

Аллостерические процессы при наркологической патологии

ПАНЧЕНКО Л.Ф.

д.м.н., академик РАМН, руководитель лаборатории биохимии
Национального научного центра наркологии Минздрава России, Москва

БАЛАШОВ А.М.

д.м.н., зам. директора Московского НИИ психиатрии Минздрава России, Москва

Известные на сегодняшний день гипотезы предполагают, что в основе формирования зависимости от различных аддитивных средств лежат общие нейрохимические изменения активности моноаминовых медиаторных систем. Функциональное состояние последних регулируется многими трансмиссивными и модуляторными системами, которые являются первичной мишенью для наркотиков разных фармакологических групп, при этом механизм влияния на клетки зависит от природы действующего вещества. Этанол, имеющий хорошую растворимость в мембранах, вследствие изменения физико-химических свойств вызывает конформационные перестройки мембраносвязанных белков, главным образом рецепторов, с последующим нарушением их функций; механизм действия этанола имеет характер неспецифической аллостерической регуляции. Опиоиды, действуя прецизионно на высокоспецифичные рецепторы, индуцируют биохимические реакции, протекающие с участием аллостерических процессов различных видов. Кокаин и каннабиноиды занимают промежуточное положение, демонстрируя гетерогенность мест приложения активности и разнообразие аллостерических регуляторных влияний. В обзоре проанализированы данные литературы об аллостерической регуляции рецепторных структур в механизме действия аддитивных средств, обсуждаются вопросы ее физиологической значимости и перспективы использования аллостерических регуляторов для лечения наркологических заболеваний.

Введение

К настоящему времени сформировались устойчивые взгляды на механизмы развития зависимости от психоактивных веществ. Выдвинут целый ряд гипотез, постулирующих ведущую роль нарушений функциональной активности медиаторных систем головного мозга, прежде всего, моноаминовых, в патогенезе наркологических заболеваний [например, 59]. Полагают, что, невзирая на различия в начальных этапах фармакологического действия аддитивных средств на организм, единые механизмы зависимости реализуются в ЦНС за счет множественных конвергентных межсистемных регуляторных взаимодействий [2].

С другой стороны, регуляторные влияния одних нейромедиаторных систем на другие представляются лишь одним из уровней в системе модулирующих воздействий, которые составляют нейрохимическую основу пластичности структур головного мозга. Имеющиеся экспериментальные данные и теоретические построения позволяют предположить, что согласованная работа отдельных образований ЦНС (в анатомическом и физиологическом смысле) в немалой степени зависит от регуляторных процессов, реализующихся в:

межсистемных влияниях, как указано выше;

нейрохимических системах вследствие взаимного влияния отдельных компонент, например при саморегуляции по принципам обратной связи;

функционировании макромолекул, составляющих эти нейрохимические системы, — рецепторов, транспортеров и др.

Согласно сведениям научной литературы, все большее внимание исследователей привлекают вопросы, связанные с последним из перечисленных способов регуляции, в частности на уровне рецепторов. Помимо теоретического интереса, который представляют новые данные о процессах специфической рецепции низкомолекулярных соединений, исследования рецепторов имеют выраженный прикладной характер. Это, в частности, обусловлено тем обстоятельством, что в настоящее время доля назначаемых

пациентам лекарственных средств с рецепторным механизмом действия достигает 60%, а в клинике психиатрии и наркологии превышает эту величину. В значительной степени проблемы лекарственной совместимости и толерантности к терапии наркологических и психиатрических больных могут объясняться с позиций влияния лекарств на различные рецепторные структуры или индивидуальными особенностями состояния рецепции.

Одним из аспектов функционирования рецепторов, обсуждаемых в литературе последнего десятилетия, представляются вопросы об их аллостерической регуляции. Уже сам термин *аллостерическая* содержит в себе утверждение, что этот тип модификации рецепторного взаимодействия осуществляется в локусах, отличающихся от первичного активного центра рецептора. В настоящем обзоре мы сфокусируем внимание на аллостерических процессах, протекающих в различных рецепторных системах, которые представляют собой мишени для аддитивных средств. Авторы настоящего обзора стояли у истоков формирования научных взглядов на рецепторы как аллостерически регулируемые структуры, наличия эндогенных регуляторов и целесообразности использования модуляторов рецепции в клинике, в том числе в наркологии.

Регуляция рецепторных структур этиловым спиртом

В исследованиях, посвященных нейрохимическим и нейрофизиологическим механизмам влияния алкоголя на организм, можно встретить указания на его специфическое действие на некоторые рецепторные системы и, прежде всего, ГАМК_A- и опиоидные рецепторы (ОР). С другой стороны, данные литературы свидетельствуют, что этиловый спирт, в той или иной степени, способен изменять параметры связывания и функциональной активности практически всех исследованных рецепторов [Семке В.Я. и соавт., 2002]. Для прояснения вопроса о «рецепторных» механизмах действия этанола обратимся к постулатам современных теорий рецепции.

Существующие варианты гипотез о взаимодействии лигандов с рецептирующими структурами достаточно

полно освещены в научной печати [12], и мы не будем их здесь приводить. Общее свойство, присущее разным взглядам на химические процессы при рецепции низкомолекулярных соединений, заключается в том, что первичным актом связывания является «узнавание», в основе которого лежит пространственное соответствие молекулярных доменов лиганда и связывающего участка рецептора. Последний может отличаться от активного центра и, в таком случае, он представляет собой аллостерический регуляторный сайт. Независимо от функциональной значимости связывающего участка связывание с ним осуществляется не менее чем в двух (по некоторым теориям — трех) точках. Следовательно, молекула предполагаемого лиганда должна иметь не менее двух функциональных групп, несущих на себе электрический заряд для адекватного ориентирования по вектору зарядов места связывания. Этанол не удовлетворяет этому требованию, поскольку в его химической структуре содержится только одна отрицательно заряженная группа — ОН, поэтому утверждения о наличии «специфического» локуса для этилового алкоголя, например на ГАМК_A-рецепторе [65], представляются несколько поспешными. Объяснение экспериментальных данных о действии этанола на рецепторы с большей вероятностью может быть дано с позиций их чувствительности к фазовому состоянию мембранных липидов в микроокружении.

В самом деле, физико-химические свойства этанола включают в себя чрезвычайно высокую растворимость как в полярных, так и неполярных растворителях, в рассматриваемом контексте — воде и мембранных липидах. В соответствии с этим наиболее вероятной причиной нарушений рецепции алкоголем представляется его неспецифическое мембранотропное действие, приводящее к изменению физико-химических характеристик мембран [13]. Таким образом, механизм влияния этанола на мембранные белки может быть описан как «аллостерический», поскольку отсутствует прямое взаимодействие с активным центром, и «неспецифический» в плане воздействия на определенный тип рецепторов. С этих позиций рассмотрим примеры изменения состояния некоторых рецепторов под действием алкоголя.

Согласно широко представленным в литературе данным, ГАМК_A-рецепторы принимают участие в реализации фармакологической активности этанола, в том числе его подкрепляющих свойств [44]. Полагают, что седативное действие алкоголя связано с его действием как «позитивного аллостерического модулятора» ГАМК_A-рецепторов по аналогии с бензодиазепиновыми транквилизаторами и барбитуратами [61]. Однако имеются данные о негативном влиянии этилового спирта на ГАМК_A-рецепторный комплекс [53]. Специфические аллостерические модуляторы этих рецепторов, такие, как нейростероиды, могут модифицировать развитие толерантности к этанолу [20]. Инверсные агонисты бензодиазепинового сайта ГАМК_A-рецепторов в большей степени, чем агонисты, ингибируют проявления экспериментальной алкогольной зависимости [80].

Как уже отмечалось выше, результаты влияния алкоголя на состояние ГАМК_A-рецепторов имеют противоречивый характер и могут зависеть от субъединичного состава рецепторного комплекса [82]. В проводящихся исследованиях в основном применяется фармакологическая методология, когда определяемым параметром является интегративный показатель функционирования системы, например состояние хлорного канала [17]. Вместе с тем,

приведенных фактов достаточно для предварительного заключения, что функционирование ГАМК-ергической системы подвержено неспецифической регуляции этанолом, а специфические аллостерические регуляторы ГАМК_A-рецепторов, в свою очередь, являются перспективными соединениями для коррекции вызванных алкоголем нарушений.

ГАМК_A-рецепторы принадлежат к суперсемейству, в состав которого также входят 5-НТЗ-серотониновые рецепторы. В соответствии с этим небезыntenесно проследить, может ли этанол выступать в роли модулятора этих связывающих участков. В модельных экспериментах на культуре клеток показано, что этиловый спирт аллостерически регулирует эффективность ответа на стимуляцию 5-НТЗ-рецепторов [86]. Результаты тестирования широкого круга спиртов приводят к заключению, что они могут оказывать как положительное, так и отрицательное воздействие на эти рецепторы, а их взаимовлияние также имеет аллостерический характер. Последнее обстоятельство свидетельствует против существования «алкогольного рецептора». Хотя регуляторная способность спиртов не коррелирует с их гидрофобными свойствами, авторы делают предположение о наличии множества участков связывания спиртов на гидрофобных участках, ассоциированных с рецептором, что не противоречит основному мембранотропному эффекту этанола.

При исследовании действия веществ на ионотропные рецепторы методами оценки их функционального состояния часто приходится сталкиваться с необходимостью дифференциации между непосредственным влиянием на рецептирующую часть макромолекулы и открытием канала. Этанол здесь не исключение. Рассмотрим некоторые свидетельства влияния этанола на стрихнинчувствительный глициновый рецептор (ГлиР).

Господствовавшая до середины 90-х годов XX в. точка зрения постулировала неспецифический характер воздействия этанола, других спиртов, так же как и средств для ингаляционного наркоза, на ЦНС. Впоследствии появились данные, что генноинженерные манипуляции с ГлиР и родственным ему ГАМК_A-рецептором, функция которых активируется этанолом, могут приводить к изменению активности спирта [53]. Так, направленная замена в

1-субъединице ГлиР остатка серина-267 на изолейцин или валин устраняет действие этанола, введение в это положение малых по размеру остатков аланина или глицина потенцирует, а крупных аминокислот — гистидина или цистеина, — ингибирует его эффект [84]. На основании этих результатов и с учетом того, что эффект этанола наблюдается только в присутствии глицина, делается предположение о значимости домена, содержащего серин-267, для аллостерического взаимодействия молекулы этанола с ГлиР. Вместе с тем, известны варианты молекулярно-генетических изменений ГлиР, при которых канал остается в открытом состоянии вне зависимости от наличия агониста глицина — замена апартата-97 1-субъединицы на аргинин. В этом случае активирующее действие этанола сохраняется, что свидетельствует о независимости эффектов спирта на связывание и функционирование ионного канала [21]. Необходимо отметить, что приведенные данные могут быть объяснены с позиций неспецифического действия этанола на мембрану, что формально соответствует понятию *аллостерическое воздействие*.

Аналогично ГлиР этанол может модифицировать активность пуриновых рецепторов P2X-типа. Наблюдающе-

еся в этом случае аллостерическое ингибирование осуществляется за счет снижения сродства активного центра к агонисту — АТФ [81]. При этом дозозависимый эффект регистрируется только при экстрацеллюлярной аппликации этилового спирта, а аналогичная активность других спиртов ранжируется в соответствии с размером их молекулы и гидрофобными свойствами. Предполагают, что этанол взаимодействует с липидным участком в микроокружении внешнего домена P2X-рецептора.

Ниже обсуждаются данные о возможности коррекции вызванных алкоголем нарушений с помощью аллостерического регулятора ОР-интерферона. Однако необходимо отметить, что аллостерические регуляторы не только опиоидных и ГАМК_A, но и других типов рецепторов могут иметь применение в наркологической клинике. Так, известный препарат, подавляющий влечение к алкоголю у пациентов с абстинентным синдромом, — акампрозат может реализовать свое действие по аллостерическому механизму. Связываясь с аллостерическим регуляторным сайтом для полиаминов на NMDA-рецепторе, акампрозат модифицирует как рецепцию в активном глутаматном центре, так и взаимодействие дициклопина с ионным каналом. Рецепция самого акампрозата может регулироваться двухвалентными катионами по негативному аллостерическому механизму [57].

Заканчивая рассмотрение аллостерических механизмов действия алкоголя, можно сделать заключение, что его фармакологические эффекты, в основе которых лежит неспецифическое мембранотропное действие, могут изменяться соединениями со специфичным механизмом действия через модификацию различных рецепторов.

Аллостерические механизмы действия кокаина

Хотя клинические проявления алкоголизма и кокаиновой зависимости существенно различаются, с биохимической точки зрения существует определенное сходство во влиянии кокаина и алкоголя на нейрохимические системы ЦНС. Подобие не определяется в плане исходного предпочтительного влияния на те же структуры, а связано с тем обстоятельством, что для обоих веществ существует множество точек приложения их активности. Вместе с тем, для кокаина характерно более специфическое взаимодействие с биологическими макромолекулярными комплексами.

Полагают, что основной нейрохимической структурой — мишенью для действия кокаина — является дофаминовая система, при этом алкалоид может независимо взаимодействовать с ее разными компонентами. Биохимические последствия применения кокаина связаны со стимуляцией выброса дофамина (ДА) и ингибированием его переносчика в системе обратного захвата. Первоначально предполагалось, что связывание кокаина с транспортером ДА может иметь конкурентный характер [18]. Более того, в отсутствие собственного связывающего центра именно переносчик ДА рассматривался в качестве кандидата на роль «кокаинового рецептора» [26]. В принципиальном смысле такая точка зрения имеет право на существование и сегодня, хотя представления о характере влияния алкалоида на эту макромолекулярную структуру изменились.

Установлено, что кокаин взаимодействует с транспортером ДА, аллостерически ингибируя связывание агонистов, например GBR 12935, при этом не наблюдается линейной дозовой зависимости в уменьшении им сродства

переносчика [34]. В свою очередь, связывание кокаина аллостерически регулируется катионами натрия. Наблюдаемая динамика имеет сложный характер: в безнатриевой среде связывание не определяется и количество связывающих участков увеличивается одновременно с уменьшением сродства по мере роста концентрации натрия вплоть до физиологических значений.

Для кокаина характерно взаимодействие и с другой транспортной системой — структурами, вовлеченными в захват серотонина. При непосредственном определении меткой отмечено, что на транспортере серотонина существуют высоко- и низкоаффинный центры связывания кокаина, которые аллостерически регулируются антидепрессантами — селективными ингибиторами обратного захвата серотонина (SSRI) [16]. Кроме антидепрессантов этого типа модуляция рецепции алкалоида на переносчике серотонина осуществляется женскими половыми стероидами, такими, как эстрадиол и эстриол [27].

Установлено, что вызванное кокаином увеличение локomotorной активности, так же как и усиление выброса ДА в стриатуме, испытывает ингибиторные влияния со стороны ГАМК-системы. Стимуляция ГАМК-ергической нейротрансдачи позитивными аллостерическими модуляторами бензодиазепинами и нейростероидами, которые имеют различные собственные связывающие центры на ГАМК_A-рецепторе, блокирует указанные поведенческие и биохимические эффекты алкалоида [41, 54].

Предполагается, что в формирование токсических проявлений при передозировке кокаина, так же как и в некоторые вызываемые им моторные реакции, могут быть вовлечены NMDA-рецепторы. При фармакологическом исследовании установлено, что конвульсантный эффект алкалоида так же, как и летальность при применении его больших доз, предотвращаются антагонистами, действующими в первичном (глутаматном) активном центре рецепторов или его аллостерическом регуляторном глициновом сайте [24]. Аллостерические негативные модуляторы менее эффективны в предотвращении летального исхода, однако блокируют конвульсантное действие. Ингибиторы высвобождения глутамата оказались неэффективными.

Точки приложения регуляторной активности кокаина не исчерпываются катехоламиновыми и аминокислотными медиаторными системами. Отмечено аллостерическое ингибирование кокаином мускариновых рецепторов, при этом кокаин не проявляет селективности в отношении подтипов рецепторов, а эффективность не встречающегося в природе (+)энантиомера на порядок выше, чем у (-)изомера [36]. Однако исторически первые указания на возможный аллостерический характер взаимодействия кокаина с биологическими макромолекулами были получены при исследовании кинетики связывания батрахотоксина натриевыми каналами синапсом мозга мышей [67]. При биохимическом тестировании *in vitro* в присутствии кокаина наблюдается увеличение скорости диссоциации токсина из связывающих участков, что, согласно современным воззрениям, строго определяет влияние алкалоида как аллостерическое.

Таким образом, в механизмах действия кокаина на ЦНС отмечаются явления аллостерической регуляции нескольких типов рецептирующих макромолекул, с другой стороны, ряд аллостерических регуляторов представляются эффективным терапевтическим инструментом, препятствующим развитию различных проявлений фармакологической активности алкалоида.

Лиганды каннабиноидных рецепторов как аллостерические модуляторы

Полагают, что, в отличие от рассмотренных выше алкоголя и кокаина, действие алкалоидов конопли на ЦНС имеет специфический характер. Основным соединением, ответственным за фармакологические проявления наркотических препаратов на основе конопли, является 9-тетрагидроканнабинол (ТГК); аналогичный спектр активности проявляют родственные ему минорные алкалоиды. При введении в организм ТГК оказывает анальгетическое, противорвотное, антиглаукомное действие, он также стимулирует аппетит и вызывает некоторые нежелательные психоактивирующие и кардиоваскулярные реакции. Согласно современным воззрениям, все многообразие фармакологических эффектов ТГК обусловлено его взаимодействием со специфическими каннабиноидными рецепторами (КР), популяция которых состоит из двух подтипов — КР1 (центральные) и КР2 (периферические). КР относятся к семейству рецепторов, состоящих из одной полипептидной цепи, образующей 7 трансмембранных доменов [58]. Каннабиноиды связываются с собственными рецепторами в соответствии с их анальгетической активностью и способностью ингибировать аденилатциклазу, проявляя сродство в следующем убывающем ряду: бициклический анальгетик СР-55,940 > дезацетил-левонантрадол > 11-гидроксиг-ТГК = ТГК > каннабинол > каннабидиол = каннабигерол [31]. КР1 сопряжены с G-белком подтипа $G_{i/o}$ и регулируют активность эффекторных комплексов: аденилатциклазы, кальциевые и калиевые каналы. В сопряжении с G-белком, но не рецепции лигандов, принимают участие остатки аспартата 163 (КР1) и 80 (КР2), как показано при помощи направленного мутагенеза [77]. Связывание каннабиноидных лигандов с рецептором приводит к аллостерически индуцируемому изменению рецепции некоторых нейромедиаторов, в том числе опиоидов. Кроме каннабиноидов лигандами КР являются эндогенные соединения — эйкозаноиды и аминокислоты [46].

При рецепции различных лигандов КР наблюдается феномен негативного кооперативного взаимодействия, когда акт связывания одного лиганда приводит к уменьшению связывающей способности оставшегося неоккупированного рецептора [40]. Это явление объясняется существованием сопряжения между отдельными полипептидными цепями рецептора, а с другой стороны, представляет собой разновидность аллостерической регуляции.

Сами КР испытывают ингибиторное аллостерическое регуляторное влияние со стороны катионов натрия и магния, а также гуаниновых нуклеотидов. Эти регуляторы не влияют на связывание антагонистов, однако снижают сродство рецепторов к агонистам, при этом модулирующий эффект выражен тем сильнее, чем выше агонистические свойства лигандов [42].

Отмечено, что каннабиноиды имеют структурное сходство со стероидными гормонами, более того, КР1 имеют сходное распределение с центральными глюкокортикоидными рецепторами в гиппокампе. Анатомические и клеточные проявления в гиппокампе после экзогенного введения глюкокортикоидов и каннабиноидов также имеют сходный характер. В этой связи не выглядит неожиданным то, что ТГК может влиять на глюкокортикоидные рецепторы. В экспериментах *in vitro* показано, что алкалоид способен аллостерически ингибировать рецепцию дексаметазона [33]. Кроме того, описаны и другие эффекты ТГК на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую

ось; даже в тех случаях, когда авторами отрицается рецепторный механизм в отдельных эффектах каннабиноидов, например при стимуляции синтеза стероидов в коре надпочечников, описывается аллостерический способ взаимодействия с нерцептирующими белками [87].

ТГК и аналоги также способны непосредственно взаимодействовать с некоторыми медиаторными рецепторами. С использованием культуры клеток НЕК293, экспрессирующих ген 5-НТ(3А) серотониновых рецепторов человека, показано, что в основе ингибирования каннабиноидными лигандами лежит их действие как негативных аллостерических модуляторов этих рецепторов. В уточняющих экспериментах было исключено возможное влияние путем взаимодействия ТГК и аналогов с КР [19]. ТГК, каннабидиол и гексагидроканнабинол аллостерически ингибируют связывание опиоидных лигандов (агонистов и антагонистов) с ОР - и -, но не -типа. Поскольку эффект наблюдается как на мембраносвязанных, так и солюбилизованных рецепторах, можно заключить, что взаимодействие происходит непосредственно с рецептирующими макромолекулами. Подобной активности ТГК не обнаруживается по отношению к дофаминовым и мускариновым рецепторам [78]. Возможно, функциональное состояние перечисленных рецепторных систем в физиологических условиях находится под регулирующим влиянием эндогенных лигандов КР.

Хотя существование специфических КР представляется доказанным, приведенные данные свидетельствуют о возможном вовлечении других рецепторных структур в проявления фармакологической активности каннабиноидов.

Аллостерические процессы при рецепции опиоидных лигандов

Согласно сложившейся точке зрения алкалоиды опиума и их синтетические аналоги осуществляют свое фармакологическое действие вследствие высокоспецифичного взаимодействия с ОР. Современная история исследования ОР и их эндогенных лигандов насчитывает 30 лет, в течение которых в результате многочисленных исследований сформулированы представления об опиоидных системах (ОС), выявлены их структурные особенности, описаны их функции и роль в различных патологических процессах, в том числе наркологического плана. Считается, что за развитие психической зависимости от опиатов отвечают мезолимбические дофаминергические проводники, проецирующиеся из вентральной области покрышки (ventral tegmental area) в прилежащее ядро (n. accumbens), тогда как возникновение физической зависимости обусловлено норадренергическими нейронами, начинающимися в голубом пятне (locus coeruleus), обе медиаторные системы регулируются опиоидами [59]. Указанные гипотезы широко известны, нашли признание у научной общественности и описаны во многих работах, число которых исчисляется тысячами.

Исходя из сказанного, можно было бы полагать, что в рамках собственно ОС фармакологический эффект опиатов и опиоидов реализуется по механизму активации ОР и соответствующих пострецепторных процессов, усиливая регулирующее влияние на различные медиаторные системы. Более того, уместно ожидать, и эти ожидания находят экспериментальное подтверждение, что при хроническом применении опиатов развиваются адаптивные изменения со стороны компонентов ОС компенсаторной направленности — феномен десенситизации.

Вместе с тем, в научной литературе время от времени появляются публикации, свидетельствующие о том, что:

взаимодействие лигандов с ОР имеет комплексный характер и не удовлетворяет условиям уравнения химической реакции первого порядка;

акт связывания лигандов с ОР имеет необходимым следствием снижение эффективности рецепции за счет ингибирования со стороны эффекторной части рецептора;

существует возможность специфической модификации рецепции опиатов эндо- и экзогенными соединениями.

Указанные возможности не опровергают основных теоретических положений о функциях ОС, их физиологической и патогенетической значимости, но лишь уточняют наши знания об этом и способствуют формированию более полных представлений о нейрохимических механизмах как фармакологического действия опиатов, так и опиоидной наркомании. Результаты научных исследований по перечисленным направлениям имеют отношение к проблеме аллостерической регуляции рецепторных структур, которая подразделяется на несколько подвидов.

Кооперативное взаимодействие

При исследовании проблемы гетерогенности ОР было установлено, что лиганды непептидной природы, связывающиеся μ -рецепторами, аллостерически ингибируют рецепцию пептидов δ -рецепторами и *vice versa*. Модуляторная способность лигандов коррелирует с их сродством к собственным связывающим участкам [71]. Негативное кооперативное взаимодействие опиоидных лигандов было подтверждено методом направленной химической модификации рецепторов специфическими алкилирующими реагентами [70]. С использованием μ -эндорфина в качестве неселективного лиганда ОР с последующим титрованием широким спектром пептидных и непептидных опиоидов было установлено существование рецепторов разных типов в виде сопряженных комплексов, способных к взаимному аллостерическому модулированию [73].

На основе этих данных с привлечением результатов о межрецепторном реципрокном влиянии μ/δ -комплекса и δ -рецепторов было предложено в качестве терапевтической процедуры при передозировке опиоидных алкалоидов использовать μ -селективные лиганды [59]. Хотя в этом случае необходимо учитывать то обстоятельство, что лиганды μ -рецепторов способны к непосредственному взаимодействию в ЦНС с рецепторами других типов, например глюкокортикоидными [35]. Кооперативная модель используется в ряде случаев для объяснения взаимодействия опиоидных агонистов и антагонистов как *in vitro* [43], так и *in vivo* [29].

Функциональная регуляция

Под функциональной аллостерической регуляцией понимают модуляцию связывания лигандов в активном центре рецептора вследствие специфического взаимодействия с сопряженным эффектором — G-белком или ионным каналом. Ингибирование под действием гуаниновых нуклеотидов (ГН), связываемых G-белком, характерно для ОР μ -, δ -, κ -типов [30]. При этом регулируется связывание агонистов, а рецепция антагонистов в присутствии ГН остается неизменной независимо от подтипа ОР [39].

Интересно отметить, что рецепторы к ноцицептину, известные как опиоидоподобные (opioid receptor-like receptor), также чувствительны к аллостерическому ингибированию ГН [25]. ГН усиливают скорость диссоциации комплекса лиганд—рецептор, переводя процесс из моно-

в бифазный, при этом величина равновесной константы диссоциации, рассчитанная из кинетических определений, на порядок меньше выявляемой при равновесном анализе [64].

При хроническом применении наркотиков-опиатов возможно включение еще одного аллостерического процесса, влияющего на сопряженность рецептора с G-белками. Происходит накопление ганглиозида GM1, который вызывает конформационные изменения в ОР, переводя их сопряжение с G_i на G_s [83]. Биохимический эффект ганглиозида GM1 выражается в обращении им некоторых фармакологических эффектов морфина, в том числе развитие толерантности и зависимости [74].

Существование сложных взаимоотношений между рецепцией агонистов и антагонистов делает правомерным вопрос об идентичности центров связывания лигандов с противоположной фармакологической активностью, тем более что в пользу правомерности этого вопроса свидетельствуют результаты молекулярно-генетических экспериментов. На примере ОР μ -типа были получены данные о том, что агонисты и антагонисты взаимодействуют с комплексами, различающимися по размеру [47]. Антагонисты связывались с рецептором, имеющим константу седиментации 10S ($M_r = 230\,000$) и нечувствительным к действию гуанил-5-ил-имидодифосфата; тогда как агонисты — с чувствительным к аналогу ГТФ комплексом 12S ($M_r = 300\,000$). Было выдвинуто предположение, что ОР может быть ассоциирован с G-белком, только присутствуя в агонистической конформации, в отличие от антагонистической.

Группоспецифическая регуляция

Группоспецифическая аллостерическая регуляция характерна для действия ионов, которые оказывают одностороннее действие на рецепторы разных видов. Впервые данные о регуляции на приеме процессов комплексообразования рецептор—лиганд были описаны в середине 70-х годов XX в. В пионерской работе, выполненной в лаборатории Snyder S.H., было показано, что Na^+ изменяет связывающую активность опиоидных рецепторов, ингибируя связывание агонистов [63]. Авторы ввели понятие *натриевого сдвига* (sodium shift), т.е. сдвига кривой доза—эффект вправо в присутствии Na^+ , как дискриминантной характеристики при биохимическом тестировании соединений на агонистическую/антагонистическую активность. Впоследствии эти данные были многократно подтверждены и уточнены. Так, было показано, что натрий вызывает конформационные изменения макромолекулярного комплекса ОР [75] и эффект катиона не обусловлен его взаимодействием с G-белком [62]. С другой стороны, не зависящий от Na^+ характер рецепции антагонистов [39] был уточнен в кинетических экспериментах. Оказалось, что при увеличении концентрации катиона его действие проявляется сначала в виде увеличения сродства антагониста, а затем уменьшения количества мест связывания [5]. Таким образом, при использовании физиологической концентрации натрия (условие, выполнявшееся в большинстве исследований) уровень связывания будет неизменным на фоне изменившихся параметров рецепции. Подобная кинетика наблюдается для μ - и δ -рецепторов и не характерна для κ -рецепторов [28]. Влияние натрия на связывание агонистов в качественном отношении одинаково для подтипов ОР, хотя связывающие участки μ -типа на два порядка менее чувствительны к действию катиона по сравнению с δ -рецепторами [85].

Специфическая регуляция

Впервые возможность специфической аллостерической регуляции была продемонстрирована нами при исследовании способности тетрагидроизохинолинов (ТГИХ) и α -карболинов взаимодействовать с ОР [11]. Среди тестированных соединений сальсолинол не только проявил себя как конкурентный антагонист ОР, но и продемонстрировал свойства негативного аллостерического регулятора рецепторов α -типа. Данные об увеличении константы диссоциации рецепторов сальсолинолом были подтверждены [15], а впоследствии представления об аллостерическом характере взаимодействия ТГИХ с ОР были расширены по отношению к другим веществам этого ряда [14]. Вытекающее из биохимических экспериментов заключение о ТГИХ как возможных антагонистах опиоидов нашло подтверждение в фармакологических исследованиях взаимоотношений эндогенных алкалоидов и опиатов [22] или алкоголя [56]. Взаимодействие ТГИХ с ОС могут иметь и более сложный характер: так, в модельных экспериментах продемонстрирована возможность конденсации по реакции Пикте—Шпенглера дофамина, лей-энкефалина и альдегидов с образованием комплекса ТГИХ—энкефалин [38].

Химическая структура ТГИХ оказалась не уникальной в плане осуществления регуляторных влияний на ОР. Способность аллостерически модулировать опиоидную рецепцию продемонстрирована в отношении пептидов. В экспериментах *in vivo* и *in vitro* показано негативное аллостерическое взаимодействие стабильного аналога соматостатина SMS 201-995 по отношению рецепции опиоидных антагонистов [37]. Однако прежде мы описали регуляцию ОР тиролиберинем (ТРГ) [6]. Интересно отметить, что к настоящему времени имеются данные, свидетельствующие о функциональных взаимоотношениях между опиоидными пептидами, ТРГ и соматостатином [48].

Характер регуляции ТРГ опиоидной рецепции зависел от типа активного центра и природы лиганда. При использовании α -селективного агониста ДАДЛ трипептид выступал в роли позитивного модулятора по отношению к высокоаффинным рецепторам и негативного для низкоаффинных связывающих участков. Аналоги ТРГ также проявляли подобные свойства, причем степень активации α -связывания коррелировала со способностью пептидов модифицировать состояние дофаминовой трансмиссии, опиоидная регуляция которой в значительной степени обусловлена α -рецепторами [66]. На рецепцию налоксона ТРГ влиял следующим образом: во-первых, выявлялось три типа связывающих участков, различающихся по показателям сродства к антагонисту; во-вторых, высокоаффинное связывание активировалось ТРГ; в-третьих, сверхнизкоаффинные рецепторы аллостерически ингибировались трипептидом, тогда как ингибирование участков с промежуточным сродством к налоксону относилось к псевдоконкурентному типу [3]. Необходимо отметить, что выявленные изменения аффинности ОР не отражались на результатах анализа вытеснения — степень связывания лигандов оставалась неизменной в присутствии ТРГ. Большинство авторов также говорит о независимости уровня опиоидной рецепции от трипептида *in vitro*, хотя *in vivo* ТРГ и его аналоги изменяют связывающую активность α - и β -рецепторов [50, 55]. Различные механизмы влияния ТРГ на разные популяции ОР могут лежать в

основе его фармакологической активности в отношении опиоидзависимых процессов, когда пептид выступает как агонист или антагонист в зависимости от тестируемого показателя [7, 68], в том числе при наркологической патологии [8].

Полипептидная последовательность б-интерферона (ИФН), для которой характерно некоторое антигенное и структурное сходство с опиоидными пептидами, проявила комплиментарность к ОР. В ранних экспериментах было продемонстрировано, что лейкоцитарный ИФН человека вызывает изменения в ЭЭГ [69] и способен связываться с ОР [9]. Кроме того, препарат был способен к позитивной аллостерической модуляции рецепции опиоидного антагониста налоксона в узком диапазоне концентраций [1]. Аналогичные свойства демонстрировал рекомбинантный ИФН с той разницей, что его способность активировать связывание налоксона была выражена в значительно большей степени [10]. Из сравнения этих результатов вытекает, что действие ИФН в отношении ОР определяется пептидной, а не углеводной компонентой его молекулы. С использованием молекулярно-генетических подходов установлено, что антивирусная и «опиоидная» активность ИФН определяется разными доменами его аминокислотной последовательности [79].

Центральная активность ИФН, в том числе опиоидзависимая, выявлена с использованием поведенческих моделей [52], однако трактовка результатов, полученных *in vivo*, в значительной степени затруднена, поскольку модулирующее влияние ИФН не ограничивается ОР, но выявляется также в отношении других рецепторных структур, например 5-HT₂ серотониновых [49] и, возможно, NMDA-рецепторов [45].

Учитывая то обстоятельство, что ИФН нормализует патогенетически значимые нейрохимические, а также мотивационные нарушения в модели экспериментальной алкогольной зависимости, нами было предположено целесообразное использование этого цитокина в наркологической клинике [4]. Хотя наркологическим больным в основном ИФН назначают при сопутствующих заболеваниях со стороны печени (гепатит, новообразования), его клиническое применение не ограничивается инфекционными и онкологическими заболеваниями. Препараты на основе ИФН испытываются с целью применения, в частности, в кардиологической практике [60]. При этом необходимо учитывать, что неправильное дозирование ИФН может привести к нежелательным побочным эффектам со стороны ЦНС и наркологические больные чаще отказываются от лечения цитокином, чем психиатрические и пациенты с соматическими заболеваниями [72]. Негативные последствия терапии ИФН могут проявляться в виде расстройств личности, когнитивных нарушений, симптомов мании и психозов и исчезают при прерывании назначения ИФН [32].

Рецепция опиоидных лигандов испытывает влияние со стороны многочисленных аллостерических регуляторных процессов. Естественно полагать, что использование фармакологических средств, вмешивающихся в работу опиоидергического синапса на любом из указанных уровней регуляции, может иметь потенциальную терапевтическую значимость для лечения патогенетически значимых проявлений опийной наркомании, однако наиболее предпочтительным выглядит применение специфических регуляторов ОР.

Физиологическое и патогенетическое значение аллостерической регуляции рецепторов

В настоящем обзоре приведены документированные случаи аллостерических регуляторных воздействий при изучении аддитивных средств. За пределами рассмотрения остались публикации, в которых авторы делали заключение об аллостерическом характере влияния тех или иных препаратов, но в качестве тестируемого параметра выбирали интегративный показатель функционирования рецепторных систем, например сократимость мышечных волокон или изменение электрического потенциала мембран. Такой подход позволяет получать важную феноменологическую информацию о состоянии медиаторных систем, однако не является адекватным для рассмотрения тонких регуляторных процессов. Как правило, выводы о характере регуляции в этих случаях имеют вид предположения, оставляя место для иных трактовок. Тем не менее, приведенных данных достаточно для того, чтобы сделать некоторые обобщения и заключения.

Аллостерические процессы представляются распространенным явлением, обеспечивающим согласованную работу различных по своим особенностям рецепторных систем. В приведенных примерах для ОС (см. выше) можно выделить несколько разновидностей влияния регуляторов на параметры функционирования первичного связывающего центра рецептора. Классификационный подход основывается на данных о существовании специального локуса для регулятора и его расположении относительно основного центра. Изменение связывающей активности рецептора после взаимодействия с первой молекулой лиганда соответствует понятию *кооперативное взаимодействие*, которое не требует наличия специального регуляторного локуса, а подразумевает существование сопряжения между рецепторами или субъединицами. При модификации рецепции лигандов соединениями, связывающимися с эффекторной, функциональной частью рецептора, например при взаимодействии гуаниновых нуклеотидов с G-белками, наблюдается «функциональная» аллостерическая регуляция. Необходимо отметить, что чувствительность рецепторов к гуаниновым нуклеотидам является исследовательским критерием для заключения об их принадлежности к разновидности сопряженных с G-белком (G-protein coupled receptors, GPCR). Оба указанных аллостерических процесса представляют собой варианты негеномной внутрисистемной регуляции, направленной против избыточной стимуляции рецептора лигандами. (Значимость феномена «положительной кооперативности», не описанной в отношении аддитивных средств, на сегодняшний день неизвестна). Если регуляторное воздействие на рецепторы осуществляется путем взаимодействия регулятора с липидным бислоем мембраны, уместно предполагать неспецифический аллостерический процесс, как это реализуется при действии этанола. Различная чувствительность отдельных рецепторов к модифицирующему действию этилового спирта легко интерпретируется с привлечением взглядов о существовании липидных доменов в мембране и, следовательно, различном микроокружении рецепторов. На сегодняшний день представления о кооперативном взаимодействии, неспецифической и функциональной аллостерической регуляции имеют теоретическое значение для понимания механизмов развития фармакологического ответа на наркотические препараты, а их использование для создания новых подходов к лечению наркологической и других видов патологии не определено.

Методология исследований, проводящихся с учетом регистрации аллостерических процессов, не только позволила выявить новый механизм взаимодействия соединений с рецепторами, но и повысила уровень знаний о точках приложения активности препаратов, в том числе средств, вызывающих зависимость. Например, кокаин, механизм действия которого связывали с прямым влиянием на дофаминовую нейромедиацию, кроме того, оказался способным непосредственно модифицировать функционирование рецептирующих молекул серотониновой, ацетилхолиновой, глутаминовой систем. Это открывает дополнительные перспективы поиска терапевтических средств для лечения кокаиновой наркомании. Аналогичное рассуждение справедливо в отношении каннабиноидов. Отличие от кокаина состоит в теоретически обоснованном и экспериментально подтвержденном существовании эндогенных лигандов КР, которые могут контролировать состояние опиоидных, серотониновых, глюкокортикоидных, а возможно, и иных рецепторов как в физиологических условиях, так и при использовании препаратов конопли.

Специфическая аллостерическая регуляция рецепторов является еще одной разновидностью регуляторных процессов, наиболее известным примером которой могут служить взаимоотношения бензодиазепиновых транквилизаторов и барбитуратов с ГАМК_A-рецептором. На сегодняшний день эта область рецепторологии интенсивно изучается и количество вновь открываемых регуляторов различных рецепторов постоянно увеличивается. Уже сам приведенный пример «ГАМК-ергических» соединений, имеющих широкое клиническое применение, подчеркивает перспективы практического использования регуляторов. Теоретическое обоснование специфических регуляторов рецепторов как антиаддитивных препаратов может выглядеть следующим образом.

Широко известно и не нуждается в дополнительном подтверждении, что избыточное или недостаточное поступление лигандов к рецептору в течение определенного времени вызывает через геномные механизмы адаптивные изменения со стороны связывающих участков. Они могут выражаться как в количественном (чаще), так и качественном отношении: изменении концентрации рецепторов или их сродства к агонистам соответственно. Однако процесс направлен всегда против воздействия — гиперстимуляция вызывает угнетение, а гипостимуляция активирует функцию рецепторов. В этом суть явления саморегуляции. Аналогичными свойствами обладают аллостерические регуляторы рецепторов. Так, например, при хроническом применении позитивных аллостерических модуляторов никотиновых рецепторов тубокурарина или декаметония наблюдается десенситизация ацетилхолинового участка, сходная с реакцией на избыточную стимуляцию агонистами карбамилхолином или никотином [51]. Сходным образом действует на глутаматный активный центр позитивный модулятор NMDA-рецепторов L-амино-циклопропан-карбоксилат [23]. С другой стороны, хроническое применение такрина, проявляющего в ряде тестов свойства негативного аллостерического модулятора никотиновых рецепторов, вызывает в культуре клеток нейроblastомы SH-SY5Y повышение чувствительности активного центра к ацетилхолину [76]. Хотя исследования в этом направлении не имеют систематического характера, можно заключить, что длительное действие негативных модуляторов напоминает эффект антагонистов, а по-

зитивных — агонистов, что соответствует их функциональной активности. Существенное различие состоит в том, что лиганды приводят к формированию пострецепторных процессов, а модуляторы лишь модифицируют эффект. Таким образом, в лице аллостерических модуляторов исследователи имеют инструмент, способный вызывать адаптивные изменения рецепторов без проявления фармакологической активности. Остается только подобрать для соответствующей патологии патогенетически значимую рецепторную систему и модулятор, действующий в корректирующем направлении, хотя справедливости ради следует сказать, что это решение потребует тщательных исследований.

Список литературы

1. Алябьева Т.Н., Балашов А.М., Панченко Л.Ф. Различное влияние α -интерферона на α - и β -опиатные рецепторы головного мозга крыс// *Нейрохимия*. — 1988. — Т. 7, № 1. — С. 73—77.
2. Анохина И.П. Основные биологические механизмы алкогольной и наркотической зависимости// *Руководство по наркологии*. — Т. 1 / Ред. Н.Н.Иванец. — М.: Медпрактика, 2002. — С. 33—41.
3. Балашов А.М. Алябьева Т.Н. Панченко Л.Ф. Регуляция опиоидных рецепторов аналогами тиролиберина// *Вопр. мед. химии*. — 2002. — Т. 48, № 5. — С. 436—442.
4. Балашов А.М. Регуляция опиоидных рецепторов: новый подход к терапии алкоголизма// Автореф. дисс. на соискание уч. степени д.м.н. — М., 1993. — 36 с.
5. Балашов А.М., Петриченко О.Б., Алябьева Т.Н., Панченко Л.Ф. Опиатная рецепция налоксона в головном мозге крыс: влияние ионов натрия// *Биохимия*. — 1988. — 53. — С. 1527—1531.
6. Балашов А.М., Шуринов М.Р. Влияние тиролиберина на опиатные рецепторы головного мозга крыс// *Бюлл. экп. биол. мед.* — 1986. — Т. 102, № 8. — С. 174—176.
7. Закусов В.В., Яснецов В.В., Островская Р.У., Чукаев В.В., Мотин В.Г. Влияние агонистов и антагонистов опиатных рецепторов на устойчивость животных к гипоксической гипоксии// *Бюлл. экп. биол. мед.* — 1984. — Т. 98, № 12. — С. 680—682.
8. Коханенко Е.М. Участие пептидергических и эндогенной опиатной систем в патогенезе ранних проявлений алкогольного абстинентного синдрома// *Пробл. эндокринол.* — 1988. — 34, № 2. — С. 24—29.
9. Панченко Л.Ф., Алябьева Т.Н., Малиновская В.В., Балашов А.М. Взаимодействие α -интерферона с опиатными рецепторами головного мозга крыс// *Бюлл. экп. биол. мед.* — 1987. — Т. 104, № 7. — С. 87—89.
10. Панченко Л.Ф., Алябьева Т.Н., Петриченко О.Б., Бумялис В.В., Балашов А.М. Специфическое связывание α - и β -лигандов опиатными рецепторами головного мозга крыс в присутствии ре-аферона// *Бюлл. экп. биол. мед.* — 1988. — Т. 106, № 9. — С. 307—309.
11. Панченко Л.Ф., Брусов О.С., Балашов А.М., Гриневич В.П., Островский Ю.М. Взаимодействие некоторых тетрагидроизохинолиновых алкалоидов с опиатными рецепторами гипоталамуса и среднего мозга крыс// *Вопр. мед. химии*. — 1982. — 28. — Вып. 5. — С. 88—92.
12. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ. — Волгоград: Семь ветров. — 1999. — 640 с.
13. Сторожок С.А., Панченко Л.Ф., Филиппович Ю.Д., Глушков В.С. Изменения физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу// *Вопр. мед. химии*. — 2001. — 47. — Вып. 2. — С. 198—208.
14. Ярыгин К.Н., Анкудинова О.Н., Котин А.М. Взаимодействие тетрагидроизохинолинов и 3-аминотетралинов с опиоидными мю-рецепторами// *Биоорг. химия*. — 1991. — Т. 17, № 9. — С. 1172—1176.
15. Airaksinen M.M., Saano V., Steidel E., Juvonen H., Huhtikangas A., Gynther J. Binding of beta-carbolines and tetrahydroisoquinoline by opiate receptors of the delta-type// *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh)*. — 1984. — 55. — P. 380—385.
16. Akunne H., deCosta B.R., Rice K.C., Jacobson A.E., Rothman R.B. Evidence for high and low affinity [3H]cocaine binding sites associated with the serotonin reuptake complex in guinea pig brain: allosteric modulation by paroxetine// *NIDA Res. Monogr.* — 1991. — 105. — P. 547—548.
17. Allan A.M., Wu H., Paxton L.L., Savage D.D. Prenatal ethanol exposure alters the modulation of the gamma-aminobutyric acidA1 receptor-gated chloride ion channel in adult rat offspring// *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1998. — 284. — P. 250—257.
18. Andersen P.H. The dopamine inhibitor GBR 12909: selectivity and molecular mechanism of action// *Eur. J. Pharmacol.* — 1989. — 166. — P. 493—504.
19. Barann M., Molderings G., Bruss M., Bonisch H., Urban B.W., Gothert M. Direct inhibition by cannabinoids of human 5-HT(3A) receptors: probable involvement of an allosteric modulatory site// *Br. J. Pharmacol.* — 2002. — 137. — P. 589—596.
20. Barbosa A.D., Morato G.S. Effect of epipregnanolone and pregnenolone sulfate on chronic tolerance to ethanol// *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2000. — 67. — P. 459—464.
21. Beckstead M.J., Phelan R., Trudell J.R., Bianchini M.J., Mihic S.J. Anesthetic and ethanol effects on spontaneously opening glycine receptor channels// *J. Neurochem.* — 2002. — 82. — P. 1343—1351.
22. Blum K. Narcotic antagonism of seizures induced by a dopamine-derived tetrahydroisoquinoline alkaloid// *Experientia*. — 1988. — 44. — P. 751—753.
23. Boje K.M., Lakhman S.S. Chronic dosing with 1-aminocyclopropanecarboxylic acid, a glycine partial agonist, modulates NMDA inhibition of muscarinic-coupled PI hydrolysis in rat cortical slices// *Neurochem. Res.* — 1998. — 23. — P. 1167—1174.
24. Brackett R.L., Pouw B., Blyden J.F., Nour M., Matsumoto R.R. Prevention of cocaine-induced convulsions and lethality in mice: effectiveness of targeting different sites on the NMDA receptor complex// *Neuropharmacology*. — 2000. — 39. — P. 407—418.
25. Butour J.L., Moisand C., Mazarguil H., Mollereau C., Meunier J.C. Recognition and activation of the opioid receptor-like ORL1 receptor by nociceptin, nociceptin analogs and opioids// *Eur. J. Pharmacol.* — 1997. — 321. — P. 97—103.
26. Calligaro D.O., Eldefrawi M.E. High affinity stereospecific binding of [3H] cocaine in striatum and its relationship to the dopamine transporter// *Membr. Biochem.* — 1987—1988. — 7, N. 2. — P. 87—106.
27. Chang A.S., Chang S.M. Nongenomic steroidal modulation of high-affinity serotonin transport// *Biochim. Biophys. Acta*. — 1999. — 1417. — P. 157—166.
28. Cheney B.V., Lahti R.A. Effect of sodium ion on the affinity of naloxone for the kappa opioid receptor// *Life Sci.* — 1987. — 40. — P. 1071—1074.
29. D'Amato R., Holaday J.W. Multiple opioid receptors in endotoxic shock: evidence for delta involvement and mu-delta interactions in vivo// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1984. — 81. — P. 2898—2901.
30. Demoliou-Mason C.D., Barnard E.A. Distinct subtypes of the opioid receptor with allosteric interactions in brain membranes// *J. Neurochem.* — 1986. — 46. — P. 1118—1128.
31. Devane W.A., Dysarz F.A. 3rd, Johnson M.R., Melvin L.S., Howlett A.C. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain// *Mol. Pharmacol.* — 1988. — 34. — P. 605—613.
32. D'Inella P., Zaccala G., Terazzi M., Olgiati P., Torre E. Psychotic disorders induced by interferon alfa// *Recenti Prog. Med.* — 2002. — 93. — P. 367—369.
33. Eldridge J.C., Murphy L.L., Landfield P.W. Cannabinoids and the hippocampal glucocorticoid receptor: recent findings and possible significance// *Steroids*. — 1991. — 56. — P. 226—231.
34. Eshleman A.J., Calligaro D.O., Eldefrawi M.E. Allosteric regulation by sodium of the binding of [3H]cocaine and [3H]GBR 12935 to rat and bovine striata// *Membr. Biochem.* — 1993. — 10. — P. 129—144.
35. Evans S.J., Searcy B.T., Moore F.L. A subset of kappa opioid ligands bind to the membrane glucocorticoid receptor in an amphibian brain// *Endocrinology*. — 2000. — 141. — P. 2294—2300.
36. Flynn D.D., Vaishnav A.A., Mash D.C. Interactions of cocaine with primary and secondary recognition sites on muscarinic receptors// *Mol. Pharmacol.* — 1992. — 41. — P. 736—742.

37. Foote R.W., Niemerich G. Weakening of naloxone antagonism in vitro and in vivo with octreotide (SMS 201-995)// *Eur. J. Pharmacol.* — 1987. — 141. — P. 325-330.
38. Foppoli C., Cocchia R., Blarzino C., Cini C., Rosei M.A. Tetrahydroisoquinoline derivatives of enkephalins: synthesis and properties// *Biochem. Pharmacol.* — 2002. — 63. — P. 1885-1892.
39. Frances B., Moisand C., Meunier J.C. Na⁺ ions and Gpp(NH)p selectively inhibit agonist interactions at mu- and kappa-opioid receptor sites in rabbit and guinea-pig cerebellum membranes// *Eur. J. Pharmacol.* — 1985. — 117. — P. 223-232.
40. Fride E., Barg J., Levy R., Saya D., Heldman E., Mechoulam R., Vogel Z. Low doses of anandamides inhibit pharmacological effects of delta 9-tetrahydrocannabinol// *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1995. — 272. — P. 699-707.
41. Giorgetti M., Javadi J.I., Davis J.M., Costa E., Guidotti A., Appel S.B., Brodie M.S. Imidazenil, a positive allosteric GABAA receptor modulator, inhibits the effects of cocaine on locomotor activity and extracellular dopamine in the nucleus accumbens shell without tolerance liability// *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1998. — 287. — P. 58-66.
42. Griffin G., Wray E.J., Martin B.R., Abood M.E. Cannabinoid agonists and antagonists discriminated by receptor binding in rat cerebellum// *Br. J. Pharmacol.* — 1999. — 128. — P. 684-688.
43. Herz A., Holtt V. Receptor occupation and pharmacological activity as demonstrated on opiates// *Arzneimittelforschung.* — 1977. — 27. — P. 1865-1867.
44. Hodge C.W., Nannini M.A., Olive M.F., Kelley S.P., Mehmert K.K. Allopregnanolone and pentobarbital infused into the nucleus accumbens substitute for the discriminative stimulus effects of ethanol// *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 2001. — 25. — P. 1441-1447.
45. Hori T., Katafuchi T., Take S., Shimizu N. Neuroimmunomodulatory actions of hypothalamic interferon-alpha// *Neuroimmunomodulation.* — 1998. — 5. — P. 172-177.
46. Howlett A.C. The CB1 cannabinoid receptor in the brain// *Neurobiol. Dis.* — 1998. — 5. — P. 405-416.
47. Jauzac P., Frances B., Puget A., Moisand C., Meunier J.C. Differential regulation of two molecular forms of a mu-opioid receptor type by sodium ions, manganese ions and by guanyl-5'-yl imidodiphosphate// *J. Recept. Res.* — 1986. — 6. — P. 1-25.
48. Konagaya T., Kusugami K., Yamamoto H., Nishio Y., Kaneko H., Nagai H., Mitsuuma T. Effect of intragastric administration of beta-endorphin on thyrotropin-releasing hormone and somatostatin release into gastric lumen of rats// *J. Gastroenterol.* — 1998. — 33. — P. 27-31.
49. Kugaya A., Kagaya A., Uchitomi Y., Yokota N., Yamawaki S. Effect of interferon-alpha on DOI-induced wet-dog shakes in rats// *J. Neural. Transm.* — 1996. — 103. — P. 947-955.
50. Liu L.M., Hu D.Y., Chen H.S., Lu R.Q., Yan W. The importance of delta and kappa opioid receptors in the property of thyrotropin-releasing hormone against hemorrhagic shock// *Shock.* — 1997. — 7. — P. 60-64.
51. Lukas R.J. Effects of chronic nicotinic ligand exposure on functional activity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by cells of the PC12 rat pheochromocytoma or the TE671/RD human clonal line// *J. Neurochem.* — 1991. — 56. — P. 1134-1145.
52. Makino M., Kitano Y., Komiyama C., Hirohashi M., Kohno M., Moriyama M., Takasuna K. Human interferon-alpha induces immobility in the mouse forced swimming test: involvement of the opioid system// *Brain Res.* — 2000. — 852. — P. 482-484.
53. Mihic S.J., Ye Q., Wick M.J., Koltchine V.V., Krasowski M.D., Finn S.E., Mascia M.P., Valenzuela C.F., Hanson K.K., Greenblatt E.P., Harris R.A., Harrison N.L. Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA(A) and glycine receptors// *Nature.* — 1997. — 389. — P. 385-389.
54. Monaghan E.P., McAuley J.W., Data J.L. Ganaxolone: a novel positive allosteric modulator of the GABA(A) receptor complex for the treatment of epilepsy// *Expert Opin. Invest. Drugs.* — 1999. — 8. — P. 1663-1671.
55. Mori M., Michimata T., Ishihara H., Yamada M., Iriuchijima T., Kobayashi S. An analogue of thyrotropin-releasing hormone, DN1417, decreases naloxone binding in the rat brain// *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* — 1989. — 192. — P. 6-10.
56. Myers R.D. Isoquinolines, beta-carbolines and alcohol drinking: involvement of opioid and dopaminergic mechanisms// *Experientia.* — 1989. — 45. — P. 436-443.
57. Naassila M., Hammoumi S., Legrand E., Durbin P., Daoust M. Mechanism of action of acamprosate. Part I. Characterization of spermidine-sensitive acamprosate binding site in rat brain// *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 1998. — 22. — P. 802-809.
58. Nahas G., Harvey D.J., Sutin K., Turndorf H., Cancro R. A molecular basis of the therapeutic and psychoactive properties of cannabis (delta9-tetrahydrocannabinol)// *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* — 2002. — 26. — P. 721-730.
59. Narita M., Funada M., Suzuki T. Regulations of opioid dependence by opioid receptor types// *Pharmacol. Ther.* — 2001. — 89. — P. 1-15.
60. Odashiro K., Hiramatsu S., Yanagi N., Arita T., Maruyama T., Kaji Y., Harada M. Arrhythmogenic and inotropic effects of interferon investigated in perfused and in vivo rat hearts: influences of cardiac hypertrophy and isoproterenol// *Circ. J.* — 2002. — 66. — P. 1161-1167.
61. Olive M.F., Mehmert K.K., Nannini M.A., Camarini R., Messing R.O., Hodge C.W. Reduced ethanol withdrawal severity and altered withdrawal-induced c-fos expression in various brain regions of mice lacking protein kinase C-epsilon// *Neuroscience.* — 2001. — 103. — P. 171-179.
62. Ott S., Costa T., Herz A. Sodium modulates opioid receptors through a membrane component different from G-proteins. Demonstration by target size analysis// *J. Biol. Chem.* — 1988. — 263. — P. 10524-10533.
63. Pert C.B., Snyder S.H. Opiate receptor binding of agonists and antagonists affected differentially by sodium// *Mol. Pharmacol.* — 197. — 4. — P. 868-879.
64. Pryhuber K.G., Roth B.L., Coscia C.J. Demonstration of a slowly dissociating form of bovine hippocampal synaptic membrane opiate receptors// *Eur. J. Pharmacol.* — 1982. — 83. — P. 47-53.
65. Rabow L.E., Russek S.J., Farb D.H. From ion currents to genomic analysis: recent advances in GABAA receptor research// *Synapse.* — 1995. — 21. — P. 189-274.
66. Rauhala P. Regulation of thyrotropin and prolactin secretion by opioids in the rat// *Acad. Diss. — Helsinki.* — 1988. — 41 p.
67. Reith M.E., Kim S.S., Lajtha A. Structural requirements for cocaine congeners to interact with [3H]batrachotoxinin A 20-alpha-benzoate binding sites on sodium channels in mouse brain synaptosomes// *J. Biol. Chem.* — 1986. — 261. — P. 7300-7305.
68. Reny-Palasse V., Poncet J., Rips R. TRH-induced antinociception: interaction with the opioid systems?// *Gen Pharmacol.* — 1987. — 18. — P. 179-183.
69. Reyes-Vazquez C., Weisbrodt N., Dafny N. Does interferon exert its actions through opiate receptors// *Life Sci.* — 1984. — 35. — P. 1015-1021.
70. Rothman R.B., Bowen W.D., Bykov V., Schumacher U.K., Pert C.B., Jacobson A.E., Burke T.R. Jr, Rice K.C. Preparation of rat brain membranes greatly enriched with either type-I-delta or type-II-delta opiate binding sites using site directed alkylating agents: evidence for a two-site allosteric model// *Neuropeptides.* — 1984. — 4. — P. 201-215.
71. Rothman R.B., Westfall T.C. Allosteric coupling between morphine and enkephalin receptors in vitro// *Mol. Pharmacol.* — 1982. — 21. — P. 548-557.
72. Schaefer M., Schmidt F., Folwaczny C., Lorenz R., Martin G., Schindlbeck N., Heldwein W., Soyka M., Grunze H., Koenig A., Loeschke K. Adherence and mental side effects during hepatitis C treatment with interferon alpha and ribavirin in psychiatric risk groups// *Hepatology.* — 2003. — 37. — P. 443-451.
73. Schoffelmeier A.N., Yao Y.H., Gioannini T.L., Hiller J.M., Ofri D., Roques B.P., Simon E.J. Cross-linking of human [125I]beta-endorphin to opioid receptors in rat striatal membranes: biochemical evidence for the existence of a mu/delta opioid receptor complex// *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1990. — 253. — P. 419-426.
74. Shen K.F., Crain S.M. Cholera toxin-B subunit blocks excitatory opioid receptor-mediated hyperalgesic effects in mice, thereby unmasking potent opioid analgesia and attenuating opioid tolerance/dependence// *Brain Res.* — 2001. — 919. — P. 20-30.
75. Simon E.J., Groth J.T. Kinetics of opiate receptor inactivation by sulfhydryl reagents: Evidence for conformational change in the presence of sodium ions// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1975. — 72. — P. 2404-2407.

76. Svensson A.L. Tacrine interacts with different sites on nicotinic receptor subtypes in SH-SY5Y neuroblastoma and M10 cells// Behav. Brain Res. — 2000. — 113. — P. 193-197.
77. Tao Q., Abood M.E. Mutation of a highly conserved aspartate residue in the second transmembrane domain of the cannabinoid receptors, CB1 and CB2, disrupts G-protein coupling// J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1998. — 285. — P. 651-658.
78. Vaysse P.J., Gardner E.L., Zukin R.S. Modulation of rat brain opioid receptors by cannabinoids// J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1987. — 241. — P. 534-539.
79. Wang Y.X., Song L.H., Chen Y.Z., Jiang C.L. The analgesic domain of interferon-alpha2b contains an essential proline(39) residue// Neuroimmunomodulation. — 2002. — 10. — P. 5-8.
80. Wegelius K., Honkanen A., Korpi E.R. Benzodiazepine receptor ligands modulate ethanol drinking in alcohol-preferring rats// Eur. J. Pharmacol. — 1994. — 263. — P. 141-147.
81. Weight F.F., Li C., Peoples R.W. Alcohol action on membrane ion channels gated by extracellular ATP (P2X receptors)// Neurochem. Int. — 1999. — 35. — P. 143-152.
82. Weiner J.L., Gu C., Dunwiddie T.V. Differential ethanol sensitivity of subpopulations of GABAA synapses onto rat hippocampal CA1 pyramidal neurons// J. Neurophysiol. — 1997. — 77. — P. 1306-1312.
83. Wu G., Lu Z.H., Wei T.J., Howells R.D., Christoffers K., Ledeen R.W. The role of GM1 ganglioside in regulating excitatory opioid effects// Ann. NY Acad. Sci. — 1998. — 845. — P. 126-138.
84. Ye Q., Koltchine V.V., Mihic S.J., Mascia M.P., Wick M.J., Finn S.E., Harrison N.L., Harris R.A. Enhancement of glycine receptor function by ethanol is inversely correlated with molecular volume at position alpha267// J. Biol. Chem. — 1998. — 273. — P. 3314-3319.
85. Zajac J.M., Roques B.P. Differences in binding properties of mu and delta opioid receptor subtypes from rat brain: kinetic analysis and effects of ions and nucleotides// J. Neurochem. — 1985. — 44. — P. 1605-1614.
86. Zhou Q., Lovinger D.M. Pharmacologic characteristics of potentiation of 5-HT3 receptors by alcohols and diethyl ether in NCB-20 neuroblastoma cells// J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1996. — 278. — P. 732-740.
87. Zhukov O.D., Artamonov M.V., Klimashevskiy V.M., Hosei-eva N.M., Marhitych V.M., Hula N.M. N-acylethanolamine - a new class of natural adrenergic modulators// Ukr. Biokhim. Zh. — 2000. — 72. — P. 24-27.

ALLOSTERIC REGULATION IN ADDICTIVE PROCESSES

- PANCHENKO L.F. M.D., professor, academician of the Russian Academy of Medical Sciences. Head of Laboratory of Biochemistry of National Scientific Center for Addiction of Russian Public Health Ministry
- BALASHOV A.M. M.D., Ph.D., deputy director of Moscow Scientific Research Institute for Psychiatry Ministry of Russian Public Health Ministry

Reward system and corresponding noradrenergic and dopaminergic projections are believed to be finally responsible for the development of addictions of different origin. The monoamine neurochemical systems are regulated by many other transmitter and modulator neurons that could be referred as a primary target for pharmacological action of addictive substances. Initial mechanism of actions of these substances may differ each other: ethanol for instance react with biological membranes inducing changes in their fluidity followed by disturbances in the functions of membrane-bound proteins—receptors of different types. Biochemical events, which provide a receptor dysfunction, are related to conformational changes and ethanol' mode of action could be classified as "non-specific allosteric". On the other hand opioids act precisely at specific receptors and some kind of allosteric processes are involved. Cocaine and cannabinoids take intermediate places demonstrating both specific and multiple points of their activity where allosteric regulations of biological macromolecules play an important role. In this review the data concerning allosteric processes in pharmacological action of addictive substances are summarized. Possible physiological meaning of the regulation of this type is discussed.