводимостью, активированных  $Ca^{2+}$  [92, 173, 232, 289]. Ускоренный транзит через желудочно-кишечный тракт агонистами PAR2 и PAR1 также дополнительно усиливается предварительной обработкой апаминном, что предполагает двойную роль (подавление и возбуждение) этих рецепторов в регуляции подвижности желудочно-кишечного тракта *in vivo* [171]. Однако другие неизвестные механизмы также должны быть задействованы в релаксантных эффектах агонистов PAR в желудочно-кишечном тракте, поскольку апамин оказывает частичное и не ингибирует PAR-опосредованное расслабление в некоторых препаратах кишечника и мышечных сегментах пищевода крыс, соответственно [169, 233, 289]. Физиологическое и патологическое значение этих сложных механизмов для модуляции PAR подвижности гладких мышц ЖКТ еще предстоит исследовать.

#### **3.4. Передача клеточных сигналов, запускаемая протеазо-активируемыми рецепторами в эпителиальных клетках ЖКТ**

Передача клеточного сигнала после активации PAR1 или PAR2 была исследована фармакологически в сегментах гладких мышц GI [342, 170,

234]. За исключением линий раковых клеток [100, 101, 244], передача клеточных сигналов, запускаемая активацией PAR в нормальных эпителиальных клетках GI, изучена недостаточно. Как описано для эпителиальных клеток / тканей дыхательных путей или легких [91, 57, 182], активация PAR вызывает образование простаноидов в тканях / клетках GI [195, 316, 178, 202, 290]. В нормальной линии эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка крысы, RGM1, которая используется для



**Рисунок 4.** Сигнальная трансдукция для образования простагландина E<sub>2</sub> инициируемого PAR1, в клетках RGM1. HB-EGF, гепарин-связывающий EGF; АК - арахидоновая кислота; G - G белок; ПГЕ<sub>2</sub> - простагландин E<sub>2</sub> (Kawabata, 2008).

анализа функций нераковых эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка, агонисты PAR1, но не агонисты PAR2, вызывают замедленное образование простагландина E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>) сопровождается активацией COX-2, хотя агонисты PAR1 и PAR2 вызывают мобилизацию цитозольного Ca<sup>2+</sup> [316, 290].



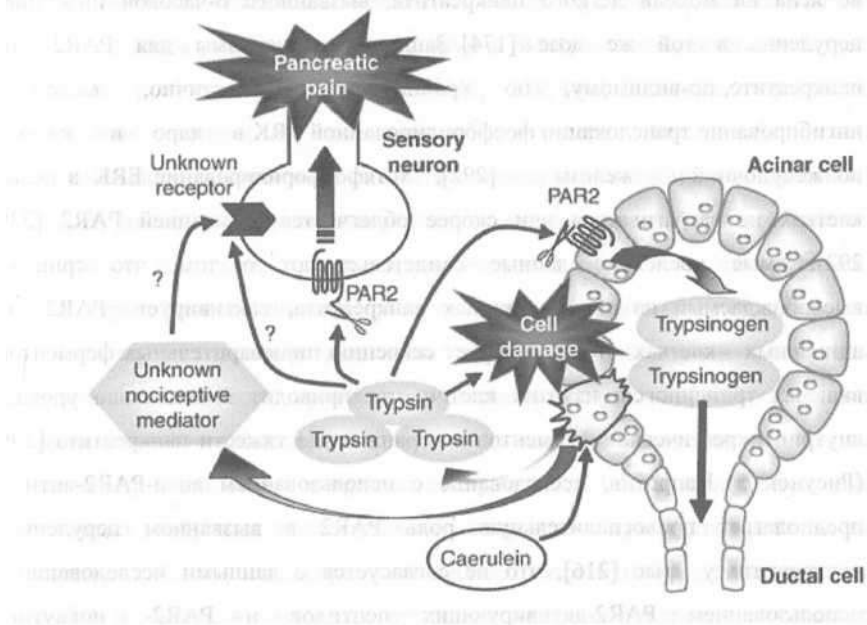
Механизмы передачи сигнала для инициируемой PAR1 активации COX-2 в клетках RGM1 включают стойкую активацию пути MEK-ERK и рецепторов EGF, в то время как другие множественные сигнальные молекулы, включая Src, гепарин-связывающий EGF и COX-1, также рассматриваются. Ответственны за образование PGE<sub>2</sub> и / или активацию COX-2 [290] (Рисунок 4). Точно так же в эпителиальных клетках двенадцатиперстной кишки SCBN, Src, рецепторы EGF, путь MEK-ERK, цитозольная фосфолипаза A<sub>2</sub> и продукты, производные как COX-1, так и COX-2, кроме PGF<sub>2α</sub> или PGE<sub>2</sub>, участвуют в секреции Cl<sup>-</sup> вызвано активацией PAR1 [74]. Эти сложные механизмы передачи сигналов, особенно активация пути MEK-ERK и рецепторов EGF, после стимуляции PAR1 в эпителиальных клетках GI, частично сходны с сигналами, запускаемыми PAR2 в эпителиальных клетках легких [182].

### **3.5. РОЛЬ ПРОТЕАЗО-АКТИВИРУЕМЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

#### **3.5.1. Протеазо-активируемые рецепторы-2 при воспалении и боли поджелудочной железы.**

Как описано выше, PAR2 экспрессируется в ацинарных клетках поджелудочной железы [172] и протоковом эпителии [245], и его активация стимулирует секрецию панкреатического сока [162]. Хотя PAR2 может не играть решающую роль в экзокринной секреции поджелудочной железы в физиологических условиях, все больше данных свидетельствует о новой роли PAR2 во время панкреатита [256, 239, 216, 293, 174, 296]. Экспрессия PAR2 в поджелудочной железе, по-видимому, увеличивается во время развития острого поражения поджелудочной железы, индуцированного таурохолатами, у крыс, хотя физиологическое значение активации PAR2 еще предстоит определить в этой модели [256]. Системное введение агонистов PAR2 подавляет церулеин-индуцированный острый панкреатит у крыс и мышей [239, 292, 174]. PAR-2 дефицитных мышей обнаруживают более серьезные воспалительные симптомы, чем у животных дикого типа в относительно тяжелой модели

панкреатита, индуцированного 12-часовых инъекций caerulein при  $50 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1}$  [292], что указывает на защитную роль для активации PAR2 эндогенной



**Рисунок 5.** Схема участия PAR2, в экспрессируемых сенсорных нейронах и ацинарных клетках во время панкреатита. Трипсин, высвобождаемый из ацинарных клеток в ответ на цитотоксическую стимуляцию, такую как церулеин, вызывает повреждение клеток поджелудочной железы в результате протеолитического переваривания, а также активирует нейрональный PAR2, что приводит к боли поджелудочной железы. На ранних стадиях панкреатита трипсин может активировать PAR2 на ацинарных клетках и снижать внутрипанкреатические уровни трипсина, стимулируя экзокринную секрецию трипсиногена в двенадцатиперстную кишку, ограничивая степень панкреатита и связанной с ним боли. Неизвестные не-PAR2 рецепторы на сенсорных нейронах должны опосредовать панкреатическую боль в ответ на трипсин и / или неизвестные ноцицептивные медиаторы, происходящие из ацинарных клеток, особенно у мышей с дефицитом PAR2.

протеиназой, такой как трипсин. Однако разница в тяжести воспалительных симптомов между PAR2-дефицитными животными и животными дикого типа не ясна на модели легкого панкреатита, вызванного 6-часовой инъекцией церулеина в той же дозе [174]. Защитные механизмы для PAR2 при панкреатите, по-видимому, по крайней мере, частично, включают ингибирование транслокации фосфорилированной ERK в ядро в клетках поджелудочной железы [292], хотя фосфорилирование ERK в целых клетках не затрагивается или скорее облегчается активацией PAR2 [239, 292]. Самые последние данные свидетельствуют о том, что трипсин, высвобождаемый на ранних стадиях панкреатита, активирует PAR2 на ацинарных клетках и стимулирует секрецию пищеварительных ферментов, включая трипсиноген, из этих клеток, что приводит к снижению уровней внутрипанкреатических ферментов и ограничению тяжести панкреатита [296] (Рисунок 5). Напротив, исследование с использованием анти-PAR2-антител предполагает провоспалительную роль PAR2 в вызванном церулеином панкреатите у крыс [216], что не согласуется с данными исследований с использованием PAR2-активирующих пептидов и PAR2-нокаутные мыши. Хотя это несоответствие еще предстоит объяснить, вполне вероятно, что индуцированная трипсином активация PAR2, присутствующего во внутрипанкреатических сенсорных нейронах [306, 140], может способствовать воспалению, поскольку панкреатит, по-видимому, связан с нейрогенным воспалением. [240, 241, 143]. Существует множество клинических и фундаментальных исследований, показывающих, что ингибиторы протеиназ поджелудочной железы, которые способны активировать PAR2, улучшают острый панкреатит [150, 258, 131, 311, 85, 216, 146].

Клинически острый панкреатит сопровождается резкой и сильной болью от верхней части живота к спине, поэтому лечение боли, связанной с панкреатитом, очень важно. Помимо самого панкреатита, PAR2, экспрессируемый в сенсорных нейронах, участвует в панкреатической боли

[140, 139, 174, 146]. Введение PAR2-активирующих пептидов и трипсина в проток поджелудочной железы вызывает активацию ноцицептивных нейронов, измеренную по экспрессии белка Fos, в поверхностных слоях грудного спинного мозга у анестезированных крыс и вызывает поведенческую болевую реакцию у бодрствующих крыс [140, 139, 146]. Вызванная протоковым трипсином экспрессия спинного Fos может быть заблокирована предварительной обработкой камостат мезилатом, ингибитором протеиназы [146]. У мышей с легким панкреатитом, вызванным повторным 6-часовым системным введением церулеина, наблюдается выраженная гипералгезия в коже верхней части живота. Эту отраженную гипералгезию при панкреатите легкой степени можно устранить не только повторным, но и однократным введением ингибитора протеиназы, мезилата камостата [146] и мезилата нафамостата. Это предполагает возможность того, что эндогенные протеиназы, включая трипсин, могут напрямую стимулировать PAR2, присутствующий в сенсорных нейронах поджелудочной железы во время панкреатита, что приводит к боли в поджелудочной железе / отраженной гипералгезии (рис. 4). Тем не менее, указанная гипералгезия во время панкреатита у мышей с нокаутом PAR2 более серьезна, чем у животных дикого типа, в то время как воспалительные симптомы в этой модели легкого панкреатита существенно не различаются между животными с нокаутом PAR2 и животными дикого типа [174]. Кроме того, повторное совместное введение PAR2-активирующих пептидов с церулеином подавляло указанную гипералгезию у животных дикого типа, но не у мышей с нокаутом PAR2. Таким образом, роль PAR2 в болях, связанных с панкреатитом, очень сложна. Одна из возможностей, как упоминалось выше, состоит в том, что трипсин, высвобождаемый на ранних стадиях панкреатита, может стимулировать PAR2 на ацинарных клетках и снижать внутрипанкреатические уровни ноцицептивных медиаторов, включая трипсин, за счет усиления экзокринной секреции содержимого ацинарных клеток, такого как трипсиноген, в двенадцатиперстную кишку (рис. 4). Однако

у мышей с нокаутом PAR2 рецепторы, отличные от PAR2, экспрессируемые во внутрисекреторных сенсорных нейронах, должны опосредовать действия трипсина и / или других неизвестных ноцицептивных мессенджеров, присутствующих в ацинарных клетках (рис.5). Вероятно, что PAR4 может опосредовать ноцицептивное действие трипсина и калликреина, высвобождаемого из ацинарных клеток, поскольку PAR4 может активироваться непосредственно этими ферментами ацинарных клеток [160, 257, 253, 254]. Рецепторы брадикинина B<sub>2</sub> также могут опосредовать ноцицепцию через путь калликреин-брадикинин, который, как известно, активируется при панкреатите [122, 123], поскольку даже однократная доза HOE-140, а B<sub>2</sub> антагонист рецептора, частично подавлял установленную отраженную гипералгезию во время панкреатита у мышей (Kawabata *et al.*, неопубликованные данные). Эти гипотезы еще предстоит оценить с помощью более глубоких исследований. Вместе ингибиторы протеиназы и антагонисты PAR2, если они доступны, могут быть клинически полезны для лечения боли, сопровождающей установленный острый панкреатит, хотя использование антагонистов PAR2 может не быть рекомендовано на ранних стадиях острого панкреатита. Интересно, что существуют клинические доказательства того, что ингибиторы протеиназ, такие как мезилат нафамостата и мезилат габексата, очень эффективны против уже установленной боли, связанной с острым панкреатитом [131, 311, 85].

### 3.5.2. Протеазо-активируемые рецепторы в повреждении слизистой оболочки и защите пищевода, желудка и толстой кишки

PAR, особенно PAR2 и PAR1, играют новые роли в поддержании целостности слизистой оболочки и / или патогенезе воспаления / повреждения слизистой оболочки по всему желудочно-кишечному тракту, включая пищевод [160, 159, 257]. Системное введение агонистов PAR2 вызывает цитопротекцию слизистой оболочки желудка на моделях повреждения желудка у крыс, индуцированных HCl / этанолом и индометацином, эффект, который

устраняется удалением чувствительных к капсаицину сенсорных нервов [168]. Это согласуется с данными о том, что агонисты PAR2 стимулируют нервно-опосредованную секрецию желудочной слизи у крыс [168], как уже упоминалось выше. Также следует отметить, что стимуляция PAR2 вызывает вазорелаксацию изолированной желудочной артерии *in vitro* и усиливает кровоток в слизистой оболочке желудка *in vivo* [168, 159, 76]. Ингибирование секреции кислоты желудочного сока агонистами PAR2 [247] также может способствовать предотвращению повреждения слизистой оболочки желудка в определенных моделях. Окончательные доказательства участия PAR2 в защите слизистой оболочки желудка были получены из исследования, показывающего, что защитные эффекты агонистов PAR2 на индуцированное HCl/этанолом повреждение слизистой оболочки желудка обнаруживаются у мышей дикого типа, но не у мышей с нокаутом PAR2, хотя степень вызванных повреждений слизистой оболочки желудка не отличается у животных дикого типа и животных с нокаутом по PAR2 [179]. Агонисты PAR1 также защищают от повреждения слизистой оболочки желудка, вызываемого HCl/этанолом у крыс [178]. Интересно, что защитный эффект агонистов PAR1, в отличие от агонистов PAR2, не зависит от сенсорных нейронов, но опосредуется эндогенными простаноидами, производными COX-1 [178]. Примечательно, что агонисты PAR1 оказывают простаноид-зависимое подавление секреции кислоты, вызванной карбахолом, у крыс [178], и что стимуляция PAR1 также способна расслаблять изолированную желудочную артерию крысы *in vitro* и усиливать кровоток в слизистой оболочке желудка у крыс. крысы *in vivo* [176, 178]. Таким образом, как PAR2, так и PAR1 считаются защитными в слизистой оболочке желудка, по крайней мере, в моделях на животных. Хотя клинические данные о роли PAR в слизистой оболочке желудка человека ограничены [110, 55], исследования с использованием линий раковых клеток человека предполагают, что PAR связаны с пролиферацией раковых клеток [76] и вовлечены в воспалительные реакции, особенно после заражения *Helicobacter*

*pylori* (*H. pylori*) [336, 291]. Как описано выше, отсроченная активация ЦОГ-2 с последующим образованием простагландина  $E_2$  в ответ на стимуляцию PAR1, но не PAR2, выявляется в клетках RGM1, нераковой линии эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка крысы [316, 290]. Это доказательство не обязательно согласуется с нашим открытием *in vivo*, что агонисты PAR1 проявляют защиту слизистой оболочки желудка способом, зависимым от COX-1, но не от COX-2, в модели на крысах [178].

Недавно участие PAR2 в воспалении пищевода было подтверждено исследованиями с использованием лабораторных животных [236] и культивирования нормальных эпителиальных клеток пищевода человека (HEEC), полученных из установленной клеточной линии [337]. В этих исследованиях подчеркивалась терапевтическая полезность камостат-мезилата, ингибитора протеиназы. Гастроэзофагеальная рефлюксорная болезнь (ГЭРБ) - одно из наиболее распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта в странах Запада и Азии. ИПП, признанные в качестве основы медикаментозной терапии ГЭРБ, не могут полностью улучшить разрывы слизистой оболочки пищевода и такие симптомы, как изжога, а у некоторых пациентов, даже если они принимают ИПП в качестве поддерживающей терапии, может возникнуть рецидив эзофагита [86, 236]. В этом контексте PAR2 и / или его протеиназы-агонисты могут быть многообещающими терапевтическими мишенями для лечения ГЭРБ, включая эрозивные и неэрозивные рефлюксные заболевания.

PAR2 и/или PAR1 играют двойную роль в развитии воспаления кишечника, учитывая, что они являются провоспалительными и противовоспалительными. Имеются данные о том, что внутрикостное введение PAR2-активирующих пептидов, растворенных в этаноле, может вызывать колит [82]. Провоспалительная роль PAR2 и его протеиназ-агонистов была описана на мышинных моделях колита, вызванного *Citrobacter rodentium* [130], и энтерита, индуцированного токсином *A Clostridium difficile* [96]. Напротив,

противовоспалительная / защитная роль PAR2 была предложена на мышинной модели воспалительного заболевания кишечника (ВЗК), вызванного 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS) [107], и модели на крысах и мышах для повреждения кишечной ткани, вызванного ишемией / реперфузией [79]. Тем не менее, есть доказательства того, что интраколоническое введение ингибитора протеиназы, нафамостата мезилата, улучшает TNBS-индуцированный колит [147]. Клинические исследования показывают, что PAR2 может участвовать в патогенезе ВЗК, особенно язвенного колита [186, 335], и что терапия анти-триптазой с использованием ежедневной клизмы с мезилатом нафамостата в течение 2 недель оказывает положительное влияние на лечение ВЗК человека [335]. Провоспалительная роль PAR1 была описана на животных моделях и культивируемых эпителиальных клетках, то есть агонисты PAR1 вызывают апоптоз эпителия и увеличивают кишечную проницаемость [87]. Напротив, противовоспалительная роль PAR1 была описана на крысиной модели кишечной ишемии / реперфузионного повреждения [317] и на мышинной модели колита, опосредованного иммунным ответом типа II [81]. Таким образом, PAR2 и PAR1 считаются ключевыми молекулами в поддержании и / или нарушении целостности слизистой оболочки кишечника.

### 3.5.3. Протеазо-активируемые рецепторы-2 и боль в толстом кишечнике

Как описано выше, PAR2 экспрессируется в чувствительных к капсаицину сенсорных нейронах и участвует в обработке соматической или висцеральной боли [322, 167, 166, 163, 93, 184, 181]. Внутриколонное введение PAR2-активирующих пептидов или трипсина вызывает отсроченную (10-24 ч после введения) гипералгезию на модели колоректального растяжения у крыс [93], а также отсроченная (через 6 ч или более после введения) гиперчувствительность к внутривисцеральному введению капсаицина у мышей [181]. Отсроченная гипералгезия к капсаицину после PAR2-активирующих



пептидов и трипсина не обнаруживается у мышей с нокаутом PAR2 [165]. Активация PAR2 на ноцицептивных нейронах толстой кишки вызывает стойкую гипервозбудимость за счет активации PKC и ERK [185]. Однако чрезвычайно медленное (6 часов или более) начало гипералгезии после интра-толстого введения агонистов PAR2 подразумевает возможность того, что активация ненейронального PAR2 может вызвать высвобождение ноцицептивных мессенджеров, что приведет к замедленной и устойчивой гипервозбудимости нейронов. Путь рецептора брадикинина- $B_2$  может опосредовать задержанную гипералгезию, запускаемую PAR2 [165]. Совсем недавно два независимых клинических исследования показали, что медиаторы тучных клеток слизистой оболочки в биоптатах толстой кишки пациентов с синдромом раздраженного кишечника (СРК) возбуждают ноцицептивные висцеральные сенсорные нервы у крыс [61], и что введение в толстую кишку супернатантов биопсии толстой кишки от пациентов с СРК, но не из контрольной группы, вызывает замедленную висцеральную гипералгезию на модели колоректального растяжения у мышей [80]. В последнем исследовании про-ноцицептивный эффект супернатантов биопсии пациентов с СРК блокируется ингибиторами протеиназы или антагонистом PAR2 и отсутствует у мышей с нокаутом PAR2 [80]. Эти исследования убедительно свидетельствуют о том, что протеиназы, высвобождаемые из слизистой оболочки толстой кишки, вызывают симптомы гиперчувствительности за счет активации PAR2 у пациентов с СРК.

#### **4. РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ГИДРОЛАЗ В МЕХАНИЗМАХ МОДИФИЦИРУЮЩИХ ВЛИЯНИЙ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ НА СЕКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА**

##### **4.1. Протеолитические гидролазы в модифицирующих влияниях пентагастрина на секреторную функцию желудка**

Протеолитические гидролазы могут подвергать воздействию пептидные регуляторы независимо от места выработки этих регуляторных пептидов, при миграции их по пути до клеток мишеней, вызывая отщепление от исходной молекулы пептида, как отдельных аминокислот, так и фрагментов различной длины. Такое отщепление может значительно менять свойства пептидной молекулы, как, например, степень ее гидрофобности, определяющей способность прохождения через клеточные мембраны и гистогематические барьеры, а так же изменять сродство с клеточными рецепторами, приобретать новые регуляторные способности и тем самым модифицировать действие регуляторных пептидов на клетки-мишени, в наших исследованиях - клетки пищеварительных желез.

Имеется достаточно много фактов, доказывающих возможность влияния протеолитических гидролаз крови на секреторные показатели пищеварительных желез. Однако вопрос о роли протеолитических гидролаз крови в механизмах модифицирующего влияния пептидного регулятора пентагастрина на пищеварительные железы остается мало изученным.

В связи с этим нами ставилась задача изучить значение панкреатических протеаз в модифицирующих влияниях пентагастрина на секреторную деятельность желудочных желез с целью выяснения роли протеолитических гидролаз в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез. Накопленный материал уже позволяет заключить, что протеолитические ферменты обладают способностью вызывать анаболические и регуляторные эффекты в организме [25, 26], что было показано в лаборатории АндГосМИ под руководством профессора Г.Ф.Коротько и лаборатории Rothman [13, 25, 40].

Кроме того показано стимулирующее влияние пепсиногена на ферментовыделительную деятельность поджелудочной железы, как при базальной и стимулированной скармливанием мяса секреции, так и секреции ее, стимулированной секретинном совместно с панкреозиминном [5, 25].

В ряде работ представлены результаты влияния трипсина на желудочные железы. Так, показано, что резекция поджелудочной железы [15], атрофические изменения ее [34], отведение наружу панкреатического секрета [14], для которых характерна панкреатическая гипоферментемия, вызывают кратковременное или длительное снижение желудочной секреции. Лигирование же панкреатического протока, при котором отмечается гиперферментемия, особенно в первые дни, вызывало гиперсекреторные расстройства в деятельности желудка [32].

В последующем проведены эксперименты по изучению влияния трипсина, на ферментовыделительную деятельность желудочных желез. Так, при его парентеральном введении в хронических и острых экспериментах на собаках отмечено усиление ферментовыделительной деятельности желудочных желез без изменения протеолитической активности желудочного сока в зависимости от величины pH [22, 31, 41]. Аналогичный результат отмечен в острых опытах сразу же после лигирования панкреатического протока и вызванного этим повышения уровня трипсина в крови. S. Gupta, T. Rao [127] в опытах на собаках отметили выраженное увеличение секреции соляной кислоты гейденгайновским желудочком после лигирования панкреатического протока.

Так как при перевязке панкреатического протока увеличивается инкреция, помимо трипсина, еще и химотрипсина, амилазы и других ферментов, были проведены хронические эксперименты по изучению влияния трипсина, химотрипсина и амилазы на желудочную секрецию, в которых было показано, что химотрипсин в большей мере, чем трипсин, стимулирует функцию желудочных желез. Амилаза же не оказывала стимулирующего влияния на желудочные железы. Авторами сделано предположение, что при перевязке

панкреатического протока стимулирующее влияние на желудочные железы оказывают в основном инкретированные панкреатические протеазы [26, 39].

Предполагалось несколько возможных механизмов действия протеаз крови на пищеварительные железы. Первый - путем стимуляции выделения пептидных гормонов клетками-продуцентами этих гормонов. Так показано, что желудок крыс, лишенный антральной части, слабее реагирует усилением ферменто- и кислотовыделения при действии на него трипсиногена *in vitro*. Это позволило допустить, что трипсин влияет на секреторный аппарат опосредованно - через гастриновый механизм, усиливая прямое или опосредованное высвобождение гастрина G-клетками.

Второй - путем активации или деградации протеолитических гидролаз крови за счет реакций ограниченного протеолиза. Показано, что в процессе активации бычьего трипсина в результате гидролиза одной пептидной связи в молекуле зимогена происходит освобождение N-концевого гексапептида [7]. Было установлено, что этот пептид является антагонистом гастрина, действуя по типу "обратной связи", он подавляет секрецию желудочного сока [44] и поджелудочной железы [30]. В опытах, проведенных В.Г.Сухотериным [39] *in vitro* на крысах, трипсин был подвергнут протеолизу трипсином, выведена в раствор пептидная фракция, которая стимулировала секрецию пепсина железами желудка. Подобные результаты были получены Л.М.Саидбаевой [37] и сделано заключение, что гидролизаты трипсина обладают способностью стимулировать желудочную секрецию.

Третий - путем деградации пептидных гормонов за счет реакций ограниченного протеолиза, образованием из длинноцепочных линейных пептидов короткоцепочных пептидов, обладающих новыми регуляторными свойствами. Показано, что при инкубации крови здоровых и больных панкреатитом у вторых отмечается ускорение образования низкомолекулярных аналогов холецистокинина - из холецистокинина, содержащего 33

аминокислотных остатка, образуется холецистокинин, содержащий 8 аминокислотных остатков [54].

В связи с вышесказанным для нас представляло интерес изучить роль панкреатических протеаз в модифицирующих влияниях пентагастрина на желудочные железы. Так как в организме действие протеаз осуществляется как в условиях отдельного протеолитического фермента (моноферментного воздействие), так и в условиях сочетанного действия нескольких протеаз (полиферментного воздействия), отсюда представляло интерес изучить характер модифицирующего влияния пентагастрина в условиях моно- и полиферментного воздействия протеолитических гидролаз.

Поставленные задачи нами решались в хронических экспериментах, в которых исследовалось влияние экзогенного протеолитического моноферментного воздействия, вызванного введением трипсина, на показатели секреции желудочных желез, стимулированной пентагастрином, с целью изучения роли трипсина в модифицирующих пентагастриновых эффектах желудочных желез.

По результатам проведенных на собаках хронических экспериментов стимулированная пентагастрином секреция отличалась большей вариабельностью, чем базальная секреция и секреция при совместном введении пентагастрина и трипсина. При сравнении данных этих экспериментов в относительных величинах, не отмечалось существенных отличий по выделению протеаз (ОПА) в составе желудочного сока в период совместного введения трипсина и пентагастрина по сравнению с пентагастриновой стимуляцией не отмечалось (рис. 6).

Однако отмечалось достоверное увеличение выделения белка в составе желудочного сока в период совместного введения трипсина и пентагастрина по сравнению с опытами с только пентагастриновой стимуляцией желудочной секреции. По данным этих же экспериментов (рис. 6), отмечалось достоверное увеличение дебита свободной HCl в опытах с введением пентагастрина

совместно с трипсином по сравнению с экспериментами с пентагастриновой стимуляцией. Общая кислотность при этом в экспериментах с пентагастриновой стимуляцией существенных отличий не имела по сравнению с результатами экспериментов с введением пентагастрина совместно с трипсином.

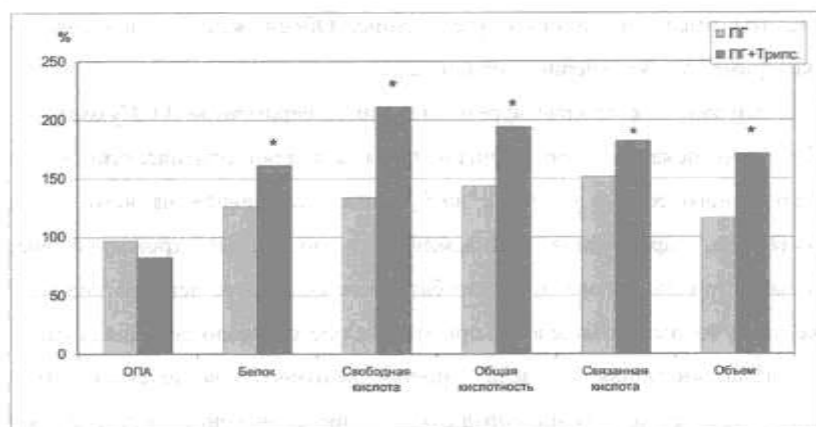


Рис. 6. Изменение показателей желудочной секреции, под влиянием пентагастрина (1 мкг/кг/ч), совместно с трипсином (700 мкг/кг) при введении их в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям пентагастриновой стимуляции.

По результатам так же этих исследований (рис. 6) имелась тенденция к увеличению дебита связанной кислоты желудочного секрета, которая увеличивалась в экспериментах с введением трипсина совместно с пентагастрином, чем в опытах с введением только пентагастрина. При этом результаты в относительных показателях свидетельствуют, об увеличении объема секреции в опытах с введением трипсина по сравнению с экспериментами, в которых вводился только пентагастрин.

Таким образом, результаты хронических экспериментов на собаках показали, что при протеолитическом моноферментном воздействии путем внутривенного введения трипсина (700 мкг/кг) и стимуляции желудочной

секреции пентагастрином (по сравнению с экспериментами только с пентагастриновой стимуляцией секреции). Увеличения протеолитической активности желудочного сока не отмечалось, однако, достоверно повышалось выделение белка в составе желудочного сока, наблюдалось достоверное увеличение дебита свободной HCl и общей кислотности, дебит связанной кислоты имел тенденцию к увеличению. Объем желудочного сока в этих экспериментах достоверно увеличивался.

Эти данные совпадают с результатами экспериментов В.Г.Сухотерина [39]. Им было показано, что трипсин повышает протеолитическую активность желудочного сока в условиях возбуждающего влияния на него, но только гистамина, карбахолина и скармливания молока. Внутривенное введение собакам трипсина стимулировало базальное выделение пепсиногена железами желудка, но кислотовыделение при этом не претерпевало заметных изменений.

Использованная модель моноферментного воздействия трипсина представляется достаточно оправданной, и имеет значение в изучении участия отдельных протеаз в модифицирующих влияниях на пищеварительные железы. Однако в организме в основном проявляется сочетанное влияние нескольких протеаз. В связи с этим были проведены эксперименты с полиферментным воздействием путем внутривенного введения вытяжки из гомогената ткани поджелудочной железы (700 мкг/кг по активности кристаллического трипсина).

С этой целью в хронических экспериментах у собак с Басовской фистулой исследовалось влияние экзогенного протеолитического полиферментного воздействия, вызванного введением панкреатической вытяжки на показатели секреции желудочных желез, модифицированных пентагастрином. При сравнении экспериментальных данных, желудочная секреция, стимулированная пентагастрином при экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии, с таковыми в экспериментах с только пентагастриновой стимуляцией, отмечено достоверное увеличение выделения протеаз после введения вытяжки поджелудочной железы (рис. 7).

Анализируемые относительные показатели выделения белка в этих же экспериментах показали, что при введении гомогената отмечалось достоверное увеличение его по сравнению с таковыми показателями без введения гомогената. При этом показатели секреции свободной кислоты в

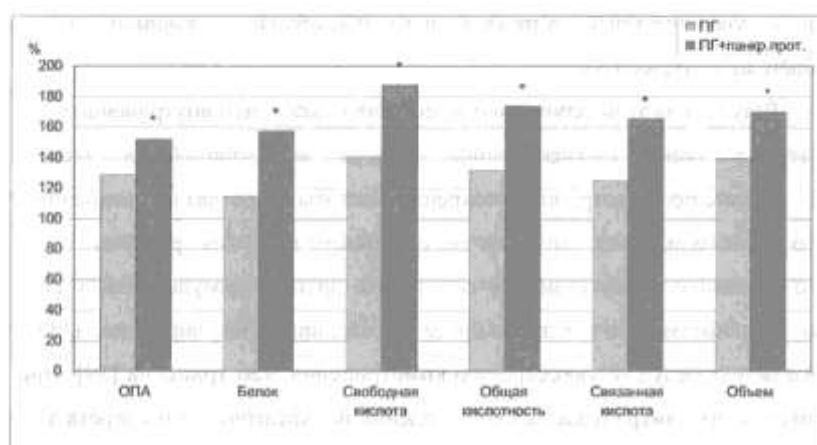


Рис. 7. Изменение показателей желудочной секреции, стимулированной пентагастрином (1 мкг/кг/ч), под влиянием экзогенных протеаз (700 мкг/кг).

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям пентагастриновой стимуляции.

экспериментах с введением гомогената были увеличены достоверно и значительно, чем в опытах без введения гомогената. Так же и показатели общей кислотности в экспериментах с введением гомогената были достоверно выше по сравнению с показателями без его введения. По результатам этих же экспериментов относительные показатели дебита связанной кислоты при введении гомогената были достоверно выше показателей без его введения. Средние данные по этим результатам свидетельствуют о том, что объем желудочной секреции по относительным показателям после введения вытяжки гомогената был так же достоверно выше (рис. 7).

Результаты этих хронических экспериментов показали, что при экзогенном протеолитическом воздействии, вызванном внутривенным введением



панкреатической вытяжки и стимуляции желудочной секреции пентагастрином. По сравнению с экспериментами, в которых производилась стимуляция желудочной секреции пентагастрином без введения вытяжки, отмечалось достоверное увеличение секреции протеаз и белка в составе желудочного сока; так же увеличивались дебит свободной HCl, общей и связанной кислотности, объем желудочного сока.

Результаты этой серии опытов показали также, что внутривенное введение вытяжки ткани поджелудочной железы вызывало более выраженное увеличение пентагастриновой секреции кислоты и протеаз по сравнению с тем, что происходило под влиянием внутривенного введения трипсина. Возможно, это связано с присутствием в гомогенате других стимулирующих секрецию протеаз, потому что показано более выраженное стимулирующее влияние на базальную желудочную секрецию химотрипсина, чем трипсина [39]. При этом заметим, что интрадуоденальное введение панкреатического секрета тормозит секрецию поджелудочной железы в большей мере, чем введение соответствующего количества трипсина [13].

Нами проведены также эксперименты с целью изучения влияния эндогенного протеолитического полиферментного воздействия, вызванного перевязкой главного панкреатического протока, на базальную и стимулированную пентагастрином желудочную секрецию. Ранее В. Г. Сухотериным [39] было показано, что перевязка панкреатических протоков у собак в острых опытах повышает триптическую активность крови, параллельно этому повышается секреторная активность желудочных желез. В хронических экспериментах на собаках базальное ферменто- и кислотовыделение после перевязки панкреатических протоков имело тенденцию к увеличению. Стимулированная гистамином секреция желудочных желез в хронических экспериментах при лигировании панкреатических протоков характеризовалась повышением ферменто- и кислотовыделения. Однако, влияние эндогенного протеолитического полиферментного воздействия на желудочную секрецию в

условиях возбуждающего действия регуляторных пептидов не изучалось. Это явилось предметом проведения соответствующих экспериментов.

В хронических экспериментах на собаках исследовалось влияние эндогенного протеолитического полиферментного воздействия, вызванного перевязкой главного панкреатического протока, на показатели секреции желудочных желез, модифицированных пентагастрином. Ранее эндогенное протеолитическое полиферментное воздействие на стимулированную пентагастрином желудочную секрецию, не изучалось. Результаты, полученные нами, показали, что при сравнении показателей (рис. 3) выделения протеаз в экспериментах до и после перевязки панкреатического протока отмечено, что перевязка протока достоверно повышала стимулированную пентагастрином желудочную секрецию протеаз (ОПА). Усредненные же показатели выделения белка по результатам этих же опытов имели тенденцию к увеличению после перевязки панкреатического протока (рис. 8).

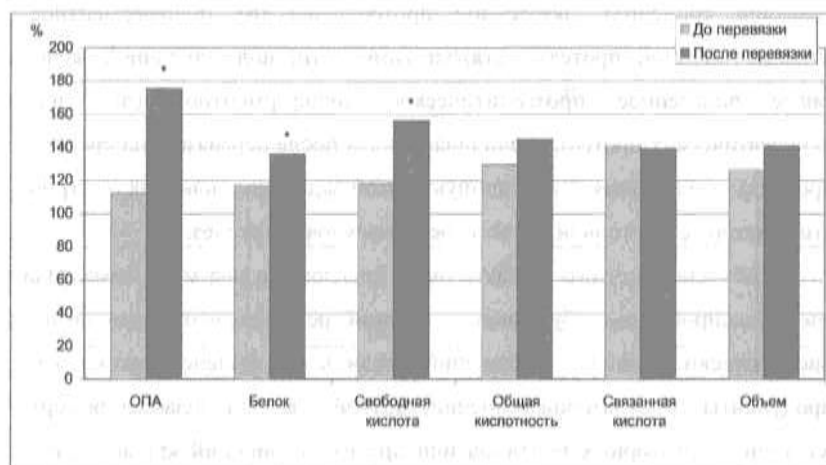


Рис. 8. Изменение показателей желудочной секреции, стимулированных пентагастрином (1 мкг/кг/ч), под влиянием эндогенных панкреатических гидролаз.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям до перевязки.

При этом обобщенные результаты стимулированной пентагастрином секреции свободной соляной кислоты, были достоверно выше после перевязки панкреатического протока. А показатели дебита общей кислотности после перевязки протока и стимуляции секреции пентагастрином имели тенденцию к повышению. В тоже время обобщенные и усредненные данные дебита связанной кислоты в экспериментах после перевязки панкреатического протока и стимуляции желудочной секреции пентагастрином существенных отличий не имели (рис. 8).

Данные полученные по результатам этих же опытов свидетельствуют о том, что объем желудочной секреции по относительным показателям после перевязки панкреатического протока и стимуляции желудочной секреции пентагастрином имел тенденцию к увеличению (рис. 8).

В результате полученных нами данных можно предположить, что экзогенное протеолитическое моноферментное (под влиянием внутривенного введения трипсина), экзогенное протеолитическое полиферментное (под влияние инфузии протеаз вытяжки гомогената поджелудочной железы). А также эндогенное протеолитическое полиферментное (под влиянием панкреатических протеаз, увеличивающихся после перевязки панкреатического протока) воздействия потенцируют возбуждающие влияния гастрина, как стимулятора секреторной деятельности желудочных желез.

В объяснении этого эффекта было предложено два механизма. Один - за счет суммирования возбуждающих влияний регуляторных пептидов и других биологически активных соединений крови в их воздействиях на железы и продуценты стимуляторов секреции. Другой - за счет ослабления тормозных влияний регуляторных пептидов или других соединений крови, в результате чего увеличивался эффект возбуждающего влияния.

Результаты хронических экспериментов проведенных на собаках показали, что при эндогенном протеолитическом полиферментном влиянии, вызванном перевязкой главного протока поджелудочной железы. В условиях базальной

желудочной секреции происходило достоверное увеличение выделения в составе желудочного сока протеаз, белка, дебита свободной, общей кислотности и тенденция увеличения связанной кислоты. Изменения объема сока не было. Эти данные совпадают с результатами проведенных ранее экспериментов В. Г. Сухотериным [39].

В условиях стимуляции желудочной секреции пентагастрином при эндогенном протеолитическом полиферментном воздействии, вызванном перевязкой главного панкреатического протока. Отмечалось достоверное увеличение секреции в составе желудочного сока протеаз, белка, дебита свободной HCl, общей и связанной кислотности, достоверно увеличивался объем сока. Эти данные то же совпадают с результатами хронических экспериментов В.Г.Сухотерина [39], в которых желудочная секреция стимулировалась гистамином и карбахолином. Однако протеолитическое моноферментное влияние трипсина на стимулированную желудочную секрецию пентагастрином ранее не изучалось.

#### **4.2. Протеолитические гидролазы в модифицирующих влияниях лей-энкефалина на секреторную функцию желудка.**

Полученные данные о влиянии экзогенного и эндогенного протеолитического полиферментного влияния на возбужденную пентагастрином желудочную секрецию свидетельствуют о возможном взаимодействии гастрин и трипсина, а так же других панкреатических протеаз в их секреторных эффектах. В этой связи особый интерес представляло изучение стимулированной гастрином секреции и торможение ее лей-энкефалином (ЛЭК) в условиях протеолитического моно- и полиферментного воздействия. Поэтому нами проведены исследования, где изучалась роль панкреатических протеаз в модифицирующих влияниях ЛЭК на желудочные железы. Так как тормозные эффекты ЛЭК проявляются только в условиях стимулированной секреции, поэтому для изучения этих эффектов мы

использовали в качестве стимулятора секреции пентагастрин. Так как в организме действие протеаз осуществляется как в условиях отдельного протеолитического фермента (моноферментного воздействия), так и в условиях сочетанного действия нескольких протеаз (полиферментного воздействия), отсюда представляло интерес изучить характер модифицирующего влияния ЛЭК в условиях моно- и полиферментного воздействия протеолитических гидролаз.

В связи с этим для нас большой интерес представляло изучить влияние экзогенного протеолитического моноферментного (под влиянием трипсина), полиферментного (под влиянием протеаз выжжки гомогената поджелудочной железы) и эндогенного полиферментного (под влиянием увеличения панкреатических протеаз, вызванного перевязкой панкреатического протока) воздействия в условиях тормозных влияний ЛЭК и сопоставить тормозные и возбуждающие влияния. Это составляло одну из важных задач проводимого нами исследования.

В хронических экспериментах на собаках исследовалось влияние экзогенного протеолитического моноферментного воздействия, вызванного введением трипсина, на показатели секреции желудочных желез, стимулированной пентагастрином и заторможенной ЛЭК, с целью изучения роли трипсина в модифицирующих влияниях ЛЭК на желудочную секрецию.

Сравнивая данные результатов экспериментов, в которых осуществлялась стимуляция пентагастрином и введение пентагастрина совместно с ЛЭК, можно констатировать достоверное снижение выделения протеаз в период введения ЛЭК. При соотношении показателей этих же экспериментов с введением ЛЭК и пентагастрина, а так же ЛЭК, пентагастрина и трипсина отмечается тенденция к повышению выделения протеаз после введения трипсина (рис. 9).

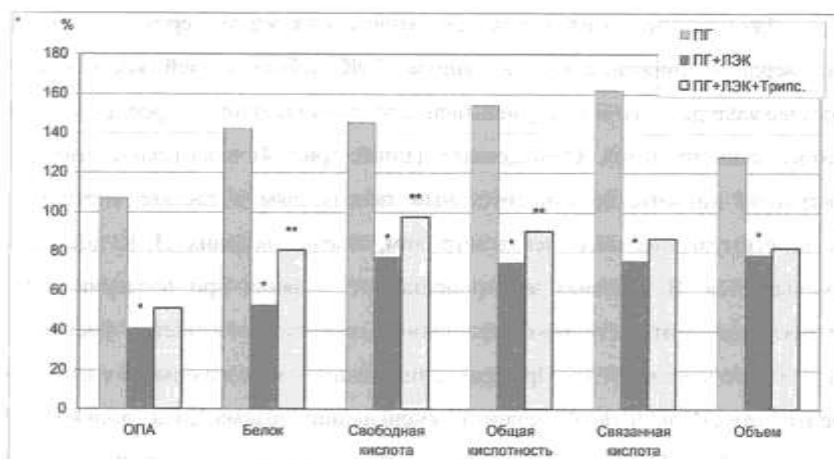


Рис. 9. Изменение показателей желудочной секреции, модифицированных лей-энкефалином (30 мкг/кг/ч), совместно с пентагастрином (1 мкг/кг/ч) под влиянием трипсина (700 мкг/кг).

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям пентагастриновой стимуляции.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям совместного введения пентагастрина и ЛЭК

Данные этих экспериментов по относительным показателям (рис. 9) с введением ЛЭК при стимуляции желудочной секреции пентагастрином и экспериментов только пентагастриновой стимуляции, свидетельствуют о достоверном снижении выделения белка после введения ЛЭК. При сравнении данных с введением ЛЭК при стимуляции желудочной секреции пентагастрином и экспериментов только с пентагастриновой стимуляцией можно отметить достоверное уменьшение дебита свободной кислоты в период введения ЛЭК. В аналогичных опытах в условиях воздействия трипсина отмечается достоверное повышение дебита свободной кислоты в момент введения ЛЭК.

Данные в относительных показателях этих же экспериментов (рис. 9) подтвердили снижение под влиянием ЛЭК дебита общей кислотности в составе желудочного сока и уменьшение этого тормозного эффекта в условиях воздействия трипсина. Обобщенные данные (рис. 4) показывают, что дебит связанной кислоты по относительным показателям в составе желудочного сока, стимулированного пентагастрином, после введения ЛЭК достоверно уменьшается. В условиях же трипсинового влияния при введении ЛЭК и стимуляции пентагастрином желудочной секреции отмечается уменьшение тормозного влияния ЛЭК. При сравнении данных этих же опытов с введением пентагастрина и ЛЭК отмечалось уменьшение объема сока, только после введения ЛЭК. В условиях трипсинового влияния существенных отличий не наблюдалось (рис. 9).

Полученный экспериментальный материал показал, что в условиях протеолитического моноферментного влияния трипсина и стимуляции желудочной секреции пентагастрином происходило уменьшение тормозного влияния лей-энкефалина на выделение в составе желудочного сока протеаз, свободной соляной кислоты.

При сравнении протеолитического моноферментного влияния трипсина в условиях возбуждающих и тормозных влияний в большей мере выражены эффекты при возбуждающих воздействиях на желудочную секрецию особенно по кислотовыделению, что больше говорит об экспрессии пептидных посредников, активирующих секреторную функцию желудка, нежели об усилении деградации ЛЭК и уменьшения тормозных влияний его со стороны крови.

В других хронических экспериментах исследовалось влияние экзогенного протеолитического полиферментного воздействия, вызванного введением панкреатической вытяжки, на показатели секреции желудочных желез, стимулированных пентагастрином и заторможенной ЛЭК. С целью изучения влияния протеолитического панкреатического полиферментного воздействия, которое для организма является более естественным, чем

моноферментное воздействие, на ЛЭК эффекты торможения желудочной секреции.

Изучение тормозного влияния ЛЭК в условиях комбинированного протеолитического полиферментного воздействия составило задачу экспериментов, в которых в одной группы хронических экспериментов, проводилось изучение модифицирующего влияния ЛЭК на желудочную секрецию, стимулированную пентагастрином, в условиях протеолитического полиферментного воздействия, вызванного введением вытяжки гомогената поджелудочной железы в дозе 250 мкг/кг, по активности «кристаллического» трипсина. В другой группе хронических экспериментов, изучалось модифицирующее влияние ЛЭК на желудочную секрецию, стимулированную пентагастрином, в условиях протеолитического полиферментного воздействия, вызванного внутривенным введением вытяжки гомогената поджелудочной железы в дозе 700 мкг/кг, по активности «кристаллического» трипсина.

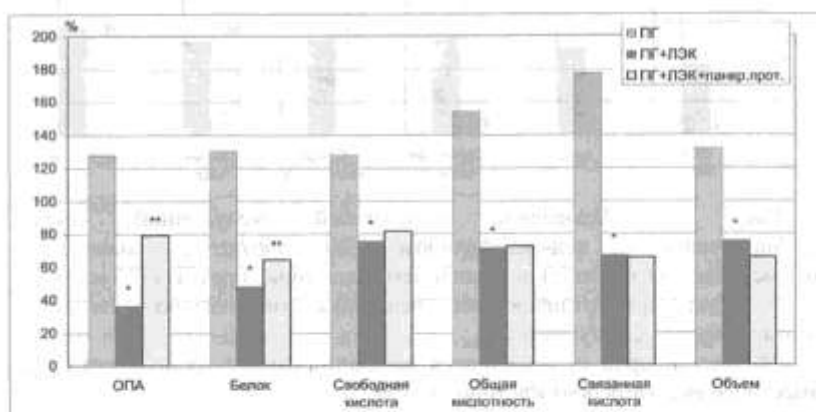


Рис. 10. Изменение показателей желудочной секреции, модифицированных лей-энкефалином (30 мкг/кг/ч), совместно с пентагастрином (1 мкг/кг/ч) под влиянием экзогенных протеаз (250 мкг/кг).

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям пентагастриновой стимуляции;

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям совместного введения пентагастрина и ЛЭК.



Результаты этих экспериментов показывают, что выделение протеаз в составе желудочного сока в период введения ЛЭК достоверно уменьшалось по сравнению с экспериментами, в которых производилась только стимуляция желудочной секреции пентагастрином. При экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии 250 мкг/кг (рис. 10), введении ЛЭК и стимуляции желудочной секреции пентагастрином отмечалось достоверное, но менее выраженное уменьшение тормозного влияния ЛЭК на выделение протеаз, нежели при введении гомогената в дозе 700 мкг/кг (рис. 11).

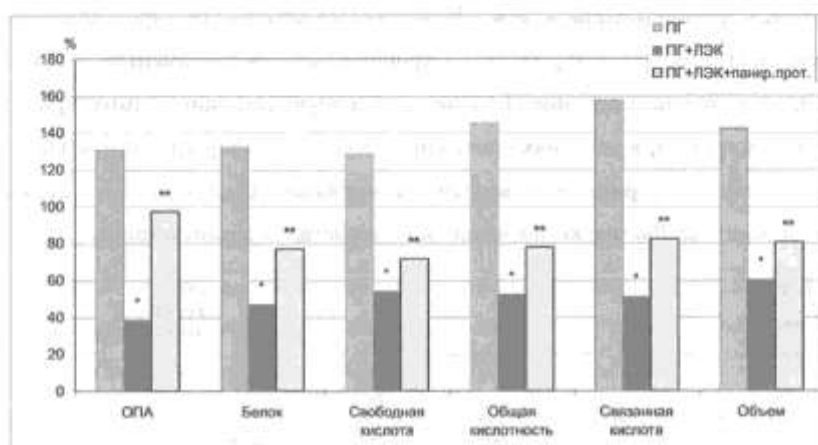


Рис. 11. Изменение показателей желудочной секреции, модифицированных лей-энкефалином (30 мкг/кг/ч), совместно с пентагастрином (1 мкг/кг/ч) под влиянием экзогенных протеаз (700 мкг/кг).

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям пентагастриновой стимуляции;

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям совместного введения пентагастрина и ЛЭК.

Выделение белка в составе желудочного сока во время введения ЛЭК достоверно уменьшалось по сравнению с экспериментами, в которых производилась только стимуляция желудочной секреции пентагастрином в обеих сериях. При экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии в дозе 250 мкг/кг (рис. 10). При введении ЛЭК и пентагастрина

отмечалось достоверное уменьшение тормозного влияния ЛЭК на выделение белка по сравнению с экспериментами, без полиферментного воздействия, хотя оно менее выраженное, чем в экспериментах с введением 700 мкг/кг гомогената в тех же условиях (рис. 11). Эффекты изменения показателей белка были менее значительны, чем эффекты протеаз.

Показатели дебита свободной кислоты, в составе желудочного сока стимулированного пентагастрином, во время введения ЛЭК достоверно уменьшались по сравнению с экспериментами, в которых производилась только стимуляция желудочной секреции пентагастрином. При экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии в дозе 250 мкг/кг гомогената, отмечалась тенденция к уменьшению тормозного влияния ЛЭК на дебит свободной кислоты по сравнению с экспериментами без протеолитического полиферментного воздействия (рис. 10); при введении гомогената в дозе 700 мкг/кг это влияние было более выражено (рис. 11).

В условиях экзогенного протеолитического полиферментного воздействия (250 мкг/кг) при введении ЛЭК уменьшения тормозного влияния ЛЭК на дебит общей кислотности в составе желудочного сока по сравнению с экспериментами без экзогенного протеолитического полиферментного воздействия не отмечалось (рис. 10).

В опытах с введением 700 мкг/кг гомогената (рис. 11) наблюдалось достоверное уменьшение тормозного влияния ЛЭК на дебит общей кислотности желудочного сока. Показатели дебита связанной кислоты в составе желудочного сока в момент введения ЛЭК уменьшались по сравнению с экспериментами, в которых производилась только стимуляция желудочной секреции пентагастрином. При экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии (250 мкг/кг) эффектов уменьшения тормозного влияния ЛЭК на дебит связанной кислоты в сравнении с экспериментами без полиферментного воздействия не отмечалось (рис. 5), тогда как при введении

700 мкг/кг (рис. 11) отмечалось достоверное уменьшение лей-энкефалинового торможения.

Результаты опытов обеих серий показывают, что выделение желудочного сока, стимулированного пентагастрином, в момент введения ЛЭК уменьшалось по сравнению с экспериментами, в которых производилась только стимуляция желудочной секреции пентагастрином.

При экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии гомогената в дозе 250 мкг/кг эффектов не отмечалось (рис. 5). При введении же 700 мкг/кг (рис. 6) отмечалось достоверное уменьшение тормозного влияния ЛЭК на желудочное соковыделение по сравнению с экспериментами без экзогенного полиферментного воздействия.

В целом можно заключить, что эффекты экзогенного протеолитического полиферментного воздействия в дозе 700 мкг/кг более выражены и однонаправлены по сравнению с экспериментами с введением 250 мкг/кг гомогената, что позволяет говорить о дозозависимых закономерностях.

Исследования дозозависимого влияния протеолитического полиферментного влияния, вызванного парентеральным введением вытяжки ткани поджелудочной железы в дозе 250 мкг/кг и 700 мкг/кг на желудочную секрецию. Стимулированную пентагастрином и торможения ее лей-энкефалином показали более выраженные эффекты при введении 700 мкг/кг вытяжки ткани поджелудочной железы по всем учитываемым показателям секреции желудочного сока. При введении 250 мкг/кг отмечено увеличение только протеолитической активности желудочного сока, остальные показатели имели незначительную тенденцию к увеличению.

Панкреатическое протеолитическое полиферментное воздействие, вызывало более выраженное уменьшение тормозного влияния лей-энкефалина, чем протеолитическое моноферментное воздействие трипсина. Это, можно связать с влиянием и других протеаз (химотрипсина, карбоксипептидаз, пептидаз), которые, вероятно, могут увеличивать деградацию лей-энкефалина

путем его ограниченного протеолиза, если признать данный механизм растормаживающего влияния панкреатических протеаз.

Выше нами изложены данные, показывающие уменьшение тормозного влияния ЛЭК на желудочные железы, вызванного экзогенными протеазами. Это, на наш взгляд, подтверждает наличие одного из механизмов влияния протеолитических гидролаз крови на пищеварительные железы желудка. Представляло интерес изучить влияние эндогенного протеолитического полиферментного воздействия, которое является более естественным, на тормозное влияние ЛЭК, что ранее не изучалось. Это составило предмет исследования, результаты которого излагаются далее.

В хронических экспериментах на собаках исследовалось влияние эндогенного протеолитического панкреатического полиферментного влияния, вызванного перевязкой главного панкреатического протока, на показатели секреции желудочных желез, стимулированной пентагастрином и заторможенной ЛЭК. Для решения поставленной задачи проведены хронические эксперименты на собаках. В них изучалось тормозное влияние ЛЭК на желудочную секрецию, стимулированную пентагастрином, в условиях эндогенного протеолитического полиферментного влияния, вызванного перевязкой панкреатического протока.

Данные этих экспериментов (рис. 12) показали достоверное уменьшение тормозного влияния ЛЭК на выделение протеаз в составе желудочного сока в условиях эндогенного полиферментного воздействия по сравнению с экспериментами, в которых подобное воздействие не вызывалось.

Полученные результаты (рис. 12), показали достоверное уменьшение тормозного влияния ЛЭК на выделение белка в составе желудочного сока, стимулированного пентагастрином, в экспериментах с эндогенным протеолитическим полиферментным воздействием по сравнению с экспериментами, в которых этого не вызывалось.

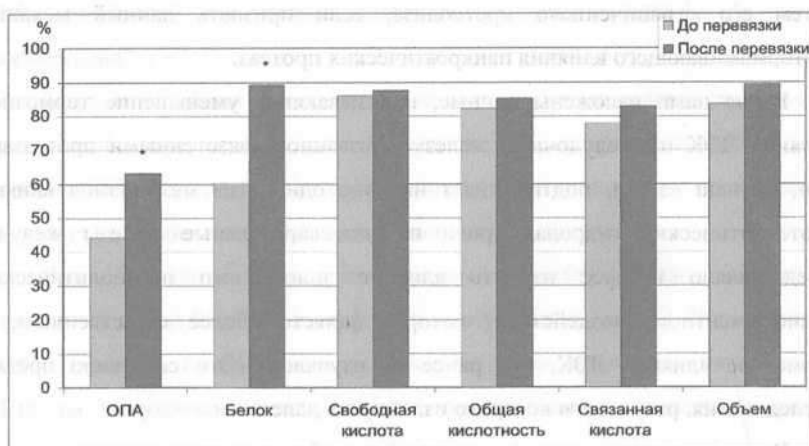


Рис. 12. Изменение показателей желудочной секреции, модифицированных лей-энкефалином (30 мкг/кг/ч), совместно с пентагастрином (1 мкг/кг/ч) под влиянием эндогенных панкреатических протеаз.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям до перевязки.

В этих же экспериментах (рис. 12) показано отсутствие существенных отличий в дебите свободной кислоты в составе желудочного сока в экспериментах с эндогенным протеолитическим полиферментным воздействием и без него при стимуляции желудочной секреции пентагастрином и введении ЛЭК.

Кроме того полученные данные (рис. 12) показали отсутствие существенных отличий в дебите общей кислотности по относительным показателям в составе желудочного сока в экспериментах с эндогенным протеолитическим полиферментным воздействием и без него при стимуляции желудочной секреции пентагастрином и введении ЛЭК.

В опытах (рис. 12) отмечалась тенденция к увеличению дебита связанной кислоты в составе желудочного сока в экспериментах с эндогенным

протеолитическим полиферментным воздействием, в сравнении с опытами без него при стимуляции желудочной секреции пентагастрином и введением ЛЭК.

Результаты этих экспериментов (рис. 12) также показали отсутствие существенных отличий в объеме секреции желудочного сока в экспериментах с эндогенным протеолитическим полиферментным воздействием и без него.

В условиях эндогенного протеолитического полиферментного воздействия уменьшение тормозного влияния ЛЭК менее выражено, чем при экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии, достигаемым внутривенным введением 700 мкг/кг вытяжки гомогената.

Полученные данные позволяют представить роль протеолитических гидролаз в модифицирующих влияниях и гастрин на секрецию желудочных желез, где принимают опосредованное участие многие нервно-гуморальные факторы, так как само высвобождение гастрина G-клетками находится под контролем интрагастральных (рН, продукты гидролиза белков, экстрактивные вещества, раздражение механорецепторов) и экстрагастральных факторов. К числу последних можно отнести влияния на G-клетки холинэргических и адренэргических нейронов автономной нервной системы, гастральный гастрин-релизинг фактор, а также ряд менее специфических физиологически активных веществ в составе крови. К ним же, в числе других, следует отнести и панкреатические протеазы, которые в широких пределах модифицируют эффекты гастрина. Протеазы могут усиливать их, потенцируя влияния самого гастрина и снижая тормозные влияния на гастриновый механизм ЛЭК.

Можно предположить, что мишенями этого влияния являются G-клетки - продуценты гастрина, но если бы только так, то при протеолитическом трипсиновом влиянии в наибольшей мере стимулировалась бы секреция соляной кислоты, ибо оксинтные клетки возбуждаются гастрином в большей мере, чем главные клетки желудочных желез. Результаты же, полученные нами, свидетельствуют о том, что протеолитическое трипсиновое влияние в большей

мере усиливает секрецию именно главных клеток, так как повышается выделение протеаз желудочных желез и общего белка. Наконец, если бы панкреатические протеазы выступали только в роли гастрин-релизинг фактора, то они усиливали бы секрецию ферментов поджелудочной железой. А ведь панкреатические протеазы по принципу отрицательной обратной связи тормозят секрецию ферментов поджелудочной железой. Остается заключить, что мишенью протеаз являются пептидергические механизмы регуляции пищеварительных желез желудка.

Представленный экспериментальный материал и данные литературы, и особенно работ нашей лаборатории, по проблеме пептидергической регуляции секреции желудочных и поджелудочных желез, и роли в этих регуляторных процессах протеолитических гидролаз. Позволяет заключить, что основным местом приложения действия регуляторных пептидов является как прямое действие на пептидергические механизмы, так и не прямое или опосредованное влияние, которое может осуществляться при участии ЦНС. Имеющей ведущее значение, ее парасимпатического отдела и гуморальных непосредственных и косвенных влияний, о чем более подробно остановимся далее. Важную регуляторную роль в этих процессах выполняют протеолитические гидролазы, которые модифицируют пептидергические механизмы регуляции. Однако протеазы выступают и в роли гастрин-релизинг фактора, что объясняет усиление ими секреции соляной кислоты. Неспецифичность трипсина (панкреатических протеаз) как регулятора glanduloцитов проявляется и в том, что он стимулирует в желудке продукцию белковых секретов пепсиногена и гастрин.

Описанные влияния, как и влияния других регуляторных факторов, алгебраически суммируются, интегрируются, комбинируются на разных уровнях и реализуются в сложных каскадах регуляторных воздействий на секрецию желудочных желез [21]. Функционально эти влияния ферментов Г.Ф.Коротько [24] относит к числу тех воздействий, которые И.П.Ашмарин [8] отнес к числу

"надпептидных регуляций", предшествующих действию пептидов на клетки мишени, когда этим пептидам предстоит только образование их за счет ограниченного протеолиза.

Если допустить, что панкреатические протеазы специфичны к ЛЭК как субстрату, тем более, что последний не всегда доступен для гидролитического действия, будучи нейротрансмиттером или парагормоном.

Не исключено, что эндогенные и экзогенные протеиназы гидролизуют ЛЭК, снимая тем самым его эффекты. Но и это допущение может встретить серьезные возражения - наши данные свидетельствуют о неполном снятии тормозных эффектов ЛЭК и о том, что растормаживание его влияний происходит не всегда. Кроме того, доказано существование специальной группы пептидов, инактивирующих гидролазы крови.

Тем не менее, если допустить, что снижение тормозного влияния ЛЭК вызвано его деградацией под действием панкреатических протеаз, то данный эффект может проявиться не только из-за уменьшения концентрации в крови тормозящего секрета пептида, но и появления в ней его фрагментов, или изменивших структуру пептидов, обладающих противоположным действием. Возможность структурных перестроек ЛЭК с изменением его эффектов реальна в условиях организма.

Так же представляется возможным механизм действия протеолитических гидролаз на рецепторные структуры клеток-мишеней и изменения их аффинности к пептидным регуляторам, так как имеются данные, показывающие фосфатазную ферментативную активность рецепторного белка опиоидов и тесную ассоциацию с опиоидными рецепторами аминоклеветидаз, расщепляющих энкефалины [46, 142, 223, 305].

Далее, в связи с допуском уменьшения под действием ЛЭК высвобождения ацетилхолина из нервных окончаний [197], не исключено, что панкреатические протеазы модифицируют холинергические эффекты.



Наконец, более реально можно допустить алгебраическое суммирование, интеграцию эффектов трипсина с таковыми ЛЭК. Такой подход объясняет потенцирующее влияние трипсина на эффекты пентагастрина, и может быть назван модифицирующим.

## **5. РОЛЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ПРОТЕАЗ В ИЗМЕНЕНИИ УТИЛИЗАЦИИ ПЕЧЕНЬЮ ПЕНТАГАСТРИНА**

### **5.1. Панкреатические протеазы в изменении утилизации печенью пентагастрина.**

Вопрос о физиологическом значении панкреатических протеаз в крови, инкретированных пищеварительными железами, остается нерешенным уже в течение нескольких десятилетий. В последние годы появились данные о регуляторном влиянии их на пищеварительные железы [23]. Однако механизм действия панкреатических протеаз не достаточно изучен. К настоящему времени предполагается несколько механизмов их регуляторного действия. Один из предполагаемых механизмов возможен за счет участия протеаз в образовании короткоцепочных молекулярных форм пептидов из длинноцепочных, через ограниченный протеолиз. В результате этого происходит модифицирующее влияние на клетки мишени и соответствующие физиологические функции. Другой механизм предполагает действие панкреатических протеаз на изменение структуры рецепторов, связывающихся с соответствующими пептидными регуляторами, через ограниченный протеолиз. Еще один механизм допускает наличие соответствующих рецепторов связывающихся с панкреатическими протеазами [257].

Мы уже отмечали, что в нашей лаборатории были получены данные о стимулирующем влиянии панкреатических протеаз на желудочную секрецию и ферментовыделение в условиях тощачковой секреции и в значительной мере при стимуляции секреции пищей и регуляторными пептидами, как панкреатической вытяжкой, а так же изолированно трипсином, входящим в состав этой

вытяжки. Эти данные подтвердили, что в стимуляторном влиянии на пищеварительные железы желудка, принимают участие именно панкреатические протеазы [4, 161]. Также нами было показано участие печени в утилизации короткоцепочных пептидных регуляторов (пентагастрина, ХЦК-8), что может рассматриваться как дополнительным модифицирующим фактором в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез [10]. Кроме того нами было установлено, что под влиянием панкреатической вытяжки уменьшается способность печени утилизировать короткоцепочные пептиды [9]. Для нас представлял интерес вопрос, за счет каких компонентов панкреатической вытяжки происходит этот эффект, за счет панкреатических протеаз или других компонентов панкреатической вытяжки.

С этой целью нами совместно с Бабич С. М. проведено изучение влияния панкреатической вытяжки, а так же ферментных компонентов панкреатической вытяжки – трипсина и химотрипсина - на степень утилизации печеную короткоцепочного пептида пентагастрина. Полученные данные проведенных экспериментов на собаках в 1 серии показали, что на 2-3 часах введения пентагастрина в периферическую вену отмечался достоверно выраженный стимуляторный эффект на показатели выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с показателями 1 часа введения пентагастрина. При совместном введении пентагастрина и панкреатической вытяжки в периферическую вену стимуляторный эффект был достоверно выше по сравнению с таковыми, без введения панкреатической вытяжки (рис. 13А).

Введение только пентагастрина в портальную вену показало, что стимуляторный эффект его на показатели выделения пищеварительных желез желудка достоверно уменьшался в сравнении с введением пентагастрина в периферическую вену (рис. 13Б), что указывает на утилизацию его в печени. При совместном введении пентагастрина и панкреатической вытяжки в портальную вену отмечалось достоверное увеличение показателей выделения

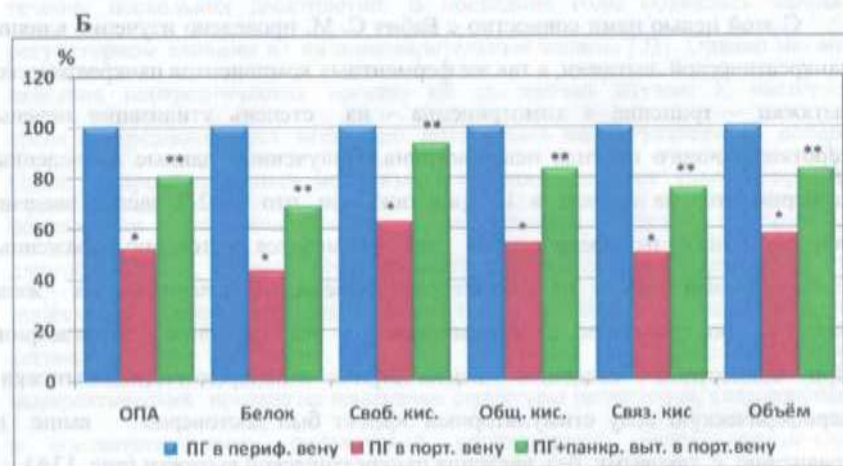
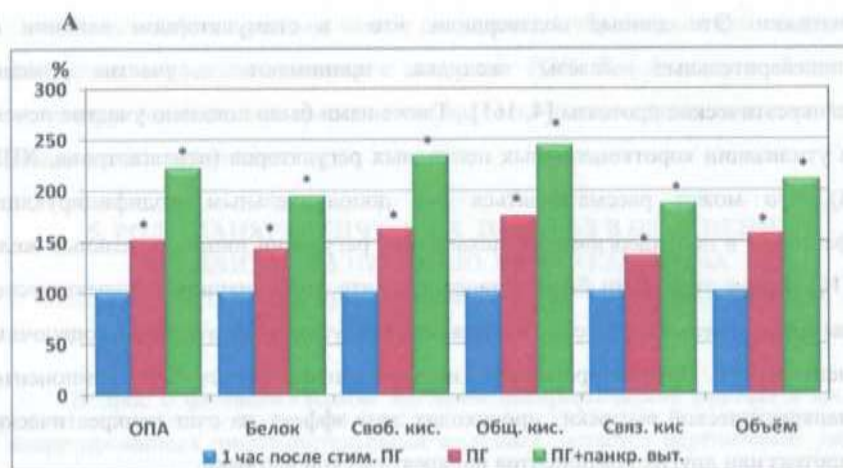


Рис. 13. Изменение показателей желудочной секреции, при внутривенном введении в периферическую вену голени (А) и в портальную вену (Б) пентагастрина (0,1 мкг/кг/ч) и совместно пентагастрина (0,1 мкг/кг/ч) и вытяжки гомогената поджелудочной железы (300 мкг/кг), в % к показателям 1 часа с начала введения пентагастрина в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в периферическую вену.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в портальную вену.

пищеварительных желез желудка, по сравнению с экспериментами без введения панкреатической вытяжки (рис. 13Б). Этот эффект был выше в среднем на 10-15% по сопоставлению с результатами в периферическую вену.

Во 2 серии экспериментов, где проводилось исследование влияния внутрипортального введения пентагастрина, а так же совместного введения пентагастрина, трипсина и химотрипсина на показатели желудочной секреции. Было выявлено, что введение только пентагастрина в портальную вену вызывало значительное достоверное снижение стимуляторного эффекта на показатели выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с показателями введения пентагастрина в периферическую вену, что указывает на утилизацию его в печени (рис. 14А). При совместном введении пентагастрина и трипсина в портальную вену отмечалось достоверное увеличение показателей выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с таковыми без введения трипсина, что указывает на уменьшение утилизации пентагастрина в печени (рис. 14А).

В этих же экспериментах при совместном введении пентагастрина и химотрипсина в портальную вену отмечалось достоверное увеличение показателей выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с таковыми без введения химотрипсина, но ниже по сравнению с показателями введения совместно пентагастрина и трипсина (рис. 14Б). Эффект усиления секреторной активности желудочных желез под влиянием трипсина и химотрипсина указывает на уменьшение утилизации короткоцепочных пептидов печенью и способность протеаз изменять эту способность в зависимости от физиологической необходимости.

Эти эффекты на данной модели экспериментов не подтверждают предположение об увеличении образования короткоцепочных пептидов из длинноцепочных, содержащихся в крови, под влиянием панкреатических протеаз в портальной системе за счет ограниченного протеолиза. Если бы это



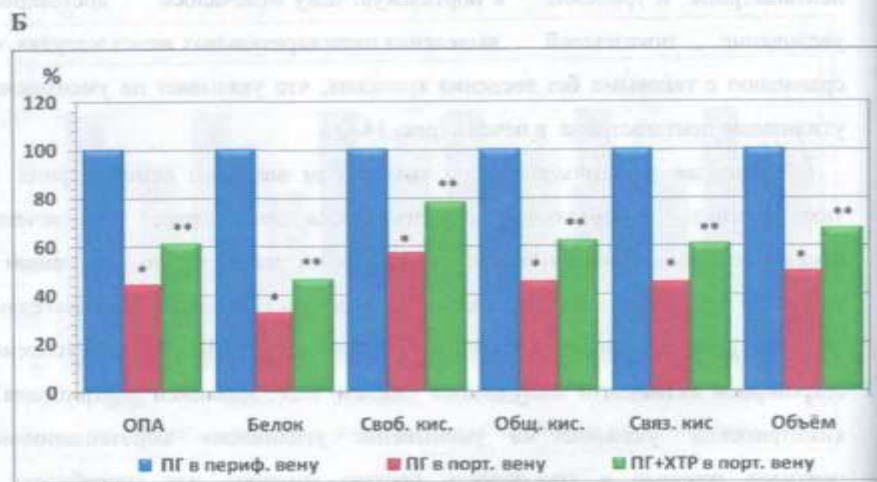
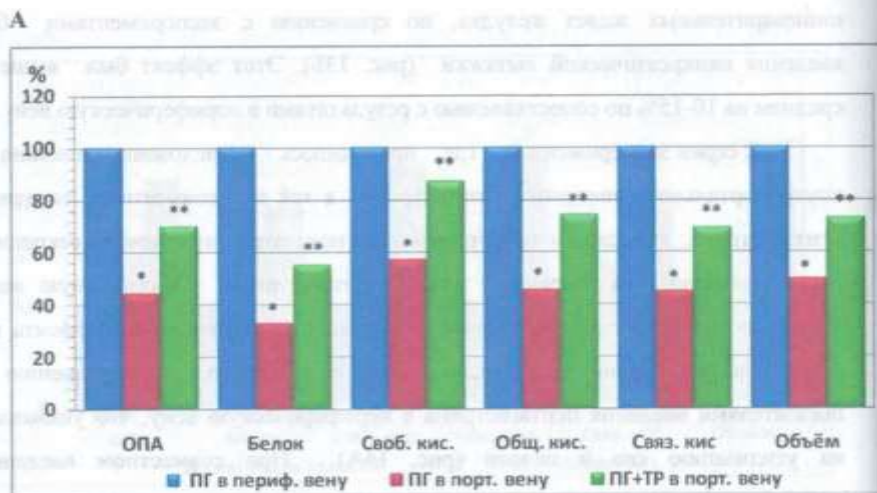


Рис. 14. Изменение показателей желудочной секреции, при введении в периферическую и портальную вену пентагастрина (0,1 мкг/кг/ч), а так же пентагастрина совместно с трипсином (300 мкг/кг) – А и химотрипсином (300 мкг/кг) – Б, в % к показателям введения пентагастрина в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в периферическую вену.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в портальную вену.

имелось, то усиление образования короткоцепочных пептидов из общего количества в портальной системе длинноцепочных пептидов, приводило бы к некоторому уменьшению количества пептидных регуляторов как длинноцепочных, за счет перехода в короткоцепочные, так и короткоцепочных, за счет увеличения их утилизации в печени. В результате за счет этого происходило бы снижение секреторной активности желудочных желез под влиянием панкреатических протеаз. Обратный эффект усиления секреторной активности желудочных желез под влиянием панкреатических протеаз указывает на уменьшение утилизации короткоцепочных пептидов печенью. Конечно, эти данные не дают повода говорить об отсутствии увеличения образования короткоцепочных пептидов из длинноцепочных под влиянием панкреатических протеаз. Вероятно, в данной модели экспериментов в большей мере проявляются эффекты с уменьшением утилизации короткоцепочных пептидов печенью. Эти данные так же показывают, что функция печени не ограничивается утилизацией короткоцепочных пептидов, как ненужных в дальнейшем организме, а может изменять эту утилизационную способность в зависимости от физиологической необходимости.

В механизмах реализации снижения утилизационной способности печени под влиянием панкреатических протеаз, видимо, задействованы протеазо-активируемые рецепторы печени. Это допущение возможно потому, что участие в этих эффектах панкреатических протеаз, инкретируемых пищеварительными железами в кровь, связано с появившимися в последние годы большого количества работ о рецепторах, активируемых протеазами. Расположенных на клеточных мембранах различных органов и тканей, через которые может осуществляться усиление или снижение функциональной активности этих органов и тканей организма под влиянием панкреатических протеаз [257, 161].

Высказывается мнение, что панкреатические протеазы в настоящее время не следует рассматривать только с традиционной точки зрения как пищеварительные ферменты, но дополнительно в качестве сигнальных молекул, которые активно участвуют в спектре физиологических и патологических состояний как желудочно-кишечного тракта, так и других систем организма. Предлагается протеазы в целом теперь рассматривать как гормон, а формирование в связи с этим новых сигнальных путей, как новых механизмов регуляции в физиологических условиях или новых патогенетических звеньев в условиях патологии. Так же протеазо-активируемые рецепторы рассматриваются как привлекательный объект для разработки новых лекарственных средств [269].

Таким образом, печень утилизирует короткоцепочные пептиды, а панкреатическая вытяжка снижает эту способность за счет, в большей степени, трипсина и в меньшей - химотрипсина.

#### **5.2. Влияние панкреатических не протеолитических гидролаз на изменение утилизации печенью пентагастрина.**

В отношении не протеолитических панкреатических гидролаз, таких как амилаза и липаза так же высказывается предположение об их роли как сигнальных молекулах и возможно имеющих для них соответствующих рецепторов в организме [27].

В связи с этим представляло интерес изучить влияние не протеолитических панкреатических гидролаз (амилаза и липаза) на утилизационную способность печени короткоцепочных пептидов. С этой целью совместно с Бабич С. М. проведены хронические эксперименты на собаках для изучения влияния не протеолитических (амилаза и липаза) панкреатических гидролаз на степень утилизации печенью короткоцепочного пептида пентагастрина по степени влияния его на секреторную функцию желудка.



В экспериментах, где проводилось исследование влияния внутрипортального введения пентагастрина, а так же совместного введения пентагастрина отдельно с амилазой и липазой на показатели желудочной секреции. Было выявлено, что при совместном введении пентагастрина и амилазы в портальную вену не отмечалось выраженных изменений в показателях выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с показателями с введением только пентагастрина в портальную вену (рис. 15А). Это указывает на отсутствие способности амилазы влиять на изменение утилизации печенью короткоцепочных пептидов. При совместном введении пентагастрина и липазы в портальную вену, так же не отмечалось выраженных изменений показателей выделения только пентагастрина в портальную вену (рис. 15Б). Это так же указывает на отсутствие способности липазы влиять на изменение утилизации печенью короткоцепочных пептидов.

Результаты, полученные в данных сериях экспериментов, не подтверждают предположение о влиянии амилазы и липазы на изменение способности печени утилизировать короткоцепочные пептиды и подтверждают выраженное влияние трипсина и химотрипсина на увеличение утилизационной способности печенью короткоцепочных пептидов. Эти результаты дают основание с достаточной твердостью утверждать, что панкреатические протеазы на органном уровне в печени реализуют механизмы изменения утилизационной способности её, через рецепторы, активируемые протеазами. Полученные данные подтверждают, что панкреатические протеазы могут играть роль сигнальных молекул и изменять утилизационную способность печени в зависимости от физиологической необходимости. Что касается отсутствия эффектов, подобных панкреатическим протеазам, у амилазы и липазы на утилизационную способность печени, то полностью отрицать предположение о возможности наличия специфических рецепторов для них и выполнения сигнальной роли амилазой и липазой нельзя. Видимо, для этого подтверждения, необходимы



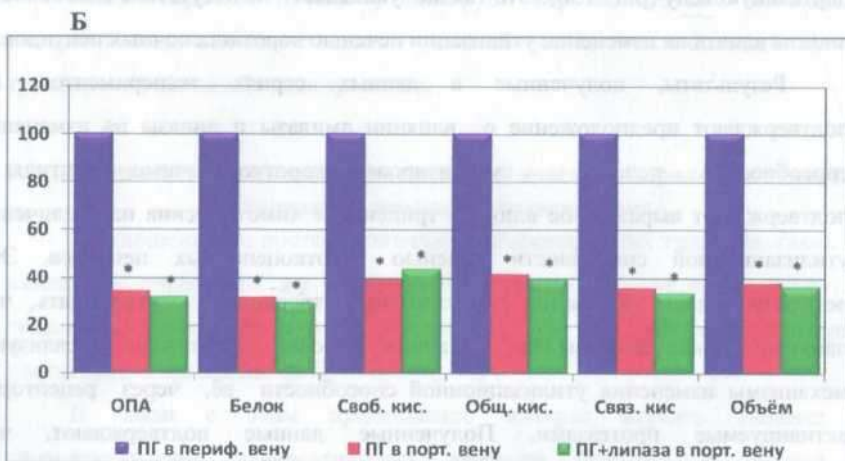
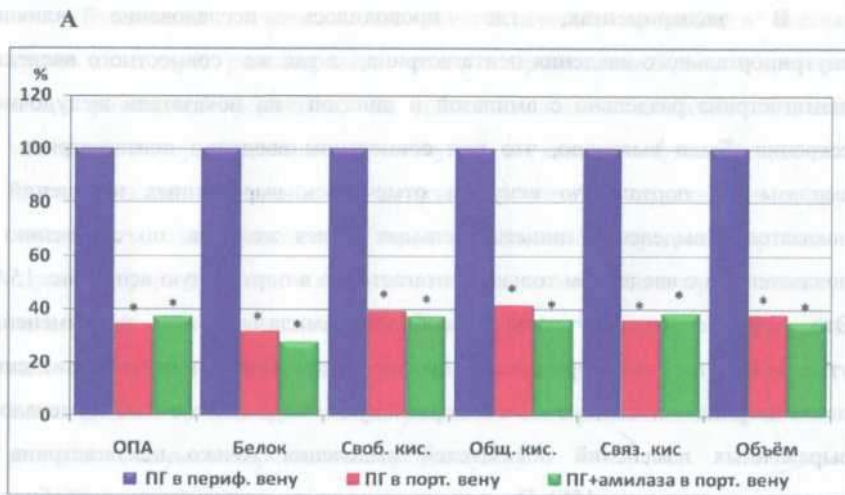


Рис. 15. Изменение показателей желудочной секреции, при введении в периферическую и портальную вену пентагастрина (0,1 мкг/кг/ч), а так же пентагастрина совместно с амилазой (300 мкг/кг) – А и липазой (300 мкг/кг) – Б, в % к показателям введения пентагастрина в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям с введением пентагастрина в периферическую вену.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям с введением пентагастрина в портальную вену.

более специфические экспериментальные модели на клеточном и органном уровне, пищеварительных желез желудка, по сравнению с показателями с введенным. Таким образом, можно заключить, что печень утилизирует короткоцепочные пептиды. Протеолитические панкреатические гидролазы (трипсин и химотрипсин) уменьшают, а непротеолитические панкреатические гидролазы (амилаза и липаза) не влияют на степень утилизации печенью короткоцепочного пептида пентагастрина.

### **5.3. Влияние различных доз трипсина на изменение утилизации печенью пентагастрина.**

Основная часть трипсиногена, выделяемого поджелудочной железой человека, на основании изоэлектрической точки и по электрофоретической подвижности, состоит из двух основных изоформ, их называют катионный трипсиноген-I и анионный трипсиноген-II. Дополнительно выявлена третья промежуточная изоформа, названная мезотрипсиноген. Найдена экстрапанкреатическая изоформа мезотрипсиногена, которая названа трипсиноген-IV, отличающаяся по строению и не отличающаяся по свойствам от мезотрипсиногена. Мезотрипсиноген поджелудочной железой вырабатывается исключительно в секреторной форме, а в экстрапанкреатических тканях - в форме трипсиноген-IV [281].

Все трипсины вырабатываются в неактивной или зимогенной форме. Панкреатические трипсиногены (трипсиноген - I трипсиноген - II и мезотрипсиноген) активируются энтеропептидазой - энтерокиназой в кишечнике, а трипсиногена - IV совместно с энтеропептидазой вырабатывается во многих эпителиальных клетках и тканях и действие их может происходить при аутокринной или паракринной активации [190].

Особый интерес, мезотрипсина и трипсина IV вызывает устойчивость к воздействию большинства белковых ингибиторов трипсина, это дает возможность оказывать действие длительное время [281].

Трипсины встречаются во многих клетках, в том числе в эндотелиальных, эпителиальных клетках, нервной системе, а также в опухолях. Однако, несмотря на широкое распространение, почти ничего не известно о функциональном значении, механизмах секреции и активации внепанкреатических форм трипсина.

Разделение на панкреатические и экстрапанкреатические трипсины основано в основном по месту выработки их, так как панкреатические трипсины за счет инкреции могут доставляться в кровь и оказывать влияние на различные клетки организма, как и экстрапанкреатические.

Ранее нами было установлено, что под влиянием панкреатической вытяжки и отдельно трипсина уменьшается способность печени утилизировать короткоцепочные пептиды, сделан был вывод, что эти эффекты предположительно реализуются через активируемые протеазами рецепторы [9].

Нами совместно с Бабич С. М. проведены хронические эксперименты на собаках по изучению влияния различных доз трипсина на степень утилизации печенью короткоцепочного пептида пентагастрина по степени влияния его на секреторную функцию желудка.

Данные экспериментов показали, что введение только пентагастрина в портальную вену вызывало значительное достоверное уменьшение стимуляторного эффекта его на показатели выделения пищеварительных желез желудка (рис. 16), по сравнению с таковыми показателями с введением пентагастрина в периферическую вену, что указывает на значительную утилизацию его в печени. При совместном введении пентагастрина и трипсина в дозе 300 мкг/кг в портальную вену отмечалось достоверное увеличение показателей выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с показателями с введением только пентагастрина в портальную вену (рис. 16), что указывает на достоверное увеличение стимуляторного эффекта пентагастрина и достоверное снижение утилизации его в печени. При совместном введении пентагастрина и трипсина в дозе 1,5 мг/кг в портальную



вену отмечалось так же достоверное увеличение показателей выделения пищеварительных желез желудка. По сравнению с показателями с введением только пентагастрина в портальную вену, эти показатели были выше, чем показатели при введении трипсина в дозе 300 мкг/кг в портальную вену (рис. 16). Это указывает на значительное увеличение стимуляторного эффекта пентагастрина и уменьшение утилизации его в печени при совместном

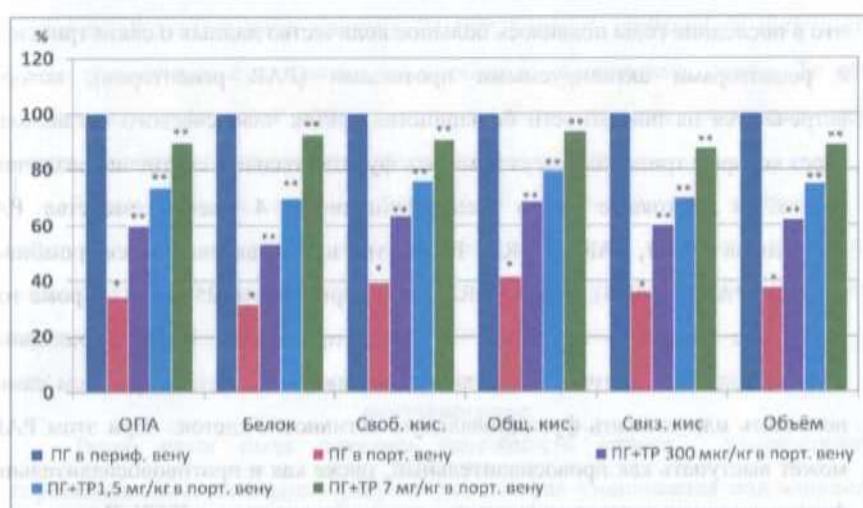


Рис. 16. Изменение показателей желудочной секреции, при введении в периферическую и портальную вену пентагастрина (0,1 мкг/кг/ч), а так же пентагастрина совместно с трипсином (300 мкг/кг, 1,5 мг/кг, 7 мг/кг), в % к показателям введения пентагастрина в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям введения пентагастрина в периферическую вену.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям введения пентагастрина в портальную вену.

введении с трипсином в дозе 1,5мг/кг по сравнению с дозой 300 мкг/кг. При совместном введении пентагастрина и трипсина в дозе 7 мг/кг в портальную вену отмечалось достоверное увеличение показателей выделения

пищеварительных желез желудка, которые были выше, чем показатели при введении трипсина в дозах 300 мкг/кг и 1,5 мг/кг (рис. 16).

Полученные результаты показывают, что трипсин дозозависимо увеличивает стимуляторный эффект пентагастрина и уменьшает утилизацию его в печени. Механизм этих эффектов, по нашему мнению, реализуется через рецепторы активируемые протеазами.

Основанием для обоснования предполагаемых механизмов является то, что в последние годы появилось большое количество данных о связи трипсинов с рецепторами активируемыми протеазами (PAR рецепторов), которые встречаются на поверхности большинства клеток человеческого организма и через которые трипсины могут изменять функциональное состояние различных клеток. В настоящее время идентифицировано 4 члена семейства PAR рецепторов (PAR1, PAR2, PAR3, PAR4) три из них активируются тромбином (PAR1, PAR3, PAR4), а два (PAR2, PAR4) трипсином [257, 161]. Кроме того различные протеазы способны, за счет протеолиза PAR в различных положениях, либо активировать, либо инактивировать рецептор и тем самым повышать или снижать функциональную активность клеток. При этом PAR2 может выступать как провоспалительный, также как и противовоспалительный фактор, в зависимости от типа ткани и модели повреждения [257]. В тоже время мощная активация различных типов PAR высокими концентрациями активирующих протеаз приводит к перегрузке цитоплазмы клетки кальцием и развитию деструктивных процессов, в то время как низкие концентрации вызывают умеренную активацию рецепторов [190].

Также основанием для подтверждения участия PAR рецепторов в уменьшении утилизации печенью пентагастрина является то, что панкреатические протеазы как мы указывали в настоящее время рассматриваются не только с традиционной точки зрения как пищеварительные ферменты, но как гормон, участвующих регуляции физиологических функций [269].

В объяснении механизмов полученных нами эффектов можно предположить как прямое, а так и не прямое, с участием кофакторов, тканевой энтеропептидазы и трипсиногена IV, воздействие трипсина на PAR-рецепторы, расположенные на мембранах гепатоцитов и гастроцитов. За счет влияния на гепатоциты уменьшается утилизация печенью короткоцепочных пептидов, влияющих на функциональную активность желудочных желез, и увеличивается их содержание в периферической крови, что способствует повышению секреторной деятельности желудка. За счет влияния трипсина на гастроциты также повышается функциональная активность желудочных желез. То есть проявляется суммарный эффект трипсина путем прямого влияния и через печень на секреторную деятельность желудочных желез.

Таким образом, печень утилизирует короткоцепочные пептиды. С увеличением дозы протеолитических панкреатических гидролаз снижается способность печени утилизировать короткоцепочный пептид пентагастрин, что проявляется в усилении секреторной функции желудка.

#### **5.4. Влияние приема пищи на изменение утилизации печенью пентагастрина**

Ранее нами была показана способность печени утилизировать короткоцепочные пептидные регуляторы, которая уменьшается под влиянием панкреатической вытяжки, что может рассматриваться как дополнительный модифицирующий фактор в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез [9, 10]. Изменение этой способности печени происходит, за счет панкреатических протеаз трипсина и химотрипсина, но не амилазы и липазы.

В большом количестве работ сообщается о рецепторах активируемых протеазами, расположенных на клеточных мембранах различных органов и тканей [257, 161]. В связи с этим мы выдвинули предположение, что в реализации эффектов панкреатических протеаз также участвуют рецепторы



активируемые протеазами, через которые может осуществляться усиление или снижение функциональной активности органов и тканей организма.

Причиной для этого предположения явилась существующая точка зрения, что панкреатические протеазы, являются не только пищеварительными ферментами, но обладают свойством сигнальных молекул с гормоноподобным действием через ПАР рецепторы [269].

Представляло интерес изучить влияние эндогенных протеолитических панкреатических гидролаз, увеличивающихся за счет приема пищи, и экзогенных, за счет внутривенного введения трипсина, на утилизирующую способность печени короткоцепочных пептидов пентагастрин и холецистокинин (ХЦК-8). С этой целью нами совместно с Бабич С. М. проведено изучение влияния эндогенных и экзогенных протеолитических панкреатических гидролаз на способность печени утилизировать короткоцепочные пептиды пентагастрин и холецистокинин (ХЦК-8).

По результатам исследования было установлено, что при введении в периферическую вену пентагастрина совместно с трипсином отмечался достоверно выраженный стимуляторный эффект на показатели выделения поджелудочной железы, по сравнению с показателями при введении только пентагастрина в периферическую вену. При введении пентагастрина в периферическую вену и одновременным кормлением мясoхлебным фаршем стимуляторный эффект был достоверно выше по сравнению с показателями выделения поджелудочной секреции при введении только пентагастрина, так же эти показатели были несколько выше по сравнению с введением в периферическую вену пентагастрина совместно с трипсином (рис. 12).

При введении пентагастрина в портальную вену совместно с трипсином отмечалось достоверно выраженное увеличение показателей выделения поджелудочной секреции, по сравнению с показателями при введении только пентагастрина в портальную вену, так же эти показатели были несколько выше таковых при введении пентагастрина совместно с трипсином в периферическую

вену. Это указывает на достоверное снижение утилизационной способности печени под влиянием внутривенного введения трипсина. Введение

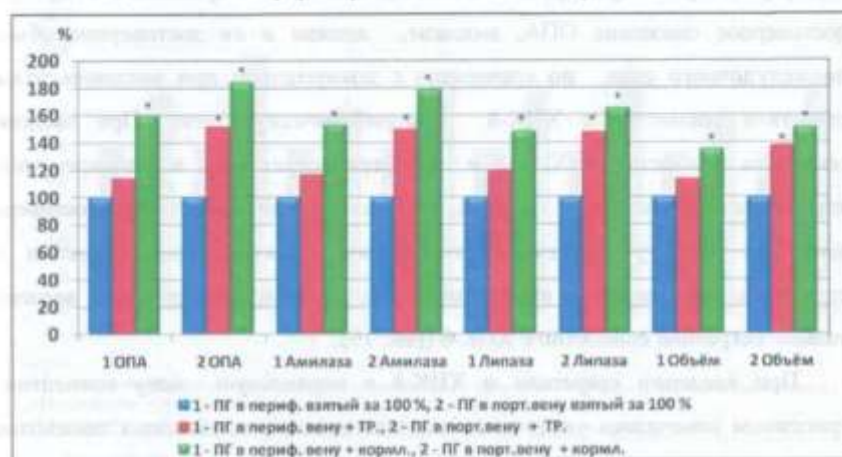


Рис. 12. Изменение показателей поджелудочной секреции, при введении в периферическую и портальную вену пентагастрин (0,1 мкг/кг/ч), а так же пентагастрин совместно с трипсином (300 мкг/кг) и кормлением мясосолеблющим фаршем (10 г/кг), в % к показателям введения пентагастрин в периферическую вену или портальную вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям введения пентагастрин в периферическую вену или портальную вену.

пентагастрин в портальную вену и одновременное кормление мясосолеблющим фаршем вызывало достоверное повышение показателей поджелудочной секреции по сравнению с показателями при введении только пентагастрин в портальную вену. Так же эти показатели были несколько выше по сравнению с введением в периферическую вену пентагастрин и одновременным кормлением мясосолеблющим фаршем, что указывает на достоверное снижение утилизационной способности печени под влиянием приема пищи, которое проявлялось в большей мере, чем под влиянием внутривенного введения трипсина (рис. 12).



В другой серии экспериментов было выявлено, что при введении в периферическую вену секретина и ХЦК-8 совместно с трипсином отмечалось достоверное снижение ОПА, амилазы, липазы и не достоверное объёма поджелудочного сока, по сравнению с показателями при введении только секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену. При введении секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену и одновременным кормлением мясохлебным фаршем, стимуляторный эффект был достоверно выше по всем учитываемым показателям поджелудочной секреции по сравнению с показателями выделения поджелудочной секреции при введении только секретина совместно с ХЦК-8 (рис. 13).

При введении секретина и ХЦК-8 в портальную вену совместно с трипсином отмечалось увеличение выделения всех учитываемых показателей поджелудочной секреции, по сравнению с показателями при введении секретина и ХЦК-8 совместно с трипсином в периферическую вену. Также повышение по отношению к показателям с введением только секретина совместно с ХЦК-8 в портальную вену. При введении секретина совместно с ХЦК-8 в портальную вену и одновременным кормлением мясохлебным фаршем, отмечалось достоверное увеличение всех учитываемых показателей поджелудочной секреции по сравнению с показателями при введении только секретина совместно с ХЦК-8 и эти показатели заметно выше данных при введении в периферическую вену секретина совместно с ХЦК-8 и одновременным кормлением мясохлебным фаршем (рис. 13).

Полученные результаты показывают, что как трипсин, так и прием пищи вызывают уменьшение утилизации печенью короткоцепочных пептидов. Если при введении в портальную вену данный эффект обусловлен экзогенным воздействием, то после приема пищи, очевидно, за счет эндогенного увеличения инкреции панкреатических протеаз в портальную систему. Это способствует повышению перехода короткоцепочных пептидов в периферический кровоток, за счет чего происходит усиление воздействия и пентагастрина, и ХЦК-8 на

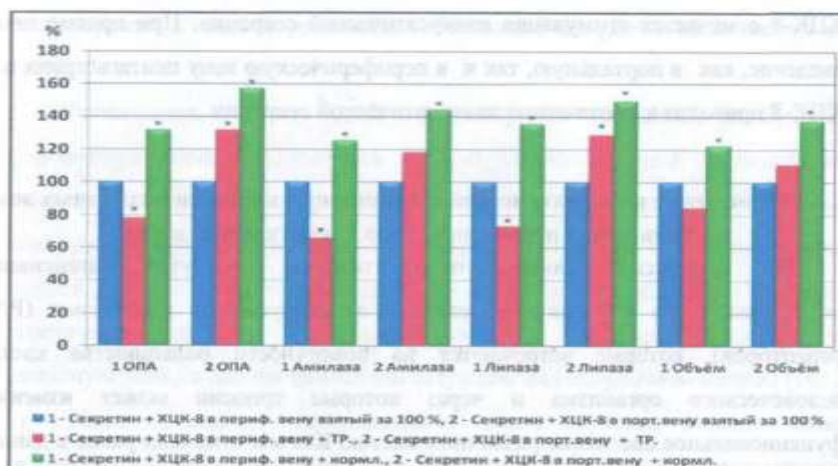


Рис. 13. Изменение показателей поджелудочной секреции, при введении в периферическую и портальную вены секретина (0,15 мкг/кг/ч) совместно с ХЦК-8 (0,15 мкг/кг/ч), а так же секретина и ХЦК-8 совместно с трипсином (300 мкг/кг) и кормлением мясоедным фаршем (10 г/кг), в % к показателям введения секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену (1) или портальную вену (2).

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям введения секретина совместно с ХЦК-8 периферическую вену или портальную вену.

панкреатическую секрецию. Также увеличение их содержания в периферической крови, откуда короткоцепочные пептиды, в отличие от длинноцепочных, проникают через гематоэнцефалический барьер, достигая в ЦНС пищевого центра насыщения, может играть роль в реализации чувства сытости. Следует отметить, что, несмотря на близкое строение пентагастрина и ХЦК-8, различия в их влиянии на ацинарные клетки под влиянием трипсина, говорят о возможной реализации их действия через различные рецепторы. По результатам исследования были сделаны выводы, что при введении в периферическую вену трипсина совместно с пентагастрином отмечается стимуляция, совместно с ХЦК-8 - угнетение панкреатической секреции. При

введении в портальную вену трипсина совместно, как с пентагастрином, так и с ХЦК-8 отмечается стимуляция панкреатической секреции. При приеме пищи введение, как в портальную, так и в периферическую вену пентагастрина или ХЦК-8 приводит к увеличению панкреатической секреции.

#### **5.5. Изменение панкреатической секреции при введении различных доз трипсина в периферическую и портальную вены**

На протяжении последнего десятилетия ведутся интенсивные исследования по изучению рецепторов активируемых протеазами (PAR рецепторов), которые встречаются на поверхности большинства клеток человеческого организма и через которые трипсин может изменять функциональное состояние различных клеток. Как мы отмечали ранее в данное время идентифицировано 4 члена семейства PAR рецепторов [257].

Показано, что PAR рецепторы принимают участие в модуляции механизмов физиологических и патологических процессов. PAR рецепторы, особенно PAR1 и PAR2, распространены во всех отделах желудочно-кишечного тракта, осуществляя модулирующее влияние его функции. Одной из наиболее важных функций PAR рецепторов в желудочно-кишечном тракте является регулирование экзокринной секреции в слюнных железах, поджелудочной железе и эпителии слизистой желудочно-кишечного тракта. PARs также модулирует секреторную и моторную деятельность, как желудка, так и других отделов желудочно-кишечного тракта. PAR2 играет двойную роль при панкреатите и формировании боли, участвуют в про-воспалительных и про-ноцицептивных, а так же анти-воспалительных и анти-ноцицептивных механизмах. Аналогично, двойная роль для PAR1 и PAR2 показана при воспалении для всего желудочно-кишечного тракта. Есть также фундаментальное и клиническое подтверждение участия PAR2 в формировании боли толстого кишечника. PAR рецепторы, таким образом, являются ключевыми молекулами в регулировании функций желудочно-



кишечного тракта и объектом для разработки лекарственных средств, используемых в лечении различных заболеваний желудочно-кишечного тракта [161].

Установлено, что PAR рецепторы снижают возбудимость холецистокининовых рецепторов ССК-В, через которые осуществляется стимуляция секреции ферментов поджелудочной железой [162]. Было обнаружено, что экспериментальный острый панкреатит, вызванный у крыс и мышей, купировался возбуждением PAR2, чего не наблюдалось у животных, генетически лишенных этих рецепторов, т. е. возбуждение PAR2 играет защитную роль, подавляя трипсином секрецию поджелудочной железы [161].

Нами проведены исследования с целью изучения степени влияния различных доз трипсина совместно с ХЦК-8 и секретинном на панкреатическую секрецию при введении их в периферическую и портальную вены.

Полученные данные 1 серии экспериментов показали, что при введении в периферическую вену ХЦК-8 и секретина на 2-3 часе после введения отмечалось достоверное увеличение всех учитываемых показателей поджелудочной секреции по отношению к введению 1 часа. При введении в периферическую вену ХЦК-8 и секретина на 2-3 часе совместно с трипсином в дозе 300 мкг/кг отмечалось недостоверное уменьшение всех учитываемых показателей поджелудочной секреции по отношению к введению на 2-3 часе только ХЦК-8 и секретина. В таковых же экспериментах введение трипсина в дозе 1,5 мг/кг вызывало более выраженное, чем в дозе 300 мкг/кг недостоверное снижение всех учитываемых показателей поджелудочной секреции по отношению к введению на 2-3 часе только ХЦК-8 и секретина. При введении в периферическую вену ХЦК-8 и секретина на 2-3 часе совместно с трипсином в дозе 7 мг/кг отмечалось более выраженное, чем в дозе 300 мкг/кг и 1,5 мг/кг, достоверное снижение всех учитываемых показателей поджелудочной секреции по отношению к показателям с введением на 2-3 часе только ХЦК-8 и секретина (рис. 14).

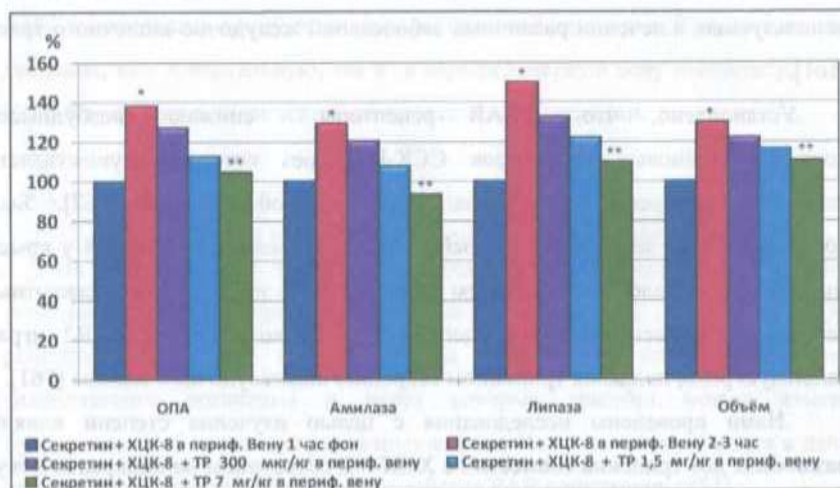


Рис. 14. Изменение показателей поджелудочной секреции, при введении в периферическую вену секретина (0,15 мкг/кг/ч) совместно с ХЦК-8 (0,15 мкг/кг/ч), а так же секретина и ХЦК-8 совместно с трипсином в дозе 300 мкг/кг, 1,5 мг/кг и 7 мг/кг, в % к показателям 1- го часа введения секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям 1- го часа введения секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям 2-3 го часа введения секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену.

Данные 2 серии экспериментов (рис. 15) показали, что при введении в портальную вену ХЦК-8 и секретина на 2-3 часах введения отмечалось значительное достоверное уменьшение всех учитываемых показателей поджелудочной секреции по отношению к введению в периферическую вену на 2-3 часах ХЦК-8 и секретина. При введении в портальную вену ХЦК-8 и секретина на 2-3 часах совместно с трипсином в дозе 300 мкг/кг отмечалось достоверное увеличение ОПА и липазы, а также не достоверное увеличение амилазы и объема поджелудочного сока. В тоже время при введении трипсина

1,5 мг/кг совместно с ХЦК-8 и секретинном наблюдалось снижение всех учитываемых показателей, по сравнению с введением трипсина в дозе 300 мкг/кг. При этом все эти показатели были не существенно выше результатов с введением только ХЦК-8 и секретина в портальную вену. Введение внутривенно трипсина в дозе 7 мг/кг совместно с ХЦК-8 и секретинном вызывало более выраженное и достоверное снижение, чем в дозе 300 мкг/кг, всех показателей кроме объёма поджелудочного сока. Тем не менее, все учитываемые показатели были не значительно ниже результатов с введением только ХЦК-8 и секретина в портальную вену (рис. 15).

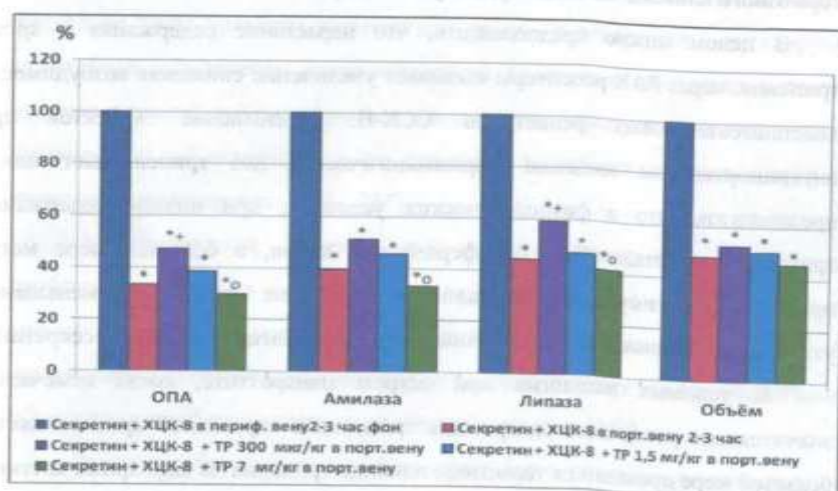


Рис. 15. Изменение показателей поджелудочной секреции, при введении в периферическую вену секретина (0,15 мкг/кг/ч) совместно с ХЦК-8 (0,15 мкг/кг/ч), а так же в портальную вену секретина совместно с ХЦК-8 и дополнительно секретина и ХЦК-8 совместно с трипсином в дозах 300 мкг/кг, 1,5 мг/кг, 7 мг/кг. В % к показателям 2-3 го часа введения секретина совместно с ХЦК-8 в периферическую вену.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям 2-3 го часа введения секретина совместно с ХЦК-8 периферическую вену.

\*\* - достоверно отличающиеся величины относительно к показателям 2-3 го часа введения секретина совместно с ХЦК-8 в портальную вену.



Выраженные стимулирующие эффекты при введении трипсина в портальную вену и снижение в нарастающей его дозе, очевидно, связаны с одной стороны с уменьшением утилизации печенью короткоцепочных пептидов холецистокинина и секретина. За счет более высокого прохождения их через печень в периферический кровоток, с последующим усилением стимулирующего влияния на поджелудочную секрецию и слабого прямого влияния трипсина на поджелудочную железу. С другой стороны с увеличением внутривенного введения дозы трипсина, способствует большему прохождению трипсина в периферический кровоток и усилению прямого тормозного влияния на поджелудочную железу.

В целом можно предположить, что нарастание содержания в крови трипсина, через PAR рецепторы вызывает увеличение снижения возбудимости холецистокининовых рецепторов ССК-В. Уменьшение эффектов при внутривенном введении фармакологических доз трипсина дает повод предполагать, что в физиологических условиях, при низком содержании трипсина в портальной и периферической крови, в большей мере могут проявляться стимулирующие влияния трипсина за счет уменьшения утилизации печенью короткоцепочных пептидов холецистокинина и секретина.

В условиях патологии при остром панкреатите, когда отмечается значительное увеличение содержания трипсина в портальной крови, может в большей мере проявляться тормозное влияние трипсина на ацинарные клетки и оказывать защитное действие. Возникает вопрос о необходимости применения ингибиторов трипсина при лечении острого панкреатита. Так как это может вызвать обратный эффект. Конечно, все эти предположения требуют дополнительных исследований для подтверждения.

Таким образом, на фоне стимуляции поджелудочной секреции, введением в периферическую вену ХЦК-8 и секретина, трипсин при введении в периферическую вену вызывает постепенное дозозависимое нарастание торможения поджелудочной секреции. На фоне стимуляции поджелудочной

секреции, введением в портальную вену ХЦК-8 и секретина, трипсин, при введении в портальную вену, вызывает в малых дозах увеличение, а с нарастанием дозы трипсина постепенное снижение поджелудочной секреции.

## **6. РОЛЬ ПРОТЕАЗО-АКТИВИРОВАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ В УТИЛИЗАЦИИ ПЕЧЕНЬЮ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ**

### **6.1. Изменение утилизации печенью пентагастрина под влиянием трипсина.**

Актуальность изучения панкреатических протеаз, инкретируемых пищеварительными железами в кровь, имеет значение в связи с появившимся в последние годы большим количеством работ о рецепторах, активируемых протеазами. Рецепторы расположены на клеточных мембранах различных органов и тканей, через которые может осуществляться усиление или снижение функциональной активности этих органов и тканей организма под влиянием панкреатических протеаз [161, 257].

Мы приводили мнение, что панкреатические протеазы обладают свойством не только пищеварительных ферментов, но дополнительно как гормоноподобных регуляторов через протеазо-активируемые рецепторы. Так же протеазо-активируемые рецепторы рассматриваются как привлекательный объект для разработки новых лекарственных средств [269].

Ранее в работах нашей лаборатории было показано участие печени в утилизации короткоцепочных пептидных регуляторов (пентагастрина, и ХЦК-8), что может рассматриваться как дополнительный модифицирующий фактор в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез [10]. Так же в нашей лаборатории было установлено, что под влиянием внутривенного введения трипсина увеличивается ферментовыделительная деятельность желудочных желез [28]. Для нас представляло интерес изучить влияние трипсина на утилизацию печенью пентагастрина, как модифицирующего фактора в механизмах регуляции пищеварительных желез.



В предыдущем разделе нами было показано на собаках уменьшение ферментовыделительной деятельности желудка и поджелудочной железы, что печень осуществляет утилизацию короткоцепочных пептидов. Представляло интерес изучить факторы, оказывающие влияние на изменение утилизации печенью короткоцепочных пептидов для большей убедительности на крысах. Нами было установлено, что одним из предполагаемых нами факторов, влияющих на утилизационную способность печени, являлся трипсин. В этом разделе представлены результаты острых экспериментов на крысах, в которых изучалось модифицирующее влияние на секреторную функцию желудочных желез короткоцепочного пептида пентагастрина (Г-5), совместно с трипсином, путем введения в портальную и периферическую вены [19].

Результаты экспериментов проведенных совместно с Жураевой М. А. на крысах показали, что объем выделяемого желудочного сока под влиянием трипсина введенного в периферическую вену (в/в), был недостоверно выше, чем после введения физиологического раствора. А под влиянием трипсина, введенного в портальную вену (в/п), был достоверно выше, чем после введения физиологического раствора (рис. 16 А).

Объем выделяемого желудочного сока под влиянием Г-5, введенного как в периферическую вену, так и портальную вену, был достоверно выше, таковых показателей после введения физиологического раствора. При этом показатели под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. В тоже время под влиянием совместно трипсина и Г-5 отмечалось по отношению к Г-5 недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 16 А).

Показатели ОПА желудочного сока после введения трипсина, как в периферическую вену, так и в портальную вену, были недостоверно выше, чем после введения физиологического раствора, но незначительно выше, чем

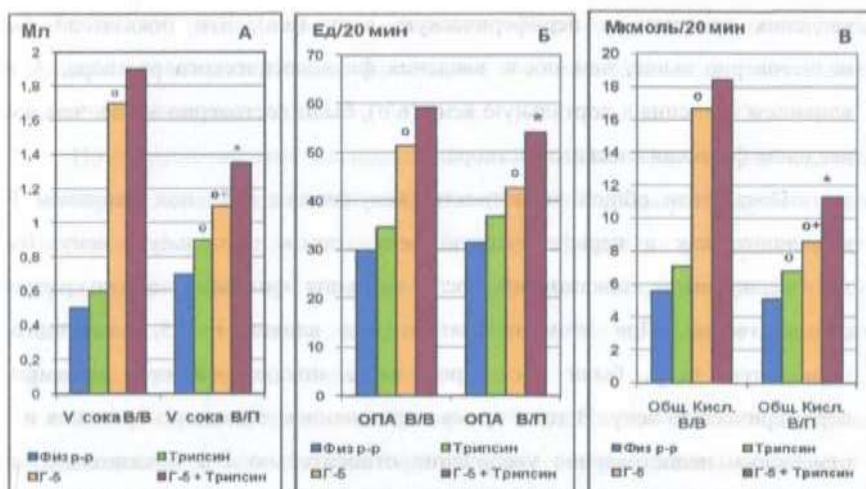


Рис. 16. Изменение показателей желудочной секреции у крыс, при введении в периферическую вену (В/В) и в портальную вену (В/П) физиологического раствора, пентагастрина Г-5 (0,1 мкг/кг), трипсина и совместно пентагастрина Г-5 (0,1 мкг/кг) и трипсина.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина.

o - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением физиологического раствора.

+ - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в периферическую вену.

при введении в периферическую вену. Показатели ОПА под влиянием Г-5, введенного как в периферическую вену, так и в портальную вену, были достоверно выше, чем таковые показатели после введения физиологического раствора. При этом показатели под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были недостоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. В тоже время под влиянием совместно трипсина и Г-5 отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 16 Б).

Показатели общей кислотности желудочного сока имели закономерности, отмеченные по выделению объема желудочного сока и ОПА. После

введения трипсина в периферическую вену (в/в), эти показатели были недостоверно выше, чем после введения физиологического раствора. А под влиянием трипсина в портальную вену (в/п), были достоверно выше, чем после введения физиологического раствора.

Показатели общей кислотности желудочного сока под влиянием Г-5, введенного как в периферическую вену, так и портальную вену, были достоверно выше, показателей после введения физиологического раствора соответственно. При этом показатели под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. В тоже время под влиянием совместно трипсина и Г-5 отмечалось недостоверное увеличение относительно Г-5 показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 16 В).

Представленные данные свидетельствуют, что введение трипсина в периферическую вену вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением физиологического раствора. Тогда как введение трипсина в портальную вену вызывало достоверное увеличение показателей объема желудочного сока и общей кислотности, и недостоверное - показателей ОПА по отношению к таковым показателям с введением физиологического раствора.

Установлено, что при прохождении через печень короткоцепочного пентагастрина происходит значительное снижение секреторных эффектов, что выражается в достоверно низких показателях объема желудочного сока и общей кислотности. Однако отмечается выраженное, но недостоверное снижение показателей ферментовыделительной деятельности желудка (показатели ОПА). При этом введение трипсина в периферическую вену совместно с пентагастрином вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением только пентагастрина. В тоже время введение трипсина в портальную вену



совместно с пентагастрином вызывало достоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением только пентагастрина.

По результатам этих исследований можно заключить, что у крыс печень утилизирует короткоцепочный пептид пентагастрин. Трипсин незначительно увеличивает секреторную активность желудка при введении в периферическую вену и существенно при введении в портальную вену, что указывает на возможность трипсина снижать способность печени утилизировать короткоцепочный пептид пентагастрин,

Таким образом, трипсин инкретируемый поджелудочной железой может способствовать снижению утилизации печенью короткоцепочных пептидов и тем самым участвовать в физиологических механизмах регуляции деятельности пищеварительных желез желудка.

#### **6.2. Изменение утилизации печенью ХЦК-8 под влиянием трипсина.**

Актуальность изучения панкреатических протеаз, инкретируемых пищеварительными железами в кровь, имеет значение в связи с появившимся в последние годы большим количеством работ о рецепторах, активируемых протеазами. Рецепторы расположены на клеточных мембранах различных органов и тканей, через которые может осуществляться усиление или снижение функциональной активности этих органов и тканей организма под влиянием панкреатических протеаз [45].

Ранее нами было показано участие печени в утилизации короткоцепочных пептидных регуляторов (пентагастрина, лейэнкефалина и ХЦК-8), что может рассматриваться как дополнительный модифицирующий фактор в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез [10]. Так же в нашей лаборатории было установлено, что под влиянием

внутривенного введения трипсина увеличивается ферментовыделительная деятельность желудочных желез [22].

Короткоцепочные пептиды, содержащие до 10 аминокислот, имеют большое значение в различных механизмах регуляции, так как они имеют рецепторы на афферентных нервных окончаниях периферических нейронов и на нейронах различных отделов ЦНС. В желудке и кишечнике паракринно осуществляют взаимосвязь эндокринных клеток и нейронов подслизистого нервного сплетения, мезентериальных и афферентных нейронов.

Во время поступления пищи в желудочно-кишечный тракт значительно увеличивается выработка короткоцепочных пептидов. Также известно, что короткоцепочные пептиды более эффективно стимулируют секрецию пищеварительных желез и проникают через гематоэнцефалический барьер. Например, за счет ХЦК-8, вызывают чувство насыщения, то есть обеспечивают дистантно взаимосвязь клеток пищеварительных желез с различными отделами ЦНС.

При патологии печени (билиарном циррозе) утилизионная способность печени снижается, ХЦК-8 увеличивается в периферической крови, за счет чего развиваются энцефалопатии [155], а также гиперсекреторный синдром поджелудочной железы [242].

Существуют механизмы, ограничивающие поступление короткоцепочных пептидов в периферическую кровь. Часть короткоцепочных пептидов утилизируется внутриорганно тканевыми и мембранными протеазами, другая часть - в печени, после поступления через портальную систему [1, 48].

В результате этих механизмов формируются дополнительные каналы пептидергической регуляции пищеварительных желез.

Для нас представляло интерес изучить влияние трипсина на утилизацию печенью ХЦК-8, как модифицирующего фактора в механизмах регуляции пищеварительных желез.

Нами проведены исследования с целью, изучить у крыс влияние внутривенного введения трипсина на степень утилизации печенью короткоцепочного пептида холецистокинина (ХЦК-8) по степени влияния его на секреторную функцию поджелудочной железы [3].

Ранее нами было показано снижение утилизации печенью короткоцепочного пептида пентагастрина под влиянием трипсина. Представляло интерес также изучение влияния трипсина на утилизацию печенью короткоцепочного пептида ХЦК-8 по эффектам секреторной функции поджелудочной железы, результаты этих исследований представлены в данном разделе.

Модифицирующее влияние короткоцепочного пептида ХЦК-8 совместно с трипсином на секреторную функцию поджелудочной железы изучалось в острых экспериментах на крысах, путем сравнения эффектов при введении их в портальную и периферическую вены.

Установлено, что под влиянием трипсина, введенного как в периферическую вену, так и в портальную вену, объем выделяемого поджелудочного сока был несущественно выше, чем после введения физиологического раствора. При введении ХЦК-8, как в периферическую вену, так и портальную вену, отмечалось достоверное увеличение объема сока, по отношению к таковым показателям с введением физиологического раствора. Тем не менее, эти показатели под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были недостоверно ниже таковых данных при введении в периферическую вену. Совместное же применение трипсина и ХЦК-8 вызывало недостоверное увеличение объема сока относительно ХЦК-8 при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 17 А).



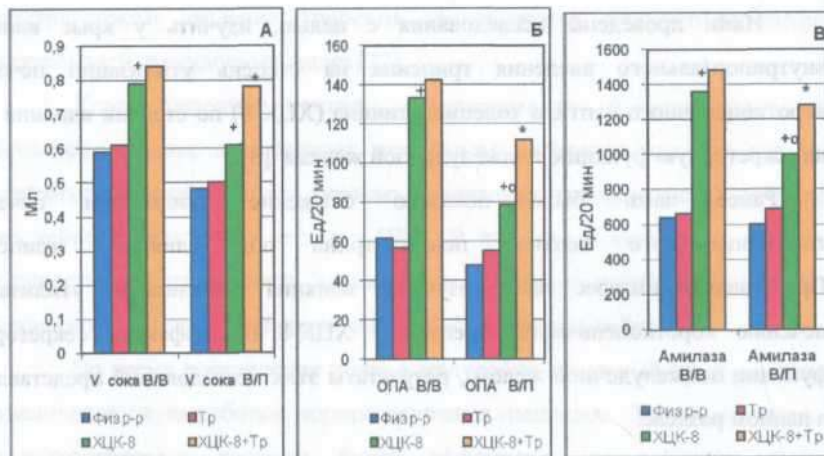


Рис. 17. Изменение показателей поджелудочной секреции у крыс, при введении в периферическую вену (В/В) и в портальную вену (В/П) физиологического раствора, ХЦК-8 – холецистокинина (0,15 мкг/кг) и секретина (0,15 мкг/кг), трипсина в дозе (300 мкг/кг), трипсина (300 мкг/кг) совместно с ХЦК-8 – холецистокинина (0,15 мкг/кг) и секретина (0,15 мкг/кг).

\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением ХЦК-8.

+ - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением физиологического раствора.

o - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением ХЦК-8 в периферическую вену.

Отмечалось несущественное понижение ОПА под действием трипсина, введенного в периферическую вену в сравнении с показателями после введения физраствора и повышение при введении в портальную вену, также относительно эффектов физраствора. Введение ХЦК-8, как в периферическую вену, так и портальную вену, вызывало достоверное увеличение показателей ОПА по сравнению с таковыми данными после введения физиологического раствора. В тоже время под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, выделение ОПА было достоверно ниже таковых показателей при введении в периферическую вену. При совместном применении трипсина и ХЦК-8, по отношению к показателям с применением только ХЦК-8, отмечалось

недостоверное увеличение ОПА при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 17 Б).

Выделение амилазы поджелудочного сока под влиянием трипсина было несущественно выше, чем её выделение после введения физиологического раствора, введенных, как в периферическую вену, так и портальную вену.

Под влиянием ХЦК-8, введенного как в периферическую вену, так и портальную вену, выделение амилазы поджелудочного сока было достоверно выше, чем таковые показатели после введения физиологического раствора. В тоже время показатели амилазы под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были достоверно ниже её показателей при введении ХЦК-8 в периферическую вену. Совместное использование трипсина и ХЦК-8 вызывало по отношению только ХЦК-8 недостоверное увеличение амилазы в составе поджелудочного сока при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 17 В).

Установлено, что при прохождении через печень короткоцепочного ХЦК-8 происходит значительное снижение секреторных эффектов, что выражается в достоверном понижении общей протеолитической активности и показателей амилазы. При этом введение трипсина в периферическую вену совместно с ХЦК-8 вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением только ХЦК-8. В тоже время введение трипсина в портальную вену совместно с ХЦК-8 вызывало достоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением только ХЦК-8.

По результатам проведенных исследований можно заключить, что у крыс печень утилизирует короткоцепочный пептид ХЦК-8. Трипсин при совместном введении с ХЦК-8 в периферическую вену незначительно увеличивает секреторную активность поджелудочной железы и существенно при введении в портальную вену, что указывает на возможность трипсина снижать способность печени утилизировать короткоцепочный пептид ХЦК-8.



Полученные результаты, являются подтверждением участия трипсина в изменении утилизации печенью короткоцепочных пептидов, что является одним из механизмов регуляции секреторной деятельности поджелудочной железы. Трипсин предположительно через PAR-2 печени принимает участие в этих механизмах регуляции деятельности пищеварительных желез, так как PAR-2 расположены во всех отделах желудочно-кишечного тракта и под воздействием активаторов, в том числе трипсина, участвуют в регуляции функциональной активности слюнных желез, желудка, поджелудочной железы, кишечника и печени [45, 134].

Эти результаты исследований являются новым доказательством существования физиологического механизма взаимосвязи желудочно-кишечного тракта и печени, а трипсин может являться фактором, участвующим в модификации этих механизмов.

### **6.3. Роль печени в модификации пептидергических механизмов регуляции пищеварительных желез**

Рядом исследований было показано физиологическое участие печени в повышенной утилизации короткоцепочных пептидов, содержащих до 10 аминокислот и низкой утилизации длинноцепочных пептидов, содержащих более 10 аминокислот. Данная функция печени оказывала влияние на регуляцию секреторной, моторной и нейромодулирующей функции пищеварительных желез [6, 158, 225]. Эти данные согласуются с результатами клинических исследований, где демонстрируется присутствие чрезмерного количества циркулирующих в крови кишечных пептидов, которые больная печень не может утилизировать [136, 273, 318].

Короткоцепочные пептиды, имеют рецепторы на афферентных нервных окончаниях периферических нейронов и на нейронах различных отделов ЦНС. В желудке и кишечнике паракринно они осуществляют взаимосвязь эндокринных клеток и нейронов подслизистого нервного сплетения, мезентериальных и афферентных нейронов. Тем самым короткоцепочные

пептиды имеют большое значение в интеграции различных механизмов регуляции.

Увеличение выработки короткоцепочных пептидов отмечается после поступления пищи в желудочно-кишечный тракт. Кроме того короткоцепочные пептиды более эффективно стимулируют секрецию пищеварительных желез и проникают через гематоэнцефалический барьер. Например, за счет ХЦК-8, вызывается чувство насыщения, то есть обеспечивается дистантно взаимосвязь клеток пищеварительных желез с различными отделами ЦНС. Это является подтверждением участия короткоцепочных пептидов в интеграции периферических и центральных механизмов регуляции пищеварительных желез.

Утилизационная способность печени снижается при хронических заболеваниях печени, за счет чего ХЦК-8 увеличивается в периферической крови, в результате могут развиваться энцефалопатии [225], а также гиперсекреторный синдром поджелудочной железы [157, 269] и гипосекреторный синдром желудка [273].

В поступлении короткоцепочных пептидов в периферическую кровь при отсутствии физиологической надобности существуют ограничивающие механизмы. Так часть короткоцепочных пептидов может утилизироваться в кишечнике внутриорганно тканевыми и мембранными протеазами, другая часть - в печени, после поступления через портальную систему [2, 157].

Описанные механизмы формируют дополнительные каналы пептидергической регуляции пищеварительных желез.

Участие печени в утилизации короткоцепочных пептидов, в частности, ХЦК-8 [2], было показано ранее в работах нашей лаборатории, что также установлено рядом других исследователей [157]. Было обнаружено, что ХЦК-8 утилизируется в значительной степени у здоровых лиц и в меньшей степени у больных циррозом печени [225].

Нами была поставлена цель, изучить роль печени в модификации пептидергических механизмов регуляции пищеварительных желез желудка и поджелудочной железы. С этой целью совместно с Журавой М. А. проведены острые эксперименты на крысах, где изучалось влияние трипсина и ингибитора протеаз контрикала на утилизацию печенью ХЦК-8 [3]. Также острые эксперименты на крысах, где изучалось влияние трипсина и ингибитора протеаз контрикала на утилизацию печенью пентагастрина [12].

Проведенные результаты экспериментов на крысах показали, что объем выделяемого поджелудочного сока под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, был достоверно ниже таковых показателей при введении ХЦК-8 в периферическую вену.

При совместном введении трипсина и ХЦК-8, по отношению к результатам введения только ХЦК-8, отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение в портальную вену по отношению к введению только ХЦК-8 (рис. 18А).

При совместном введении контрикала и ХЦК-8, по отношению к результатам введения только ХЦК-8, отмечалось недостоверное снижение показателей при введении в периферическую вену и достоверное снижение при введении в портальную вену (рис. 18А).

Под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, показатели ОПА были менее выраженные и достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. При совместном введении трипсина и ХЦК-8, по отношению к результатам введения только ХЦК-8, отмечалось недостоверное увеличение показателей ОПА при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную

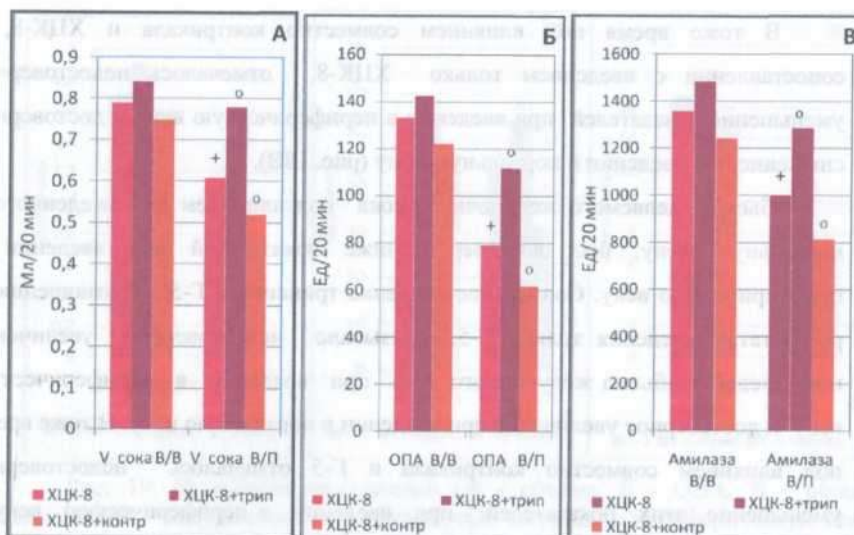


Рис. 18. Изменение показателей (А - объема, Б - ОПА, В - амилазы) поджелудочного сока у крыс, при введении в периферическую вену (В/В) и в портальную вену (В/П), ХЦК-8, трипсина совместно с ХЦК-8, контрикала совместно с ХЦК-8.

+ - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением ХЦК-8 в периферическую вену.

О - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением ХЦК-8 в портальную вену.

вену. В тоже время под влиянием совместно контрикала и ХЦК-8 отмечалось недостоверное снижение показателей ОПА при введении в периферическую вену и достоверное уменьшение при введении в портальную вену (рис. 18Б).

При этом показатели амилазы под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. Под влиянием совместно трипсина и ХЦК-8, в сравнении с введением только ХЦК-8, отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 18В).



В тоже время под влиянием совместно контрикала и ХЦК-8, в сопоставлении с введением только ХЦК-8, отмечалось недостоверное уменьшение показателей при введении в периферическую вену и достоверное снижение при введении в портальную вену (рис. 18В).

Объем выделяемого желудочного сока под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, был достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. Совместное введение трипсина и Г-5, по отношению к результатам введения только Г-5, вызывало недостоверное увеличение показателей объема желудочного сока при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену. В тоже время под влиянием совместно контрикала и Г-5 отмечалось недостоверное уменьшение этих показателей при введении в периферическую вену и достоверное снижение при введении в портальную вену (рис. 19А).

Под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, показатели ОПА были недостоверно ниже таковых показателей при введении в периферическую вену. При этом под влиянием совместного введения трипсина и Г-5, по отношению к результатам введения только Г-5, отмечалось недостоверное увеличение показателей ОПА при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену. В тоже время под влиянием совместно контрикала и Г-5 отмечалось недостоверное снижение показателей ОПА при введении в периферическую вену и достоверное уменьшение при введении в портальную вену (рис. 19Б).

При этом показатели общей кислотности желудочного сока под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. При совместном введении трипсина и Г-5, в сравнении с введением только Г-5, отмечалось недостоверное увеличение показателей общей кислотности желудочного сока при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену (рис. 19В).

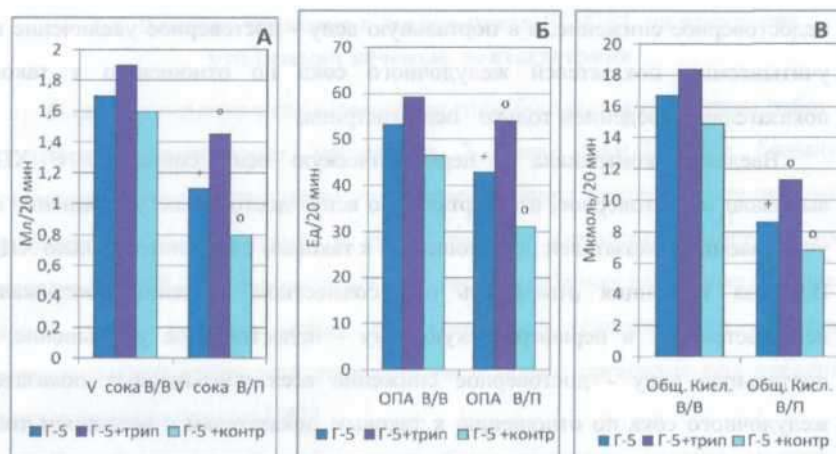


Рис. 19. Изменение показателей (А - объема, Б - ОПА, В - общей кислотности) желудочного сока у крыс, при введении в периферическую вену (В/В) и в портальную вену (В/П), пентагастрина-Г-5, совместно трипсина и пентагастрина-Г-5, совместно контрикала и пентагастрина-Г-5.

+ - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в периферическую вену.

o - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрина в портальную вену.

В тоже время под влиянием совместно контрикала и Г-5 отмечалось недостоверное уменьшение показателей общей кислотности желудочного сока при введении в периферическую вену и достоверное снижение при введении в портальную вену (рис. 19В).

Установлено, что при прохождении через печень короткоцепочных пептидов происходит достоверное снижение показателей поджелудочного сока под влиянием ХЦК-8 и желудочного сока под влиянием пентагастрина. При этом совместное введение трипсина с ХЦК-8 в периферическую вену вызывало недостоверное снижение, а в портальную вену достоверное увеличение всех учитываемых показателей поджелудочного сока по отношению к таковым показателям с введением только ХЦК-8. Подобная закономерность отмечалась при совместном введении трипсина с пентагастрином: в периферическую вену -



недостовверное снижение, а в портальную вену - достовверное увеличение всех учитываемых показателей желудочного сока по отношению к таким показателям с введением только пентагастрина.

Введение контрикала в периферическую вену совместно с ХЦК-8 вызывало достовверное, а в портальную вену достовверное уменьшение всех учитываемых показателей по отношению к таким с введением только ХЦК-8. Похожая тенденция отмечалась при совместном введении контрикала с пентагастрином: в периферическую вену - достовверное уменьшение, а в портальную вену - достовверное снижение всех учитываемых показателей желудочного сока по отношению к таким показателям с введением только пентагастрина.

Таким образом, трипсин, инкретируемый поджелудочной железой, и его ингибиторы являются факторами, влияющими на утилизацию печени короткоцепочных пептидов, которые могут участвовать в модификации пептидергических механизмов регуляции пищеварительных желез желудка и поджелудочной железы.

Полученные результаты показывают, что короткоцепочные пептиды ХЦК-8 и Г-5 в значительной степени утилизируются печенью. Трипсин, при прохождении через печень, снижает способность печени утилизировать эти пептиды, за счет чего стимулирует секреторную функцию желудка и поджелудочной железы. Ингибитор протеаз контрикал, при прохождении через печень, повышает способность печени утилизировать ХЦК-8 и Г-5, за счет чего снижает секреторную функцию желудка и поджелудочной железы. Трипсин, инкретируемый поджелудочной железой, и его ингибиторы могут участвовать в модификации механизмов регуляции функции желудка и поджелудочной железы.

#### 6.4. Влияние трипсина и гексапептида-SLIGRL на изменение утилизации печенью пентагастрина

В связи с появившимся в последние годы большим количеством работ о рецепторах активируемых протеазами 2 типа (PAR-2). Все большую актуальность приобретает изучение панкреатических протеаз, инкретируемых пищеварительными железами в кровь, так как являются агонистами этих рецепторов. PAR-2 расположены на клеточных мембранах различных органов и тканей, через которые может осуществляться усиление или снижение функциональной активности этих органов и тканей организма под влиянием панкреатических протеаз [161].

В работах нашей лаборатории было показано участие печени в утилизации короткоцепочных пептидных регуляторов (пентагастрина, и ХЦК-8), что может рассматриваться как дополнительный модифицирующий фактор в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез [10]. Так же нами было установлено, что под влиянием внутривенного введения трипсина увеличивается ферментовыделительная деятельность желудочных желез, за счет уменьшения утилизации печенью пентагастрина, вводимого внутри портально. Нами сделано предположение, что эти эффекты реализуются через PAR-2 [11].

Показано, что у человека PAR-2 представляет собой рецептор, связанный с G-белком, активируемый сериновыми протеазами, которые расщепляют его N-конец, и синтетическими пептидами, соответствующими новому N-концу. Пептидные агонисты широко используются для характеристики физиологической роли для PAR-2 [299].

Синтетические агонисты и антагонисты являются ценным инструментом для исследования функций PAR2 *in vivo*. Большинство лигандов к настоящему времени используемых для оценки биологии PAR-2 были пептиды. Синтетический гексапептид - SLIGRL (последовательность серина, лейцина, изолейцина, глицина, аргинина, лейцина), является более сильным, чем другие

аминокислотные последовательности, и был наиболее широко используемым пептидным агонистом [220].

Предполагается, что активация эндотелиального PAR-2 триптазой тучных клеток или другими протеазами способствует воспалительным реакциям. Многие исследования связывают PAR-2 с воспалительными состояниями (артрит, воспаление дыхательных путей, IBD) и ключевыми событиями в развитии опухоли (ангиогенез, метастазирование), они в значительной степени полагаются на использование отдельных агонистов для определения физиологических ролей для PAR-2 [308].

Для нас представляло интерес изучить в сравнительном плане, изменение утилизации печенью пентагастрина под влиянием трипсина и отдельно гексапептида – SLIGRL (гексапептид), как агонистов PAR-2 по изменению желудочной секреции. При введении их в портальную и периферическую вены. С целью подтверждения эффектов трипсина реализуемых через PAR-2 печени на уменьшение утилизации печенью пентагастрина.

Нами проведены исследования для изучения влияния трипсина и гексапептида- SLIGRL, на утилизацию печенью пентагастрина по изменению желудочной секреции.

В предыдущих разделах нами было показано участие протеаз и их ингибиторов в модификации утилизации печенью короткоцепочных пептидов. Известно, что основной механизм действия протеаз на различные клетки осуществляется через PAR-2. Нами сделано предположение, что механизм действия трипсина на снижение утилизации печенью пентагастрина и ХЦК-8 осуществляется через PAR-2 печени. Поэтому представляло интерес изучить влияние трипсина и специфического активатора PAR-2 рецепторов - гексапептида (SLIGRL). Чтобы по аналогии эффектов косвенно подтвердить, что трипсин вызывает снижение утилизации печенью короткоцепочных пептидов через PAR-2 рецепторы печени. Синтетические агонисты и антагонисты являются ценным инструментом для исследования функций PAR-



2 *in vivo*. Большинство лигандов, к настоящему времени используемых для оценки биологии PAR-2, были пептиды. Синтетический гексапептид - SLIGRL (последовательность серина, лейцина, изолейцина, глицина, аргинина, лейцина), является более сильным, чем другие аминокислотные последовательности, и был наиболее широко используемым пептидным агонистом [220].

Исходя из представленных данных нами совместно с Журавевой М. А. проведены острые эксперименты на крысах, в которых изучалось сравнительное влияние введения в портальную и периферическую вену короткоцепочного пептида пентагастрина совместно с трипсином и отдельно пентагастрина совместно с гексапептидом (SLIGRL) на секреторную функцию желудочных желез [20].

Результаты экспериментов на крысах показали, что объем выделяемого желудочного сока под влиянием Г-5, введенного как в периферическую вену, так и портальную вену, был достоверно выше, таковых показателей после введения физиологического раствора. При этом показатели объема под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. Подобная направленность наблюдалась и под влиянием совместно трипсина и Г-5. Отмечалось достоверное увеличение показателей объема при введении, как в периферическую, так и в портальную вену, по отношению к показателям с введением физиологического раствора, и не достоверное увеличение показателей объема при введении в периферическую вену и достоверное в портальную вену по отношению к показателям с введением только пентагастрина. Похожая направленность эффектов наблюдалась, под влиянием совместно гексапептида и Г-5, по отношению к показателям с введением как физиологического раствора, в периферическую вену и в портальную вену, так и пентагастрина в периферическую вену и в портальную вену (рис. 20 А).

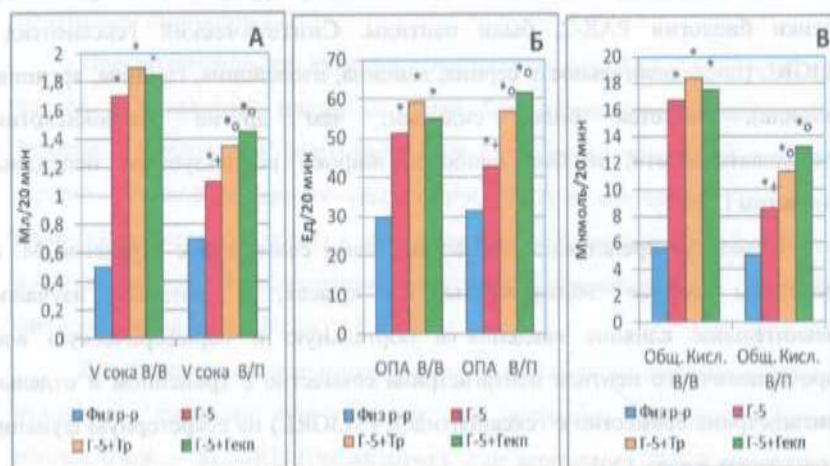


Рис. 20. Изменение показателей желудочной секреции у крыс, при введении в периферическую вену (В/В) и в портальную вену (В/П) физиологического раствора (физ р-р), пентагастрин (Г-5), совместно трипсина (Тр) и Г-5, а также совместно гексапептида (Гекп) и Г-5.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением физиологического раствора.

o - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрин.

+ - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением пентагастрин в периферическую вену.

Под влиянием Г-5, введенного как в периферическую вену, так и в портальную вену, показатели ОПА были достоверно выше, чем таковые показатели после введения физиологического раствора соответственно. При этом показатели ОПА под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были недостоверно ниже показателей при введении в периферическую вену.

В тоже время под влиянием совместно трипсина и Г-5 отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену, по отношению к показателям с введением только пентагастрин. Под влиянием

совместно гексапептида и Г-5 также отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену, по отношению к показателям с введением только пентагастрина. (рис. 20 Б).

Изменение общей кислотности желудочного сока были аналогичны выделению объема желудочного сока и ОПА. Показатели общей кислотности желудочного сока под влиянием Г-5, введенного как в периферическую вену, так и портальную вену, были достоверно выше, показателей после введения физиологического раствора. При этом показатели под влиянием Г-5, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. В тоже время под влиянием совместно трипсина и Г-5 отмечалось недостоверное увеличение относительно Г-5 показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену. Подобная направленность наблюдалась и под влиянием совместно гексапептида и Г-5, отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену, по отношению к показателям с введением только пентагастрина. (рис. 20 В).

Представленные данные показывают, что введение пентагастрина, как в периферическую, так и портальную вену вызывало достоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением физиологического раствора. При этом все показатели под влиянием пентагастрина, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. Эти результаты указывают на значительную утилизацию печенью пентагастрина.

Введение трипсина в периферическую вену совместно с пентагастрином вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей и достоверное увеличение этих показателей при введении в портальную вену, по отношению к таковым показателям с введением только пентагастрина. Эти



результаты демонстрируют, что трипсин способствует снижению утилизации печени пентагастрина и увеличению влияния его на пищеварительные железы желудка.

Аналогичные эффекты, как у трипсина, отмечались при использовании гексапептида совместно с пентагастрином. Так введение гексапептида в периферическую вену совместно с пентагастрином также вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей и достоверное увеличение этих показателей при введении в портальную вену, по отношению к таковым показателям с введением только пентагастрина. При этом показатели совместного введения гексапептида с пентагастрином были незначительно ниже, чем при введении в периферическую вену и несущественно выше, чем при введении в портальную вену. Эти результаты демонстрируют следующее: так как гексапептид является селективным агонистом PAR-2, то аналогичные эффекты с трипсином на усиление утилизации печени пентагастрина и увеличение функциональной активности желудочных желез, могут указывать на одинаковые механизмы с участием PAR-2. Это может подтверждать наше предположение, что трипсин через PAR-2 печени способствует снижению утилизации печени пентагастрина и увеличению влияния его на пищеварительные железы желудка.

Полученные данные показывают, что у крыс печень утилизирует короткоцепочный пептид пентагастрин. Трипсин, также как агонист PAR-2 гексапептид-SLIGRL, незначительно увеличивает секреторную активность желудка при введении в периферическую вену и существенно при введении в портальную вену, что указывает на возможность трипсина за счет PAR-2 печени снижать способность печени утилизировать короткоцепочный пептид пентагастрин,

### 6.5. Влияние трипсиона и гексапептида-sigr1 на утилизацию печени ХЦК-8.

В последние годы накоплено большое количество данных показывающих, что на поверхности клеток протеиназы, способны формировать или разрушать агонисты рецепторов, а также активировать и инактивировать рецепторы, тем самым обеспечивать жизненно важный вклад в передаче сигнала. Протеиназы реализуют свои свойства через расщепление ряда различных мишеней. Эти мишени могут включать в себя предшественники, которые образуют пептиды, рецепторы клеточной мембраны, в том числе рецепторы для инсулина и других факторов роста, активируемые протеиназой G-белковые рецепторы, интегрин и рецепторы адгезии (ADGRs), а также ионные каналы. Передача сигналов протеазами, вызванная расщеплением ряда различных мишеней, играет основную роль в широком спектре воспалительных заболеваний, начиная от артрита до колита и рака [270, 269].

Протеазы в последние годы рассматриваются как «гормоноподобные» посредники, осуществляющие сигнализацию, как через протеазо-активированные рецепторы, так и другие механизмы [270].

Центральную роль в стимулируемой протеазной передаче сигналов играют протеазо-активируемые рецепторы (PARs). Особенностью данной группы рецепторов является уникальный механизм активации, при котором происходит ограниченный протеолиз внеклеточного конца рецептора с образованием привязанного лиганда [45, 269].

Установлено, что соответствующие гексапептиды, образованные вследствие протеолитической активации N-концевых последовательностей PAR1, PAR2 и PAR4 рецепторов обладают свойствами лигандов и способны активировать соответствующие рецепторы без участия протеаз. Более того, гексапептиды обладают способностью активировать рецептор даже после протеолитической инактивации последнего, если она не затрагивает связывающий домен рецептора. Таким образом, использование активирующих

пептидов служит мощным инструментом в функциональных исследованиях протеазных рецепторов [332, 97, 70].

Ранее в работах нашей лаборатории было показано участие печени в утилизации короткоцепочных пептидных регуляторов (пентагастрина, лейэнкефалина и ХЦК-8), что может рассматриваться как дополнительный модифицирующий фактор в пептидергических механизмах регуляции пищеварительных желез [10]. Так же в нашей лаборатории было установлено, что под влиянием внутривенного введения трипсина увеличивается ферментовыделительная деятельность желудочных желез, за счет уменьшения утилизации печени пентагастрина, вводимого внутривенно. Нами сделано предположение, что эти эффекты реализуются через PAR-2, так как они активируются трипсином [11].

Для нас представляло интерес изучить в сравнительном плане, изменение утилизации печени ХЦК-8 под влиянием трипсина и отдельно гексапептида – SLIGRL (гексапептид), как агонистов PAR-2 по изменению желудочной секреции. При введении их в портальную и периферическую вены. С целью подтверждения эффектов трипсина реализуемых через PAR-2 печени на уменьшение утилизации печени ХЦК-8.

Представляло также интерес изучить влияние трипсина и специфического активатора PAR-2 - гексапептида (SLIGRL) на утилизацию печени ХЦК-8 по изменению ферментовыделительной деятельности поджелудочной железы. Результаты этих исследований представлены в данном разделе главы.

Нами совместно с Журавевой М. А. проведены острые эксперименты на крысах, в которых изучалось сравнительное влияние введения в портальную и периферическую вену короткоцепочного пептида ХЦК-8 совместно с трипсином и отдельно ХЦК-8 совместно с гексапептидом (SLIGRL) на секреторную функцию поджелудочной железы.

Результаты этих экспериментов показали, что объем выделяемого поджелудочного сока под влиянием ХЦК-8, введенного как в периферическую



вену, так и портальную вену, был достоверно выше таковых показателей после введения физиологического раствора. При этом показатели объема сока под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. Подобная направленность наблюдалась и под влиянием совместно трипсина и ХЦК-8. Отмечалось достоверное увеличение показателей объема при введении, как в периферическую, так и в портальную вену, по отношению к показателям с введением физиологического раствора, и недостоверное увеличение показателей объема при введении в периферическую вену и достоверное в портальную вену по отношению к показателям с введением только ХЦК-8 (рис. 21 А). Похожая направленность эффектов наблюдалась, под влиянием совместно гексапептида и ХЦК-8, по отношению к показателям с введением как физиологического раствора в периферическую вену и в портальную вену, так и ХЦК-8 в периферическую вену и в портальную вену (рис. 21 А).

Под влиянием ХЦК-8, введенного как в периферическую вену, так и в портальную вену, показатели ОПА были достоверно выше, чем таковые показатели после введения физиологического раствора. При этом показатели ОПА под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были недостоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. В тоже время под влиянием совместно трипсина и ХЦК-8 отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену, по отношению к показателям с введением только ХЦК-8. Под влиянием совместно гексапептида и ХЦК-8 также отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и при введении в портальную вену, по отношению к показателям с введением только ХЦК-8 (рис. 21 Б).

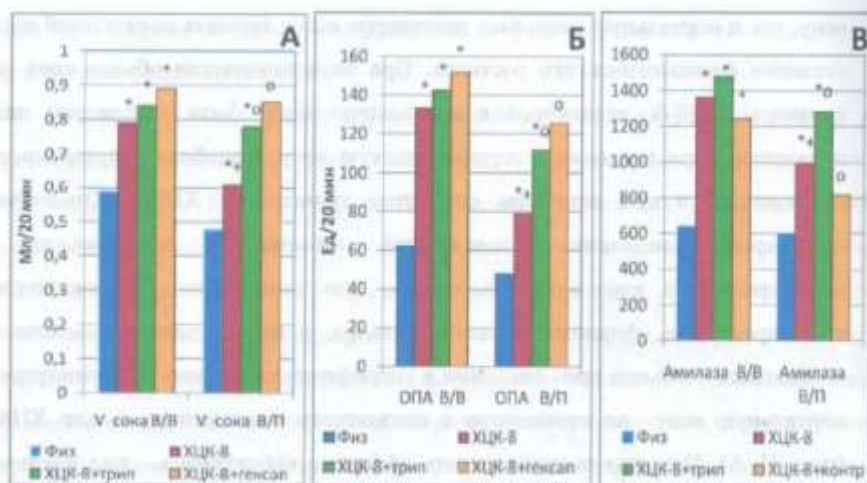


Рис. 21. Изменение показателей поджелудочной секреции у крыс, при введении в периферическую вену (В/В) и в портальную вену (В/П) физиологического раствора (физ р-р), ХЦК-8, совместно трипсина (Тр) и ХЦК-8, а также совместно гексапептида (Гекп) и ХЦК-8.

\* - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением физиологического раствора.

o - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением ХЦК-8 в портальную вену.

+ - достоверно отличающиеся величины относительно показателей с введением ХЦК-8 в периферическую вену.

Показатели амилазы поджелудочного сока имели закономерности, отмеченные по выделению объема поджелудочного сока и ОПА. Под влиянием ХЦК-8, введенного как в периферическую вену, так и портальную вену, показатели амилазы поджелудочного сока были достоверно выше, показателей после введения физиологического раствора. При этом показатели под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. В тоже время под влиянием совместно трипсина и ХЦК-8 по отношению только ХЦК-8 отмечалось недостоверное увеличение показателей, при введении в периферическую вену, и достоверное при введении в портальную вену. Подобная направленность наблюдалась и под



влиянием совместно гексапептида и ХЦК-8, отмечалось недостоверное увеличение показателей при введении в периферическую вену и достоверное увеличение при введении в портальную вену, по отношению к показателям с введением только ХЦК-8. (рис. 21 В).

Представленные данные показывают, что введение ХЦК-8, как в периферическую, так и портальную вену вызывало достоверное увеличение всех учитываемых показателей по отношению к таковым показателям с введением физиологического раствора. При этом все показатели под влиянием ХЦК-8, введенного в портальную вену, были достоверно ниже показателей при введении в периферическую вену. Эти результаты свидетельствуют, что при прохождении через печень короткоцепочного пептида ХЦК-8 происходит значительное снижение всех учитываемых показателей, что указывает на значительную утилизацию печенью ХЦК-8.

Введение трипсина в периферическую вену совместно с ХЦК-8 вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей и достоверное увеличение этих показателей при введении в портальную вену, в сравнении с показателями введения только ХЦК-8. Эти результаты демонстрируют, что трипсин способствует снижению утилизации печенью ХЦК-8 и увеличению влияния его на функцию поджелудочной железы.

Аналогичные эффекты, как у трипсина, отмечались при совместном использовании гексапептида совместно с ХЦК-8. Так введение гексапептида в периферическую вену совместно с ХЦК-8 также вызывало недостоверное увеличение всех учитываемых показателей и достоверное увеличение этих показателей при введении в портальную вену, по отношению к таковым показателям с введением только ХЦК-8. При этом показатели совместного введения гексапептида с ХЦК-8 были незначительно ниже, чем при введении в периферическую вену и несущественно выше, чем при введении в портальную вену. Эти результаты демонстрируют следующее: так как гексапептид является селективным агонистом PAR-2, то аналогичные эффекты с трипсином на

снижение утилизации печенью ХЦК-8 и увеличение функциональной активности поджелудочной железы, могут указывать на одинаковые механизмы с участием PAR-2. Это может подтверждать наше предположение, что трипсин через PAR-2 печени способствует снижению утилизации печенью ХЦК-8 и увеличению влияния его на функцию поджелудочной железы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хотя протеазы традиционно считаются ферментами, расщепляющими пищеварительный белок, в настоящее время протеазы получают признание как универсальные и многофункциональные гормоноподобные сигнальные молекулы, которые участвуют в ряде физиологических и патофизиологических механизмах. Протеазы могут регулировать клеточные сигнальные события посредством их взаимодействия с большим количеством мишеней, включая прогормоны, кининогены, предшественники хемокинов и зимогены протениаз, и это лишь некоторые из них. Кроме того, протениазы могут также потенциально регулировать передачу сигналов интегрина и внеклеточного матрикса и активировать рецепторы факторов роста, подобные рецепторам инсулина. Ключевой интерес с точки зрения передачи сигналов, опосредованной протениазой, представляет способность протеаз регулировать функцию клетки путем расщепления и активации семейства рецепторов, активируемых протеазой, рецепторов, связанных с G-белком.

Не смотря на то, что основное внимание в этой монографии уделяется PAR как мишени для передачи сигналов протеаз, важно признать, что целый ряд других механизмов может объяснять способность протеаз регулировать функцию клеток. Эти данные представляют интерес для более объективной интерпретации полученных нами экспериментальных данных о влиянии панкреатических протеаз на пищеварительные железы желудка и поджелудочной железы.

В этом плане одно из первых указаний на то, что протеазы могут активировать гормоноподобные клеточные сигналы, было получено из наблюдений в начале 1960-х годов, когда трипсин и пепсин могут проявлять инсулиноподобное действие в ткани диафрагмы крысы (275, 274). Это гормоноподобное действие трипсина на поперечно-полосатую мышцу и адипоциты (98, 196), нельзя отнести к активации PAR, а скорее связано с действием трипсина на рецептор инсулина. Расщепляя двухосновный остаток альфа-субъединицы рецептора инсулина, трипсин генерирует усеченный рецептор, который обладает внутренней сигнальной активностью [295]. В принципе, такое действие протеаз, активирующих или инактивирующих рецепторы факторов роста (например, при более высоких концентрациях трипсина может отменять способность рецептора инсулина связываться с инсулином) [98], может в принципе модулировать функцию клеток в различные настройки, например, через рецептор инсулиноподобного фактора роста-1. Другой протеолитический механизм, который может привести к активации рецептора фактора роста, включает протеолитическое образование агониста фактора роста в клеточной среде. Например, трансактивация рецептора эпидермального фактора роста может быть результатом опосредованного металлопротеиназой высвобождения с поверхности клетки агониста рецептора (гепарин-связывающего эпидермального фактора роста) [267]. Таким образом, в принципе, любой из рецепторов факторов роста или других сопоставимых агонистов, таких как цитокины или интерлейкины (ИЛ), можно регулировать либо активацией, либо инактивацией действием протеазы.

Помимо классических фармакологических рецепторов, которые проявляют двойное свойство селективного распознавания агонистов и передачи сигналов, другие «нерецепторные» мишени также могут вызывать передачу сигналов с помощью протеаз. Например нарушение передачи сигналов внеклеточного матрикса-интегрин за счет протеолиза либо молекул матрикса, либо интегрин [205]. Другой новый механизм передачи сигналов,



запускаемых протеазой, можно увидеть в действии плазмина, который, помимо регуляции активности PAR, может передавать сигналы через целевой механизм аннексина A2, в котором плазмин-опосредованный протеолиз аннексина A2 запускает хемотаксис в моноцитах человека. [208]. Можно предположить, что сериновые протеазы, отличные от плазмина, также могут регулировать поведение клеток посредством этого нового протеолитического процесса аннексина A2. Механизм передачи сигналов, посредством которого расщепление аннексина регулирует хемотаксис или другие клеточные ответы, еще предстоит определить. Может ли тромбин в высоких концентрациях имитировать расщепление аннексина A2, вызванное плазмином, так же, как плазмин имитирует действие тромбина на PAR, также является вопросом, требующим изучения.

Белковые взаимодействия в дополнение к их каталитической функции также должны рассматриваться при оценке передачи сигналов, опосредованной протеазой. Например, помимо своей способности передавать каталитические сигналы через PAR, тромбин может также давать изнутри своей структуры хемотаксико-митогенные пептиды, высвобождаемые протеолитическим процессингом его некаталитического домена [63, 62]. Эти производные тромбина пептиды вызывают свое действие через рецепторы, не являющиеся PAR [116]. Способность протеаз влиять на передачу сигналов через их некаталитические домены - проблема, на которую часто не обращают внимания. Таким образом, протеазы, помимо нацеливания на PAR, могут влиять на передачу сигналов с помощью разнообразного набора механизмов. Это разнообразие гормоноподобных сигнальных ролей, выполняемых протеазами, превосходит разнообразие самих семейств протеаз.

Протеазы теперь следует рассматривать как важные гормоноподобные медиаторы, которые могут передавать сигналы клеткам и тканям с помощью ряда механизмов, включая но, не ограничиваясь, регуляцией PAR. Протеазы опосредуют ряд физиологических и патофизиологических параметров, и теперь

признаны во многих патофизиологических механизмах, в которых они могут играть существенную роль. Сложность этой системы, включающей в себя так много агонистов протеаз и их PAR и не-PAR механизмы передачи сигналов, затрудняет изучение из-за большого количества переменных, которые необходимо учитывать. Экспрессия протеаз и их ингибиторов, экспрессия PAR и регуляция их экспрессии такими факторами, как медиаторы воспаления, а также специфическая комбинация протеаза-PAR, присутствующая в локальной среде, что приводит либо к активации рецептора, либо к молчанию, все могут способствовать защитным или вредным реакциям *in vivo*. Кроме того, в то время как в настоящее время растет признание сигнальной роли протеаз, следующей границей является развитие понимания биологии и физиологии ингибиторов протеаз (например, SERPIN или тканевых ингибиторов металлопротеиназ). Очевидно, что комбинация протеиназа-PAR, которая играет ряд ролей в различных болезненных состояниях, от воспалительных до нейродегенеративных расстройств, представляет собой привлекательную мишень для разработки новых терапевтических методов.

Желудочно-кишечный тракт подвергается воздействию очень высоких уровней протеиназ, в том числе протеаз пищеварительных желез, участвующих в переваривании пищи, а также экзогенных протеаз, продуцируемых комменсальной микрофлорой кишечника или вторжением патогенных микроорганизмов [53]. Считается, что в желудочно-кишечном тракте члены семейства трипсинов представляют собой основные физиологические регуляторы PAR [195]. В модели инфекционного колита на мышах были идентифицированы члены семейства трипсинов толстого кишечника, запускаемые инфекционным процессом, и было показано, что они способны активировать PAR<sub>2</sub> [130]. В исследовании ткани толстой кишки людей с воспалительным синдромом кишечника было дополнительно показано, что уровни трипсина, триптазы и других не идентифицированных сериновых протеаз, которые способствуют расщеплению на участке аргинина, значительно



повышены [80]. Было показано, что эти протеазы нацелены на PAR<sub>2</sub>. Высокие концентрации трипсиноподобных протеаз также потенциально являются активаторами PAR<sub>1</sub> [190] и PAR<sub>4</sub> [330], а повышенные уровни трипсина наблюдаются у пациентов с такими состояниями, как воспалительное заболевание кишечника [263].

Известно, что протеазы, производные от патогенов, такие как гингипаины, аргинин-специфические протеазы, продуцируемые оральным патогеном *Poryphyromonas gingivalis*, активируют PAR 1, 2 и 4 [212, 213, 138].

Воспаление является ключевым явлением при ряде заболеваний кишечника, включая такие состояния, как воспалительное заболевание кишечника. Результирующая инфильтрация тучных клеток и иммунных клеток позволит присутствию протеаз, секретируемых этими клетками, регулировать PAR в желудочно-кишечном тракте. Точная взаимосвязь между PAR, их регулируемыми протеазами, присутствующими в кишечном тракте, и патофизиологией желудочно-кишечного тракта в настоящее время является предметом интенсивных исследований.

На основании выше изложенного и результатов полученных в нашей лаборатории, в настоящее время имеется достаточно данных доказывающих возможность влияния инкретированных пищеварительными железами протеолитических гидролаз крови на секреторные показатели желудка и поджелудочной железы. В тоже время являются не достаточно изученными механизмы влияния панкреатических протеаз на пептидергическую регуляцию пищеварительных желез. Накопленные в нашей лаборатории результаты исследований дают представление об отдельных сторонах механизмов влияния панкреатических протеаз.

Как известно венозная кровь от желудка и поджелудочной железы поступает в портальную систему и через печень проходит в периферическое кровообращение. При этом пептидные регуляторы, вырабатываемые тонким кишечником, также как и протеазы инкретированные поджелудочной железой

и желудком проходят через печень в периферическую венозную систему. В то же время при совместном движении в составе крови пептидных регуляторов и протеаз через портальную систему и печень, а также периферическую венозную систему пептидные регуляторы могут подвергаться воздействию протеолитических гидролаз, вызывая отщепление от исходной молекулы пептида, как отдельных аминокислот, так и фрагментов различной длины. Такое отщепление может значительно менять свойства пептидной молекулы. Помимо этого важно отметить, печень может утилизировать короткоцепочные пептиды состоящие из 10 аминокислотных остатков, что может влиять на пептидергические механизмы регуляции пищеварительных желез в условиях физиологии и патологии печени. Поэтому возможно различие влияния пептидных регуляторов со стороны портальной и периферической крови.

В связи с чем возникает необходимость изучения влияния панкреатических протеаз на пептидергические механизмы регуляции пищеварительных желез желудка и поджелудочной железы, как со стороны периферической, так и со стороны портальной венозной системы. Кроме того в кровь из ацинарных клеток поджелудочной железы инкретируется не одна протеаза, а комплекс протеолитических ферментов входящих в состав панкреатического сока (химотрипсин, карбоксипептидаза и др.). Это вызывает необходимость использовать протеазы для изучения их влияния на пищеварительные железы, как с применением только одной протеазы входящей в состав поджелудочного сока (моноферментное влияние), так и всего комплекса протеолитических ферментов (полиферментное влияние). Также представляет интерес влияние экзогенной протеолитической гиперферментемии (внутривенное введение протеаз) и эндогенной протеолитической гиперферментемии (перевязка панкреатического протока и прием пищи), так как могут проявляться различные механизмы влияния протеаз. Это связано с тем, что при эндогенной протеолитической гиперферментемии, протеазы проявляют влияние во взаимодействии с

ингибиторами протеаз и другими факторами. При этом при применении экзогенного протеолитического влияния механизм взаимодействия с ингибиторами протеаз и другими факторами другой, что может проявляться различием эффектов влияния протеаз на клетки мишени.

С учетом всего этого, полученные нами данные влияния панкреатических протеаз со стороны периферической венозной системы показали, что при экзогенном моноферментном влиянии трипсина совместно с пентагастрином отмечалось увеличение ферментовыделительной деятельности желудка. В тоже время результаты при экзогенном полиферментном влиянии с внутривенным введением вытяжки ткани поджелудочной железы совместно с пентагастрином показали более выраженное увеличение ферментовыделительной деятельности желудка по сравнению с результатами экзогенного моноферментного влияния трипсина совместно с пентагастрином. Можно предположить, что это связано с присутствием в гомогенате других стимулирующих секрецию протеаз.

Помимо этого, данные полученные по результатам влияния эндогенного протеолитического полиферментного воздействия, вызванного перевязкой главного панкреатического протока, совместно с пентагастрином также показатели увеличение секреции желудочных желез, по сравнению с результатами только пентагастринового влияния.

Все эти эффекты связаны с потенцирующим возбуждающим влиянием гастринна как стимулятора секреторной деятельности желудочных желез. Предположительно за счет суммирования возбуждающих регуляторных влияний пентагастринна и других биологически активных соединений крови в их воздействиях на железы и продуценты стимуляторов секреции. Также возможно за счет ослабления тормозных влияний других пептидов или иных соединений крови, в результате чего увеличивался эффект возбуждающего влияния пентагастринна.



Кроме того по результатам полученным со стороны периферической венозной системы воздействия панкреатических протеаз и лей-энкефалина обладающего тормозным влиянием на желудочную секрецию. Нами было выявлено, что протеолитическое моноферментное воздействие трипсина и стимуляция желудочной секреции пентагастрином вызывала уменьшение тормозного влияния лей-энкефалина на ферментовыделительную деятельность желудочных желез. В тоже время панкреатическое протеолитическое полиферментное воздействие, вызывало более выраженное уменьшение тормозного влияния лей-энкефалина, в сравнении с протеолитическим моноферментным воздействием трипсина. Очевидно, это связано также с влиянием и других протеаз (химотрипсина, карбоксипептидаз, пептидаз), которые, вероятно, могут увеличивать деградацию лей-энкефалина за счет ограниченного протеолиза, в том случае если признать этот механизм снижения лей-энкефалиновых эффектов под влиянием панкреатических протеаз. Также было установлено, что при эндогенном протеолитическом полиферментного воздействии вызванном перевязкой панкреатического протока уменьшение тормозного влияния лей-энкефалина менее выражено, чем при экзогенном протеолитическом полиферментном воздействии.

На основании этих результатов влияния на желудочную секрецию протеаз, нами сделано предположение, что со стороны периферической венозной системы регуляторные пептиды могут проявлять свое действие многосторонне, так как через периферическую и далее через артериальную систему имеется возможность доступности протеаз к множеству клеток мишеней. Поэтому возможно как прямое действие на пептидергические механизмы, так и опосредованное влияние, при участии ЦНС. Также протеазы могут выступать в роли гастрин-релизинг фактора. Вероятно, что эндогенные и экзогенные протеазы гидролизуют лей-энкефалин, тем самым снимая его эффекты. Кроме того, возможным механизм действия протеолитических гидролаз на различные рецепторные структуры клеток-мишеней и в первую

очередь на протеазо-активированные рецепторы, тем самым изменяя их восприимчивость к пептидным регуляторам.

Скорей всего описанные механизмы, алгебраически суммируются, интегрируются, комбинируются на разных уровнях и реализуются в сложных каскадах регуляторных воздействий на секрецию желудочных желез. Конечно, все предполагаемые механизмы требуют дополнительных исследований с целью доказательства степени участия их в интегративном влиянии на функциональную активность желудочных желез. При этом доказательства подтверждающих стимулирующего влияния панкреатических протеаз на желудочную секрецию вполне достаточно.

Как мы отмечали выше пептидные регуляторы совместно с панкреатическими протеазами в составе крови проходят через печень, которая участвует в модификации пептидергической регуляции, выражающаяся в утилизации короткоцепочных пептидов. Поэтому печеночные клетки могут являться мишенями для воздействия панкреатических протеаз в изменении их способности к утилизации короткоцепочных пептидов. В связи с этим проведены исследования для выявления возможности влияния панкреатических протеаз на изменение утилизации короткоцепочных пептидов пентагастрина имеющего 5 аминокислотных остатков и ХЦК-8 имеющего 8 аминокислотных остатков.

Результаты исследования показали, что совместное введение пентагастрина и трипсина в портальную вену вызывало достоверное увеличение выделения пищеварительных желез желудка, по сравнению с результатами без введения трипсина, что свидетельствует о снижении утилизации пентагастрина в печени. В тоже время, совместное введение пентагастрина и химотрипсина в портальную вену способствовало также достоверному увеличению ферментовыделительной деятельности желудка, по сравнению с полученными данными без введения химотрипсина, но эти эффекты были ниже по сравнению с показателями введения совместно



пентагастрина и трипсина. Помимо этого было установлено, что трипсин при внутрипортальном введении дозозависимо увеличивает стимуляторный эффект пентагастрина и уменьшает утилизацию его в печени.

Кроме этого, имелась необходимость исключить влияние не протеолитических гидролаз, таких как амилаза и липаза на изменение утилизации пентагастрина печенью. Чтобы исключить возможное влияние их на утилизацию печенью короткоцепочных пептидов. Поэтому были проведены эксперименты с изучением воздействия амилазы и липазы на утилизацию печенью пентагастрина. Результаты этих исследований показали, что амилаза и липаза не влияют на способность печени утилизировать пентагастрин. Также представляло интерес изучить влияние эндогенного повышения протеаз за счет кормления на изменение утилизации пентагастрина печенью. По результатам исследования было установлено, что как пентагастрин, так и ХЦК-8 введенные как в портальную вену, так и в периферическую вену после приема пищи вызывают более выраженное увеличение панкреатической секреции. В тоже время на фоне стимуляции поджелудочной секреции, введением в периферическую вену ХЦК-8 и секретина, трипсин при введении в периферическую вену вызывает постепенное дозозависимое нарастание торможения поджелудочной секреции. На фоне стимуляции поджелудочной секреции, введением в портальную вену ХЦК-8 и секретина, трипсин, при введении в портальную вену, вызывает в малых дозах увеличение, а с нарастанием дозы трипсина постепенное снижение поджелудочной секреции.

Помимо этого проведенные исследования на крысах с введением пентагастрина или ХЦК-8 в портальную вену подтвердили способность печени утилизировать эти пептиды, а под влиянием трипсина введенного в портальную вену снижать утилизацию пентагастрина и ХЦК-8. В тоже время введение ингибитора протеаз контрикала введенного в портальную вену совместно с пентагастрином и ХЦК-8 способствовало усилению утилизации этих пептидов печенью.

Также представляло интерес изучить в сравнительном плане, изменение утилизации печенью пентагастрина или ХЦК-8 под влиянием трипсина и отдельно гексапептида – SLIGRL, как доказанного агониста PAR-2 по изменению желудочной секреции. При введении их в портальную и периферическую вены. С целью подтверждения эффектов трипсина реализуемых через PAR-2 печени на уменьшение утилизации печенью пентагастрина и ХЦК-8. Полученные результаты показали, что у крыс печень утилизирует короткоцепочные пептиды пентагастрин и ХЦК-8. Трипсин, также как агонист PAR-2 гексапептид-SLIGRL, не увеличивает секреторную активность желудка и поджелудочной железы при введении этих пептидов в периферическую вену и существенно при введении их в портальную вену, что указывает на возможность трипсина за счет PAR-2 печени снижать способность печени утилизировать короткоцепочные пептиды пентагастрин и ХЦК-8.

Полученные данные подтверждают, что панкреатические протеазы могут играть роль сигнальных молекул и изменять утилизационную способность через PAR-2 рецепторы печени в зависимости от физиологической необходимости.

В объяснении механизмов описанных нами эффектов можно предположить как прямое, а так и косвенное влияние, с участием кофакторов, воздействие трипсина на PAR-рецепторы, расположенные на мембранах гепатоцитов, гастроцитов и ациноцитов. За счет влияния на гепатоциты уменьшается утилизация печенью короткоцепочных пептидов, при этом увеличивается содержание короткоцепочных пептидов в периферической крови, что способствует повышению секреторной деятельности желудка и поджелудочной железы. В тоже время за счет влияния трипсина на гастроциты повышается функциональная активность желудочных желез, а на ациноциты уменьшается функциональная активность поджелудочной железы. То есть

**СХЕМА УТИЛИЗАЦИИ ХЦК-8 ПРИ ТОЩАКОВОЙ СЕКРЕЦИИ  
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ**



**СХЕМА УТИЛИЗАЦИИ ХЦК-8 ПОСЛЕ ПРИЕМА ПИЩИ**



проявляется суммарный эффект трипсина путем прямого влияния и через печень на секреторную деятельность желудочных и поджелудочных желез.

Полученные результаты показывают, что как трипсин, так и прием пищи вызывают уменьшение утилизации печенью короткоцепочных пептидов. Если при введении в портальную вену данный эффект обусловлен экзогенным воздействием, то после приема пищи, очевидно, за счет эндогенного увеличения инкретиции панкреатических протеаз в портальную систему. Это способствует повышению перехода короткоцепочных пептидов в периферический кровоток, за счет чего происходит усиление воздействия и пентагастрина, и ХЦК-8 на панкреатическую секрецию (Схема).

Короткоцепочные пептиды, содержащие до 10 аминокислот, имеют большое значение в различных механизмах регуляции, так как они имеют рецепторы на афферентных нервных окончаниях периферических нейронов и на нейронах различных отделов ЦНС. В желудке и кишечнике паракринно осуществляют взаимосвязь эндокринных клеток и нейронов подслизистого нервного сплетения, мезентериальных и афферентных нейронов.

Во время поступления пищи в желудочно-кишечный тракт значительно увеличивается выработка короткоцепочных пептидов. Также известно, что короткоцепочные пептиды более эффективно стимулируют секрецию пищеварительных желез и проникают через гематоэнцефалический барьер. Например, за счет ХЦК-8, вызывают чувство насыщения, то есть обеспечивают дистантно взаимосвязь клеток пищеварительных желез с различными отделами ЦНС.

При патологии печени (билиарном циррозе) утилизационная способность печени снижается, ХЦК-8 увеличивается в периферической крови, за счет чего развиваются энцефалопатии [155], а также гиперсекреторный синдром поджелудочной железы [242].

Существуют механизмы, ограничивающие поступление короткоцепочных пептидов в периферическую кровь. Часть короткоцепочных



пептидов утилизируется внутриорганно тканевыми и мембранными протеазами, другая часть - в печени, после поступления через портальную систему [1, 48].

В результате этих механизмов формируются дополнительные каналы пептидергической регуляции пищеварительных желез. Эти результаты исследований являются новым доказательством существования физиологического механизма взаимосвязи желудочно-кишечного тракта и печени, а трипсин может являться фактором, участвующим в модификации и интеграции этих механизмов.



#### ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Алейник В.А., Бабич С.М. Влияние различных доз трипсина на изменение утилизации печенью пентагастрина//Вестник ТМА, 2013, №1, С.13-16.
2. Алейник В.А., Бабич С.М. Изменение панкреатической секреции при введении различных доз трипсина в периферическую и портальную вены// Ж-л теорет.и клин.мед., 2012, №4, С.9-12.
3. Алейник В. А., Бабич С. М., Ходжиматов Г М., Жураева М.А. Влияние внутривенного введения трипсина на изменение утилизации печенью холецистокинина-8 // Вестник врача, 2019, № 2, С. 11-15.
4. Алейник В.А. Влияние трипсиногена на пептидергические механизмы регуляции пищеварительных желез желудка// Узб.биологический журнал.- 2005.- № 6.- С. 28-31.
5. Алейник В.А. Гидролазы крови и секреторная деятельность поджелудочной железы в условиях гипо- и гиперпепсиногенемии: Автореф.дисс....канд.мед.наук.- Ташкент,1981.- 21 с.
6. Алейник В.А., Бабич С.М. Влияние панкреатических протеолитических и непротеолитических гидролаз на изменение утилизации печенью пентагастрина// Ж-л теор.и клин мед., 2013, №5, С.20-23.
7. Антонов В.К. Химия протеолиза.- М.: Наука, 1983.- 367 с.
8. Ашмарин И.П., Каменская М.А. Нейропептиды в синаптической передаче//Сб. Итоги науки и техники: Физиология человека и животных.- 1988.- т.34.- 182.
9. Бабич С. М. Роль печени в эффектах пентагастрина и панкреатических протеаз, влияющих на желудочную секрецию// Вестник ТМА.- 2011.- №4.- С.25-27.
10. Бабич С. М., Алейник В.А. Изменение желудочной секреции при введении в периферическую и портальную вены пентагастрина и лей-энкефалина// Ж-л Врач-аспирант, Воронеж.-2010.- № 5,2 (42).- С.252-257.

11. Бабич С.М., Алейник В.А. Участие трипсина в утилизации пентагастрина в печени// Инфек, иммун-т и фар-я, -2016, №3, - С.46-49.
12. Бабич С.М., Алейник В.А., Жураева М.А., Зулунова И.Б. Влияние контрикала на изменение утилизации печенью пентагастрина // Проблемы биологии и медицины 2019, № 3, С. 177 -179.
13. Байбекова Г.Д. Роль ферментов поджелудочной железы в саморегуляции ее секреции: Автореф.дисс.... канд.мед.наук.- Казань, 1988.- 20 с.
14. Берсинбаев Р.И., Таиров М.М. Взаимодействие вторичных месенжеров в гормональной регуляции функциональной активности главных клеток желудка// Механизмы действия медиаторов и гормонов на эффекторные клетки: Тез.докл.- Суздаль, 1989.- С.24.
15. Благовидов Д.Ф., Саркисов А.С. Компенсаторные процессы после резекции поджелудочной железы.- М.:Медицина, 1976.- 136 с.
16. Веремеенко К. Н. Биохимия животных и человека / К. Н. Веремеенко. Киев, 1983. - Вып. 7. – С. 37-46.
17. Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии //Киев: Здоровье. – 1988. – С. 173-176.
18. Давыдова О. Н., Яковлев А. А. Активируемые протеазами рецепторы и нейропластичность: PAR рецепторы как возможная мишень для катепсина В //Нейрохимия. – 2010. – Т. 27. – №. 1. – С. 5-13.
19. Жураева М. А., Алейник В. А., Бабич С. М., Нуралиева Н. А. Влияние внутривенного введения трипсина на утилизацию печенью пентагастрина. Проблемы биологии и медицины, //2020, №3 (119), С. 151-155.
20. Жураева М.А., Алейник В.А., Бабич С.М., Зулунова И.Б., Легкоев А.Ю. Утилизация печенью пентагастрина под влиянием трипсина и гексапептида-sigr1 //Электронный научный журнал re-health journal, 2020, № 1(5), С.84-90.
21. Климов П.К., Барашкова Г.М. Физиология желудка. Механизмы регуляции// Л.: Наука, 1991.- 256 с.

22. Коротько Г. Ф., Алейник В. А., Курзанов А. Н., Хамракулов Ш. Трипсиноген как модификатор пептидергических влияний на секрецию желудочных и поджелудочных желез // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.- 1996 - Т. 82. № 8-9. – С. 87-95.
23. Коротько Г.Ф. // Секрция поджелудочной железы. – Краснодар: ООО “Качество”, 2005.- 311 с.
24. Коротько Г.Ф. К теории А.М.Уголева об экскреторном происхождении секреторных процессов//Журн.эвол.биохимии и физиологии.- 1994.- № 4.- С.601-607.
25. Коротько Г.Ф. Регуляторная роль ферментов экзо- и эндосекретируемых пищеварительными железами //Успехи физиол.наук, 1996.- т. 27, №4.- С. 96-115.
26. Коротько Г.Ф. Регуляторные механизмы ферментов пищеварительных желез//Физиолог. журнал им. М.И.Сеченова.- 1996.- т. 82, №3.- С.74-81.
27. Коротько Г.Ф. Сигнальная и модулирующая роль ферментов пищеварительных желез// Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2011.- Том 21, № 2.- С. 4-13.
28. Коротько Г.Ф., Алейник В.А., Курзанов А.Н., Хамракулов Ш. Трипсиноген как модификатор пептидергических влияний на секрецию желудочных и поджелудочных желез // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.- 1996 - Т. 82. № 8-9. – С. 87-95.
29. Коротько Г.Ф., Алейник В.А., Курзанов А.Н. Модифицирующее влияние ферментов пищеварительных желез на их холинергические и пептидергические секреторные эффекты // Российский жур-л гастроэнтерол., гепатол, колопроктол. (Мат. 1 Росс.гастроэнт. недели 27 ноября – 2 дек. 1995.- С-Петербург, 1995.- т.82, №3.- С.120.
30. Коротько Г.Ф., Байбекова Г.Д. Влияние гексапептида трипсиногена на секрецию желудочных и поджелудочных желез//В кт.: Нейропептиды: их роль в физиол.и патол.- Томск,1985.- С.141-142.



31. Котельникова В.И., Соловьева И.А. Влияние антител к гастрину на эндокринные клетки антрального отдела желудка крыс//Физиол. журнал СССР.- 1978. - т. 64, №9. - 1354-1356.
32. Лебедев Н.Н.,Черкизова-Кинова Е.Р. Патопфизиология пищеварительной системы при экспериментальном панкреатите.- М.:Медицина, 1979.- 200 с.
33. Локшина Л. А. Протеолитические ферменты в регуляции биологических процессов / Л. А. Локшина // Биоорганическая химия. – 1994. - Т.20, №2. – С. 134–142.
34. Локшина Л.А. Реакция ограниченного протеолиза и их регуляторное значение//Успехи биол.химии.- М.:Наука,1977.- т.18.- С.162-184.
35. Мешалкин Е. Н., Сергиевский В. Р., Сувернев А. В., Глейм Г. К.. Трипсинемия в реакциях организма на повреждения - Новосибирск: Наука. Сиб. Отделение, 1982. - 82 с.
36. Пасхина Т. Р., Яровая Г. А., Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И.. Протеолитические ферменты – Киев, 1988. – 165 с.
37. Саидбаева Л.М. Реакции ограниченного протеолиза в пищеварительном процессе и образовании физиологически активных веществ// Дисс....докт.мед.наук.- Андижан,1987.- 389 с.
38. Соколова Е., Алешин Р., Рейзер Г. Экспрессия протеазоактивируемого рецептора (PAR) -2, но не других PAR, регулируется воспалительными цитокинами в астроцитах крысы // Neurochemistryinternational. - 2012. - Т. 60. - №. 3. - С. 276-285.
39. Сухотерин В.Г. Ферментовыделительная деятельность желудка, ее регуляция и роль в начальном гидролизе пищевых белков: Автореф.дисс....д.м.н.- Томск, 1982.- 46 с.
40. Сухотерин В.Г., Алейник В.А. и др. Роль пептидергических механизмов в коррекции ферментовыделительной функции желудочных и поджелудочной желез//Тез.Международ.конгресса патофизиологов.- Москва, 1991.- С.161.

41. Сухотерин В.Г., Курзанов А.Н. и др. Пептидергическая регуляция секреции ферментов желудка и поджелудочной железы // Тез. докл. XV Всесоюз. конф. Физиология пищеварения и всасывания.- Краснодар, 1990.- С.272.
42. Abdallah, R. T., Keum, J. S., Lee, M. H., Wang, B., Gooz, M., Luttrell, D. K., ... & Jaffa, A. A. Plasma kallikrein promotes epidermal growth factor receptor transactivation and signaling in vascular smooth muscle through direct activation of protease-activated receptors // *Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – Т. 285. – №. 45. – P. 35206-35215.
43. Abe H., Hino R., Fukayama M. Platelet-derived growth factor-A and vascular endothelial growth factor-C contribute to the development of pulmonary tumor thrombotic microangiopathy in gastric cancer // *VirchowsArchiv*. – 2013. – Т. 462. – №. 5. – P. 523-531.
44. Abita I.P.,Moulih A. et al. A physiological inhibitor of gastric secretion, the activation peptide of trypsinogen//*PEBS Lett.*- 1973.- vol.2.- P.251-255.
45. Adams, M. N., Ramachandran, R., Yau, M. K., Suen, J. Y., Fairlie, D. P., Hollenberg, M. D., & Hooper, J. D. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors // *Pharmacology & therapeutics*. – 2011. – Т. 130. – №. 3. – P. 248-282.
46. Al Ani B., Saifeddine M. et al. Modified proteinase-activated receptor-1 and -2 derived peptides inhibit proteinase-activated receptor-2 activation by trypsin// *J Pharmacol Exp Ther.*- 2002.- v.300, №2.- P. 702-8.
47. Alberelli M. A., De Candia E. Functional role of protease activated receptors in vascular biology // *Vascular pharmacology*. – 2014. – Т. 62. – №. 2. – P. 72-81.
48. Aleynik V. A., Babich S. M. Change gastric secretion dogs under the influence pentagastrin and lei-enkephalin // *European applied sciences*. – 2013. – №12. – С.30-32.
49. Alloy, A. P., Kayode, O., Wang, R., Hockla, A., Soares, A. S., &Radisky, E. S. Mesotrypsin has evolved four unique residues to cleave trypsin inhibitors as



- substrates //Journal of Biological Chemistry. – 2015. – T. 290. – №. 35. – P. 21523-21535.
50. Alvarez, C., Regan, J. P., Merianos, D., & Bass, B. L. Protease-activated receptor-2 regulates bicarbonate secretion by pancreatic duct cells in vitro //Surgery. – 2004. – T. 136. – №. 3. – P. 669-676.
51. Amara, U., Rittirsch, D., Flierl, M., Bruckner, U., Klos, A., Gebhard, F., ...& Huber-Lang, M. Interaction between the coagulation and complement system //Current topics in complement II. – Springer, New York, NY, 2008. – P. 68-76.
52. Antalis, T. M., Buzza, M. S., Hodge, K. M., Hooper, J. D., &Netzel-Arnett, S. The cutting edge: membrane-anchored serine protease activities in the pericellular microenvironment //Biochemical Journal. – 2010. – T. 428. – №. 3. – P. 325-346.
53. Antalis, T. M., Shea-Donohue, T., Vogel, S. N., Sears, C., & Fasano, A. Mechanisms of disease: protease functions in intestinal mucosal pathobiology //Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology. – 2007. – T. 4. – №. 7. – P. 393-402.
54. Apringer C.S., Calam S. Cholecystokinin cleavage to cholecystokinin – octapeptide in vivo and in vitro acceberated cleavage in aciete pancreatitis//Gastroenterology.- 1988.- vol.95, №1.- P.143-150.
55. Arisawa, T., Tahara, T., Shibata, T., Nagasaka, M., Nakamura, M., Kamiya, Y., ... & Nakano, H. Promoter hypomethylation of protease-activated receptor 2 associated with carcinogenesis in the stomach //Journal of gastroenterology and hepatology. – 2007. – T. 22. – №. 6. – P. 943-948.
56. Asehnoune K., Moine P. Protease-activated receptor-1: key player in the sepsis coagulation-inflammation crosstalk //Critical Care. – 2013. – T. 17. – №. 1. – P. 119.
57. Asokanathan, N., Graham, P. T., Fink, J., Knight, D. A., Bakker, A. J., McWilliam, A. S., ... & Stewart, G. A. Activation of protease-activated receptor (PAR)-1, PAR-2, and PAR-4 stimulates IL-6, IL-8, and prostaglandin E2 release from human respiratory epithelial cells //The Journal of Immunology. – 2002. – T. 168. – №. 7. – P. 3577-3585.

58. Bakker, O. J., Issa, Y., Van Santvoort, H. C., Besselink, M. G., Schepers, N. J., Bruno, M. J., ... & Gooszen, H. G. Treatment options for acute pancreatitis //Nature reviews Gastroenterology & hepatology. – 2014. – T. 11. – №. 8. – P. 462.
59. Balenga, N. A., Klichinsky, M., Xie, Z., Chan, E. C., Zhao, M., Jude, J., ... & Druey, K. M. A fungal protease allergen provokes airway hyper-responsiveness in asthma //Nature communications. – 2015. – T. 6. – P. 6763-71.
60. Bansal M., Khatri M., Taneja V. Potential role of periodontal infection in respiratory diseases-a review //Journal of medicine and life. – 2013. – T. 6. – №. 3. – P. 244.
61. Barbara, G., Wang, B., Stanghellini, V., De Giorgio, R., Cremon, C., Di Nardo, G., ... & Corinaldesi, R. Mast cell-dependent excitation of visceral-nociceptive sensory neurons in irritable bowel syndrome //Gastroenterology. – 2007. – T. 132. – №. 1. – P. 26-37.
62. Bar-Shavit, R., Kahn, A. J., Mann, K. G., & Wilner, G. D. Identification of a thrombin sequence with growth factor activity on macrophages //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1986. – T. 83. – №. 4. – C. 976-980.
63. Bar-Shavit, R., Kahn, A., Mudd, M. S., Wilner, G. D., Mann, K. G., & Fenton, J. W. Localization of a chemotactic domain in human thrombin //Biochemistry. – 1984. – T. 23. – №. 3. – C. 397-400.
64. Bauvois B. New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: outside-in signaling and relationship to tumor progression //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer. – 2012. – T. 1825. – №. 1. – P. 29-36.
65. Bell-Sakyi L., Attoui H. Endogenous tick viruses and modulation of tick-borne pathogen growth //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2013. – T. 3. – P. 25.
66. Bird, J. E., Smith, P. L., Wang, X., Schumacher, W. A., Barbera, F., Revelli, J. P., & Seiffert, D. Effects of plasma kallikrein deficiency on haemostasis and

- thrombosis in mice: murine ortholog of the Fletcher trait //Thrombosis and haemostasis. – 2012. – T. 107. – №. 06. – P. 1141-1150.
67. Biró, A., Hérincs, Z., Fellingner, E., Szilágyi, L., Barad, Z., Gergely, J., ...&Sármay, G. Characterization of a trypsin-like serine protease of activated B cells mediating the cleavage of surface proteins //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. – 2003. – T. 1624. – №. 1-3. – P. 60-69.
68. Böhm, S. K., Kong, W., Brömme, D., Smeekens, S. P., Anderson, D. C., Connolly, A., ... & Bunnett, N. W. Molecular cloning, expression and potential functions of the human proteinase-activated receptor-2 //Biochemical Journal. – 1996. – T. 314. – №. 3. – P. 1009-1016.
69. Boitano, S., Flynn, A. N., Schulz, S. M., Hoffman, J., Price, T. J., & Vagner, J. Potent agonists of the protease activated receptor 2 (PAR2) //Journal of medicinal chemistry. – 2011. – T. 54. – №. 5. – P. 1308-1313.
70. Boitano, S., Flynn, A. N., Sherwood, C. L., Schulz, S. M., Hoffman, J., Gruzinova, I., & Daines, M. O. *Alternaria alternata* serine proteases induce lung inflammation and airway epithelial cell activation via PAR2 //American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2011. – T. 300. – №. 4. – P. L605-L614.
71. Boulanger C. M., Vanhoutte P. M. The endothelium: a modulator of cardiovascular health and disease //Endothelium. – 2009. – T. 3. – №. 4. – P. 187-203.
72. Bras, G., Bochenska, O., Rapala-Kozik, M., Guevara-Lora, I., Faussner, A., Kamysz, W., & Kozik, A. Release of biologically active kinin peptides, Met-Lys-bradykinin and Leu-Met-Lys-bradykinin from human kininogens by two major secreted aspartic proteases of *Candida parapsilosis* //Peptides. – 2013. – T. 48. – P. 114-123.
73. Buhner S., Schemann M. Mast cell-nerve axis with a focus on the human gut //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. – 2012. – T. 1822. – №. 1. – P. 85-92.



74. Buresi, M. C., Buret, A., Hollenberg, M. D., & Macnaughton, W. K. Activation of proteinase-activated receptor 1 stimulates epithelial chloride secretion through a unique MAP kinase-and cyclo-oxygenase-dependent pathway //The FASEB journal. – 2002. – T. 16. – №. 12. – P. 1515-1525.
75. Buresi, M. C., Vergnolle, N., Sharkey, K. A., Keenan, C. M., Andrade-Gordon, P., Cirino, G., ... & MacNaughton, W. K. Activation of proteinase-activated receptor-1 inhibits neurally evoked chloride secretion in the mouse colon in vitro //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2005. – T. 288. – №. 2. – P. G337-G345.
76. Caruso, R., Pallone, F., Fina, D., Gioia, V., Peluso, I., Caprioli, F., ... & Monteleone, G. Protease-activated receptor-2 activation in gastric cancer cells promotes epidermal growth factor receptor trans-activation and proliferation //The American journal of pathology. – 2006. – T. 169. – №. 1. – P. 268-278.
77. Carvalho R. F. S., Nilsson G., Harvima I. T. Increased mast cell expression of PAR-2 in skin inflammatory diseases and release of IL-8 upon PAR-2 activation //Experimental dermatology. – 2010. – T. 19. – №. 2. – P. 117-122.
78. Cattaruzza, F., Amadesi, S., Carlsson, J. F., Murphy, J. E., Lyo, V., Kirkwood, K., ...& Bunnett, N. W. Serine proteases and protease-activated receptor 2 mediate the proinflammatory and algescic actions of diverse stimulants //British journal of pharmacology. – 2014. – T. 171. – №. 16. – P. 3814-3826.
79. Cattaruzza, F., Cenac, N., Barocelli, E., Impicciatore, M., Hyun, E., Vergnolle, N., & Sternini, C. Protective effect of proteinase-activated receptor 2 activation on motility impairment and tissue damage induced by intestinal ischemia/reperfusion in rodents //The American journal of pathology. – 2006. – T. 169. – №. 1. – P. 177-188.
80. Cenac, N., Andrews, C. N., Holzhausen, M., Chapman, K., Cottrell, G., Andrade-Gordon, P., ... & Vergnolle, N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome //The Journal of clinical investigation. – 2007. – T. 117. – №. 3. – P. 636-647.

81. Cenac, N., Cellars, L., Steinhoff, M., Andrade-Gordon, P., Hollenberg, M. D., Wallace, J. L., ... & Vergnolle, N. Proteinase-activated receptor-1 is an anti-inflammatory signal for colitis mediated by a type 2 immune response // *Inflammatory bowel diseases*. – 2005. – T. 11. – №. 9. – P. 792-798.
82. Cenac, N., Chin, A. C., Garcia-Villar, R., Salvador-Cartier, C., Ferrier, L., Vergnolle, N., ... & Bueno, L. PAR2 activation alters colonic paracellular permeability in mice via IFN- $\gamma$ -dependent and-independent pathways // *The Journal of physiology*. – 2004. – T. 558. – №. 3. – P. 913-925.
83. Cenac, N., Garcia-Villar, R., Ferrier, L., Larauche, M., Vergnolle, N., Bunnett, N. W., ... & Bueno, L. Proteinase-activated receptor-2-induced colonic inflammation in mice: possible involvement of afferent neurons, nitric oxide, and paracellular permeability // *The Journal of Immunology*. – 2003. – T. 170. – №. 8. – P. 4296-4300.
84. Cesarman-Maus G., Hajjar K. A. Molecular mechanisms of fibrinolysis // *British journal of haematology*. – 2005. – T. 129. – №. 3. – P. 307-321.
85. Chen, H. M., Chen, J. C., Hwang, T. L., Jan, Y. Y., & Chen, M. F. Prospective and randomized study of gabexate mesilate for the treatment of severe acute pancreatitis with organ dysfunction // *Hepato-gastroenterology*. – 2000. – T. 47. – №. 34. – P. 1147-1150.
86. Chiba N. Proton pump inhibitors in acute healing and maintenance of erosive or worse esophagitis: a systematic overview // *Canadian journal of gastroenterology= Journal canadien de gastroenterologie*. – 1997. – T. 11. – P. 66B-73B.
87. Chin, A. C., Vergnolle, N., MacNaughton, W. K., Wallace, J. L., Hollenberg, M. D., & Buret, A. G. Proteinase-activated receptor 1 activation induces epithelial apoptosis and increases intestinal permeability // *Proceedings of the national academy of sciences*. – 2003. – T. 100. – №. 19. – P. 11104-11109.
88. Chodobski A., Zink B. J., Szmydynger-Chodobska J. Blood-brain barrier pathophysiology in traumatic brain injury // *Translational stroke research*. – 2011. – T. 2. – №. 4. – P. 492-516.



89. Chokki, M., Yamamura, S., Eguchi, H., Masegi, T., Horiuchi, H., Tanabe, H., ...&Yasuoka, S. Human airway trypsin-like protease increases mucin gene expression in airway epithelial cells //American journal of respiratory cell and molecular biology. – 2004. – T. 30. – №. 4. – P. 470-478.
90. Cichorek, M., Wachulska, M., Stasiewicz, A., & Tymińska, A. Skin melanocytes: biology and development //Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii. – 2013. – T. 30. – №. 1. – P. 30-41.
91. Cocks, T. M., Fong, B., Chow, J. M., Anderson, G. P., Frauman, A. G., Goldie, R. G., ... & Moffatt, J. D. A protective role for protease-activated receptors in the airways //Nature. – 1999. – T. 398. – №. 6723. – P. 156-160.
92. Cocks, T. M., Sozzi, V., Moffatt, J. D., & Selemidis, S. Protease-activated receptors mediate apamin-sensitive relaxation of mouse and guinea pig gastrointestinal smooth muscle //Gastroenterology. – 1999. – T. 116. – №. 3. – P. 586-592.
93. Coelho, A. M., Vergnolle, N., Guiard, B., Fioramonti, J., & Bueno, L. Proteinases and proteinase-activated receptor 2: a possible role to promote visceral hyperalgesia in rats //Gastroenterology. – 2002. – T. 122. – №. 4. – P. 1035-1047.
94. Corvera, C. U., Déry, O., McConalogue, K., Böhm, S. K., Khitin, L. M., Caughey, G. H., ... & Bunnett, N. W. Mast cell tryptase regulates rat colonic myocytes through proteinase-activated receptor 2 //The Journal of clinical investigation. – 1997. – T. 100. – №. 6. – P. 1383-1393.
95. Cottrell, G. S., Amadesi, S., Grady, E. F., & Bunnett, N. W. Trypsin IV, a novel agonist of protease-activated receptors 2 and 4 //Journal of Biological Chemistry. – 2004. – T. 279. – №. 14. – P. 13532-13539.
96. Cottrell, G. S., Amadesi, S., Pikiros, S., Camerer, E., Willardsen, J. A., Murphy, B. R., ... & Grady, E. F. Protease-activated receptor 2, dipeptidyl peptidase I, and proteases mediate Clostridium difficile toxin A enteritis //Gastroenterology. – 2007. – T. 132. – №. 7. – P. 2422-2437.

97. Coughlin S. R. Protease-activated receptors //Handbook of Cell Signaling. – Academic Press, 2010. – P. 171-175.
98. Cuatrecasas P. Properties of the insulin receptor of isolated fat cell membranes //Journal of Biological Chemistry. – 1971. – T. 246. – №. 23. – C. 7265-7274.
99. Cuffe, J. E., Bertog, M., Velázquez-Rocha, S., Dery, O., Bunnett, N., & Korbmayer, C. Basolateral PAR-2 receptors mediate KCl secretion and inhibition of Na<sup>+</sup> absorption in the mouse distal colon //The Journal of physiology. – 2002. – T. 539. – №. 1. – P. 209-222.
100. Darmoul, D., Gratio, V., Devaud, H., & Laburthe, M. Protease-activated receptor 2 in colon cancer: trypsin-induced MAPK phosphorylation and cell proliferation are mediated by epidermal growth factor receptor transactivation //Journal of Biological Chemistry. – 2004. – T. 279. – №. 20. – P. 20927-20934.
101. Darmoul, D., Gratio, V., Devaud, H., Peiretti, F., & Laburthe, M. Activation of proteinase-activated receptor 1 promotes human colon cancer cell proliferation through epidermal growth factor receptor transactivation //Molecular Cancer Research. – 2004. – T. 2. – №. 9. – P. 514-522.
102. Day J. R. S., Landis R. C., Taylor K. M. Aprotinin and the protease-activated receptor 1-thrombin receptor: antithrombosis, inflammation, and stroke reduction //Seminars in cardiothoracic and vascular anesthesia. – Sage CA: Thousand Oaks, CA : SAGE Publications, 2006. – T. 10. – №. 2. – P. 132-142.
103. De Luca, C., Virtuoso, A., Maggio, N., & Papa, M. Neuro-coagulopathy: blood coagulation factors in central nervous system diseases //International journal of molecular sciences. – 2017. – T. 18. – №. 10. – P. 2128-2135.
104. Douaiher, J., Succar, J., Lancerotto, L., Gurish, M. F., Orgill, D. P., Hamilton, M. J., ... & Stevens, R. L. Development of mast cells and importance of their tryptase and chymase serine proteases in inflammation and wound healing //Advances in immunology. – Academic Press, 2014. – T. 122. – P. 211-252.
105. Drag M., Salvesen G. S. Emerging principles in protease-based drug discovery //Nature reviews Drug discovery. – 2010. – T. 9. – №. 9. – P. 690.

106. El-Daly, M., Saifeddine, M., Mihara, K., Ramachandran, R., Triggle, C. R., & Hollenberg, M. D. Proteinase-activated receptors 1 and 2 and the regulation of porcine coronary artery contractility: a role for distinct tyrosine kinase pathways //British journal of pharmacology. – 2014. – T. 171. – №. 9. – P. 2413-2425.
107. Fiorucci, S., Distrutti, E., Federici, B., Palazzetti, B., Baldoni, M., Morelli, A., & Cirino, G. PAR-2 modulates pepsinogen secretion from gastric-isolated chief cells //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2003. – T. 285. – №. 3. – P. G611-G620.
108. Fiorucci, S., Mencarelli, A., Palazzetti, B., Distrutti, E., Vergnolle, N., Hollenberg, M. D., ... & Cirino, G. Proteinase-activated receptor 2 is an anti-inflammatory signal for colonic lamina propria lymphocytes in a mouse model of colitis //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – T. 98. – №. 24. – P. 13936-13941.
109. Fuchs, J. E., von Grafenstein, S., Huber, R. G., Margreiter, M. A., Spitzer, G. M., Wallnoefer, H. G., & Liedl, K. R. Cleavage entropy as quantitative measure of protease specificity //PLoS computational biology. – 2013. – T. 9. – №. 4. – P. e1003007- e1003007.
110. Fujimoto, D., Hirono, Y., Goi, T., Katayama, K., Hirose, K., & Yamaguchi, A. Expression of protease activated receptor-2 (PAR-2) in gastric cancer //Journal of surgical oncology. – 2006. – T. 93. – №. 2. – P. 139-144.
111. Furukawa, Y., Kawano, Y., Fukuda, J., Matsumoto, H., & Narahara, H. The production of vascular endothelial growth factor and metalloproteinase via protease-activated receptor in human endometrial stromal cells //Fertility and sterility. – 2009. – T. 91. – №. 2. – P. 535-541.
112. Galicia, J. C., Benakanakere, M. R., Stathopoulou, P. G., & Kinane, D. F. Neutrophils rescue gingival epithelial cells from bacterial-induced apoptosis //Journal of leukocyte biology. – 2009. – T. 86. – №. 1. – P. 181-186.



113. Gan J. An investigation into the role of proteinase-activated receptor 2 on neuronal excitability and synaptic transmission in the hippocampus : dis. – University of Glasgow, 2010. – 37 p.
114. Gieseler, F., Ungefroren, H., Settmacher, U., Hollenberg, M. D., & Kaufmann, R. Proteinase-activated receptors (PARs)–focus on receptor-receptor-interactions and their physiological and pathophysiological impact //Cell Communication and Signaling. – 2013. – T. 11. – №. 1. – P. 86-93.
115. Gleeson E. M., O'Donnell J. S., Preston R. J. S. The endothelial cell protein C receptor: cell surface conductor of cytoprotective coagulation factor signaling //Cellular and Molecular Life Sciences. – 2012. – T. 69. – №. 5. – P. 717-726.
116. Glenn, K. C., Frost, G. H., Bergmann, J. S., & Carney, D. H. Synthetic peptides bind to high-affinity thrombin receptors and modulate thrombin mitogenesis //Peptide research. – 1988. – T. 1. – №. 2. – C. 65-73.
117. Grace, M. S., Baxter, M., Dubuis, E., Birrell, M. A., & Belvisi, M. G. Transient receptor potential (TRP) channels in the airway: role in airway disease //British journal of pharmacology. – 2014. – T. 171. – №. 10. – P. 2593-2607.
118. Gratio, V., Loriot, C., Virca, G. D., Oikonomopoulou, K., Walker, F., Diamandis, E. P., ...&Darmoul, D. Kallikrein-related peptidase 14 acts on proteinase-activated receptor 2 to induce signaling pathway in colon cancer cells //The American journal of pathology. – 2011. – T. 179. – №. 5. – P. 2625-2636.
119. Green, B. T., Bunnett, N. W., Kulkarni-Narla, A., Steinhoff, M., & Brown, D. R. Intestinal type 2 proteinase-activated receptors: expression in opioid-sensitive secretomotor neural circuits that mediate epithelial ion transport //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2000. – T. 295. – №. 1. – P. 410-416.
120. Gregory L. G., Lloyd C. M. Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung //Trends in immunology. – 2011. – T. 32. – №. 9. – P. 402-411.
121. Grendell J. H. Structure and function of the exocrine pancreas //Gastrointestinal Anatomy and Physiology. – 2014. – P. 78-91.

122. Griesbacher T., Lembeck F. Effects of the bradykinin antagonist, HOE 140, in experimental acute pancreatitis //British journal of pharmacology. – 1992. – T. 107. – №. 2. – P. 356-360.
123. Griesbacher, T., Rainer, I., Tiran, B., & Evans, D. M. Involvement of tissue kallikrein but not plasma kallikrein in the development of symptoms mediated by endogenous kinins in acute pancreatitis in rats //British journal of pharmacology. – 2002. – T. 137. – №. 5. – P. 692-700.
124. Grishina, Z., Ostrowska, E., Halangk, W., Sahin-Tóth, M., & Reiser, G. Activity of recombinant trypsin isoforms on human proteinase-activated receptors (PAR): mesotrypsin cannot activate epithelial PAR-1,-2, but weakly activates brain PAR-1 //British journal of pharmacology. – 2005. – T. 146. – №. 7. – P. 990-999.
125. Guan, S. M., Shu, L., Fu, S. M., Liu, B., Xu, X. L., & Wu, J. Z. Prevotellaintermediaupregulates MMP-1 and MMP-8 expression in human periodontal ligament cells //FEMS microbiology letters. – 2009. – T. 299. – №. 2. – P. 214-222.
126. Guardavaccaro D. Control of cell cycle exit and neuronal differentiation by SCF and APC/C ubiquitin ligases. – 2012. – P. 1- 40
127. Gupta S., Rao T.R.G. Gastric Acid Secretion in Pancreatic Disease//Dissection (Basel).- 1975.- v.12, N3.- P.189-191.
128. Haerteis, S., Krappitz, A., Krappitz, M., Murphy, J. E., Bertog, M., Krueger, B., ...&Bunnett, N. W. Proteolytic activation of the human epithelial sodium channel by trypsin IV and trypsin I involves distinct cleavage sites //Journal of Biological Chemistry. – 2014. – T. 289. – №. 27. – P. 19067-19078.
129. Hansen, K. K., Sherman, P. M., Cellars, L., Andrade-Gordon, P., Pan, Z., Baruch, A., ... & Vergnolle, N. A major role for proteolytic activity and proteinase-activated receptor-2 in the pathogenesis of infectious colitis //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2005. – T. 102. – №. 23. – P. 8363-8368.
130. Hansen, K. K., Sherman, P. M., Cellars, L., Andrade-Gordon, P., Pan, Z., Baruch, A., ... & Vergnolle, N. A major role for proteolytic activity and proteinase-



- activated receptor-2 in the pathogenesis of infectious colitis //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2005. – T. 102. – №. 23. – C. 8363-8368.
131. Harada, H., Miyake, H., Ochi, K., Tanaka, J., & Kimura, I. Clinical trial with a protease inhibitor gabexate mesilate in acute pancreatitis //International Journal of Pancreatology. – 1991. – T. 9. – №. 1. – P. 75-79.
132. Harris, E. S., Rondina, M. T., Schwertz, H. A. N. S. J. O. R. G., Weyrich, A. S., & Zimmerman, G. A. Pathogenesis of sepsis and sepsis-induced acute lung injury //Acute Respiratory Distress Syndrome. – 2010. – T. 2. – P. 369-419.
133. Hedstrom L. Serine protease mechanism and specificity //Chemical reviews. – 2002. – T. 102. – №. 12. – P. 4501-4524.
134. Heuberger D. M., Schuepbach R. A. Protease-activated receptors (PARs): mechanisms of action and potential therapeutic modulators in PAR-driven inflammatory diseases //Thrombosis journal. – 2019. – V. 17. – №. 1. – P. 4-11.
135. Hiebert P. R., Granville D. J. Granzyme B in injury, inflammation, and repair //Trends in molecular medicine. – 2012. – T. 18. – №. 12. – P. 732-741.
136. Hoffmaster KA, Zamek-Gliszczyński MJ, Pollack GM, Brouwer KL. Hepatobiliary disposition of the metabolically stable opioid peptide [D-Pen2, D-Pen5]-enkephalin (DPDPE): pharmacokinetic consequences of the interplay between multiple transport system// J. Pharmacol. Exp. Ther.,2004,vol.311(3), P.1203-10.
137. Hollenberg M. D. Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): proteinases as hormone-like signal messengers: PARs and more //Journal of pharmacological sciences. – 2005. – T. 97. – №. 1. – P. 8-13.
138. Holzhausen, M., Spolidorio, L. C., Ellen, R. P., Jobin, M. C., Steinhoff, M., Andrade-Gordon, P., & Vergnolle, N. Protease-activated receptor-2 activation: a major role in the pathogenesis of Porphyromonas gingivalis infection //The American journal of pathology. – 2006. – T. 168. – №. 4. – C. 1189-1199.
139. Hoogerwerf, W. A., Shenoy, M., Winston, J. H., Xiao, S. Y., He, Z., & Pasricha, P. J. Trypsin mediates nociception via the proteinase-activated receptor 2: a

- potentially novel role in pancreatic pain //Gastroenterology. – 2004. – T. 127. – №. 3. – P. 883-891.
140. Hoogerwerf, W. A., Zou, L., Shenoy, M., Sun, D., Micci, M. A., Lee-Hellmich, H., ... & Pasricha, P. J. The proteinase-activated receptor 2 is involved in nociception //Journal of Neuroscience. – 2001. – T. 21. – №. 22. – P. 9036-9042.
141. Hosgood G. The biology of wound healing //BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction. – BSAVA Library, 2009. – P. 1-14.
142. Huang H , Paul WE. Protein tyrosine phosphatase activity is required for IL-4 induction of IL-4 receptor alpha-chain// J Immunol.- 2000.- v. 164, №3.- P.1211-5.
143. Hutter, M. M., Wick, E. C., Day, A. L., Maa, J., Zerega, E. C., Richmond, A. C., ... & Kirkwood, K. S. Transient receptor potential vanilloid (TRPV-1) promotes neurogenic inflammation in the pancreas via activation of the neurokinin-1 receptor (NK-1R) //Pancreas. – 2005. – T. 30. – №. 3. – P. 260-265.
144. Ichikawa, T., Ishihara, K., Kusakabe, T., Hiruma, H., Kawakami, T., & Hotta, K. CGRP modulates mucin synthesis in surface mucus cells of rat gastric oxyntic mucosa //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2000. – T. 279. – №. 1. – P. G82-G89.
145. Hżeczka J. Granzymes A and B levels in serum of patients with amyotrophic lateral sclerosis //Clinical biochemistry. – 2011. – T. 44. – №. 8-9. – P. 650-653.
146. Ishikura, H., Nishimura, S., Matsunami, M., Tsujiuchi, T., Ishiki, T., Sekiguchi, F., ... & Kawabata, A. The proteinase inhibitor camostat mesilate suppresses pancreatic pain in rodents //Life sciences. – 2007. – T. 80. – №. 21. – P. 1999-2004.
147. Isozaki, Y., Yoshida, N., Kuroda, M., Handa, O., Takagi, T., Kokura, S., ... & Yoshikawa, T. Anti-tryptase treatment using nafamostat mesilate has a therapeutic effect on experimental colitis //Scandinavian journal of gastroenterology. – 2006. – T. 41. – №. 8. – P. 944-953.
148. Itkonen O. Human trypsinogens in the pancreas and in cancer //Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. – 2010. – T. 70. – №. 2. – P. 136-143.

149. Ivanciù L., Stalker T. J. Spatiotemporal regulation of coagulation and platelet activation during the hemostatic response in vivo //Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2015. – T. 13. – №. 11. – P. 1949-1959.
150. IWAKI, M., INO, Y., MOTOYOSHI, A., OZEKI, M., SATO, T., KURUMI, M., & AOYAMA, T. Pharmacological studies of FUT-175, nafamostat mesilate V. Effects on the pancreatic enzymes and experimental acute pancreatitis in rats //The Japanese Journal of Pharmacology. – 1986. – T. 41. – №. 2. – P. 155-162.
151. Jian C., Wenjuan H., Huaizhen R. Protease-activated receptors in neuropathic pain: an important mediator between neuron and glia //Journal of Medical Colleges of PLA. – 2009. – T. 24. – №. 4. – P. 244-249.
152. Jin, M., Yang, H. W., Tao, A. L., & Wei, J. F. Evolution of the protease-activated receptor family in vertebrates //International journal of molecular medicine. – 2016. – T. 37. – №. 3. – P. 593-602.
153. Jin, X., Hirosaki, T., Lin, C. Y., Dickson, R. B., Higashi, S., Kitamura, H., & Miyazaki, K. Production of soluble matriptase by human cancer cell lines and cell surface activation of its zymogen by trypsin //Journal of cellular biochemistry. – 2005. – T. 95. – №. 3. – P. 632-647.
154. Johnson, T. I., Costa, A. S., Ferguson, A. N., & Frezza, C. Fumarate hydratase loss promotes mitotic entry in the presence of DNA damage after ionising radiation //Cell death & disease. – 2018. – T. 9. – №. 9. – P. 913.
155. Jurado García J., Costán Rodero G., Calañas-Contiente A. Importancia de la nutrición en enfermos con encefalopatía hepática //Nutrición Hospitalaria. – 2012. – Vol. 27. – №. 2. – P. 372-381.
156. Kajdaniuk, D., Marek, B., Borgiel-Marek, H., & Kos-Kudła, B. Vascular endothelial growth factor (VEGF)—part I: in physiology and pathophysiology //Endokrynologia Polska. – 2011. – T. 62. – №. 5. – P. 444-455.
157. Kalaitzakis E, Bjornsson E Hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: is there a role of malnutrition//World J Gastroenterol, 2008, 14: 3438-3439.



158. Katakura Y. et al. Pancreatic involvement in chronic viral hepatitis //World Journal of Gastroenterology: WJG, 2005, T.11, №23, C. 3508,
159. Kawabata A. Gastrointestinal functions of proteinase-activated receptors //Life sciences. – 2003. – T. 74. – №. 2-3. – P. 247-254.
160. Kawabata A. PAR-2: structure, function and relevance to human diseases of the gastric mucosa //Expert reviews in molecular medicine. – 2002. – T. 4. – №. 16. – P. 1-17.
161. Kawabata A., Matsunami M., Sekiguchi F. Gastrointestinal roles for proteinase-activated receptors in health and disease. Review // Br. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 153. – P. 230–240.
162. Kawabata A., Nishikawa H., Kuroda R. et al. Proteinaseactivated receptor-2 (PAR-2): regulation of salivary and pancreatic exocrine secretion *in vivo* in rats and mice //Br. J. Pharmacol. – 2000 – Vol. 129. – P. 1808–1814.
163. Kawabata, A., Itoh, H., Kawao, N., Kuroda, R., Sekiguchi, F., Masuko, T., ... & Ogawa, A. Activation of trigeminal nociceptive neurons by parotid PAR-2 activation in rats //Neuroreport. – 2004. – T. 15. – №. 10. – P. 1617-1621.
164. Kawabata, A., Kanke, T., Yonezawa, D., Ishiki, T., Saka, M., Kabeya, M., ... & Plevin, R. Potent and metabolically stable agonists for protease-activated receptor-2: evaluation of activity in multiple assay systems *in vitro* and *in vivo* //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2004. – T. 309. – №. 3. – P. 1098-1107.
165. Kawabata, A., Kawao, N., Kitano, T., Matsunami, M., Satoh, R., Ishiki, T., ... & Saito, N. Colonic hyperalgesia triggered by proteinase-activated receptor-2 in mice: involvement of endogenous bradykinin //Neuroscience letters. – 2006. – T. 402. – №. 1-2. – P. 167-172.
166. Kawabata, A., Kawao, N., Kuroda, R., Itoh, H., & Nishikawa, H. Specific expression of spinal Fos after PAR-2 stimulation in mast cell-depleted rats //Neuroreport. – 2002. – T. 13. – №. 4. – P. 511-514.

167. Kawabata, A., Kawao, N., Kuroda, R., Tanaka, A., Itoh, H., & Nishikawa, H. Peripheral PAR-2 triggers thermal hyperalgesia and nociceptive responses in rats //Neuroreport. – 2001. – T. 12. – №. 4. – P. 715-719.
168. Kawabata, A., Kinoshita, M., Nishikawa, H., Kuroda, R., Nishida, M., Araki, H., ... & Kakehi, K. The protease-activated receptor-2 agonist induces gastric mucus secretion and mucosal cytoprotection //The Journal of clinical investigation. – 2001. – T. 107. – №. 11. – P. 1443-1450.
169. Kawabata, A., Kuroda, R., Kuroki, N., Nishikawa, H., & Kawai, K. Dual modulation by thrombin of the motility of rat oesophageal muscularis mucosae via two distinct protease-activated receptors (PARs): a novel role for PAR-4 as opposed to PAR-1 //British journal of pharmacology. – 2000. – T. 131. – №. 3. – P. 578-584.
170. Kawabata, A., Kuroda, R., Kuroki, N., Nishikawa, H., Kawai, K., & Araki, H. Characterization of the protease-activated receptor-1-mediated contraction and relaxation in the rat duodenal smooth muscle //Life sciences. – 2000. – T. 67. – №. 20. – P. 2521-2530.
171. Kawabata, A., Kuroda, R., Nagata, N., Kawao, N., Masuko, T., Nishikawa, H., & Kawai, K. In vivo evidence that protease-activated receptors 1 and 2 modulate gastrointestinal transit in the mouse //British journal of pharmacology. – 2001. – T. 133. – №. 8. – P. 1213-1218.
172. Kawabata, A., Kuroda, R., Nishida, M., Nagata, N., Sakaguchi, Y., Kawao, N., ... & Kawai, K. Protease-activated receptor-2 (PAR-2) in the pancreas and parotid gland: immunolocalization and involvement of nitric oxide in the evoked amylase secretion //Life sciences. – 2002. – T. 71. – №. 20. – P. 2435-2446.
173. Kawabata, A., Kuroda, R., Nishikawa, H., & Kawai, K. Modulation by protease-activated receptors of the rat duodenal motility in vitro: possible mechanisms underlying the evoked contraction and relaxation //British journal of pharmacology. – 1999. – T. 128. – №. 4. – P. 865-872.
174. Kawabata, A., Matsunami, M., Tsutsumi, M., Ishiki, T., Fukushima, O., Sekiguchi, F., ... & Saito, N. Suppression of pancreatitis-related



- allodynia/hyperalgesia by proteinase-activated receptor-2 in mice //British journal of pharmacology. – 2006. – T. 148. – №. 1. – P. 54-60.
175. Kawabata, A., Morimoto, N., Nishikawa, H., Kuroda, R., Oda, Y., & Takehi, K., Activation of protease-activated receptor-2 (PAR-2) triggers mucin secretion in the rat sublingual gland //Biochemical and biophysical research communications. – 2000. – T. 270. – №. 1. – P. 298-302.
176. Kawabata, A., Nakaya, Y., Ishiki, T., Kubo, S., Kuroda, R., Sekiguchi, F., ... & Kawai, K. Receptor-activating peptides for PAR-1 and PAR-2 relax rat gastric artery via multiple mechanisms //Life sciences. – 2004. – T. 75. – №. 22. – P. 2689-2702.
177. Kawabata, A., Nishikawa, H., Kuroda, R., Kawai, K., & Hollenberg, M. D. Proteinase-activated receptor-2 (PAR-2): regulation of salivary and pancreatic exocrine secretion in vivo in rats and mice //British journal of pharmacology. – 2000. – T. 129. – №. 8. – P. 1808-1814.
178. Kawabata, A., Nishikawa, H., Saitoh, H., Nakaya, Y., Hiramatsu, K., Kubo, S., ... & Kawai, K. A protective role of protease-activated receptor 1 in rat gastric mucosa //Gastroenterology. – 2004. – T. 126. – №. 1. – P. 208-219.
179. Kawabata, A., Oono, Y., Yonezawa, D., Hiramatsu, K., Inoi, N., Sekiguchi, F., ... & Ishiwata, H. 2-Furoyl-LIGRL-NH2, a potent agonist for proteinase-activated receptor-2, as a gastric mucosal cytoprotective agent in mice //British journal of pharmacology. – 2005. – T. 144. – №. 2. – P. 212-219.
180. Kawao, N., Hiramatsu, K., Inoi, N., Kuroda, R., Nishikawa, H., Sekiguchi, F., & Kawabata, A. The PAR-1-activating peptide facilitates pepsinogen secretion in rats //Peptides. – 2003. – T. 24. – №. 9. – P. 1449-1451.
181. Kawao, N., Ikeda, H., Kitano, T., Kuroda, R., Sekiguchi, F., Kataoka, K., ... & Kawabata, A. Modulation of capsaicin-evoked visceral pain and referred hyperalgesia by protease-activated receptors 1 and 2 //Journal of pharmacological sciences. – 2004. – T. 94. – №. 3. – P. 277-285.

182. Kawao, N., Nagataki, M., Nagasawa, K., Kubo, S., Cushing, K., Wada, T., ... & Kawabata, A. Signal transduction for proteinase-activated receptor-2-triggered prostaglandin E2 formation in human lung epithelial cells //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2005. – T. 315. – №. 2. – P. 576-589.
183. Kawao, N., Sakaguchi, Y., Tagome, A., Kuroda, R., Nishida, S., Irimajiri, K., ... & Kawabata, A. Protease-activated receptor-2 (PAR-2) in the rat gastric mucosa: immunolocalization and facilitation of pepsin/pepsinogen secretion //British journal of pharmacology. – 2002. – T. 135. – №. 5. – P. 1292-1296.
184. Kawao, N., Shimada, C., Itoh, H., Kuroda, R., & Kawabata, A. Capsazepine inhibits thermal hyperalgesia but not nociception triggered by protease-activated receptor-2 in rats //Japanese journal of pharmacology. – 2002. – T. 89. – №. 2. – P. 184-187.
185. Kayssi, A., Amadesi, S., Bautista, F., Bunnett, N. W., & Vanner, S. Mechanisms of protease-activated receptor 2-evoked hyperexcitability of nociceptive neurons innervating the mouse colon //The Journal of physiology. – 2007. – T. 580. – №. 3. – P. 977-991.
186. Kim, J. A., Choi, S. C., Yun, K. J., Kim, D. K., Han, M. K., Seo, G. S., ... & Lee, Y. M. Expression of protease-activated receptor 2 in ulcerative colitis //Inflammatory bowel diseases. – 2003. – T. 9. – №. 4. – P. 224-229.
187. Kim, T. K., Tirloni, L., Radulovic, Z., Lewis, L., Bakshi, M., Hill, C., ... & Mulenga, A. Conserved *Amblyomma americanum* tick Serpin19, an inhibitor of blood clotting factors Xa and XIa, trypsin and plasmin, has anti-haemostatic functions //International journal for parasitology. – 2015. – T. 45. – №. 9-10. – P. 613-627.
188. Kirkland, J. G., Cottrell, G. S., Bunnett, N. W., & Corvera, C. U. Agonists of protease-activated receptors 1 and 2 stimulate electrolyte secretion from mouse gallbladder //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2007. – T. 293. – №. 1. – P. G335-G346.

189. Knauer J. B. B. D. J. Inhibitors That Regulate Protease Activity at or near the Cell Surface //The Receptors. – 2014. – T. 3. – P. 153.
190. Knecht, W., Cottrell, G. S., Amadesi, S., Mohlin, J., Skaregarde, A., Gedda, K., ... & Bunnett, N. W. Trypsin IV or mesotrypsin and p23 cleave protease-activated receptors 1 and 2 to induce inflammation and hyperalgesia //Journal of Biological Chemistry. – 2007. – T. 282. – №. 36. – C. 26089-26100.
191. Koistinen, H., Koistinen, R., Zhang, W. M., Valmu, L., & Stenman, U. H. Nexin-1 inhibits the activity of human brain trypsin //Neuroscience. – 2009. – T. 160. – №. 1. – P. 97-102.
192. Koivuniemi R. Regulation of neural progenitor cell proliferation and fate by proteolytic pathways and inflammatory signals in the brain. //ACADEMIC DISSERTATION. – 2013. – P. 15-27.
193. Komatsu, N., Saijoh, K., Sidiropoulos, M., Tsai, B., Levesque, M. A., Elliott, M. B., ...& Diamandis, E. P. Quantification of human tissue kallikreins in the stratum corneum: dependence on age and gender //Journal of investigative dermatology. – 2005. – T. 125. – №. 6. – P. 1182-1189.
194. Konecny F. A. Review of cellular and molecular pathways linking thrombosis and innate immune system during sepsis //Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences. – 2010. – T. 15. – №. 6. – P. 348-358.
195. Kong, W., McConalogue, K., Khitin, L. M., Hollenberg, M. D., Payan, D. G., Böhm, S. K., & Bunnett, N. W. Luminal trypsin may regulate enterocytes through proteinase-activated receptor 2 //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1997. – T. 94. – №. 16. – P. 8884-8889.
196. Kono T., Barham F. W. Insulin-like effects of trypsin on fat cells: localization of the metabolic steps and the cellular site affected by the enzyme //Journal of Biological Chemistry. – 1971. – T. 246. – №. 20. – C. 6204-6209.



197. Konturek S.I., Tasler J., Oblutowicz W. Mechanisms of the Inhibitory Action of Endogenous Cholecystocinin and Caerulein on Pentagastrin-Induced Gastric Secretion // *Scand.J.Gastroenterol.* - 1972. - v.7, N7. - P.557-662.
198. Korkmaz, B., Horwitz, M. S., Jenne, D. E., & Gauthier, F. Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases // *Pharmacological reviews.* - 2010. - T. 62. - №. 4. - P: 726-759.
199. Koshikawa, N., Hasegawa, S., Nagashima, Y., Mitsunashi, K., Tsubota, Y., Miyata, S., & Miyazaki, K. Expression of trypsin by epithelial cells of various tissues, leukocytes, and neurons in human and mouse // *The American journal of pathology.* - 1998. - T. 153. - №. 3. - P: 937-944.
200. Koshikawa, N., Nagashima, Y., Miyagi, Y., Mizushima, H., Yanoma, S., Yasumitsu, H., & Miyazaki, K. Expression of trypsin in vascular endothelial cells // *FEBS letters.* - 1997. - T. 409. - №. 3. - P. 442-448.
201. Koskensalo, S., Hagström, J., Louhimo, J., Stenman, U. H., & Haglund, C. Tumour-associated trypsin inhibitor TATI is a prognostic marker in colorectal cancer // *Oncology.* - 2012. - T. 82. - №. 4. - P. 234-241.
202. Kubo, S., Ishiki, T., Doe, I., Sekiguchi, F., Nishikawa, H., Kawai, K., & Kawabata, A. Distinct Activity of Peptide Mimetic Intracellular Ligands (Pepducins) for Proteinase-Activated Receptor-1 in Multiple Cells/Tissues // *Annals of the New York Academy of Sciences.* - 2006. - T. 1091. - №. 1. - P. 445-459.
203. Kukor Z., Tóth M., Sahin-Tóth M. Human anionic trypsinogen: properties of autocatalytic activation and degradation and implications in pancreatic diseases // *European journal of biochemistry.* - 2003. - T. 270. - №. 9. - P. 2047-2058.
204. Kunder C. A., St John A. L., Abraham S. N. Mast cell modulation of the vascular and lymphatic endothelium // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.* - 2011. - T. 118. - №. 20. - P. 5383-5393.
205. Lafleur, M. A., Hollenberg, M. D., Atkinson, S. J., Knäuper, V., Murphy, G., & Edwards, D. R. Activation of pro-(matrix metalloproteinase-2)(pro-MMP-2) by thrombin is membrane-type-MMP-dependent in human umbilical vein endothelial

- cells and generates a distinct 63 kDa active species //Biochemical Journal. – 2001. – T. 357. – №. 1. – C. 107-115.
206. Lal M., Caplan M. Regulated intramembrane proteolysis: signaling pathways and biological functions //Physiology. – 2011. – T. 26. – №. 1. – P. 34-44.
207. Lange P. F., Overall C. M. Protein TAILS: when termini tell tales of proteolysis and function //Current opinion in chemical biology. – 2013. – T. 17. – №. 1. – P. 73-82.
208. Laumonier, Y., Syrovets, T., Burysek, L., & Simmet, T. Identification of the annexin A2 heterotetramer as a receptor for the plasmin-induced signaling in human peripheral monocytes //Blood. – 2006. – T. 107. – №. 8. – C. 3342-3349.
209. Lee S. E., Jeong S. K., Lee S. H. Protease and protease-activated receptor-2 signaling in the pathogenesis of atopic dermatitis //Yonsei medical journal. – 2010. – T. 51. – №. 6. – P. 808-822.
210. Lee S. H., Jeong S. K., Ahn S. K. An update of the defensive barrier function of skin //Yonsei medical journal. – 2006. – T. 47. – №. 3. – P. 293-306.
211. López-Otín C., Bond J. S. Proteases: multifunctional enzymes in life and disease //Journal of Biological Chemistry. – 2008. – T. 283. – №. 45. – P. 30433-30437.
212. Lourbakos, A., Chinni, C., Thompson, P., Potempa, J., Travis, J., Mackie, E. J., & Pike, R. N. Cleavage and activation of proteinase-activated receptor-2 on human neutrophils by gingipain-R from Porphyromonas gingivalis //FEBS letters. – 1998. – T. 435. – №. 1. – C. 45-48.
213. Lourbakos, A., Potempa, J., Travis, J., D'Andrea, M. R., Andrade-Gordon, P., Santulli, R., ... & Pike, R. N. Arginine-specific protease from Porphyromonas gingivalis activates protease-activated receptors on human oral epithelial cells and induces interleukin-6 secretion //Infection and immunity. – 2001. – T. 69. – №. 8. – C. 5121-5130.



214. Luo, L. Y., Soosaipillai, A., Grass, L., & Diamandis, E. P. Characterization of human kallikreins 6 and 10 in ascites fluid from ovarian cancer patients // *Tumor Biology*. – 2006. – T. 27. – №. 5. – P. 227-234.
215. Ma L., Dorling A. The roles of thrombin and protease-activated receptors in inflammation // *Seminars in immunopathology*. – Springer-Verlag, 2012. – T. 34. – №. 1. – P. 63-72.
216. Maeda, K., Hirota, M., Kimura, Y., Ichihara, A., Ohmuraya, M., Sugita, H., & Ogawa, M. Proinflammatory role of trypsin and protease-activated receptor-2 in a rat model of acute pancreatitis // *Pancreas*. – 2005. – T. 31. – №. 1. – P. 54-62.
217. Mall, M., Gonska, T., Thomas, J., Hirtz, S., Schreiber, R., & Kunzelmann, K. Activation of ion secretion via proteinase-activated receptor-2 in human colon // *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2002. – T. 282. – №. 2. – P. G200-G210.
218. Mannaioni, G., Orr, A. G., Hamill, C. E., Yuan, H., Pedone, K. H., McCoy, K. L., ... & Hepler, J. R. Plasmin potentiates synaptic N-methyl-D-aspartate receptor function in hippocampal neurons through activation of protease-activated receptor-1 // *Journal of Biological Chemistry*. – 2008. – T. 283. – №. 29. – P. 20600-20611.
219. Martin, K., Weiss, S., Metharom, P., Schmeckpeper, J., Hynes, B., O'Sullivan, J., & Caplice, N. Thrombin stimulates smooth muscle cell differentiation from peripheral blood mononuclear cells via protease-activated receptor-1, RhoA, and myocardin // *Circulation research*. – 2009. – T. 105. – №. 3. – P. 214-218.
220. Maryanoff, B. E., Santulli, R. J., McComsey, D. F., Hoekstra, W. J., Hoey, K., Smith, C. E., Andrade-Gordon, P. Protease-activated receptor-2 (PAR-2): structure-function study of receptor activation by diverse peptides related to tethered-ligand epitopes. *Archives of biochemistry and biophysics* 2001; 386 (2): 195-204.
221. Masuda T., Tomita M., Ishihama Y. Phase transfer surfactant-aided trypsin digestion for membrane proteome analysis // *Journal of proteome research*. – 2008. – T. 7. – №. 2. – P. 731-740.

222. Matej R., Housa D., Olejár T. Acute Pancreatitis: Proteinase-Activated receptor-2 as Dr. Jekyll and Mr. Hyde //Physiological research. – 2006. – T. 55. – №. 5. – P. 467-474.
223. Matsubara H., Shibasaki Y. et al. Effect of angiotensin II type 2 receptor on tyrosine kinase Pyk2 and c-Jun NH2-terminal kinase via SHP-1 tyrosine phosphatase activity: evidence from vascular-targeted transgenic mice of AT2 receptor// Biochem Biophys Res Commun.- 2001.- v. 282, №5.- P. 1085-1091.
224. Matsuwaki, Y., Wada, K., White, T., Moriyama, H., & Kita, H. Alternaria fungus induces the production of GM-CSF, interleukin-6 and interleukin-8 and calcium signaling in human airway epithelium through protease-activated receptor 2 //International archives of allergy and immunology. – 2012. – T. 158. – №. Suppl. 1. – P. 19-29.
225. Mazaki-Tovi M. et al. Serum gastrin concentrations in dogs with liver disorders //The Veterinary record, 2012,T. 171, №1,P. 19-19.
226. McKelvey K., Jackson C. J., Xue M. Activated protein C: a regulator of human skin epidermal keratinocyte function //World journal of biological chemistry. – 2014. – T. 5. – №. 2. – P. 169-176.
227. Moh'd A S., Radisky E. S. Biochemical and structural insights into mesotrypsin: an unusual human trypsin //International journal of biochemistry and molecular biology. – 2013. – T. 4. – №. 3. – P. 129-139.
228. Moh'd A, S., Robinson, J. L., Navaneetham, D., Sinha, D., Madden, B. J., Walsh, P. N., &Radisky, E. S. The amyloid precursor protein/protease nexin 2 Kunitz inhibitor domain is a highly specific substrate of mesotrypsin //Journal of Biological Chemistry. – 2010. – T. 285. – №. 3. – P. 1939-1949.
229. Moh'd A, S., Soares, A. S., Hockla, A., &Radisky, E. S. Structural basis for accelerated cleavage of bovine pancreatic trypsin inhibitor (BPTI) by human mesotrypsin //Journal of Biological Chemistry. – 2008. – T. 283. – №. 7. – P. 4115-4123.

230. Moilanen, M., Sorsa, T., Stenman, M., Nyberg, P., Lindy, O., Vesterinen, J., ...&Salo, T. Tumor-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1,-8,-13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen //Biochemistry. – 2003. – T. 42. – №. 18. – P. 5414-5420.
231. Moriyuki, K., Sekiguchi, F., Matsubara, K., Nishikawa, H., & Kawabata, A. Proteinase-Activated Receptor-2-Triggered Prostaglandin E2 Release, but Not Cyclooxygenase-2 Upregulation, Requires Activation of the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt/Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathway in Human Alveolar Epithelial Cells //Journal of pharmacological sciences. – 2009. – T. 111. – №. 3. – P. 269-275.
232. Mulè F., Baffi M. C., Cerra M. C. Dual effect mediated by protease-activated receptors on the mechanical activity of rat colon //British journal of pharmacology. – 2002. – T. 136. – №. 3. – P. 367-374.
233. Mulè, F., Baffi, M. C., Capparelli, A., & Pizzuti, R. Involvement of nitric oxide and tachykinins in the effects induced by protease-activated receptors in rat colon longitudinal muscle //British journal of pharmacology. – 2003. – T. 139. – №. 3. – P. 598-604.
234. Mulè, F., Baffi, M. C., Falzone, M., & Cerra, M. C. Signal transduction pathways involved in the mechanical responses to protease-activated receptors in rat colon //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2002. – T. 303. – №. 3. – P. 1265-1272.
235. Mule, F., Pizzuti, R., Capparelli, A., & Vergnolle, N. Evidence for the presence of functional protease activated receptor 4 (PAR4) in the rat colon //Gut. – 2004. – T. 53. – №. 2. – P. 229-234.
236. Naito, Y., Uchiyama, K., Kuroda, M., Takagi, T., Kokura, S., Yoshida, N., ... & Yoshikawa, T. Role of pancreatic trypsin in chronic esophagitis induced by gastroduodenal reflux in rats //Journal of gastroenterology. – 2006. – T. 41. – №. 3. – P. 198-208.
237. Nakajima, E., Walkup, R. D., Fujii, A., Shearer, T. R., & Azuma, M. Pituitary adenylylacyclase-activating peptide induces neurite outgrowth in cultured monkey



- trigeminal ganglion cells: involvement of receptor PAC1 //Molecular vision. – 2013. – T. 19. – P. 174-183.
238. Nakanishi, J., Yamamoto, M., Koyama, J., Sato, J., & Hibino, T. Keratinocytes synthesize enteropeptidase and multiple forms of trypsinogen during terminal differentiation //Journal of Investigative Dermatology. – 2010. – T. 130. – №. 4. – P. 944-952.
239. Namkung, W., Han, W., Luo, X., Muallem, S., Cho, K. H., Kim, K. H., & Lee, M. G. Protease-activated receptor 2 exerts local protection and mediates some systemic complications in acute pancreatitis //Gastroenterology. – 2004. – T. 126. – №. 7. – P. 1844-1859.
240. Nathan, J. D., Patel, A. A., McVey, D. C., Thomas, J. E., Prpic, V., Vigna, S. R., & Liddle, R. A. Capsaicin vanilloid receptor-1 mediates substance P release in experimental pancreatitis //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2001. – T. 281. – №. 5. – P. G1322-G1328.
241. Nathan, J. D., Peng, R. Y., Wang, Y., McVey, D. C., Vigna, S. R., & Liddle, R. A. Primary sensory neurons: a common final pathway for inflammation in experimental pancreatitis in rats //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2002. – T. 283. – №. 4. – P. G938-G946.
242. Nayak, HK, Kamble, NL, Raizada, N, Garg, S. & Daga, MK. Acute pancreatitis complicating acute hepatitis e virus infection: a case history and review // Case Studies in Hepatology. - 2013. – Vol. 2013, P. 3.
243. Neurath H. Evolution of proteolytic enzymes //Science. – 1984. – T. 224. – №. 4647. – P. 350-357.
244. Nguyen, Q. D., De Wever, O., Bruyneel, E., Hendrix, A., Xie, W. Z., Lombet, A., ... & Gaspach, C. Commutators of PAR-1 signaling in cancer cell invasion reveal an essential role of the Rho–Rho kinase axis and tumor microenvironment //Oncogene. – 2005. – T. 24. – №. 56. – P. 8240-8251.
245. Nguyen, T. D., Moody, M. W., Steinhoff, M., Okolo, C., Koh, D. S., & Bunnett, N. W. Trypsin activates pancreatic duct epithelial cell ion channels through

- proteinase-activated receptor-2 //The Journal of clinical investigation. – 1999. – T. 103. – №. 2. – P. 261-269.
246. Nieman M. T. Protease-activated receptors in hemostasis //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2016. – T. 128. – №. 2. – P. 169-177.
247. Nishikawa, H., Kawai, K., Nishimura, S., Tanaka, S., Araki, H., Al-Ani, B., ... & Kawabata, A. Suppression by protease-activated receptor-2 activation of gastric acid secretion in rats //European journal of pharmacology. – 2002. – T. 447. – №. 1. – P. 87-90.
248. Nishikawa, H., Kawai, K., Tanaka, M., Ohtani, H., Tanaka, S., Kitagawa, C., ... & Kawabata, A. Protease-activated receptor-2 (PAR-2)-related peptides induce tear secretion in rats: involvement of PAR-2 and non-PAR-2 mechanisms //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2005. – T. 312. – №. 1. – P. 324-331.
249. Nishiyama, T., Nakamura, T., Obara, K., Inoue, H., Mishima, K., Matsumoto, N., ... & Saito, I. Up-regulated PAR-2-mediated salivary secretion in mice deficient in muscarinic acetylcholine receptor subtypes //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2007. – T. 320. – №. 2. – P. 516-524.
250. Noorbakhsh, F., Vergnolle, N., Hollenberg, M. D., & Power, C. Proteinase-activated receptors in the nervous system //Nature Reviews Neuroscience. – 2003. – T. 4. – №. 12. – P. 981-989.
251. Nyaruhucha C. N. M., Kito M., Fukuoka S. I. Identification and expression of the cDNA-encoding human mesotrypsin (ogen), an isoform of trypsin with inhibitor resistance //Journal of Biological Chemistry. – 1997. – T. 272. – №. 16. – P. 10573-10578
252. Nyberg, P., Moilanen, M., Paju, A., Sarin, A., Stenman, U. H., Sorsa, T., & Salo, T. MMP-9 activation by tumor trypsin-2 enhances in vivo invasion of human tongue carcinoma cells //Journal of dental research. – 2002. – T. 81. – №. 12. – P. 831-835.



253. Oikonomopoulou, K., Hansen, K. K., Saifeddine, M., Tea, I., Blaber, M., Blaber, S. I., ... & Hollenberg, M. D. Proteinase-activated receptors, targets for kallikrein signaling //Journal of Biological Chemistry. – 2006. – T. 281. – №. 43. – P. 32095-32112.
254. Oikonomopoulou, K., Hansen, K. K., Saifeddine, M., Vergnolle, N., Tea, I., Diamandis, E. P., & Hollenberg, M. D. Proteinase-mediated cell signalling: targeting proteinase-activated receptors (PARs) by kallikreins and more //Biological Chemistry. – 2006. – T. 387. – P. 677-685.
255. Oikonomopoulou, K., Ricklin, D., Ward, P. A., & Lambris, J. D. Interactions between coagulation and complement—their role in inflammation //Seminars in immunopathology. – Springer-Verlag, 2012. – T. 34. – №. 1. – P. 151-165.
256. Olejár, T., Matěj, R., Zadinová, M., & Poučková, P. Expression of proteinase-activated receptor 2 during taurocholate-induced acute pancreatic lesion development in Wistar rats //International journal of gastrointestinal cancer. – 2001. – T. 30. – №. 3. – P. 113-121.
257. Ossovskaya V. S., Bunnett N. W. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease //Physiological reviews. – 2004. – T. 84. – №. 2. – P. 579-621.
258. Otsuki, M., Tani, S., Okabayashi, Y., Fuji, M., Nakamura, T., Fujisawa, T., & Itoh, H. Beneficial effects of the synthetic trypsin inhibitor camostatate in cerulein-induced acute pancreatitis in rats //Digestive diseases and sciences. – 1990. – T. 35. – №. 2. – P. 242-250.
259. Page C., Pitchford S. Neutrophil and platelet complexes and their relevance to neutrophil recruitment and activation //International immunopharmacology. – 2013. – T. 17. – №. 4. – P. 1176-1184.
260. Paju, A., Vartiainen, J., Haglund, C., Itkonen, O., von Boguslawski, K., Leminen, A., ...&Stenman, U. H. Expression of trypsinogen-1, trypsinogen-2, and tumor-associated trypsin inhibitor in ovarian cancer: prognostic study on tissue and serum //Clinical cancer research. – 2004. – T. 10. – №. 14. – P. 4761-4768.

261. Park C. W., Ryu K. Y. Cellular ubiquitin pool dynamics and homeostasis //BMB reports. – 2014. – T. 47. – №. 9. – P. 475-482.
262. Peters T., Henry P. J. Protease-activated receptors and prostaglandins in inflammatory lung disease //British journal of pharmacology. – 2009. – T. 158. – №. 4. – P. 1017-1033.
263. Playford, R. J., Hanby, A. M., Patel, K., & Calam, J. Influence of inflammatory bowel disease on the distribution and concentration of pancreatic secretory trypsin inhibitor within the colon //The American journal of pathology. – 1995. – T. 146. – №. 2. – C. 310.
264. Pompili, E., Fabrizi, C., Fornai, F., & Fumagalli, L. Role of the protease-activated receptor 1 in regulating the function of glial cells within central and peripheral nervous system //Journal of Neural Transmission. – 2019. – T. 126. – №. 10. – P. 1259-1271.
265. Poonsin, T., Sripokar, P., Benjakul, S., Simpson, B. K., Visessanguan, W., & Klomklao, S. Major trypsin like-serine proteinases from albacore tuna (Thunnus alalunga) spleen: Biochemical characterization and the effect of extraction media //Journal of Food Biochemistry. – 2017. – T. 41. – №. 2. – P. e12323.
266. Poreba M., Drag M. Current strategies for probing substrate specificity of proteases //Current medicinal chemistry. – 2010. – T. 17. – №. 33. – P. 3968-3995.
267. Prenzel, N., Zwick, E., Daub, H., Leserer, M., Abraham, R., Wallasch, C., & Ullrich, A. EGF receptor transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF //Nature. – 1999. – T. 402. – №. 6764. – C. 884-888.
268. Rakash, S., Rana, F., Rafiq, S., Masood, A., & Amin, S. Role of proteases in cancer: A review //Biotechnology and Molecular Biology Reviews. – 2012. – T. 7. – №. 4. – P. 90-101.
269. Ramachandran R., Hollenberg M.D. Proteinases and signaling: pathophysiological and therapeutic implications via PARs and more // Br. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 153. – P. 263–282.

270. Ramachandran, R., Altier, C., Oikonomopoulou, K., & Hollenberg, M. D. Proteinases, their extracellular targets, and inflammatory signaling //Pharmacological reviews. – 2016. – T. 68. – №. 4. – P. 1110-1142.
271. Ramachandran, R., Noorbakhsh, F., DeFea, K., & Hollenberg, M. D. Targeting proteinase-activated receptors: therapeutic potential and challenges //Nature reviews Drug discovery. – 2012. – T. 11. – №. 1. – P. 69-77.
272. Rawlings A. V., Voegeli R. Stratum corneum proteases and dry skin conditions //Cell and tissue research. – 2013. – T. 351. – №. 2. – P. 217-235.
273. Rehfeld JF., Bundgaard JR., Hannibal J. et al. The Cell-Specific Pattern of Cholecystokinin Peptides in Endocrine Cells Versus Neurons Is Governed by the Expression of Prohormone Convertases 1/3, 2, and 5/6// Endocrinology, 2007, Vol. 149, № 4, P.1600-1608.
274. Rieser P. The insulin-like action of pepsin and pepsinogen //European Journal of Endocrinology. – 1967. – T. 54. – №. 2. – C. 375-379.
275. Rieser P., Rieser C. H. Anabolic Responses of Diaphragm Muscle to Insulin and to Other Pancreatic Proteins //Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. – 1964. – T. 116. – №. 3. – C. 669-671.
276. Roka, R., Demaude, J., Cenac, N., Ferrier, L., Salvador-Cartier, C., Garcia-Villar, R., ... & Bueno, L. Colonic luminal proteases activate colonocyte proteinase-activated receptor-2 and regulate paracellular permeability in mice //Neurogastroenterology & Motility. – 2007. – T. 19. – №. 1. – P. 57-65.
277. Rolland-Fourcade, C., Denadai-Souza, A., Cirillo, C., Lopez, C., Jaramillo, J. O., Desormeaux, C., ...&Berghe, P. V.. Epithelial expression and function of trypsin-3 in irritable bowel syndrome //Gut. – 2017. – T. 66. – №. 10. – P. 1767-1778.
278. Rosendahl, J., Teich, N., Kovacs, P., Szmola, R., Blüher, M., Gress, T. M., ...& Nickel, R. Complete analysis of the human mesotrypsinogen gene (PRSS3) in patients with chronic pancreatitis //Pancreatology. – 2010. – T. 10. – №. 2-3. – P. 243-249.



279. Rowen, L., Williams, E., Glusman, G., Linardopoulou, E., Friedman, C., Ahearn, M. E., ...&Kaur, A. Interchromosomal segmental duplications explain the unusual structure of PRSS3, the gene for an inhibitor-resistant trypsinogen //Molecular biology and evolution. – 2005. – T. 22. – №. 8. – P. 1712-1720.
280. Ruan, G. L., Li, Y., Gao, Z. X., Wang, H. L., & Wang, W. M. Molecular characterization of trypsinogens and development of trypsinogen gene expression and tryptic activities in grass carp (*Ctenopharyngodonidellus*) and topmouthculter (*Culteralburnus*) //Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. – 2010. – T. 155. – №. 1. – P. 77-85.
281. Sahin-Tóth M. Human mesotrypsin defies natural trypsin inhibitors: from passive resistance to active destruction //Protein and peptide letters. – 2005. – T. 12. – №. 5. – P. 457-464.
282. Saifeddine, M., Al-Ani, B., Cheng, C. H., Wang, L., & Hollenberg, M. D. Rat proteinase-activated receptor-2 (PAR-2): cDNA sequence and activity of receptor-derived peptides in gastric and vascular tissue //British journal of pharmacology. – 1996. – T. 118. – №. 3. – P. 521-530.
283. Salameh, M. D. A., Soares, A. S., Alloy, A., &Radisky, E. S. Presence versus absence of hydrogen bond donor Tyr-39 influences interactions of cationic trypsin and mesotrypsin with protein protease inhibitors //Protein science. – 2012. – T. 21. – №. 8. – P. 1103-1112.
284. Salameh, M. D. A., Soares, A. S., Hockla, A., Radisky, D. C., &Radisky, E. S. The P2' residue is a key determinant of mesotrypsin specificity: engineering a high-affinity inhibitor with anticancer activity //Biochemical Journal. – 2011. – T. 440. – №. 1. – P. 95-105.
285. Samad F., Ruf W. Inflammation, obesity, and thrombosis //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2013. – T. 122. – №. 20. – P. 3415-3422.
286. Sato, K., Ninomiya, H., Ohkura, S., Ozaki, H., & Nasu, T. Impairment of PAR-2-mediated relaxation system in colonic smooth muscle after intestinal inflammation //British journal of pharmacology. – 2006. – T. 148. – №. 2. – P. 200-207.

287. Schmaier A. H. Assembly, activation, and physiologic influence of the plasma kallikrein/kinin system //International immunopharmacology. – 2008. – T. 8. – №. 2. – P. 161-165.
288. Schweda, F., Friis, U., Wagner, C., Skott, O., & Kurtz, A. Renin release //Physiology. – 2007. – T. 22. – №. 5. – P. 310-319.
289. Sekiguchi, F., Hasegawa, N., Inoshita, K., Yonezawa, D., Inoi, N., Kanke, T., ... & Kawabata, A. Mechanisms for modulation of mouse gastrointestinal motility by proteinase-activated receptor (PAR)-1 and-2 in vitro //Life sciences. – 2006. – T. 78. – №. 9. – P. 950-957.
290. Sekiguchi, F., Saito, S., Takaoka, K., Hayashi, H., Nagataki, M., Nagasawa, K., ... & Kawabata, A. Mechanisms for prostaglandin E2 formation caused by proteinase-activated receptor-1 activation in rat gastric mucosal epithelial cells //Biochemical pharmacology. – 2007. – T. 73. – №. 1. – P. 103-114.
291. Seo J. H., Kim K. H., Kim H. Role of Proteinase-Activated Receptor-2 on Cyclooxygenase-2 Expression in H. pylori-Infected Gastric Epithelial Cells //Annals of the New York Academy of Sciences. – 2007. – T. 1096. – №. 1. – P. 29-36.
292. Sharma, A., Tao, X., Gopal, A., Ligon, B., Andrade-Gordon, P., Steer, M. L., & Perides, G. Protection against acute pancreatitis by activation of protease-activated receptor-2 //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2005. – T. 288. – №. 2. – P. G388-G395.
293. Sharma, A., Tao, X., Gopal, A., Ligon, B., Steer, M. L., & Perides, G. Calcium dependence of proteinase-activated receptor 2 and cholecystokinin-mediated amylase secretion from pancreatic acini //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2005. – T. 289. – №. 4. – P. G686-G695.
294. Shimazaki Y., Michhiro M. Analysis of trypsin inhibition activity in human plasma proteins after separation by non-denaturing two-dimensional electrophoresis //ClinicaChimicaActa. – 2013. – T. 425. – P. 48-53.
295. Shoelson S. E., White M. F., Kahn C. R. Tryptic activation of the insulin receptor. Proteolytic truncation of the alpha-subunit releases the beta-subunit from



- inhibitory control //Journal of Biological Chemistry. – 1988. – T. 263. – №. 10. – C. 4852-4860.
296. Singh, V. P., Bhagat, L., Navina, S., Sharif, R., Dawra, R. K., & Saluja, A. K. Protease-activated receptor-2 protects against pancreatitis by stimulating exocrine secretion //Gut. – 2007. – T. 56. – №. 7. – P. 958-964.
297. Smalle J., Vierstra R. D. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway //Annu. Rev. Plant Biol. – 2004. – T. 55. – P. 555-590.
298. Smith E. T., Johnson D. A. // Bioengineering the Expression of Active Recombinant Human Cathepsin G, Enteropeptidase, Neutrophil Elastase, and C-Reactive Protein in Yeast. – 2013. – T. 1001. – P. 75.
299. Smith-Swintosky, V. L., Cheo-Isaacs, C. T., D'Andrea, M. R., Santulli, R. J., Darrow, A. L., Andrade-Gordon, P. Protease-activated receptor-2 (PAR-2) is present in the rat hippocampus and is associated with neurodegeneration. Journal of neurochemistry 1997; 69 (5): 1890-1896.
300. Song, J., Li, F., Leier, A., Marquez-Lago, T. T., Akutsu, T., Haffari, G., ...& Pike, R. N. PROSPEROUS: high-throughput prediction of substrate cleavage sites for 90 proteases with improved accuracy //Bioinformatics. – 2017. – T. 34. – №. 4. – P. 684-687.
301. Song, J., Wang, Y., Li, F., Akutsu, T., Rawlings, N. D., Webb, G. I., & Chou, K. C. iProt-Sub: a comprehensive package for accurately mapping and predicting protease-specific substrates and cleavage sites //Briefings in bioinformatics. – 2018. – T. 20. – №. 2. – P. 638-658.
302. Soreide, K., Janssen, E. A., Körner, H., & Baak, J. P. A. Trypsin in colorectal cancer: molecular biological mechanisms of proliferation, invasion, and metastasis //The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland. – 2006. – T. 209. – №. 2. – P. 147-156.
303. Sounni N. E., Noël A. Membrane type-matrix metalloproteinases and tumor progression //Biochimie. – 2005. – T. 87. – №. 3-4. – P. 329-342.

304. Southan C. A genomic perspective on human proteases //FEBS letters. – 2001. – T. 498. – №. 2-3. – P. 214-218.
305. Springer C.J., Calam J. Cholecystokinin cleavage to cholecystokinin-octapeptide in vivo and in vitro: accelerated cleavage in acyde pancreatitis//Gastroenterology.- 1988.- v.95, №1.- P.143-150.
306. Steinhoff, M., Vergnolle, N., Young, S. H., Tognetto, M., Amadesi, S., Ennes, H. S., ... & Bunnett, N. W. Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism //Nature medicine. – 2000. – T. 6. – №. 2. – P. 151-158.
307. Sudhandiran, G., Kalayarasan, S., Divya, T., & Velavan, B. Protease-Activated Receptor Signaling in Lung Pathology //Pathophysiological Aspects of Proteases. – Springer, Singapore, 2017. – P. 567-581.
308. Suen, J. Y., Gardiner, B., Grimmond, S., Fairlie, D. P. Profiling gene expression induced by protease-activated receptor 2 (PAR2) activation in human kidney cells. PLoS One 2010; 5 (11): e13809.
309. Suzuki T., Srivastava A. S., Kurokawa T. cDNA cloning and phylogenetic analysis of pancreatic serine proteases from Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* //Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. – 2002. – T. 131. – №. 1. – P. 63-70.
310. Szmola R., Kukor Z., Sahin-Tóth M. Human mesotrypsin is a unique digestive protease specialized for the degradation of trypsin inhibitors //Journal of Biological Chemistry. – 2003. – T. 278. – №. 49. – P. 48580-48589.
311. Takeda, K., Matsuno, S., Sunamura, M., & Kakugawa, Y. Continuous regional arterial infusion of protease inhibitor and antibiotics in acute necrotizing pancreatitis //The American journal of surgery. – 1996. – T. 171. – №. 4. – P. 394-398.
312. Tanabe L. M., List K. The role of type II transmembrane serine protease-mediated signaling in cancer //The FEBS journal. – 2017. – T. 284. – №. 10. – P. 1421-1436.

313. Tatebe, H., Watanabe, Y., Kasai, T., Mizuno, T., Nakagawa, M., Tanaka, M., & Tokuda, T. Extracellular neurosin degrades  $\alpha$ -synuclein in cultured cells //Neuroscience research. – 2010. – T. 67. – №. 4. – P. 341-346.
314. Toldo, S., Seropian, I. M., Mezzaroma, E., Van Tassel, B. W., Salloum, F. N., Lewis, E. C., ...& Abbate, A. Alpha-1 antitrypsin inhibits caspase-1 and protects from acute myocardial ischemia–reperfusion injury //Journal of molecular and cellular cardiology. – 2011. – T. 51. – №. 2. – P. 244-251.
315. Tóth, J., Siklódi, E., Medveczky, P., Gallatz, K., Németh, P., Szilágyi, L., ...& Palkovits, M. Regional distribution of human trypsinogen 4 in human brain at mRNA and protein level //Neurochemical research. – 2007. – T. 32. – №. 9. – P. 1423-1433.
316. Toyoda, N., Gabazza, E. C., Inoue, H., Araki, K., Nakashima, S., Oka, S., ... & Adachi, Y. Expression and cytoprotective effect of protease-activated receptor-1 in gastric epithelial cells //Scandinavian journal of gastroenterology. – 2003. – T. 38. – №. 3. – P. 253-259.
317. Tsuboi, H., Naito, Y., Katada, K., Takagi, T., Handa, O., Kokura, S., ... & Yoshikawa, T. Role of the thrombin/protease-activated receptor 1 pathway in intestinal ischemia-reperfusion injury in rats //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2007. – T. 292. – №. 2. – P. G678-G683.
318. Valentini L, Schuetz T, Omar A, Gläser S, Kasim E, et al. Abnormal plasma peptide YY(3-36) levels in patients with liver cirrhosis//Nutrition, 2011, 27: 880-884.
319. Vandooren J., Van den Steen P. E., Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): the next decade //Critical reviews in biochemistry and molecular biology. – 2013. – T. 48. – №. 3. – P. 222-272.
320. Vellani, V., Kinsey, A. M., Prandini, M., Hechtfisher, S. C., Reeh, P., Magherini, P. C., ...& McNaughton, P. A. Protease activated receptors 1 and 4 sensitize TRPV1 in nociceptive neurones //Molecular pain. – 2010. – T. 6. – №. 1. – P. 61-69.



321. Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms //Journal of International Medical Research. – 2009. – T. 37. – №. 5. – P. 1528-1542.
322. Vergnolle, N., Bunnett, N. W., Sharkey, K. A., Brussee, V., Compton, S. J., Grady, E. F., ... & Wallace, J. L. Proteinase-activated receptor-2 and hyperalgesia: a novel pain pathway //Nature medicine. – 2001. – T. 7. – №. 7. – P. 821-826.
323. Vergnolle, N., Macnaughton, W. K., Al-Ani, B., Saifeddine, M., Wallace, J. L., & Hollenberg, M. D. Proteinase-activated receptor 2 (PAR2)-activating peptides: identification of a receptor distinct from PAR2 that regulates intestinal transport //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – T. 95. – №. 13. – P. 7766-7771.
324. Wang Y., Luo W., Reiser G. Trypsin and trypsin-like proteases in the brain: proteolysis and cellular functions //Cellular and Molecular Life Sciences. – 2008. – T. 65. – №. 2. – P. 237-252.
325. Wang, F. Q., So, J., Reierstad, S., & Fishman, D. A. Matrilysin (MMP-7) promotes invasion of ovarian cancer cells by activation of progelatinase //International journal of cancer. – 2005. – T. 114. – №. 1. – P. 19-31.
326. Wang, J., Jin, H., Hua, Y., Keep, R. F., & Xi, G. Role of protease-activated receptor-1 in brain injury after experimental global cerebral ischemia //Stroke. – 2012. – T. 43. – №. 9. – P. 2476-2482.
327. Wang, W. R., Zhu, R. R., Xiao, R., Liu, H., & Wang, S. L. The electrostatic interactions between nano-TiO<sub>2</sub> and trypsin inhibit the enzyme activity and change the secondary structure of trypsin //Biological trace element research. – 2011. – T. 142. – №. 3. – P. 435-446.
328. Watts V. L., Motley E. D. Role of protease-activated receptor-1 in endothelial nitric oxide synthase-Thr495 phosphorylation //Experimental Biology and Medicine. – 2009. – T. 234. – №. 2. – P. 132-139.



329. Wedner H. J. Lymphocyte activation //Advances in Immunopharmacology: Proceedings of the Second International Conference on Immunopharmacology, July 1982, Washington, USA. – Elsevier, 2013. – P. 81.
330. Xu, W. F., Andersen, H., Whitmore, T. E., Presnell, S. R., Yee, D. P., Ching, A., ... & Foster, D. C. Cloning and characterization of human protease-activated receptor 4 //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – T. 95. – №. 12. – C. 6642-6646.
331. Xu, Z., Xu, H., Ploplis, V. A., & Castellino, F. J. Factor VII deficiency impairs cutaneous wound healing in mice //Molecular medicine. – 2010. – T. 16. – №. 5-6. – P. 167-176.
332. Yau M. K., Liu L., Fairlie D. P. Toward drugs for protease-activated receptor 2 (PAR2) //Journal of medicinal chemistry. – 2013. – T. 56. – №. 19. – P. 7477-7497.
333. Yeaman M. R. Platelets in defense against bacterial pathogens //Cellular and molecular life sciences. – 2010. – T. 67. – №. 4. – P. 525-544.
334. Yike I. Fungal proteases and their pathophysiological effects //Mycopathologia. – 2011. – T. 171. – №. 5. – P. 299-323.
335. Yoshida, N., Isozaki, Y., Takagi, T., Takenaka, S., Uchikawa, R., Arizono, N., ... & Okanoue, T. anti-tryptase therapy in inflammatory bowel disease //Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 2006. – T. 24. – P. 249-255.
336. Yoshida, N., Kajikawa, H., Katada, K., Hirayama, F., Handa, O., Takagi, T., ... & Okanoue, T. H-pylori protease activates gastric epithelial cells to produce IL-8 through protease-activated receptor 2 //Gastroenterology. – INDEPENDENCE SQUARE WEST CURTIS CENTER, STE 300, PHILADELPHIA, PA 19106-3399 USA ; WB SAUNDERS CO-ELSEVIER INC, 2006. – T. 130. – №. 4. – P. A522-A522.
337. Yoshida, N., Katada, K., Handa, O., Takagi, T., Kokura, S., Naito, Y., ... & Okanoue, T. Interleukin-8 production via protease-activated receptor 2 in human esophageal epithelial cells //International journal of molecular medicine. – 2007. – T. 19. – №. 2. – P. 335-340.

338. Younas, H., & Akhtar, M. Studies on the regioselectivity and kinetics of the action of trypsin on proinsulin and its derivatives using mass spectrometry // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. – 2013. – T. 1834. – №. 1. – P. 182-190.
339. Zeng, X., Zhang, S., Xu, L., Yang, H., & He, S. Activation of protease-activated receptor 2-mediated signaling by mast cell tryptase modulates cytokine production in primary cultured astrocytes // *Mediators of inflammation*. – 2013. – T. 2013. – P. 148-157.
340. Zhao A., Shea-Donohue T. PAR-2 agonists induce contraction of murine small intestine through neurokinin receptors // *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2003. – T. 285. – №. 4. – P. G696-G703.
341. Zhao, T., Harada, H., Teramura, Y., Tanaka, S., Itasaka, S., Morinibu, A., ...& Saji, H. A novel strategy to tag matrix metalloproteinases-positive cells for in vivo imaging of invasive and metastatic activity of tumor cells // *Journal of Controlled Release*. – 2010. – T. 144. – №. 1. – P. 109-114.
342. Zheng X. L., Renaux B., Hollenberg M. D. Parallel contractile signal transduction pathways activated by receptors for thrombin and epidermal growth factor-urogastrone in guinea pig gastric smooth muscle: blockade by inhibitors of mitogen-activated protein kinase-kinase and phosphatidylinositol 3'-kinase // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1998. – T. 285. – №. 1. – P. 325-334.
343. Zoll, S., Stanchev, S., Began, J., Škerle, J., Lepšík, M., Peclínovská, L., ...& Strisovský, K. Substrate binding and specificity of rhomboid intramembrane protease revealed by substrate-peptide complex structures // *The EMBO journal*. – 2014. – T. 33. – №. 20. – P. 2408-2421.
344. Zündorf G., Reiser G. The phosphorylation status of extracellular-regulated kinase 1/2 in astrocytes and neurons from rat hippocampus determines the thrombin-induced calcium release and ROS generation // *Journal of neurochemistry*. – 2011. – T. 119. – №. 6. – P. 1194-1204.

(Монография)

**«ПРОТЕАЗЫ И ПРОТЕАЗО-  
АКТИВИРУЕМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В  
ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ  
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО  
ТРАКТА»**

**Алейник В.А.,  
Бабич С.М.,  
Жураева М.А.**

**Korrektor va dizayn: K.B. Baxridinov**  
**Format 60x90/16,**  
**Ofset qog'ozi. Garnitura Times New Roman.**  
**170127, Andijon, Yu.Otabekov ko'chasi, 1-uy.**  
**Telefon: +998889993415**  
**e-mail: ClinicalBooksShop@mail.ru**  
**[http:// ClinicalBooksShop.uz](http://ClinicalBooksShop.uz)**

**Тошкент-2022**