

20. Munn N.A., Lum L.G. *Ibid.*, 1989, v. 52, № 3, p. 376—385.
21. Mathews P.M., Froelich C.J., Sibbit W.L., Bankhurst A.D. *J. Immunol.*, 1983, v. 130, p. 1658—1662.
22. Williamson S.A., Knight R.A., Lightman S.I., Hobbs J.R. *Immunology*, 1989, v. 65, № 1, p. 47—51.
23. Захарова Л.А., Белевская Р.Г., Михайлова А.А. *Бюл. экспер. биологии и медицины*, 1988, т. 105, № 1, с. 50.
24. Zakharova L.A., Belevskaya R.G., Yanovskii O.G. *Biomed. Sci.*, 1990, v. 1, № 2, p. 139—143.
25. Brown S. L., van Epps D. E. *J. Immunol.*, 1985, v. 134, p. 3384—3390.
26. Gray D.A., Erasmus T. *Am. J. Physiol.*, 1988, v. 120, p. 231.
27. Baerwolff M., Bie P. *Ibid.*, 1988, v. 255, № 6, Pt. 2, p. R940—R945.
28. Артемьев И.Ю., Даринский Ю.А., Сологуб М.И., Ложкина Т.К. *Бюл. экспер. биологии и медицины*, 1991, т. 111, № 2, с. 115—116.
29. Gick G.G., Zeytin F.N., Brazean P. e. a. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1984, v. 81, № 5, p. 1553.
30. Brain S.D., Williams T.J., Tippins J.R. e. a. *Nature*, 1985, v. 313, № 3, p. 54—56.
31. Игнатъева И.Р., Чернух А.М., Гомазков О.А., Горизонтова М.П. *Патол. физиол. и экспер. терапия*, 1982, т. 2, с. 91.
32. Cernases P., Mathier E., Crawhall J.C., Levy M. *Am. J. Physiol.*, 1988, v. 255, p. R929—R935.
33. Kurtz A., Bruna R.D., Pfeilschifter J. e. a. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1986, v. 83, p. 4769—4773.
34. Струкова С.М., Киреева Е.Г., Спирина С.М. и др. *Биохимия*, 1989, т. 306, № 1, p. 229—232.
35. Dugina T.N., Strukova S.M., Khalgatyan C.V., Ashmarin I.P. *Byull. Eksperim. Biologii i Med.*, 1992, v. 114, № 9, p. 260.
36. Cawtrophe D., Higgins A., Lukowiak K. *Can. J. Physiol. and Pharmacol.*, 1989, v. 67, № 5, p. 89.
37. Bondesson L., Norolind K., Liden S. e. a. *Acta Physiol. Scand.*, 1991, p. 477—481.
38. Гладышева Т.Б., Конрадов А.А., Лебедев К.А. *Биофизика*, 1989, т. 34, № 5, p. 833—834.
39. Safrin J., Tsuchitani T., Zigelboim J., Bonavida B. In: *Ultra Low Doses*. Ed. C. Dautrempuich, London, Washington, DC, Taylor & Francis, 1991, p. 27.
40. Klarinet J.P., Kern D.E., Dower S.K. e. a. *J. Immunol.*, 1989, v. 142, № 7, p. 2187—2191.
41. Reibman J., Meixler S., Lee T.C. e. a. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1991, v. 88, № 15, p. 6805—6809.
42. Пальмина Н.П., Богданова Н.Г., Мальцева Е.Л., Пыльзарь Е.И. *Биологические мембраны*, 1992, т. 9, № 2, с. 810—820.
43. Золотая Р.Д., Миненкова У.А., Евсеев Л.С. *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 1990, т. 2, с. 302—308.
44. Бурлакова Е.Б., Терехова С.Ф., Греченко Т.Н., Соколов Е.Н. *Биофизика*, 1986, т. 31, № 5, с. 921.
45. Лелекова Т.В., Романовский П.Я., Александров П.Н., Ашмарин И.П. *Бюл. экспер. биологии и медицины*, 1989, т. 108, № 7, с. 8—10.
46. Lelekova T.V., Sanzhieva L.Ts., Ashmarin I.P. *Biomed. Sci.*, 1990, v. 1, № 1, p. 99.
47. Lelekova T.V. *Reports of 2nd International Congress on Ultra Low Doses*. Bordeaux, 1-2 Oct., 1993, p. 35.
48. Bogdanova N.G., Palmina N.P. *Reports of Congress «Magnetic resonance in chemistry and biology»*, Suzdal's, 1998, P-51a, p. 152.
49. Hasegawa J., Hirai S., Kotake H. e. a. *Endocrinology*, 1988, v. 123, p. 2805—2811.
50. Kaissling K.-E. In: *Handbook of sensory Physiology*. 1971, Bd. IV, P. I, Berlin. S. 351—431.

УДК 577.15/.17 + 541.12.035.4

Общие закономерности и возможные механизмы действия биологически активных веществ в сверхмалых дозах

С. В. Зайцев, А. М. Ефанов, Л. А. Сазанов

СЕРГЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ ЗАЙЦЕВ — доктор химических наук, профессор Института физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ и сотрудник департамента молекулярной медицины Каролинского медицинского университета. Область научных интересов: рецепторно-ферментные системы, механизмы регуляции клеточной активности.

Стокгольм, 171 77, Швеция (Department of Molecular Medicine, Karolinska Institutet, 17177 Stockholm, Sweden). E-mail Sergei.Zaitsev@enk.ks.se и Sergei@Zaitsev.genebee.msu.su

АЛЕКСАНДР МИХАЙЛОВИЧ ЕФАНОВ — кандидат химических наук, научный сотрудник Института физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ и сотрудник департамента молекулярной медицины Каролинского медицинского университета. Область научных интересов: механизмы регуляции клеточной активности.

ЛЕОНИД АЛЕКСЕЕВИЧ САЗАНОВ — кандидат физико-математических наук, сотрудник лаборатории молекулярной биологии MRC (MRC Laboratory of Molecular Biology, Hills road, Cambridge CB2 2QH, U.K.). Область научных интересов: структура и функция мембранных белков.

Парадоксальные эффекты воздействия сверхмалых доз (СМД, 10^{-18} — 10^{-14} М) биологически активных соединений привлекают значительный интерес исследователей в области биохимии, физиологии, фармакологии. Биоэффекты под действием СМД наблюдаются среди самых разных групп веществ — гормонов и регуляторных пептидов (в том числе опиоидных), некоторых веществ непептидной природы. Неожидан-

ным в данном случае оказался как сам факт проявления эффектов СМД (действующие концентрации на 4—6 порядков ниже минимальных наблюдаемых констант диссоциации лиганд-рецепторных комплексов $K_D = 10^{-10}$ — 10^{-11} М [1—4] и потому не должны были бы давать отклик), также необычны закономерности, характерные для действия СМД (полимодальная дозовая зависимость и др.).

Отметим, что в качестве сверхмалых концентраций мы рассматриваем интервал 10^{-18} — 10^{-14} М с учетом того, что действие концентраций более 10^{-13} М еще можно как-то объяснить на основе законов традиционной лиганд-рецепторной кинетики, а при концентрациях менее 10^{-19} М в экспериментальном объеме (порядка миллилитра) может не быть ни одной молекулы действующего вещества.

Несмотря на наличие достаточного количества экспериментальных данных, число концептуальных работ либо гипотез о механизмах и сущности действия СМД относительно ограничено [см. работы 5—8]. Цель настоящего обзора — дать анализ современного состояния данного вопроса с учетом появившихся за последнее время публикаций и результатов работ, полученных с участием авторов статьи.

Общие закономерности действия сверхмалых доз

Характерной особенностью действия веществ в сверхмалых дозах является то, что несмотря на различную природу активных соединений и объектов их воздействия, наблюдаются определенные общие закономерности эффектов СМД. Из них к наиболее важным, по нашему мнению, относятся сложный характер дозовой зависимости и действие сверхмалой концентрации на фоне большей концентрации того же вещества, присутствующего в объекте воздействия эндогенно.

Почти во всех проведенных экспериментах зависимость «доза-эффект» обнаруживает полимодальный характер (с одним или несколькими максимумами) в интервале СМД. Встречающиеся в публикациях по эффектам СМД дозовые зависимости можно подразделить на четыре основных вида [7]:

- 1) колоколообразного типа;
- 2) с противоположными эффектами при низких и высоких концентрациях;
- 3) с несколькими максимумами-минимумами;
- 4) с насыщением.

Чаще всего в экспериментах отмечаются первые три указанные зависимости. Например, зависимости первого типа при максимальном физиологическом ответе в интервале концентраций 10^{-17} — 10^{-14} М наблюдались в целом ряде экспериментов. Это — модуляция энкефалинами активности человеческих естественных киллеров (NK) [9]; действие фактора активации тромбоцитов на производство фактора некроза опухоли моноцитами человека [10]; хемотаксис нейтрофилов человека, вызванный фактором роста опухоли TGF- β 1 [11]; модулирование респираторного взрыва нейтрофилов человека и макрофагов мыши опиоидными пептидами [12—14, 15, 16]; влияние антиоксидантов на электрическую активность изолированного нейрона виноградной улитки [17]; действие адриамицина на активность АТФ-азы [18].

Второй тип дозовой зависимости — с противоположными эффектами при малых и больших концентрациях наблюдался в экспериментах с опиоидным пептидом β -эндорфином; в частности, при действии β -эндорфина на активность человеческих NK-клеток [19] и на антителообразование у мышей [20, 21] и человека [22], а также при изучении влияния морфина и эторфина на потенциал действия нейронов мыши [23, 24].

Тип зависимости «доза-эффект» с несколькими максимумами был зафиксирован во многих экспериментах с СМД: это ингибирование опиоидными пептидами производства хемотаксического фактора Т-лимфоцитами [25], действие пероксидов на рост клеток табака [26], влияние Т-активина и левамизола на розеткообразование лимфоцитов [27], модулирование секреции гормона роста и уровня пролактина релизинг-фактором гормона роста [28], влияние опиоидных пептидов на антителопродукцию лимфоцитов [29], действие мет-энкефалина на бласттрансформацию спленцитов мышей [30].

Весьма редко в экспериментах с СМД встречается зависимость с насыщением при возрастающей концентрации действующего вещества, которая обычно наблюдается при экспериментах с большими («нормальными») дозами. Подобные зависимости (когда эффект появляется при СМД, но сохраняется при больших концентрациях) были получены при изучении влияния феромона на половую дифференциацию водоросли *Volvox carteri* [31]; при модуляции связывания мускариновых рецепторов фосфорорганическим соединением параоксоном [32]; при действии человеческого гормона роста на мембраны эритроцитов [33], на опухольевые клетки Эрлиха и лейкозные клетки L-12110 [34], при стимулирующем влиянии 27-аминокислотного фрагмента, активирующего аденилатциклазу гипофиза полипептида, на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} и секрецию инсулина в β -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы крысы [35], а также в наших экспериментах по изучению действия мет-энкефалина на пролиферацию лимфоцитов из лимфатических узлов мыши [36].

Часть других упоминаемых в [5, 6] необычных закономерностей действия СМД связана с такими характерными особенностями дозовой зависимости, как наличие максимума при сверхмалых концентрациях действующего вещества и наличие «мертвой зоны» (т.е. отсутствие эффекта) при концентрациях выше СМД. «Мертвая зона» обычно лежит в интервале 10^{-12} — 10^{-8} М. При этом в больших концентрациях вещество либо вообще не оказывает никакого воздействия [10—12, 14, 17, 30], либо вызывает эффект того же [25, 27, 29] или противоположного знака [19, 21, 26], что и при действии СМД.

Можно предположить, что действие веществ в СМД опосредуется специфическими (рецепторными) взаимодействиями, а если эффект проявляется при больших концентрациях, то он определяется либо рецепторами иного типа, чем в случае СМД, либо неспецифическими реакциями (окислительно-восстановительными и др.).

Другая необычная особенность действия сверхмалых доз состоит в том, что значительный эффект СМД может проявляться при наличии в объекте эксперимента большой эндогенной концентрации того же вещества. Так, опиоиды модулируют иммунную активность различных клеток в концентрациях 10^{-18} — 10^{-14} М, хотя те же опиоидные пептиды присутствуют в клетках эндогенно в концентрациях 10^{-10} — 10^{-12} М [12, 25]. Как известно, в соответствии с законами равновесной кинетики добавление малой концентрации вещества к уже имеющейся в системе большой концентрации того же вещества в обычных условиях не приводит к заметным эффектам.

Возможно, что эффекты СМД естественным образом связаны с адаптационными явлениями, поскольку адаптация приводит к тому, что клетка может реагировать не на самую действующую концентрацию вещества, а на изменение концентрации, в том числе на введение малых и сверхмалых доз. В наших работах [7, 8, 15] была предложена интерпретация эффектов СМД на основе адаптационного механизма (см. ниже).

Примеры эффектов СМД биологически активных соединений

Большинство веществ, оказывающих действие в сверхмалых концентрациях, выполняет регуляторные функции в организме. Они могут быть условно разделены на три основные группы: вещества непептидной природы, полипептидные гормоны и факторы роста, опиоидные пептиды. Краткая характеристика действия этих групп веществ в интервале СМД приведена в таблице.

Гипотезы о природе действия сверхмалых доз

Общепринятой точки зрения на механизмы и процессы, лежащие в основе эффектов СМД, пока нет. В настоящее время имеется ряд гипотез о природе отдельных закономерностей, перечисленных выше.

Само явление — действие столь низких концентраций (на 4—6 порядков ниже известных K_D) пытаются объяснить с помощью трех гипотез, в основе которых лежат представления о концентрировании действующего вещества, о наличии исключительно высокоэффективных систем усиления сигнала, о формировании ответа в условиях неравновесного связывания лиганда с рецептором.

Согласно первой гипотезе эффект СМД обусловлен концентрированием действующего вещества-эффектора в определенных тканях и клетках [31, 37]. В результате концентрация вещества в клетках, на которые

Таблица

Эффекты биологически активных веществ в сверхмалых дозах

С о к р а щ е н и я : TGF- β 1 — фактор роста опухолей; TNF — фактор некроза опухолей; TRH — тиротропин, высвобождающий гормон; GHRF — фактор высвобождения гормона роста; PACAP — полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза; LCF — хемотаксический фактор лимфоцитов; DAMEA — мет-энкефалинамид; PAF — фактор активации тромбоцитов; NK — естественные киллеры; C_L — минимальная концентрация вещества, при которой проявляется эффект

Действующее соединение	Регистрируемый ответ	Объект воздействия	C_L, M	Ссылка
Полипептидные гормоны и факторы роста				
Интерлейкин-1	Продукция интерлейкина-2	T-лимфоциты	10^{-14}	[42]
TGF- β 1	Хемотаксис	Нейтрофилы	10^{-15}	[11]
T-Активин	Фагоцитоз	Нейтрофилы	10^{-15}	[27]
TRH	Сократимость лимфатических сосудов	Лимфатические сосуды крысы	10^{-17}	[46]
Феромон	Половая дифференциация	Водоросли	10^{-17}	[31]
Гормон роста	Флуоресценция	Мембраны эритроцитов	10^{-15}	[33]
GHRF	Выделение гормона роста	Крысы	10^{-15}	[28]
PACAP27	Внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , секреция инсулина	Островки Лангерганса	10^{-15}	[35]
Опиоидные пептиды				
β -Эндорфин	Антителообразование, NK- активность	Клетки крови человека	10^{-18}	[19,22]
β -Эндорфин	Антителообразование	Мыши	10^{-17}	[20,21]
Мет- и лей-энкефалины	NK-активность	NK-клетки	10^{-17}	[9]
α - и β -Эндорфин	Антителообразование	Лимфоциты человека	10^{-15}	[29]
Мет-энкефалин	То же	То же	10^{-17}	[29]
β -Эндорфин, мет-энкефалин	Продукция LCF	T-Лимфоциты	10^{-14}	[25]
Мет-энкефалин	Пролиферация лимфоцитов	Лимфоциты лимфоузлов мыши	10^{-14}	[36]
Мет-энкефалин	Бласттрансформация	Спленоциты	10^{-14}	[30]
Динорфин, β -эндорфин, морфин	Респираторный взрыв	Нейтрофилы	10^{-14}	[14]
DAMEA	То же	То же	10^{-14}	[12,13]
DAMEA	То же	Макрофаги мыши	10^{-15}	[15]
Вещества непептидной природы				
Органические пероксиды	Рост биомассы	Табак	10^{-17}	[26]
Антиоксиданты	Электрическая активность нейронов	Нейрон улитки	10^{-17}	[17]
Нитрозометилмочевина	Хромосомные аберрации	Опухоль Эрлиха	10^{-17}	[34]
PAF	Производство TNF	Моноциты человека	10^{-16}	[10]
Адриамицин	Активность АТФ-азы	Синаптосомальные мембраны	10^{-19}	[18]
Параоксон	Связывание рецептора	Мускариновые рецепторы	10^{-15}	[32]
Морфин	Электрическая активность нейронов	Нейроны мыши	10^{-15}	[23]
Эторфин	То же	То же	10^{-15}	[24]

направлено его действие, может оказаться на 2—3 порядка выше исходной концентрации [31].

В рамках второй гипотезы высокоэффективная система усиления сигнала формируется за счет протекания каскадных процессов, при этом на каждом этапе на его «выходе» активных молекул больше, чем на «входе» (эти процессы анализируются, в частности, в работах [3, 4, 38]). Протекание каскадных реакций приводит к известному явлению «рецепторного резерва» (избытка связывающих мест) [3, 4, 31, 39, 40]. Существование «рецепторного резерва» означает, что для достижения ответа на действие эффектора достаточно, чтобы он связался лишь с незначительной частью рецепторов от общего их числа на клетке. Эффективная концентрация действующего вещества за счет этого явления может быть на один—два порядка ниже константы диссоциации K_D (для данного лиганд-рецепторного комплекса). В частности, в работе [41] предполагается, что при связывании лиганда (гормона) с рецептором на поверхности клетки образуется вторичный мессенджер А (промежуточные сигнальные молекулы), который в свою очередь связывается со своим внутриклеточным рецептором В, что и приводит к появлению биоэффекта. В этом случае концентрация, при которой наблюдается половинный биоэффект, или эффективная константа диссоциации $K_{эфф}$, будет определяться выражением:

$$K_{эфф} = \frac{KK_D}{K + aR_i}$$

где K — константа равновесия процесса связывания А с В; a — коэффициент пропорциональности между количеством связавшегося лиганда и количеством образовавшегося мессенджера А; R_i — общее количество рецепторов на клетке.

Как можно видеть, в случае высокоэффективной системы усиления сигнала (a — велико) величина aR_i может оказаться значительно больше количества А, и следовательно, константа $K_{эфф}$ может быть гораздо ниже K_D .

Другой феномен, сопутствующий процессам усиления сигнала, [3, 4, 38] — это увеличение чувствительности лиганда к рецептору за счет кооперативности связывания либо сверхчувствительности «нулевого порядка» (имеющей место в циклических реакциях с насыщением по субстрату). Эти факторы приводят, однако, не к уменьшению эффективной концентрации, а к сужению интервала концентраций, на котором происходит достижение максимального биоэффекта. Следует отметить, что усиление сигнала возможно не только путем изменения концентрации вторичных мессенджеров, как описано выше, но также и за счет активации синтеза белков, участвующих в передаче сигнала [3, 4, 11].

Гипотеза о природе действия веществ в СМД, изложенная в работе Е. Б. Бурлаковой с соавт. [6], предполагает, что для достижения биоэффекта достаточно того, чтобы клеточной мишени достигли самые «быстрые» молекулы действующего вещества из общего их распределения, а не все молекулы. По мнению некоторых исследователей, при действии сверхмалых доз имеет место необратимое связывание («tight-bind») [32, 42]. В обеих гипотезах предполагается, что основной вклад в эффект дают неравновесные процессы, вследствие чего действующая концентрация может быть значительно ниже равновесной константы диссоциации K_D .

Отмеченные гипотезы в принципе позволяют объяснить возникновение эффекта СМД, особенно в случае совместного действия двух и более факторов, когда, например, в клетке реализуется одновременно несколько систем усиления сигнала (как предполагалось в работе [31]). Однако с помощью этих механизмов нельзя объяснить основные закономерности действия СМД, здесь приходится привлекать другие гипотезы.

Бифазный или полимодальный характер дозовой зависимости СМД-эффектов в основном объясняют наличием субпопуляций рецепторов, которые имеют различную аффинность к действующему веществу, что и приводит к эффектам разного знака [19, 25, 43], либо наличием аналогичных субпопуляций клеток [9, 10, 25]. Возможно также появление неспецифического эффекта (т.е. не опосредованного специфическими рецепторами) с ростом концентрации действующего вещества [18].

Альтернативная гипотеза — возникновение биоэффекта при связывании лиганда только со строго определенным количеством (ни больше, ни меньше) рецепторов от общего их числа на клетке. В этом случае дозовый эффект будет снижаться в областях по обе стороны от оптимальной концентрации действующего вещества [9]. Однако представляется сложным обосновать это предположение с физиологической точки зрения.

Наличие «мертвых зон» на дозовой зависимости можно объяснить также существованием субпопуляций рецепторов, так как при концентрациях, соответствующих «мертвой зоне», может происходить взаимная компенсация противоположных эффектов, которые проявляются при других концентрациях [9].

Наблюдаемую во многих случаях неустойчивость биоэффекта по величине и знаку объясняют тем, что при сверхнизких концентрациях число молекул N вещества в образце мало (10^2 — 10^6), вследствие чего становятся заметными флуктуации числа молекул (пропорциональные $1/\sqrt{N}$) около клеточных мишеней [9].

Объяснение эффектов СМД на основе адаптационного механизма

Выше отмечалось, что в эффектах СМД значительную роль могут играть адаптационные явления. Возможная роль адаптации в данном явлении указывалась и в работах Е. Б. Бурлаковой с соавт. [5, 6]. Нами предложена концепция адаптационного механизма действия СМД [7, 8, 15], которая позволяет объяснить все основные закономерности эффектов СМД с единой точки зрения.

При выработке этой концепции мы исходили из следующих предпосылок.

Как уже отмечалось выше, в эксперименте «доза-эффект» часто сверхмалая концентрация вещества действует на фоне имеющейся в организме значительно большей эндогенной концентрации того же вещества. Аналогичное явление наблюдается в бактериальном хемотаксисе: бактерии реагируют не на величину концентрации аттрактанта или репеллента, а на ее изменение, градиент концентрации. Механизмы такого адаптационного явления интенсивно изучались Кошландом с сотр. [44].

Эти исследователи предложили и экспериментально обосновали модель адаптации и отклика клеток на изменение концентрации аттрактанта (репеллента), основанную на предположении о наличии быстрой и

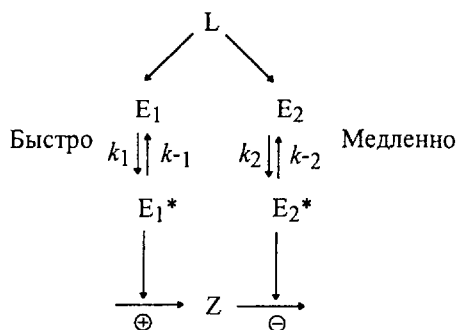


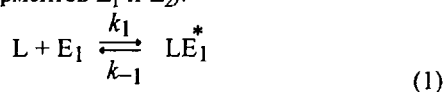
Схема адапционной модели действия сверхмалых доз.

L — действующее соединение, Z — эффект, E* и E — активный и неактивный факторы

медленной реакций с противоположным вкладом в эффект. Эта система обладает высокой чувствительностью — клетка заметно реагирует на 0,1%-изменение заселенности рецепторов, что соответствует связыванию лиганда с одним-единственным рецептором [45]. Описанное явление иногда называют «клеточной памятью», поскольку клетка как бы помнит концентрацию вещества, которая воздействовала на нее в предыдущий момент времени.

Логично предположить, что подобные схемы имеют общий характер и применимы не только для хемотаксиса, но и для других регуляторных механизмов клетки, когда необходима адаптация. Поэтому мы попытались объяснить действие СМД, используя модель Кошланда.

Простейшая кинетическая схема в этом случае выглядит следующим образом (см. схему) [7, 8, 15]. При воздействии лиганда L факторы E₁ и E₂ переходят в активные формы E*₁, E*₂. При этом процессы превращения E₁ протекают быстрее, чем E₂, так что соотношение констант скоростей превращений E₁ и E₂ k₁ > k₂ и k₋₁ > k₋₂. Вещество-лиганд может по-разному влиять на константы скорости, но для упрощения дальнейшего рассмотрения примем, что лиганд L влияет только на образование E*, связываясь со специфическим к L центру рецептором E (например, происходит аллостерическая активация ферментов E₁ и E₂):



Активные формы факторов E могут давать различный по величине и разнонаправленный вклад в результирующий эффект, для определенности примем, что E*₁ дает положительный вклад в эффект Z, а E*₂ — отрицательный. Возможно, что связывание с E*₁ эффектора приводит к изменению его конформации (например, белка, отвечающего непосредственно за ответ клетки), а связывание с E*₂ — к возвращению вещества-эффектора в исходное состояние. Кроме того, форма E*₁ может быть положительно заряжена, а E*₂ отрицательно заряжена, тогда эффект Z будет определяться разностью зарядов, например, заряды возникают на разных сторонах биомембраны. Аналогичные предположения по отношению к хемотаксису даны в работах Кошланда [44]. Отклик в таких случаях будет пропорционален разности концентраций E*₁ — E*₂; мы считаем величину отклика нормированной и равной этой разности: Z = (E*₁ — E*₂).

Из представленной схемы и предположения о том, что система способна к полной адаптации и что к моменту добавления вещества L в концентрации C в системе было равновесие, можно получить следующее выражение для зависимости эффекта Z от концентрации добавленного активного соединения C и времени инкубации t с этим соединением [7, 8, 15]:

$$Z(t) = \left[\frac{L}{L + K_D} - \frac{L_0}{L_0 + K_D} \right] \times \left\{ \exp[-k_2(L + K_D)t] - \exp[-k_1(L + K_D)t] \right\} \quad (2)$$

где L₀ — начальная концентрация активного соединения; L = (L₀ + C) — концентрация активного соединения после его добавления в момент времени t = 0; K_D = k₁/k₋₁ = k₂/k₋₂ — константа диссоциации комплекса LE*, которая должна быть равна для обеих систем вследствие предположения о полной адаптации (хотя k₁ и k₂ отличаются по величине).

В работе [7] приведены типичные кинетические кривые, соответствующие выражению (2) при различных значениях параметров.

Выражение (2) позволяет объяснить ряд феноменов СМД, даже если базироваться на простейших постулатах.

1. Согласно модели (2) концентрация вещества C_{макс}, при которой наблюдается максимальный эффект, может быть на несколько порядков ниже константы диссоциации лиганд-рецепторного комплекса. Так, например, если в нашей модели ограничиться только диффузией и принять k₁ = 10¹⁰ M⁻¹·с⁻¹ [20], то при условии L₀ = 10⁻¹² M, k₋₁ = 10⁻¹ с⁻¹, k₁/k₋₁ = 2, t_e = 100 мин, получим C_{макс} = 3 · 10⁻¹⁴ M, хотя K_D = 10⁻¹¹ M, т. е. находим значение эффективной концентрации (которое ниже на три порядка константы диссоциации), не пользуясь предположением о «рецепторном резерве».

2. Если в выражении (2) считать постоянным время инкубации t, а переменной — концентрацию вещества-эффектора C, то можно получить дозовые зависимости эффекта Z от концентрации. Если измерять эффект адаптивного типа через некоторое фиксированное время t_e, то с ростом концентрации C величина отклика сначала будет увеличиваться, так как возрастает максимальная величина эффекта, а затем будет снижаться, поскольку все процессы ускоряются. В результате дозовая зависимость будет иметь вид, характерный для действия СМД: с максимумом при небольших концентрациях активного вещества и отсутствием эффекта при больших концентрациях. Примечательно, что по мере увеличения времени t_e максимальный эффект смещается в сторону меньших концентраций, при этом величина максимального эффекта снижается. То же наблюдается с ростом константы скорости k₁ [7].

С целью проверки данного положения нашей гипотезы в экспериментах по изучению влияния мет-энкефалинамида (DAMEA) на респираторный взрыв макрофагов осуществляли два режима регистрации [15]: в одних случаях респираторный взрыв измеряли после 10 мин инкубации клеток с пептидом, в других — после 30 мин. В отдельных экспериментах было установлено, что увеличение времени инкубации клеток в отсутствие пептида не влияет на величину респираторного взрыва.

Результаты исследования показали, что увеличение времени инкубации с DAMEA приводит к сдвигу максимального эффекта в сторону более низких концентраций пептида (от 10^{-13} до $5 \cdot 10^{-15}$ M) и к уменьшению величины эффекта (от 50 до 25%), что находится в полном соответствии с предсказаниями нашей гипотезы.

Таким образом, с помощью гипотезы об адаптационном механизме даже в ее простейшем виде (рассмотрение более сложного варианта приведено в работе [7]) можно объяснить такие общие закономерности действия СМД, как наличие максимума на дозовой зависимости, наличие «мертвой зоны» при больших концентрациях действующего вещества, появление эффекта при сверхмалых дозах (значительно ниже константы K_D).

Характерно, что если данная схема действительно реализуется, то в случае высокоаффинных рецепторов, взаимодействующих с регуляторными веществами, максимальный эффект при обычных условиях эксперимента как раз и должен наблюдаться в интервале СМД, что ранее было трудно объяснимо.

* * *

Суммируя вышесказанное, необходимо отметить, что несмотря на разнообразие взаимодействующих веществ и объектов, существуют общие закономерности действия сверхмалых доз, что дает возможность рассматривать это явление с единой точки зрения.

Знание механизмов действия СМД имеет важное значение, поскольку позволяет более глубоко изучить механизмы клеточной регуляции, а также создать новые лекарства и новые способы применения существующих лекарств и других биологически активных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Варфоломеев С. Д., Зайцев С. В. Кинетические методы в биохимических исследованиях. М.: изд-во МГУ, 1982, 345 с.
2. Зайцев С.В., Ярыгин К.Н., Варфоломеев С.Д. Наркомания. Нейропептид-морфиновые рецепторы. М.: изд-во МГУ, 1993, 256 с.
3. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика. М.: ФАИР Пресс, 1998, 716 с.
4. Zaitsev S.V., Il'ina A.D., Varfolomeev S.D. In: Research in Biochemical Kinetics. N.-Y.: Nova Science Publishers, Inc. 1993, p. 102—119.
5. Burlakova E.B., Konradov A.A., Khudyakov I.V. Nonlin. Biol., 1990, v. 1, p. 77—91.
6. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Худяков И.В. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1990, с.184—193.
7. Сазанов Л.А., Зайцев С.В. Биохимия, 1992, т. 57, с. 1443—1460.
8. Sazanov L.A., Zaitsev S.V. J. Biochem. Organization, 1994, v. 1, p. 253—270.
9. Faith R.E., Liang H.J., Murgu A.J., Plotnikoff N.P. Clin. Immunol. and Immunopathol., 1984, v. 31, p. 412—418.
10. Rola-Pleszczynski M. J. Lipid Mod., 1990, v. 2, p. 577—582.
11. Reibman J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, v. 88, p. 6805.
12. Zaitsev S. V., Sazanov L. A., Koshkin A. A. e. a. FEBS Lett., 1991, v. 291, p. 84—86.
13. Зайцев С.В., Кошкин А.А., Сазанов Л.А., Судьина Г.Ф. Тр. рабочего совещания по слабым химическим и физическим воздействиям на биосистемы. Черноголовка, 9—12 октября 1990 г.
14. Sharp B.M., Keane W.F., Suh H.J. e. a. Endocrinology, 1985, v. 117, p. 793—795.
15. Efanov A.M., Koshkin A.A., Sazanov L.A. e. a. FEBS Lett., 1994, v. 355, p. 114—116.
16. Zaitsev S.V., Efanov A.M., Berggren P.-O. e. a. Proc. of the 2nd Int. Symp. «Mechanisms of action of ultra-low doses». Moscow, May 23—25, 1995, p. 116.
17. Бурлакова Е.Б., Греченко Т.Н., Соколов Е.Н., Терехова С.Ф. Биофизика, 1986, т. 31, с. 921—922.
18. Deliconstantinos G., Kopelkina-Tsiboukidou L., Vilotou V. Biochem. Pharm., 1987, v. 36, p. 1153—1161.
19. Williamson S.A., Knight R.A., Lightman S.L., Hobbs J.R. Brain Beh. Immun., 1985, v. 1, p. 329—335.
20. Захарова Л.А., Белевская Р.Г., Михайлова А.А. Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1988, с. 50—52.
21. Zakharova L.A., Belevskaya R.G., Yanovskii O.G. Biomed. Sci., 1990, v 1, p. 139—143.
22. Williamson S.A., Knight R.A., Lightman S.L., Hobbs J.R. Immunology., 1989, v. 65, p. 47—51.
23. Crain S.M., Shen K.-F. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1995, v. 92, p. 10540—10544.
24. Crain S.M., Shen K.-F. Brain Res., 1996, v.741, p. 275—283.
25. Brown S.L., van Epps D.E. J. Immunol., 1985, v. 134, p. 3384—3390.
26. Богатыренко Т.Н., Редкозубова Г.П., Конрадов А.А. и др. Биофизика, 1989, т. 34, с. 327—329.
27. Гладышева Т.Б., Конрадов А.А., Лебедев К.А. Там же, 1989, т. 34, с. 833—834.
28. Gick G.C., Zeytin F.N., Brazey P. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1984, v. 81, p. 1553—1555.
29. Munn N.A., Lum L.G. Clin. Immunol. and Immunopathol., 1989, v. 52, p. 376—385.
30. Хегай Л.А., Ким Б.Б., Зайцев С.В. и др. Иммунология, 1991, с. 24—25.
31. Gilles R., Gilles C., Jaemicke L. Z. Naturforsch., 1984, v. 39, p. 584—592.
32. Katz L.S., Marquis J.K. Toxicol. Appl. Pharm., 1989, v. 101, p. 114—123.
33. Sonenberg M. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1971. v. 68, p. 1051—1055.
34. Фомина М.М., Островская Л.А., Корман Д. Б., Бурлакова Е.Б. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1995, с. 430—434.
35. Yada T., Sakurada M., Ihida K. e. a. J. Biol. Chem., 1994, v. 269, p. 1290—1293.
36. Dubinin K.V., Zakharova L.A., Khagai L.A., Zaitsev S.V. Immunopharmacol. Immunotoxicol., 1994, v.16, p. 463—472.
37. Maclay D. Environ. Toxicol. Chem., 1988, v. 7, p. 1—3.
38. Koshland D.E., Goldbeter A., Stock J.B. Science, 1982, v. 21, p. 220—225.
39. Swillens S., Dumont J.E. Mol. Cell. Endocrinol., 1980, v. 20, p. 233—242.
40. Константиновичюс Я.Я., Калвялите А.А. Биофизика, 1990, т. 35, с. 102—105.
41. Strickland S., Loeb J.N. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 1366—1370.
42. Dower S.K., Kronheim S.R., March C.J. J. Exp. Med., 1985, v. 162, p. 501—515.
43. Robertson A.D.J., Grutsch J.F. J. Theor. Biol., 1987, v. 125, p. 41—60.
44. Koshland D.E. Biochemistry, 1988, v. 27, p. 5829—5834.
45. Stock J., Borczuk A., Chion F., Burchenal J.E.B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1985, v. 82, p. 8364—8368.
46. Lelekova T.V., Sanzhieva L.Ts., Ashmarin I.P. Biomedical Science, 1990, v. 1, p. 99.