

Вакцины от наркотиков — новое перспективное направление профилактики злоупотребления психоактивными веществами

ГАМАЛЕЯ Н.Б.
БЕРЗИНА А.Г.

д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунохимии
к.б.н., старший научный сотрудник лаб. иммунохимии
ФГУ «Национальный научный центр наркологии» Минздравсоцразвития,
119002, Москва, Малый Могильцевский пер., д. 3. Факс: 8 499 241-99-61, e-mail: nrca@mail.ru

Традиционные методы лечения зависимости от наркотиков и других психоактивных веществ (ПАВ) являются до сих пор малоэффективными. Разработка методов профилактики злоупотребления такими веществами, основанных на иммунологическом подходе, включая активную иммунизацию — вакцинацию, — имеет важное практическое значение. В обзоре представлены основные сведения, имеющиеся на сегодняшний день по проблеме разработки вакцин от таких ПАВ, как кокаин, никотин, морфин/героин. Особое внимание уделено тем подходам, которые более приемлемы для Российской Федерации.
Ключевые слова: морфин, кокаин, никотин, зависимость, вакцины, профилактика

Введение

Злоупотребление ПАВ, как легальными, так и запрещёнными, остается серьёзной медико-социальной проблемой во всем мире, несмотря на интенсивные попытки её искоренения. В связи с тем, что частота рецидивов болезни достаточно высока, поиск новых подходов к лечению и профилактике этого заболевания особенно актуален. Разработка экспериментальных подходов к иммунопрофилактике (вакцинации) наркоманий имеет важное практическое значение, так как предупреждение возможной в будущем наркотизации (первичная профилактика) или предупреждение дальнейших рецидивов (вторичная профилактика) является самым эффективным медицинским способом искоренения наркотической зависимости. Вакцинация же может обеспечить долговременный эффект даже в отсутствие мотивации больного на лечение. Активная иммунизация (вакцинация) оказывает меньше побочных действий, чем общепринятые фармакотерапевтические методы, изменяющие биохимию мозга.

Еще в начале 70-х годов прошлого столетия несколько групп учёных исследовали возможность использования иммунных механизмов организма для противодействия наркотикам [11, 14, 59], и заложили основу для нового направления в науке — **иммунофармакотерапии**. Целью иммунофармакотерапии является использование высокоспецифичных антител для связывания наркотика в кровяном русле. Образование комплекса антитело—наркотик снижает проникновение наркотика через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), приводя тем самым к уменьшению подкрепляющего действия наркотика и предотвращая его нежелательное побочное действие на ЦНС. Кроме того, присутствие

антител в кровяном русле может способствовать возникновению градиента концентраций, позволяющего удалять наркотик из мозга, поскольку он может свободно проходить через ГЭБ. Одним из первых исследований, подтвердивших правомерность такого подхода, стала работа К. Bonese с соавторами [14], когда вакцинация макаки резус, предварительно обученной самовведению героина, конъюгатом морфина с белком, оказалась успешной. В результате такой вакцинации обезьяна прекращала вводить себе героин.

Для проявления физиологических и субъективных эффектов таких ПАВ, как кокаин, метамфетамин и опиоиды, важны как их концентрация, так и особенности фармакодинамики. Значительное снижение концентрации свободного препарата в крови в результате связывания с антителами (к примеру, при связывании 75—90% ПАВ высокоаффинными антителами) приведёт к существенному угнетению действия препарата в мозге, потому что ПАВ, связанные с IgG, с трудом проходят через нормальный, невоспаленный ГЭБ.

Известно также, что на субъективное восприятие действия наркотика оказывает большое влияние скорость нарастания связывания ПАВ с рецепторами в ЦНС. Поэтому даже менее выраженное связывание ПАВ низкоаффинными антителами (к примеру, при связывании 50% ПАВ) всё равно будет оказывать существенное влияние на интенсивность проникновения свободного ПАВ в ЦНС. И даже если в итоге концентрация накопленного в мозге ПАВ окажется такой же, как и в отсутствие антител, всё равно субъективно воспринимаемое влияние ПАВ на ЦНС может быть существенно или полностью приглушено, поскольку скорость связывания ПАВ с рецепторами будет значительно снижена.

Связывание морфина антителами приводит к удлинению периода полувыведения морфина в кровяном русле экспериментальных животных в 2—3 раза, не оказывая влияния на метаболизм наркотика [34]. Антитела к метамфетамину, аналогично антителам к морфину, также снижают клиренс метамфетамина, удлиняя период присутствия наркотика в крови и его превращение в амфетамин, а также повышают захват наркотика ретикулоэндотелиальными тканями (печенью). Влияние антител на фармакокинетику никотина сходно с таковым в случае метамфетамина. При этом отмечались более высокие концентрации никотина в крови, а период полувыведения удлинялся в 3—6 раз [52].

Скоро стало очевидно, что успех иммунологического подхода во многом зависит от нескольких параметров: концентрации образующихся антител (выражается их титром) и аффинности и специфичности антител по отношению к определённой молекулярной структуре. Иммунная система не может генерировать ответ на небольшие молекулы, имеющие молекулярный вес меньше 10 кДа. Молекулярный вес любого наркотика значительно ниже этой критической величины. Поэтому низкомолекулярные соединения должны быть ковалентно присоединены к белковому носителю. Только в этом случае может произойти запуск иммунного ответа. Обычно это достигается путём синтеза химического производного наркотического препарата, называемого гаптенем, который включает в себя связующую цепочку (ножку, спейсер) с реакционной группой на конце, используемой для присоединения белка.

Интенсивность антительного ответа зависит от структуры белка-носителя и вида используемого при иммунизации адъюванта. Аффинность антител и их специфичность зависят напрямую от вида гаптана, длины связующей ножки (спейсера) и места присоединения ножки к молекуле ПАВ. Как только эти задачи решены, иммунная защита может быть осуществлена путём активной или пассивной иммунизации.

Активная иммунизация (вакцинация)

При активной иммунизации соответствующий конъюгат ПАВ-белок непосредственно вводится в организм, что приводит к активации Т- и В-лимфоцитов и, в итоге, к выработке специфических антител. Обычно такой подход обеспечивает продолжительную защиту с участием механизма иммунологической памяти при минимальном согласии на лечение. С экономических позиций, такой подход наиболее эффективен.

На протяжении последних десяти лет многие группы исследователей, в основном за рубежом, изучали возможность применения вакцин против ПАВ в качестве средств, предотвращающих их немедикаментозное использование, передозировку, а также нейротоксичность.

Вакцины против кокаина

В 1995 г. появилась работа М.Р. Carrera с соавторами [16], в которой было показано, что иммунизация крыс конъюгатом кокаина с белком (гемоцианин виноградной улитки) приводила к появлению в крови высоких титров антител с высокой аффинностью к кокаину ($K_d \sim 1 \mu M$). При этом подавлялась двигательная активность животных и стереотипное поведение, вызванное введением кокаина, но не амфетамина. У иммунизированных животных было также отмечено снижение психостимулирующего действия кокаина на 42% по сравнению с контрольными животными, а также снижение концентрации кокаина в стриатуме (на 52%) и мозжечке (на 77%). Применённое для иммунизации производное кокаина было названо Janda-GNC (рис. 1).

Однако действие антител, продуцируемых при иммунизации таким антигеном, можно было преодолеть в случае увеличения дозы вводимого кокаина или частоты его введения. Поэтому в дальнейшем та же группа исследователей синтезировала следующее поколение гаптеней, названное Janda-GND, с повышенной стабильностью в результате использования амидных связей [18] (рис. 1). Полученный конъюгат производного кокаина с белком гемоцианином обеспечивал более мощную и длительную защиту от кокаина в

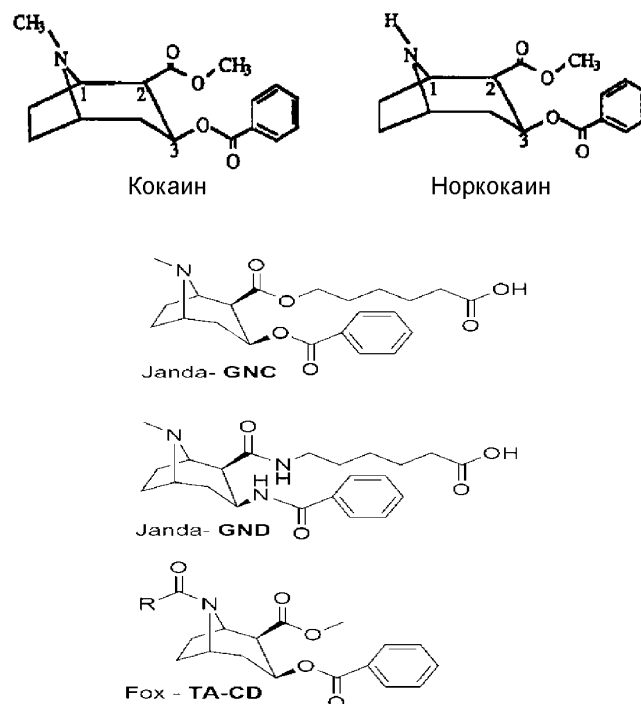


Рис. 1. Производные кокаина, использованные при синтезе конъюгатов с белками для активной иммунизации (вакцинации) или получения моноклональных антител [46]

модели на крысах, однако титр антител в иммуноферментном анализе был около 1:25 000, что оказалось явно недостаточным в случае частого введения больших доз кокаина.

Более успешными оказались исследования другой группы ученых. В 1996 г. В.С. Фох с соавторами получили конъюгат норкокаина с белком (БСА) (рис. 1, Фох-ТА-CD). Мыши были обучены самовведению кокаина (1 мг/кг внутривенно). После вакцинации конъюгатом норкокаина с БСА самоведение кокаина мышами снизилось до фоновых значений. У иммунизированных мышей также существенно изменилась фармакокинетика кокаина и снизился уровень кокаина в мозге (уже через 30 с после введения). При этом, длительное введение кокаина не оказывало влияния на способность вакцины индуцировать синтез антител к кокаину. Проведенная иммунизация также снижала психоактивные эффекты кокаина, несмотря на введение высоких доз наркотика.

Высокие титры антител порядка 1:100 000 сохранялись у мышей на протяжении 4 мес. Эксперименты по конкурентному иммуноферментному анализу (ИФА) показали, что образующиеся антитела связывают исключительно кокаин, норкокаин и кокаэтилен (токсичное производное, возникающее при совместном употреблении этанола и кокаина). Разработанная В.С. Фох и соавторами стратегия сделала возможным перейти впоследствии к клиническим испытаниям вакцины [27].

В ходе дальнейших исследований в моделях самоведения кокаина на крысах были испытаны конъюгаты норкокаина с другим белком — холерным экзотоксином В [38]. Иммунизация таким антигеном существенно изменяла аддиктивное поведение (поиск наркотика) животных, но только в том случае, когда общая концентрация антител в крови была выше 0,05 мг/мл. У таких животных инфузия наркотика в достаточно высоких концентрациях, приводящих, как правило, к развитию судорог и смерти, вызывала лишь незначительную стереотипную двигательную активность и слабое аддиктивное поведение. Полученные результаты стали основанием для начала клинических испытаний вакцины ТА-CD на людях (фармацевтической фирмой Хепова, в настоящее время — Celtic Pharma).

Проведённое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое испытание кокаиновой вакцины ТА-CD на 34 кокаиновых наркоманах (испытание фазы I) [42] показало, что эта вакцина хорошо переносится как на местном, так и на системном уровнях после трех инъекций в течение 2-месячного периода. Антитела к кокаину можно было обнаружить в крови уже через 1 мес., их уровень достигал максимума после третьей вакцинации и

оставался высоким на протяжении 4 мес. Полное исчезновение антител наблюдалось через год. При этом был отмечен большой разброс в индивидуальных значениях количества антител к кокаину.

В ходе дальнейших клинических испытаний были оптимизированы схема введения вакцины и дозы. К 2008 г. фирма Celtic Pharma провела 4 испытания вакцины ТА-CD фазы II на 161 пациенте. Было также проведено испытание фазы IIb под руководством профессора Т.Р. Костен [44]. На сегодняшний день это самое большое испытание, представлявшее собой двойное слепое плацебо-контролируемое исследование с участием 115 пациентов. В этом исследовании проведена оценка эффективности вакцинации от употребления кокаина среди героиновых наркоманов, которые получали заместительную терапию метадонем. Эти испытания выявили эффективность вакцинации по ряду показателей, однако основной конечный результат в виде воздержания от приёма наркотика в течение 3 недель не был достигнут. Было высказано предположение о том, что отчасти такие результаты могли быть связаны с более высоким, чем ожидалось, плацебо-эффектом. В 2010 г. появилась еще одна публикация [29] об испытании вакцины ТА-CD на зависимых от кокаина пациентах (10 чел.). В работе уровни антител, достигаемые в результате вакцинации, сопоставляли с балльной оценкой степени интоксикации и влечения, а также с влиянием на сердечно-сосудистую систему. Было еще раз продемонстрировано, что наилучшие эффекты отмечались у лиц с высокими уровнями антител.

В планах фирмы Celtic Pharma было представление этой вакцины на рассмотрение в FDA (Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов в США — Food and Drug Administration) и в ЕМЕА (Европа, Ближний Восток и Африка — регион действия европейских отделений многих фирм).

Одним из направлений дальнейшего совершенствования вакцин от наркотиков является разработка более оптимальных конъюгатов, способных вызывать лучший иммунный ответ. К примеру, в марте 2011 г. появилась публикация М.Д. Никса с соавторами [31] о возможной разработке вакцин от наркотиков на основе конъюгата наркотика (в частности, кокаина) с аденовирусными векторами, применяемыми для генного переноса. Для этой цели производное кокаина конъюгировали с белками капсида неинфекционного децеллюрированного аденовирусного вектора. Полученный антиген стимулировал у мышей выработку антител кокаина в высоких титрах, способных полностью блокировать в течение длительного периода гиперлокомоторную активность, вызванную внутривенным введением кокаина.

Пути введения вакцины от кокаина

Вакцину от кокаина, которую испытывают в настоящее время на людях, вводят внутримышечно по определённой схеме. В вакцинах, вводимых парентерально, в качестве адъюванта обычно используют гидроокись алюминия.

Однако существует также и другой эффективный способ иммунизации — интраназальный. Пока этот способ апробирован только на мышях группой исследователей из Исландии [36]. При создании интраназальной кокаиновой вакцины конъюгат кокаина с белком (гемоцианин улитки) соединяли с адъювантом для слизистых на основе глицерола (RhinoVax, макрогол-6-глицерол капилокапрат). Мышей иммунизировали для сравнения двумя путями: закапыванием вакцины в нос и введением подкожно. Группе отрицательного контроля вводили интраназально неконъюгированный белок в адъюванте RhinoVax. Затем животным вводили кокаин интраназально или внутривнутрибрюшинно с последующим измерением концентрации кокаина в сыворотке крови, мозге и обонятельной луковице. В обеих группах мышей, иммунизированных кокаиновой вакциной, уровень кокаина в мозге был существенно ниже, чем в группе отрицательного контроля, и существенно не различался между группами. Этот результат был неожиданным, поскольку концентрация антител в крови при интраназальном введении вакцины была в 5 раз ниже, чем при подкожном. Авторы объясняют обнаруженный феномен возможностью того, что при интраназальной вакцинации антитела к кокаину появляются не только в сыворотке крови, но также и местно — в слизистой оболочке носа. Эти местно образованные антитела могут играть важную роль в предотвращении поступления кокаина в мозг непосредственно через обонятельную луковицу.

Пассивная иммунизация

Кроме активной иммунизации вакциной (конъюгированным антигеном) существует также возможность пассивной иммунизации, когда в организм вводят высокоаффинные антитела, в частности к кокаину или другому ПАВ. Обычно для этой цели используют гомогенные моноклональные антитела. В работах В.С. Фох с соавторами и К.М. Kantak с соавторами было показано, в частности, что существует корреляция между дозой вводимых крысам моноклональных антител мыши, с одной стороны, и самовведением крысами кокаина, снижением проникновения кокаина в их мозг [27, 38], а также соответствующими поведенческими и фармакокинетическими изменениями [17, 18], с другой. Также было показано, что моноклональные антитела к кокаину блокируют токсические эффекты кокаина в модели передозировки на мышях [30]. Были также созданы гуманизиро-

ванные варианты моноклональных антител (аминокислотные последовательности в белке мышинных антител приближают к последовательностям антител человека с помощью генно-инженерных технологий) с умеренной аффинностью к кокаину [54]. При пассивной иммунизации происходит немедленная защита в результате введения уже готовых высокоаффинных антител, как правило, моноклональных. Этот подход особенно ценен при передозировках наркотиков, а также в критические моменты угрозы рецидива наркотизации. Однако пассивная иммунизация является достаточно дорогим методом, её действие короче и зависит от периода полувыведения антител, а также от количества введённых антител.

Важной разновидностью пассивной иммунизации является введение моноклональных антител с каталитической активностью, которые не только связывают кокаин в кровяном русле, но также способствуют его дальнейшему превращению в неактивные продукты, снижая тем самым возможное действие наркотика на ЦНС. После того как кокаин гидролизуется до метилового эфира эггонина, антитела высвобождаются и способны расщеплять новые молекулы наркотика (рис. 2). Пассивная иммунизация такими каталитическими антителами также могла бы стать методом лечения зависимости, поскольку она приводит к снижению подкрепляющего эффекта вводимого наркотика. Однако до настоящего времени каталитическая активность полученных антител недостаточна для того, чтобы вызвать существенные клинические изменения.

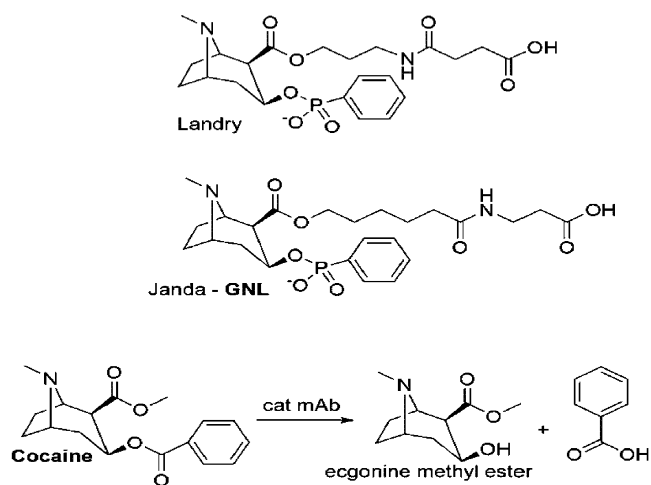


Рис. 2. Аналоги промежуточных соединений, образуемых при гидролизе кокаина (Landry, Janda-GNL), используемые для получения каталитических антител, способных разрушать кокаин; cat mAb — моноклональные антитела, обладающие каталитической активностью; ecgonine methyl ester — метиловый эфир эггонина (неактивный продукт гидролиза кокаина) [46]

Вакцины против никотина

Никотин является важной мишенью при создании терапевтических вакцин, учитывая неблагоприятные последствия курения для здоровья. Хотя многие курильщики имеют желание бросить курить, мало кому это удаётся сделать самостоятельно. Несмотря на существующие многочисленные способы избавления от курения, процент положительных результатов остаётся низким. Никотиновые вакцины дают некоторую надежду для мотивированных лиц на искоренение этой пагубной привычки.

Синтез конъюгированных антигенов никотин—белок был впервые осуществлён 30 лет назад. Однако целью этих исследований была разработка методов детекции никотина в различных средах методом иммуноферментного анализа. Успехи на поприще создания антикокаиновых вакцин способствовали возрастанию интереса к созданию антиникотиновых вакцин. Было даже высказано мнение, что никотиновая зависимость должна лучше поддаваться терапии с помощью вакцин, поскольку максимально потребляемая суточная доза никотина существенно ниже, чем доза кокаина при кокаиновой зависимости. Сообщалось о синтезе целого ряда гаптен-никотина с пятью различными местами прикрепления спейсеров. Кроме того, были применены различные виды высокомолекулярных носителей при синтезе конъюгатов, включая традиционный гемоцианин виноградной улитки, субъединицу рекомбинантного холерного экзотоксина В [21], экзопротеин *A Pseudomonas* [53], а также конформационно несимметричный пептид, состоящий из 19 аминокислотных остатков, который позволял обходиться без адьюванта [56]. Применялись также вирусоподобные частицы, полученные из бактериофага Q_b [45]. Специфичные по отношению к никотину антитела, количество которых достаточно для снижения концентрации свободного никотина в крови, снижают концентрацию и скорость накопления никотина в мозге. Такое благоприятное действие было чётко продемонстрировано в экспериментах на животных [46].

Злоупотребление никотином происходит, как правило, в виде выкуривания очень частых небольших доз. В результате, общая поглощённая доза может быть достаточно большой и создавать в крови постоянно высокую концентрацию на протяжении длительного периода времени. С другой стороны, мотивированный на избавление от зависимости курильщик, которому удалось временно бросить курить, способен сорваться всего после нескольких затяжек или выкуривания нескольких сигарет. Поэтому можно ожидать, что присутствие в крови достаточного количества антиникотиновых антител приведёт к подавлению эффекта подкрепления при умеренном потреблении никотина, снижая тем самым риск рецидива [23].

В целом, на грызунах были испытаны 9 различных вакцин. Все они индуцировали появление никотин-специфических антител в различных титрах. Эксперименты, проведённые на крысах, продемонстрировали существенное повышение концентрации никотина в сыворотке, что снижало количество несвязанного никотина, способного проникнуть в мозг и стимулировать двигательную активность [19, 21, 32, 53]. Однократное введение высоких доз никотина или длительное введение никотина не оказывали существенного влияния на накопление никотина в мозге в условиях предварительной вакцинации животных (наблюдавшееся снижение составляло около 26%). Даже доза никотина, превышавшая в 28 раз связывающую способность антител, снижала частоту возникновения индуцированных никотином судорог, а также концентрацию никотина в мозге [33, 60].

После проведения пассивной иммунизации антителами к никотину введение никотина не смягчало проявлений никотиновой абстиненции, подкрепляя положение о связывании никотина на периферии [43]. Эксперименты с пассивной иммунизацией [19, 40] установили также непосредственную прямую связь между количеством связанного в кровяном русле никотина и дозой антител и их аффинностью — защитное действие антител было тем больше, чем была выше их концентрация.

И, наконец, было показано, что антитела к никотину, синтезируемые при вакцинации у крыс, снижают проникновение никотина в мозг плода через плаценту во время беременности на 43% [39]. Другая группа исследователей [48] показала в экспериментах с перфузируемой плацентой человека, что антитела к никотину, не проникая через неё, существенно снижают (на 60%) проникновение никотина из кровотока матери в кровотоки плода и задержку никотина в ткани плаценты.

К настоящему времени создано три антиникотиновые вакцины, которые прошли клинические испытания I и II фаз на людях (таблица). Это вакцины NicVax [30] производства Nabi Pharmaceuticals; NicQb [45] производства Cytos Pharmaceuticals и вакцина TA-NIC [22] производства Celtic Pharma.

На рис. 3 схематично представлена структура производных никотина, используемых для получения вакцинных антигенов [46].

Вакцинацию добровольцев проводили с использованием от 2 до 6 доз антигена в течение 2—4 недель с последующей повторной ревакцинацией в случае применения вакцин NicVax и TA-Nic. Как и ожидалось, концентрация антител в сыворотке крови повышалась с каждой последующей дозой и сохранялась на высоком уровне в течение нескольких месяцев, правда, после ревакцинации. Все три конъюгирован-

Вакцины от никотина, прошедшие различные этапы клинических испытаний

Вакцина (фирма-производитель)	ПАВ — Носитель	Этапы испытаний у людей
TA-NIC (Celtic Pharma)	Никотин — холерный токсин b	Фаза I, Фаза II
NicVax Nabi Pharmaceuticals	Никотин — экзопротеин A <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Фаза I, Фаза II
NicQb (Cytos Pharmaceuticals)	Никотин — вирусоподобная частица	Фаза I, Фаза II, Фаза IIб

ные никотиновые вакцины в клинических испытаниях фазы I показали хорошую переносимость и отсутствие нежелательных перекрёстных реакций с эндогенными нейромедиаторами или другими сигнальными молекулами. Широкомасштабные испытания фазы II выявили ограниченную эффективность вакцин. Так, испытание NicVax включило 201 пациента и выявило, в целом, успешный результат в 16% случаев в сравнении с 6% в группе плацебо после 12-месячного катмнеза при дозе введённой вакцины 400 мкг и в 14% против 6% при дозе в 200 мкг соответственно [23]. Частота длительного воздержания от курения (свыше 12 мес.) в группе пациентов с самыми высокими титрами антител (30% от общего числа испытуемых) была в 3 раза выше, чем в группе плацебо.

Испытание вакцины NicQb показало сходные результаты. Клиническое испытание включило 341 курильщика, треть испытуемых вошла в группу плацебо. При этом успешный результат был отмечен в среднем у 29,5% испытуемых в сравнении с 21% в группе плацебо. И опять, наилучшие результаты были достигнуты у лиц с высоким уровнем антител. Так, у лиц с высоким уровнем антител абстиненция в течение 6 и 12 мес. после начала лечения наблюдалась в 57% случаев ($p=0,004$ в сравнении с 31% в группе плацебо) и в 42% случаев (в сравнении с 21% в группе плацебо) соответственно. В группе с низким уровнем антител эти частоты составили соответственно 32 и 26%, т.е. практически не различались [23].

При клиническом испытании вакцины TA-Nic [52] людей иммунизировали четырьмя дозами вакцины в течение 8 недель (2 мес.), затем проводили ревакцинацию на 32-й неделе (8 мес.). Через 12 недель (3 мес.) после начала испытаний всех участников убеждали бросить курить. Через 12 мес. частота отказа от курения в группе лиц, получивших самую большую дозу вакцины, существенно превысила частоту в контрольной группе (38% против 8%).

В настоящее время разработка конъюгированных никотиновых вакцин близится к проведению испытаний в фазах IIb и III, призванных подтвердить их эффективность и безопасность.

В последнее время исследователи предпринимают попытки повысить иммуногенность никотиновых вакцин. Так, в экспериментах на грызунах показана эф-

фективность никотиновой бивалентной вакцины, в которой одновременно использованы два гаптена никотина со спейсерами, присоединёнными к различным участкам молекулы [41]. Действие такой вакцины на выработку антител оказалось аддитивным. В другом исследовании [55] была доказана более высокая эффективность сочетанной иммунизации, активной и пассивной (моноклональными антителами), как в отношении уровня антител в сыворотке крови, так и в более выраженных изменениях фармакокинетики никотина и ослаблении двигательной активации. Группа исследователей под руководством K.D. Janda применила оригинальный подход [46]. Были получены гаптены никотина, характеризующиеся наиболее стабильной в энергетическом плане конформацией при физиологических pH: Janda-CNA и CNI (рис. 3). Иммунизация грызунов такими вакцинами привела к возрастанию титров антител в иммуноферментном анализе с 1:3200 до 1:25 000, при этом также в 2—3 раза возросла аффинность антител. Исследования в области второго поколения гаптенных продолжались.

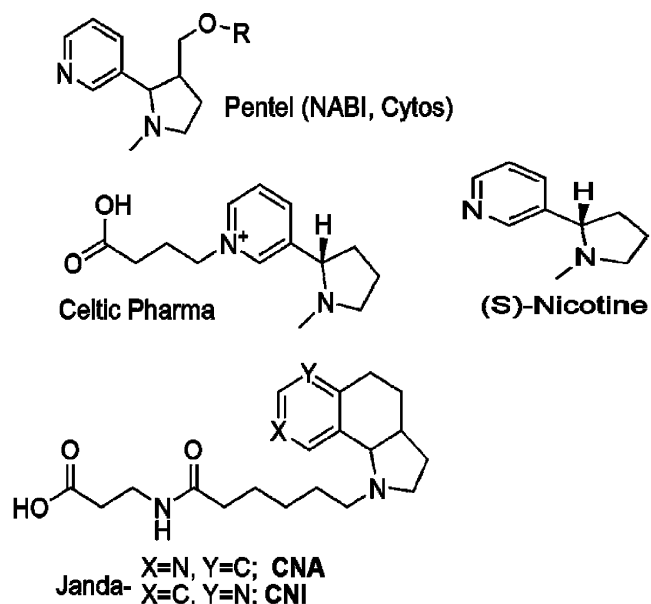


Рис. 3. Структура производных никотина (гаптенных), используемых для получения вакцинных антигенов

Вакцины против морфина и героина

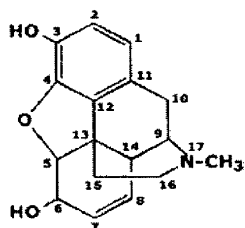
Исследование возможности вакцинации против таких ПАВ, как морфин, героин, метамфетамин, фенциклидин, находятся до настоящего времени еще на доклиническом этапе. В случае с морфином и героином это обусловлено, в частности, тем обстоятельством, что во многих развитых странах с успехом применялись метадонные и другие программы заместительной терапии при опиатной зависимости, что снизило интерес к разработке вакцин от героина и морфина. Однако в связи с тем, что в развивающихся странах злоупотребление опиатами возрастает, а это сопряжено с распространением ВИЧ и СПИДа, в последнее время интерес к таким вакцинам возродился.

Еще в 1973 г. В.Н. Wainer с соавторами [61] показали, что конъюгация морфина с белками с использованием гидроксильной группы в 6-м положении молекулы морфина приводила к созданию антигена, способного вызвать при иммунизации кроликов образование поликлональных антител к морфину, которые связывали героин, 6-ацетилморфин и морфин (рис. 4). Такая перекрёстная активность очень важна, поскольку героин быстро превращается в фармакологически активные опиаты 6-ацетилморфин и морфин под воздействием эстераз, присутствующих как на периферии, так и в ЦНС. Еще раньше В. Verkowitz и S. Spector [11] показали, что морфин (обычно в капсуле, вшитой под кожу) вызывал у мышей образование антител, способных связывать морфин. В 1974 г. та же группа исследователей [12] показала,

что активная или пассивная иммунизация против морфина приводила к связыванию наркотика в крови антителами с удлинением периода его полувыведения. В 1999 г. А. Akbarzadeh с соавторами [7] синтезировали сукцинильное производное морфина по 6-му положению — морфин-6-гемисукцинат, которое конъюгировали с БСА с целью дальнейшей разработки вакцины.

В дальнейшем большую работу по синтезу конъюгатов морфина с различными белками (БСА, гемоцианин виноградной улитки — ГВУ) провела группа исследователей из Мексики [8, 9]. Была с успехом осуществлена ковалентная конденсация молекул морфина по свободным гидроксильным группам в 3-м и 6-м положениях фенантренового кольца молекулы морфина (рис. 4). Поскольку БСА и ГВУ не лицензированы для применения у человека, эта группа исследователей разработала новую модель морфиновой вакцины, основанную на ковалентном связывании 6-гемисукцинатного производного морфина со столбнячным анатоксином в качестве белка-носителя. На рис. 5 представлены схематично структуры полученных конъюгатов. Столбнячный анатоксин — один из наиболее часто используемых антигенных белков при вакцинации у людей с минимальными токсическими побочными эффектами, что предопределяет возможность использования этой вакцины в клинических испытаниях.

При создании морфиновых вакцин присоединение молекулы морфина к белку идёт, как правило, по гидроксигруппе в 6-м или 3-м положениях. Следовательно, в создаваемом антигене эти группы оказываются как бы закрыты (экранированы) для выработки антител. Образующиеся антитела будут соединяться с другими частями молекулы морфина. Поэтому можно ожидать, что эти антитела будут также взаимодействовать и с метаболитами героина и морфина, поскольку вся модификация идёт именно по этим двум положениям. И действительно, исследование специфичности антител, возникающих после иммунизации этими вакцинами, показало, что они не реагируют с такими структурно далекими соединениями, как метадон и бупренорфин, однако хорошо взаимодействуют с метаболитами морфина и героина, нейтрализуя их [9]. Метаболизм этих опиатов идёт, как известно, путём присоединения глюкуроновой кислоты по 3-му или 6-му гидроксилу морфина с образованием морфин-3-глюкуронида (М-3-Г) и морфин-6-глюкуронида (М-6-Г). Это обстоятельство очень важно, так как, в отличие от кокаина и никотина, метаболиты героина активны и, подчас, даже более активны, чем исходные вещества. Основным активным метаболитом героина и морфина является М-6-Г. Хотя его концентрация в крови и мозге у грызунов и человека



Морфин

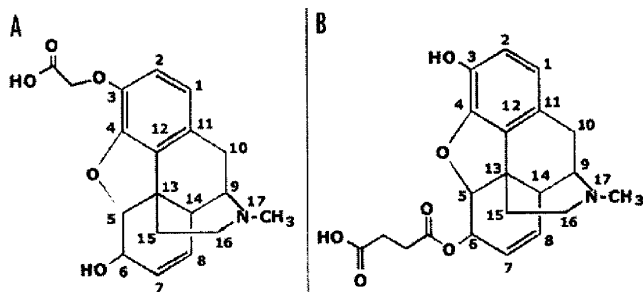


Рис. 4. Структурные формулы морфина (жирным шрифтом выделены предпочтительные участки для химической модификации) и его химически активных производных: (А) 3-орто-морфин-карбоксимил-эфира и (В) морфин-6-гемисукцината.

меньше, чем концентрация М-3-Г, по анальгетической активности он превосходит морфин в 2 раза (после подкожного введения морфина), а по наркотической (подкрепляющей) активности он превосходит морфин в 90—650 раз при внутривенной или интраперитонеальной инъекции грызунам [9]. У людей период полувыведения морфина из крови составляет 2 ч, тогда как М-6-Г — 2—4 ч. В отличие от М-6-Г, М-3-Г не обладает анальгетической активностью у животных и его сродство к μ -опиоидным рецепторам не очень велико. Тем не менее, он играет определённую роль в развитии толерантности к опиатам и зависимости от них.

Как уже было упомянуто, впервые возможность применения иммунотерапии опиатной зависимости с использованием антител к морфину была продемонстрирована в работе К. Вонесе с соавторами, опубликованной в 1974 г. [14]. Это была пионерская работа, в которой авторы показали на экспериментальной модели обученной самовведению героина макаки-резус, что активная иммунизация обезьяны конъюгированной вакциной морфин-6-гемисукцинат-БСА приводила к индукции гуморального иммунного ответа с образованием протективных антител. В результате образования таких антител самовведение героина обезьяной прекращалось. Однако в то время эти работы не были продолжены в направлении приближения их к клиническим испытаниям.

И вот только 36 лет спустя, благодаря работам мексиканской группы учёных, эти исследования получили продолжение. Вакцина, созданная В. Anton, Р. Leff и коллегами [8, 9], имеет следующие преимущества:

1. Вместо конъюгата гаптена морфина с БСА было проведено ковалентное связывание морфина со столбнячным анатоксином (белковый носитель, лицензированный для проведения активной вакцинации у человека);

2. Ковалентное присоединение молекулы морфина к белку осуществлено при последовательном использовании двух сшивающих реагентов: N-(ϵ -трифлуороацетилкапроилокси) сукцинимидного эфира и 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида), в результате чего удалось удлинить до ≈ 20 Е алифатическую сшивку-спейсер, отделяющую молекулу морфина от молекулы белка. Такой спейсер был выбран, исходя из соображений, что образовавшаяся алифатическая цепочка из атомов углерода имеет простую структуру и не будет выступать в качестве доминирующей детерминанты при индукции иммунного ответа. При этом, морфинная часть конъюгата будет иметь достаточную пространственную свободу, необходимую для контакта с иммунными клетками с последующей выработкой антител.

Синтезированный конъюгированный антиген морфин-столбнячный анатоксин (М-ТТ) вводили крысам с адъювантом (гель гидрооксида алюминия) в дозах 250—300 мкг/кг [8]. После четвертой иммунизации достигались устойчивые высокие титры антител (1:100 000, определяемые как величина, обратная разведению сыворотки, которое давало 50%-ный антителый ответ, что составляло $0,8 \pm 0,2$ мг специфических иммуноглобулинов в 1 мл сыворотки при измерении с помощью равновесного диализа). Периодическое проведение ревакцинаций (каждые 3 мес.) обеспечивало поддержание высокого уровня антител, по крайней мере, в течение 1 года. Если ревакцинации не проводились, то уровень антител постепенно снижался до полного исчезновения через 6—8 мес. Поскольку после ревакцинации уровень антител быстро повышался до максимального в течение 5—14 дней, можно было сделать вывод, что вакцина М-ТТ способна длительно активировать иммунологическую память в отношении опиатов.

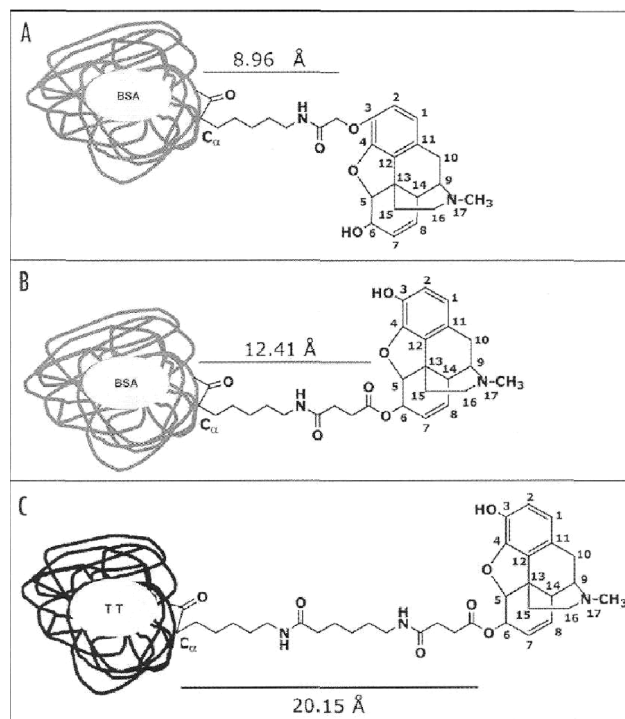


Рис. 5. Сравнение структуры молекул конъюгатов гаптенных морфина с белками-носителями в опубликованных моделях морфиновых вакцин: А — морфиновая вакцина, полученная путём ковалентного связывания 3-О-морфин-карбоксиметил-эфирного производного с (ϵ)-аминогруппами в боковой цепи лизиновых остатков в молекуле БСА (BSA) в качестве белкового носителя с длиной спейсера $\approx 8,96$ Е; В — морфиновая вакцина, полученная путём ковалентного связывания морфин-6-гемисукцинатного производного с (ϵ)-аминогруппами в боковой цепи лизиновых остатков в молекуле БСА с длиной спейсера $\approx 12,41$ Е; С — морфиновая вакцина, синтезированная на основе столбнячного анатоксина (ТТ) с более длинным спейсером ≈ 20 Е [9].

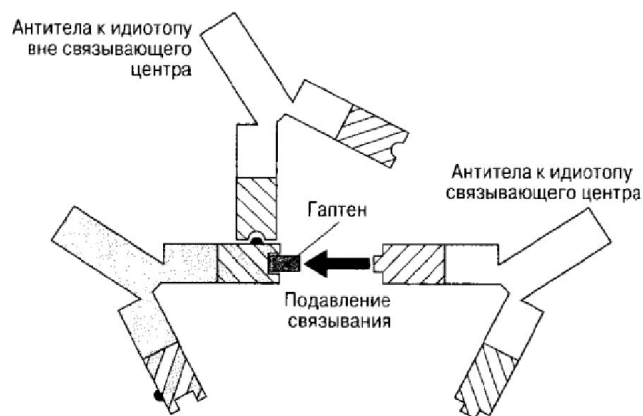


Рис. 6. Идиотопы связывающего центра антител [3].

Антиидиотипическая сыворотка может содержать антитела к различным участкам молекулы иммуноглобулина. Связывание антител, направленных к основному связывающему центру иммуноглобулина (идиотопу), может ингибироваться гаптеном. Присоединение антител к идиотопам, локализованным вне связывающего центра, гаптен не ингибирует.

Был проведён эксперимент [8] на модели рецидива наркотизации у крыс, обученных самовведению умеренно-подкрепляющей дозы героина (0,06 мг/кг на одну инфузию). После выработки у животных устойчивого самовведения героина наркотик был заменён на физиологический раствор для погашения самовведения. Затем опытная группа крыс была вакцинирована вакциной М-ТТ. Контрольным группам крыс вместо вакцины вводили либо один адъювант, либо адъювант вместе с белком-носителем. После того, как уровень антител достигал 0,6—0,8 мг/мл (через 14 дней после последней ревакцинации), крысам снова предложили героин в той же дозе (0,06 мг/кг). В двух контрольных группах самовведение полностью восстановилось в количестве 22—23 инфузий в течение 15-дневного периода тестирования. В группе, получившей вакцину, самоведение героина практически прекратилось (количество инфузий снижалось до 4 ± 2 инфузии, $p < 0,005$ в сравнении с контролем) и не отличалось от количества самопроизводимых инфузий физиологического раствора (3 ± 1). В дальнейшем авторы расширили исследования, добавив к этой модели ещё группы животных, обученных самовведению морфина. Были получены схожие результаты.

Таким образом, на основании представленных результатов исследований можно полагать, что вакцина М-ТТ может быть кандидатом для клинических испытаний на людях.

Антиидиотипические вакцины.

Антиидиотипические антитела к кокаину

Все сказанное выше относилось к традиционной вакцинации, когда молекулу ПАВ связывают химическим путём с белком-носителем. Недостатком вак-

цин, призванных вырабатывать в организме наркоманов при активной иммунизации специфические к наркотику антитела, является тот факт, что людей необходимо иммунизировать (вакцинировать) антигеном, представляющим собой конъюгат наркотика или другого ПАВ с высокомолекулярным носителем, в частности белком. Такие конъюгаты могут быть недостаточно стабильными и расщепляться на составные компоненты, хотя в большинстве случаев, по неопубликованным данным исследователей, этого не происходит. Кроме того, описанный подход может вступить в противоречие с действующим в РФ законодательством, запрещающим использование наркотических препаратов в терапевтических программах, за определёнными исключениями.

В связи с этим нам представляется более перспективным другой подход — вакцинация не конъюгированным препаратом ПАВ с белком-носителем, а активной иммунизация первичными антителами к ПАВ (Ат1), полученными при иммунизации животных конъюгатом ПАВ с белком-носителем. В этом случае в роли антигена при вакцинации выступают уже первичные антитела — Ат1. По своей пространственной конфигурации такие первичные антитела схожи с активными центрами рецепторов, с которыми взаимодействует ПАВ, поскольку они способны вытеснить ПАВ из связи с рецептором или препятствовать его соединению с рецептором.

Согласно теории иммунных сетей N.K. Jerne [37], антитела, специфичные к определённому антигену (в нашем случае — наркотику), которые называются *первичными антителами*, Ат1, или, иначе, *идиотипическими*, при введении в организм животного или человека стимулируют выработку различных сетей вторичных антител (Ат2, или антиидиотипических), которые могут специфически связываться с различными уникальными участками молекул иммуноглобулинов — идиотопами. Антитела одной из таких сетей (Ат2β) будут взаимодействовать с идиотопами, расположенными в участке связывания антигена антителом Ат1 вследствие имитации конфигурации антигена (рис. 6). Если первичные антитела имитируют конфигурацию рецепторов для ПАВ, то вторичные антитела имитируют конфигурацию самого ПАВ, являясь как бы «внутренним образом» ПАВ. Поэтому антиидиотипические антитела можно с успехом применять вместо молекул наркотиков при создании вакцин (рис. 7).

Следует отметить, что антиидиотипические вакцины разработаны для профилактики некоторых инфекционных заболеваний, когда для вакцинации нежелательно использовать нативный антиген. В частности, антиидиотипические вакцины разрабатываются против вирусов гепатитов человека, вируса иммунодефи-

цита человека, возбудителей менингита, хламидий, некоторых опухолевых антигенов.

В работе D.S. Schabacker с соавторами [57] была предпринята попытка получения антиидиотипической вакцины против кокаина. Для этого были синтезированы два конъюгата кокаина с белком-носителем, в которых использовались два различных активных производных кокаина, в результате чего молекула кокаина присоединялась к молекуле белка через различные участки молекулы наркотика и различные ножки-спейсеры. Одно производное кокаина содержало ароматическую аминогруппу, другое производное было получено из норкокаина и содержало вторичный амин. Синтезированные антигены вводили мышам внутрибрюшинно с целью дальнейшего получения первичных моноклональных антител Ат1, специфичных для кокаина. Полученные моноклональные антитела использовали в качестве антигена (предварительно соединив с белком-носителем) при иммунизации других мышей. В результате были получены вторичные, антиидиотипические, антитела Ат2, которые имели сходную конфигурацию с молекулой кокаина. Это сходство было доказано при постановке иммуноферментного анализа с добавлением свободного кокаина в качестве ингибитора связывания. В результате авторы получили антиидиотипическую вакцину (K1-4с), которая вызывала в организме вакцинированных животных синтез достаточного количества антител для существенного снижения концентрации кокаина, проникающего в мозг. В дальнейшем та же группа исследователей [35] получила моноклональные антиидиотипические антитела к кокаину, обозначенные как K2-3f, представляющие собой «внутренний образ» кокаина в пределах их вариабельных областей. Эти антитела обладали способностью полностью блокировать связывание кокаина с транспортёром дофамина в молярных концентрациях, сопоставимых с условиями *in vivo*, поскольку они обладали большим сродством к транспортёру, чем растворимый кокаин. Работа в этом направлении достойна продолжения.

Антиидиотипические антитела к морфину

Перспективы создания антиидиотипической вакцины от морфина/героина также весьма благоприятны. В 1984 и 1985 гг. появились работы D.S. Ng и G.E. Isom [49, 50] о получении антиидиотипических антител, специфически узнающих опиатные рецепторы. Первичные антитела к морфину были получены при иммунизации кроликов. Эти антитела избирательно связывали ряд лигандов опиатных рецепторов. Затем антителами кролика к морфину иммунизировали морских свинок, в организме которых в результате синтезировались антиидиотипические антитела, спо-

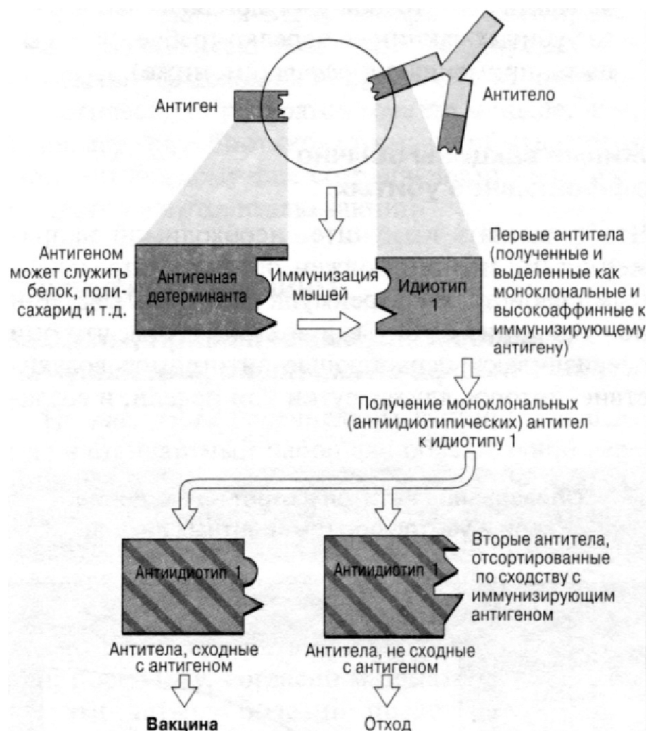


Рис. 7. Антиидиотипические антитела в качестве вакцин [3].

На схеме представлена методика получения антиидиотипических вакцин. Разработка метода получения моноклональных антител и открытие «идиотипической сети» сделало возможным использование иммуноглобулинов в качестве заменителей антигенов. Такая технология позволяет получить белковую копию низкомолекулярного, углеводного или липидного антигена, обладающего рядом преимуществ в качестве вакцины.

собные взаимодействовать с опиатными рецепторами. Сыворотка крови морских свинок угнетала связывание налоксона с гомогенатом мозга мышей. На модели изолированных *vas deference* мышей и продольной мышцы тонкой кишки морской свинки, сократительную способность которых стимулировали электрическими импульсами, было показано, что полученная антисыворотка подавляла эти сокращения (подобно морфину). Проведённые исследования позволили авторам сделать вывод о том, что антиидиотипические антитела, взаимодействующие с опиатными рецепторами, могут быть получены без выделения рецепторов, что является новым подходом в изучении функциональной активности рецепторов в их нативном окружении. Ни о каких возможных вакцинах речи тогда не шло.

В дальнейшем W.E. Myers и J.A. Glasel [47] показали, что антиидиотипические антитела к опиатным рецепторам существенно снижают связывание селективных агонистов μ -опиатных рецепторов в мембранах мозга крысы и мембранных препаратах нейроblastомных клеток. В меньшей степени антитела могли связываться с δ -опиатными рецепторами.

В 1988 г. D.J. Carr с соавторами [15] сообщили о получении антител, способных узнавать опиатные рецепторы на мышечных спленоцитах. Эти антитела блокировали связывание радиоактивно-меченого лиганда опиатных рецепторов ^3H -дигидроморфина со спленоцитами. Кроме того, антитела к рецепторам конкурировали с β -эндорфином, мет-энкефалином и налоксоном за связывание с одними и теми же участками на лейкоцитах. Авторы также отметили, что полученные антитела к опиатным рецепторам обладали агонистической активностью, сходной с активностью β -эндорфина, которая выражалась в подавлении синтеза цАМФ в лимфоцитах.

С развитием техники получения моноклональных антител были получены моноклональные антиидиотипические антитела к опиоидным рецепторам [28]. Первичными антителами в данном случае были антитела к β -эндорфину. Вторичные, антиидиотипические, антитела в одинаковой степени вытесняли лиганды μ - и δ -опиоидных рецепторов из связи с опиоидными рецепторами мембран мозга крысы, а также с рецепторами в растворе. Причём эти антиидиотипические антитела противодействовали стимулирующему влиянию лей-энкефалина на синтез цАМФ под действием простагландина E_1 . В 1991 г. С.J. Coscia с соавторами [24] получили моноклональные антиидиотипические антитела к μ - и δ -опиоидным рецепторам в ответ на иммунизацию антителами к морфину. В отношении μ -опиоидных рецепторов эти антитела проявляли агонистическую активность, которая блокировалась налоксоном.

И, в заключение, следует остановиться на исследованиях, которые, на наш взгляд, наиболее перспективны на пути к первичной профилактике наркотизации.

В 1979 г. группа исследователей [10] сообщила об интересных результатах своей работы по иммунизации кроликов конъюгатом активированного производного морфина (3-карбоксиметилморфин) с БСА. Полученная сыворотка кролика, содержащая антитела к морфину, была использована в дальнейшем в качестве антигена при иммунизации мышшей. Контрольной группе мышшей вводили нормальную кроличью сыворотку. Затем у мышшей формировали физическую зависимость от морфина путём вшивания под кожу капсулы, содержащей 75 мг морфина основания. Уровень физической зависимости от морфина и толерантности оценивали через 72 ч после имплантации морфина. Оценку физической зависимости проводили после введения животным налоксона (4 мг/кг п/к) и подсчёта в течение 30 мин количества прыжков с платформы. У другой группы мышшей тяжесть зависимости оценивали по потере веса в течение 96 ч после удаления капсулы с морфином. Толерантность к морфину оценивали через 72 ч после имплантации капсулы в стандартном тесте задержки реакции от-

дергивания хвоста (tail-flick). В этом эксперименте вакцинация мышшей антителами к морфину приводила к появлению у них антиидиотипических антител, конформационно повторяющих структуру морфина.

Каковы же оказались результаты исследования? В контрольной группе мышшей потеря веса оказалась выше, чем в вакцинированной группе, различие было наиболее выраженным в течение первых 24 ч после отмены морфина. У животных, иммунизированных антителами к морфину, после введения тест-дозы морфина (10 мг/кг п/к) толерантность к наркотику была в 3,5 раза ниже (анальгетический эффект проявлялся лучше), чем в контрольной группе, иммунизированной нормальной кроличьей сывороткой. Авторы не смогли объяснить наблюдаемые явления, высказав предположение о том, что иммунизация приводила к изменению состояния опиатных рецепторов. Нам кажется, что возможным объяснением является то, что появляющиеся в крови иммунизированных мышшей антитела могут функционировать как дополнительные эндогенные опиаты, способные воздействовать на периферические опиатные рецепторы.

Более детальные эксперименты по изучению эффектов иммунизации грызунов антителами к морфину провели отечественные исследователи С.К. Судаков и И.В. Русакова [4]. Исследование было проведено на крысах линии Fischer-344, которые характеризуются повышенной чувствительностью к физиологическим эффектам морфина (подавление двигательной активности), потребляют больше морфина в двухполюсном тесте свободного выбора, более чувствительны к анальгетическому и положительно подкрепляющему действию морфина, чем крысы линии Wistar Albino Glaxo (WAG). Концентрация μ -рецепторов в мозге интактных крыс линии Fischer была ниже, чем у WAG. Авторы убедительно показали, что у крыс, иммунизированных антителами к морфину с образованием в крови антиидиотипических антител, достоверно снижается влечение к опиатам (судя по числу инъекций морфина в модели самовведения) на фоне повышения чувствительности к ним (замедление нарастания толерантности к анальгетическому эффекту морфина). Авторы полагают, что наличие в крови антиидиотипических антител, оказывающих прямое агонистическое действие на периферические опиоидные рецепторы, приводит к «отражённым» эффектам в ЦНС, обусловленным повышением чувствительности опиатных рецепторов в мозге. Здесь уместно провести параллель с исследованиями у зависимых от героина лиц, у которых выявлены мутации гена μ -опиоидного рецептора, приводящие к изменению чувствительности этих рецепторов к эндогенному агонисту — β -эндорфину [13, 58] и играющие, вероятно, определённую роль в предрасположенности и развитии зависимости от ПАВ.

Роль β -эндорфина в развитии опиатной зависимости была изучена в эксперименте на крысах [62]. У крыс, которые сами вводили себе через имплантированный катетер героин на протяжении 5 последовательных дней в течение 6 ч каждый день и были декапитированы сразу после последнего цикла введения, в передней доле гипофиза выявлено снижение уровня β -эндорфина, определённого методом радиоиммунного анализа. У крыс, вводивших себе кокаин, снижение β -эндорфина отмечалось в перегородке. У таких же крыс, но декапитированных через 18 ч после последнего цикла введения героина или кокаина, обнаружена повышенная концентрация β -эндорфина в плазме крови и сниженная концентрация в передней доле гипофиза и в областях мозга, относящихся к лимбической системе (в подлежащем ядре, перегородке, гиппокампе и стриатуме). Авторы полагают, что сходные изменения уровня β -эндорфина в лимбических структурах мозга через 18 ч после прекращения самовведения героина (вызывающего как психическую, так и физическую зависимость) или кокаина (вызывающего, главным образом, психическую зависимость) свидетельствуют о том, что уровень β -эндорфина и родственных пептидов в лимбических структурах мозга может представлять собой нейрохимический коррелят психической зависимости от наркотиков.

В мировой литературе имеются лишь единичные работы, посвящённые исследованию уровня β -эндорфина при опиатной зависимости у людей. В частности, методом радиоиммунного анализа было показано, что у больных героиновой наркоманией в первые 2 дня после прекращения приёма наркотика наблюдается существенное повышение уровня β -эндорфина в плазме [26]. Было также установлено, что детоксикация способствует повышению уровня β -эндорфина, а последующее лечение налтрексоном повышает уровень β -эндорфина ещё больше [25]. Проведённое нами исследование уровня β -эндорфина в крови больных героиновой зависимостью также подтвердило роль этого лиганда опиоидных рецепторов в патогенезе опиатной зависимости, так как абстинентный синдром характеризовался повышением его уровня, а нормализация состояния больных — снижением [1]. При этом, проводимое в стационаре комплексное лечение больных с включением пептидного препарата селанка с анксиолитической активностью было патогенетически адекватным, поскольку приводило к нормализации как уровня β -эндорфина, так и взаимоотношений последнего с другим компонентом эндогенной опиоидной системы — активностью ферментов (энкефалиназ), расщепляющих эндогенные лиганды опиоидных рецепторов. Уровень β -эндорфина у людей определяли также в спинномозговой жидкости [51]. У больных опийной зависимостью, находившихся на поддерживающей те-

рапии метадонем или в состоянии после проведения детоксикации, а также в период отсутствия наркотика в организме, уровень β -эндорфина в спинномозговой жидкости, оценённый радиоиммунным методом, оказался ниже нормы [51].

В ходе своих дальнейших исследований С.К. Судаков подтвердил гипотезу о реципрокном взаимодействии центрального и периферического отделов эндогенной опиоидной системы, что даёт, по мнению автора, возможность для создания новых препаратов периферического действия для лечения наркомании и алкоголизма [5, 2, 6].

Заключение

Таким образом, на основании имеющихся литературных данных можно предположить, что у лиц, склонных к развитию зависимости, уровень эндогенных опиатов (энкефалинов, β -эндорфина и др.) снижен, или же, что у них мало опиоидных рецепторов в мозге. В таком случае повышение чувствительности этих рецепторов может способствовать нормализации эндогенной опиоидной системы. Превентивная вакцинация таких людей антителами против морфина или β -эндорфина могла бы способствовать длительному повышению уровня эндогенных опиатов в периферической крови. Последние, в свою очередь, могли бы, взаимодействуя с периферическими опиоидными рецепторами, вызывать снижение их чувствительности. В мозге же могла бы наблюдаться картина реципрокных изменений, т.е. повышение чувствительности опиоидных рецепторов. В результате вакцинированные лица были бы менее склонны к употреблению ПАВ, а у зависимых лиц вероятность рецидива могла бы снизиться. Выявлять лиц с пониженной активностью эндогенной опиоидной системы, нуждающихся в превентивной вакцинации, можно было бы, к примеру, по выраженности у них болевой чувствительности. Проверить высказанные предположения помогут дальнейшие эксперименты на животных моделях и испытания на людях.

Список литературы

1. Гамалея Н.Б., Соколов О.Ю., Золотарев Ю.А. и др. Показатели эндогенной опиоидной системы при героиновой зависимости // *Вопр. наркол.* — 2010. — №1. — С. 67—73.
2. Проскурякова Т. В., Шоханова В.А., Чумакова Ю.А. и др. Воздействие на периферические опиоидные рецепторы изменяет концентрацию μ -опиоидных рецепторов в мозге крыс // *Бюл. экспер. биол.* — 2009. — Т. 148, №9. — С. 244—246.
3. Ройт А., Бростофф Дж. *Иммунология.* — М.: Мир, 2000. — 582 с.
4. Судаков С.К., Русакова И.В. Влияние иммунизации крыс антиморфиновыми антителами на чувствительность к морфину и предрасположенность к формированию зависимости // *Бюл. экспер. биол.* — 2005. — Т. 140, №11. — С. 535—538.

5. Судаков С.К., Тригуб М.М. Гипотеза реципрокного взаимодействия центрального и периферического звена эндогенной опиоидной системы // Бюл. exper. биол. — 2008. — Т. 146, №12. — С. 604—607.
6. Судаков С.К. Воздействие на периферические опиоидные рецепторы изменяет морфиновую анальгезию, толерантность и зависимость // Наркология. — 2009. — №11. — С. 38—42.
7. Akbarzadeh A., Mehraby M., Zarbakhsh M., Farzaneh H. Design and synthesis of a morphine-6-succinyl-bovine serum albumin hapten for vaccine development // *Biotechnol. Appl. Biochem.* — 1999. — Vol. 30. — P. 139—146.
8. Anton B., Leff P. A novel bivalent morphine/heroin vaccine that prevents relapse to heroin addiction in rodents // *Vaccine.* — 2006. — Vol. 24. — P. 3232—3240.
9. Anton B., Salazar A., Flores A. et al. Vaccines against morphine/heroin and its use as effective medication for preventing relapse to opiate addictive behaviors // *Human Vaccines.* — 2009. — Vol. 5. — P. 214—229.
10. A-Wahid F., Meisheri K.D., Isom G.E. Suppression of morphine physical dependence and tolerance by immune activation // *Proc. Pharmacol. Soc.* — 1979. — Vol. 22. — P. 483—488.
11. Berkowitz B., Spector S. Evidence for active immunity to morphine in mice // *Science.* — 1972. — Vol. 178. — P. 1290—1292.
12. Berkowitz B.A., Ceretta K.V., Spector S. Influence of active and passive immunity on the disposition of dihydromorphine- H^3 // *Life Sci.* — 1974. — Vol. 15. — P. 1017—1028.
13. Bond C., LaForge K.S., Tian M. et al. Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95. — P. 9608—9613.
14. Bonese K., Wainer B., Fitch F. et al. Changes in heroin self-administration by a rhesus monkey after morphine immunization // *Nature.* — 1974. — Vol. 252. — P. 708—710.
15. Carr D.J.J., Bost K.L., Blalock J.E. The production of antibodies which recognize opiate receptors on murine leukocytes // *Life Sci.* — 1988. — Vol. 42. — P. 2615—2624.
16. Carrera M.R., Ashley J.A., Parsons L.H. et al. Suppression of psychoactive effects of cocaine by active immunization // *Nature.* — 1995. — Vol. 378. — P. 727—730.
17. Carrera M.R., Ashley J.A., Zhou B. et al. Cocaine vaccines: antibody protection against relapse in a rat model // *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 2000. — Vol. 97. — P. 6202—6206.
18. Carrera M.R., Ashley J.A., Wirsching P. et al. A second-generation vaccine protects against psychoactive effects of cocaine // *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 2001. — Vol. 98. — P. 1988—1992.
19. Carrera M.R., Ashley J.A., Hoffman T.Z. et al. Investigations using immunization to attenuate the psychoactive effects of nicotine // *Bioorg. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 12. — P. 563—570.
20. Carrera M.R., Trigo J.M., Wirsching P. et al. Evaluation of the anticocaine monoclonal antibody GNC92H2 as an immunotherapy for cocaine overdose // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2005. — Vol. 81. — P. 709—714.
21. Cerny E.H., Levy R., Mauel J. et al. Preclinical development of a vaccine «against smoking» // *Oncologie.* — 2002. — Vol. 25. — P. 406—411.
22. Cerny T. Anti-nicotine vaccination: where are we? Recent results // *Cancer Res.* — 2005. — Vol. 166. — P. 167—175.
23. Cerny E.H., Cerny T. Vaccines against nicotine // *Hum. Vaccines.* — 2009. — Vol. 5. — P. 200—205.
24. Coscia C.J., Szucs M., Barg J. et al. A monoclonal anti-idiotypic antibody to μ and δ opioid receptors // *Mol. Brain Res.* — 1991. — Vol. 9. — P. 299—306.
25. Cushman P., Morris D., Adams M., Dewey W. Opiate addiction and plasma beta-endorphin-like immunoreactivity: methadone maintained, recently detoxified and early naltrexone treated ex-addicts // *Alcohol Drug Res.* — 1987. — Vol. 7. — P. 533—540.
26. Emrich H.M., Nusselt L., Gramsch C., John S. Heroin addiction: beta-endorphin immunoreactivity in plasma increases during withdrawal // *Pharmacopsychiatry.* — 1983. — Vol. 16. — P. 93—96.
27. Fox B.S., Kantak K.M., Edwards M.A. et al. Efficacy of a therapeutic cocaine vaccine in rodent models // *Nat. Med.* — 1996. — Vol. 2. — P. 1129—1132.
28. Gramsch C., Schulz R., Kosin S., Herz A. Monoclonal anti-idiotypic antibodies to opioid receptors // *J. Biol. Chem.* — 1988. — Vol. 263. — P. 5853—5859.
29. Haney M., Gunderson E.W., Jiang H. et al. Cocaine-specific antibodies blunt the subjective effects of smoked cocaine in humans // *Biol. Psychiatry.* — 2010. — Vol. 67. — P. 59—65.
30. Hatsukami D., Rennard S., Jorenby D.E. et al. Safety and immunogenicity of a nicotine conjugate vaccine in current smokers // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2005. — Vol. 78. — P. 456—467.
31. Hicks M.J., De B.P., Rosenberg J.B. et al. Cocaine analogue coupled to disrupted adenovirus: a vaccine strategy to evoke high-titer immunity against addictive drugs // *Mol. Ther.* — 2011. — Vol. 19. — P. 612—619.
32. Hieda Y., Keyler D.E., Vandevort J.T. et al. Active immunization alters the plasma nicotine concentration in rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1997. — Vol. 283. — P. 1076—1081.
33. Hieda Y., Keyler D.E., Ennifor S. et al. Vaccination against nicotine during continued nicotine administration in rats: immunogenicity of the vaccine and effects on nicotine distribution to brain // *Int. J. Immunopharmacol.* — 2000. — Vol. 22. — P. 809—819.
34. Hill J.H., Wainer B.H., Fitch F.W., Rothberg R.M. Delayed clearance of morphine from the circulation of rabbits immunized with morphine-6-hemisuccinate bovine serum albumin // *J. Immunol.* — 1975. — Vol. 114. — P. 1363—1368.
35. Ho M., Segre M. Inhibition of cocaine binding to the human dopamine transporter by a single chain anti-idiotypic antibody: its cloning, expression, and functional properties // — 2003. — Vol. 1638. — P. 257—266.
36. Hrafnkelsdottir K., Valgeirsson J., Gizurarson S. Induction of protective and specific antibodies against cocaine by intranasal immunisation using a glyceride adjuvant // *Biol. Pharm. Bull.* — 2005. — Vol. 28. — P. 1038—1042.
37. Jerne N.K. Towards a network theory of the immune system // *Ann. Immunol. (Paris).* — 1974. — Vol. 125C. — P. 373—389.
38. Kantak K.M., Collins S.L., Lipman E.G. et al. Evaluation of anti-cocaine antibodies and a cocaine vaccine in a rat self-administration model // *Psychopharmacol.* — 2000. — Vol. 148. — P. 251—262.
39. Keyler D.E., Soeman D., LeSage M.G. et al. Maternal vaccination against nicotine reduces nicotine distribution to fetal brain in rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2003. — Vol. 305. — P. 587—592.
40. Keyler D.E., Roiko S.A., Benlhabib E. et al. Monoclonal nicotine-specific antibodies reduce nicotine distribution to brain in rats: dose and affinity response relationship // *Drug. Metab. Dispos.* — 2005. — Vol. 33. — P. 1056—1061.
41. Keyler D.E., Roiko S.A., Early C.A. et al. Enhanced immunogenicity of a bivalent nicotine vaccine // *Int. Immunopharmacol.* — 2008. — Vol. 8. — P. 1589—1594.
42. Kosten T., Rosen M., Bond J. et al. Human therapeutic cocaine vaccine: safety and immunogenicity // *Vaccine.* — 2002. — Vol. 20. — P. 1196—1204.
43. Malin D.H., Lake J.R., Lin A. et al. Passive immunization against nicotine prevents nicotine alleviation of nicotine abstinence syndrome // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2001. — Vol. 68. — P. 87—92.

44. Martell B.A., Orson F.M., Poling J. et al. Cocaine vaccine for the treatment of cocaine dependence in methadone-maintained patients: a randomized, double-blinded, placebo-controlled efficacy trial // *Arch. Gen. Psychiatry*. — 2009. — Vol. 66. — P. 1116—1123.
45. Maurer P., Jennings G.T., Willers J. et al. A therapeutic vaccine for nicotine dependence: preclinical efficacy and Phase I safety and immunogenicity // *Eur. J. Immunol.* — 2005. — Vol. 35 — P. 2031—2040.
46. Moreno A.Y., Janda K.D. Immunopharmacotherapy: Vaccination strategies as a treatment for drug abuse and dependence // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2009. — Vol. 92. — P. 199—205.
47. Myers W.E., Glasel J.A. Subclass specificity of anti-idiotypic anti-opiate receptor antibodies in rat brain, guinea pig cerebellum, and neuroblastoma x glioma (NG 108-15) // *Life Sci.* — 1986. — Vol. 38. — P. 1783—1788.
48. Nekhayeva I.A., Nanovskaya T.V., Pentel P.R. et al. Effects of nicotine-specific antibodies, Nic311 and Nic-IgG, on the transfer of nicotine across the human placenta // *Biochem. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 70. — P. 1664—1672.
49. Ng D.S., Isom G.E. Binding of antimorphine anti-idiotypic antibodies to opiate receptors // *Eur. J. Pharmacol.* — 1984. — Vol. 102. — P. 187—190.
50. Ng D.S., Isom G.E. Anti-morphine anti-idiotypic antibodies // *Biochem. Pharmacol.* — 1985. — Vol. 34. — P. 2853—2858.
51. O'Brien C.P., Terenius L.Y., Nyberg F. et al. Endogenous opioids in cerebrospinal fluid of opioid-dependent humans // *Biol. Psychiatry*. — 1988. — Vol. 24. — P. 649—662.
52. Orson F.M., Kinsey B.M., Singh R.A.K. et al. Substance abuse vaccines // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2008. — Vol. 1141. — P. 257—269.
53. Pentel P.R., Malin D.H., Ennifar S. et al. A nicotine-conjugate vaccine reduces nicotine distribution to brain and attenuates its behavioral and cardiovascular effects in rats. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2000. — Vol. 65. — P. 191—198.
54. Redwan E.R., Larsen N.A., Zhou B. et al. Expression and characterization of a humanized cocaine-binding antibody // *Biotechnol. Bioeng.* — 2003. — Vol. 82. — P. 612—618.
55. Roiko S.A., Harris A.C., Keyler D.E. et al. Combined active and passive immunization enhances the efficacy of immunotherapy against nicotine in rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2008. — Vol. 325. — P. 985—993.
56. Sanderson S.D., Cheruku S.R., Padmanilayam M.P. et al. Immunization to nicotine with a peptide-based vaccine composed of a conformationally biased agonist of C5a as a molecular adjuvant // *Int. Immunopharmacol.* — 2003. — Vol. 3. — P. 137—146.
57. Schabacker D.S., Kirschbaum K.S., Segre M. Exploring the feasibility of an anti-idiotypic cocaine vaccine: analysis of the specificity of anticocaine antibodies (Ab1) capable of inducing Ab2 β anti-idiotypic antibodies // *Immunology* — 2000. — Vol. 100. — P. 48—56.
58. Shi J., Hui L., Wang, F., Hu G. Sequence variations in the mu-opioid receptor gene (OPRM1) associated with human addiction to heroin // *Hum. Mutat.* — 2002. — Vol. 19. — P. 459—460.
59. Spector S. Quantitative determination of morphine in serum by radioimmunoassay // *J. Pharm. Exp. Ther.* — 1971. — Vol. 178. — P. 253—258.
60. Tuncok Y., Hieda Y., Keyler D.E. et al. Inhibition of nicotine-induced seizures in rats by combining vaccination against nicotine with chronic nicotine infusion // *Exp. Clin. Psychopharmacol.* — 2001. — Vol. 9. — P. 228—234.
61. Wainer B.H., Fitch F.W., Fried J., Rothberg R.M. A measurement of the specificities of antibodies to morphine-6-succinyl-BSA by competitive inhibition of ¹⁴C-morphine binding // *J. Immunol.* — 1973. — Vol. 110. — P. 667—673.
62. Wiegant V.M., De Vry J., Van Ree J.M. Beta-endorphin in brain limbic structures as neurochemical correlate of psychic dependence on drugs // *Life Sci.* — 1989. — Vol. 44. — P. 1133—1140.

VACCINES AGAINST DRUGS — A NEW PROMISING TREND IN DRUG ABUSE PREVENTION

GAMALEYA N.B.

MD, Doct. Med. Sci., Prof., Head, Laboratory of Immunochemistry, National Research Center of Addiction (NRCA), Moscow

BERZINA A.G.

Cand. Biol. Sci., senior researcher, Laboratory of Immunochemistry, NRCA, Moscow
National Research Center of Addiction, Malyy Mogiltsevskii per. 3, Moscow 119002, Russia, Fax 007 495 2419961,
e-mail: nrca@mail.ru

Conventional drug-abuse treatments remain ineffective until now. Immunological approach including active immunization — vaccination — in the development of the methods for prevention of such abuse is of great practical importance. This review presents the current status of vaccine development for cocaine, nicotine, and morphine/heroin. Special attention is paid to the research trends acceptable for the Russian Federation.

Key words: morphine, cocaine, nicotine, dependence, vaccines, prophylaxis