

Министерство здравоохранения Российской Федерации

Российский Государственный медицинский университет

Академик Российской Академии
медицинских наук

П. В. СЕРГЕЕВ

***СИСТЕМЫ «УЗНАВАНИЯ»
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ***

АКТОВАЯ РЕЧЬ

Москва—1993



Посвящается XXX летию
медико-биологического
факультета РГМУ

Академик Российской Академии медицинских наук
П. В. СЕРГЕЕВ

СИСТЕМЫ „УЗНАВАНИЯ“ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

АКТОВАЯ РЕЧЬ

21 мая 1993 г.
Москва

ABOUT AUTHOR

Sergeev Pavel Vasilevich is member of Russian Academy of medical sciences, professor, chief of department of molecular pharmacology and radiobiology of Russian state medical University (Moscow).

He is one of organizers of medico-biological faculty of university (1963). P. Sergeev have been published about 300 articles, 12 monographies and text-books, offered the theory of organotropism of contrast media and membranoreceptor theory of steroid hormones mechanisms action, formulated the hypothesis explained the mechanism of toleration development to substances causing addiction (opiates, barbiturates, alcohols and their mixtures).

Since 1955 year he have been studied the biological activity of modern contrast media, some of which were introduced in clinic.

The last year P. Sergeev's scientific work was devoted the investigation of reception of reproductive organs tumors, exactly hormones and antihormones.

Современный период фармакологии характеризуется все большей необходимостью проведения исследований на молекулярном уровне. Это связано с тем, что целенаправленное создание новых эффективных лекарственных средств с высокой избирательностью действия невозможно без выяснения физико-химических процессов, определяющих распространение фармакологического вещества в организме и возникновение соответствующей физиологической реакции. Прогресс в данном направлении во многом зависит от технических возможностей, которыми располагает фармаколог-экспериментатор. Однако немаловажную роль играет и методология самого эксперимента, основанная на ряде теорий действия лекарственных веществ, сформулированных ведущими учеными, такими как П. Эрлих, И. И. Мечников, И. П. Павлов, Н. П. Кравков, Л. С. Штерн, С. В. Аничков, В. В. Закусов, В. И. Скворцов, Е. Ариенс, М. Д. Машковский.

В настоящее время природа избирательности действия лекарственных веществ представляет собой общебиологическую проблему сходства и различия в воздействии на жизнедеятельность разных форм жизни. В основе этой проблемы лежит понятие тропности (tropos, греч.— направление), которое выражено в таких терминах как «орган-мишень», «клетка-мишень» и даже «молекула-мишень». С помощью этой терминологии исследователи пытаются найти выход из тупика, существующего из-за неизвестности, как объяснить различную чувствительность отдельных биологических структур к определенным физиологически активным веществам.

Специфичность физико-химических процессов взаимодействия лигандов с их биологическими партнерами — молекулами находит свое выражение в избирательности физиологического ответа органа, т. е. в их тропности. Однако сопоставление химической и биологической реализации подобного соударения двух молекул является во всех случаях, безусловно, гипотетичным. Последнее объясняется тем, что в настоящее время происходит накопление фактов, экспериментальных наблюдений, но законченная, totalmente признанная концепция становления определенной физиологической реакции на лекарство до сих пор отсутствует.

Мы считаем, что понятия «тропизма» либо «тропности» лекарств подчеркивают избирательность (направленность) их накопления и возможного действия и могут применяться в фармакологической терминологии для обозначения веществ, действующих на отдельные органы и системы, что нашло отражение в классификации лекарственных средств, разработанной и предложенной М. Д. Машковским.

Следующей задачей, которая по-прежнему безуспешно решается исследователями разного профиля, является интеграция сигналов, составляющих физиологическую реакцию на лекарство.

И здесь мы наблюдаем стремление ученых к восприятию и анализу событий, происходящих в ответ на введение лекарственного препарата. И здесь мы можем говорить о смелости и предполо-

жительности новых экспериментальных подходов и обобщений, но не более. . .

Несмотря на известный пессимизм, касающийся невыясненной природы фармакобиологических процессов, мы должны помнить имена тех ученых, которые, благодаря преданности идеям, смогли решать задачи, до них даже не сформулированные.

Вот эти имена: П. Эрлих, И. Мечников, Л. Штерн, . . .

* *
*

С проблемой чувствительности к лекарственным веществам тесно связана концепция рецептора, которая впервые была предложена Паулем Эрлихом для объяснения возможных механизмов действия лекарственных средств. Основной постулат этой концепции заключается в том, что лекарства не могут действовать, пока не свяжутся с рецепторами.

Эрлих использовал понятие «рецептор» для обозначения воспринимающего аппарата, под которым он понимал определенные молекулярные группы (боковые цепи) живой клеточной протоплазмы, посредничающие при поглощении не только питательных веществ, но и циркулирующих в крови микробов или их токсинов. Образованные в избытке и выделенные в кровь боковые цепи (свободные рецепторы) клеточной протоплазмы образуют, по Эрлиху, так называемые антитоксины (антитела). Кроме того, к рецепторам относят «крайние образования» чувствительных (афферентных) клеток, воспринимающие раздражения из внешней (и внутренней) среды и превращающие физическую (механическую, тепловую и т. д.) или химическую энергию раздражения в возбуждение, передаваемое по чувствительным нервам в центральную нервную систему; они являются периферическими частями анализаторов; в зависимости от адекватности по отношению к тем или иным раздражениям рецепторы подразделяются на хемо-, механо-, фото- и терморепторы, а по отношению к среде, из которой воспринимаются раздражения — на экстерорецепторы, интерорецепторы (В. Н. Черниговский).

Эрлих предполагал, что низкомолекулярные лиганды имеют два структурных детерминанта, один из которых (гаптоформная область) соединяется с рецептором, а другой (эргоформная или токсформная область) инициирует биологический эффект. По современным представлениям, основанным на теории индуцированного соответствия и динамической структуры белков и мембран, эргоформный детерминант рассматривается не как лиганд, а как часть молекулы рецептора.

Итак, по Эрлиху, рецептор есть «мишень», связываясь с которой, лекарственный препарат вызывает биологический эффект.

Вследствие того, что лекарства могут также связываться с различными биоструктурами, которые не обуславливают реализацию характерной для них физиологической активности, некоторые современные авторы все рецепторы делят на специфические и неспецифические. Рецепторы, обеспечивающие основное действие лекарства, назы-

вают специфическими, а рецепторы, не опосредующие это действие — неспецифическими, или «молчащими».

В то же время нет устоявшегося мнения, что считать рецептором — активную ли группировку макромолекулы (по аналогии с активным центром фермента), к которой присоединяется низкомолекулярный лиганд, или всю макромолекулу. К оптимальному определению понятия «рецептор» приближается высказывание болгарского ученого-фармаколога Веселина Петкова: «Биологические эффекты огромного большинства лекарств являются результатом первичного физико-химического взаимодействия между молекулой фармакологического вещества и специфическими молекулами, молекулярными комплексами или частями молекулы биологической системы, которые названы рецепторами фармакологического вещества для данного специфического эффекта».

Одним из формулировок В. Петкова не в полной мере отражает стадийность и последовательность развития процессов «биологического узнавания» ксенобиотиков и физиологически активных веществ. Мы полагаем, что при анализе первичной фармакологической реакции целесообразно пользоваться понятием «узнающие системы». «Узнающие системы», или «системами предпочтения», мы называем сложные биологические структуры, которые не только отличаются высоким сродством к тем или иным лигандам, но и состоят из нескольких частей, отвечающих за ориентацию, притяжение и связывание лиганда, а также за последующую трансформацию сигнала, который «несет» лиганд.

Взаимодействие биомолекул основано на принципах молекулярной сигнализации и молекулярного узнавания. При этом одна молекула служит сигналом, а другая этот сигнал узнает, т. е. отличает одну молекулу от другой. Примером «узнавания» может быть взаимодействие фермента с субстратом, процессы репликации и транскрипции ДНК и др.

Молекулярными сигналами служат эндогенные низкомолекулярные биологически активные вещества: гормоны, нейромедиаторы, нейромодуляторы, и также лекарства — экзогенные химические соединения, способные взаимодействовать и изменять функционирование различных биоструктур.

Таким образом, изучение механизмов молекулярного узнавания, т. е. взаимодействия комплементарных молекул-партнеров, является главной задачей молекулярной фармакологии.

В образовании же биологического ответа клетки, органа и ткани принимают участие биотранспортные структуры, ферменты, липиды, трансформирующие белки, циклические нуклеотиды, как вторичные посредники, ионы металлов и многие другие соединения (вернее — группы соединений), число которых постоянно растет.

Развивая учение П. Эрлиха о рецепторах, необходимо использовать последние достижения молекулярной биологии для правильной трактовки процесса «узнавания» лекарственных средств.

* * *

Огромное воздействие на развитие медико-биологической науки в том числе и фармакологии, оказало учение И. И. Мечникова. Первое сообще-

ние о фагоцитозе как биологическом явлении Мечников сделал в 1883 г. в Одессе на съезде врачей и естествоиспытателей. Разносторонняя образованность позволила ему разработать учение о воспалении и предложить теорию иммунитета. Мечников, как никто до него, поставил кардинально проблему чувствительности и проблему нечувствительности. Именно Мечникову пришлось выдержать острую многолетнюю полемику о правомочности такой постановки проблемы.

«Чувствительность, — писал Мечников, — роль которой так велика в явлениях иммунитета, есть общее свойство живых существ, управляемое общим законом».

Второе положение, которое было сформулировано Мечниковым, относится к генетической обусловленности невосприимчивости и возможности ее регуляции.

Мечников постоянно подчеркивал, что нельзя противопоставлять клеточный и гуморальный иммунитет друг другу, что это есть проявление одного и того же процесса. С позиций иммунофармакологии такое положение должно быть учитываемо постоянно. Если изучать влияние иммуносупрессоров или иммуностимуляторов только на клеточный или только на гуморальный иммунитет, то полученные сведения будет трудно интерпретировать по всей их биологической глубине.

В течение многих лет воззрения П. Эрлиха и И. Мечникова противопоставлялись друг другу. Но великий неистовый русский, этот неподражаемый волшебник эксперимента становился неповторимым, когда речь шла об Истине.

«Часто думают, — отмечал Мечников, — что вкратце изложенная мной теория основным образом противоречит теории боковых цепей, или приемников, «рецепторов» Эрлиха. Я не могу с этим согласиться».

Интересная мысль была высказана Мечниковым о модуляции взаимоотношений между микробом и клеткой с помощью каких-либо эндогенных веществ, т. е., если говорить языком сегодняшнего дня, наличии возможных модуляторов функций рецепторов.

Желательно подчеркнуть, что в 1908 году П. Эрлих и И. Мечников были удостоены Нобелевской премии за работу в области иммунологии.

* * *

Несомненное значение для дальнейшего развития теории органотропности лекарственных веществ имеет учение Л. С. Штерн о гисто-гематических барьерах (ГГБ). Согласно Штерн, ГГБ — пластичные, подвижные аппараты, которые принимают участие в поддержании постоянства внутренней среды и функции которых можно регулировать с помощью экзогенных и эндогенных физиологически активных веществ.

Первоначально Штерн проводила исследования в области гематоэнцефалического барьера (ГЭБ; с 1917 г.); она доказала избирательность его проницаемости для разных веществ в зависимости от их физико-химических свойств. Затем Штерн перешла к поиску ГГБ других органов. Теоретические разработки Штерн позволили медико-биологам, в том числе фармакологам, изучить состояние проницаемости ГГБ разных органов при воздействии лекарственных средств. Определение фармакокине-

тических показателей, которые столь глубоко и широко исследуются, имеет прямое отношение к методологическим аспектам учения о ГГБ.

Жизненные функции человека и животных, направленные на поддержание гомеостаза, являются, в конечном итоге, транспортными функциями. В организме человека транспортные пути максимально комбинируются. Вопрос непрерывного, оптимального обслуживания 10—100 миллиардов клеток, обладающих множеством индивидуальных особенностей, представляет для фармаколога несомненный интерес. Тот факт, что бесполезные для одной группы клеток вещества могут служить сырьем, питательным веществом или даже регулятором другой группы клеток, иллюстрирует комплексный характер вопросов, связанных с их транспортом. Для обозначения процессов, обеспечивающих транспорт элементов, молекул, веществ и клеток в живом организме, мы считаем целесообразным использовать термин «биотранспорт».

Плазма крови, лимфа, интерстициальная жидкость содержат определенные вещества и клетки и представляют транспортную среду организма.

Перенос низкомолекулярных веществ транспортными системами влияет на их утилизацию тканями и, в известной степени, определяет органотропность лекарств.

КРАТКОЕ СЛОВО О РЕЦЕПТОРАХ, ИХ СТРУКТУРЕ И СПЕЦИФИЧНОСТИ

В реализации специфического связывания лиганда и преобразовании полученного сигнала (результат специфического связывания) в изменении функции эффекторной системы принимают участие высокомолекулярные, конформационно подвижные биоструктуры — рецепторы.

К таким макромолекулам живых организмов прежде всего относятся белки, для которых характерно наличие трехмерной структуры. Сведения о химической природе рецепторов физиологически активных веществ свидетельствуют о том, что нет рецепторов, в структуру которых не входили бы эти полимеры. Вместе с тем, в структуру рецепторов могут быть включены углеводы (например, сиаловые кислоты), ковалентно связанные с аминокислотами белков, липиды, ионы, нуклеотиды, нековалентно, обратимо связанные с макромолекулами и участвующие как в специфическом взаимодействии рецептора с лигандом, так и в функционировании рецептора.

Большинство рецепторов представляют собой белки, их агрегаты и комплексы с нуклеиновыми кислотами и с ранее перечисленными низкомолекулярными веществами.

Проведенные эксперименты по связыванию лиганда показали, что связывающие участки рецепторов для различных лекарств, гормонов и гормонов локализованы в плазматических мембранах.

В соответствии с современными представлениями об ассиметричном строении плазматических мембран рецепторные макромолекулы могут находиться на их поверхности, пронизывая всю толщу мембраны, или находиться с внутренней стороны мембраны. В любом случае гидрофобные области рецепторных белков контактируют с липидами и от характера этих контактов может в значительной

степени зависеть конформация рецептора и, как следствие, его функциональная активность. Если лиганды рецепторов представляют собой гидрофильные молекулы, то связывающие участки рецептора должны быть обязательно обращены к окружающей среде (такими лигандами являются практически все нейромедиаторы), а если лигандами являются гидрофобные соединения (например, стероидные и тиреоидные гормоны), то связывающие участки рецепторов могут находиться в гидрофобной области или на внутренней стороне мембраны.

Эксперименты по выделению и идентификации рецепторов позволили установить, что рецепторы для нейромедиаторов являются белками, прочно связанными с мембранами; для их солюбилизации необходимо использовать детергенты. В то же время рецепторы для стероидных гормонов, по-видимому, слабо связаны с плазматическими мембранами и, образуя комплекс с лигандом, могут выходить из мембраны в цитоплазму.

В процессах рецепции участвуют мембранные липиды, образующие более или менее прочные связи с рецепторными белками. Роль липидов как модуляторов и регуляторов рецепторов хорошо известна (например, это имеет место в случае участка узнавания гликопротеиновым рецептором тиреотропного гормона, серотонина и др.). Более того, ганглиозиды проявляют высокое сродство к этим веществам и конкурируют с мембранными рецепторами за связывание лигандов, а цереброзид-сульфат насыщаемым образом и стереоспецифично связывает опиаты и другие лекарства.

При химическом анализе опиатного рецептора оказалось, что в его состав входит цереброзид-сульфат. Однако следует отметить, что корреляция между содержанием данного цереброзида и распределением опиатных рецепторов в различных областях головного мозга отсутствует, поэтому мало вероятно участие каждой молекулы цереброзид-сульфата в механизмах опиатной рецепции. Без цереброзид-сульфата нет сопряжения опиатных рецепторов с аденилатциклазой, но без белковой части опиатных рецепторов сами цереброзид-сульфаты не способны трансформировать молекулярный сигнал.

Таким образом, можно считать, что липиды принимают участие в узнавании рецепторами некоторых лигандов и оказывают регулирующее влияние на конформацию рецепторов. Липиды могут быть ответственны за сопряжение рецепторов с эффекторными системами. Данных о том, что липиды могут сами по себе быть рецепторами пока нет, но полностью отрицать эту возможность нельзя. Приводя схему участия липидов в лекарственной рецепции, мы подчеркиваем ее сегодняшнюю условность, которая завтра может быть экспериментально подтверждена.

В то же время следует подчеркнуть, что, хотя и в меньшем количестве, чем на плазматических мембранах, в процессе эволюции образовались рецепторы для физиологически активных веществ, локализованные внутри клеток. Лиганды этих рецепторов обладают способностью проникать через биомембраны за счет своих гидрофобных свойств путем диффузии или вследствие функционирования специальных систем переноса (например, пиноцитоза или эндоцитоза, часто с участием рецепторов

плазматических мембран). Характеристики внутриклеточных рецепторов изучены лучше, чем рецепторы плазматических мембран, поскольку их труднее выделить, не изменив при этом нативную структуру узнающей системы клетки. Хорошо известно присутствие рецепторов для различных лигандов на рибосомах (к антибиотикам), в ядре (к гормонам, антибиотикам), аппарате Гольджи (к гормонам), в микросомах (к гормонам) и других органеллах. По-видимому, биологический смысл такой внутриклеточной рецепции заключается в более глубоком и продолжительном изменении функции клетки в ответ на получение внешнего сигнала. Мы не исключаем внутриклеточное взаимодействие оргanelл, основанное на принципах рецепции, что регулирует и поддерживает гомеостазис клетки.

Что касается роли нуклеиновых кислот в рецепции физиологически активных веществ, но тут можно привести известные факты об их участии в специфическом связывании гидрофобных проникающих через мембраны молекул (например, стероидных и тиреоидных гормонов). Нуклеиновые кислоты могут быть точкой приложения действия некоторых антибиотиков, таких как актиномицин D, для которого рецепторами являются ГЦ пары ДНК. Отметим, что в данном случае рецепторные участки могут образовываться как нуклеиновыми кислотами, так и комплексами нуклеиновых кислот с белками или другими молекулами. Участки хроматина, специфически связывающие комплексы стероидов с их цитозольными рецепторами, называют акцепторами.

После перечисления структур, которые могут рассматриваться в качестве рецепторов, возникает вопрос: «Что такое специфичность рецепторов?»

Наличие у рецепторов физиологически активных веществ специфичности было постулировано еще Паулем Эрлихом. На основании изучения избирательности действия лекарств он сделал вывод: «Только те вещества, которые могут связываться (заякоряться) в данном участке организма, представляют собой вещества, которые соответствуют (говоря современным языком, комплементарны) молекуле рецептора». Дальнейшие фармакологические исследования, направленные на выяснение зависимости эффектов лекарств от их строения, подтвердили наличие зависимости от стереоспецифичности лекарств. Большая избирательность в действии характерна для лекарств с жесткой структурой, чем с гибкой, так как они комплементарны только одному определенному виду рецепторов. Отражением специфичности рецепторов является их гетерогенность, выявляемая фармакологически. Вместе с тем, мы должны отметить, что с помощью фармакологических экспериментов можно получить лишь косвенные сведения о специфичности рецепторов, а непосредственно изучить эту специфичность можно лишь с помощью физико-химических подходов. Биологическая специфичность межмолекулярных взаимодействий вначале была продемонстрирована не для лекарство-рецепторных комплексов, а для субстрат-ферментных взаимодействий, когда с помощью рентгено-структурного анализа была показана высокая комплементарность активного центра ряда ферментов и их субстратов и ингибиторов. В результате этих экспериментов были сформулированы гипотезы ферментативной специфичности, такие как «за-

мок — ключ» Фишера и «индуцированного соответствия» Кошланда. Основой специфичности связывания малых молекул с биополимерами является их взаимная комплементарность. Для биологической специфичности можно выделить два компонента: термодинамический (связывание за счет простых молекулярных взаимодействий) и кинетической (проявление некоторой реакции как результат взаимодействия молекул-партнеров). В простых случаях процессы связывания и проявления биологического эффекта сопряжены между собой и происходят практически одновременно, однако, они могут иметь временные различия (например, реакции, связанные с биосинтезом белка).

После успехов в идентификации рецепторов физиологически активных веществ и развития радиолигандной техники стало ясно, что все положения о специфичности ферментов относятся также и к рецепторам физиологически активных веществ.

Важной характеристикой рецепторов является их способность стереоспецифично взаимодействовать с лекарствами. Если один оптический изомер какого-либо лекарства обладает большей активностью, чем другой изомер, то первый из них должен иметь больший аффинитет к специфически связывающим участкам, чем второй.

Следует помнить, что наличие только участков, специфически связывающих то или иное лекарство, еще не доказывает, что эти участки являются рецепторами данного лекарства. Последнее доказывает только при выяснении корреляции между связыванием лекарств с данными участками и выраженностью их фармакологической активности.

Говоря о специфичности рецепторов, как об одной из их важнейших характеристик, с нашей точки зрения, всегда следует иметь в виду только первый этап их функционирования, а именно — связывание лиганда, и отличать структуры, которые специфически связывают лекарства и опосредуют проявление их фармакологической активности (истинные рецепторы) от структур, которые могут тоже специфически связывать лекарства, но при этом не опосредовать видимых эффектов (ложные или молчащие рецепторы).

Чувствительность клеток, которая определяется функциональной активностью рецепторных систем, постоянно меняется. Изменение чувствительности клетки, переход рецепторов в дезактивированное состояние в ряде случаев обусловлены агрегацией рецепторов и интернализацией (эндоцитозом) мембранных рецепторов.

Однако следует отметить, что данный механизм нельзя признать единственным в отношении процесса потери чувствительности у рецептора, поскольку кроме дезактивации рецепторов, связанной с их интернализацией, существует феномен десенситизации рецепторов, суть которого заключается в снижении первоначального эффекта лекарства при его повторных воздействиях.

Основная теоретическая трудность объяснения процесса десенситизации заключается в выяснении причины перехода рецептора в десенситизированное состояние. Ответить на этот вопрос можно исходя из теории активации рецепторов согласно которой лекарственное вещество, воздействуя на рецептор (изменяя его конформацию, например), вызывает увеличение свободной энергии. Теория предполагает не только простое конформационное

изменение молекулы рецептора, но и увеличение свободной энергии и уменьшение стабильности лекарство-рецепторного комплекса в процессе комплексообразования молекул-партнеров. Отсюда следует, что если взаимодействие лекарства с рецептором не сопровождается конформационным изменением или таким изменением, которое недостаточно для увеличения свободной энергии на критическую величину, то лекарство не вызывает эффекта, т. е. данное вещество представляет собой конкурентный антагонист. Десенситизация происходит вследствие перехода комплекса агонист-рецептор с высокой энергией в состояние с более низкой энергией. При этом, несмотря на то, что агонист может диссоциировать или не диссоциировать, рецептор находится в таком энергетическом состоянии, которое не может обеспечить передачу молекулярного сигнала на эффектор.

Рецептор может быть в двух конформационных состояниях — способном и неспособном к активации, между которыми нет большого энергетического барьера и которые могут опосредовать связывание с одними и теми же лекарствами. Данная точка зрения объясняет метафильный эффект лигандов, выражающийся в увеличении аффинитета рецептора по отношению к необратимым антагонистам после воздействия на них агонистов.

Скорость десенситизации зависит от концентрации агониста, но исчезновение десенситизации (восстановление исходного состояния рецепторов) после удаления всех лигандов подчиняется кинетике первого порядка, зависящей только от концентрации инактивированных рецепторов.

Отметим также, что данная теория позволяет объяснить «затухание» эффекта не только агонистов, но и антагонистов при их повторных воздей-

ствиях.

Действие лекарства представляет собой сложный, многоступенчатый процесс, в котором ассоциация лекарства с рецептором является лишь начальным этапом реализации биологической активности лекарства, за которым следуют дальнейшие события, в конечном счете, проявляющиеся в виде вторичной фармакологической реакции. Поэтому десенситизация может быть не только связана с изменением конформации рецептора, о чем шла речь, но также обусловлена какими-либо другими событиями, «спрятанными» в «черный ящик» между комплексообразованием лекарства с рецептором и наблюдаемым эффектом. Именно с этими событиями связаны основные сложности описания кинетики реализации лекарствами фармакологических эффектов, опосредуемых рецепторами, разрешить которые нельзя без детального изучения всех этапов трансформации молекулярного сигнала в физиологическую реакцию.

* * *

«Тропность» и «рецепция», как термины не могут рассматриваться как идентичные.

Тропность лекарств — это, прежде всего, отражение их конечного эффекта, которому предшествуют все механизмы «биологического узнавания» от молекулярного до организменного уровня. Тропность вещества подчеркивает его принадлежность к группе лекарств с определенными свойствами, например, к кардиотропным, нейротропным, психотропным и другим средствам.

«Рецепция» — это первичное «узнавание» ксенобиотиков и физиологически активных веществ; это процесс, состоящий из нескольких этапов.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ТЕОРИИ ОРГАНОТРОПНОСТИ ЛЕКАРСТВ

Анализ литературы и собственный опыт в области изучения молекулярной природы избирательности эффектов веществ гормональной природы и чужеродных органических соединений, применяемых для искусственного контрастирования, позволил сформулировать основные положения теории органотропности лекарственных средств.

Процесс органотропности ксенобиотиков и эндогенных лигандов состоит из отдельных этапов, среди которых мы выделяем следующие:

- 1). Биотранспорт лекарств системами крови, лимфы и интерстициальной жидкости.
- 2). Проникновение лекарств через ГГБ, как сложные мембранно-клеточные каркасы.
- 3). Взаимодействие лекарств с «узнающими системами» клеток-мишеней.

ЗНАЧЕНИЕ БИОТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ИХ ОРГАНОТРОПНОСТИ

В избирательном поглощении лекарственных веществ тканями и органами важное значение имеют составные компоненты крови, осуществляющие транспорт низкомолекулярных соединений. В процессе эволюции были созданы специальные

транспортные системы крови — глобулины, которые связывают и переносят многие эндогенные физиологически активные вещества. Некоторые эндогенные физиологически активные соединения связываются также (хотя менее специфично и с меньшим сродством) с сывороточным альбумином и эритроцитами. Как показало проведенное в нашей лаборатории математическое моделирование фармакокинетики стероидных гормонов при попадании их в кровяное русло, именно альбумин и эритроциты первоначально связывают практически все количество гормона, а затем происходит их перераспределение на специфические транспортные белки.

При изучении транспорта системой крови лекарственных веществ, являющихся чужеродными агентами, выяснилось, что главную роль играет сывороточный альбумин, обладающий универсальной способностью связывать многие ксенобиотики.

Почти сорок лет мы занимаемся изучением фармакологических особенностей рентгеноконтрастных средств (РКС). В результате систематизации экспериментальных наблюдений предложена классификация РКС, установлены механизмы побочных реакций, вызываемых ими; пути премедикации. Совместно с химиком К. С. Шаназаровым и др.

получены и внедрены в клиническую практику триомбрат, йодамид, билимин, билигност 50, билигност 10, заканчивается работа над первым отечественным неионогенным контрастным препаратом иогексолом.

Отдельным разделом данного поиска является разработка теории органотропности РКС (работа проведена совместно с Н. Л. Шимановским, Н. К. Свиридовым, В. Н. Большевым, А. Г. Белых, Е. Н. Болотовой, А. Н. Усенко, В. О. Пановым и др.).

В результате многочисленных экспериментов установлено, что в зависимости от химического строения органические йодсодержащие РКС обладают способностью связываться с различной степенью сродства с составными компонентами крови. Основная биомакромолекула крови, связывающая РКС, — сывороточный альбумин. Так, еще в 1965 г. в нашей лаборатории при сравнительном анализе связывающей способности белковых фракций плазмы крови крыс с помощью методов электрофореза и автордиографии было обнаружено, что холецистографическое средство билигност и ангиоурографические — кардиотраст, трийотраст и триомбрат в убывающей последовательности соединяются в основном с альбумином и в меньшей степени с глобулинами (П. В. Сергеев и В. А. Чистяков, 1965). Сопоставляя выявленную закономерность с тропностью того или иного РКС к печени или почкам, мы установили зависимость пути выведения РКС из организма от их белковосвязывающей способности: чем интенсивнее РКС связываются с альбуминами, тем большие их количества выводятся печенью и меньшие — почками, и, наоборот, менее связанные с белками РКС выводятся почками.

Эти результаты послужили стимулом для дальнейшего исследования зависимости органоспецифичности РКС от характера их связывания с сывороточными альбуминами. Получены как количественные (константы ассоциации и число мест связывания), так и качественные (силы, участвующие в образовании комплекса, части молекулы, ответственные за комплексообразование, конформационные изменения белка) характеристики взаимодействия РКС с сывороточным альбумином (Н. Л. Шимановский).

Для исследования механизма взаимодействия РКС с сывороточным альбумином был использован конформационно-чувствительный метод флуоресценции. Из исследуемых нами РКС только трийотраст, билигност, эндографин значительно изменяли интенсивность и положение максимума флуоресценции альбумина. В то же время триомбрат, йодамид, кардиотраст, телебрикс и верографин в этом отношении были неактивны. То есть, трийотраст, билигност и эндографин (РКС, не имеющие заместителей в 5-м положении 2, 4, 6-трийодбензойной кислоты) связываются с гидрофобной областью сывороточного альбумина человека вблизи локализации триптофанового остатка (источника флуоресценции); при этом либо изменяется степень ионизации других аминокислотных остатков, что увеличивает вязкость водного слоя триптофана, либо эти контрастные вещества непосредственно присоединяются к триптофановому остатку. Согласно данным литературы, участок сывороточного альбумина, локализованный вблизи

триптофанового остатка, связывает и другие лиганды, такие как варфарин, сульфадиметоксин, а также РКС — иофеноксат.

Применение метода ядерно-магнитного резонанса позволило оценить продолжительность жизни комплексов РКС с сывороточным альбумином человека. Поскольку для холецистографического вещества билигноста это время было в два раза больше, чем для трийотраста, можно считать, что причиной является преимущественное накопление первого в печени (Н. Л. Шимановский, В. О. Панов).

При анализе механизмов гепатотропности веществ нельзя не учитывать большую длину синусоидов печени и наиболее высокую проницаемость микрососудов печени по сравнению с сосудами всех других органов.

Для стероидных гормонов в крови выявлены специальные транспортные системы: секс-стероид-связывающие-глобулины (связывают андрогены и эстрогены с K_{acc} приблизительно равной 10^8 — $10^9 M^{-1}$), транскортин (связывает глюкокортикоиды и прогестерон с $K_{acc} \approx 10^7$ — $10^9 M^{-1}$) и неспецифические транспортные системы альбумин, альфа-1-кислый гликопротеин, эритроциты (связывают все стероидные гормоны с $K_{acc} \approx 10^4$ — $10^5 M^{-1}$).

Таким образом, мы подошли к рассмотрению следующего этапа распространения лекарственных веществ в организме, который в значительной мере определяет их органотропность, а именно этап проникновения лекарств из крови в клетки различных органов и тканей.

РОЛЬ ГГБ И ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ОРГАНОТРОПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Как уже отмечалось, большое значение в прогрессе фармакологических исследований органотропности лекарственных веществ имеет учение Л. С. Штерн о ГГБ, согласно которому доступность лекарственных веществ к клеткам того или иного органа определяется избирательностью проницаемости его ГГБ. Для фармакологов особое значение имеет ГЭБ, наиболее плохо проницаемый для чужеродных лекарственных веществ (ксенобиотиков). Считается, что скорость прохождения веществ через ГЭБ прямо пропорциональна их растворимости в липидах. Водорастворимые РКС кардиотраст и трийотраст не только сами не проникают через ГЭБ, но и не влияют на его проницаемость для ^{131}I -альбумина.

Практический интерес представляет возможность с помощью фармакологических веществ изменять проницаемость ГГБ и, следовательно, регулировать органотропность лекарств. Такая возможность была выявлена в ряде экспериментов с использованием в качестве индикаторов проницаемости ^{131}I -альбумина и уранина. Если при однократном введении интактным крысам нейролептиков аминазина и тизерцина повышается проницаемость ГЭБ для ^{131}I -альбумина, то при длительном их применении проницаемость ГЭБ менялась в противоположном направлении по сравнению с их однократным введением. Получены результаты, свидетельствующие о влиянии фармакологических веществ на проницаемость разных ГГБ: аминазин и тизерцин повышают проницаемость ГГБ кожи; ра-

диопротекторы мексамин и цистамин увеличивают проницаемость ГЭБ и тканевых барьеров тимуса и надпочечников.

Проникнув через ГГБ, лекарственные вещества прежде чем достигнуть границы клеток (их плазматических мембран) должны пройти через интерстициальную жидкость. Состав этой жидкости изучен слабо, он варьирует в довольно широких пределах в разных органах и тканях, а также в зависимости от условий питания и скорости выведения различных веществ из организма. До последнего времени роль интерстициальной жидкости в накоплении лекарств в органах фармакологии не учитывалась. Однако при изучении в нашей лаборатории кинетики накопления меченых глюкокортикоидов тимусом (Т. Г. Пухальская) было выявлено, что количество меченых гормонов в межклеточном пространстве тимуса в несколько раз превышает их содержание в тимоцитах. Можно говорить об аккумуляции ^3H -дексаметазона в интерстициальной жидкости, несмотря на снижение содержания его в крови. В других органах роль межтканевой среды в фармакокинетике лекарств может быть иная, но приведенные результаты тем не менее указывают на необходимость при изучении распределения по органам любых фармакопрепаратов учитывать возможность их накопления в интерстициальной жидкости, тем более, что примерно половина всего альбумина (универсального сорбента низкомолекулярных соединений) в организме находится вне сосудистого русла.

* * *

1. Биодоступность лекарственных веществ к органам-мишеням и органам-немишеням определяется в значительной степени проницаемостью ГГБ.
2. При трансплантации органов и тканей формируются новые ГГБ, которые имеют свою структуру и проницаемость, как функцию, и требуют новых подходов к их лекарственному обеспечению.
3. Длительное введение фармакологически активных веществ может снижать проницаемость ГГБ для высокомолекулярных и низкомолекулярных маркеров.
4. Следует признать перспективным изучение биотранспорта лекарств в интерстициальной жидкости.

«УЗНАЮЩИЕ» СИСТЕМЫ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ ДЛЯ КСЕНОБИОТИКОВ

Системы избирательного накопления в клетках существуют не только для гормонов, но и для других веществ, в частности для органических кислот. Если такие транспортно-рецепторные системы на плазматических мембранах некоторых клеток были выявлены для эндогенных соединений (желчные кислоты) и ряда экзогенных соединений (красители) сравнительно давно, то для йодсодержащих органических кислот, используемых в клинике в качестве РКС, подобные экспериментальные данные до последнего времени отсутствовали.

В нашей лаборатории А. Г. Белых впервые было обнаружено, что с плазматическими мембранами гепатоцитов связываются только те РКС, которые избирательно накапливаются в печени и затем экскретируются из организма через желчевыводящую систему (например, билигност), но не урогра-

фические средства (триомбрин), незначительное связывание которых удавалось зарегистрировать только при очень высоких концентрациях препаратов (более 1 мМ). Комплексообразование билигнosta с плазматическими мембранами в исследуемом интервале концентраций (3—23 мкМ) характеризовалось одним классом участков связывания с K_{acc} порядка 10^5 M^{-1} и ограниченной емкостью с числом мест связывания равным 3 нмоль/мг белка мембран. Хотя подобная K_{acc} не указывает на высокое сродство взаимодействия данного соединения к плазматическим мембранам, как, например, в случае связывания гормонов с рецептором, для которых K_{acc} соответствует 10^8 — 10^{10} M^{-1} , биологическая значимость подобного взаимодействия неоспорима, поскольку известно, что примерно таким же сродство обладает транспортный белок крови — сывороточный альбумин. Для предполагаемого цитозольного транспортного белка лигандин связывание билигнosta характеризуется K_{acc} , равной 10^3 M^{-1} , т. е. на два порядка меньшей, чем в случае плазматических мембран.

Сравнение связывающей способности плазматических мембран различных органов по отношению к гепатотропным соединениям показало, что с мембранами клеток матки и почек они связываются в меньшей степени, чем с плазматическими мембранами гепатоцитов. Эти различия были обусловлены меньшей концентрацией участков связывания. Существенные отличия обнаружены и в сродстве РКС к различным мембранам печеночных клеток, а именно — связывающая способность выше для плазматических мембран, чем для лизосомальных и микросомальных. Важно также отметить, что различия в связывании выявляются только при исследовании препаратов в низких концентрациях и отсутствуют в случае высоких концентраций РКС.

Таким образом можно заключить, что на плазматических мембранах клеток печени имеются специфические связывающие образования, ответственные за распознавание и селективное поглощение гепатотропных органических анионов, в частности РКС.

Для изучения внутриклеточного распределения холецистографического вещества билигнosta в клетках печени мы применили метод электронной микроскопии, позволившей визуально следить за миграцией электроноплотного вещества, каким является билигност.

Изучение электронограммы показало, что билигност, поступая из синусоидальных капилляров печени в пространство Диссе, далее распространяется по межклеточным щелям между гепатоцитами. Наибольшее количество билигнosta скапливается на поверхности микроворсинок гепатоцитов, направленных в сторону кровеносных капилляров. Проникновение билигнosta в гепатоцит носит диффузный характер.

Попадая в цитоплазму гепатоцитов, билигност скапливается вокруг органелл клетки: митохондрий и лизосом, поступая затем в эти органеллы, а также обнаруживается в цитоплазматической сети клеток.

Проникновение билигнosta через синусоидальную мембрану гепатоцита идет против электрохимического градиента и является энергозависимым. В клетке билигност связывается с транспортными белками цитозоля.

СИСТЕМЫ «УЗНАВАНИЯ» СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

ПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Если сопоставить данные о сродстве органических кислот (РКС) к транспортным белкам крови, плазматическим мембранам клеток-мишеней и цитозольным белкам этих клеток, то можно отметить закономерность: $K_{асс.}$ связывания этих веществ с плазматическими мембранами $\geq K_{асс.}$ их связывания с транспортными и цитозольными белками. Следовательно, плазматическим мембранам компетентных клеток принадлежит ведущая роль в распознавании ксенобиотиков и транслокации их в клетку, а роль цитозольных белков может состоять в накоплении этих веществ либо во внутриклеточном транспорте.

Итак, приведенные сведения убедительно указывают на существование у клеток-мишеней специальных «узнающих» структур, которые опосредуют избирательное накопление лекарственных веществ. В то же время необходимо отметить, что накопление лекарства в большом количестве в той или иной ткани не всегда обуславливает селективность его действия на эту ткань. Подтверждением высказанной точки зрения могут быть полученные нами данные о кинетике накопления ^{14}C -морфина в селезенке, печени, тимусе, мозге, почках и легких. Хотя хорошо известно, что реализация фармакологической активности морфина опосредована его взаимодействием с опиатными рецепторами ЦНС, накопление ^{14}C -морфина в головном мозге было меньше по сравнению с другими органами. Мы считаем, что отсутствие корреляции между силой наркотической активности морфина и его накоплением в тканях мозга может быть связано с наличием небольшого числа участков связывания с высоким сродством (специфических рецепторов) в головном мозге и существованием большого количества неспецифически связывающих участков (молчащих рецепторов) в других органах. Следовательно, органом-мишенью нельзя считать тот орган, в котором происходит наибольшее накопление препарата и при определении этого понятия в первую очередь нужно принимать во внимание данные о механизме специфического действия лекарственного вещества.

РЕЗЮМЕ

Рассмотрев физико-химические механизмы органотропности лекарственных веществ, целесообразно сформулировать основные закономерности процессов, определяющих специфику распределения, пути выведения из организма и проявления эффектов лекарств.

Согласно приведенным материалам, органотропность лекарственных веществ определяется: 1) характером связывания с транспортными системами крови (чем сильнее это связывание, тем выше гепатотропность вещества и ниже его нефротропность); 2) скоростью кровотока в органе (чем она ниже, тем выше вероятность проникновения лекарства в данный орган); 3) свойствами гисто-гематических барьеров и способностью лекарственных веществ проникать через них; 4) наличием на плазматических мембранах клеток систем узнавания (или рецепторов); 5) степенью сродства к внутриклеточным (цитозольным или ядерным) рецепторам, а также к внутриклеточным органеллам.

До недавнего времени считалось, что физиологически активные соединения с гидрофобными свойствами (стероидные и тиреоидные гормоны) пассивно проникают через плазматические мембраны любых клеток и накапливаются только в тех клетках, в которых для них есть цитозольные рецепторы — молекулы-мишени. Если принять эту точку зрения, то степень проникновения веществ через плазматические мембраны определяется коэффициентом распределения липид — вода. Иными словами, чем выше коэффициент (липофильность молекулы), тем легче вещество проникает внутрь клетки. Тогда вполне закономерно встает вопрос: каков биологический смысл внедрения всех гормонов, существующих в организме или вводимых извне, во все мембраны разных клеток? Этот, казалось бы, очевидный вопрос только в самые последние годы стал предметом рассмотрения и экспериментального разрешения.

В нашей лаборатории показано, что стероидные гормоны обладают высокой степенью связывания с плазматическими мембранами компетентных клеток (Ю. П. Денисов, М. В. Неженцев, С. Ш. Сулейманов, Г. В. Шутко, А. С. Духанин, Е. Н. Минеева-Карева, Г. В. Калинин). На это обстоятельство следует обратить особое внимание, поскольку, предстоит существенное уточнение понятия «клетка-мишень» с учетом заинтересованности мембран во взаимодействии тропных гормонов — клетка-мишень. Обработка плазматических мембран «мембранными» ферментами нейраминидазой и фосфолипазами приводит к резкому снижению поглощения ими тропных гормонов (например, кортикостероидов, в случае мембран гепатоцитов; эстрогенов, в случае мембран клеток матки). Такой же эффект вызывают этанол и диметилсульфоксид, которые влияют на структуру мембранных образований, хотя способность рецепторов цитозоля связывать гормоны в бесклеточной системе не изменяется. На связывание кортикостерона гепатоцитами весьма существенно влияют ингибиторы метаболизма (например, цианид калия), в то время как эти агенты не снижают способность цитозольных белков-рецепторов взаимодействовать с гормонами. Обработка клеток и мембран блокаторами SH-групп также резко уменьшает количество связанного мембранами гормона, что указывает на белковую природу стероидсвязывающих структур в плазматических мембранах. Однако несомненна и роль липидов в работе таких структур, о чем говорят результаты опытов с фосфолипазами, а также двухфазный характер температурной зависимости поглощения кортикостероидов клетками, что, как известно, является критерием участия липидов в том или ином процессе (связывание гормонов цитозольными рецепторами вообще практически не зависит от температуры). Итак, мы выявили в плазматических мембранах гепатоцитов и клеток матки системы «узнавания» или системы «предпочтения» для

кортикостероидов и эстрогенов, соответственно. Описанные системы имеют в своем составе белки и липиды и призваны избирательно накапливать в мембранах (и затем в клетках-мишенях) только тропные гормоны. Показательно, что мембраны клеток матки практически не связывают кортикостероиды, имеющие высокий коэффициент распределения, например кортизон, в то время как в мембранах гепатоцитов имеется (хотя и не очень активная) система «узнавания» эстрадиола, который, как известно, в небольших количествах содержится в печени и для которого, таким образом, наличие системы «узнавания» в плазматической мембране вполне закономерно. Степень сродства системы «узнавания» в мембранах гепатоцитов для кортизона значительно ниже, чем для гидрокортизона. Именно поэтому только в больших концентрациях первый кортикостероид начинает захватываться системой «узнавания» плазматических мембран. Из литературы известно, что концентрации, при которых кортизон накапливается в клетках печени, значительно превышают концентрации гидрокортизона в крови. Этот феномен легко объяснить, если учесть полученные нами данные о различии в сродстве системы «узнавания» для кортикостероидов к обоим гормонам. Проникновение тиреоидных гормонов в компетентные клетки также опосредовано плазматическими мембранами; этот процесс, как и в случае стероидных гормонов, насыщаем, высокоспецифичен, чувствителен к температуре, воздействию реагентов на сульфгидрильные группы и протеолитические ферменты. По нашему мнению, системы плазматических мембран определяют органотропность тиреоидных гормонов и их тоже можно назвать «узнающими» системами.

Таким образом, имеющиеся данные о взаимодействии стероидных и тиреоидных гормонов с компонентами плазматических мембран компетентных клеток позволяют заключить, что эти компоненты — «узнающие» системы — определяют избирательность накопления гормонов клетками-мишенями. Выявленные системы «узнавания» для стероидных гормонов обеспечивают селективное накопление стероидных гормонов при их нахождении в крови в низких, физиологических концентрациях (10^{-9} — 10^{-11} М, свободная форма) благодаря тому, что только на плазматических мембранах компетентных клеток содержатся участки, связывающие стероиды с константой ассоциации выше, чем $K_{асс}$. связывания стероидов с транскортином или секстероид-связывающим глобулином.

В последние годы появились новые данные о физико-химических механизмах органотропности белково-пептидных гормонов. Раньше считалось, что они действуют с помощью вторичных посредников — циклических нуклеотидов, не проникая в клетку. Образование вторичных посредников гормоны стимулируют при взаимодействии с комплементарными структурами плазматических мембран. Сейчас это представление пересмотрено. С помощью методов радиоавтографии, фракционирования клеток и флуоресцентно-меченных белково-пептидных гормонов показано, что их проникновение в клетку происходит с участием рецепторов плазматических мембран.

Следовательно, роль плазматических мембран клеток-мишеней как для стероидных, так и для белково-пептидных гормонов заключается в «узна-

вании» гормона, транслокации его внутрь клетки и преобразовании путем биохимических реакций гормонального сигнала.

ЦИТОЗОЛЬНЫЕ И ЯДЕРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Если по вопросу о роли рецепторного аппарата плазматических мембран до последнего времени ясности не было, то в отношении биологического значения цитозольных рецепторов стероидных гормонов установлено, что *взаимодействие гормонов с этими структурами является необходимым этапом в механизме регуляции стероидами генетической активности клеток-мишеней.*

В немалой степени этому способствовали работы по изучению физико-химических характеристик цитозольных рецепторов стероидных гормонов с помощью современных методов биохимии, биофизики, молекулярной биологии (С. И. Огурцов, С. Н. Португалов).

Для рецепторных белков характерны высокое сродство к гормону ($K_{асс}$ порядка 10^7 — 10^{10} М $^{-1}$), ограниченная связывающая емкость (10^2 — 10^4 связывающих участков на клетку), стереоспецифичность по отношению к лиганду. Энергия комплексообразования составляет от 8 до 13 ккал/моль. Рецепторы стероидных гормонов очищены в настоящее время до практически гомогенного состояния. Они являются гидрофильными ассиметричными по форме белками с молекулярной массой (М. М.) 200—300 кД. При повышении ионной силы раствора до 0,3 М NaCl рецепторы диссоциируют на белки с М. М. 60—120 кД. Рецепторы стероидных гормонов содержат три домена: стероидсвязывающий и ДНК-связывающий участки, а также фрагмент, содержащий иммунологическую детерминанту.

Наличие внутриклеточных рецепторов для определенного класса стероидных гормонов (глюкокортикоидов, эстрогенов, прогестинов, андрогенов) обуславливает чувствительность тканей к действию соответствующего стероида. Так, рецепторы глюкокортикоидов обнаружены в печени, мышцах, почках, сердце, тимусе, жировой ткани, являющихся органами-мишенями для этих гормонов.

На следующем этапе образованный гормон-рецепторный комплекс активируется и трансформируется в форму, обладающую повышенным сродством к ядру. В системе *in vitro* трансформацию комплекса обычно вызывают, повышая ионную силу раствора, увеличивая температуру среды инкубации или обрабатывая его (комплекс) насыщенным раствором сульфата аммония. В системе *in vivo* предполагают следующие возможные механизмы активации: 1) присоединение к гормон-рецепторному комплексу рецептор-трансформирующего фактора (РТФ); 2) взаимодействие неактивной формы рецептора с РНК и образование активированного гормон-рибонуклеопротеидного комплекса; 3) диссоциации рецептора, состоящего из нескольких субъединиц, на составные мономеры в момент трансформации; 4) специфический протеолиз гормон-рецепторного комплекса; 5) фосфорилирование рецепторов стероидов.

Итак, в ядро поступает трансформированный гормон-рецепторный комплекс. Этот процесс является температурозависимым. При инкубации кле-

ток с мечеными гормонами при температуре 0—4°C практически все образующиеся комплексы обнаруживаются в цитоплазматической фракции. Последующее повышение температуры (25—37°C) приводит к снижению содержания гормон-рецепторных комплексов в цитоплазме и увеличению их количества в ядрах. Независимо от химической природы молекул стероидных гормонов с ядром связывается около 60% гормон-рецепторных комплексов от общего числа активированных комплексов в клетке. То есть, число ассоциированных с ядром гормон-рецепторных комплексов определяется исключительно свойствами рецепторных белков.

Физико-химические свойства определенных форм цитоплазматических и ядерных рецепторов в большинстве случаев очень близки. Ядерные эстрадиол-рецепторные комплексы выделены в виде 4,8S белка с М. М. 66 кД. Антитела к ядерным рецепторам эстрадиола матки давали перекрестную реакцию с цитоплазматическими рецепторами из эстроген-чувствительных тканей и опухолей животных нескольких видов. Подобные результаты получены при сравнительном изучении ядерных и цитоплазматических рецепторов других классов стероидов.

Таким образом, *результатом взаимодействия молекул тропных стероидных гормонов с цитоплазматическими рецепторами клеток-мишеней является транслокация активированных гормон-рецепторных комплексов через ядерную мембрану и накопление их в ядре.*

Неактивированные рецепторы эстрогенов могут присутствовать в ядре клетки-мишени и в отсутствии в среде гормонов. В этой связи следует подчеркнуть, что наличие стероида необходимо для трансформации и переноса в ядро определенного числа активированных (биологически активных) рецепторов стероидов.

Гетерогенность рецепторов стероидных гормонов

С вопросом о специфическом действии стероидов на клетки-мишени тесно связана гетерогенность рецепторов стероидных гормонов. Если исходить из признания гомогенности рецепторных молекул (согласно классической модели), то представляется труднообъяснимым наблюдаемый чрезвычайно широкий спектр эффектов гормона в данной ткани с одной стороны, и огромное разнообразие ответов на гормон в разных тканях, с другой стороны. С каждым годом появляются все новые работы, указывающие на неоднородность рецепторных белков. Так, с помощью методов изоэлектрофокусирования и двухмерного электрофореза с высоким разрешением показано, что глюкокортикоидный рецептор из клеток опухолевой линии человека HeLa S-3 представлен не менее чем 5 белками с М. М. около 88 кД и различными значениями изоэлектрической точки в диапазоне рН от 6,5 до 7,5.

Активированная форма глюкокортикоид-рецепторных комплексов из цитозоля сердца и печени может быть разделена по крайней мере на 3 компонента хроматографией на фосфоцеллюлозе. Гетерогенность рецепторов эстрогенов, минералокортикоидов продемонстрирована методами изоэлектрофокусирования и хроматофокусирования.

Факторы, модифицирующие взаимодействие стероидных гормонов с рецепторами

Тканевая специфичность взаимодействия стероидов с внутриклеточными рецепторами может быть объяснена в некоторых случаях присутствием в органах-мишенях рецептормодифицирующего фактора. На это указывают результаты, полученные Ю. М. Селезневым* и А. А. Шнырой. Авторами исследован механизм, определяющий различие в способности дезоксикортикостерона (ДОК) ингибировать связывание ³H-триамцинолона ацетонида глюкокортикоидными рецепторами цитозоля сердца и печени. Цитозоль печени, лишенный глюкокортикоид-рецепторной активности путем прогревания, содержал фактор, модифицирующий взаимодействие ДОК с глюкокортикоидными рецепторами цитозоля сердца. Этот фактор элюируется вместе с высокомолекулярной фракцией при гель-фильтрации, осаждается при 50—70% насыщении сульфатом аммония, поглощается ДЭАЭ-сефацелом из цитозоля при рН 7,4 в гипотонических условиях и экстрагируется при концентрации КСl в элюате 0,06 М. Чувствительность к протеазам и отсутствие чувствительности к нуклеизам свидетельствуют о белковой природе фактора. В цитоплазме матки, печени крыс обнаружен фактор, который взаимодействует только с активированной формой рецептора, вызывая в нем конформационные изменения и потерю способности связываться с ядрами клеток. Диализ цитозоля матки ведет к потере фактора, инактивирующего эстроген-рецепторные комплексы. Если диализованную цитоплазму инкубировать с ядрами, то эстрогенный рецептор, не связанный с эстрадиолом, обнаруживается в ядрах в форме 4 S.

Не исключено, что влияние рецептормодифицирующих факторов на процесс образования гормон-рецепторных комплексов лежит в основе развития резистентности ткани-мишени к действию стероидов, наблюдающейся в ряде случаев при длительном применении.

Данные о том, что связывание стероидов рецепторами коррелирует с внутриклеточным содержанием АТФ, а рецептор, не связанный с гормоном, инактивируется фосфатазой, позволили предположить, что необходимым условием взаимодействия стероидов с цитозольными рецепторами является фосфорилирование последних. Последующие исследования полностью подтвердили это предположение. Ядра клеток-мишеней содержат фермент, обладающий фосфатазной активностью и препятствующий связыванию стероидных гормонов с их рецепторами *in vitro* и *in vivo*. Цитозольный рецептор, инактивированный ядерной фосфатазой, может быть реактивирован при добавлении в среду АТФ. Описанную реакцию катализирует цитозольный фермент Са⁺²-кальмодулинзависимая фосфокиназа (в ряде случаев цАМФ-зависимая фосфокиназа), который был идентифицирован F. Auricchio и соавт. В настоящее время получены доказательства того, что *цитозольные рецепторы стероидных гормонов являются фосфопротеинами.* Таким образом, поми-

* Эту часть Актовой речи автор посвящает памяти Ю. М. Селезнёва, безвременно ушедшего из жизни.

мо АТФ, в регуляции связывания стероидов клетками-мишенями принимают участие цАМФ, ионы кальция, кальмодулин, протеинкиназы различной субстратной специфичности — группа соединений, ответственных за химическую модификацию клеточных белков. Представлены доказательства наличия протеинкиназной активности в высокоочищенных препаратах рецепторов стероидов. Можно полагать, что одна из субъединиц рецептора является протеинкиназой. Необходимо отметить, что процессы фосфорилирования/дефосфорилирования принимают участие в распределении цитозольных рецепторов стероидов между ядерным и экстраядерным компартментами.

ЯДЕРНЫЕ АКЦЕПТОРЫ СТЕРОИД-РЕЦЕПТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Изучение природы ядерных акцепторов для рецепторов стероидных гормонов показало, что в их составе имеется определенная комплементарная последовательность нуклеотидов ДНК, белковые компоненты хроматина, ядерный матрикс, причем число акцепторных сайтов значительно превышает количество транслоцируемых в ядра клеток гормон-рецепторных комплексов (С. Н. Португалов). Считается, что из многочисленных мест связывания комплекса только фрагменты ДНК протяженностью в 20 нуклеотидов являются специфическими участками связывания; присоединение остальных рецепторов, по-видимому, приводит к изменению структурной конформации ДНК и, как следствие, к ускорению запуска процессов транскрипции. Столь сложный механизм гормональной инициации считывания закодированной в генах информации объясняется особенностями экспрессии генома у эукариот. Механизм гормональной регуляции синтеза специфических мРНК связан с включением в транскрипцию ранее нетранскрибируемых последовательностей ДНК, а также с фосфорилированием негистоновых белков и увеличением числа мест связывания для РНК-полимераз. Стероиды регулируют транскрипцию небольшого числа (<1%) экспрессируемых генов клетки-мишени. Наряду со стимулирующим специфическим действием глюкокортикоиды оказывают и ингибирующее влияние на синтез РНК, причем оба эффекта могут проявляться в пределах одного органа. Возможно, что от их соотношения зависит окончательный ответ клетки на гормональный сигнал.

Параллельно с индукцией транскрипции специфических мРНК под действием стероидов происходит активация РНК-полимеразы I, которая осуществляет синтез рРНК. Благодаря увеличению содержания рРНК образуется дополнительное количество рибосом, полисом. Вследствие согласованного действия стероидов на синтез мРНК и рРНК через 2—4 ч после гормональной стимуляции наблюдается усиленный синтез индуцируемых белков (в том числе и рецепторов стероидов). Процесс внутриклеточного транспорта аминокислот, осуще-

ствляемый тРНК, также подвержен регулирующему действию гормонов. Имеющиеся экспериментальные наблюдения свидетельствуют об изменении соотношения различных тРНК в клетках-мишенях и повышении активности отдельных видов тРНК-синтетаз при воздействии стероидов.

Процесс взаимодействия гормона с ядерными акцепторами завершается отделением комплекса от хроматина. Рассматриваются два варианта дальнейшей биотрансформации гормон-рецепторного комплекса: 1) молекула рецептора не разрушается и может снова переходить в цитоплазму для образования нового гормон-рецепторного комплекса, а «отработавший» гормон подвергается метаболическим изменениям, приводящим к утрате его биологической активности; 2) процесс завершается разрушением комплекса внутри ядра, а пул цитозольных рецепторов пополняется за счет биосинтеза их *de novo* или реактивации рецепторов фосфорилированием.

Проникновение гормон-рецепторного комплекса из цитозоля в ядро мы рассматриваем в качестве самостоятельного этапа, в течение которого изменяется вся гамма функциональных характеристик, свойственных последнему.

По нашему мнению, в ядре клетки-мишени стероидного гормона имеются различные места связывания гормон-рецепторного комплекса, которые выполняют разные функции (П. В. Сергеев, Е. Н. Минеева-Карева):

1. М-акцепторы — регулируют неспецифические, метаболические функции (активация ферментов синтеза ДНК, РНК и белков, необходимых для поддержания жизнедеятельности и деления клеток);
2. S-акцепторы — регулируют специфические функции (синтез специфических белков, необходимых для реализации специализированных функций клетки-мишени, например, E₂ — овалбумин, P₄ — вителлогенин, молекулы рецепторов и др.).

Теоретическими предпосылками высказанной нами гипотезы служат факты, изложенные ниже: а) наличие рецепторов половых гормонов в клетках органов, не имеющих отношения к половому диморфизму (печень, мышцы и др.), что было блестяще доказано в многолетнем поиске В. Б. Розена и его учеников. Таким путем, по-видимому, реализуется метаболический эффект половых гормонов на столь разные системы как иммунная, система кроветворения, воздействие на обменные процессы в печени (перечисленные эффекты, по нашему мнению, медируются М-акцепторами хроматина);

б) отсутствие метаболического эффекта половых стероидов на нейротрофные клетки преоптической зоны гипоталамуса свидетельствует о том, что в указанных клетках, по-видимому, представлены только S-акцепторы хроматина, которые опосредуют обратную связь в регуляции синтеза гонадотропинов;

в) в ядрах клеток-мишеней для андрогенов имеются два пула, воспринимающих гормон рецепторный комплекс участков, которые различаются по физико-химическим свойствам, так как для экстракции

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ С СУБКЛЕТОЧНЫМИ ОРГАНЕЛЛАМИ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ РЕТИКУЛУМ

комплексов из связи с одним из них требуется высаливание, а с другим — мягкая обработка трипсином. Вероятно, что найденные места соотвествуют предложенным нами S- и M-акцепторам. Однако для окончательного вывода о принадлежности указанных участков хроматина к S- и M-акцепторам требуются дополнительные исследования.

На примере антиэстрогенов рассмотрим с новых позиций рецептор-опосредуемые механизмы действия антигормонов. Известно, что эстрогеноподобный эффект антиэстрогенов проявляется лишь в виде их метаболического действия. Следовательно, можно предполагать, что в данном случае происходит образование эффективного комплекса антигормон-рецептор-M-акцептор.

Анализируя далее действие антигормональных препаратов на ткани-мишени, можно сделать предварительный вывод об аффинности к S- и M-акцепторам. В малых концентрациях антиэстрогены проявляют агонистический эффект, т. е. лигандом заняты исключительно M-акцепторы. С другой стороны, для проявления антигормональной активности антиэстрогена необходимо увеличение его дозы. Если принять во внимание, что проявления антигормональной активности наблюдаются при лиганд-рецепторном блокировании S-акцепторов, то напрашивается следующий вывод: M-акцепторы обладают большим аффинитетом в отношении антигормон-рецепторного комплекса по сравнению с S-акцепторами.

Таким образом, введение понятия о существовании по меньшей мере двух функционально различных акцепторных мест для комплекса рецептор-стероидный гормон (или рецептор-антигормон), позволяет объяснить наличие рецепторов стероидов (в частности половых) в клетках, по классическим представлениям не являющихся их мишенями. В таких клетках осуществляется метаболическая функция стероидов без проявления их специфических свойств. Реализация специфической активности (овогенез, сперматогенез и др.) требует присутствия в ядре клетки-мишени, наряду с M-акцепторами, S-центров связывания.

* *
*

Считаем необходимым дополнить классическую модель механизма действия стероидов расчленением процесса «узнавания» на 2 этапа:

1. Первичное «узнавание» происходит на уровне плазматической мембраны клетки-мишени, где гормон специфически взаимодействует со своим рецептором;
2. Вторичное — на уровне ядра, где гормон-рецепторный комплекс может взаимодействовать с M-и/или S-акцепторами хроматина.

Эндоплазматический ретикулум (ЭР) рассматривается как динамический скелет клетки, в котором локализованы ферментные ансамбли, осуществляющие биотрансформацию ксенобиотиков и эндогенных БАВ. Стероидные гормоны, как вещества-регуляторы, должны активно вмешиваться в функционирование ЭР. Они сами трансформируются в этой системе, что обуславливает влияние на ретикулум продуктов метаболизма гормонов (Э. М. Халилов).

Давно было отмечено, что действие лекарственных веществ проявляется у самок сильнее, чем у самцов. Это привело к мысли о том, что контроль за функционированием системы метаболизма осуществляется андрогенами и эстрогенами.

Будучи гидрофобными молекулами, стероиды хорошо связываются с мембранами микросом. Более липофильные гормоны накапливаются в микросомах в большей степени и вызывают существенные изменения конформационных свойств мембран, их диэлектрических параметров, что изменяет перенос электронов в НАДН-зависимых системах и, тем самым, гидроксильную способность микросом. Скорость гидроксильирования самих стероидных гормонов в микросомах печени в значительной мере определяется их химической структурой: скорость окисления тем выше, чем меньше полярность молекулы. То есть скорость реакции определяется проницаемостью мембран микросом для стероидов (доступностью субстрата), поскольку конечный участок НАДФ·Н — зависимой цепи переноса электронов — цитохром P-450 — находится во внутренних областях мембраны.

Гормоны обладают свойством активизировать окисление НАДФ·Н микросомами, причем скорость окисления НАДФ·Н обратно пропорциональна числу гидроксильных групп в молекуле соединения. Одной из основных функций стероидных гормонов в регуляции метаболизма в ЭР является, по всей видимости, поддержание на требуемом уровне количества цитохрома P-450. Кастрация крыс-самцов приводит к снижению уровня этого цитохрома. При введении таким животным тестостерона отмечается сравнительно быстрая нормализация уровня цитохрома P-450. Качественно это согласуется с гипотезой андроген-зависимого механизма, согласно которой андрогены могут выполнять функции репрессоров, подавляющих действие гена-регулятора, ответственного за связывание цитохрома с субстратами. Для эстрогенов такой эффект не характерен, они способны регулировать уровень цитохрома P-450 за счет влияния на перекисное окисление липидов. Активизация этого процесса в мембранах микросом приводит к уменьшению количества цитохрома. Как показано в нашей лаборатории, женские половые гормоны являются антиоксидантами, т. е. ингибиторами перекисного окисления липидов (Ю. П. Денисов, Ю. Н. Руднев). Предварительное (до активации окисления) введение эстрогенов вызывает выраженный защитный эффект, который проявляется в значительно меньшем снижении уровня цитохрома P-450. Есть

все основания считать, что в интактных клетках такой механизм может (и должен!) иметь место.

Изучено связывание ^3H -дексаметазона микросомами печени крыс. Анализ кривых накопления радиоактивности в координатах Скэтчарда позволил обнаружить один тип участков специфического связывания с константой диссоциации $2 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ и связывающей емкостью 5 пмоль на 1 мг белка микросом. Кратковременная инкубация микросом с проназой или блокатором SH-групп приводило к резкому снижению специфического связывания гормона, которое восстанавливалось после обработки микросом меркаптоэтанолом (донатором тиоловых групп). Описанный факт свидетельствует об участии в специфическом связывании микросомами белков, содержащих SH-группы.

* *
*

Стероидные гормоны могут взаимодействовать с микросомами по рецепторному типу. Скорость окисления НАД·Н микросомами прямо пропорциональна числу гидроксильных групп в молекуле стероида. Андрогены геномопосредованно влияют на содержание цитохрома P-450, в то время как эстрогены изменяют его опосредованно, действуя на свободнорадикальные реакции липидов.

Участие эндоплазматического ретикулума «клетки-мишени» в «узнавании» стероидных гормонов заключается в их биотрансформации и поддержании определенного уровня цитохрома P-450.

ЛИЗОСОМЫ

Стероидные гормоны можно считать веществами «тропными» к лизосомам, так как они изменяют стабильность лизосомальных мембран, а также локализацию и активность ферментов данных органелл (Ухина Т. В., Ницого В. Д., Кан А. М.). Лизосомотропизм стероидных гормонов должен рассматриваться как явление, включающее их действие на функциональные свойства и структуру этих субклеточных органелл, а также участие последних в преобразовании гормонального сигнала в биологический ответ клетки.

Ранее считали, что при связывании лизосомами стероидных гормонов определяющее значение имеет их липофильность, и поэтому они не изменяют структурной организации лизосомальной мембраны. Однако в экспериментах по взаимодействию меченых половых гормонов с лизосомами из печени и почек гонадоэктомированных крыс было обнаружено, что эстрадиол связывается с лизосомами в большей степени, чем тестостерон, хотя андроген по сравнению с эстрогеном обладает более высокой растворимостью в липидах (В. Д. Ницого). Логично предположить, что не только липиды, но и другие компоненты мембран лизосом принимают участие в связывании стероидов. При поглощении стероидов лизосомами изменяется конформация мембран последних, доказательством чего является уменьшение флуоресценции белков лизосом при поглощении ими тестостерона, экстрадиола и других стероидных гормонов.

Тропные к лизосомам вещества делят на стабилизаторы и лабилизаторы. Однако *следует подчеркнуть ошибочность подобного деления гормонов.*

Действие стероидных гормонов на лизосомы интактных тканей зависит от химического строе-

ния гормонов, от их дозы или концентрации (в экспериментах *in vivo* или *in vitro*), времени аппликации с биосубстратом, от пола лабораторного животного, его возраста, от вида ткани, локализации ферментов в мембране и целого ряда других факторов, включая конкретные условия эксперимента.

Эти положения можно проиллюстрировать рядом примеров. Так, действие стероидов во многом зависит от структуры их молекул. Например, стероиды, обладающие 5-β-Н-конфигурацией, высвобождают лизосомальные гидролазы печени и лейкоцитов кроликов, в то время как стероиды 5-α-Н-конфигурации, напротив, не проявляют активности.

Действие стероидных гормонов на активность лизосомальных ферментов может носить фазный характер. Гидрокортизон оказывает фазное действие на активность лизосомальных гликозидаз сердца. Через 1 ч после однократного внутривнутрибрюшинного введения гормона в дозе 25 мг/кг свободная активность β-галактозидазы и β-глюкозидазы снижалась на 25—30 %. Через 6 ч активность ферментов была уже выше контрольной на 25 %, а к 24 ч после введения не отличалась от контрольного уровня в миокарде интактных крыс. Подобные изменения активности лизосомальных ферментов были показаны также в экспериментах на других тканях с иными стероидными гормонами.

Действие стероидов на лизосомальные ферменты зависит от локализации последних. Тестостерон при действии на лизосомы печени, почек и тимуса значительно ингибировал активность мембраносвязанного фермента β-глюкозидазы, но активность фермента β-галактозидазы при этом не изменялась.

Взаимодействие стероидных гормонов с лизосомами может быть обусловлено наличием или отсутствием специфических рецепторов на мембранах данных органелл к тем или иным стероидным гормонам. В литературе встречаются предположения о наличии рецепторов к половым гормонам в лизосомах органов-мишеней.

* *
*

Стероидные гормоны являются веществами, тропными к лизосомам. Лизосомы не только участвуют в опосредовании биологической активности стероидов (лабилизации или стабилизации лизосомальных мембран), но и служат вектором их внутриклеточного транспорта. Лизосомы чувствительно реагируют при воздействии гормона на клетку, отвечая дозозависимым повышением проницаемости своей мембраны перед транслокацией к плазматической мембране, а затем (или одновременно) в околоядерную область.

На этапе первичного взаимодействия гормона с клеткой происходит миграция лизосом к месту его проникновения. Доставка протеинсвязанных молекул стероидов к ядерному компартменту осуществляется в клетках органов-мишеней высококомбинированной лизосомальной популяцией.

При воздействии гормонов образуются лизосомально-ядерные комплексы, которые не нарушаются при центрифугировании в градиенте плотности сахарозы с 1 мМ MgCl_2 (в контроле ядро легко высвобождается от частиц лизосомальных мембран).

Аналогичное явление может наблюдаться при введении гормонов в опытах *in vivo*.

МИТОХОНДРИИ

История изучения действия стероидных гормонов на митохондрии насчитывает почти полвека. Однако многое в молекулярной природе влияния этих соединений на структуру и функции субклеточных органелл до сих пор не известно, что объясняется, прежде всего, незнанием истинной концентрации гормона внутри клетки. Опыты *in vitro* говорят о весьма существенном влиянии стероидов на функции митохондрий. Но такое влияние происходит при относительно высоких концентрациях используемых препаратов (10^{-6} М и выше), что создает трудности при трактовке полученных *in vivo* результатов исследователями, «привыкшими» к малым значениям концентрации гормонов в крови. Вместе с тем представляется необходимой определенная прогностическая смелость для предположения, что концентрация («удельная») стероидных гормонов внутри клеток значительно выше, чем снаружи, за счет работы высокоспецифичных мембранных и цитоплазматических рецепторных образований, активно «закачивающих» гормоны в качестве веществ-регуляторов, что соответствует потребностям самих клеток, а не «конъюнктуре (весьма лабильной) внешнего (крови) рынка». В какой-то мере можно провести аналогию с работой К, Na-насоса.

Основные эффекты стероидных гормонов в отношении митохондрий: ингибирующее влияние на транспорт электронов в дыхательной цепи, разобщение окислительного фосфорилирования, изменение транспорта ионов, в том числе кальция, антирадикальное действие.

Особенно действенны в качестве ингибиторов дыхания гормоны фенольной природы — эстрогены. Высокий уровень восстановленности НАДН (регистрируемый флуориметрически) и отсутствие торможения при окислении сукцината позволяют сделать вывод, что стероиды действуют на пункт, расположенный в зоне НАДН-флавопротеид. Об этом же свидетельствует снятие блока дыхания витамином К₃, который шунтирует именно данный участок.

Разобщающий эффект вызывают эфиры эстрогенов и сами эстрогены в больших концентрациях. Поскольку эстрогены тормозят дыхание в концентрациях, более низких по сравнению с концентрациями, разобщающими окислительное фосфорилирование, можно утверждать, что их разобщающее действие существенно отличается от действия классических агентов (типа 2,4-динитрофенола). Следует отметить, что разобщающее влияние эстрогенов в клетке имеет, вероятно, меньшее значение, поскольку при окислении НАД-зависимых субстратов ингибирующий эффект превалирует, ввиду отмеченной выше концентрационной зависимости для проявления обоих эффектов (Ю. П. Денисов). В опытах *in vivo* тоже обнаруживается влияние вводимых гормонов на функции митохондрий. Так, эстрадиол, эстрон и эстриол ингибируют окисление глутамата в митохондриях как печени, так и матки. При этом не выявляется резкого различия в активности отдельных эстрогенов по критерию 50% ингибирования дыхания. Вместе с тем степень ингибирующего действия на функциональное

состояние митохондрий матки выше, чем на состояние митохондрий печени. В последних эстрогены, кроме ингибирования, вызывают разобщающий эффект. Поскольку матка является органом-мишенью для женских половых гормонов, а в печени происходит их метаболизм, наблюдаемые различия можно рассматривать как следствие действия в митохондриях печени продуктов трансформации эстрогенов (аналогично тому, что отмечено выше для опытов *in vitro*, в которых выявлены разобщающие свойства эфиров эстрогенов).

Влияние стероидных гормонов на параметры окислительного фосфорилирования связано с их гидрофобным взаимодействием с участками дыхательной цепи, на что указывает соответствие активности гормонов и коэффициента распределения липид-вода. В ряду эстрогенов активность в качестве ингибиторов дыхания определяется количеством гидроксильных группировок в кольце Д и свободным гидроксилем в положении — С₃ ароматического кольца А; у кортикостероидов активность зависит в большей мере от наличия группировок в положении — С₁₁ кольца С.

Стероидные гормоны существенно влияют на процесс перекисного окисления липидов мембран митохондрий. И здесь наиболее активными являются эстрогены, что связано с их фенольной природой. Эстрогены являются «истинными» антиоксидантами, т. е. приводят к непосредственной инактивации радикалов RO₂, ведущих цепи окисления. Ингибирующая активность возрастает с увеличением сопряжения в молекулах, ростом растворимости в липидах. Ингибирование наблюдается при различных видах инициации перекисного окисления (ионами железа и УФ-светом). Весьма интересно, что в последнем случае эстрогены, в отличие от классического антиоксиданта токоферола, не теряют антирадикальных свойств при воздействии УФ-радиации. Как оказалось, и кортикостероиды могут ингибировать перекисное окисление липидов, индуцируемое ионами железа. Но в этом случае антиокислительное действие связано с изменением гормонами проницаемости мембран для ионов-инициаторов и уменьшением вследствие этого их количества. Как и можно было ожидать, УФ-окисление липидов кортикостероидами не блокируется.

Эстрогены способны влиять на транспорт ионов кальция в митохондриях. В частности, ингибирование окисления НАД-зависимых субстратов приводит к подавлению активного транспорта кальция. Влияя на структуру мембран, они блокируют и пассивный транспорт. При этом активность гормонов снижается в ряду: диэтилстильбэстрол-этинилэстрадиол-эстрадиол-эстриол.

В экспериментах *in vitro* высокое связывание глюкокортикоидов с митохондриями печени наблюдали неоднократно. Интересно, что связывание происходило без предварительного образования комплекса стероида с цитозольным рецептором. После обработки митохондрий блокатором SH-групп связывание уменьшалось. Приведенные сведения указывают на возможность прямого взаимодействия стероидных гормонов с митохондриями (по крайней мере, глюкокортикоидов с митохондриями печени) и участия в этом взаимодействии белков, содержащих SH-группы.

Сопоставление параметров связывания глюкокортикоидов с органеллами и фракциями клеток

печени позволяет предположить, что связывающие участки на митохондриях, имеющие наивысшую константу ассоциации и достаточно большое число мест связывания на клетку, активно накапливают стероид и могут рассматриваться в качестве рецепторов.

Взаимодействие стероидов с рецепторами митохондриальной клетки-мишени, вероятно, регулирует энергетическое обеспечение физиологического ответа клетки на гормональный сигнал. Непосредственная стимуляция энергетического обмена в максимально короткие сроки без латентного периода, необходимого для синтеза ферментов, имеет существенное значение для формирования быстрой реакции клетки (например, при стрессовой ситуации).

Таким образом, вполне логичным, на наш взгляд, является предположение о существовании в печени на мембранах митохондрий рецепторов для глюкокортикоидов, обеспечивающих прямое взаимодействие гормонов с этими органеллами.

Предположение, что на митохондриях не может быть рецепторов для стероидных гормонов вследствие их прокариотического происхождения, представляется недостаточно убедительным, поскольку в них найдены белки явно прокариотического происхождения, в частности, рецепторы для тиреоидных гормонов.

Данные, полученные в нашей лаборатории М. В. Лещенко, указывают на наличие специфического связывания кортикостерона митохондриями печени интактных адrenaлэктомированных крыс. Анализ кривой специфического связывания в координатах Скотта позволил определить параметры этого процесса: константа ассоциации $(3,25 \pm 0,51) \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1}$, число мест связывания $(1,79 \pm 0,21) \cdot 10^{-13}$ моль на 1 мг белка. Адrenaлэктомию достоверно не изменяла сродство глюкокортикоида к митохондриям, но увеличивала связывающую емкость на 70%. В. П. Комиссаренко и соавт. установили, что глюкокортикоиды могут проникать в митохондрии, но только в комплексе с цитозольными рецепторами. Исследование локализации мест специфического связывания стероидов в митохондриях сердца крыс показало, что после инкубации митохондрий с ^3H -дексаметазон-рецепторными комплексами 75% активированных гормон-рецепторных комплексов обнаруживаются во фракции внутренних мембран и лишь незначительное количество включившегося глюкокортикоида — во фракции внешних мембран митохондрий.

* * *

В митохондриях клеток-мишеней обнаружены рецепторные структуры, специфически связывающие стероидные гормоны и реализующие их сигналы.

Регуляция стероидами окислительного фосфорилирования определяется особенностями химической структуры данных соединений и коэффициентом распределения липид — вода.

Эстрогены являются истинными антиоксидантами, что необходимо учитывать при объяснении механизмов универсальности регуляции процессов перекисного окисления липидов.

Установленный факт, что эстрогены и их метаболиты, благодаря своей фенольной природе, могут быть ингибиторами дыхания, имеет прямое

отношение к «узнаванию» БАВ клетками-мишенями.

Полученные экспериментальные данные о специфическом взаимодействии стероидов с мембранными образованиями клеток-мишеней существенно расширяют наши представления о механизмах реализации биологической активности стероидных гормонов и позволяет трансформировать классическую схему двухэтапного механизма с учетом взаимодействия гормонов на ряд внутриклеточных образований, представив ее в виде многоэтапного процесса.

* * *

РЕЗЮМЕ

Рассмотрение многоэтапного механизма внутриклеточного действия стероидных гормонов представляет возможность отметить те положения, которые, на наш взгляд, станут в ближайшее время предметом экспериментального и теоретического разрешения. В первую очередь, речь идет о связи между активностью генетического аппарата при действии стероидных гормонов и функционированием мембранных структур клетки (плазматической мембраны, мембран органелл). Высказанное нами в 1971 г. соображение о том, что между ними существует не только прямая, но и обратная связь, и что ядерно-мембранные взаимоотношения играют важную роль в реализации биологической активности стероидных гормонов, находят в последние годы подтверждение в ряде работ (Фролькис и др.), хотя и нуждаются по-прежнему в дальнейшей экспериментальной разработке. Далее, весьма важным аспектом является взаимоотношение между плазматической мембраной и мембранами внутриклеточных органелл в плане их участия в реализации действия гормонов. Если сейчас мы можем сделать определенные выводы относительно влияния стероидов на те или иные процессы в конкретных мембранных образованиях, то практически ничего не можем сказать, как функционирует при действии гормонов весь мембранный комплекс клетки и каков его вклад в эффект стероидных молекул. Следующим существенным моментом является изучение свойств и химической природы систем «узнавания» в плазматических мембранах, механизмов их функционирования, исследование участия отдельных группировок в «узнающих» системах и в молекулах самих стероидов для взаимодействия гормон-плазматическая мембрана. Естественно, необходимо знание того, как соотносятся плазматические мембраны и рецепторы цитозоля, как осуществляется процесс мембранно-рецепторного перехода.

ДИНАМИЧЕСКАЯ ТОПОГРАФИЯ «УЗНАЮЩИХ» СИСТЕМ. РАЗВИТИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ ТЕОРИИ ОРГАНОТРОПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Избирательная чувствительность к действию лекарственных веществ определяется специальными биоструктурами — «узнающими» системами, ответственными за распознавание химического сигнала, его трансформацию и возникновение биохимических изменений в клетке. Рецепторы — динамические структуры; число рецепторов одного

типа, соотношение между типами и подтипами рецепторов, сопряжение рецепторов с определяющими их функциональную активность ферментами, ионными каналами и другими регуляторными структурами в клетках могут меняться в процессе дифференцировки ткани, а также при изменении гормонального фона и воздействии различных физиологических и патологических факторов.

Патогенез многих, если не всех заболеваний внутренних органов, связан с *патологией рецепторов*. Поэтому клиницистам, применяющим фармакопрепараты с рецепторным механизмом действия, необходимо иметь исчерпывающую информацию об индивидуальных особенностях функционирования рецепторных образований, которые являются мишенями действия этих препаратов, и об их изменении в процессе лечения.

Современный уровень развития рецепторологии свидетельствует о том, что изучение рецепторов идет по следующему пути:

ФИЗИОЛОГИЯ → ФАРМАКОЛОГИЯ → БИОХИМИЯ → МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА → КОМПЬЮТЕРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ.

Именно во взаимосвязи этих современных медикобиологических наук заключается перспектива развития учения о рецепторах как методологической основы поиска принципиально новых лекарственных веществ:

1. Изучение физиологической активности низкомолекулярных веществ, например биогенных аминов, является основой создания классификации рецепторов, т. е. позволяет постулировать существование адренорецепторов, холинорецепторов и т. д.
2. Фармакологический анализ рецепторов с помощью агонистов и антагонистов необходим для определения подтипов рецепторов.
3. Использование радиолигандов, методов солюбилизации и очистки рецепторов позволяет оценить биохимическую природу рецепторов и на молекулярном уровне выявить их гетерогенность.
4. Использование методов рекомбинации ДНК генов рецепторов позволяет определить первичную аминокислотную последовательность подтипов рецепторов и получить представление об их пространственной топографии.
5. Определение оптимальной структуры лиганда на основании компьютерного анализа позволяет выявить комплементарность конформаций молекул-партнеров.

Для прогнозирования избирательного действия того или иного лекарственного вещества с рецепторами необходимо знать, какими группировками формируется силовое рецепторное поле и какими индивидуальными свойствами обладает фармакологический препарат.

Фармакологи постоянно возвращаются к выяснению тканевой чувствительности к лекарственным веществам. Действительно, остается биологической загадкой, от чего зависит избирательность действия того или иного препарата. Поэтому важным

аспектом современной фармакологии является изучение пути транспорта и распределения лекарственных веществ в организме. Целесообразно при изучении свойств любого препарата, рекомендуемого для клинической практики, особое внимание уделять его метаболической трансформации с выявлением ферментных систем, ответственных за модификацию их химических и биологических свойств. Знание специфики ферментативной реакции в каждом конкретном случае поможет направлению регулировать длительность действия и токсичность лекарственных веществ. Таким образом, фармакологи смогут в экспериментальных условиях прогнозировать широту терапевтического действия лекарства. При возникновении различных патологических процессов можно в качестве веществ-микрорегуляторов использовать метаболиты, образующиеся при биохимическом превращении лиганда.

Правильная оценка фармакокинетики чужеродного (или эндогенного) вещества приближает исследователя к пониманию трансформации определенного биологического сигнала, который несет это вещество. Особое внимание необходимо уделять «узнающим системам» (или «системам предпочтения»), которые находятся в компетентных клетках. При анализе результатов, полученных с помощью биохимических методов, необходимо проводить их логичную интеграцию, т. е. идти от молекулы к клетке, от клетки к органу, от органа к системе, от системы к организму.

Число участков «узнающих» лиганд на поверхности клетки, зависит от соотношения процессов биосинтеза рецепторов, их интернализации и деградации.

Если химическая природа «узнающих» систем клеток в определенной степени выяснена, то их динамическая подвижность в мембране и способность опосредовать транспорт лиганда внутрь клетки (рецепторопосредуемый эндоцитоз) остаются мало изученными. Однако есть все основания считать, что динамическая подвижность мембран, зависящая от липидного состава, есть та важнейшая детерминанта, которая обуславливает возможность реализации избирательного действия физиологически активного вещества. Кроме того, сам по себе эндоцитоз, опосредованный рецепторами, может быть в перспективе использован для направленного транспорта различных молекул к соответствующим мишеням. В данном случае ученые пытаются использовать те или иные природные лиганды в качестве векторов, обеспечивающих доставку биоактивных соединений точно к месту назначения. Можно надеяться, что вытекающие из транспортно-рецепторной теории предпосылки создания новых лекарственных веществ с высоким избирательным действием уже на уровне отдельных биоструктур внутри клетки — «волшебных пуль», о которых мечтал П. Эрлих, в скором времени найдут практическое выражение в совершенствовании фармакотерапии многих заболеваний.

ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТЕОРИИ ОРГАНОТРОПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Выяснение молекулярных механизмов органотропности лекарственных веществ и установление основных закономерностей транспортно-рецепторной теории позволили приступить к решению прикладных вопросов в области искусственного контрастирования и гормонотерапии.

На основании анализа физико-химических свойств контрастных средств, применяемых в сочетании с лучевой диагностикой, можно предложить их классификацию:

1. Рентгеноконтрастные средства (РКС).
2. Магнитнорезонансные контрастные средства (МРКС).
3. Ультразвуковые контрастные средства (УЗКС).

В то время как контрастные средства для МР-томографии и сонографии, в основном, находятся на стадии экспериментальных разработок, использование РКС в медицине имеет почти вековую историю. Это положение находит отражение в особенностях классификации каждой из данных групп контрастных средств.

В 1967 г. нами была предложена классификация РКС, в которой предусмотрено выделение двух групп препаратов: пропускающих рентгеновские лучи и задерживающие их. К первой группе были отнесены двуокись углерода, азот, кислород, ксенон и другие газы. Ко второй группе — йодсодержащие вещества и не содержащие йод. В последние десятилетия были получены в качестве РКС новые препараты, что потребовало внесения определенных уточнений и видоизменений в классификацию РКС.

Органические йодсодержащие РКС можно разделить на циклические и алифатические.

К циклическим йодсодержащим РКС относятся одно-, дву- и трийодзамещенные препараты. Из однойодзамещенных веществ в настоящее время для миелографии и лимфографии применяется этиотраст (аналог — миодил).

Двуйодзамещенные циклические РКС, за исключением пропилодона, уже изъяты из фармакопейного реестра многих стран.

Наибольшее распространение в настоящее время имеют трийодзамещенные ароматические РКС. Число лекарственных форм трийодзамещенных ароматических контрастных средств около тысячи, но химических соединений, лежащих в их основе, на два порядка меньше.

Мы считаем целесообразным разделить все трийодорганические РКС на ионные и неионные.

1. Ионные трийодзамещенные РКС.
 - 1.1. Мономерные ароматические соединения.
 - 1.1.1. Производные бензойной кислоты.
 - 1.1.2. Производные трийодсодержащих алкановых кислот.
 - 1.2. Димерные ароматические соединения.
 - 1.2.1. Производные ариламиноацетиламидобензойной кислоты.
 - 1.2.2. Полиметиленовые димеры трийодбензойной кислоты.

В качестве катионов всех перечисленных ионных РКС, используемых в виде солей, применяют следующие соединения:

Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} и метилглюкамин.

2. Неионные трийодсодержащие РКС.
 - 2.1. Мономерные ароматические соединения.
 - 2.2. Димерные ароматические соединения.
3. Алифатические йодсодержащие РКС.
 - 3.1. Монойодстеараты.
 - 3.2. Дийодстеараты.
 - 3.3. Йодированные растительные масла.

Важнейшим достижением последних лет является создание низкоосмотических РКС, осмолярность которых приближается к осмолярности крови. Среди этих препаратов можно выделить оригинальный ионный димерный препарат гексабрикс (Byk Gulden, ФРГ), а также неионные препараты: омнипак (Nycomed, Норвегия), ультравист (Schering AG, ФРГ), иопамиро (Bracco, Италия), мелитраст (Dr. F. Köhler, ФРГ). Названные препараты по сравнению со «старыми» (ионными) РКС имеют значительно более низкую токсичность (она в 3—5 раз ниже), в меньшей степени влияют на функции нервной, сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем и при этом позволяют получать более контрастные рентгенограммы. В настоящее время на нашей кафедре ведутся работы над созданием первого отечественного неионного РКС иогексола. Мы надеемся, что после ее завершения клиницисты получат гарантии как в отношении безопасности, так и в отношении эффективности диагностики при проведении ангиографии, урографии и миелографии.

Исходя из селективности пути элиминации РКС из организма, мы считаем возможным их разделять на гепатотропные или холецистографические (билигност, билимин, эндобил, холевид и др.) и нефротропные или ангиоурографические (триомбраст, омнипак, перитраст, ультравист и др.). Мы предположили теоретически, а потом доказали экспериментально, что органотропность РКС можно изменять как с помощью регуляции функциональной активности органов выделения, так и путем изменения лекарственной формы РКС.

Для повышения гепатотропности РКС был использован классический индуктор биосинтетических процессов фенобарбитала, который способен усиливать билиарную элиминацию ксенобиотиков.

Эксперименты на модели «фенобарбиталовой индукции» показали, что ксенобиотик значительно стимулирует холерез. Следствием отмеченного эффекта фенобарбитала является сильное изменение фармакокинетики гепатотропного вещества — билигноста, что и предопределяет несомненную клиническую значимость предварительного введения фенобарбитала при проведении холецистографии. Полученные данные использованы в клинике; фенобарбитал, действительно ускорял выведение билигноста из организма при холецистографии, не изменяя его рентгеноспецифичность.

Изменения органотропности РКС обнаружены также при их инкапсуляции в липосомы (О. А. Розенберг). Инкапсуляция триомбраста существенно изменяла его фармакокинетику у животных. Если обычный триомбраст накапливается преимущественно в почках и быстро покидает кровяное русло,

то его липосомная форма (липотраст) имеет выраженную тропность к селезенке и печени.

Таким образом, липидные везикулы являются «удобными» носителями для РКС, позволяющими направленно изменять их органотропность. Несомненно, что продолжение работ в этом направлении может привести к созданию нового класса РКС, который существенно расширит диагностические возможности лучевой диагностики.

Вторым направлением работы коллектива кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии медико-биологического факультета РГМУ является использование в клинике сведений о системах «узнавания» стероидных гормонов.

Совместно с сотрудниками кафедры акушерства и гинекологии РГМУ, которой руководит академик РАМН Г. М. Савельева, нами были изучены «узнающие» системы для эстрадиола в тканях матки в норме и при различных гиперпластических процессах (железисто-фиброзные и железисто-кистозные полипы эндометрия, высоко-, умеренно- и низкодифференцированные аденокарциномы и предрак эндометрия, фибромиомы). Показано, что гиперплазия характеризуется изменением рецепторного связывания эстрадиола в миометрии и эндометрии человека. В ходе работы была подтверждена наша гипотеза об участии плазмомембранного звена рецепторного аппарата для эстрадиола тка-

ней матки при гормонозависимом опухолевом росте. Получены данные об участии липидного матрикса плазмомембранных рецепторов эстрадиола в процессах «узнавания» гормона для реализации его функциональной активности и возникновения (провокации) патологических состояний; предложено использование антиэстрогенного препарата тамоксифена при миоме. Спектр биохимических параметров (в т. ч. рецепторный статус) образцов разных типов гиперплазий позволил нам отнести пациенток с железисто-кистозными полипами эндометрия в постменопаузе к группе высокого риска развития рака эндометрия.

Проведена совместная работа с лабораторией Н. Н. Суворова (ЦХЛС—ВНИХФИ) по изучению новых стероид-рецепторактивных веществ. Исследование функциональной активности ряда производных диарилндолилэтилена с использованием клинического материала выявило четыре наиболее перспективных соединения, обладающих антиэстрогенной и противоопухолевой активностью (АС № 1619677).

Анализ многолетних наблюдений позволил нам выдвинуть гипотезу о существовании эндогенных регуляторов рецепторов стероидных гормонов и, возможно, эндогенных антигормонов.

Предлагаем следующую классификацию гормональных стероидных препаратов и антигормональных средств.

КЛАССИФИКАЦИЯ СТЕРОИДЭРГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

ЭСТРОГЕНЫ

Препараты природных эстрогенов

Эстрон

Эстрадиол дипропионат

Полусинтетические препараты

Этинилэстрадиол

Синтетические соединения

Синэстрол

Гексэстрол

Диэтилстильбэстрол

Местранол

ГЕСТАГЕНЫ

Препараты природных соединений

Прогестерон

Полусинтетические соединения

Прегнин

17-оксипрогестерона капронат

Синтетические препараты

Медроксипрогестерон

Норэтинодрел

ГЛЮКОКОРТИКОИДЫ

Препараты природных глюкокортикоидов

Кортизона ацетат

Гидрокортизон

Гидрокортизона гемисукцинат

Синтетические препараты

Преднизолон

Метилпреднизолон

Дексаметазон

Триамцинолон (кенакорт, фторокорт)

Бетаметазон

Будезонид

АНТИЭСТРОГЕНЫ

Тамоксифен

Кломифенцитрат

Нафоксидин

LY 117018

Нитромифен

LY 139481

АНТИГЕСТАГЕНЫ

Мефепристон (RU 486)

Лилопристон

Онапристон

АНТИГЛЮКОКОРТИКОИДЫ

В условиях *in vitro*:

11-Дезоксикортикостерон

Прогестерон

Кортексолон

Дексаметазон-21-мезилат

В условиях *in vivo*:

Мефепристон (RU 486)

АНДРОГЕНЫ

Препараты природных андрогенов

Тестостерона пропионат

Синтетические препараты

Метилтестостерон

Тестобромлецит

Тестэнат

АНТИАНДРОГЕНЫ

Природные антиандрогены

Эстрадиол

Эстриол

Прогестерон

Андростендион

Дезоксикортикостерон

Синтетические антиандрогены

Флютамид

Ципротерона ацетат

Хлормадинона ацетат

Спиронолактон

Топтерон

Пропилмesterolон

В данной классификации суммированы сведения о наиболее распространенных соединениях, избирательно влияющих на активность рецепторов стероидных гормонов. Всего же, по данным «Dictionary of Steroids», в настоящее время насчитывается более, чем 18 000 стероидов с известной структурой.

* *
*

Подводя итог многолетним исследованиям молекулярных механизмов избирательности действия лекарственных веществ на примере гормональных препаратов стероидной структуры и йодсодержащих органических рентгеноконтрастных средств (ксенобиотиков) можно отметить, что эффективность научной работы в этом направлении во многом определяется как методологией фармакологического эксперимента, так и прогрессом в области физико-химических методов исследования. В предлагаемых материалах мы постарались проиллюстрировать важность фундаментальных исследований для решения практических задач, стоящих перед фармакологией.

Если говорить о будущем, то есть все основания подчеркнуть перспективность исследований динамических и пластических свойств рецепторного аппарата клетки в аспекте его онтогенеза и филогенеза. Без выяснения механизмов развития и становления «узнающих» систем клетки невозможно прогнозировать их изменение при проведении фармакотерапии. Работая в этом направлении, мы будем приближаться к выяснению природы индивидуальной чувствительности к лекарственным веществам, что будет способствовать созданию высокоэффективных фармакологических препаратов и разработке научно обоснованных способов их практического применения.

* *
*

Жизнь проходит слишком быстро. Переосмысливая прошлое, стараешься вычленить главное. Огромное удовлетворение принесли проведенные нами организационные мероприятия: создание медико-биологического факультета (1963 г.), кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии (1968 г.), отдела по изучению молекулярных механизмов наркоманий (1972 г.), лаборатории фармакогенетики (1973 г.), лаборатории молекулярной фармакологии (1988 г.), лаборатории биотрансформации лекарственных средств (1992 г.).

Создание перечисленных учебных и научных подразделений было бы немыслимо без неоценимой помощи моих соратников и учеников — профессора Р. Д. Сейфуллы, члена-корреспондента РАМН профессора С. Б. Середенина, профессора Н. Л. Шимановского, профессора А. Н. Саприна.

Большое удовлетворение принесла работа над Государственной программой «Создание новых лекарственных средств методами химического и биологического синтеза», в основу которой положены пять направлений нашей деятельности, а именно:

1. Разработка лекарственных средств, регулирующих иммунные процессы организма. Фундаментальные и прикладные аспекты фармакологической регуляции иммунитета.
2. Изыскание новых лекарственных средств на основе рецепторных механизмов их действия.
3. Поиск и создание средств, влияющих на процессы гемостаза.
4. Компьютерное конструирование новых лекарственных средств.
5. Фармакокинетические и биофармацевтические принципы совершенствования лекарственных препаратов.

Долгое время о фармакологии говорили как о «сухой» науке, в которой отсутствует романтика. Я не могу с этим согласиться, так как более интересной и нужной людям науки, чем фармакология, трудно себе представить; просто своему Делу нужно быть преданным.

ОСНОВНЫЕ РАБОТЫ П. В. СЕРГЕЕВА

1. Рентгеноконтрастные средства, М., изд-во «Медицина», 1971 г.
2. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов (соавт. Р. Д. Сейфулла, А. И. Майский), М., изд-во «Наука», 1971 г.
3. Введение в иммунофармакологию (соавт. И. Е. Ковалев), Казань, изд-во Казанского университета, 1972 г.
4. Биологические мембраны, (ред.), М., изд-во «Медицина», 1973 г.
5. Физико-химические механизмы и гормональная регуляция свертывания крови (соавт. Р. Д. Сейфулла, А. И. Майский), М., изд-во «Наука», 1974 г.
6. Витамин Д (соавт. Ш. С. Тажибаев, Р. Д. Сейфулла), А.-А., изд-во «Наука», 1974 г.
7. Краткий курс молекулярной фармакологии, (ред.), М., изд-во И ММИ, 1975 г.
8. Радиационная фармакология (соавт. П. П. Саксонов, В. С. Шашков), М., изд-во «Медицина», 1976 г.
9. Рентгеноконтрастные средства (соавт. Н. К. Свиридов, Н. Л. Шимановский), М., изд-во «Медицина», 1980 г.
10. Биохимическая фармакология, (ред.), М., изд-во «Высшая школа», 1982 г.
11. Стероидные гормоны, М., изд-во «Наука», 1984 г.
12. Рецепторы (соавт. Н. Л. Шимановский), М., изд-во «Медицина», 1987 г.