



УДК 578.858

РАЗЛИЧНОЕ ВЛИЯНИЕ α -ИНТЕРФЕРОНА НА μ - И δ -ОПИАТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

АЛЯБЬЕВА Т. Н., БАЛАШОВ А. М., ПАНЧЕНКО Л. Ф.

Всероссийский научно-исследовательский центр по медико-биологическим проблемам профилактики пьянства и алкоголизма, Москва

Существование структурного сходства у молекул β -эндорфина и α -интерферона (α -ИФН) позволило предположить наличие у α -ИФН опиоидной активности [1]. Было установлено, что при центральном введении α -ИФН, подобно β -эндорфину, вызывал анальгезию и кататонию, угнетал спонтанную двигательную активность, то есть приводил к развитию опиоподобных эффектов, которые обращались или предотвращались при введении налоксона [2]. В пользу вовлеченности опиоидергических механизмов в реализацию центрального действия α -ИФН свидетельствуют также данные, полученные при изучении его влияния на течение синдрома отмены морфина у крыс [3].

Прямое доказательство взаимодействия α -ИФН с опиатными рецепторами было получено при помощи радиорецепторных исследований [2]. Препараты α -ИФН оказались способными к вытеснению из рецепторов [^3H]дигидроморфина, что свидетельствовало о непосредственном связывании α -ИФН в активном центре рецептора. Вместе с тем, использованный узкий диапазон концентраций α -ИФН в опытах *in vitro* не позволил полностью охарактеризовать механизмы влияния α -ИФН на опиатную рецепцию. Исходя из этого, мы попытались провести более детальное изучение связывания α -ИФН с опиатными рецепторами головного мозга крыс, сконцентрировав внимание на действии его малых доз.

Для проведения экспериментов использовали самцов белых лабораторных беспородных крыс массой 220—250 г. Крыс декапитировали в утренние часы, быстро на холоду извлекали головной мозг. После отсечения мозжечка оставшийся мозг немедленно использовали для дальнейшей обработки и анализа или быстро замораживали и хранили при -80° в течение 2—3 месяцев. Выделение мембранной фракции клеток мозга и радиорецепторные исследования проводили как описано ранее

[4]. Для разделения связанного с мембранами и свободно растворенного опиатного лиганда применяли фильтрационный метод [5]. Специфическое взаимодействие меток с опиатными рецепторами определяли как часть их общего связывания мембранной фракцией, вытесняемую 2,5 мкмоль/л D-Ala²-Met-энкефалинамида. Каждая экспериментальная точка представляла собой среднее значение 4 параллельных измерений, отличия между которыми не превышали 5%. Концентрацию белка в пробах определяли по Lowry и соавт. [6], предварительно обрабатывая суспензию мембран ДОХ-На. Статистическую обработку данных проводили по Стьюденту.

В работе использовали следующие соединения: [³H]налоксон, У. А. 40 Ки ммооль (NEN, США); [³H]D-Ala², D-Leu⁵-энкефалин ([³H]ДАДЛ), У. А. 32,1 Ки ммооль („Amersham“, Англия); D-Ala²-Met-энкефалинамид („Serva“, ФРГ); трис, бацитрацин („Sigma“, США). Препарат лейкоцитарного α-ИФН человека с У. А. 2,5 · 10³ Ед/мг белка был получен из отделения по биосинтезу интерферона Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, остальные реактивы были отечественного производства.

Проведение реакции связывания [³H]налоксона с опиатными рецепторами мембранных фракций, выделенных из хранившихся или свежеприготовленных тканей мозга, в присутствии α-ИФН в концентрациях, превышающих 500 Ед/мл, приводило к уменьшению величины специфического взаимодействия метки с мембранами. В меньших концентрациях α-ИФН также оказывал влияние на рецепцию [³H]налоксона, однако его направленность была противоположной (рисунок).

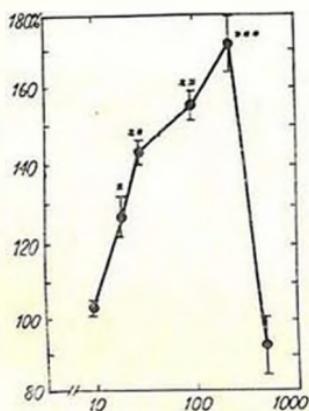


Рис. Способность α-интерферона активировать специфическое связывание [³H]налоксона с опиатными рецепторами мембран, выделенных из замороженного мозга крыс. По оси абсцисс — концентрация α-интерферона в реакционной смеси в Ед/мл; по оси ординат — уровень специфического связывания [³H]налоксона в % от контроля. Контроль (100% специфического связывания метки) определяли в отсутствие α-интерферона и соответствует величине 1437 ± 101 имп/мин в расчете на 1 мг белка суспензии мембран. Представлены средние результаты 4 независимых экспериментов. *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 по сравнению с контролем

Максимальную активацию связывания метки наблюдали при внесении в реакционную смесь α-ИФН в концентрации 250 Ед/мл. Интересно отметить, что выраженность активирующего эффекта α-ИФН была значительно большей при использовании мембранной фракции, выделенной из хранившихся образцов мозга, по сравнению с препаратом свежelyделенных мембран. Это наблюдение может иметь значение в связи с

широким применением обоих препаратов в радиорецепторных исследованиях [7] и свидетельствует о необходимости осторожного сравнения результатов, полученных на разных тестовых объектах. Колоколообразный характер экспериментальной кривой влияния α -ИФН в области малых концентраций на величину связывания [3 H]налоксона позволяет предполагать, что она является отражением суммации 2 противоположных эффектов α -ИФН на опиатные рецепторы. Полученные результаты легко интерпретировать, допустив возможность взаимодействия α -ИФН, по крайней мере, с 2 участками на опиатном рецепторном комплексе: собственно связывающим (активным) центром рецептора и отличным от него центром связывания α -ИФН, являющимся аллостерическим регуляторным участком. Тот факт, что эффект активации рецепторного взаимодействия [3 H]налоксона наблюдается при действии значительно меньших концентраций α -ИФН по сравнению с угнетением его связывания позволяет полагать, что сродство α -ИФН к «аллостерическому центру» больше, чем к активному центру рецептора.

Таблица

Связывание [3 H]налоксона и [3 H]ДАДА с опиатными рецепторами головного мозга крыс в присутствии α -интерферона (α -ИФН)

Метка	Уровень связывания метки (% от контроля)	
	Свежевыделенная ткань	Замороженная ткань
[3 H] налоксон	124 \pm 2*	172 \pm 7***
[3 H] налоксон + 100 ммоляр NaCl	73 \pm 8	80 \pm 5
[3 H]ДАДА	—	77 \pm 4*

Примечание. Величина принятого за 100% контрольного связывания [3 H]налоксона и [3 H]ДАДА с опиатными рецепторами в отсутствие α -ИФН составляла 1437 \pm 101 (для свежевыделенной и замороженной ткани) и 1225 \pm 98 имп/мин соответственно. Максимальный активирующий эффект определяли в присутствии 250 Ед/мл α -ИФН. Представлены средние ($M \pm m$) результаты 4-х независимых экспериментов. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ по сравнению с контролем.

Интересно, что двойственное влияние α -ИФН, используемого в концентрациях более 10 Ед/мл, на взаимодействие со связывающими участками опиатных рецепторов δ -селективного лиганда [3 H] ДАДА не выявляется (таблица). α -ИФН вызывал лишь угнетение связывания [3 H] ДАДА в концентрациях, превышающих 15 Ед/мл, в меньших количествах α -ИФН рецепторное связывание [3 H]ДАДА не зависело от его присутствия. Эти данные свидетельствуют о том, что для реализации активирующего действия α -ИФН на опиатную рецепцию, вероятно, необходимо, чтобы рецептор находился в μ -конформации.

Известно, что опиатные рецепторы содержат центр связывания Na^+ [8], которые могут играть существенную роль в регуляции рецепторного взаимодействия опиатов и опиоидов. Оказалось, что способ-

ность α -ИФН вытеснять [^3H]налоксон существенным образом не изменялась в присутствии 100 ммоль/л NaCl при использовании как хранившихся, так и свежeweделенных препаратов мозга крыс. В противоположность этому, активирующий связывание [^3H]налоксона эффект α -ИФН в присутствии Na^+ не регистрировался. Хотя полученные результаты не позволяют судить о точных механизмах взаимодействия Na^+ и α -ИФН на опиатном рецепторе, они дают основания полагать, что доступность «аллостерического центра» для α -ИФН критически зависит от наличия Na^+ .

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о возможности наличия на опиатном рецепторе или в его микроокружении аллостерического регуляторного центра, что подтверждает наши ранние результаты [9, 10]. Однако вопросы о точной локализации этого (или этих) центра, его природе, специфичности взаимодействия с регуляторами ждут своего разрешения.

DIFFERENTIAL PATTERNS OF ALPHA-INTERFERON INFLUENCE ON MU- AND DELTA-OPIATE RECEPTORS FROM RAT BRAIN

ALYABIEVA T. N., BALASHOV A. M., PANCHENKO L. F.

All-Union Scientific Research Center for Medico-Biological Problems
of Alcohol Abuse and Alcoholism, Moscow, USSR

The influence of human leucocyte α -interferon (α -IFN) on the opiate receptor binding of [^3H]naloxone and [^3H]-D-Ala², D-Leu⁵-enkephalin ([^3H]-DADLE) was examined with the help of radioreceptor assay. [^3H]DADLE and [^3H]naloxone receptor binding decreased when concentration of α -IFN exceeded 15 U/ml and 500 U/ml respectively. Addition of 10–500 U/ml of α -IFN to reaction mixture led to increase in the level of [^3H]naloxone binding. The maximal activation of [^3H]naloxone binding was achieved in the presence of 250 U/ml of α -IFN and the binding level was equal to $172 \pm 7\%$ and $124 \pm 2\%$ for frozen at -80° and fresh brain respectively. 100 mM NaCl reversed α -IFN-induced activation of [^3H]naloxone binding but did not affect its inhibition. Data obtained suggest that an allosteric regulation site may exist on opiate receptor and its affinity for α -IFN is greater than that of the binding site. The access of the allosteric site for α -IFN may be regulated with Na^+ .

ЛИТЕРАТУРА

1. Blalock J. E., Smith E. M. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Biol. Sci., v.77, p. 5972–5974, 1980.
2. Blalock J. E., Smith E. M. Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 101, p. 472–478, 1981.
3. Dafny N. Neuropharmacol., v. 22, p. 647–651, 1983.

4. Балаиов А. М., Брусое О. С., Балакирсова Н. Н., Панченко А. Ф. Биохимия, т. 46, с. 1067—1072, 1981.
5. *Simantov R., Childers S. R., Snyder S. H.* Mol. Pharmacol., v. 14, p. 69—76, 1978.
6. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—275, 1951.
7. Сергеева М. Г., Курочкин И. Н., Склянкина О. А., Зайцева С. В., Варфоломеев С. Д. Нейрохимия, т. 5, с. 11—19, 1986.
8. *Pert C. B., Snyder S. H.* Mol. Pharmacol., v. 10, p. 868—879, 1974.
9. Панченко А. Ф., Брусое О. С., Балаиов А. М., Гриневич В. П., Островский Ю. М. Вопр. мед. химии, т. 28, вып. 5, с. 88—92, 1982.
10. Балаиов А. М., Шурик М. Р. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 102, с. 174—176, 1986.

Поступила 17. V 1987

Синаптическая функция. *J. Wiley and Sons, Ltd., Англия, 800 с., 1987.*

Synaptic function (Ed. by G. M. Edelman et. al.), J. Wiley and Sons, Ltd., Chichester, England, 809 p., 1987.

Книга состоит из следующих разделов: I. *Пресинаптические и постсинаптические механизмы.* В этом разделе представлены статьи: «Функциональные участки синаптической трансмиссии», «Быстрые изменения в эффективности синаптической передачи», «Регуляция и значение возможных механизмов высвобождения в центральных синапсах», «Внутриклеточные коммуникации, медируемые щелевыми контактами, контролируются различными способами», «Молекулярные свойства вольтажчувствительных натриевых и кальциевых каналов», «Эволюционная природа открываемых электрическим импульсом каналов и синаптическая передача». II. *Нейротрансмиттеры и синаптическая функция.* Статьи этого раздела: «Межнейрональные коммуникации с помощью множества сосуществующих мессенджеров», «Фосфорилирование белков и функция нейронов: показательный пример DARPP-32», «Идиосинкратические рецепторы в мозгу», «Комплекс рецептора ГАМК (бензодиазепина) барбитуратов и канала ионов хлора в мозгу млекопитающих», «Возможное включение колликринных ферментов в процессинг предшественников нейропептидов», «Синергизм и противоположное действие трансмисмиттеров». В книге имеются также разделы: III. *Система синапсов;* IV. *Синаптическая пластичность, память и обучение;* V. *Теоретические модели синаптической функции.* Представляет интерес для нейрохимиков, нейрофизиологов и др. специалистов по нейронаукам.