

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАЛТРЕКСОНА И НАЛОКСОНА

А. И. Головко<sup>1</sup>, С. И. Головко<sup>1</sup>, Л. В. Леонтьева<sup>2</sup>, О. И. Романенко<sup>1</sup>, Д. А. Коноплин<sup>1</sup>

Налоксон и налтрексон нашли широкое применение в медицине. Они являются конкурентными антагонистами опиоидных рецепторов. В исследованиях на мутантных рецепторах показано, что многие аминокислотные остатки трансмембранных доменов играют важную роль в связывании налоксона и налтрексона. Показано, что даже отдельные мутации могут существенно изменять сродство антагонистов к рецепторам, а в некоторых случаях – обеспечивают появление у них свойств агонистов. Длительные воздействия налоксоном и налтрексоном сопровождаются возрастанием плотности опиоидных рецепторов и повышением чувствительности к агонистам. Обсуждаются подобная суперчувствительность и возможность передозировок у героино-вых наркоманов после длительного приема налтрексона.

Изучение фармакологических свойств антагонистов опиоидных анальгетиков получило развитие в начале 20 века, когда была продемонстрирована способность N-аллилморкодеина ослаблять угнетающее действие морфина и героина на дыхательный центр [58]. В 40-х годах в лечебную практику стал внедряться налорфин (рис. 1). Долгое время он оставался основным средством лечения острых отравлений морфином [27]. Налоксон, синтезированный в 1960 г., значительно превосходил налорфин по эффективности и терапевтической широте [33, 52]. К его недостаткам следует отнести короткий период полужизни и отсутствие лекарственных форм для приема внутрь. В значительной степени перечисленным требованиям отвечает налтрексон, синтезированный в 1963 г. [52].

Антагонистические свойства налоксона и налтрексона первоначально выявлены на уровне физиологических и поведенческих реакций. Оба препарата эффективно устраняли фармакологические ответы на введение опиоидов (анальгезия, седативное действие, угнетение дыхательного центра и т.д.) [20, 23, 33, 83]. Данное свойство стало основой высокой антидотной активности налоксона при острых отравлениях агонистами опиоидных рецепторов. При совместном введении налоксона или налтрексона с опиоидными анальгетиками удавалось предупреждать развитие толерантности и абстинентного синдрома [23]. Наиболее ярким доказательством антагонистической активности препаратов считают их способность ускорять и усиливать симптомы лишения наркотика (precipitated withdrawal) [48]. По этому показателю налтрексон значите-

льно превосходит налоксон [8, 9]. В исследованиях на наркоманах – добровольцах показана способность антагонистов противодействовать эйфоризирующему эффекту героина и морфина [18, 62]. Это обеспечило выраженную противорецидивную активность налтрексона у наркоманов, прошедших начальный этап абстиненции.

Нейрохимическую основу фармакологической активности антагонистов составляет их способность связываться с опиоидными рецепторами. Специфическое связывание налоксона и налтрексона доказано в радиолигандных исследованиях [60, 76], с помощью радиоавтографии [50] и позитронно-эмиссионной томографии [37, 71]. Способность к связыванию с опиоидными рецепторами дает основание причислять на-

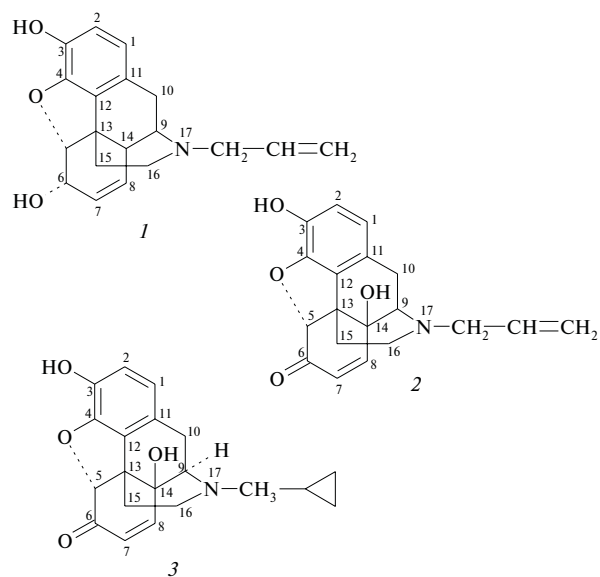


Рис. 1. Химическая структура налорфина (1), налоксона (2) и налтрексона (3).

<sup>1</sup> Региональный лечебно-диагностический медицинский центр “Бехтерев”, Санкт-Петербург, 198096, ул. Корабельная, 6. E-mail: teplicky@infopro.spb.su;

<sup>2</sup> Университет штата Западная Вирджиния, США, Box 9151, Morgantown, WV 26505 – 9151, U. S. A. E-mail: Luba 105@hotmail.com.

локсон и налтрексон к специфическим лигандам. Доказательством фармакологической активности на нейробиохимическом уровне может рассматриваться способность модулировать системы вторичных и третичных мессенджеров, экспрессию генов, функциональную активность неопиоидергических нейромедиаторных систем [21, 32, 39, 66].

### 1. Молекулярные основы связывания антагонистов

Наиболее ранние радиолигандные исследования с использованием [<sup>3</sup>H]-наллоксона и [<sup>3</sup>H]-налтрексона выполнены в начале 70-х годов 20-го века [54 – 56, 65]. В последующем высокий аффинитет налоксона и налтрексона к опиоидным рецепторам подтвержден с помощью радиоавтографии и позитронно-эмиссионной томографии [37, 50, 71]. Оба препарата обладают сродством ко всем трем подтипам опиоидных рецепторов ( $\mu$ ,  $\delta$  и  $\kappa$ ). Наиболее эффективно они связываются с  $\mu$ -рецепторами. Так, анализ результатов специфического связывания [<sup>3</sup>H]-налтрексона с синаптическими мембранами коры большого мозга крыс выявил 2 участка рецепторов — высоко- и низкоаффинный. Первый соответствовал  $\mu$ -, а второй —  $\delta$ -рецепторам. Связывание с  $\kappa$ -подтипом было минимальным [61].

Сродство налтрексона к  $\mu$ - и  $\delta$ -рецепторам существенно превосходит соответствующий показатель для налоксона. Так, константа диссоциации ( $K_d$  — концентрация лиганда, при которой насыщается половина рецепторов;  $K_d$  обратно пропорциональна сродству лиганда к рецепторам) при использовании [<sup>3</sup>H]-налтрексона составляла менее 1 нМ [56, 76], а для [<sup>3</sup>H]-наллоксона, как правило — более 1 нМ [43, 60]. Сходные данные получены при оценке сродства с помощью вычисления константы ингибирования антагонистами специфического связывания селективных радиолигандов  $\mu$ -,  $\delta$ - и  $\kappa$ -рецепторов [10, 28, 46].

Для понимания механизмов рецептирования антагонистов целесообразно кратко напомнить о структуре опиоидных рецепторов. Опиоидные рецепторы принадлежат к семейству метаботропных рецепторов, ассоциированных с G-белками. Передача информации на постсинаптические структуры осуществляется посредством модуляции различных систем вторичных мессенджеров: аденилатциклазы, каналов для кальция и натрия, фосфоинозитидного каскада [26, 36, 41].

Молекула рецептора включает внеклеточный NH<sub>2</sub>-участок. Далее следуют семь трансмембранных доменов (TM I – TM VII), между которыми расположены три внеклеточные и три внутриклеточные петли. Завершает полипептидную цепь внутриклеточная COO-терминаль [5, 6, 26, 56]. Предполагается, что молекула рецептора свернута в спираль, а ее трансмембранные домены тесно взаимодействуют между собой [5, 6, 26, 47, 56]. Внеклеточный домен имеет несколько мест для гликозилирования по остаткам аспарагина. Между первой и второй внеклеточными петлями вы-

явлена дисульфидная связь между остатками цистеина [82].

Зона рецептирования лигандов опиоидного рецептора условно делится на участки селективности и “карман” связывания. Первые расположены преимущественно выше наружной поверхности мембраны и сформированы аминокислотными остатками внеклеточных петель и вершукшек трансмембранных доменов [47, 49]. “Карман” находится ниже наружной поверхности мембраны. Он ограничен спиральными петлями трансмембранных доменов [5, 6].

В рецептирование лигандов пептидной природы вовлечены участки селективности и “карман” связывания. Алкалоиды и их дериваты связываются преимущественно в области “кармана”. При этом заряженный азот молекулы лиганда способен взаимодействовать с остатками ароматических аминокислот полипептидной цепи [5, 6, 45, 47].

Углублению теоретических представлений о механизмах рецептирования лигандов опиоидных рецепторов способствовало внедрение методов клонирования. В частности, сведения об участках связывания получены посредством создания химерных конструкций, когда полипептид формировался из фрагментов, принадлежащих рецепторам различных подтипов:  $\mu/\delta$ ,  $\delta/\mu$ ,  $\delta/\kappa$  и т.д. [17]. Подобный подход позволил говорить о конкретном участии внеклеточных петель и трансмембранных доменов в связывании агонистов и антагонистов  $\mu$ -,  $\delta$ - и  $\kappa$ -рецепторами [41]. Исследования с химерными рецепторами позволили выявить участки, ответственные за формирование селективности к различным лигандам. Но этот подход не обеспечивал возможности определить ключевые аминокислоты. Поэтому следующим шагом стало изучение вклада отдельных аминокислотных остатков посредством клонирования мутантных рецепторов, в которых заменялась одна или несколько аминокислот. Оценивались функциональные характеристики рецептора (по параметрам связывания радиолигандов, по активности систем трансдукции), а также осуществлялось компьютерное моделирование участка рецептирования [6].

Наиболее подробно данная проблема изучена в отношении связывания агонистов пептидной и непептидной природы [10, 60, 74]. Однако накоплен достаточный материал и для понимания механизмов рецептирования антагонистов (таблица).

Как следует из данных таблицы, специфическое связывание налоксона и налтрексона изменяется (чаще в сторону снижения) при замене аминокислот во втором – седьмом трансмембранных доменах. В настоящем обзоре не приводятся результаты изучения связывания агонистов с рецепторами – мутантами. Между тем, анализ многочисленных работ свидетельствует, что в условиях сайт-направленного мутагенеза рецептирование агонистов сопровождалось более драматическими нарушениями в сравнении со связывани-

ем антагонистов. Особенно это характерно для агонистов пептидной природы [12, 75].

К. Befort и соавт. [6] оценивали роль различных аминокислот трансмембранных доменов в рецептировании налоксона мутантными  $\delta$ -рецепторами. Значи-

#### Влияние мутаций различных аминокислот на состояние опиоидных рецепторов

№№ пп	Биологическая система	Характер мутации	Результат мутации	Литература
1.	$\delta$ -опиоидные рецепторы мышей, клонированные в клетках COS-1	Аспартат 128 Аланин, ТМ III*	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона	[5]
2.	“-“	Аспартат 128 Аспарагин, ТМ III	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[5]
3.	$\mu$ -опиоидные рецепторы мышей, клонированные в клетках COS-1	Аспартат 147 Аланин, ТМ III	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона	[5]
4.	$\delta$ -опиоидные рецепторы мышей, клонированные в клетках COS-1	Тирозин 129 Фенилаланин, ТМ III	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[6]
5.	“-“	Тирозин 129 Аланин, ТМ III	Ослабление специфического связывания налоксона в десятки раз	[6]
6.	“-“	Триптофан 173 Аланин, ТМ IV	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[6]
7.	“-“	Фенилаланин 218 Аланин, ТМ V	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[6]
8.	“-“	Фенилаланин 222 Аланин, ТМ V	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[6]
9.	“-“	Триптофан 274 Аланин, ТМ VI	Ослабление специфического связывания налоксона в десятки раз	[6]
10.	“-“	Тирозин 308 Фенилаланин, ТМ VII	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[6]
11.	$\mu$ -опиоидные рецепторы крыс, клонированные в клетках COS-1	Лизин 303 Глутамат; Лизин 303 Глутамин; Лизин 303 Триптофан, ТМ VI	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона и налтрексона	[10]
12.	“-“	Триптофан 318 Лейцин; Триптофан 318 Лизин, ТМ VII	Ослабление специфического связывания налоксона и налтрексона	[10]
13.	$\mu$ -опиоидные рецепторы крыс, клонированные в клетках НЕК 293 (human embryonic kidney)	Аспартат 114 Аспарагин, ТМ II	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона	[11]
14.	$\mu$ -опиоидные рецепторы мышей, клонированные в клетках НЕК 293	Аспартат 95 Аспарагин, ТМ II	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона	[12]
15.	$\mu$ -опиоидные рецепторы крыс, клонированные в клетках яичника китайского хомячка	Аспартат 147 Аланин, ТМ III	Снижение аффинитета рецепторов для налтрексона	[45]
16.	“-“	Аспартат 147 Аспарагин, ТМ III	Снижение аффинитета рецепторов для налтрексона	[45]
17.	“-“	Аспартат 147 Глутамат, ТМ III	Слабое изменение аффинитета рецепторов для налтрексона	[45]
18.	$\mu$ -опиоидные рецепторы крыс, клонированные в клетках COS-1	Аспартат 150 Аланин, ТМ III	Отсутствие изменений специфического связывания налоксона и налтрексона	[47]
19.	“-“	Тирозин 326 Фенилаланин, ТМ VII	Снижение аффинитета для налоксона и налтрексона	[47]
20.	“-“	Валин 202 Изолейцин, ТМ IV	Отсутствие изменений специфического связывания налоксона и налтрексона	[47]
21.	“-“	Изолейцин 198 Валин, ТМ IV	Снижение аффинитета для налоксона и отсутствие изменений специфического связывания налтрексона	[47]
22.	$\delta$ -опиоидные рецепторы мышей, клонированные в клетках COS-7 и в клетках яичника китайского хомячка	Лизин 108 Аспарагин, первая экстрацеллюлярная петля	Достоверное повышение специфического связывания налоксона	[49]

Продолжение таблицы

№№ пп	Биологическая система	Характер мутации	Результат мутации	Литература
23.	μ-опиоидные рецепторы крыс, клонированные в клетках COS-7	Гистидин 297 Аланин; Гистидин 297 Аргинин; Гистидин 297 Аспарагин; Гистидин 297 Аспартат; Гистидин 297 Глутамат; Гистидин 297 Лейцин; Гистидин 297 Лизин; Гистидин 297 Фенилаланин, TM VI	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[67]
24.	—	Гистидин 297 Глутамин, TM VI	Двукратное ослабление специфического связывания налоксона	[67]
25.	μ <sub>1</sub> -опиоидные рецепторы, клонированные в клетках COS	Аспартат 114 Аланин, TM II	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[69]
26.	—	Аспартат 114 Аспарагин, TM II	Усиление специфического связывания налоксона	[69]
27.	—	Аспартат 114 Глутамат, TM II	Усиление специфического связывания налоксона	[69]
28.	—	Аспартат 147; Аланин; Аспартат 147 Аспарагин; Аспартат 147 Глутамат, TM III	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[69]
29.	—	Гистидин 297 Аланин, TM VI	Множественное ослабление специфического связывания налоксона	[69]
30.	μ-опиоидные рецепторы крыс, клонированные в клетках COS-7	Тирозин 148 Фенилаланин, TM III	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона	[74]
31.	—	Гистидин 319 Аланин, TM VII	Отсутствие достоверных изменений специфического связывания налоксона	[74]

**Примечание.** \* — осуществлена замена аспартат-128 на аланин в третьем трансмембранном домене.

мость ароматических аминокислот определяли посредством следующих мутаций: Триптофан 173 Аланин (TM IV)\*; Фенилаланин 218 Аланин и Фенилаланин 222 Аланин (TM V). О роли гидроксильных групп — посредством замен Тирозин 129 Фенилаланин (TM III) и Тирозин 308 Фенилаланин (TM VII). Наконец, с помощью замены тирозина в положении 129 (TM III) на аланин судили об участии ароматического кольца в формировании мест специфического связывания антагониста (рис. 2). Подтверждена важная роль ароматических аминокислот в рецептировании налоксона. Так, замена тирозина-129 на другую ароматическую аминокислоту, фенилаланин, мало влияла на связывание антагониста, тогда как замещение на аланин сопровождалось снижением сродства в десятки раз.

К важным (ключевым) аминокислотам “кармана” связывания относят глутаминовую и аспарагиновую кислоты, гистидин [5, 67, 69]. Например, установлено, что в связывании налтрексона важную роль играет отрицательно заряженная карбоксильная группа аспартата-147 (TM III) μ-рецептора [45]. По-видимому, происходит образование ионной связи между карбоксиллом аспартата-147 и протонированным азотом-17 налтрексона. Замена аспартата-147 на аспарагин или аланин, которые не имеют этой группы, резко понизила аффинитет антагониста к рецептору. Мутанты с

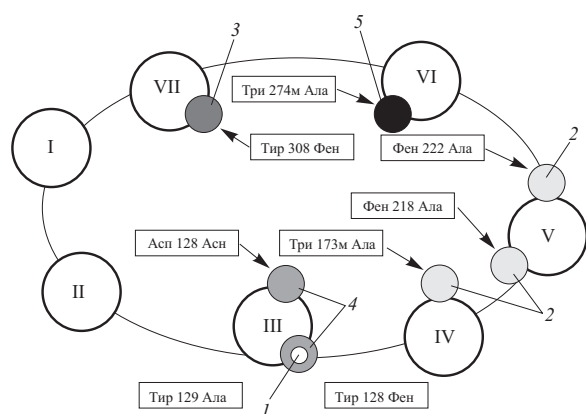
глутаматом-147 (имеется карбоксил в положении 147) мало отличались от рецепторов “дикого” типа. Авторы представили еще одно доказательство своей концепции. Аналог налтрексона, не подвергающийся протонированию, обладал очень низким сродством к рецептору, а его антагонистическая активность в сравнении с налтрексоном была слабее в 100 раз. Предполагается, что в образовании ионной связи с налоксоном и налтрексоном могут принимать участие и карбоксилы глутаминовой кислоты.

Структура “кармана” связывания опиоидного рецептора модулируется аминокислотными остатками, расположенными на некотором удалении от него. К примеру, замена лизина-108 в первой внеклеточной петле на аспарагин сопровождалась множественным снижением аффинитета δ-рецептора к налоксоному. Первая экстрацеллюлярная петля, как известно, не участвует в формировании “кармана” связывания, с которым взаимодействует антагонист. Здесь речь идет о серьезных внутримолекулярных перестройках [49].

## 2. Влияние антагонистов на системы вторичных мессенджеров

Архитектоника рецепторного комплекса настолько детерминирована, что даже одна мутация может привести к серьезным изменениям параметров взаимодействия лиганда и рецептора. В некоторых исследованиях налоксон и налтрексон на рецепторах — мутантах проявляли свойства частичных или полных агонистов.

\* Т.е. осуществлена замена триптофана — 173 на аланин в четвертом трансмембранном домене.



**Рис. 2.** Влияние замен аминокислотных остатков на сродство  $\delta$ -рецепторов к налоксону [6].

Примечание: 1. Круги с римскими цифрами — трансмембранные домены; маленькие круги — места замен аминокислот; характер узора внутри маленького круга соответствует определенной степени снижения аффинитета мутантной формы рецептора по сравнению с “диким” типом. 2. Снижение аффинитета рецепторов (кратность): 1 — 2–4; 2 — 4–7; 3 — 7–10; 4 — 15–20; 5 — 50–100.

3. Характер мутации отражен в прямоугольнике: “Тир 129 Ала” означает, что тирозин в положении 129 заменена на аланин.

4. Сокращения названий аминокислот: Фен — фенилаланин, Асп — аспарат, Асп — аспарагин, Три — триптофан.

В работах [67, 68]  $\mu$ -рецепторы экспрессировали в ооцитах *Xenopus laevis*, после чего оценивали калиевые токи, регулируемые G-белком. На рецепторах “дикого” типа налоксон и налтрексон не изменяли калиевые токи, т.е. проявляли свойства антагонистов. В экспериментах с мутантами Гистидин 297 Аспарагин и Гистидин 297 Глутамин выявлялась агонистическая активность налоксона и налтрексона. Авторы полагают, что замена гистидина-297 (TM VI) на аспарагин или глутамин сопровождается изменением взаимодействия трансмембранных доменов с третьей внутриклеточной петлей, которая, в свою очередь, тесно связана с G-белком. Появление агонистической активности налоксона и налтрексона в отношении калиевых каналов, сопряженных с G-белком, также продемонстрировано на мутантных формах  $\mu$ -рецептора Серин 196 Лейцин (TM IV) и  $\Delta$ -рецептора Серин 177 Лейцин (TM IV) [19].

Как известно,  $\mu$ - и  $\delta$ -агонисты угнетают базальную и стимулированную активность аденилатциклазы. Налоксон и налтрексон противодействуют этим эффектам, но самостоятельно не влияют на фермент [4]. На клетках яичника китайских хомячков, экспрессирующих мутанты  $\mu$ -рецептора Серин 196 Лейцин или  $\delta$ -рецептора Серин 177 Лейцин, показана агонистическая активность налоксона и налтрексона. Это выражалось в появлении у блокаторов способности угнетать аденилатциклазу, стимулируемую форсколином [19]. Сходным образом проявлял себя налоксон и на  $\delta$ -мутанте Аспарат 128 Лизин [15].

Налоксон и налтрексон способны проявлять агонистическую активность не только на биологических системах, содержащих мутантные опиоидные рецепто-

ры. Уже в ранних клинических испытаниях налтрексона, выполненных в 70–80-х годах, отмечена способность препарата вызывать миоз, снижение частоты дыхания и другие симптомы. Подобные эффекты свойственны опиоидным агонистам (см. обзоры [13, 33]).

В последующие годы с использованием некоторых нейрхимических и электрофизиологических моделей удалось продемонстрировать агонистическую активность налоксона и налтрексона. Так, налоксон угнетал аденилатциклазу, стимулированную форсколином. Биологической системой в данном случае стали клетки яичника китайских хомячков, коэкспрессирующие аденилатциклазу, и  $\mu$ - или  $\kappa$ -опиоидные рецепторы. Этот эффект был слабее в сравнении с действием “классических” опиоидных агонистов, но само его присутствие позволило авторам говорить о частичной агонистической активности налоксона [31].

Установлена способность налоксона изменять частоту сердечных сокращений и двигательную активность плодов свиньи в период поздней беременности. Подобные эффекты напоминали действие морфина в сходных условиях эксперимента [20].

### 3. Реакции биологических систем на хроническое воздействие антагонистами

Хроническое воздействие налоксоном и налтрексоном сопровождается повышением плотности опиоидных рецепторов в головном мозге экспериментальных животных (опыты *ex vivo*) и в клеточных культурах (опыты *in vitro*) [55, 78, 81]. Это явление получило название *up-regulation*. В некоторых случаях данное состояние сопровождалось повышением чувствительности биологической системы к фармакологическим эффектам опиоидов [34, 77, 78]. Агонисты оказывают противоположное действие на число рецепторов — *down-regulation* [25]. Причем, если состояние *up-regulation* при длительных экспозициях к антагонистам стабильно достигается в большинстве биологических моделей, то подавление плотности рецепторов с помощью агонистов наиболее эффективно в опытах *in vitro* [81]. Среди нейрхимиков и наркологов сформировалось мнение о том, что увеличение числа опиоидных рецепторов является одним из проявлений длительного воздействия налоксоном и налтрексоном [77, 78, 84]. Однако есть исследования, показывающие, что на начальном этапе взаимодействия антагонистов с опиоидными рецепторами может развиваться состояние *down-regulation*. Такой феномен свидетельствует о проявлении налоксоном и налтрексоном свойств агонистов [7, 31].

В опытах *in vitro* показана способность налоксона действовать на возбужденные опиоидные рецепторы в качестве обратного агониста. Это означает, что антагонист обладает внутренней негативной активностью и стабилизирует рецептор в неактивном состоянии [24].

Итак, есть основания полагать, что налоксон и налтрексон, хотя и относятся к антагонистам, способны

изменять конформационное состояние опиоидных рецепторов, проявляя тем самым свойства частичных агонистов. Практикующим наркологам следует знать насколько важны приведенные эффекты для реализации фармакологической активности антагонистов. Например, при использовании налоксона и налтрексона в качестве антидотов при острых отравлениях опиоидами агонистическая активность может рассматриваться как нежелательная. Для проведения заместительной терапии рассматриваемые препараты не используются из-за явного преобладания антагонистического профиля. Однако включение налоксона в схему противорецидивного лечения частичным агонистом бупренорфином резко повысило качество терапии [40].

Появились сообщения о способности налоксона и налтрексона в низких дозах (концентрациях) достоверно усиливать антиноцицептивную активность морфина и опиоидных анальгетиков (опыты *in vitro* и *in vivo*). Это подтверждает ранее высказанное предположение о влиянии антагонистов на конформационное состояние опиоидных рецепторов. Включение блокаторов в схемы лечения болевого синдрома не только повышает эффективность терапии, но и противодействует развитию толерантности и зависимости [23].

В практике нарколога антагонисты опиоидных рецепторов применяют при лечении опиатной наркомании и зависимости от алкоголя. В частности, их способность ускорять опиатный абстинентный синдром (*precipitated withdrawal*) используют в процессе ультрабыстрой опиатной детоксикации [53, 63]. В схемах противорецидивной терапии алкоголизма и опиатной наркомании применяют налтрексон [30, 42].

Долгое время основной лекарственной формой для профилактики рецидивов употребления опиоидов или алкоголя служили таблетки или капсулы налтрексона. Однако в 70-х годах начались исследования по созданию пролонгированных форм налтрексона, пригодных для имплантации под кожу [29]. Разработана и успешно использована в клинических испытаниях суспензия микрокапсул [42], гелеобразные препараты налтрексона [30]. Изучается возможность создания пролонгированных таблетированных форм [2].

По мере внедрения налтрексона в клиническую практику накапливались сведения о побочных эффектах. К ним относили гепатотоксичность [57, 72], расстройства функции желудочно-кишечного тракта (тошнота, диарея), кожную сыпь, головную боль, озноб, тревогу, дисфорию [13, 22, 33]. К настоящему времени появились сообщения о таких осложнениях, как кома [1], рабдомиолиз [16], отек легких [35]. Предполагается, что длительный прием антагониста может сопровождаться повышением чувствительности пациентов к токсическому действию опиоидов [3, 78]. Рассмотрим подробнее эту позицию.

Ранее упоминалось, что хроническое воздействие налоксоном или налтрексоном индуцирует состояние *up-regulation*, т.е. увеличение числа опиоидных рецеп-

торов [55, 78]. Первые работы, продемонстрировавшие повышение числа опиоидных рецепторов в головном мозге на фоне хронического введения антагонистов, выполнены в начале 70-х годов. [38, 55]. При этом речь шла о возрастании суммарной плотности опиоидных рецепторов. Значительно позже было выяснено, что явление *up-regulation* распространяется на все подтипы рецепторов:  $\mu$ ,  $\delta$  и  $\kappa$  [14, 64, 80]. Однако в исследовании [70] изменения  $\kappa$ -подтипа в подобных условиях эксперимента не выявлены.

В ряде работ показано, что на фоне состояния *up-regulation* возрастает чувствительность экспериментальных животных к фармакологическим эффектам опиоидов [34, 84]. Вполне понятна настороженность некоторых исследователей в отношении возможности повышения токсичности опиоидных наркотиков у пациентов, окончивших курс лечения налтрексоном [3, 78]. Данный вопрос требует дальнейшего изучения [73].

Эксперименты на животных свидетельствуют, что такой вариант событий вполне вероятен. Хроническое воздействие блокаторами сопровождается повышением чувствительности животных к фармакологическому действию морфина и других опиоидных агонистов. Параллельно выявляется возрастание плотности опиоидных рецепторов в головном мозге [77, 78]. Например, в исследовании [70] после длительной инфузии налтрексона в мозг крыс выявлено возрастание плотности  $\mu$ -опиоидных рецепторов. Через 6 суток данный показатель возвращался к контрольным значениям. Сходным образом изменялась чувствительность животных к анальгетическому действию морфина (возрастание после отмены блокатора и снижение до контрольного уровня на 6-й день). С этими результатами согласуются данные D. Levesque и S. G. Holtzman [44]. В их экспериментах крысы хронически получали налоксон. Возрастание анальгетической активности морфина выявлялось через 24 ч, но не к исходу 6-х суток после отмены антагониста.

Окончательное заключение о возрастании числа передозировок у героиновых наркоманов, получающих налтрексон в качестве противорецидивной терапии, можно будет сделать только после проведения широкомасштабных исследований. Вероятно, такая информация будет получена после обследования пациентов, которым осуществлялась имплантация блокатора. Подобная форма использования налтрексона в рамках противорецидивного лечения опиатной наркомании все шире внедряется в ряде стран [30].

Было бы заманчиво считать состояние *up-regulation* нейрхимическим коррелятом повышения фармакологической активности опиоидов в условиях хронического воздействия антагонистами. Однако анализ ряда работ позволяет усомниться в справедливости такой постановки вопроса. Например, при одновременном хроническом воздействии на грызунов налтрексоном и опиоидными агонистами не удалось добиться повы-

шения чувствительности животных к наркотикам в конце эксперимента. При этом в мозге выявлялось стойкое повышение плотности опиоидных рецепторов [79]. J. L. Neisewander и соавт. [51] оценивали анальгетическую активность морфина и его способность влиять на спонтанную двигательную активность крыс разного возраста после длительной инфузии налтрексона. В параллельной серии экспериментов с помощью радиолигандного анализа оценивали плотность опиоидных рецепторов в переднем стриатуме животных. Установлено, что после длительного воздействия антагонистом фармакологическая активность морфина повышалась только у молодых и взрослых крыс. У старых животных не выявлено различий в контрольной и опытной группах. Вместе с тем, у грызунов всех возрастов длительная инфузия налтрексона сопровождалась стойким возрастанием плотности опиоидных рецепторов.

Можно заключить, что между увеличением фармакологической активности опиоидов и явлением *up-regulation* при хроническом воздействии антагонистами далеко не всегда удается провести четкие корреляционные связи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. П. Сиволап, В. А. Савченков, А. Л. Мишнаевский, и др., *Ж. неврол. и психиатр.*, **100**(8), 55 – 57 (2000).
2. J. Alvarez-Fuentes, M. O. Rojas-Corrales, M. A. Holgado, et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**(6), 659 – 663 (2000).
3. F. J. Ayesta, A. Ableitner, M. W. Emmett-Oglesby, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **260**(1), 168 – 174 (1992).
4. J. Barg, R. Levy, and R. Simantov, *J. Neurosci. Res.*, **22**(3), 322 – 330 (1989).
5. K. Befort, L. Tabbara, S. Bausch, et al., *Mol. Pharmacol.*, **49**(2), 216 – 223 (1996).
6. K. Befort, L. Tabbara, D. Kling, et al., *J. Biol. Chem.*, **271**(17), 10161 – 10168 (1996).
7. M. M. Belcheva, J. Barg, R. Mchale, and C. J. Coscia, *Brain Res. Bull.*, **35**(1), 69 – 72 (1994).
8. H. Blumberg and H. B. Dayton, *Agonist and antagonist actions of narcotic analgesic drugs*, Univ. Park Press, Baltimore, (1973), 110 – 119.
9. H. Blumberg, and H. B. Dayton, *Advances in biochemical psychopharmacology*, **8**, 33 – 43 (1974).
10. G. Bonner, F. Meng, and H. Akil, *Eur. J. Pharmacol.*, **403** (1 – 2), 37 – 44 (2000).
11. G. Bot, A. D. Blake, S. Li, and T. Reisine, *J. Neurochem.*, **70**(1), 358 – 365 (1998).
12. G. Bot, A. D. Blake, S. Li, and T. Reisine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **284**(1), 283 – 290 (1998).
13. A. Bradford, F. Hurley, O. Golondzowski, and C. Dorrier, *NIDA Res. Monogr.*, **9**, 163 – 171 (1976).
14. N. Brunello, A. Volterra, A. M. Di Giulio, et al., *Life Sci.*, **34**(17), 1669 – 1678 (1984).
15. A. Cavalli, A. M. Babey, and H. H. Loh, *Neuroscience*, **93**(3), 1025 – 1031 (1999).
16. A. S. Chanmugam, M. Hengeller, and U. Ezenkwele, *Acad. Emerg. Med.*, **7**(3), 303 – 305 (2000).
17. K. Chaturvedi, M. Shahrestanifar, and R. D. Howells, *Mol. Brain Res.*, **76**(1), 64 – 72 (2000).
18. C. N. Chiang, L. E. Hollister, H. K. Gillespie, and R. L. Foltz, *Drug Alcohol Depend.*, **16**(1), 1 – 8 (1985).
19. P. A. Claude, D. R. Wotta, X. H. Zhang, et al., *Natl. Acad. Sci. USA*, **93**(12), 5715 – 5719 (1996).
20. S. Cohen, N. Parvizi, E. J. Mulder, et al., *J. Appl. Physiol.*, **90**(4), 1577 – 1583 (2001).
21. T. E. Cote, S. Izenwasser, and H. B. Weems, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **267**(1), 238 – 244 (1993).
22. B. L. Crabtree, *Clin. Pharm.*, **3**(3), 273 – 280 (1984).
23. S. M. Crain and K. F. Shen, *Pain*, **84**(2 – 3), 121 – 131 (2000).
24. S. L. Cruz, J. E. Villarreal, and N. D. Volkow, *Life Sci.*, **58**(26), PL381 – PL389 (1996).
25. M. E. Davis, T. Akera, and T. M. Brody, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **211**(1), 112 – 119 (1979).
26. B. N. Dhawan, F. Cesselin, R. Raghbir, et al., *Pharmacol. Rev.*, **48**(4), 567 – 592 (1996).
27. J. E. Eckenhoff, J. D. Elder, and B. D. King, *Am. J. Med. Sci.*, **222**(1), 115 – 117 (1951).
28. P. J. Emmerson, M.-R. Liu, J. H. Woods, and F. Medzihradsky, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **271**(3), 1630 – 1637 (1994).
29. J. Fishman, E. F. Hahn, B. I. Norton, et al., *Pharmacology*, **13**(6), 513 – 519 (1975).
30. J. Foster and C. Brewer, *Addict. Biol.*, **4**(2), 232 (1999).
31. K. Fukuda, S. Kato, T. Shoda, et al., *Anesth. Analg.*, **87**(2), 450 – 455 (1998).
32. Y. Fukunaga, S. Nishida, N. Inoue, et al., *Mol. Brain Res.*, **55**(2), 221 – 231 (1998).
33. J. P. Gonzalez and R. N. Brogden, *Drugs*, **35**(3), 192 – 213 (1988).
34. J. D. Greeley, A. D. Le, C. X. Poulos, and H. Cappell, *Psychopharmacology (Berl)*, **96**(1), 36 – 39 (1988).
35. R. Hamilton, O. Hung, J. Gold, et al., *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **35**(5), 553 (1997).
36. C. Harrison, D. Smart, and D. G. Lambert, *Br. J. Anaesth.*, **81**(1), 20 – 28 (1998).
37. P. Hartvig, S. A. Eckernas, B. S. Lindberg, et al., *Pharmacol. Toxicol.*, **66**(1), 37 – 40 (1990).
38. R. J. Hitzemann, B. A. Hitzemann and H. H. Loh, *Life Sci.*, **14**(12), 2393 – 2404 (1974).
39. K. Jhamandas and M. Sutak, *Br. J. Pharmacol.*, **58**(1), 101 – 107 (1976).
40. R. E. Johnson and J. C. McCagh, *Curr. Psychiatry Rep.*, **2**(6), 519 – 526 (2000).
41. B. Jordan and L. A. Devi, *Br. J. Anaesth.*, **81**(1) 12 – 19 (1998).
42. H. R. Kranzler, V. Modesto-Lowe, and E. S. Nuwayser, *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **22**(5), 1074 – 1079 (1998).
43. C. J. Lee, T. Akeda, and T. M. Brody, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **202**(1), 166 – 173 (1977).
44. D. Levesque and S. G. Holtzman, *Brain Res.*, **617**(1), 176 – 180 (1993).
45. J. G. Li, C. Chen, J. Yin, et al., *Life Sci.*, **65**(2), 175 – 185 (1999).
46. J. Magnan, S. J. Paterson, A. Tavani, and H. W. Kosterlitz, *Nahrung-Schmiedeburg's Arch. Pharmacol.*, **319**(3), 197 – 205 (1982).
47. A. Mansour, L. P. Taylor, J. L. Fine, et al., *J. Neurochem.*, **68**(1), 344 – 353 (1997).
48. T. McDonald, R. Berkowitz, and W. E. Hoffman, *J. Neurosurg. Anesthesiol.*, **11**(4), 255 – 259 (1999).
49. M. Minami, T. Nakagawa, T. Seki, et al., *Mol. Pharmacol.*, **50**(5), 1413 – 1422 (1996).
50. J. S. Mogil, P. Marek, L. A. O'Toole, et al., *Brain Res.*, **653**(1 – 2), 16 – 22 (1994).
51. J. L. Neisewander, A. J. Nonneman, J. K. Rowlett, and M. T. Bardo, *Neurobiol. Aging*, **15**(1), 91 – 97 (1994).
52. C. P. O'Brien, R. Greenstein, J. Ternes, and G. E. Woody, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **311**, 232 – 240 (1978).
53. P. G. O'Connor and Th. R. Kosten, *JAMA*, **279**(3), 229 – 234 (1998).

54. G. W. Pasternak and S. H. Snyder, *Nature*, **253**(5492), 263 – 265 (1973).
55. C. B. Pert, G. Pasternak, and S. H. Snyder, *Science*, **182**(4119), 1359 – 1361 (1973).
56. C. B. Pert and S. H. Snyder, *Mol. Pharmacol.*, **10**(6), 868 – 879 (1974).
57. D. N. Pföhl, J. I. Allen, R. L. Atkinson, et al., *NIDA Res. Monogr.*, **67**, 66 – 72 (1986).
58. J. Pohl, *Zeitschr. Ges. Exp. Med.*, **17**, 370 – 378 (1915).
59. R. M. Quock, T. H. Burkey, E. Varga, et al., *Pharmacol. Rev.*, **51**(3), 503 – 532 (1999).
60. A. K. Rattan and G. A. Tejwani, *Pharmacology*, **48**(1), 30 – 40 (1994).
61. A. E. Remmers and F. Medzihradsky, *J. Neurochem.*, **57**(4), 1265 – 1269 (1991).
62. R. B. Resnick, R. S. Kestenbaum, A. Washton, and D. Poole, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **21**(4), 409 – 413 (1977).
63. R. B. Resnick, J. Volavka, A. M. Freedman, and M. Thomas, *Am. J. Psychiatry*, **131**(6), 646 – 650 (1974).
64. S. Shah, A. Duttaroy, B. T. Chen, et al., *Brain Res. Bull.*, **42**(6), 479 – 484 (1997).
65. E. J. Simon, J. M. Hiller, J. Groth, and I. Edelman, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **192**(3), 531 – 537 (1975).
66. R. Spanagel, *Lancet*, **354**(9195), 2017 – 2018 (1999).
67. C. E. Spivak, C. L. Beglan, B. K. Seidleck, et al., *Mol. Pharmacol.*, **52**(6), 983 – 992 (1997).
68. C. E. Spivak and C. L. Beglan, *Synapse*, **38**(3), 254 – 260 (2000).
69. C. K. Surratt, P. S. Johnson, A. Moriwaki, et al., *J. Biol. Chem.*, **269**(32), 20548 – 20553 (1994).
70. A. Tempel, E. L. Gardner, and R. S. Zukin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **232**(2), 439 – 444 (1985).
71. M. Titeler, R. A. Lyon, M. J. Kuhar, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **167**(2), 221 – 228 (1989).
72. K. G. Verebey and S. J. Mule, *NIDA Res. Monogr.*, **67**, 73 – 81 (1986).
73. J. M. White and R. J. Irvine, *Addiction*, **94**(7), 961 – 972 (1999).
74. H. Xu, Y. F. Lu, J. S. Partilla, et al., *Synapse*, **32**(1), 23 – 28 (1999).
75. W. Xu, F. Ozdener, J. G. Li, et al., *FEBS Lett.*, **447**(2 – 3), 318 – 324 (1999).
76. N. Yabaluri and F. Medzihradsky, *J. Neurochem.*, **68**(3), 1053 – 1061 (1997).
77. B. C. Yoburn, R. R. Goodman, A. H. Cohen, et al., *Life Sci.*, **36**(24), 2325 – 2332 (1985).
78. B. C. Yoburn, F. A. Nunes, B. Adler, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **239**(1), 132 – 135 (1986).
79. B. C. Yoburn, V. Sierra, and K. Lutfy, *Brain Res.*, **529**(1 – 2), 143 – 148 (1990).
80. B. C. Yoburn, S. Shah, K. Chan, et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **51**(2 – 3), 535 – 539 (1995).
81. J. E. Zadina, S. L. Chang, L. J. Ge, and A. J. Kastin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **265**(1), 254 – 262 (1993).
82. P. Zhang, P. S. Johnson, C. Zollner, et al., *Mol. Brain Res.*, **72**(2), 195 – 204 (1999).
83. D. M. Zimmerman and J. D. Leander, *NIDA Res. Monogr.*, **96**, 50 – 60 (1990).
84. R. S. Zukin, A. Tempel, and E. L. Gardner, *NIDA Res. Monogr.*, **54**, 146 – 161 (1984).

Поступила 17.02.02

## MOLECULAR ASPECTS OF THE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF NALTREXONE AND NALOXONE

A. I. Golovko<sup>1</sup>, S. I. Golovko<sup>1</sup>, L. V. Leont'eva<sup>2</sup>, O. I. Romanenko<sup>1</sup>, and D. A. Konoplin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bekhterev North-Western Regional Medical Therapy and Diagnostics Center, Korabel'naya Str., 6, St. Petersburg, 197101 Russia

<sup>2</sup> West Virginia University, Box 9151, Morgantown, 26505 – 9151 USA

Naltrexone and naloxone, being competitive antagonists of opioid receptors, have found therapeutic applications in medicine. The experiments with mutant receptors showed that many amino acid residues within transmembrane domains play an important role in binding these drugs. Using the site-directed mutagenesis technique, it was established that even single mutations (replacing single amino acid residues) can significantly modify the affinity of antagonists to receptors, sometimes even imparting agonist-like properties to the compounds studied. Chronic administration of naltrexone and naloxone leads to an increase in the density of opioid receptors and in the sensitivity to agonists. This hypersensitivity and overdose risk in heroin abusers after chronic naltrexone treatment are discussed.