

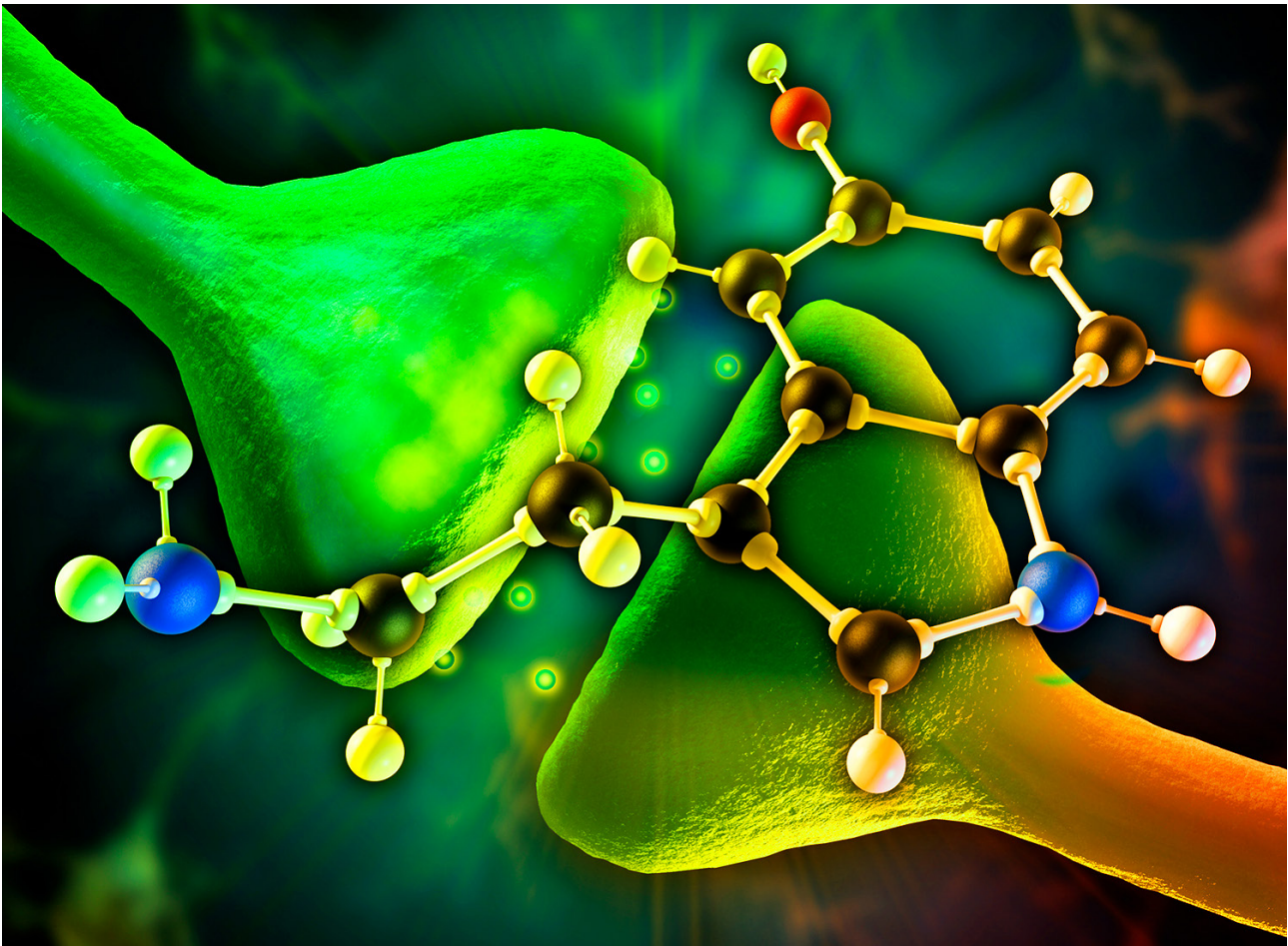


КЛЮЧЕВЫЕ НЕЙРОМЕДИАТОРЫ

by ANONIMCH

СОДЕРЖАНИЕ

Серотонин Краткий обзор мировосприятия	3
Фенэтиламины И целого мира мало	20
Дофамин То, ради чего я встаю утром с постели	27
Глутаматные рецепторы Глутамат натрия владеет умами	38
ГАМК Спи, моя радость, усни	48
Гистамин	57
Товарищ МАО	68
Нейротропные факторы	72
Нейротропные факторы II	86



СЕРТОНИН

КРАТКИЙ ОБЗОР МИРОВОСПРИЯТИЯ

Автор: Anonimch

Редакция: Deepest Depths, Алексей Дорохов,
Михаил Повиленский, Диана Мавлютова

Изображения: Cornu Ammonis

Опубликовано 03.04.2016.

Введение

Вот и пришло время написать о самом распиаренном и самом известном нейромедиаторе – серотонине. Самое интересное заключается в том, что о нём несколько десятилетий несут бред самые различные слои общества – начиная от домохозяек и гуманитариев, с их мифами о «гормоне счастья», заканчивая мамкиными психонавтами, которые скинулись однажды на марочку с ДОБом и теперь готовы каждому прохожему рассказывать о прелестях «изменённого состояния сознания». Изначально считалось, что серотонин влияет только на тонус сосудов и гладких мышц, его прямое присутствие в ЦНС было обнаружено лишь в 1953 году Ирвином Пейджем и Бетти Твэрог, информацию о своём открытии они опубликовали в *The American journal of physiology* – «Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination».

В каждой из таких ситуаций история поступает с

наукой одинаково: любая недостаточно хорошо исследованная область начинает обрастать спекуляциями, либо действительно важные и серьёзные опыты и публикации теряются в общем шуме. Взрывы снарядов и свист пуль во время второй мировой войны заглушили опыт Альберта Хоффмана с ЛСД, а песни о всеобщей любви в 60-е оказались более увлекательными, чем работы Шульгина и Николса. Думаю, что не стоит скрывать факт того, что 90% мировой «психоделической культуры» завязано на веществах, тем или иным образом влияющим на серотонинергические нейроны в ЦНС.

Так что рассказ о серотонине стоит начать не с Хоффмана, Шульгина или Твэрог, а с краткого повествования об истории изменённых состояний сознания.

Повествование об изменённых состояниях сознания начнём с рассказа об эволюции мозга. В 2009 г. в «Троицком варианте» генетик Михаил Гельфанд опубликовал замечательную статью под названием «Шизофрения как последствие эволюции мозга» [1]. Главный вывод которой я позволю себе сформулировать более ёмко, чем это было в источнике – человек познакомился с безумием в момент становления человеком. При этом слово «момент» в контексте эво-



люционной нейробиологии можно смело принимать за несколько десятков тысяч лет. Учёные анализировали выборку генов-кандидатов, мутации в которых наиболее часто обнаруживаются у людей, больных шизофренией, и сравнили их с генами здоровых людей и генами наших ближайших родственников – шимпанзе и макак-резус. В итоге выяснилось, что большая часть генов-кандидатов влияла на уровень метаболизма нервных клеток и, соответственно, в случае человека являлась одной из наиболее быстро эволюционирующих групп генов. Так что шизофрению в контексте конкретно данного исследования можно считать «детской болезнью» в эволюционном пути человека.

В этот момент некоторые люди приобрели возможность с рождения воспринимать мир несколько иначе, чем не было у шимпанзе. Но человеку этого было мало – он требовал продолжения банкета! Тут как раз помогло другое эволюционное приобретение – фермент АДГ (алкогольдегидрогеназа), позволивший есть забродившие плоды и, чуть позже – со времени изобретения керамики, пить испортившийся фруктовый сок.

А что делать с похмелья? Конечно же! Искать всяческие корешки и пробовать – вдруг поможет?

Таким вот нехитрым образом древнее человечество открыло для себя первые лекарства, красители и яды. Среди случайно поглощённых растений с большой долей вероятности, т.к. прародина человечества была в Африке, был ибоба. Этот небольшой кустарник — культовое растение для народности митсого, чей религиозный культ «бвити», возможно, является потомком самых древних практик направленного изменения сознания, живым реликтом психоделики. Интересно, что содержащийся в ибобе ибобаин и его метаболит – норибобаин – являются одновременно лигандами опиоидных и серотониновых (5-HT₃, ионотропный подтип) рецепторов [3].

Во многих древних культурах, где было распространено ритуальное использование растений, содержащих изменяющие сознание вещества, эти самые вещества зачастую воздействовали именно на серотонинергическую нейротрансмиссию. Можно ещё вспомнить мифический напиток богов древней Индии – амриту, которая, согласно преданиям, готовилась из эфедры и грибов. Также, в качестве более подробно задокументированного примера, можно привести аяхуаску из Южной Америки. Интересно, что древние индейцы каким-то образом умудрились придумать такую смесь, которая содержит и ДМТ (диметилтриптамин, сильный серотонинергический психоделик), и ИМАО (ингибиторы моноаминоксидазы) растительного происхождения. В нормальных условиях ДМТ неактивен при пероральном приёме, однако он активируется в смеси с ИМАО, замедляющими его распад в ЖКТ.

На Руси наши предки также иногда ловили домотканые и лубяные приходы, прямо в печи деревянной выпеченные. Называлось это дело «пьяный хлеб» — то есть хлеб, выпеченный из муки злако-

вых растений, поражённых грибом. Интересно, что под этим понятием подразумевалось сразу два вида грибка — *Fusarium graminearum*, содержащий вомиотоксин, и *Claviceps purpurea* (спорынья), содержащий производные эрготамина. И если отравления вомиотоксином протекали относительно легко, то отравления спорынью даже получили своё название – эрготизм. При эрготизме, помимо острого психоза, нарушается тонус кровеносных сосудов. Это может привести к некрозу конечности или гангрене.

С наступлением нового времени и плавным переходом алхимии в химию появилась возможность выделять действующие вещества из растительных источников. Изначально любой экстракт содержал просто спиртовой раствор суммы алкалоидов — азотосодержащих веществ, которые, если говорить упрощённо, возможно было выделить стандартной кислотно-щелочной экстракцией. Затем люди научились выделять отдельные вещества из общего экстракта. Это дало возможность наблюдать за «чистым» фармакологическим действием отдельных химических веществ на организм.

В этом отношении серотонинергическая система является середнячком: несмотря на то, что первые сообщения о «субстанции, влияющей на тонус мышц» относятся к XIX веку, серотонин в чистом виде был выделен лишь в 1935 году Витторио Эрспамером. В дальнейшем это вещество обнаруживалось во многих тканях и органах, в т.ч. и в нервной системе (см. выше). Однако, первые сведения о серотониновых рецепторах относятся лишь к 1957 году: Дж. Гаддум обнаружил, что способность серотонина сокращать гладкую мускулатуру можно блокировать ЛСД (диэтиламином D-лизергиновой кислоты, в отечественной литературе также использовалось сокращение ДЛК), а морфином можно предотвратить возбуждение вегетативных ганглиев, наступающее при прямом воздействии серотонина. Таким образом, вплоть до 90х годов XX века серотониновые рецепторы были разделены лишь на 2 класса – D- и M-рецепторы. Сейчас, благодаря методам молекулярной биологии, открыто 7 классов серотониновых рецепторов, причём многие из них имеют несколько подклассов (подтипов).

Также стоит упомянуть и о том, что серотонин – это не только нейротропный гормон, чьи функции ограничены лишь пределами нервной системы. Например, он участвует в процессах свёртывания крови и пищеварения. Более того, в 2003 году был введён термин «серотонилирование» (serotonylation) [4], описывающий прямое действие серотонина на внутриклеточные белки. Этот процесс был описан относительно триггерного механизма, определяющего высвобождение сигнальных веществ из бета-клеток поджелудочной железы и активацию тромбоцитов.

Метаболизм серотонина

Изначально триптофан под действием фермента триптофангидроксилазы получает ОН-группу по 5-положению в основном индольном фрагменте, превращаясь в 5-гидрокситриптофан (5-HTP в англо-

язычных источниках). Затем 5-НТР путём отщепления $-\text{COOH}$ группы декарбоксилазой ароматических аминокислот превращается в собственно серотонин.

Дальнейший метаболизм серотонина разветвлён и зависит от «ферментного набора» ткани и органа, где соответственно протекает [5].

Однако, наибольшую значимость имеет путь, ведущий к мелатонину. Фермент N-ацетилтрансфераза превращает серотонин в N-ацетилсеротонин, а затем 5-гидроксииндол-O-метилтрансфераза превращает OH-группу в CH_3O , осуществляя таким образом финальную стадию синтеза мелатонина (N-ацетил-5-гидрокситриптамина).

Также интересен распад (катаболизм) серотонина. В нём задействован фермент моноаминоксидаза (MAO), о котором упоминалось ранее. Он превращает серотонин в 5-гидроксииндолилацетальдегид (5-HIAL на схеме). Затем этот альдегид может быть либо восстановлен альдегидредуктазой (ALDR) до 5-гидрокситриптофола, либо путём взаимодействия с альдегиддегидрогеназой 2 (ALDH2) превратится в 5-гидроксииндолилуксусную кислоту (5-HIAA).

Рецепторы серотонина

Существует 7 типов серотониновых рецепторов. Все они, за исключением 3-го типа, ионотропного, являющегося лиганд-зависимым ионным каналом, суть метаболитропные. Также стоит отметить, что эти рецепторы при активации могут выполнять как тормозящую, так и возбуждающую функцию. При активации серотониновых рецепторов нейрон может выбрасывать

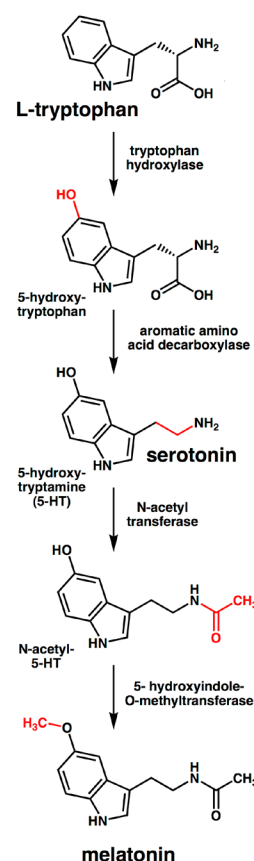


Рисунок 1 | Серотонин образуется из триптофана

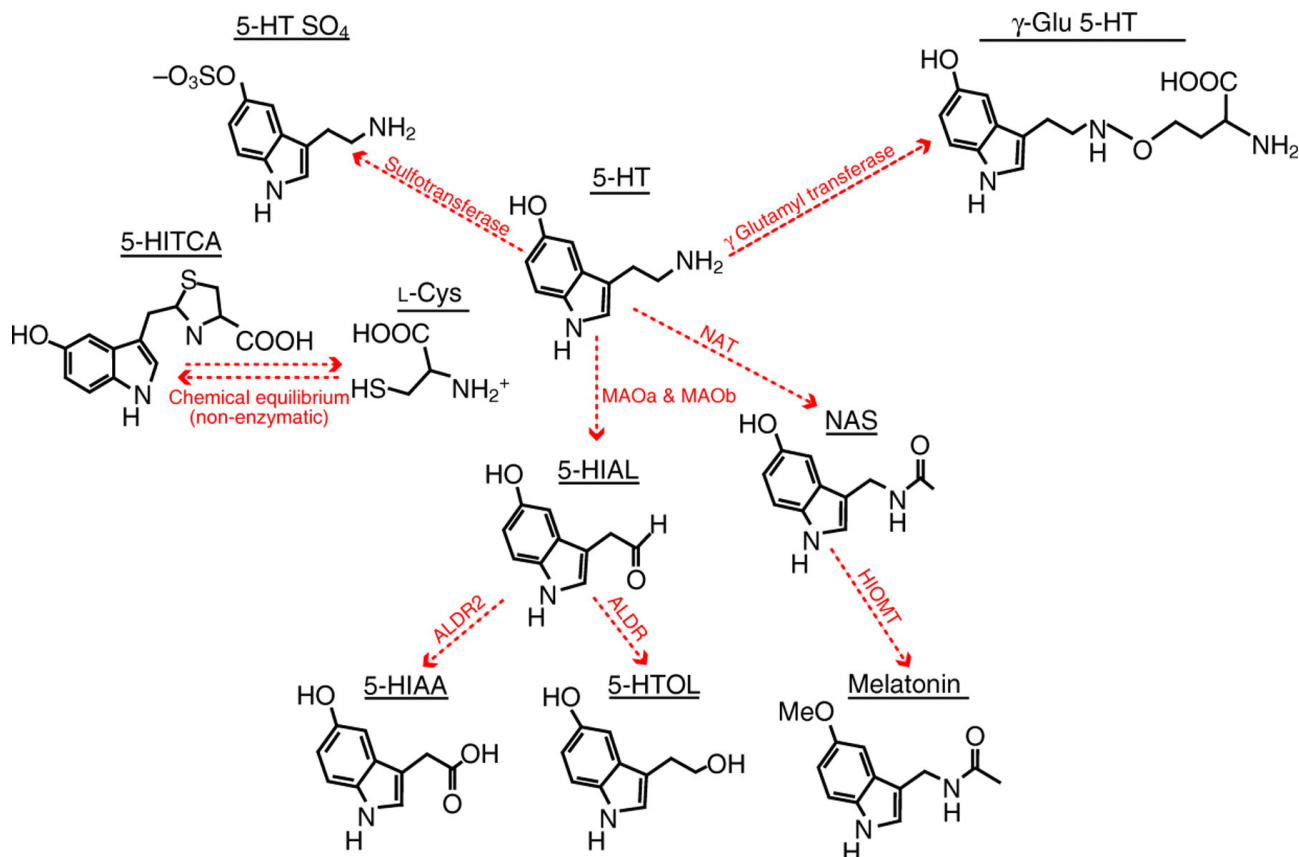


Рисунок 2 | Варианты метаболизма серотонина

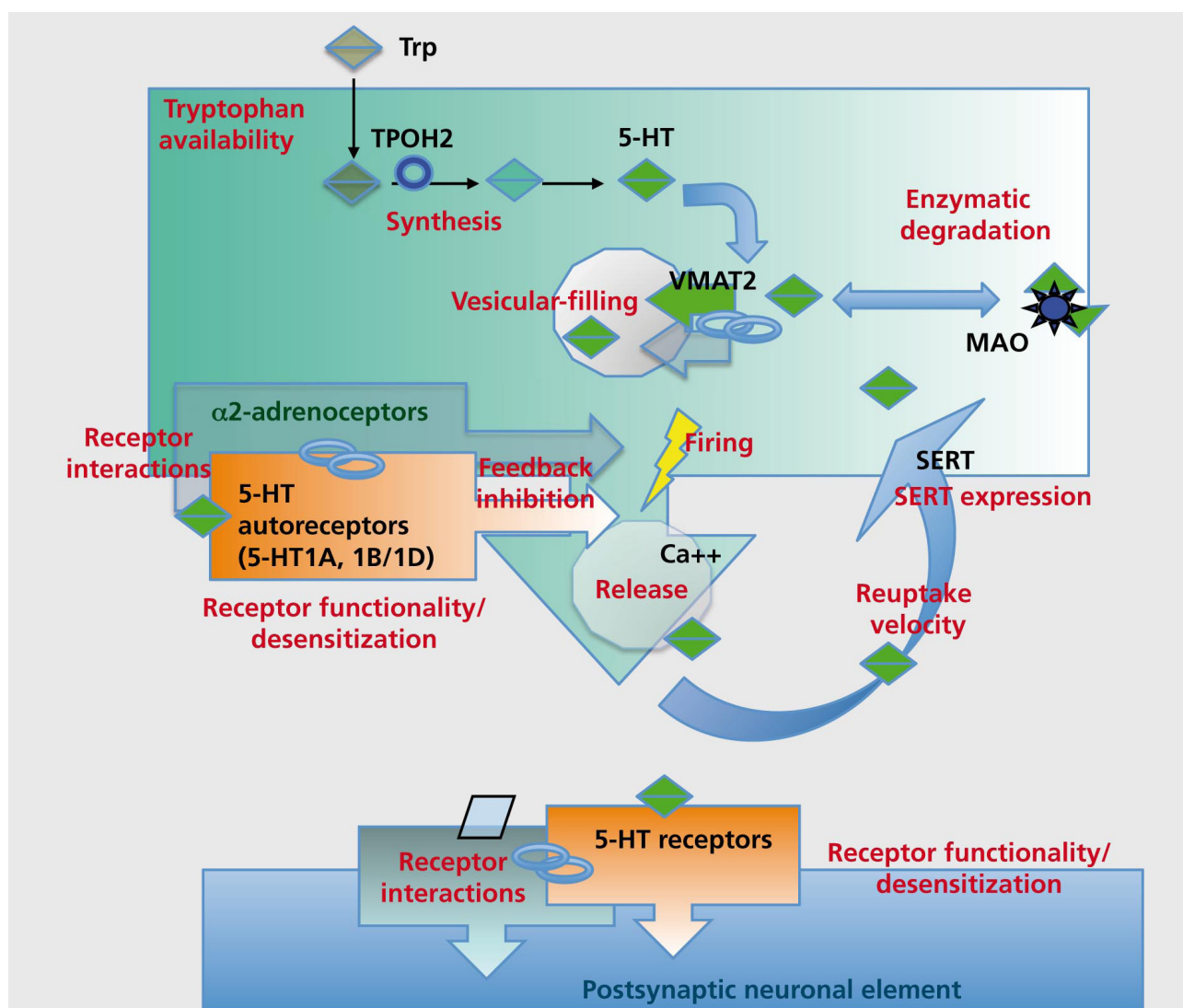


Рисунок 3 | «Круговорот серотонина» легче всего представить по этой схеме

не только различные низкомолекулярные нейромедиаторы (собственно серотонин, ацетилхолин, ГАМК, глутамат, дофамин, адреналин, норадреналин, октопамин), но и сигнальные пептиды и нейростероиды (кортизол, окситоцин, вазопрессин, пролактин, АКТГ, вещество Р и нейрокинины). Серотонинергическая сигнальная система участвует в регуляции некоторых жизненно важных функций организма: сон, терморегуляция, пищевое поведение, когнитивно-мнестические способности, работа ЖКТ, тонус сосудов. Соответственно количеству функций эта система является мишенью множества фармакологически активных веществ: психотомиметиков/антипсихотиков, антидепрессантов, противорвотных, прокинетики.

Стоит отметить, что 5-HT₈ рецептор у людей не встречается и был найден лишь у нескольких насекомых: бабочки репницы (*Pieris rapae*), хрущака малого булавосого (*Tribolium castaneum*) и малярийных комаров вида *Anopheles gambiae*.

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₁

Подтип 5-HT_{1A}

Иногда эти рецепторы называются «тормозящими». При их активации происходит снижение артериаль-

ного давления, снижается частота сердечных сокращений. Также эти рецепторы участвуют в механизмах регуляции тонуса.

Интересно, что влияние активации 5-HT_{1A} рецептора на последующий выброс нейромедиаторов различно у разных видов – вот пример, который стоит учитывать при разработке и тестировании лекарственных веществ: у грызунов этот подтип серотониновых рецепторов при активации увеличивает выброс норадреналина, в то время как у приматов – уменьшает. Однако в то же время у приматов (и людей в частности), активация 5-HT_{1A} увеличивает выброс дофамина в определённых областях мозга: полосатом теле, медиальной области префронтальной коры и гиппокампе.

Нейроны, содержащие на себе 5-HT_{1A}-рецепторы, расположены в самых разных отделах нервной системы: кора больших полушарий, гиппокамп, прозрачная перегородка, миндалевидное тело – в этих участках наблюдается наибольшая плотность вышеупомянутых рецепторов, однако их можно найти и в других местах: в базальных ганглиях и таламусе.

Многие агонисты 5-HT_{1A} рецепторов применяются в клинической практике в качестве анксиоли-

Таблица 1 | Общая характеристика типов серотониновых рецепторов.

Тип	Механизм работы	Эффекты при активации	Генерируемый потенциал
5-HT ₁	G/G ₀ -связанный	↓ Уровня цАМФ	Тормозящий
5-HT ₂	G _q /G ₁₁ -связанный	↑ Уровня инозитол-3-фосфата (IP ₃) и диацилглицерола (DAG)	Возбуждающий
5-HT ₃	Лиганд-зависимый ионный канал, пропускающий натрий и калий	Деполаризация клеточной мембраны	Возбуждающий
5-HT ₄	G _s -связанный	↑ Уровня цАМФ	Возбуждающий
5-HT ₅	G/G ₀ -связанный	↓ Уровня цАМФ	Тормозящий
5-HT ₆	G _s -связанный	↑ Уровня цАМФ	Возбуждающий
5-HT ₇	G _s -связанный	↑ Уровня цАМФ	Возбуждающий
5-HT ₈	Метаботропный неуточнённый	↑ Внутриклеточного уровня кальция	Неизвестно

тиков и антипсихотиков. Кроме того, в меньших дозировках, они назначаются в качестве корректоров при приёме антидепрессантов. На счёт антидепрессантов – существуют теории, что, помимо изменения экспрессии BDNF, за отсроченное наступление терапевтических эффектов ответственен механизм изменения плотности расположения 5-HT_{1A} рецепторов: за 2-3 недели приёма антидепрессантов уменьшается плотность пресинаптических ауторецепторов и повышается плотность постсинаптических рецепторов этого типа. Таким образом достигается двойной эффект: снижение тормозящего действия на пресинаптический нейрон, который начинает выбрасывать больше серотонина, и повышение чувствительности постсинаптического нейрона к собственно серотонину. Следует также иметь ввиду, что большая часть 5-HT_{1A} рецепторов – пресинаптические ауторецепторы, т.е. в большинстве своём не являются прямой целью релизеров серотонина, которые осуществляют своё действие через иные механизмы. И как уже указывалось выше, именно из-за этого существует такой разрыв во времени начала действия антидепрессантов разных классов – для развития действия селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС) требуется время, а релизеры начинают своё действие очень быстро, однако оно длится не долго.

Кроме того, 5-HT_{1A} участвуют в регуляции ноцицепции (восприимчивости к боли): в нейронах, расположенных в дорсальной части ядер шва, эти рецепторы экспрессируются на одних и тех же клетках вместе с рецепторами тахикининов (NK1), при активации тормозя действие и последующий выброс вещества Р. Таким образом, области действия некоторых 5-HT_{1A}-агонистов и NK1-блокаторов могут перекрываться – оба класса веществ могут оказывать анальгезирующее и противорвотное действие.

Однако, не всё так хорошо: из-за замедления процессов высвобождения глутамата и ацетилхолина в гиппокампе, 5-HT_{1A}-агонисты при длительном приёме способны вызвать нарушения процессов запоминания. Некоторые блокаторы 5-HT_{1A} исследуются в качестве лекарств для улучшения памяти у пациентов с болезнью Альцгеймера. Интересно, что в других областях мозга, а именно префронтальной коре, этот

тип рецепторов при активации, наоборот, увеличивает высвобождение ацетилхолина и дофамина, таким образом увеличивая способность к обработке информации, но не запоминанию.

При селективной активации 5-HT_{1A}-рецепторов наблюдаются следующие эффекты: снижение агрессии и импульсивности, повышение общительности и уровня эмпатии, снижение влечения к наркотикам или иным веществам, вызывающих позитивный дофаминовый отклик, ухудшение эрекции, снижение аппетита, продление фазы быстрого сна. Также эксперименты на животных выявили способность селективных 5-HT_{1A}-агонистов восстанавливать самостоятельное дыхание в случае передозировки опиоидами.

Этот тип серотониновых рецепторов также играет роль в регуляции выброса таких гормонов, как кортизол, кортикостерон, АКТГ, окситоцин, пролактин, соматотропный гормон, бета-эндорфин. Считается, что выброс окситоцина ответственен за анксиолитические эффекты при селективной активации, а выброс бета-эндорфина – за облегчение болевых ощущений.

Лиганды 5-HT_{1A}

Существует больше сотни различных веществ (агонистов/антагонистов), обладающих различной силой связывания и селективностью. Однако, в экспериментальной нейробиологии в качестве стандартного агониста используется 8-OH-DPAT.

Мутации

В настоящее время известно несколько десятков мутаций гена HTR1A, кодирующего этот рецептор, в основном это SNP, ведущие к замене единичной аминокислоты [7].

Подтип 5-HT_{1B}

Серотониновые рецепторы этого подтипа расположены главным образом в лобной доле коры больших полушарий, базальных ганглиях, полосатом теле и гиппокампе. Функции 5-HT_{1B}-рецепторов различаются в зависимости от расположения, например, во фронтальной области коры больших полушарий они являются постсинаптическими рецепторами, при активации тормозящими дальнейший выброс дофамина

Внеклеточное пространство

Плазматическая мембрана

Внутриклеточное пространство

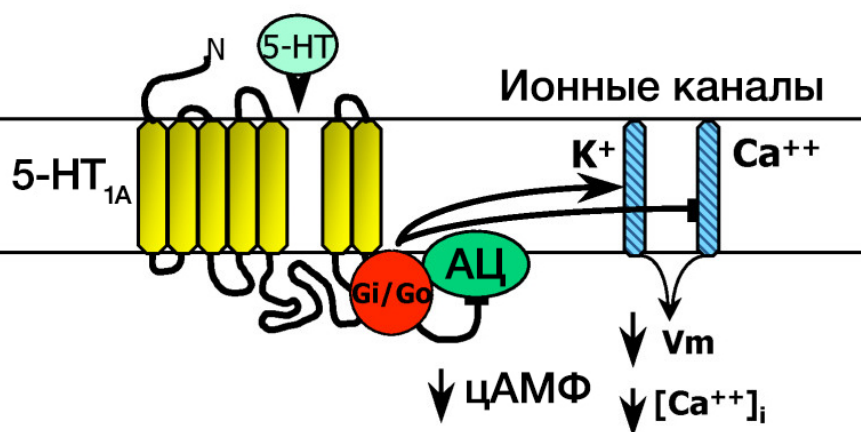


Рисунок 4 | Механизм работы 5-HT_{1A} рецептора.

на. Однако в базальных ганглиях и полосатом теле 5-HT_{1B}-рецептор является пресинаптическим ауторецептором, блокирующим выброс серотонина и глутамата. Интересно, что уровни экспрессии генов, кодирующих 5-HT_{1B} и 5-HT_{1E}-рецепторы, взаимосвязаны, и, возможно, регулируются одним и тем же механизмом [8].

Вне ЦНС при активации 5-HT_{1B}-рецептор вызывает сужение сосудов, в основном в лёгких, однако он является также и мишенью суматриптана – противомигренозного средства. Кроме того, этот рецептор обнаруживается в молодых остеобластах и, согласно некоторым теориям, его активация в этих клетках служит сигналом для созревания, а в масштабах целого организма – к набору костной массы.

В опытах на мышах выявлено, что особи без нормально функционирующего 5-HT_{1B}-рецептора больше склонны к агрессии. Кроме того, мутантный фенотип практически невосприимчив к действию СИОЗС.

Подтип 5-HT_{1C}

Данный подтип переименован в 5-HT_{2C} после детального изучения структуры и функций и, соответственно, отнесён в иную группу серотониновых рецепторов, которая будет рассмотрена ниже.

Подтип 5-HT_{1D}

Данный подтип отвечает за координацию движений, реакции стресса, пищевого поведения [9] и участвует в регуляции тонуса сосудов мозга. Высокая плотность рецепторов 5-HT_{1D} обнаруживается по ходу тройничного нерва.

Благодаря тому, что этот рецептор является одной из мишеней суматриптана и некоторых иных противомигренозных препаратов, его глубокое изучение помогло лучше понять механизмы нейрогенного воспаления. В дальнейшем выяснилось, что суматриптан, являясь лигандом тормозящего 5-HT_{1D}-рецептора, подавляет выброс CGRP (кальцитонин-ген родственный пептид), вещества Р и нейрокина А, которые ответственны за возникновение болевых ощущений.

Подтип 5-HT_{1E}

Изучение функций и маппинг (установление расположения) данного подтипа серотониновых рецепторов крайне затруднено в связи с отсутствием высоко-селективных лигандов и антител. Единственный доступный лиганд, BRL-54443, не проявил достаточно-го уровня специфичности, т.к. является смешанным 5-HT_{1E/F}-агонистом. Однако, методом исключения выявлена повышенная экспрессия 5-HT_{1E} в лобной доле коры и гиппокампе, что позволяет предположить его участие в процессах запоминания [10].

Полный набор функций, регулируемых в организме данным рецептором, в настоящий момент возможно изучать лишь генетическим реверс-инжинирингом, сопоставляя мутации гена, кодирующего его, с наблюдаемыми отклонениями [11].

Подтип 5-HT_{1F}

Из-за высокой гомологии (более 57%) с предыдущим подтипом его изучение также было затруднено по причине почти полного отсутствия селективных лигандов. Однако, в сноске из описания предыдущего подтипа есть ссылка на статью с описанием синтеза и методики скрининга новых соединений, обладающих высокой селективностью и к 5-HT_{1F}-рецептору, одним из которых оказался 5-N-бутирилкси-ДМТ. В настоящее время высокая плотность 5-HT_{1F}-рецепторов обнаружена в таких областях мозга, как скорлупа, гиппокамп и хвостатое ядро.

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₂

В отличие от первого типа, они являются возбуждающими. Кроме того, эти рецепторы являются мишенью большинства психоактивных соединений, в т.ч. и использующихся в медицине.

Подтип 5-HT_{2A}

Как я уже упоминал выше, изначально серотониновые рецепторы делились на Д- и чувствительные, однако в англоязычной литературе под (Д) понимается дибензилин (он же феноксibenзамин, альфа-1 адреноблокатор), в то время как в отечественной

литературе (даже в такой авторитетной книге как «Фармакологическая регуляция психических процессов» за авторством Лаврецкой) под (Д) понимается ДЛК, он же ЛСД. Однако, как ни странно, суть от этого не меняется. Впоследствии, с развитием молекулярной биологии, когда стало возможно более подробно классифицировать рецепторы серотонина, Д-чувствительные были переименованы в 5-HT_{2A}.

Этот подтип серотониновых рецепторов обнаруживается в следующих областях ЦНС: неокортекс (префронтальная и теменная доли, также обнаруживается в постцентральной извилине, отвечающей за телесные ощущения), обонятельный бугорок, апикальные дендриты пирамидальных клеток 5 слоя коры больших полушарий. Выяснено, что 5-HT_{2A}-рецепторы способны взаимодействовать (оказывать модулирующее действие) со следующими типами рецепторов: 5-HT_{1A}, ГАМК-A, A1-рецепторы аденозина, АМПА, mGluR2, mGluR3, mGluR5, OX2 (рецепторы орексина). Взаимодействие с большим количеством глутаматных рецепторов (АМПА, mGluR2, mGluR3, mGluR5) не случайно, т.к. 5-HT_{2A} усиливает выброс глутамата за счёт своего возбуждающего действия [12].

Помимо ЦНС 5-HT_{2A}-рецепторы обнаруживаются в фибробластах, тромбоцитах, клетках сердца и различных отделах ПНС.

Механизм работы 5-HT_{2A}-рецептора

При активации рецептора бета- и гамма-субъединицы «высвобождают» Gq-субъединицу, активирующую фосфолипазу C (PLC), которая, в свою очередь, превращает фосфатидилинозитолбисфосфат (PIP₂) в диацилглицерол (DAG) и инозитолтрифосфат (IP₃). DAG активирует протеинкиназу C (PKC), а IP₃ запускает кальмодулин-зависимый механизм высвобождения кальция из эндоплазматического ретикула. Существуют также побочные биохимические пути связанные с образованием арахидоновой кислоты из DAG. «Выбор» пути, по которому будут работать вторичные мессенджеры, может также зависеть от лиганда: например, если рассматривать DOB и 2C-B, то DOB (за счёт наличия метильной группы в альфа-положении на боковой цепи) действует по «основному» пути, описанному выше, а 2C-B – по «альтернативному», ведущему к повышению концентрации арахидоновой кислоты. Подробнее этот вопрос рассмотрен в лекции Дэвида Николса «Advances In Understanding How Psychedelics Work In The Brain».

Функции

В ЦНС: возбуждение, агрессия, участие в процессах запоминания [14]. Мышцы: сокращение гладкой мускулатуры кишечника, бронхов и сосудов. Участие в

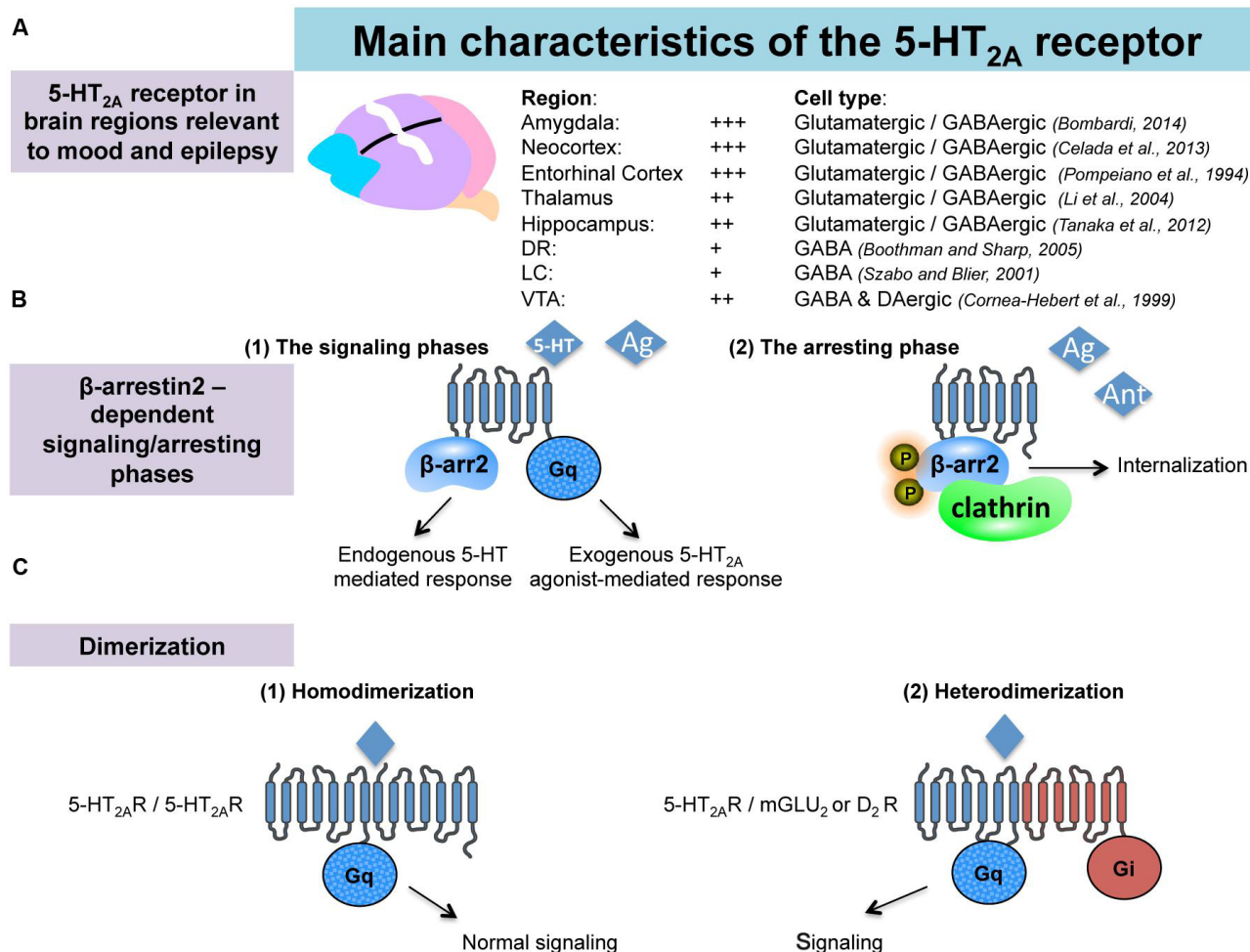


Рисунок 5 | Более полный список областей мозга, где 5-HT_{2A}-рецепторы находятся в комплексах с другими рецепторами

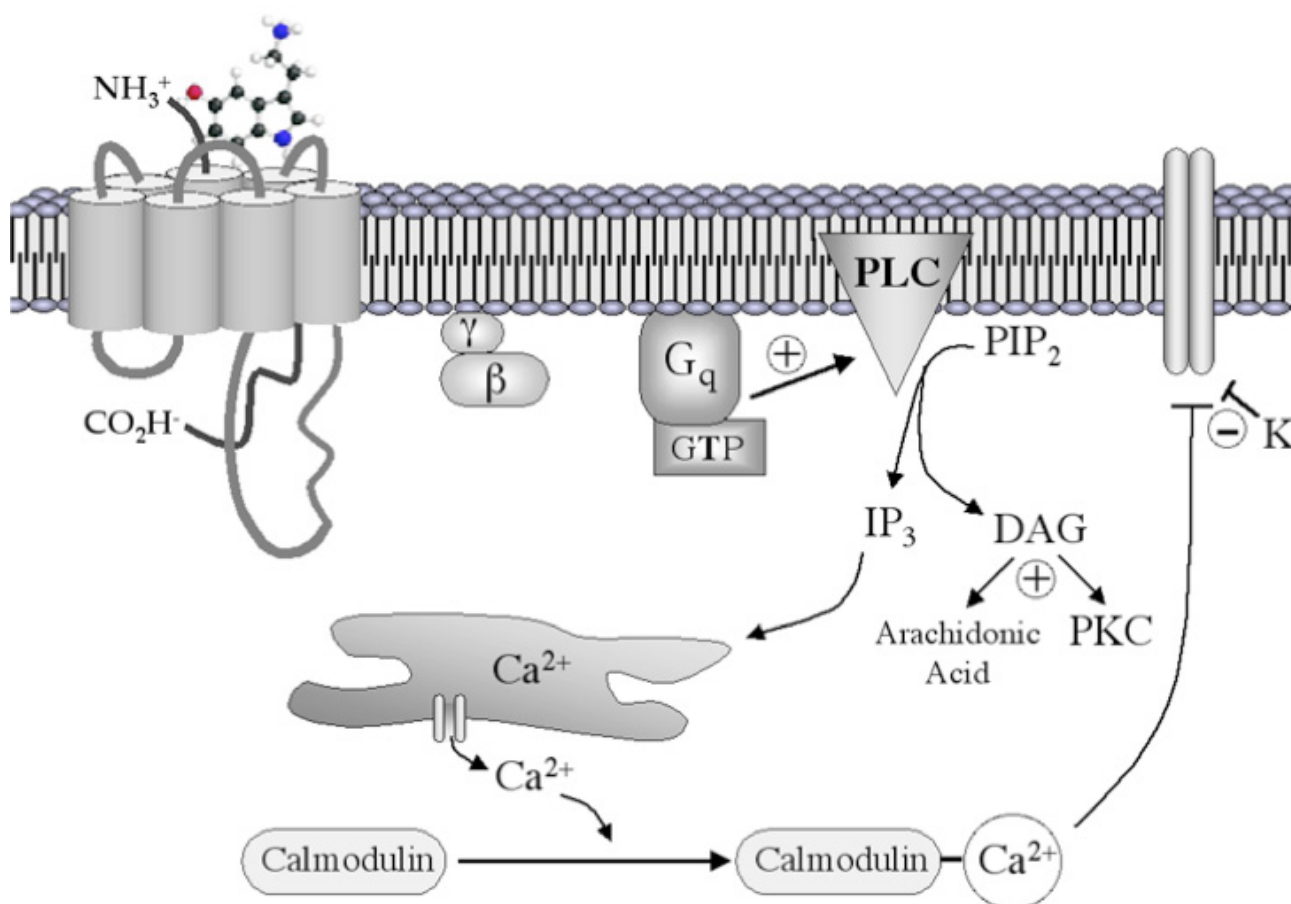


Рисунок 6 | Механизм работы 5-НТ_{2А}-рецептора

процессе свёртывания крови (прямое серотонилирование будет рассмотрено ниже).

Интересно, что относительно недавно было открыто участие серотонина в процессах воспаления, причём не только нейрогенного – известный галлюциноген DOI в дозировках, не влияющих на психический статус, показал способность подавлять ФНО-индуцированное воспаление [15]. Интересно, что такую же способность открыли и у ЛСД [16].

При активации 5-НТ_{2А}-рецепторов в гипоталамусе в крови повышается уровень окситоцина, пролактина, АКТГ, кортикостерона и ренина.

Что касается лигандов данного вида рецепторов, то тут дело обстоит достаточно интересно: поскольку он является одной из главных мишеней огромного количества психоактивных веществ, начиная от ЛСД и мескалина, заканчивая экзотическими соединениями, которые лишь отдалённо похожи на ФЭА/триптамины/эрголины, то вполне логично, что он стал объектом внимания химиков-фармакологов, как официальных, так и не очень. В настоящее время известные базы, например isomerdesign, содержат сведения о нескольких сотнях веществ, тем или иным образом взаимодействующих с 5-НТ_{2А}-рецепторами.

Если говорить о «классических» психоактивных веществах (псилоцин, псилоцибин, МДМА), то они в первую очередь они воздействуют на пирамидальные клетки префронтальной зоны коры – для возникновения повышенного уровня возбуждения нейронов

данной области, которое обычно выражается в психозе с галлюцинациями, необходимо наличие рецепторного комплекса – димера из 5-НТ_{2А} и mGluR2-рецепторов [18], который часто встречается именно в этой области мозга.

В гене, кодирующем данный рецептор, найдено (на текущий момент) более двух сотен различных мутаций [19]. К большому сожалению, большая часть публикаций по теме содержит результаты, которые лишь немного превышают статистическую погрешность. Более того, результаты в некоторых публикациях довольно противоречивы [20]. Однако его роль в развитии психических отклонений трудно переоценить.

Подтип 5-НТ_{2В}

Здесь ситуация выглядит несколько менее запутанной. Скорее всего, это связано с тем, что данный вид рецепторов не является мишенью весёлых и интересных химических веществ, являющихся причиной вдохновения у исследователей.

5-НТ_{2В}-рецепторы обнаруживаются в следующих тканях и органах [21]: гладкие мышцы двенадцатипёрстной кишки, пищевода, тонкого и толстого кишечника; сердце, лёгкие (гладкие мышцы бронх и лёгочных артерий), кора надпочечников, корковое вещество почек, мозжечок (клетки Пуркинье, клетки зернистого слоя коры мозжечка, вставочные клетки), конечный мозг (гиппокамп).

Помимо своего влияния на поведение (он ответ-

ственен за двигательное возбуждение при введении психоактивных веществ), он также влияет на сердечно-сосудистую систему. При возбуждении 5-HT_{2B}-рецепторов, расположенных вне мозга, наблюдается сужение сосудов и повышение АД. Согласно данным исследований, это действие прямое, неопосредованное, т.к. введение бета-адреномиметиков крысам, у которых 5-HT_{2B}-рецептор уже заблокирован, не приводило к повышению АД. Кроме того, было выявлено, что 5-HT_{2B}-агонисты способны вызывать фиброз сердца при длительном приёме – это, опять же, связано с прямым участием 5-HT_{2B}-рецепторов в запуске процесса пролиферации фибробластов. С этим механизмом может быть связана часть смертельно опасных побочных эффектов психоделика Bromo-dragonfly.

Кстати, помимо прямого пролиферативного действия на фибробласты, активация этих рецепторов может также помочь в регенерации клеток печени [22].

Интересно, что при «серотониновом синдроме» (опасном побочном эффекте некоторых антидепрессантов, выражающемся в бесконтрольном высвобождении серотонина и опасном повышении его концентрации во внеклеточной среде) данный подтип рецепторов оказывает защитное действие [23].

Подтип 5-HT_{2C}

Этот вид серотониновых рецепторов сначала был отнесён к группе 5-HT₁, потом его признали тем же рецептором, что и 5-HT_{2A} (из-за высокой гомологии), и только относительно недавно он был выделен в отдельный подтип.

5-HT_{2C}-рецептор обнаруживается (ИГХ + анализ мРНК в тканях [24]) в сосудистом сплетении желудочков мозга, в пятом слое коры больших полушарий (за исключением шпоровидной борозды), мозолистом теле, септалных ядрах, прилежащем ядре, базальных ядрах переднего мозга, хвостом ядра, скорлупе, диагональной полоске (полоске Брока), вентральном стриатуме, частично – миндалевидном теле, среднем мозге, таламусе, ядрах ствола мозга. В основном на нейронах обнаруживается соматодендритная локализация 5-HT_{2C}-рецептора.

Данный рецептор при активации замедляет выброс дофамина и норадреналина, однако в некоторых областях мозга он также регулирует выброс ацетилхолина. Интересно, что в связи с этим, 5-HT_{2C}-блокаторы исследуются в качестве потенциальных новых антидепрессантов. Также, если рассматривать старые классические СИОЗС, например флуоксетин, то они, наоборот, в первые 2 недели приёма косвенно повышают тормозящее действие 5-HT_{2C}-рецепторов, которое потом сглаживается их down-регуляцией, т.е. «понижением чувствительности» — понижением плотности расположения рецепторов на клеточной мембране в ответ на продолжительную их стимуляцию. За счёт тормозящего действия 5-HT_{2C}-рецептора на выброс дофамина, его блокаторы и обратные агонисты косвенно проявляют дофаминоми-

метическое действие.

Интересно, что повышение уровня цитокинов влечёт за собой повышение уровня экспрессии гена 5-HT_{2C}-рецептора. Этот факт может служить одним из объяснений изменения психического статуса при различных хронических воспалениях.

5-HT_{2C}-рецепторы принимают участие в регуляции работы органов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Обнаружено прямое повышение уровня КРГ и вазопрессина при стимуляции серотониновых рецепторов паравентрикулярных ядер гипоталамуса.

Так как ген HTR2C расположен на X-хромосоме, то мужчины несут одну копию гена, а женщины – две. Это также влияет на работу серотонинергической системы в целом, т.к. в данном случае проявляется «мозаицизм» — в каждой клетке будет работать только одна X-хромосома несущая один из двух вариантов гена. Кроме того, вне зависимости от пола, мРНК этого рецептора подвергается довольно редкому для генов этого семейства виду модификации – выборочной замены аденозина на инозин с помощью мозгоспецифичного фермента ADAR3. В процессе трансляции инозин равнозначен гуанозину. Существует несколько сайтов редактирования мРНК, чьё случайное изменение может дать 24 различных изоформы рецептора. Это отражается на функциях рецептора – так называемая VGV-изоформа, где из-за редактирования мРНК в конечной аминокислотной последовательности белка на 157 и 161 позициях стоит валин, а на 159 – глицин, значительно менее активна и вызывает меньший отклик в повышении концентрации вторичных мессенджеров при одинаковых концентрациях серотонина и различных агонистов, нежели не редактированная INI-изоформа (по 157 и 161 позициям – изолейцин, по 159 – аспарагиновая кислота). Интересно, что в некоторых исследованиях в области психиатрии и генетики обнаруживается связь с расстройствами не только у лиц, у которых выявлена мутация гена рецептора, но также и у тех, у кого нарушены процессы редактирования мРНК в мозге [25].

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₃

Данный вид рецепторов является уникальным в своём роде – это единственный не-метаботропный тип. 5-HT₃-рецептор представляет собой лиганд-зависимый ионный канал, состоящий из пяти различных субъединиц (5-HT_{3A}, 5-HT_{3B}, 5-HT_{3C}, 5-HT_{3D}, 5-HT_{3E}). Он может быть представлен в виде гомопентамера, состоящего исключительно из одних 5-HT_{3A}-субъединиц, либо гетеропентамера – когда в его составе, помимо обязательно присутствующей 5-HT_{3A}-субъединицы, находятся субъединицы других подтипов. Интересно, что по уровню гомологии субъединицы можно разделить на 2 группы: первая включает в себя 5-HT_{3A} и 5-HT_{3B}, вторая 5-HT_{3C}, 5-HT_{3D} и 5-HT_{3E}.

Каждая субъединица состоит из четырёх участков (M1-M4), представляющих собой аминокислотную цепь, уложенную в форме альфа-спиралей, которые пересекают клеточную мембрану. N-конец аминокис-

лотной цепи субъединицы локализован на внешней стороне клеточной мембраны и осуществляет связывание лигандов, трансмембранные участки (а конкретнее – аминокислотная петля, связывающая M2 и M3-участки) непосредственно задействованы в механизме открытия ионного канала. Также присутствует внутриклеточная петля между M3 и M4-участками, участвующая в транспортировке и регуляции работы субъединицы.

Рецептор обнаруживается в тонком и толстом кишечнике, миндалевидном теле, гиппокампе, хвостом ядре, вставочных нейронах неокортекса, тимусе, селезёнке, предстательной железе.

Помимо регуляции высшей нервной деятельности, данный тип ионотропных рецепторов серотонина играет важную роль в запуске рвотного рефлекса. Это было выявлено почти случайно – врачи ещё в XX веке обнаружили противорвотные свойства некоторых антипсихотиков, и уже позже, с развитием молекулярной биологии, стала ясна причина такого действия – прямое подавление активности соответствующих ядер продолговатого мозга.

Вполне логично, что свойства рецептора обусловлены свойствами субъединиц, в него входящими:

5-HT_{3A}-субъединица

Гомопентамерные 5-HT₃-рецепторы, содержащие лишь 5-HT_{3A}-субъединицу, обладают меньшей проводимостью (0,4 pS (пикоСименс)), нежели гетеропентамерные, в которых одна из субъединиц заменена на 5-HT_{3B} (проводимость — 16 pS). Во время изуче-

ния вариантов мутации гена 5-HT_{3A}-субъединицы был найден участок цепи, названный «HA-stretch», при обогащении которого остатками аргинина, по типу 5-HT_{3B}-рецептора, общая проводимость рецептора возросла в 28 раз.

5-HT_{3B}-субъединица

Данная субъединица может формировать ионный канал только вместе с 5-HT_{3A}-субъединицами. Кроме того, исследования выявили роль содержащих её рецепторов в развитии депрессии: найден важный полиморфизм, заключающийся в замене тирозина в 129-й позиции аминокислотной цепи на серин, выражающейся в более медленной десенситилизации рецептора и более длинным временем работы ионного канала при активации. Носители данной мутации менее склонны к депрессивным расстройствам [26].

5-HT_{3C}-субъединица

Рецепторы, её содержащие, обнаруживаются в мозге взрослого человека, прямой кишке, мышцах, лёгких, тонком кишечнике, на стадии внутриутробного развития они также присутствуют в почках и формирующемся кишечнике. Её мутации связывают с избыточным рвотным рефлексом, особенно при химиотерапии. Также были выявлены SNP, повышающие риск развития расстройств аутистического спектра.

5-HT_{3D}-субъединица

Присутствует в печени взрослого человека, в почках и прямой кишке взрослого и зародыша. Её мутации

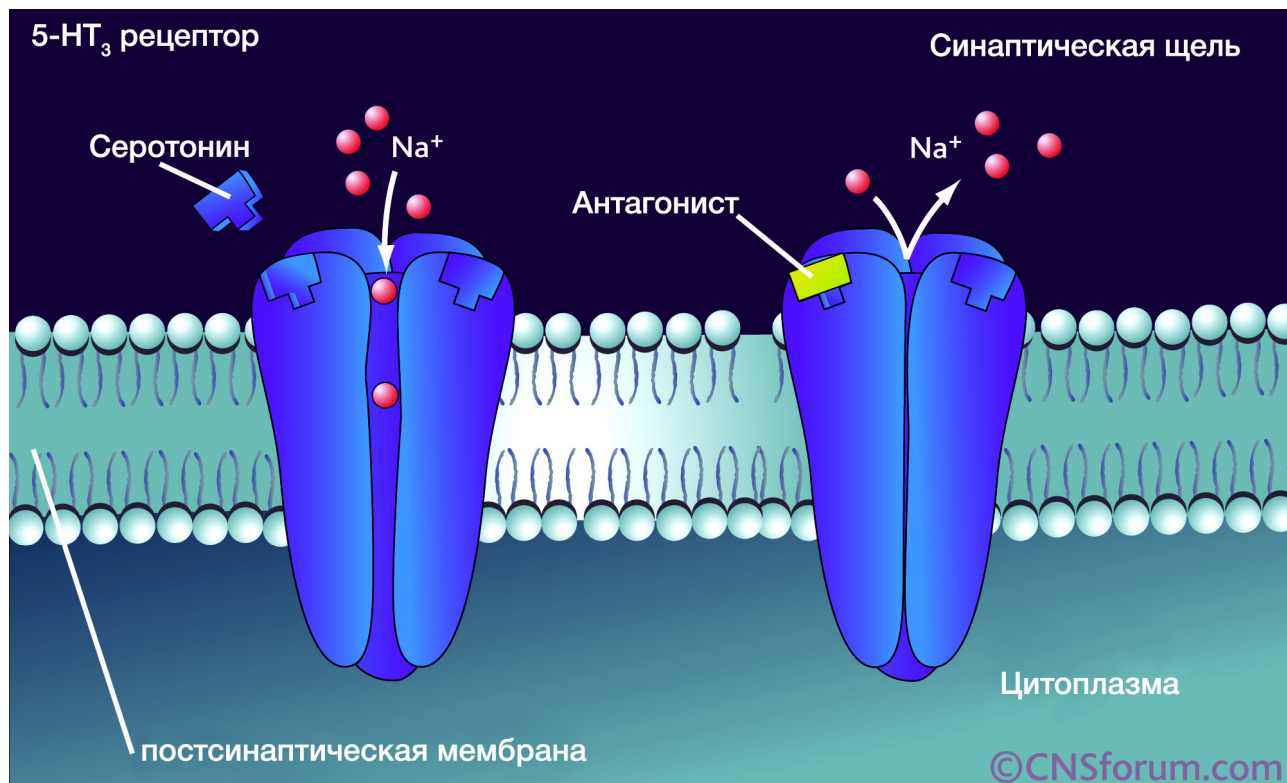


Рисунок 7 | Механизм работы 5-HT₃-рецептора. Данный ионный канал пропускает только положительно заряженные ионы (натрий, калий, небольшие количества кальция), что вызывает деполяризацию и возбуждение нейрона при его активации

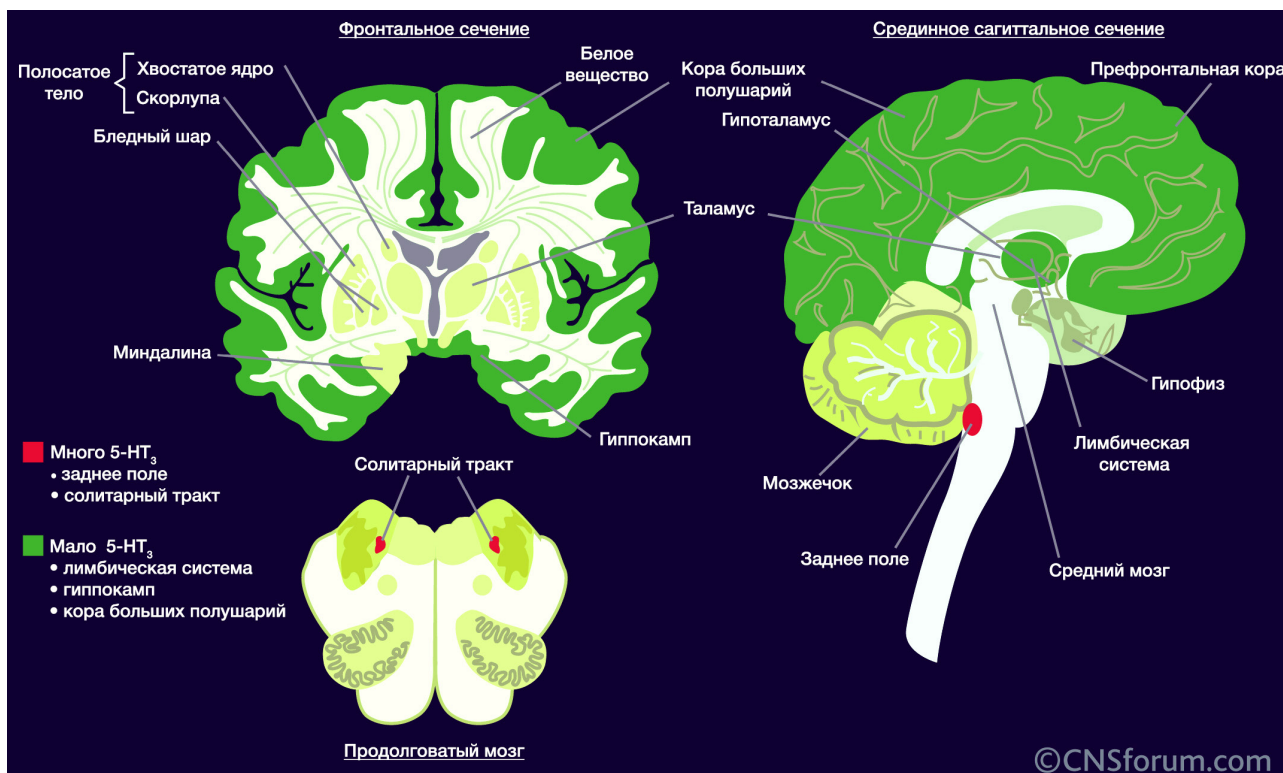


Рисунок 8 | Расположение 5-HT₃-рецептора в пределах ЦНС

могут утяжелять течение шизофрении и также понижают порог рвотного рефлекса.

5-HT_{3E}-субъединица

Изначально она была обнаружена лишь в тканях толстой кишки взрослого человека, однако потом незначительные количества содержащих ее 5-HT₃-рецепторов обнаружили в спинном мозге и сетчатке. Вполне возможно её наличие в мозге, т.к. вещества, избирательно блокирующие раскрытие 5-HT₃-рецепторов, содержащих 5-HT_{3E}-субъединицы, показали способность облегчать течение обсессивно-компульсивного расстройства.

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₄

Данный вид рецепторов является метаботропным, при активации повышающим количество цАМФ в клетке, что в свою очередь запускает каскад реакций, ведущий к выбросу нейромедиаторов. Ранее он считался «кардиоспецифичным [27]» рецептором, так как изначально был обнаружен в наибольших концентрациях в предсердных отделах проводящей системы сердца. Однако в дальнейшем 5-HT₄-рецепторы обнаружили и в других тканях и органах: ЖКТ, мочевого пузыря, надпочечники. В ЦНС: скорлупа, хвостатое ядро, прилежащее ядро, бледный шар, чёрное вещество, реже встречается в неокортексе, ядрах шва, Варолиевом мосту. Полностью отсутствуют в мозжечке. В стволе мозга 5-HT₄-рецепторы контролируют деятельность дыхательного центра. На мышах даже был проведён интересный эксперимент: им вводился фентанил в дозах, способных вызвать подавление самостоятельного дыхания, а затем вводились агонисты 5-HT₄-рецепторов (конкретнее – BIMU-8). В резуль-

тате у подопытных животных восстановилось самостоятельное дыхание, но обезболивающее действие фентанила осталось [28]. Теоретически, данный эффект можно использовать для расширения «терапевтического окна» опиоидных анальгетиков.

Вклад мутаций гена этого рецептора в развитие шизофрении достаточно противоречив, однако их связь с возникновением биполярного расстройства подтверждена достоверно.

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₅

Среди всех рецепторов серотонина этот тип является наименее изученным. Пока известно лишь то, что в геноме человека представлено 2 подтипа – 5-HT_{5A} и 5-HT_{5B}. Однако, ген второго подтипа является псевдогеном, т.к. в его последовательности содержится стоп-кодон, что делает его нефункциональным. У грызунов гены обоих подтипов рецептора являются функциональными.

Касательно расположения – методом RT-PCR (ПЦР в реальном времени) установлено, что экспрессия функционального гена 5-HT_{5A}-рецептора наблюдается лишь в мозге. Кстати, исследователей, публикующих статьи на тему данного типа рецепторов, можно поблагодарить за то, что они публикуют и негативные результаты. Например, мутации 5-HT₅-рецептора не влияют на развитие тревожных расстройств. Однако, в некоторых публикациях содержатся указания на его возможную роль в развитии шизофрении (полиморфизм Pro-15-Ser, присутствие которого увеличивает риск возникновения данного заболевания) и регуляции циркадных ритмов. На сегодняшний день достоверно установлена связь мутаций этого рецептора с т.н. «исследовательским



поведением» (exploratory behaviour), а проще говоря – любознательностью. Также исследования выявили, что у мышей, нокаутных по 5-HT_{5A}-рецептору, снижено двигательное возбуждение при введении ЛСД.

Кстати, несмотря на малую изученность, мы все хотя бы раз в жизни кушали блокаторы 5-HT₅-рецепторов. Я говорю о валерьяне лекарственной, которая содержит валериановую кислоту. Помимо позитивной аллостерической модуляции работы ГАМК-А-рецептора, это вещество также возбуждает серотониновые 5-HT₅-рецепторы, которые оказывают тормозящее действие на выброс нейромедиаторов, что также осуществляет вклад в анксиолитические и седативные эффекты экстракта валерианы.

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₆

Рецепторы данного типа обнаружены исключительно в мозге: обонятельный бугорок, прилежащее ядро, кора больших полушарий, полосатое тело, хвостатое ядро, гиппокамп, зернистый слой мозжечка. Предполагается, что он участвует в регуляции процессов запоминания, координации движений и возникновении эмоций.

Несмотря на то, что рецепторы данного типа считаются возбуждающими (при активации увеличивают уровень цАМФ в цитоплазме нейрона), их влияние на выброс других нейромедиаторов неоднозначно: нейроны, содержащие 5-HT₆-рецепторы и расположенные во фронтальной области коры, при возбуждении специфическими агонистами выбрасывают большие количества ацетилхолина и глутамата, в то время как введение антагонистов увеличивает концентрацию дофамина и норадреналина. Интересно, что активация 5-HT₆-рецепторов, расположенных на ГАМКергических нейронах, оказывает в целом тормозящий эффект, т.е. наблюдается выброс ГАМК. Неоднозначное влияние данного рецептора на процессы в ЦНС упомянуто не зря, так как его агонисты, например EDMT, несмотря на стимуляцию выброса ацетилхолина и глутамата, ухудшали процессы запоминания у экспериментальных животных: подавлялась как кратковременная, так и долговременная память. Интересно, что антагонисты 5-HT₆-рецепторов исследуются в качестве перспективных лекарств от болезни Альцгеймера и других форм когнитивной недостаточности (в настоящее время выявлено несколько мутаций гена этого рецептора, значительно увеличивающих риск развития нейродегенеративных заболеваний), а агонисты – в качестве антидепрессантов и анксиолитиков. Новый 5-HT₆ агонист E-6837 в данный момент проходит испытания на животных в качестве средства для подавления аппетита, где он показал себя более эффективным и безопасным средством, нежели использующийся в настоящее время сибутрамин.

Серотониновые рецепторы типа 5-HT₇

Эти метаботропные серотониновые рецепторы также запускают процессы высвобождения нейромедиаторов путём запуска каскада реакций фосфо-

рилирования через цепь вторичных мессенджеров, т.е. являются «возбуждающими». Изначально они были идентифицированы в качестве подтипа 5-HT₁-рецепторов, однако позже, благодаря изучению их структуры и аминокислотной последовательности, были выделены в отдельный тип.

Эти рецепторы регулируют тонус гладкой мускулатуры ЖКТ и сосудов, циркадные ритмы, процессы запоминания и обработки информации, также они участвуют в терморегуляции. Обнаруживаются в таламусе, гипоталамусе, неокортексе и гиппокампе. Интересно, что согласно последним исследованиям функции 5-HT₇-рецептора этим не ограничиваются. Более того, опыты показали, что, например, его активация может как усиливать, так и подавлять ноцицепцию. Не менее неоднозначным является факт, что мыши, нокаутные по гену этого рецептора, проявляют в опытах иное поведение, нежели животные с рецептором, заблокированным специфическими антагонистами! Бельгийские учёные в своей статье [29] предлагают следующее объяснение такому сильному различию в результатах экспериментов: при определённых условиях часть рецепторов является Gs-связанными, как и было установлено изначально при открытии 5-HT₇, однако ещё часть связывается с другими G-белками, реализуя своё действие через иные сигнальные каскады.

5-HT₇ может присутствовать в трёх различных вариантах, являющихся продуктом одного гена HTR7 и получающихся в результате альтернативного сплайсинга – 5-HT_{7(a)}, 5-HT_{7(b)} и 5-HT_{7(d)}. Между этими изоформами нет существенной разницы в связывании химических веществ – агонисты, как и антагонисты, имеют к ним одинаковый аффинитет. Различие заключается в уровнях, на которые повышается цАМФ при активации рецептора специфическими агонистами – изоформа 5-HT_{7(d)} является наиболее активной [30].

Серотониновый транспортёр (SERT)

Помимо рецепторов, не менее важным звеном серотонинергической сигнализации является серотониновый транспортёр (SERT). Он осуществляет обратный захват нейромедиаторов из синапса обратно в клетку. Интересно, что многие представляют себе этот белок в качестве свободно находящегося в цитоплазме фермента (вроде моноаминоксидазы), который «цепляет» молекулы серотонина и закачивает их обратно. Такое представление в корне неверно: этот белок заякорен на клеточной мембране. Этот белок является Na/Cl-зависимым транспортёром, переносящим серотонин вместе с ионами натрия внутрь клетки.

Он контролирует концентрацию серотонина, доступного для связывания с рецепторами. Неудивительно, что он является мишенью множества психоактивных веществ, например антидепрессантов. Подробнее механизм влияния концентрации серотонина на плотность рецепторов был уже рассмотрен выше. Стоит также отметить, что патологии (мутации, в т.ч. и SNP) связанные с этим белком-транс-

Таблица 2 | Основные характеристики серотониновых рецепторов

Тип	Под-тип	Ген	Расположение	Регулируемые функции	Группы лекарственных препаратов, влияющие на рецептор
5-HT ₁	5-HT _{1A}	HTR _{1A}	ЦНС, сосуды	Агрессия, беспокойство, аппетит, кровяное давление, рвота, тошнота, частота сердечных сокращений, эмоции, запоминание, настроение, ноцицепция, эрекция, половое возбуждение, ширина зрачка, дыхание, сон, терморегуляция, зависимость	Агонисты: обезболевющие, антидепрессанты (постсинаптические рецепторы). Антагонисты: успокоительные, антидепрессанты (пресинаптические рецепторы)
	5-HT _{1B}	HTR1B	ЦНС, сосуды	Агрессия, беспокойство, запоминание и обучение, координация движений, настроение, эрекция, половое возбуждение, тонус сосудов	Противомигренозные препараты
	5-HT _{1D}	HTR1D	ЦНС, сосуды	Беспокойство, координация движений, тонус сосудов	Противомигренозные
	5-HT _{1E}	HTR1E	ЦНС, сосуды	Неизвестно, предположительно играют роль в процессах запоминания	Неизвестны
	5-HT _{1F}	HTR1F	ЦНС	Тонус сосудов	Противомигренозные
5-HT ₂	5-HT _{2A}	HTR2A	ЦНС, ПНС, сосуды, ЖКТ, тромбоциты, гладкая мускулатура	Беспокойство, аппетит, обработка и запоминание информации, воображение, восприятие, половое возбуждение, сон, терморегуляция, тонус сосудов, зависимость	Агонисты: психоделики. Антагонисты: атипичные нейролептики, снотворные, антидепрессанты класса NaCCA
	5-HT _{2B}	HTR2B	ЦНС, ПНС, сосуды, ЖКТ, тромбоциты, гладкая мускулатура	Беспокойство, аппетит, сердечная деятельность, моторика ЖКТ, сон, тонус сосудов	Противомигренозные
	5-HT _{2C}	HTR2C	ЦНС, ПНС, ЖКТ, тромбоциты, гладкая мускулатура	Беспокойство, зависимость, аппетит, моторика ЖКТ, координация движений, настроение, эрекция, тонус сосудов, терморегуляция, сон	Агонисты: подавители аппетита. Антагонисты: антидепрессанты, стимуляторы аппетита, некоторые нейролептики
5-HT ₃		HTR3A HTR3B HTR3C HTR3D HTR3E	ЦНС, ЖКТ, ПНС	Беспокойство, зависимость, рвота, моторика ЖКТ, запоминание, тошнота	Противорвотные
5-HT ₄		HTR4	ЦНС, ЖКТ, ПНС	Аппетит, беспокойство, моторика ЖКТ, запоминание, настроение, дыхание	Прокинетики
5-HT ₅	5-HT _{5A} 5-HT _{5B} *	HTR5A	ЦНС	Координация движений, сон	Агонисты: успокоительные (валереновая кислота)
5-HT ₆		HTR6	ЦНС	Беспокойство, запоминание и обработка информации, настроение	Агонисты: некоторые антидепрессанты, успокоительные. Антагонисты: некоторые антидепрессанты и успокоительные. Ноотропные препараты и подавители аппетита
5-HT ₇		HTR7	ЦНС, ЖКТ, сосуды	Беспокойство, запоминание, настроение, сон, дыхание, тонус сосудов и терморегуляция	Антагонисты: антидепрессанты, ноотропы, успокоительные

* присутствуют только у грызунов, у человека присутствует только 5-HT_A

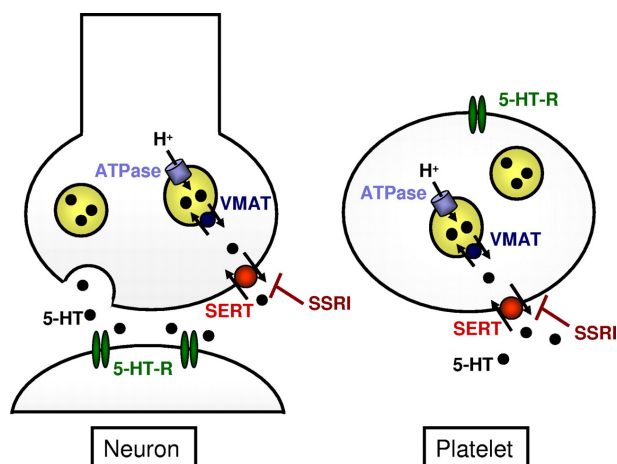
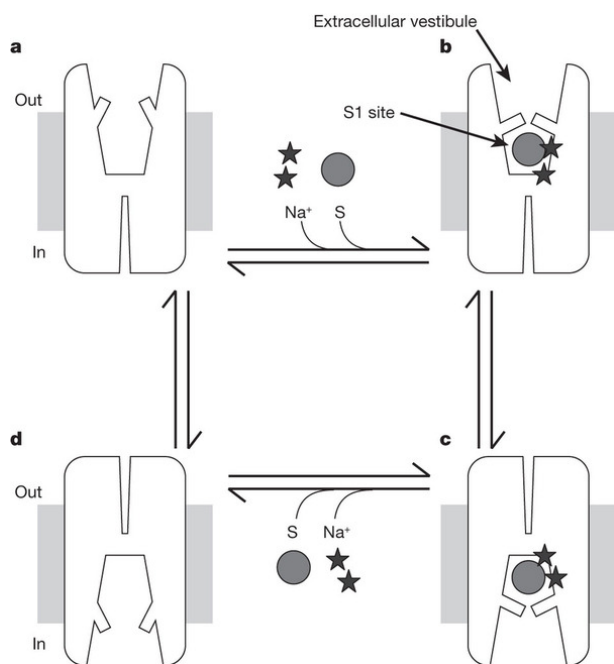


Рисунок 9 ◀ | Схема работы серотонинового транспортера (SERT)

Рисунок 10 ▲ | Участие SERT в серотонинергическом синапсе и на поверхности тромбоцитов.

портером, влияют не только на вероятность развития различных психических заболеваний (шизофрения, ОКР, биполярное расстройство, депрессия), но и на выраженность ответа на их лечение [31]. Кстати, если читатель – белый европеоид, то ему повезло – он легче перенесёт лечение антидепрессантами группы СИОЗС (сертралин, пароксетин, флувоксамин, флуоксетин, эсциталопрам). Меньше повезло азиатам – у них переносимость СИОЗС гораздо ниже, т.е. имеется больший риск развития побочных эффектов, также снижена эффективность при лечении препаратами данной группы.

Роль серотонина в свертывании крови

Как уже было описано выше, специфические рецепторы присутствуют и на тромбоцитах. При их активации серотонином запускается каскад реакций вторичных мессенджеров. Ключевую роль в них играет G-белок, который является ключевым для дальнейших биохимических реакций, которые можно разделить несколько путей:

1. Активация фактора обмена гуаниновых нуклеотидов p115 RhoGEF и лейкемия-ассоциированного фактора обмена нуклеотидов LARG. Они, в свою очередь, активируют ГТФазу RhoA. (Которая может быть активирована серотонином напрямую в ходе рецептор-независимого взаимодействия – серотонилирования, с помощью фермента трансглутаминазы. Интересно, что нахождение трансглутаминазы в тромбоцитах было установлено ещё 50 лет назад, в то время как её роль в переносе серотонина была выявлена относительно недавно). Она запускает работу Rho-ассоциированной киназы (ROCK), которая через промежуточные киназы LIMK1 и LIMK2 фосфорилирует кофилин (белок ответственный за деполимеризацию актина) и тем самым выключает его. Также ROCK путём фосфорилирования регуляторной субъединицы выключает работу MLCP (в

некоторых источниках – MYPT1, фосфатаза лёгких цепей миозина), что выражается в снижении уровня фосфорилирования самого миозина. Все эти эффекты, направленные на регуляцию белков цитоскелета, происходят ради изменения формы тромбоцита, что необходимо для их агрегации в месте повреждения кровеносных сосудов.

2. Параллельно протекает ещё один процесс. G-белок запускает работу фосфолипазы PLC-beta2/3. Фосфолипазы C расщепляют фосфатидилинозитолбисфосфат (PIP2) на диацилглицерол (DAG) и инозитолтрифосфат (IP₃). В данный момент нам интересен лишь DAG (вместе с ионами кальция, см. ниже), который запускает протеинкиназу C (PKC-alpha). Эта протеинкиназа фосфорилирует синтаксин 4 (Syntaxin 4) и SNAP-23, которые, будучи в активном состоянии, вместе с белком VAMP3 запускают процесс высвобождения везикул с сигнальными веществами. Интересно, что эти везикулы содержат в том числе и сам серотонин, чьё повышение концентрации «рекрутирует» другие тромбоциты для участия в процессе образования тромба.
3. Теперь обратимся к другому продукту работы фосфолипазы – IP₃. Он, взаимодействуя с со специфическим рецептором инозитолтрифосфата (IP₃R1), запускает высвобождение кальция из эндоплазматического ретикула в цитозоль. Ионы кальция, помимо активации вышеупомянутой протеинкиназы C, участвуют в повышении сродства рецепторов белков клеточной адгезии (интегрины бета 3, альфа 2b; комплекс интегринов альфа 2b/бета 3) к фибриногену. Этот процесс необходим для эффективного «слипания» тромбоцитов между собой и образования тромба.

Заключение

Несомненно, я бы мог рассказать уважаемому читателю об увлекательных видениях и обманах воспри-

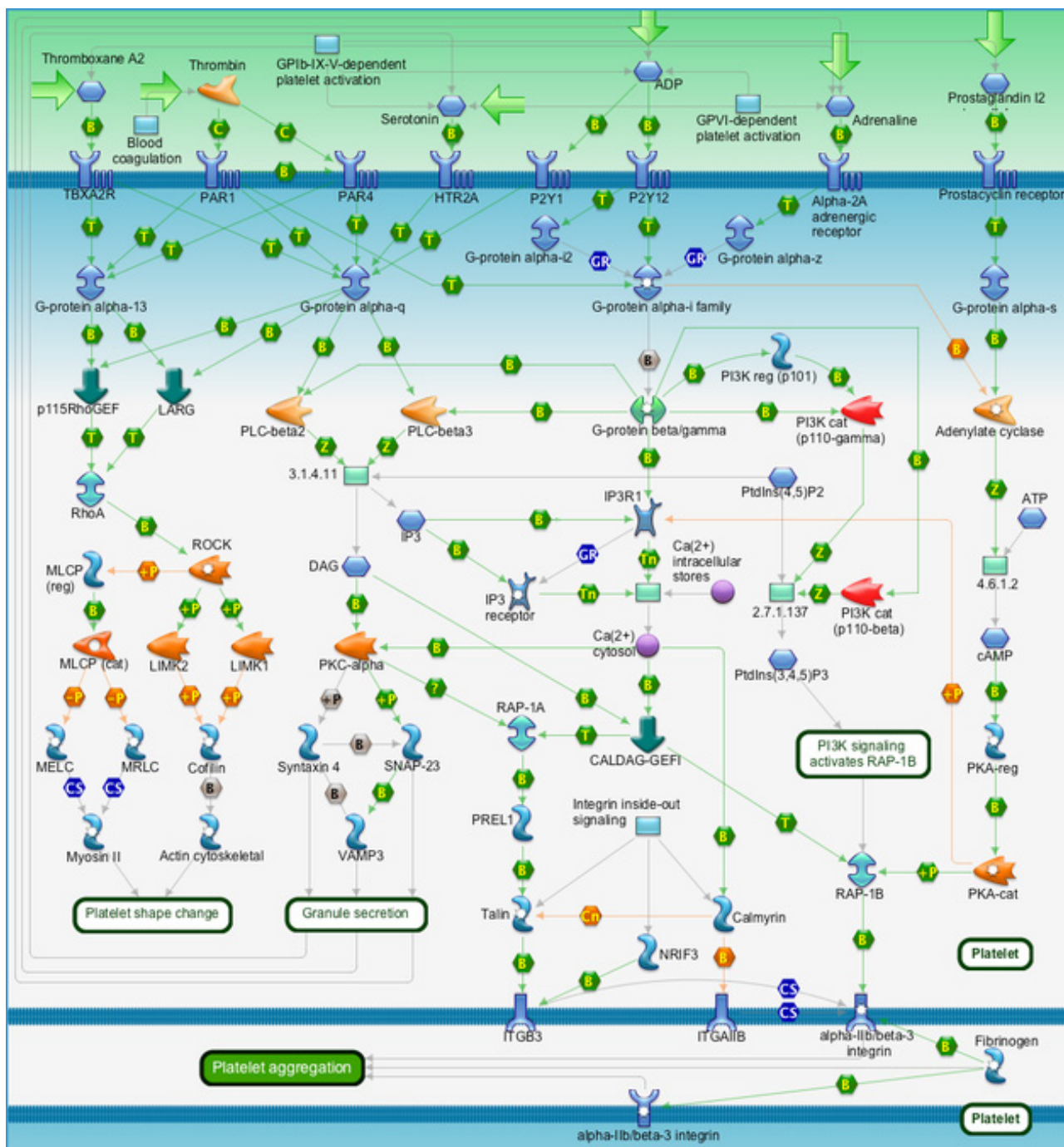


Рисунок 11 | Полная схема роли серотонина в агрегации тромбоцитов

ятия, которые человеческий мозг генерирует будучи отравленным ЛСД или мескалином. Однако, согласно современным представлениям о природе галлюцинаций, их содержание не зависит от источника их вызвавшего. Конечно, в обсуждении этой статьи обязательно появятся люди, которые будут утверждать что под 25N-nBOMe к ним приходят красные эльфы, а под 25I-nBOMe – зелёные, но это будет лишь субъективным опытом, не относящимся к широкой выборке, и, скорее всего, зависящим от сеттинга трипа. В плацебо-контролируемых рандомизированных многоцентровых исследованиях было выявлено, что вышеупомянутый 25N-nBOMe у разных людей в разной обстановке даёт совершенно разные результаты: кто-то о либеральных реформах с портретом Парфёнова

беседует, кто-то рыбок ловит, а кто-то ацтекские узоры на стенах ищет.

Кроме шуток. Многие психоактивные вещества, которые используются в медицине для лечения различных заболеваний, не являются продуктом каких-нибудь сложных SAR-расчётов, просто так звёзды сложились – внимательные клиницисты начали обращать внимание на состояние пациентов после введение противовоспалительных, сосудосуживающих или антигистаминных веществ. Сейчас, для того, чтобы разработать новое лекарство от депрессии или грозный хардкорный психоделик, валяющий с ног ветеранов DOB-оедов, не нужно несколько лет стоять за колбами и пробирками – достаточно иметь данные о трёхмерной структуре рецептора и сайтах связыва-



ния, голову на плечах и немного воображения.

Я надеюсь, что эта статья выйдет чуточку ранее 19 апреля – знаменательного для для всей психофармакологии и нейрофизиологии, когда Альберт Хоффман испытал на себе эффекты ЛСД. Именно 19

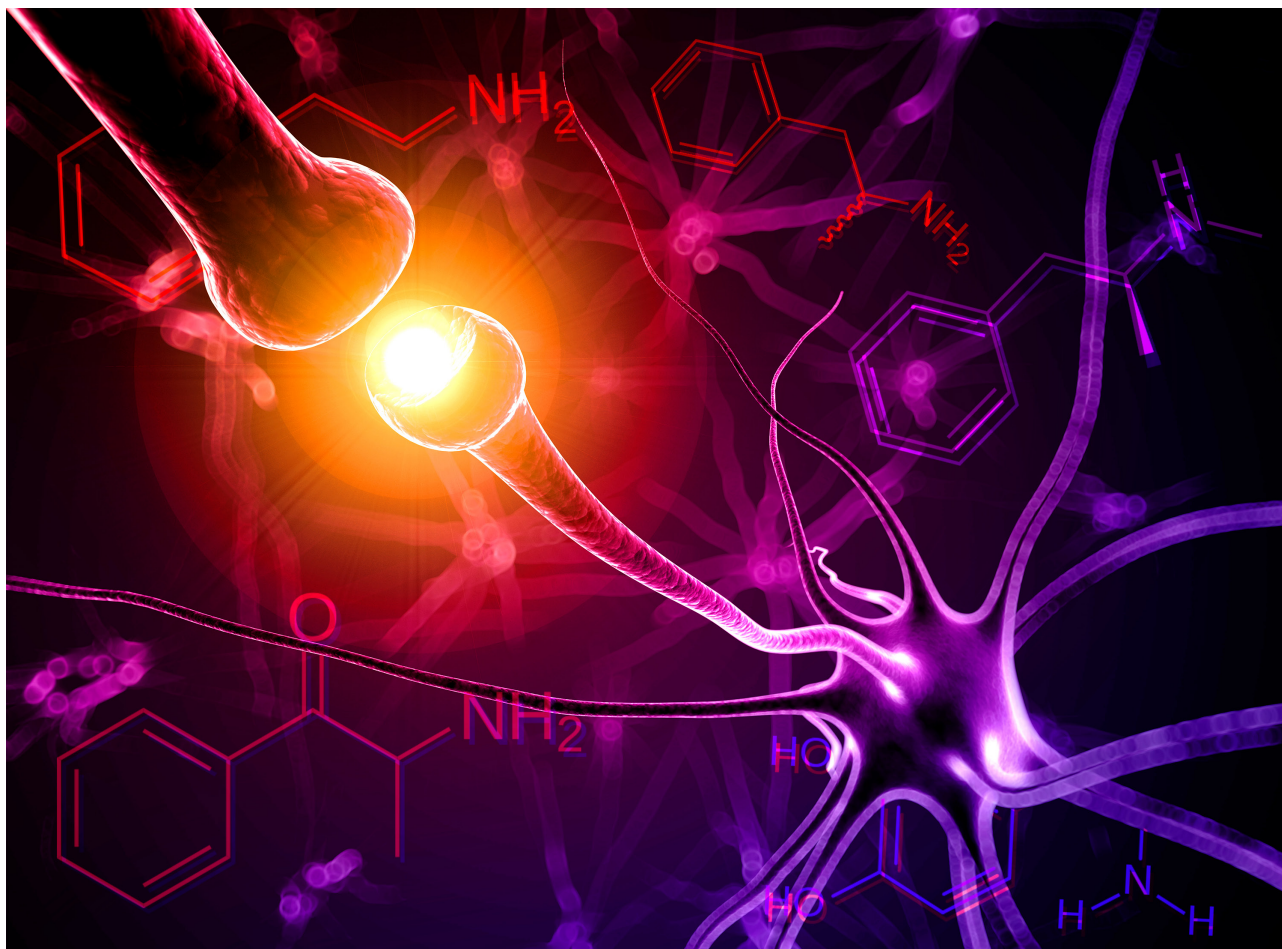
апреля миру было показано, что 100 микрограмм вещества, которые даже невооружённым взглядом увидеть трудно, способны изменить ход мыслей одного человека и ход истории для миллионов.

Список литературы

1. <http://trv-science.ru/2009/03/03/shizofreniya-kak-posledstvie-ehvoljucii-mozga/>
2. P.Khaitovich et al. Metabolic changes in schizophrenia and human brain evolution. *Genome Biology*. 2008. 9: R124. <http://genomebiology.com/2008/9/8/R124>
3. Glick SD, Maisonneuve IM, Szumlanski KK (2001). «Mechanisms of action of ibogaine: relevance to putative therapeutic effects and development of a safer iboga alkaloid congener». *Alkaloids Chem Biol. The Alkaloids: Chemistry and Biology* 56: 39–53.
4. Walther DJ, Peter JU, Winter S, Hölte M, Paulmann N, Grohmann M, Vowinkel J, Alamo-Bethencourt V, Wilhelm CS, Ahnert-Hilger G, Bader M. (2003). Serotonylation of small GTPases is a signal transduction pathway that triggers platelet alpha-granule release. *Cell*. 115(7):851-62
5. Serotonin and its metabolism in basal deuterostomes: insights from *Strongylocentrotus purpuratus* and *Xenoturbella bocki* Leah N. Squires, Stanislav S. Rubakhin, Andinet Amare Wadhams, Kristen N. Talbot, Hiroaki Nakano, Leonid L. Moroz, Jonathan V. Sweedler *Journal of Experimental Biology* 2010 213: 2647-2654; doi: 10.1242/jeb.042374
6. Qi YX, Xia RY, Wu YS, Stanley D, Huang J, Ye GY (2014). «Larvae of the small white butterfly, *Pieris rapae*, express a novel serotonin receptor». *J. Neurochem.* 131: 767–77. doi:10.1111/jnc.12940. PMID 25187179.
7. Drago A, Ronchi DD, Serretti A (August 2008). «5-HT1A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies». *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 11 (5): 701–21. doi:10.1017/S1461145707008218. PMID 18047755.
8. Shoval G, Bar-Shira O, Zalsman G, John Mann J, Chechik G (Jul 2014). «Transitions in the transcriptome of the serotonergic and dopaminergic systems in the human brain during adolescence». *European Neuropsychopharmacology* 24 (7): 1123–32. doi:10.1016/j.euroneuro.2014.02.009. PMID 24721318.
9. «Further evidence of association of OPRD1 & HTR1D polymorphisms with susceptibility to anorexia nervosa.» Brown KM, Bujac SR, Mann ET, Campbell DA, Stubbins MJ, Blundell JE. *Biol Psychiatry*. 2007 Feb 1;61(3):367-73. Epub 2006 Jun 27. PMID:16806108
10. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011 Jun;337(3):860-7. doi: 10.1124/jpet.111.179606. Epub 2011 Mar 21.
11. Toward selective drug development for the human 5-hydroxytryptamine 1E receptor: a comparison of 5-hydroxytryptamine 1E and 1F receptor structure-affinity relationships. Klein MT1, Dukat M, Glennon RA, Teitler M.
12. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2003 Apr 1;118B(1):36-40. Suicide and serotonin: study of variation at seven serotonin receptor genes in suicide completers. Turecki G1, Sequeira A, Gingras Y, Séguin M, Lesage A, Tousignant M, Chawky N, Vanier C, Lipp O, Benkelfat C, Rouleau GA.
13. Zhang C, Marek GJ (January 2008). «AMPA receptor involvement in 5-hydroxytryptamine2A receptor-mediated pre-frontal cortical excitatory synaptic currents and DOI-induced head shakes». *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32 (1): 62–71. doi:10.1016/j.pnpbp.2007.07.009. PMID 17728034.
14. <https://vimeo.com/16782003>
15. Harvey JA (2003). «Role of the serotonin 5-HT(2A) receptor in learning». *Learn. Mem.* 10 (5): 355–62. doi:10.1101/lm.60803. PMC 218001. PMID 14557608.
16. Nau F, Yu B, Martin D, Nichols CD (2013). «Serotonin 5-HT2A Receptor Activation Blocks TNF-α Mediated Inflammation In vivo». *PLOS ONE* 8 (10): e75426. doi:10.1371/journal.pone.0075426. PMID 24098382.
17. Yu B, Becnel J, Zerfaoui M, Rohatgi R, Boulares AH, Nichols CD (November 2008). «Serotonin 5-hydroxytryptamine(2A) receptor activation suppresses tumor necrosis factor-α-induced inflammation with extraordinary potency». *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 327 (2): 316–323. doi:10.1124/jpet.108.143461. PMID 18708586.
18. Moreno JL, Muguruza C, Umali A, Mortillo S, Holloway T, Pilar-Cuellar F, Mocci G, Seto J, Callado LF, Neve RL, Milligan G, Sealfon SC, López-Giménez JF, Meana JJ, Benson DL, González-Maeso J (2012). «Identification of Three Residues Essential for 5-Hydroxytryptamine 2A-Metabotropic Glutamate 2 (5-HT2A{middle dot} mGlu2) Receptor Heteromerization and Its Psychoactive Behavioral Function». *Journal of Biological Chemistry* 287 (53): 44301–44319. doi:10.1074/jbc.M112.413161. PMC 3531745. PMID 23129762.
19. Moreno JL, Holloway T, Albizu L, Sealfon SC, González-Maeso J (2011). «Metabotropic glutamate mGlu2 receptor is necessary for the pharmacological and behavioral effects induced by hallucinogenic 5-HT2A receptor agonists». *Neuroscience Letters* 493 (3): 76–79. doi:10.1016/j.neulet.2011.01.046. PMC 3064746. PMID 21276828.
20. Chambers JJ, Kurrasch-Orbaugh DM, Parker MA, Nichols DE (March 2001). «Enantiospecific synthesis and pharmacological evaluation of a series of super-potent, conformationally restricted 5-HT(2A/2C) receptor agonists». *Journal of Medicinal Chemistry* 44 (6): 1003–10. doi:10.1021/jm000491y. PMID 11300881.
21. Serretti A, Drago A, De Ronchi D (2007). «HTR2A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies». *Current medicinal chemistry* 14 (19): 2053–69. doi:10.2174/092986707781368450. PMID 17691947.



22. FEBS Lett. 1996 Aug 5;391(1-2):45-51. «Immunohistochemical localisation of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in mouse gut, cardiovascular system, and brain» Choi DS1, Maroteaux L.
23. Ebrahimkhani MR, Oakley F, Murphy LB, Mann J, Moles A, Perugorria MJ, Ellis E, Lakey AF, Burt AD, Douglass A, Wright MC, White SA, Jaffré F, Maroteaux L, Mann DA (Dec 2011). «Stimulating healthy tissue regeneration by targeting the 5-HT_{2B} receptor in chronic liver disease». *Nature Medicine* 17 (12): 1668–73. doi:10.1038/nm.2490. PMC 3428919. PMID 22120177.
24. Diaz SL, Maroteaux L (Sep 2011). «Implication of 5-HT(2B) receptors in the serotonin syndrome». *Neuropharmacology* 61 (3): 495–502. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.01.025. PMID 21277875.
25. Synapse. 2001 Oct;42(1):12-26. «Regional distribution and cellular localization of 5-HT_{2C} receptor mRNA in monkey brain: comparison with [3H]mesulergine binding sites and choline acetyltransferase mRNA.» López-Giménez JF1, Mengod G, Palacios JM, Vilaró MT.
26. Iwamoto K, Kato T (August 2003). «RNA editing of serotonin 2C receptor in human postmortem brains of major mental disorders». *Neurosci. Lett.* 346 (3): 169–72. doi:10.1016/S0304-3940(03)00608-6. PMID 12853111.
27. Krzywkowski, K., Davies, P. A., Feinberg-Zadek, P. L., Brauner-Osborne, H., Jensen, A. A. High-frequency HTR_{3B} variant associated with major depression dramatically augments the signaling of the human 5-HT(3AB) receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105: 722-727, 2008. PubMed: 18184810
28. Blondel, O., Vandecasteele, G., Gastineau, M., Leclerc, S., Dahmoune, Y., Langlois, M., Fischmeister, R. Molecular and functional characterization of a 5-HT(4) receptor cloned from human atrium. *FEBS Lett.* 412: 465-474, 1997. [PubMed: 9276448] [28] Manzke, T., Guenther, U., Ponimaskin, E. G., Haller, M., Dutschmann, M., Schwarzscher, S., Richter, D. W. 5-HT₄(a) receptors avert opioid-induced breathing depression without loss of analgesia. *Science* 301: 226-229, 2003. [PubMed: 12855812] [29] Role of the 5-HT₇ receptor in the central nervous system: from current status to future perspectives. Matthys A, et al. *Mol Neurobiol*, 2011 Jun. PMID 21424680
29. Krobert KA and Levy FO (2002) The human 5-HT₇ serotonin receptor splice variants: constitutive activity and inverse agonist effects. *Br J Pharmacol* 135(6):1563-1571. (2002). «The human 5-HT₇ serotonin receptor splice variants: constitutive activity and inverse agonist effects.». *British Journal of Pharmacology* 135 (6): 1563–71. doi:10.1038/sj.bjp.0704588. PMC 1573253. PMID 11906971.
30. *Acta Clin Croat.* 2013 Sep;52(3):353-62. Serotonin transporter gene (5-HTTLPR) polymorphism and efficacy of selective serotonin reuptake inhibitors—do we have sufficient evidence for clinical practice. Karlović D1, Karlović D2.



ФЕНЭТИЛАМИНЫ: И ЦЕЛОГО МИРА МАЛО

Автор: Anonimch

Редакция: Алексей Дорохов, Николай Лисицкий,
Михаил Повиленский

Изображения: Corni Ammonis

Опубликовано 12.05.2016.

Введение

Сегодня мы поговорим о таком известном и важном с точки зрения фармакологии классе соединений как фенэтиламины. Данный класс соединений включает в себя сотни различных веществ, обладающих целым спектром интересных свойств – начиная от адреналина, который достаточно широко используется в медицине, заканчивая веществами, чьё действие поистине хтонично и ужасно, например группа 2C**nBOMe, представители которой активны в дозировках менее 1 мг и способны отправить взрослого человека в ад на несколько часов. Главным образом, что стоит отметить, ФЭА активны не только в отношении нервной системы, но и в отношении некоторых других систем организма. Как пример стоит привести тот же адреналин – его введение при анафилактическом шоке оправдано не только с точки зрения патофизиологии (предотвращение расширения сосудов, вызванного гистамином), но и с точки зрения па-

тологической биохимии: он тормозит дегрануляцию тучных клеток. Также хорошим примером воздействия ФЭА на остальные системы организма может являться психоделик STP (он же DOM, он же 2,5-диметокси-4-метил-амфетамин) – в дозах, не вызывающих психоактивных эффектов, он проявляет себя как сильнейшее противовоспалительное вещество.

Фенэтиламины, наверное, один из немногих классов веществ, которые, будучи впервые обнаружены и охарактеризованы как эндогенные нейромедиаторы, получили широкое распространение в медицине.

Человечество познакомилось с чудодейственным и бодрящим действием психостимуляторов довольно давно – замечательное растение под названием эфедра, которая содержит эфедрин, впервые встречается ещё в китайской медицине. Её экстракты применялись для купирования приступов астмы, а в конце 19 века японский химик Нагаи Нагаёси выделил чистый эфедрин. Ну и, недолго думая, первым в мире синтезировал из него метамфетамин по известной, ставшей классической, реакции с красным фосфором и йодом в кислой среде.

Однако, исторически, всё же первым был выделен адреналин. Сначала – в виде «экстракта из венозной крови, выходящей из надпочечников», и уже позже –

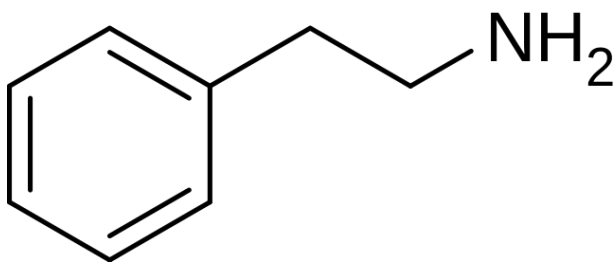


Рисунок 1 | Структура фенэтиламина, химическими производными которого является несколько сотен физиологически активных веществ

PROCEEDINGS
OF THE
PHYSIOLOGICAL SOCIETY,
May 21, 1904.

On the action of adrenalin. By T. R. ELLIOTT.
(Preliminary communication.)

In further illustration of Langley's generalisation that the effect of adrenalin upon plain muscle is the same as the effect of exciting the sympathetic nerves supplying that particular tissue, it is found that the urethra of the cat is constricted alike by excitation of the hypogastric nerves and by the injection of adrenalin. The sacral visceral nerves, on the other hand, relax the urethra of the cat. But while the hypogastric nerves relax the tension of the bladder wall in the cat, they do not cause any similar change in the dog, monkey, or rabbit: and though, as is well known¹, adrenalin inhibits the cat's bladder, this reaction is the exception in the mammalian bladder, for adrenalin does not produce any change in those of the three animals named above.

I have repeated the experiment of clean excision of the suprarenal glands and find that the animal, when moribund, exhibits symptoms that are referable to a hindrance of the activities of those tissues especially that are innervated by the sympathetic. They lose their tone; and may even fail to respond to electrical stimulation of the sympathetic nerves. The blood-pressure falls progressively, and the heart-beat is greatly weakened. And at the latest stage previous to death, though the nerves of external sensation and those controlling the skeletal muscles are perfectly efficient, the sympathetic nerves exhibit a partial paralysis of such a nature that nicotine, when injected, is unable to effect through them a rise of blood-pressure or to cause dilatation of the pupil.

¹ Lewandowsky. *Centralblatt f. Physiol.* p. 433. 1900.

PROCEEDINGS OF THE PHYS. SOC., MAY 21, 1904. xxi

This marked functional relationship of the suprarenals to the sympathetic nervous system harmonises with the morphological evidence that their medulla and the sympathetic ganglia have a common parentage¹. And the facts suggest that the sympathetic axons cannot excite the peripheral tissue except in the presence, and perhaps through the agency, of the adrenalin or its immediate precursor secreted by the sympathetic paraganglia.

Adrenalin does not excite sympathetic ganglia when applied to them directly, as does nicotine. Its effective action is localised at the periphery. The existence upon plain muscle of a peripheral nervous network, that degenerates only after section of both the constrictor and inhibitory nerves entering it, and not after section of either alone, has been described². I find that even after such complete denervation, whether of three days' or ten months' duration, the plain muscle of the dilator pupillæ will respond to adrenalin, and that with greater rapidity and longer persistence than does the iris whose nervous relations are uninjured³.

Therefore it cannot be that adrenalin excites any structure derived from, and dependent for its persistence on, the peripheral neurone. But since adrenalin does not evoke any reaction from muscle that has at no time of its life been innervated by the sympathetic⁴, the point at which the stimulus of the chemical excitant is received, and transformed into what may cause the change of tension of the muscle fibre, is perhaps a mechanism developed out of the muscle cell in response to its union with the synapsing sympathetic fibre, the function of which is to receive and transform the nervous impulse. Adrenalin might then be the chemical stimulant liberated on each occasion when the impulse arrives at the periphery.

Рисунок 2 | Публикация Эллиотта, которая определила всё развитие нейробиологии на десятилетия вперёд

в кристаллическом виде. Стоит также отметить, что исследование физиологических эффектов адреналина началось ещё на первой стадии, а на второй, когда в распоряжении исследователей оказалось чистое вещество, опыты приобрели более конкретные результаты. В начале 20 века, физиолог Томас Эллиотт впервые высказал идею химической природы нервного импульса. Он проводил опыты с никотином и адреналином, в результате которых он высказал предположения о существовании, например, везикулярного пула нейромедиаторов («Адреналин может являться химическим стимулом, который высвобождается каждый раз, как только нервный импульс достигает периферического нейрона»), существование которого будет доказано лишь спустя 50 лет.

Первые конкретные доказательства к теории Эллиотта были получены в результате работ Отто Лёви, который, проводя опыты на амфибиях, выделил непосредственно из нервной ткани *vagusstoff* и *acceleransstoff*. Структурно *vagusstoff*, замедлявший ритм сердца, оказался ацетилхолином, а *acceleransstoff*, ускорявший ритм, – адреналином.

В 30х годах 20 века начались попытки установить биохимический путь синтеза адреналина, исследования велись до 60х годов, когда перед исследователями предстала ясная и стройная картина биохимии катехоламинов. В процессе исследования, мимоходом, были открыты ДОФА, дофамин, норадреналин и несколько ферментов.

К восьмидесятым годам, когда стали известны некоторые короткоживущие интермедиаты, окончательно формируется современный взгляд на биосинтез и распад основных катехоламинов (Рис. 3, Рис. 4).

Стоит также снова упомянуть дофамин. С ним получилась довольно анекдотичная ситуация – он был получен искусственно раньше, чем был обнаружен в организме. А обнаружен дофамин был любимым путём – «Если хочешь узнать как что-то устроено – сломай». В 50х годах во время изучения механизма действия резерпина, который использовался для моделирования симптомов болезни Паркинсона, было обнаружено, что он вызывает снижение количества синаптических везикул, и в нейроне накапливается какое-то неизвестное вещество. Этим веществом оказался дофамин. Позднее, австрийский биохимик Горникевич, во время работы над качественными реакциями на катехоламины, воочию увидел снижение уровня дофамина в экстракте из полосатого тела мозга – по сравнению с ярко-розовым окрашиванием контрольных образцов, образцы мозга больных, имевших при жизни болезнь Паркинсона, давали едва различимое окрашивание.

1970 год, когда Джулиус Аксельрод и фон Эйлер получили нобелевскую премию по физиологии за изучение гуморальной регуляции активности нервных клеток, можно считать чекпойнтом. С этого момента фокус внимания исследователей начал переключаться на рецепторы открытых нейромедиаторов. Но, однако, перед этим стоит упомянуть немного об истории синтетических фенэтиламина.

Say my name

Официально первым, синтетическим фенэтиламином, является амфетамин, синтезированный румынским химиком Лазарем Эделеану. Вторым подоспел Нагаи Нагаёси, синтезировав метамфетамин из эфедрина. Как и в случае с хорошим вином, научные открытия также являются максимально полезными, когда методики «переоткрываются» кем-нибудь другим.

Амфетамин был забыт до того момента, как в 1927 году Гордон Аллес открыл его замечательные симпатомиметические свойства, а именно – удивительную способность расширять зрачок для осмотра глазного дна. Чуть позже он обратил внимание на странную бодрость пациентов после процедуры. Учёный не был бы учёным, если бы, рискуя своей жизнью и жизнью добровольцев, не предложил бы принять своим коллегам амфетамин перорально. Приняли, повеселели, оценили, описали, опубликовались. Потом их отпустило. Но Аллес на этом не остановился – он также был первым человеком, описавшим свойства МДА (метилendioксиамфетамина). Ему и этого мало было – этот прото-Шульгин отправился на Таити, где описал активные вещества кафы – кавалактоны.

Второй раз человечество решилось притронуться к амфетамину лишь в 1934 году, когда компания Smith, Kline & French (в наши дни – GSK), решила выпустить его в клиническое применение в качестве противоастматического средства и деконгестанта под маркой «Бензедрин». Пусть слово «деконгестант» не смущает читателя – амфетамин использо-

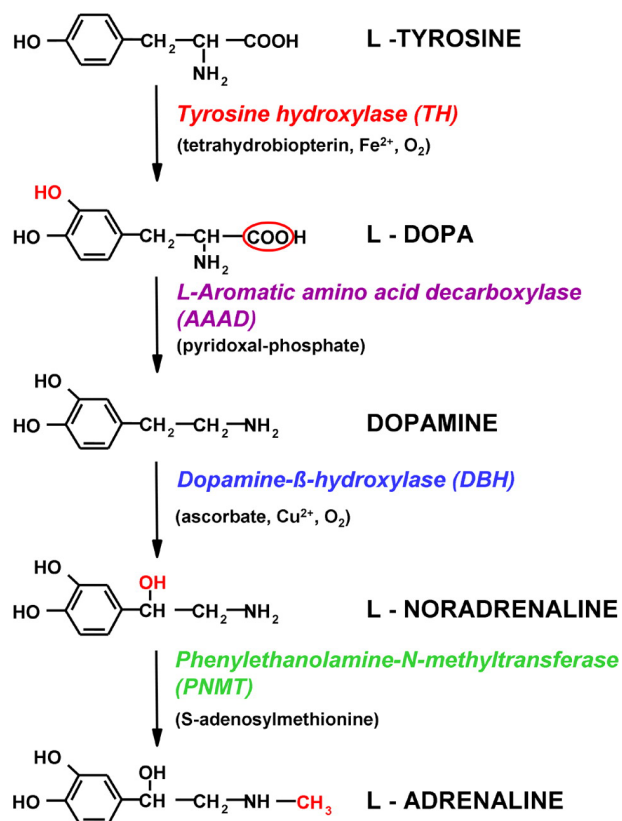


Рисунок 3 | Схема биосинтеза катехоламинов (указаны кофакторы реакций)

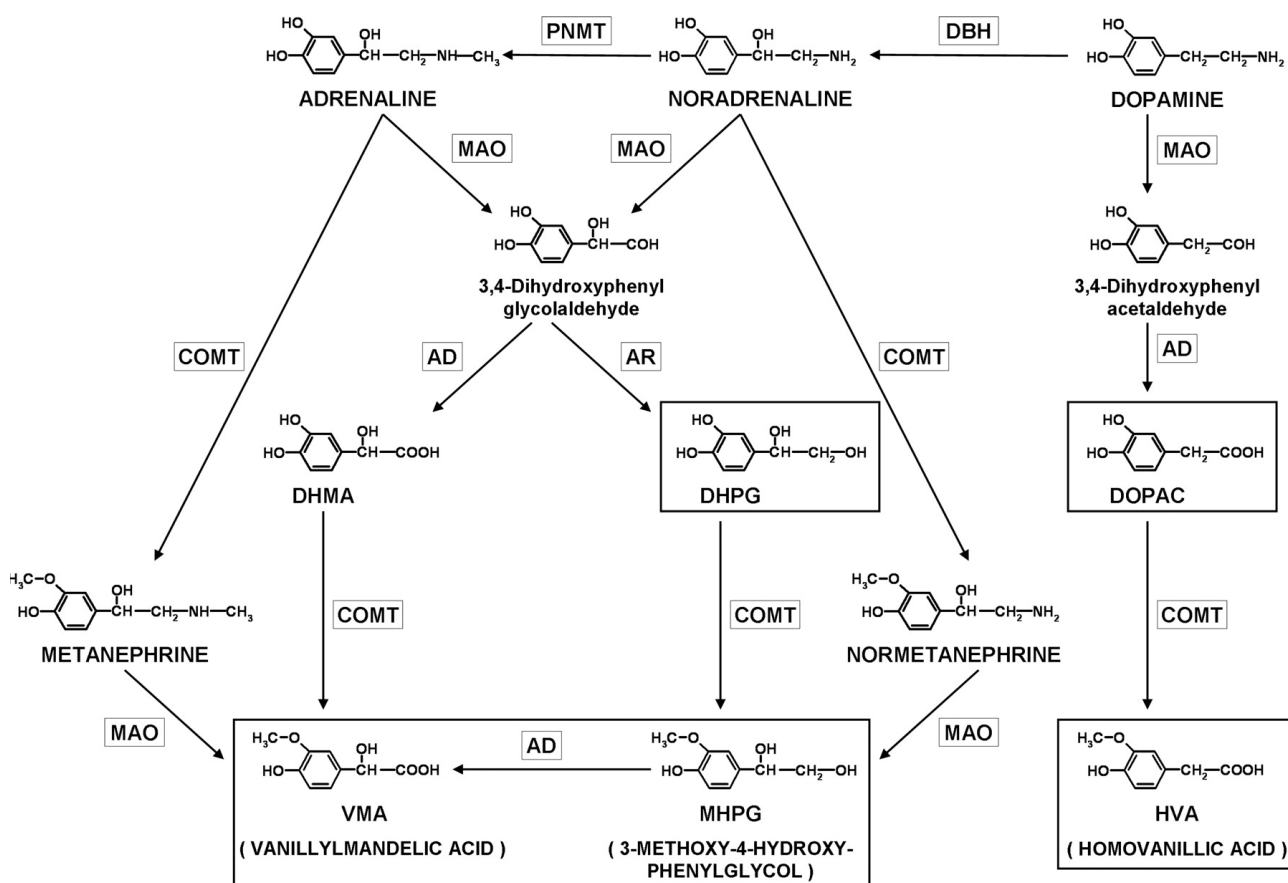


Рисунок 4 | Схема распада основных катехоламинов



Dr. Gordon A. Alles

Рисунок 5 | Meth. Not even once. Метамфетамин Гордон Аллес так и не попробовал

вался для лечения заложенности носа вплоть до 70х годов. Могу даже привести отрывок из книги Г. В. Столярова «Лекарственные психозы и психотомиметические вещества»:

В части случаев наблюдалась картина выраженного делирия, как, например, у мальчика 7,5 лет, принявшего около 300 мг фенамина в периоде реконвалесценции после фарингита. У больного отмечались обильные зрительные галлюцинации – он видел тысячи красных и зелёных гусениц, «ползающие существа» в углах комнаты, был дезориентирован, возбуждён, испытывал чувство ужаса. Отмечался резкий мидриаз, подъём температуры, нарушение координации движений. Психоз длился менее суток и закончился выздоровлением. (Наблюдение Шенсона)

Естественно, 30е и 40е годы не были для человечества спокойными – с приходом ко власти в одной из европейских стран австрийского художника-пейзажиста военные химики получили приказ создать вундерштофф. К счастью, им ничего создавать не



Рисунок 6 | Тубус с первитином



Рисунок 7 | Панцершоколад с метамфетамином

пришлось – они просто вновь вспомнили о метамфетамине, выпустив его под маркой «Первитин».

Стоит отметить, что на психостимуляторах во время второй мировой войны сидели не только немцы, но и солдаты союзников.

В этой войне также участвовал Александр Фёдорович Шульгин – будучи моряком ВМС США, он получил героическое ранение пальца. Медсестра дала ему стакан апельсинового сока, в котором было плохо размешан сахар, и Александр Фёдорович принял его за снотворное. И что самое поразительное – действительно заснул! Вот как Шульгин сам описывал этот случай:

«Приблизительно в тысяче миль от побережья Англии по неизвестной причине на моей левой руке над большим пальцем развилась серьезная инфекция. Локализовавшись в этом необычном месте, она пошла по тканям непосредственно к кости. Это было очень болезненно, так что я стал предметом внимания судебного врача нашего судна, нежно именуемого

Помощником Язвы. Курс лечения преследовал простую цель: меня было нужно защитить от боли. Как мне сказали, хирургическое вмешательство было в моем случае абсолютно необходимо, однако не было никакой возможности осуществить это в море. Так что состояние моего большого пальца постоянно ухудшалось, как и наш рацион в Ирландском море, пока мы приближались к Англии, и мне регулярно делали скромные инъекции морфия. Так я впервые узнал, как наркотик воздействует на восприятие боли. Человек с иглой прерывал хорошую партию в покер, чтобы спросить, как я себя чувствую. Я смотрел на свой палец и говорил «немного хуже» или «немного лучше» и протягивал руку для очередного укола, а затем снова погружался в перипетии покера. Я знал, что боль не исчезала, и я мог бы с точностью определить ее интенсивность, но она уже не беспокоила меня. Я мог играть в покер, мог прикидывать расклад, мог оценивать карты противника, мог блефовать, выигрывая чаще, чем раньше. Мой палец ужасно болел, но боль не мешала мне. Эта мысль завораживала меня: оказывается, что можно страдать, находиться в агонии, однако толика химического вещества, полученного из собранных где-то цветов мака, может сделать все эти страдания несущественными. Вот что кроется за словами центральная анальгезия. Боль не ослаблена, она не исчезает. Участок воздействия — не большой палец, а, скорее, мозг. Проблема просто больше не вызывает беспокойства. Морфий — просто замечательный наркотик. [...] Затем прибыла похожая на большое чудовище санитарная машина. На ней меня перевезли из Ливерпуля в Уотертаун и вручили армейским врачам в белых халатах. Молоденькая медсестра решила принести мне стакан апельсинового сока, чтобы я утолил свою жажду. Но на дне стакана я разглядел слой нерастворенных белых кристаллов. Я не собирался быть обманутым сухопутными крысами! Очевидно, сок был искусственным прикрытием для какого-то жуткого успокоительного средства или предоперационного анестетика, который, как ожидалось, должен был унять меня, чтобы я не волновался по поводу медицинских процедур, которые планировалось проводить со мной. Не признавая власть белых кристаллов над собой, я решил доказать свою мужественность и показать, что контролирую ситуацию. Я выпью всю смесь до дна, но останусь бодрствовать и следить за происходящим. Меня привезут в операционную как внимательного моряка, бросившего вызов армейским хирургам своим аналитическим восприятием и вездливными вопросами, которые покажут им целостность моей психики. Мой настрой не сработал. Не растворившийся в апельсиновом соке наркотик оказался довольно эффективным, потому что я уступил ему и оказался в абсолютно бессознательном состоянии. У меня не осталось никаких воспоминаний о внутривенном анестетике «пентотал», который мне назначили перед операцией. Потом мне рассказали, что мне потребовалось целых полчаса, чтобы отойти от этого наркотика, чего никогда раньше не случалось. [...] А вот второй факт оказался на редкость

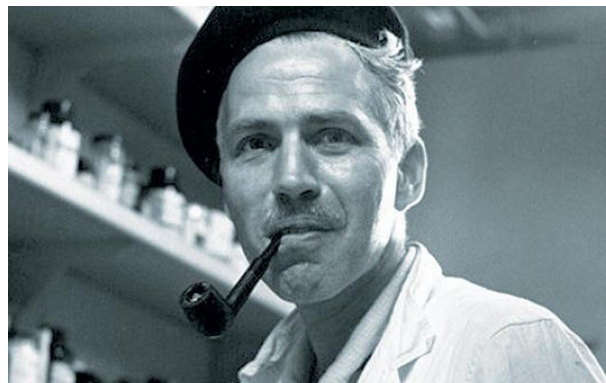


Рисунок 8 | Шульгин на море

неожиданным. Он положил начало моей карьере психофармаколога. Мне сообщили, что «наркотик» белого цвета, который лежал на дне моего стакана с апельсиновым соком и который поверг меня, собиравшегося следить за происходящим и защищаться, в коматозное состояние, которое позволило хирургу проделывать со мной все, что угодно, был всего-навсего не растворившимся сахаром. Какой-то грамм сахара сделал меня бессознательным, потому что я твердо ожидал именно этого действия. Сила обычного плацебо, способного радикально изменить состояние сознания, оказала на меня сильное впечатление. Участие разума в том, что случилось со мной, было, без сомнения, реальным, и я решил, что, возможно, его роль и была главной.»

Вот с такого вот казуистического случая началась эра синтетических фенэтиламина.

Так как же оно работает?

Рассматривать механизм действия большинства ФЭА легче всего с дофамина.

Данный нейромедиатор является для человека главным «пряником» — участвуя в реакциях подкрепления, побуждает к совершению определённых действий. Например, к поиску вкусной пищи, полового партнёра, самоутверждению и получению различных удовольствий.

Механизм его выброса довольно прост. Синтезированный из леводобы дофамин аккумулируется в синаптических пузырьках с помощью белка VMAT2 – везикулярного транспортера моноаминов. Затем синаптические пузырьки с дофамином, высвобождаются в межсинаптическое пространство при прохождении потенциала действия. Пузырёк (везикула) с дофамином в данном случае «сливается» с мембраной и высвобождает своё содержимое.

После присоединения к рецептору его активации, дофамин отсоединяется от него и захватывается

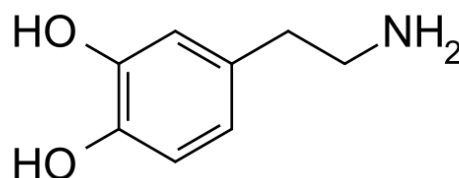


Рисунок 9 | Дофамин

ся DAT (дофаминовый транспортёр) или PMAT (мембрана-связанный транспортёр моноаминов). Данные белки осуществляют обратный захват дофамина в цитозоль, где он может быть разрушен моноаминоксидазой, либо повторно (благодаря VMAT2) транспортирован внутрь синаптических пузырьков.

G_s -связанный механизм действия означает передачу сигнала внутрь клетки путём активации аденилатциклазы и повышения уровня цАМФ, G_i/G_o -связанный механизм – наоборот, путём ингибирования аденилатциклазы и, соответственно, последующего снижения концентрации цАМФ.

Самыми распространёнными в нервной системе являются D_1 -рецепторы, менее распространёнными – D_4 и D_5 .

Также стоит отметить, что у D_2 -рецептора путём альтернативного сплайсинга могут быть 3 изоформы: D_{2Lh} , т.н. «длинная» форма, имеющая больший молекулярный вес и располагающаяся постсинаптически, и «короткая» форма D_{2Sh} , расположенная пресинаптически. Третья изучена плохо. Ещё, по D_2 -рецептору, стоит упомянуть полиморфизм C957T, в гене его кодирующем. C957T означает, что в позиции 957 цитозин заменён на тимин. Однако, это не влияет на замену самой аминокислоты, кодируемой триплетом, где находится этот «синонимичный полиморфизм». Данная замена влияет лишь на стабильность мРНК – мутантный вариант более подвержен спонтанному гидролизу. Соответственно, даже при нормальном уровне транскрипции, уровень синтеза белка D_2 -рецептора будет снижен, что может привести к некоторым психическим (шизофрения, ранний паркинсонизм, ПТСД) и нейрохимическим (атипичная реакция на никотин, амфетамин, антипсихотики) нарушениям.

Соответственно, исходя из здравого смысла и наблюдений, лигандами рецепторов к дофамину и дофаминового транспортёра может быть не только сам дофамин, но и вещества, близкие к нему по строению, имеющие общий «фармакофор». Фармакофор – это набор структурных и химических свойств молекулы, обуславливающий сродство к определённому белку-рецептору.

Одним из таких лигандов является амфетамин. Как мы видим, он, дофамин, метамфетамин и норадреналин, имеют общий мотив в своей структуре:

Это означает, что любое вещество, отвечающее таким параметрам и имеющее общие черты, может быть лигандом рецептора и вызывать биологический ответ той или иной степени. К таким чертам относятся: бензольное кольцо (незамещённое по 2,5 положениям, незамещённое по 4-положению – иначе сродство соединения сдвигается в сторону серотониновых рецепторов и серотонинового же транспортёра), этиламинный остаток (иногда с метильной группой по альфа-положению, иногда – с довольно электроотрицательным атомом (кислород или, очень редко, сера) по бета-положению), на аминогруппе этиламинного фрагмента может быть короткий фрагмент – метил, этил, реже – пропил или

Таблица 1 | У человека имеется 5 типов дофаминовых рецепторов

Группа	Тип	Расположение в синапсе	Механизм действия
D_1 -подобные	D_1	Постсинаптически	G_s -связанный
	D_5		
D_2 -подобные	D_2	Постсинаптически и пресинаптически	G_i/G_o -связанный
	D_3		
	D_4	Постсинаптически	

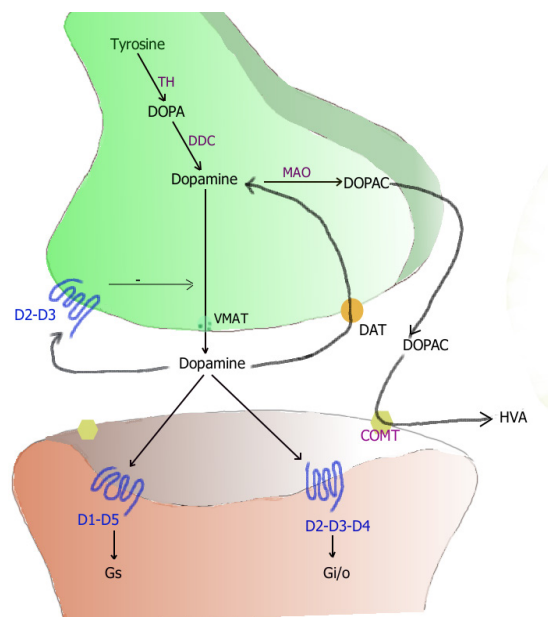


Рисунок 10 | Дофаминергический синапс

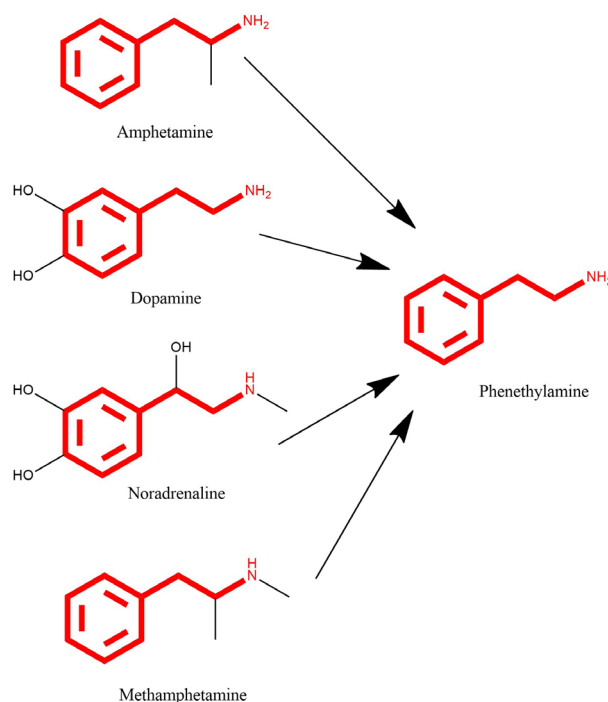


Рисунок 11 | Фенэтиламинный фармакофор в структурах амфетамина, метамфетамина, дофамина и норадреналина

4,5,6-членный гетероцикл, сама же аминогруппа может быть «замкнута» на бета-атом этиламинового фрагмента (пример – аминорекс, фенментразин, дифенментразин, пемолин). Также следует учесть, если аминогруппа находится в непосредственной близости к сильно электроотрицательным атомам, то соединение скорее всего неактивно.

На этом моменте, у некоторых читателей может непроизвольно вырваться крик «Ты что, с ума сошел?». Спокойно, сейчас всё объясню. Смотрим последовательно на рисунки 11-15.

Таким образом, теоретически возможно существование лигандов, формирующих постоянные (ковалентные) связи с белком-рецептором. Однако, к сожалению, необратимых блокаторов/агонистов дофаминовых рецепторов и транспортера пока что не изобрели.

В какой-то степени это обидно, именно с научной стороны. Наверное, многие нейробиологи хотели бы увидеть, что будет с нейроном при максимально возможной активации дофаминергической передачи. Наверное, это было бы как салют – ярко, красиво, но не очень долго.

Список литературы

1. «Towards a biophysical understanding of hallucinogen action», Michael Robert Braden, Purdue University – рекомендуется к обязательному прочтению всем, кто интересуется данной темой
2. «NEUROCHEMISTRY OF CONSCIOUSNESS», Edited by E. Perry, H. Ashton and A. Young
3. «Основы нейрофармакологии», Белова Е. И.
4. «PiHKAL», А. Ф. Шульгин

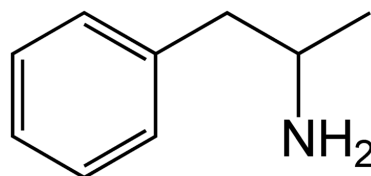


Рисунок 11 | Классический амфетамин

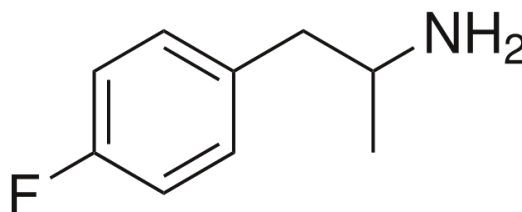


Рисунок 12 | 4-фторамфетамин, воздействующий также и на серотониновые рецепторы

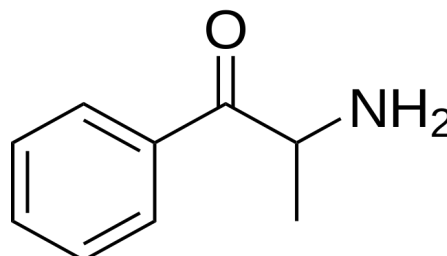


Рисунок 13 | Меткатинон, имеющий кислород по бета-положению в этиламинном фрагменте

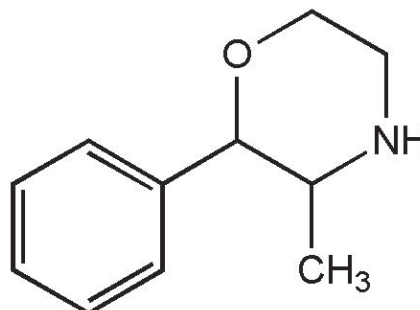


Рисунок 14 | Фенментразин, случай, когда аминогруппа замкнута на кислород в бета-положении

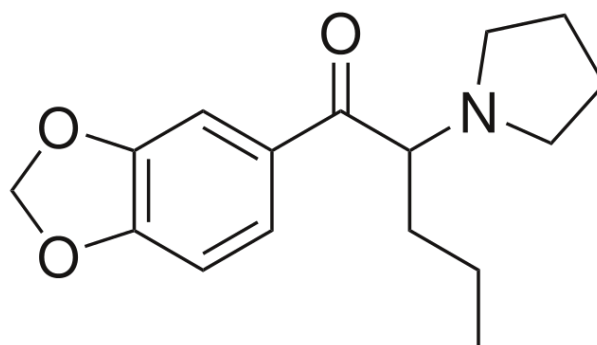
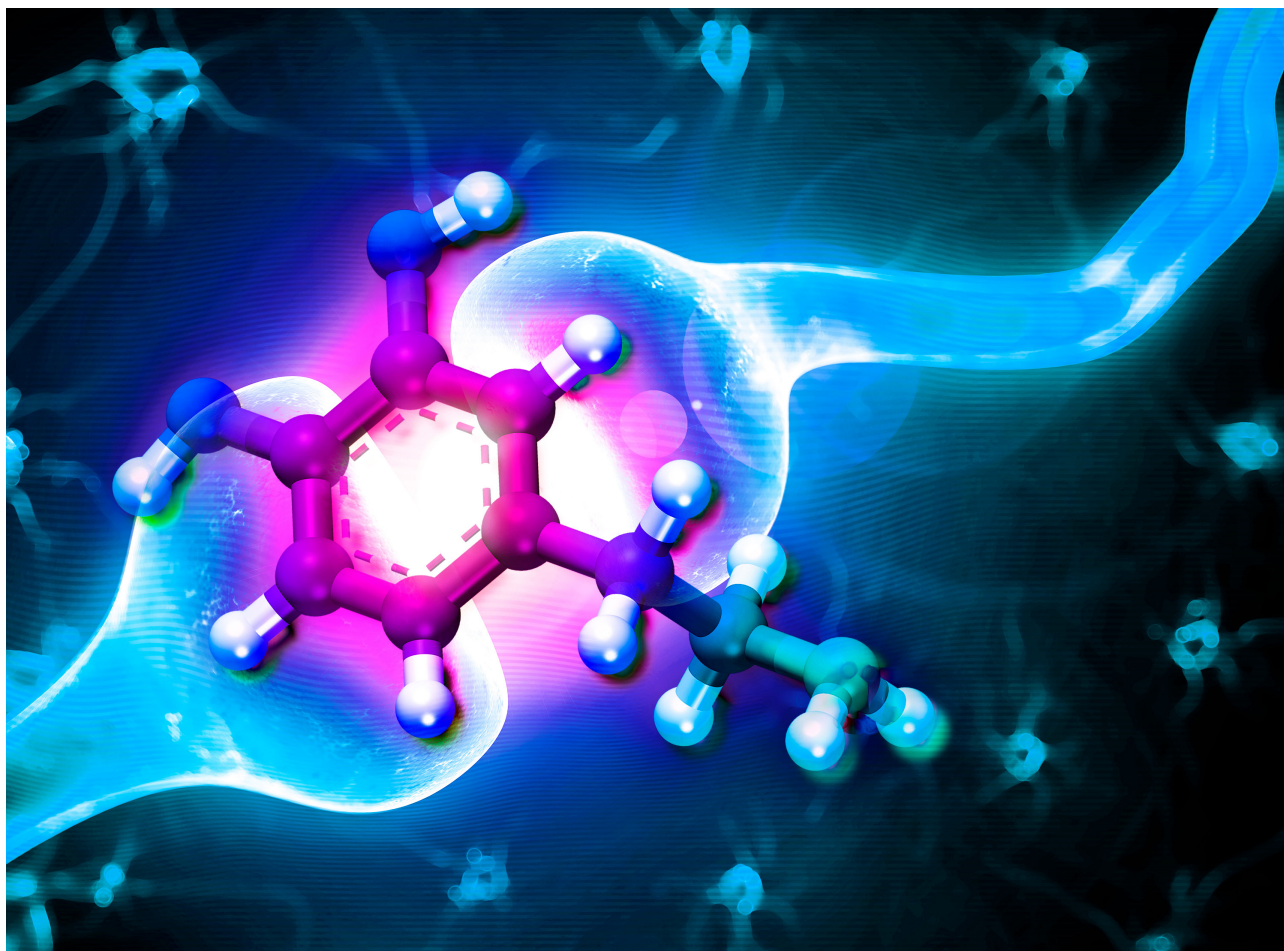


Рисунок 15 | МДПВ, метилendioксипировалерон. Психостимулятор, в котором присутствует и кислород в бета-положении, и аминогруппа замкнута сама на себя через пятичленный пирролидиновый гетероцикл



ДОФАМИН:

ТО, РАДИ ЧЕГО Я ВСТАЮ УТРОМ С ПОСТЕЛИ

Автор: Anonimch

Редакция: Николай Лисицкий, Михаил Повиленский, Алексей Дорохов, Deepest Depths

Изображения: Станислав Кирсанов, Corni Ammonis

Опубликовано 12.05.2016.

Введение

В моей предыдущей статье о фенилэтиламинах я незаслуженно обошёл дофамин вниманием. Безусловно, такой важный гормон заслуживает гораздо более внимательного рассмотрения.

Ведь тут как? Человек в области мотивации мало чем отличается от ослика: морковку держат – зверюшка идёт, морковку убрали – не идёт, а пришла зверюшка – так и быть, держи морковку! Никакой иной системы мотивации для вас эволюция не придумала, увы. Даже великие подвиги, которые свершались якобы ради «великих идей», были лишь попыткой заставить свой мозг дать ещё немного дофамина. Конечно, большинство из нас получает положительное подкрепление способами, мало чем отличающимися от таковых у ослика: секс, еда, секс, еда, доминирование, еда, еда. У некоторых людей уровень дофамина повышается от совершения весьма специ-

фических действий – создания предметов искусства или, видел таких лично, запаха волос чужих людей.

В предыдущей серии я уже упоминал, что связь недостатка уровня дофамина с болезнью Паркинсона была установлена Горникевичем с помощью достаточно простой цветной реакции. Однако, роль дофамина в качестве нейромедиатора выявил другой учёный – Арвид Карлссон (Нобелевская премия по физиологии и медицине за 2000 год). До него дофамин считался лишь прекурсором норадреналина, а не сигнальным веществом. Именно в опытах Карлссона с резерпином, о которых также упоминалось в предыдущей статье, и была установлена прямая связь между уровнем дофамина и двигательными функциями.

С развитием биохимии и молекулярной биологии появилась возможность детальнее изучить функции этого нейромедиатора. Начиная от его роли в координации движений и заканчивая объяснением действия некоторых антипсихотиков и психостимуляторов. Также многие исследователи рассматривают нарушения обмена этого нейромедиатора в качестве одной из причин шизофрении, т.е. существует «дофаминовая теория шизофрении».

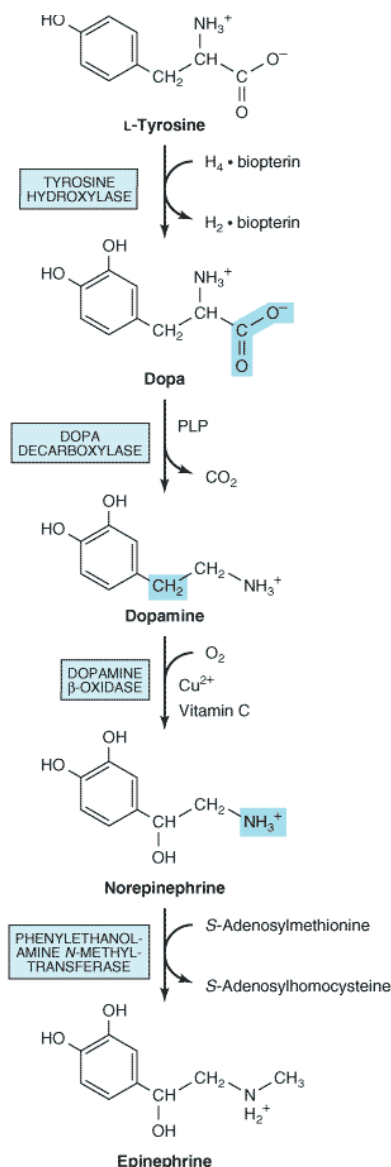


Рисунок 1 | Синтез дофамина и остальных катехоламинов

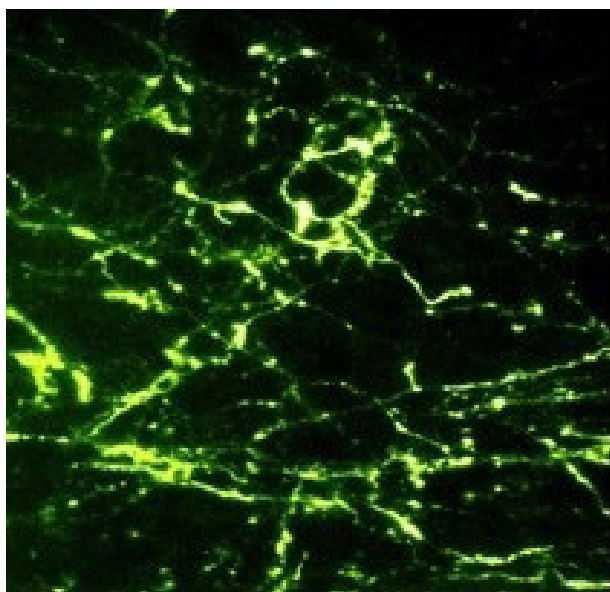


Рисунок 2 | Дофамин в нейронах, окраска по Falck-Hillarp

Метаболизм дофамина

Как и у многих других катехоламинов, его путь начинается с фенилаланина и L-тирозина, которые гидроксилируются (фенилаланин по 3 и 4 положениям, тирозин – только по 3), таким образом, превращаясь в 3,4-дигидроксифенилаланин (он же – ДОФА). ДОФА в свою очередь декарбоксилируется ДОФА-декарбоксилазой и превращается в дофамин. Небольшое отступление — от названия своего предшественника дофамин и получил такое название – ДигидроОксиФенэтилАмин. ДоПамин является неправильным, пусть и распространённым, написанием (возникшим в результате буквального переписывания англоязычной литературы).

Дальнейший метаболизм дофамина может пойти двумя основными путями:

1. Превращение в норадреналин и адреналин;
2. Расщепление.

И если стадии синтеза норадреналина и адреналина уже рассматривались ранее, то на катаболизме дофамина следует подробнее остановиться.

В основном дофамин дезаминируется MAO до 3,4-дигидроксифенилацетальдегида (DOPAL), который с помощью альдегиддегидрогеназы (ALDH) и катехол-О-метилтрансферазы превращается в гомованилиновую кислоту (HVA), являющуюся конечным продуктом основного пути распада дофамина. Однако, существует и альтернативный путь – превращение DOPAL в DOPET (3,4-дигидроксифенилэтанол) и затем в MHPE (3-метокси-4-гидроксифенилэтанол). Здесь конечным метаболитом является именно MHPE. Его роль в организме не до конца выяснена, однако замечено, что его уровни повышаются при приёме дисульфирама, который выступает в качестве блокатора различных форм альдегиддегидрогеназы (ALDH).

Рецепторы дофамина и история их открытия

Изначально локализация дофаминергических структур была выявлена в мозге путём окрашивания различных срезов мозга по методам Falck-Hillarp [1]: гистохимический метод, заключающийся в появлении флуоресценции у дофамина и норадреналина при их взаимодействии с формальдегидом и последующим их превращением в соответствующие изохинолины (Рис. 2).

И Fink-Heimer [2,3]: тоже гистохимический метод, который заключается во введении экспериментальному животному 6-OHDA (6-гидроксидофамин – нейротоксин, накапливающийся благодаря DAT, дофаминовому транспортеру, исключительно в дофаминергических нейронах) и последующим выявлением с помощью серебра нейронов, уничтоженных 6-OHDA за 24 часа (Рис. 4).

Такие методики окрашивания имели мало общего с опытами Горникевича, так как позволяли выявить не только собственно наличие дофамина, но локализацию отдельных нейронов, его содержащих.

Опыты на мышах, с прямым введением дофамина



В настоящее время дофаминовые рецепторы, благодаря детальному изучению их структуры и генов, ответственных за их разнообразие, разделены на пять типов. Однако, основное деление на возбуждающие и тормозящие всё ещё имеет место. Возбуждающие – D_1 , D_5 . Вместе они составляют группу D_1 -подобных. Тормозящие – D_2 , D_3 , D_4 , общее название группы – D_2 -подобные. Все дофаминовые рецепторы являются метаботропными, влияющими на уровень цАМФ в нейроне.

Интересной особенностью дофаминовых рецепторов также является наличие большого числа изоформ, возникающих в результате альтернативного сплайсинга и посттрансляционной модификации.

Возбуждающие дофаминовые рецепторы

Дофаминовые рецепторы 1 типа

Они расположены преимущественно в хвостатом ядре полосатого тела, прилежащем ядре и обонятельном бугорке. Несмотря на то, что они являются исторически первыми выделенными рецепторами, их функции достаточно сложны и разнообразны. Веселая добавляет тот факт, что D₁-рецептор способен к, казалось бы, парадоксальной гетеромеризации с тормозящими D_{2,3}-рецепторами, мю-опиоидными и H₃-гистаминовыми рецепторами.

Механизм их работы таков: активация аденилатциклазы ведёт к повышению уровня цАМФ, который в свою очередь запускает работу протеинкиназы А. Она, в свою очередь, может либо выполнить фосфорилирование DARPP-32, которая выступает положи-

тельным модулятором NMDA-зависимого пути фосфорилирования CREB, либо переместиться в ядро клетки и напрямую активировать CREB (цАМФ-зависимый транскрипционный фактор). CREB запускает экспрессию различных генов: BDNF, тирозингидроксилаза, c-fos, Arc, соматостатин, энкефалин, VGF, KPG.

Из огромного перечня гормональных процессов, запускаемых активацией D₁-рецептора, стоит выделить запуск экспрессии c-Fos. Этот белок связывают с возникновением долговременных адаптивных изменений в ЦНС, а именно – в формировании реакций подкрепления. Например, его уровень повышается в андроген-чувствительных нейронах млекопитающих после совершения полового акта. Наиболее ярко это выражается в примере с наркотической зависимостью – в этом случае также наблюдается повышенная экспрессия c-Fos в нейронах мезолимбического пути.

В этом смысле нейроны, на которых присутствуют дофаминовые рецепторы, являются «конечной стан-

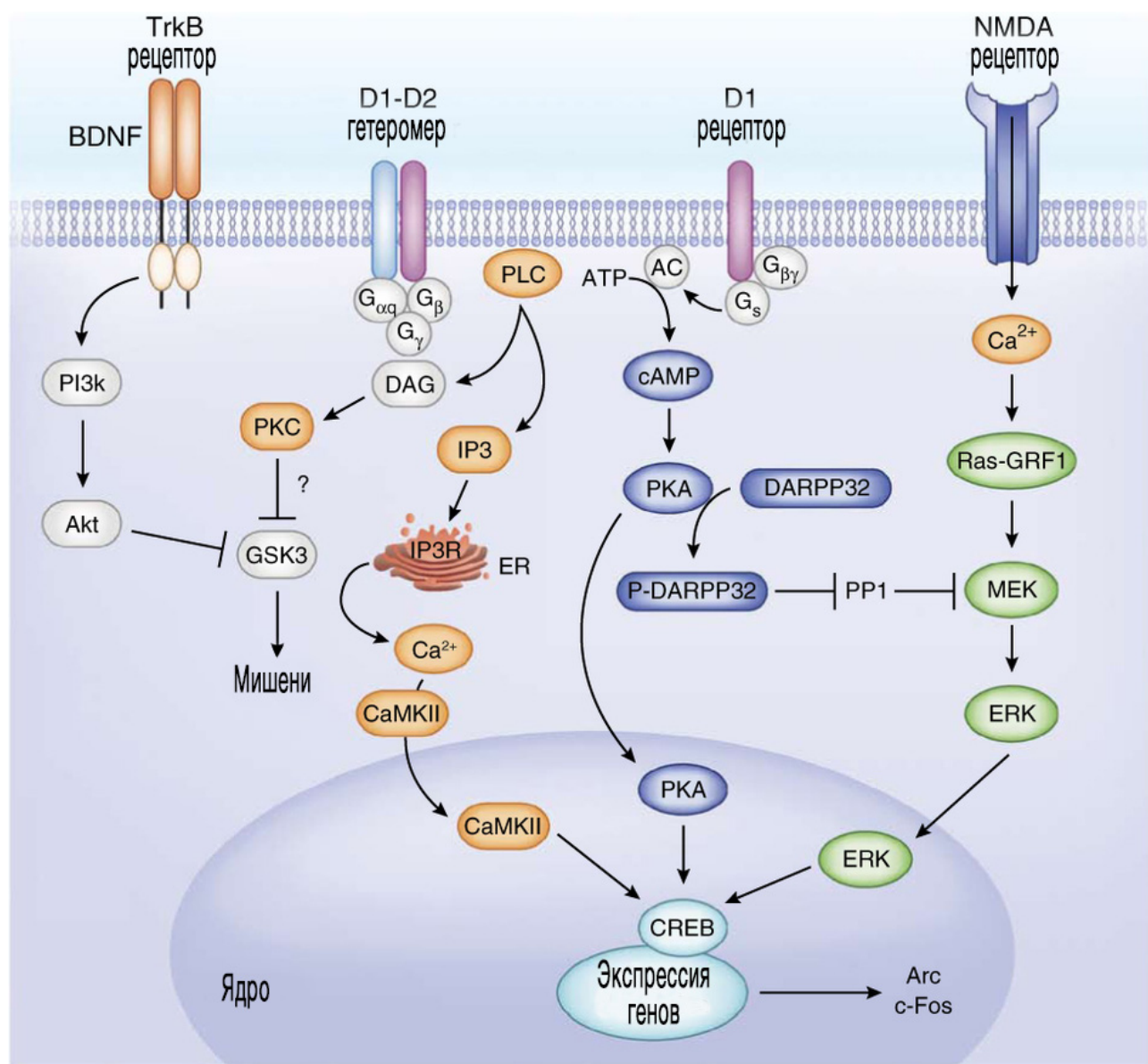
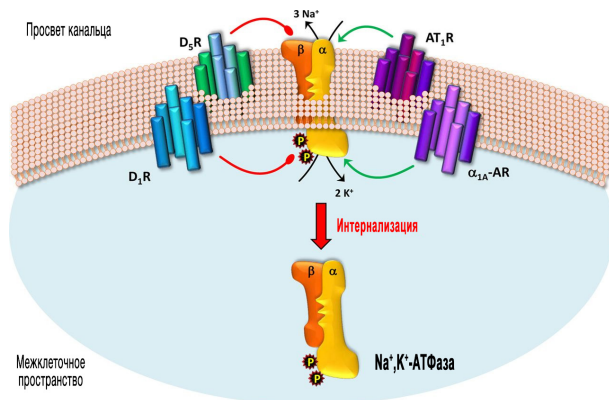


Рисунок 5 | Механизм работы дофаминового рецептора 1 типа

Рисунок 6 | D₁ и D₅ рецепторы в почках

цией» пути передачи нервного сигнала классическими низкомолекулярными нейромедиаторами, т.к. при активации D-рецепторов не запускается дальнейшего их высвобождения в межсинаптическое пространство, а происходит «медленный» синтез регуляторных пептидов. Исключение составляют почки, в клетках которых дофаминовые рецепторы регулируют проницаемость мембран для ионов натрия.

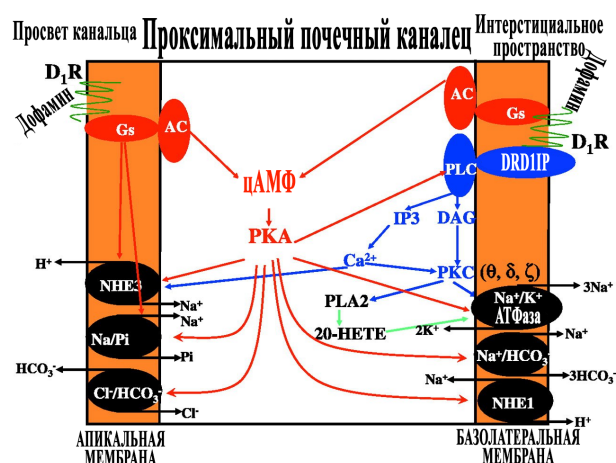
Показано [5], что хронический стресс уменьшает плотность D₁-рецепторов, что в свою очередь может негативно влиять на эмоциональный фон и когнитивные способности за счёт снижения экспрессии нейрорепластических факторов, напр. BDNF.

В настоящее время выявлен полиморфизм rs6886, имеющий статистически значимую корреляцию с риском развития табачной и алкогольной зависимости, однако его вклад в развитие психических заболеваний пока под вопросом. Лишь полиморфизм rs4532 прочно ассоциирован с шизофренией.

Несмотря на большое влияние механизмов, запускаемых активацией D₁-рецептора, у мышей, лишённых гена данного рецептора, не выявлено серьёзных анатомических отличий мозга от нормы. Однако, у них наблюдался низкий уровень энкефалина и нарушенная координация движений.

Дофаминовые рецепторы 5 типа

Исторически дофаминовые рецепторы нумеровали не по функциям, а по времени открытия. Конкретно этот тип был открыт лишь пятым, и это связано с тем, что его (на функциональном уровне) практически невозможно отличить от первого. Некоторые авторы пишут следующее [6] – «Несмотря на то, что роль многих дофаминовых рецепторов уже изучена, функции D₅-рецепторов в базальных ганглиях ещё предстоит выяснить. Более того, зачастую очень сложно отличить D₁ от D₅-рецепторов, поскольку они возбуждаются одними и теми же лигандами, у них принципиально одинаковая структура и действие». Тут стоит добавить, что одним из важных различий между D₁

Рисунок 7 | Сигналинг D₁ и D₅ рецепторов в почках. Понятие «D₁-like receptor» в большинстве случаев означает именно D₅-рецептор, из-за вышеописанных проблем с точным отличием D₁ от D₅.

и D₅-рецепторами является собственно чувствительность к дофамину в нормальных условиях – у D₅ она в 10 раз выше.

Данный рецептор обнаруживается в миндалевидном теле, префронтальной зоне коры, гиппокампе, полосатом теле, таламусе, гипоталамусе, базальных ядрах переднего мозга, мозжечке, среднем мозге и на вставочных нейронах неостриата. Также он присутствует в клетках почек, на дендритных клетках и Т-хелперах.

Тут стоит остановиться, чтобы рассмотреть функции D₅-рецепторов в почках чуть-чуть подробнее. Данные рецепторы регулируют процесс реабсорбции ионов натрия из проксимальных канальцев. Происходит это по следующему механизму: запускаемые при активации D₅-рецептора процессы фосфорилирования затрагивают такие транспортеры как NHE1, NHE3, Na⁺/P_i, Na⁺/HCO₃⁻, Cl⁻/HCO₃⁻ (SLC26A6), и Na⁺/K⁺-АТФазу, что вызывает интернализацию данных белков или же прерывание их работы по иному механизму.

Некоторые исследователи на основании имеющихся данных утверждают [7], что мутации дофаминовых рецепторов могут вызывать гипертензию не только на уровне регуляции тонуса сосудов, но и на уровне почек, нарушая процессы контроля концентрации натрия в крови.

Нейроны, на которых присутствует данный рецептор, участвуют в процессах запоминания. При активации D₅-рецептора в нейронах стриатума и миндалевидного тела ускоряется формирование долговременной потенциации (LTP) – процесса, лежащего в основе памяти. Конкретно в нейронах миндалевидного тела D₅-рецепторы вместе с M₁ и β₂-адренорецепторами запускают механизм «запоминания страха», который является необходимым для самосохранения и избегания опасностей. Люди и иные экспериментальные животные с повреждённым миндалевидным телом обладают патологическим бесстрашием, что не всегда полезно.

Существует множество статистических наблюдений, связывающих мутации гена D_5 -рецептора с риском развития пристрастия к курению, отставания в развитии, шизофрении и гипертензии (см. выше механизм регуляции концентрации натрия).

Интересно, что D_5 -рецептор также можно обнаружить и на иммунных клетках. При активации он снижает количество гамма-интерферона (IFN γ), выделяемого NK-клетками. Также установлено, что при длительном введении провоспалительного интерлейкина 2 плотность D_5 -рецепторов на NK-клетках увеличивается, вследствие чего NK-клетки со временем снижают свою активность. Это типичный пример отрицательной обратной связи.

У человека также могли бы присутствовать два дополнительных дофаминовых рецептора, однако у нас они представлены лишь в виде двух D_5 -подобных псевдогенов, чьи последовательности прерываются на 154 кодоне.

Тормозящие дофаминовые рецепторы

Дофаминовые рецепторы 2 типа

Как уже было сказано выше, D_2 -рецепторы являются тормозящими. Они расположены в основном в зубчатой извилине.

Благодаря альтернативному сплайсингу может существовать несколько изоформ этого рецептора. Первая – «длинная форма» D_2Lh , располагается постсинаптически, вторая – «короткая форма» D_2Sh , располагается пресинаптически и функционирует в качестве ауторецептора, регулируя выброс дофамина. Остальные три изоформы представляют собой D_2Lh с точечными модификациями аминокислот: D_2V96A (валин заменён на аланин в 96 позиции аминокислотной цепи), D_2P310S (замена пролина на серин), D_2S311C (замена серина на цистеин).

D_2Sh -рецептор при активации тормозит высвобождение дофамина в межсинаптическое пространство, а при блокировании – увеличивает. Также между Lh и Sh изоформами существуют и иные различия, например длинная изоформа более эффективно блокирует синтез IP_3 (инозитолфосфат), также эта изоформа сильнее увеличивает концентрацию ионов кальция из-за того, что рецепторы длинной изоформы менее подвержены «выключающему» фосфорилированию. С точки зрения фармакологии, D_2Sh -рецепторы в 2-5 раз более чувствительны к клозапину.

Существует также несколько SNP-мутаций гена D_2 -рецептора, которые связаны с различными психическими и неврологическими заболеваниями. Наиболее изученной мутацией является $C957T$ (цитозин по 957 позиции заменён на тимин). У носителей этой мутации снижена плотность соответствующих рецепторов, что влечёт за собой риск развития шизофрении, ПТСР, восприимчивости к зависимостям различного рода и лекарственной дискинезии. Интересно, что носители гена D_2 -рецептора, не имеющие мутаций, имеют большую сопротивляемость против токсически-индуцированного паркинсонизма.

Дофаминовые рецепторы 3 типа

Данные рецепторы также являются тормозящими. Они расположены в прилежащем ядре (островки Калеха). Благодаря альтернативному сплайсингу D_3 -рецептор может присутствовать в двух основных изоформах – собственно D_3 и D_3nf (non functional, инертная неактивная форма), чьё соотношение может регулироваться в ответ на внешние раздражители [8]. Касательно роли мутаций гена этого рецептора в развитии неврологических и психических заболеваний ведутся долгие споры – главным образом все претензии сводятся к тому, что для исследования берётся либо слишком генетически своеобразная популяция (например – исключительно японцы), либо присутствует слишком маленькая выборка. Однако, как ни странно, существуют исследования и наблюдения, которые действительно связывают нарушения, связанные с D_3 -рецептором, с конкретным заболеванием. Так, израильские исследователи выявили стойкую положительную корреляцию между шизофренией и повышенным уровнем экспрессии мРНК гена D_3 -рецептора в лимфоцитах [9]. Интересно, что уровень конкретно лимфоцитарной мРНК не зависел от того, принимает ли пациент антипсихотические препараты или нет. При посмертном исследовании срезов мозга у пациентов с шизофренией и расстройствами с маниакальной симптоматикой также обнаружена большая плотность D_3nf -рецепторов. То есть, большая часть тормозящих D_3 -рецепторов оказывалась не функционирующей.

Также существует мутантная форма D_3 -рецептора — D_3S9G (серин в 9 позиции заменён на глицин), функционален, рассматривается как в целом безопасный SNP, влекущий за собой лишь увеличение сродства рецептора к дофамину. Клинически наличие этой формы рецептора проявляется повышенной вероятностью развития пристрастия к табаку [10]. В результате альтернативного сплайсинга нормального варианта гена D_3 -рецептора могут возникнуть нефункциональные изоформы $D_3(TM4\ del)$ и $D_3(TM3\ del)$, мРНК которых обнаружено в лимфоцитах [11].

Дофаминовые рецепторы 4 типа

Данный тип рецепторов отличается от остальных тем, что он менее всего представлен в базальных ганглиях. Что касается мутаций гена, его кодирующего – выявлено несколько клинически значимых полиморфизмов, в т.ч. и варьирующее число тандемных повторов (VNTR-полиморфизм). Например, полиморфизм $-521C/T$ связывают с повышенной любознательностью, желанием узнать что-то новое (novelty seeking).

Касательно функционального и структурного разнообразия данные рецепторы являются одними из самых интересных. У них существует определённый фрагмент из 16 аминокислот, расположенный на третьей по счёту цитоплазматической петле.

Число повторов 16-аминокислотного фрагмента является определяющим в установлении подтипа рецептора. Например, $D_{4.5}$ означает, что в этой цитоплазматической петле фрагмент повторяется пять

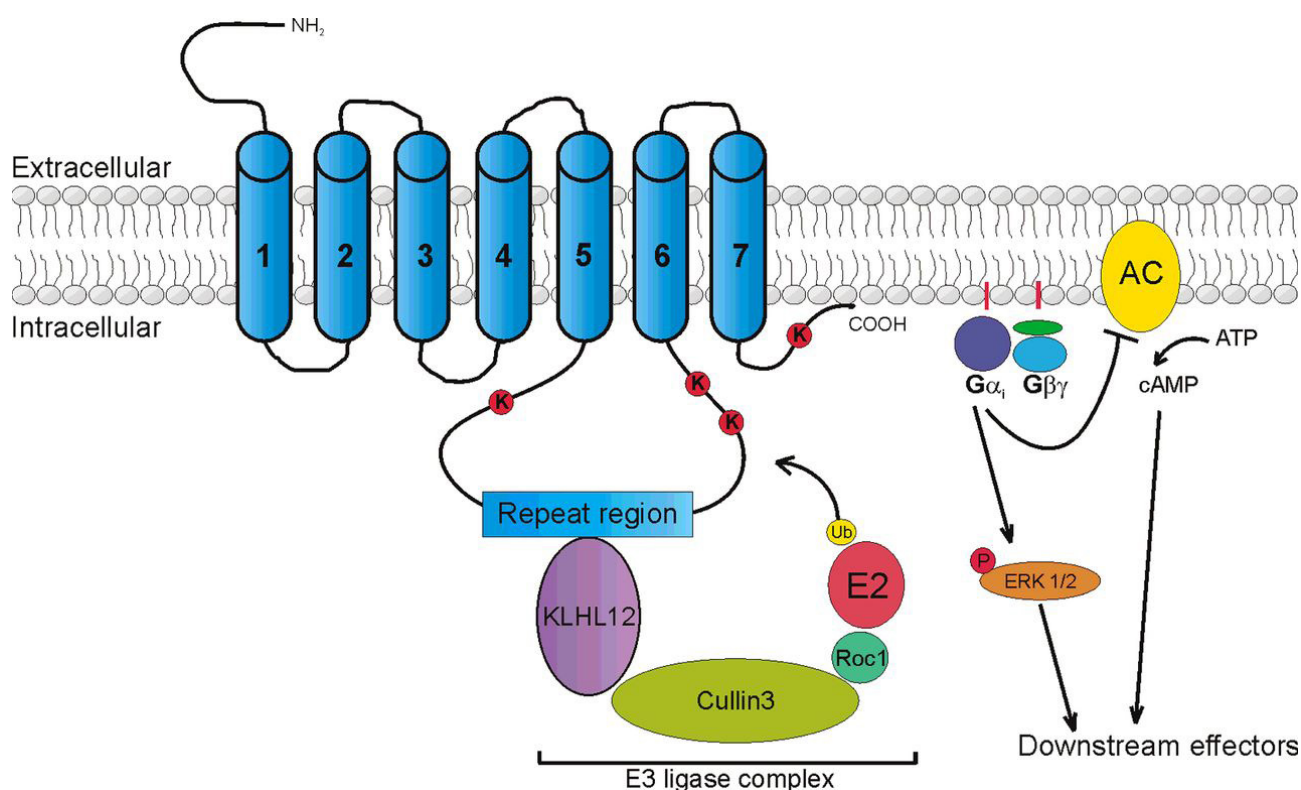


Рисунок 8 | Схема взаимодействия D_4 -рецептора с убиквитинлигазой. Repeat region – интересующая нас часть аминокислотной цепи

раз. В настоящее время у животных выявлены генотипы с числом повторов от 0 до 10 [12]. Конкретно у человека отсутствуют варианты $D_{4,0}$, $D_{4,1}$ и $D_{4,9}$. Чтобы добить читателя, добавлю, что присутствуют вариации не только числа повторов 16-аминокислотного фрагмента, но и самой его последовательности, то есть существуют варианты самого повторяющегося фрагмента — α , β , θ , η , ϵ , ζ , γ , κ , ν , σ , ρ , μ , ι , δ , λ , ϕ , π , и ξ . Этот фрагмент должен во всех случаях начинаться с α и заканчиваться на ζ . Например, описан генотип человека с дофаминовым рецептором такого строения — $D_{4,4}\alpha\beta\theta\zeta$. Однако, в клинической практике достаточно лишь указания числа повторов, так что для удобства этот же генотип можно записать как $D_{4,4}$. Среди человеческих популяций также могут присутствовать альтернативные варианты полиморфизмов, например, среди этнических итальянцев 8% имеют генотип $D_4(\text{del})$, плохо функционирующая версия рецептора, где отсутствуют аланин, серин, аланин и глицин перед первым трансмембранным фрагментом. Также около 15% африканцев имеют генотип $D_4 V194G$ (валин по 194 позиции заменён на глицин), клинически данный полиморфизм проявляется повышенной чувствительностью рецептора (*in vitro*) к клозапину, оланзапину и собственно дофамину. Также, у 4% мировой популяции D_4 -рецептор является полностью нефункциональным: из-за сдвига рамки считывания он представлен в виде псевдогена.

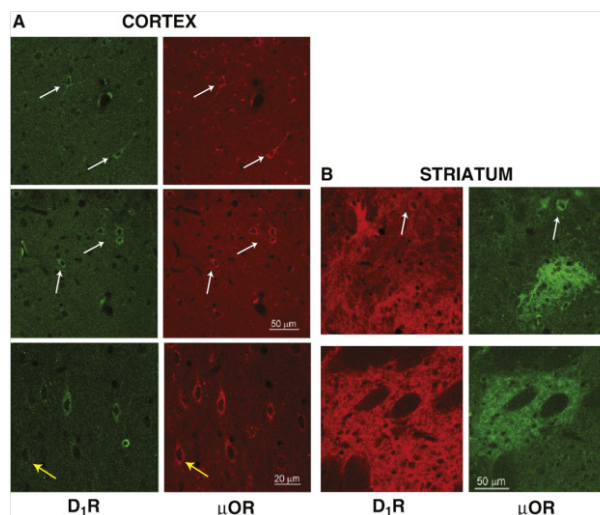


Рисунок 9 | Стрелками показаны нейроны, на которых одновременно обнаружены D_1 и μOR . Изначально считалось, что здесь имеет место явление колокализации и коэкспрессии, однако дальнейшие эксперименты показали наличие именно гетеродимерного комплекса. Опыты также показали наличие у этого рецепторного комплекса чувствительности к специфическим лигандам мю-опиоидных рецепторов – налоксону и DMAGO (пептид, аналог энкефалина). По предположениям авторов публикации, данный комплекс (чей механизм работы ещё не до конца ясен) может участвовать в процессах, связанных с изменением плотности опиоидных рецепторов при приёме морфина

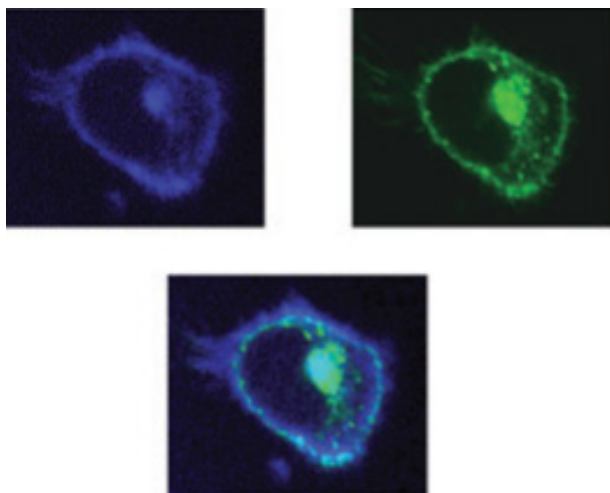


Рисунок 10 | Иммуногистохимическое окрашивание. Левое верхнее изображение – локализация D_1 -рецептора, правая верхняя – H_3 -рецептора. Нижнее изображение – совмещённое окрашивание

Гетеродимеры дофаминовых рецепторов

Интересной особенностью дофаминовых рецепторов всех типов является устойчивая тенденция к образованию пар-гетеромеров с рецепторами как дофамина, но иных типов, так и рецепторами других нейромедиаторов.

D_1/D_2 -гетеродимер

Данный гетеродимер работает по несколько иному механизму, нежели D_1 и D_2 -рецепторы по отдельности. Если D_1 и D_2 являются G_s -связанными, то гете-

родимерный комплекс является G_q -связанным. При активации этот рецептор запускает процессы, заключающиеся в высвобождении кальция из эндоплазматического ретикулума, активации кальций-зависимой киназы CaMKII и последующей активации CREB. Т.е. конечные эффекты аналогичны с таковыми для D_1 -рецептора, различается лишь способ передачи внутриклеточного сигнала.

Интересно, что структурно похожий гетеродимерный D_5/D_2 -рецептор проявляет тормозящие свойства, блокируя высвобождение кальция из ЭПР.

$D_1/\mu OR$ -гетеродимер

Также относительно недавно был открыт $D_1/\mu OR$ -гетеродимер (μOR – мю-опиоидный рецептор). Этот комплекс был открыт напрямую, с помощью иммуногистохимических методик (Рис 9) [13].

D_1/H_3 -гетеродимер

Существует также гетеродимер дофаминовых и гистаминовых рецепторов. Этот комплекс также наблюдался воочию [14].

Опыты показали, что данный гетеродимер является G_i -связанным метаботропным рецептором, запускает сигнальный путь MAPK при активации селективными D_1 и H_3 агонистами, блокироваться рецептор также может любым из селективных антагонистов D_1 и H_3 . Имеются данные, указывающие на наличие этого комплекса в клетках нейробластом, однако его функции и клиническое значение не ясно.

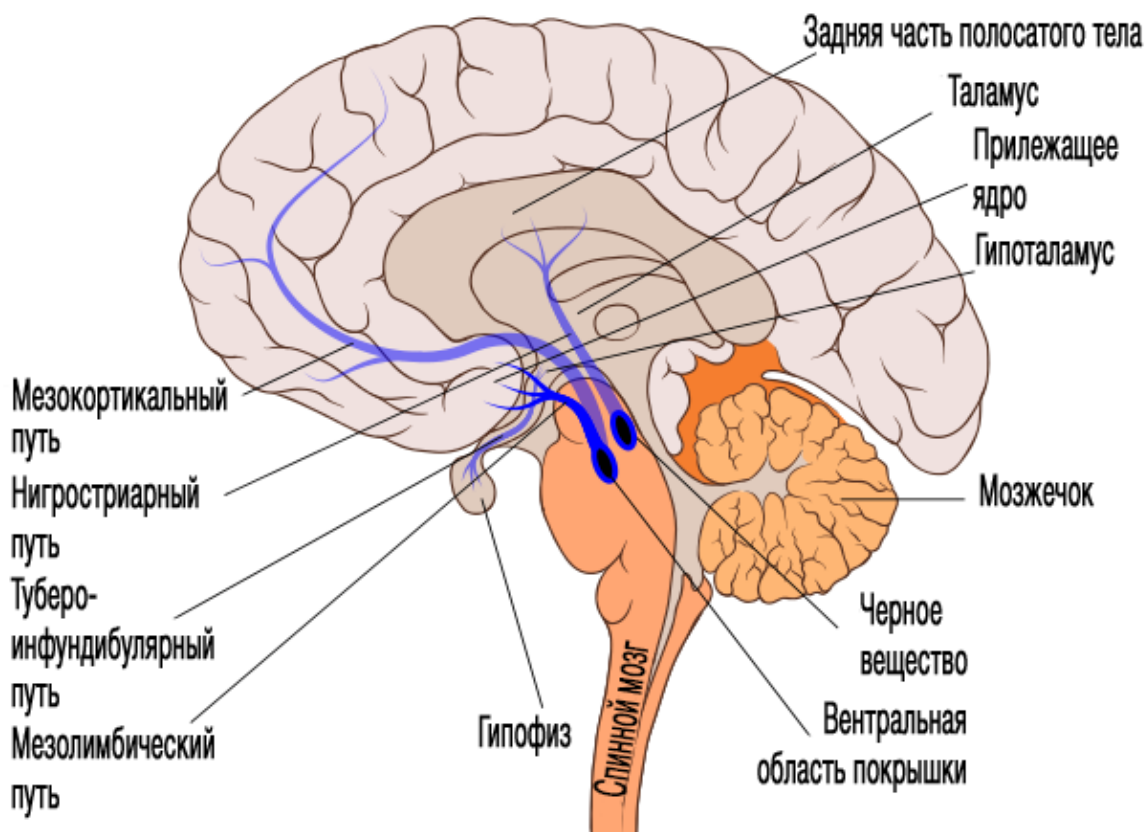


Рисунок 11 | Дофаминергические сигнальные пути

Дофаминергические сигнальные пути

В мозге существует несколько ядер залегания дофаминергических нейронов, которые имеют свои проекции в анатомически достаточно отдалённые части мозга.

Мезокортиколимбические

Мезолимбический

- **Анатомическая характеристика**
Ядра находятся в вентральной области покрышки (VTA), откуда большая часть аксональных проекций идёт в прилежащее ядро.
- **Функциональная характеристика**
Регулирует реакции, связанные с мотивацией и вознаграждением. Также этот сигнальный путь «награждает» нас дофамином в случае достижения каких-либо целей и «наказывает» нас отвращением к чему-либо неприятному, как морковка для ослика. Именно описанием работы этого сигнального пути и вынесено в начало статьи
- **Клиническое значение**
Нарушения работы этого сигнального пути замечены при шизофрении, БАП и наркозависимости.

Мезокортикальный

- **Анатомическая характеристика**
В данном случае нейроны, также расположенные в VTA, имеют проекции в область лобной доли коры.
- **Функциональная характеристика**
Данный сигнальный путь выполняет роль своеобразного доброго полицейского. Если мезолимбический путь реагирует на красивую голую женщину моментальным запуском желания размножиться, то мезокортикальный путь помогает нам сделать так, что бы это не выглядело как изнасилование. То есть он контролирует так называемое «исполнительное поведение», связанное с конкретными действиями, необходимыми для достижения цели. В вышеописанном случае «добрый полицейский» мезокортикальный путь предложит нам для начала пригласить женщину в кино.
- **Клиническое значение**
Нарушения работы этого сигнального пути также наблюдаются при наркозависимости и асоциальном поведении – агрессивности, патологической импульсивности, социопатии. Однако есть и хорошая новость – люди с нарушением работы мезокортикального пути склонны к промискуитету.

У мезокортиколимбических путей также существует несколько побочных проекций – дофаминергические нейроны, расположенные в вентральной области покрышки, имеют проекции в миндалевидное тело, гиппокамп, обонятельный бугорок, кору поясной извилины.

Нигростриарный

- **Анатомическая характеристика**
Нейроны компактного слоя чёрного вещества

имеют аксоны, доходящие до хвостатого ядра и скорлупы.

- **Функциональная характеристика**
Контроль двигательных функций, ассоциативное обучение (с помощью него закрепляется связь между стимулом и реакцией на него) и участие в реакции вознаграждения за правильно выполненное действие.
- **Клиническое значение**
Функциональные нарушения наблюдаются при наркозависимости. Гистологически видимые изменения наблюдаются при болезни Паркинсона и различных формах хорей. Интересно, что в случае болезни Паркинсона, данный сигнальный путь (а точнее его начало – нейроны чёрного вещества) сохраняет свои функции вплоть до гибели 40-80% (в разных источниках) дофаминергических нейронов!

Тубероинфундулярный

- **Анатомическая характеристика**
Данный путь начинается в дофаминергических нейронах дугообразного ядра гипоталамуса, которые имеют проекции в переднюю долю гипофиза
- **Функциональная характеристика**
Регуляция уровня пролактина и иных гормонов с помощью дофамина.
- **Клиническое значение**
При недостаточной активности данного сигнального пути (вызванного какими-либо заболеваниями или приёмом антипсихотиков, блокирующих дофаминовые рецепторы) может наблюдаться гиперпролактинемия, т.к. дофамин оказывает подавляющее действие на уровень гипофизарных гормонов.

Дофаминовый транспортёр

Одним из важных звеньев дофаминергической сигнализации является дофаминовый транспортер, он же DAT. Этот активный транспортер регулирует концентрацию дофамина в синаптической щели. Один из предложенных механизмов предполагает, что для работы DAT необходимы ионы натрия и хлора. Натрий, связываясь с транспортером, вызывает конформационные изменения, делающие возможным связывание дофамина. После связывания дофамина и иона хлора запускается процесс транспорта, в результате которого два иона натрия и молекула дофамина проходят внутрь клетки. Интересно также, что DAT, согласно некоторым данным, также может и высвобождать дофамин из клетки (в обход стандартного механизма с VMAT и высвобождением везикул)(Рис. 12) [15].

Существуют данные, указывающие на возможную гетеромеризацию DAT с кальциевыми каналами Cav1.2 и Cav1.3. Таким образом, работа DAT (а точнее натрий, который они закачивают в клетку) может напрямую влиять на концентрацию кальция в клетке путём открытия кальциевых каналов, и последующие процессы выброса нейромедиаторов. Данный меха-

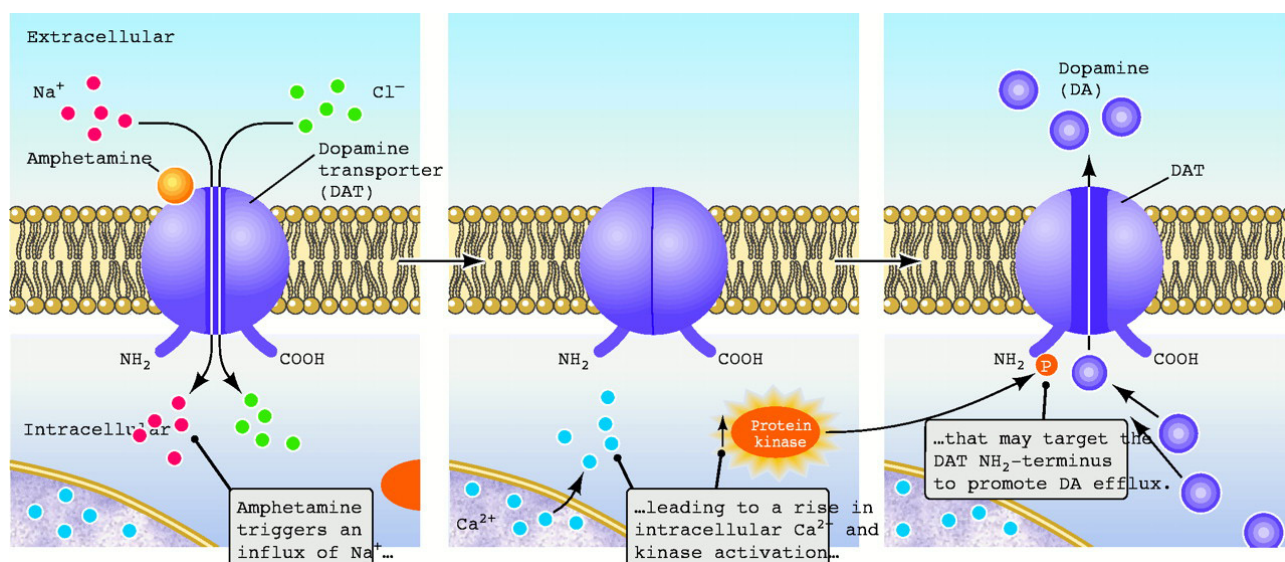


Рисунок 12 | На схеме виден один из вариантов обращённой работы DAT. Для примера взят амфетамин, который долгое время считался лишь блокатором обратного захвата, но не активатором везикулярно-независимого высвобождения дофамина. Так, амфетамин, имея схожий фармакофор с дофамином, занимает соответствующий сайт связывания, вызывая специфические конформационные изменения, в результате которых в клетку закачивается лишь натрий. Повышение концентрации натрия ведёт к последующему изменению концентрации кальция и запуску протеинкиназы C, которая фосфорилирует NH₂-терминаль DAT. В таком состоянии DAT начинает работать на выпуск дофамина из клетки и повышению его концентрации в межсинаптическом пространстве [16]. При ином положении фосфорилирования происходит интернализация DAT и прекращение обратного захвата. Интересно, что аналогичным образом, т.е. обращая работу специфических транспортёров – NET и SERT, амфетамин влияет на концентрацию норадреналина и серотонина (в меньшей степени) соответственно. Сродство амфетамина к транспортерам нейромедиаторов таково – NET>DAT>SERT

низ является ещё одним штрихом к картине действия некоторых препаратов, например вышеупомянутого амфетамина.

Дофаминовая теория шизофрении

После выяснения механизма действия антипсихотических препаратов в психиатрии настала эпоха по-настоящему научного подхода к изучению патогенеза шизофрении. Сразу стоит сказать, что сводить весь патогенез такого сложного и многофакторного заболевания к одной единственной нейромедиаторной системе, даже несмотря на то, что большинство антипсихотиков блокируют именно дофаминовые рецепторы – глупо и недальновидно.

Однако, стоит остановиться и рассмотреть вопрос – почему именно дофаминергическая система получила столь много внимания психиатров? Во-первых, корректнее называть данную тему не «дофаминовая теория шизофрении», а «дофаминовая теория психоза». Во-вторых, конечно, многие психоактивные вещества способны вызывать психоз, отсюда даже пошло старое и более корректное название психоделиков – психотомиметики (т.е. вещества, имитирующие психоз), но почему же в поле зрения психиатров попали в том числе и NMDA-антагонисты, наряду с обычными дофаминиметиками? Будем разбираться!

Психиатрами, а вернее той их частью, которая занимается молекулярной биологией и биохимией, было замечено, что картина белой горячки с т.з. биохимии

схожа с острым психозом: наступает так называемый «катехоламиновый шторм» (в иных источниках встречаются более узкие понятия – адренергический, норадренергический шторм), то есть состояние, при котором действие возбуждающих нейромедиаторов ничем не компенсируется (за счёт уменьшения чувствительность ГАМК-рецепторов), либо они производятся и выбрасываются в увеличенных количествах. Ну, хотя бы на этом этапе логика нас не подводит – чрезвычайно большое количество дофамина вызывает психоз. Логично? Не совсем – повышенный уровень дофамина может быть лишь конечным проявлением гораздо более сложных процессов.

В качестве примера можно рассмотреть действие NMDA-антагонистов, которые при дозировках ниже, чем те, что необходимы для наркоза, являются психотомиметиками в прямом значении этого слова. Действие умеренных доз PCP неотличимо от острого психоза даже опытными психиатрами [17] — почему же так? Это происходит потому, что неполная блокада NMDA-рецепторов запускает процессы, ведущие к повышению уровня дофамина в лобной доле коры мозга [18]. Интересно, что поведенческие эффекты, характерные для малых доз кетамина (именно он использовался в опытах) спокойно купировались антагонистами дофамина – галоперидолом и раклопридом. То есть, данный опыт наглядно показал, что дофаминергическая система, а точнее нарушения её работы, является не столько причиной шизофрении и психотических состояний, сколько эффектором,

входящим в гиперактивное состояние по каким-либо иным причинам.

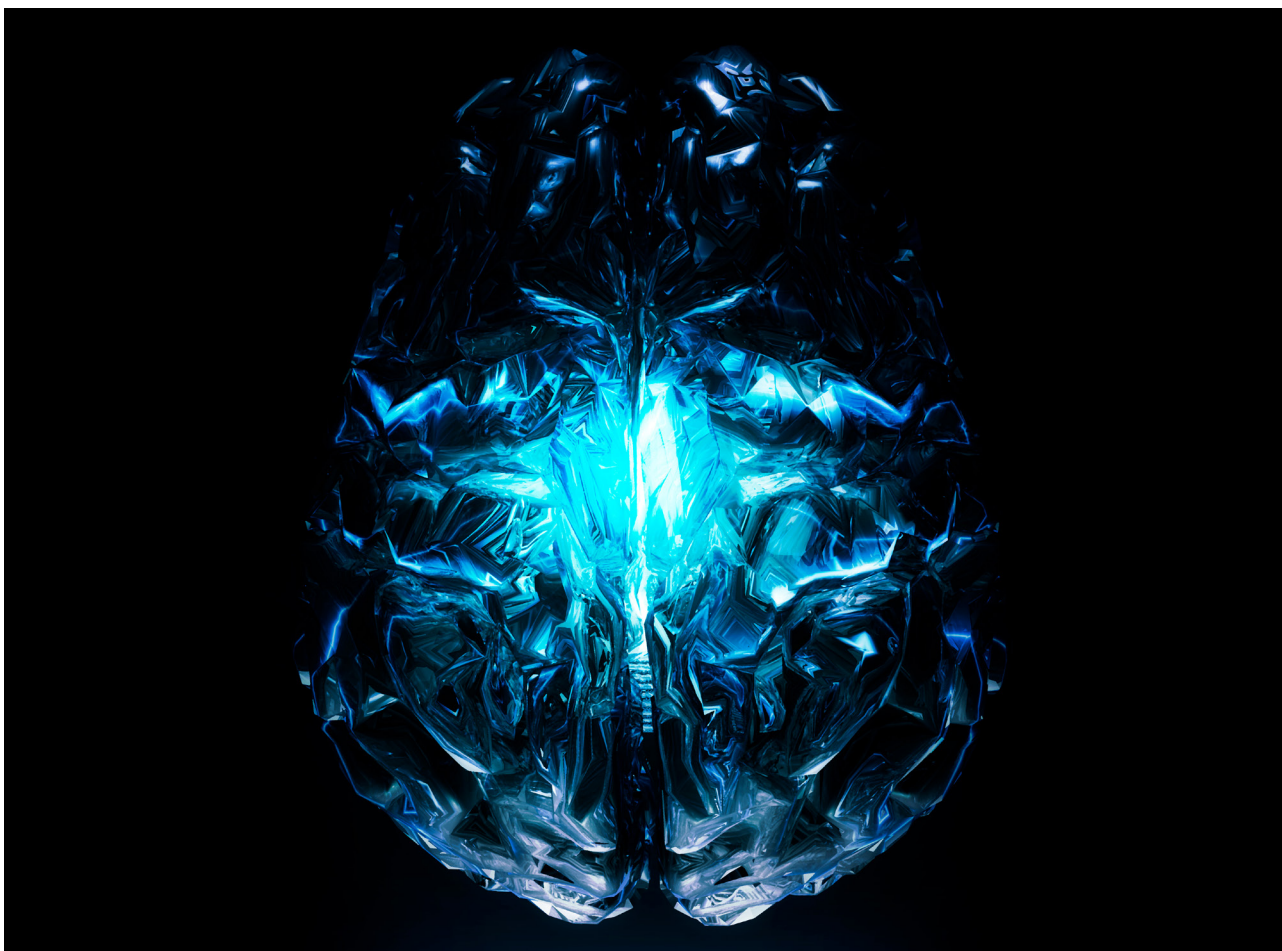
Кроме того, некоторые исследования показали, что даже при приёме антагонистов дофамина некоторые пациенты сохраняют продуктивную симптоматику.

Это говорит о том, что антипсихотики эффективны

лишь в купировании симптоматики; причина шизофрении (а по некоторым данным это полиэтиологическое заболевание [19]) всё ещё не до конца выяснена. В настоящее время ни одна из моделей шизофрении не сводит всё заболевание к одному единственному гену и к одной единственной сигнальной системе.

Список литературы

1. http://www.med.lu.se/wnc/the_falck_hillarp_method_a_revolution_in_the_study_of_monoamine_systems_in_the_cns
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6996790>
3. <http://www.unm.edu/~feeney/F2.HTM>
4. [Psychopharmacologia. 1976 Feb 2;45(3):243-54. Excitation-mediating and inhibition-mediating dopamine-receptors: a new concept towards a better understanding of electrophysiological, biochemical, pharmacological, functional and clinical data. Cools AR, Van Rossum JM.
5. Lim, B. K., Huang, K. W., Grueter, B. A., Rothwell, P. E., Malenka, R. C. Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens. Nature 487: 183-189, 2012. [PubMed: 22785313] [6] Eur J Neurosci. 2002 Dec;16(11):2049-58.
6. Molecular phenotype of rat striatal neurons expressing the dopamine D5 receptor subtype. Rivera A1, Alberti I, Martín AB, Narváez JA, de la Calle A, Moratalla R.
7. <http://physiolgenomics.physiology.org/content/19/3/233>
8. Synapse. 2010 Aug;64(8):634-43. doi: 10.1002/syn.20770.
9. Dopaminergic regulation of dopamine D3 and D3nf receptor mRNA expression.
10. Richtand NM1, Liu Y, Ahlbrand R, Sullivan JR, Newman AH, McNamara RK.
11. Ilani, T., Ben-Shachar, D., Strous, R. D., Mazor, M., Sheinkman, A., Kotler, M., Fuchs, S. A peripheral marker for schizophrenia: increased levels of D3 dopamine receptor mRNA in blood lymphocytes. Proc. Nat. Acad. Sci. 98: 625-628, 2001. [PubMed: 11149951] [10] The Neurobiology and Genetics of Nicotine and Tobacco David JK Balfour, ¶Marcus R. Munafò — 2015 — ¶Medical Biochem Biophys Res Commun. 1993 Jul 15;194(1):368-74. Expression of the D3 dopamine receptor gene and a novel variant transcript generated by alternative splicing in human peripheral blood lymphocytes. Nagai Y1, Ueno S, Saeki Y, Soga F, Yanagihara T.
12. <http://www.acnp.org/G4/GN401000027/CH027.html>
13. Eur J Pharmacol. 2008 Mar 10;581(3):235-43. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.11.060. Epub 2007 Dec 14. Mu-opioid receptor heterooligomer formation with the dopamine D1 receptor as directly visualized in living cells. Juhasz JR1, Hasbi A, Rashid AJ, So CH, George SR, O'Dowd BF.
14. Br J Pharmacol. 2009 May;157(1):64-75. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00152.x. Marked changes in signal transduction upon heteromerization of dopamine D1 and histamine H3 receptors. Ferrada C1, Moreno E, Casadó V, Bongers G, Cortés A, Mallol J, Canela EI, Leurs R, Ferré S, Lluís C, Franco R.
15. Wheeler DD, Edwards AM, Chapman BM, Ondo JG (1993). «A model of the sodium dependence of dopamine uptake in rat striatal synaptosomes». Neurochem. Res. 18 (8): 927–936. doi:10.1007/BF00998279. PMID 8371835.
16. Biogenic Amine Neurotransmitter Transporters: Just When You Thought You Knew Them Randy D. Blakely, Louis J. DeFelice, Aurelio Galli Physiology Published 14 July 2005 Vol. 20 no. 4, 225-231 DOI: 10.1152/physiol.00013.2005
17. Устное сообщение
18. J Neurosci. 1996 Jan;16(1):373-9. NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. Verma A1, Moghaddam B.
19. J Theor Biol. 2009 Jul 21;259(2):269-79. doi: 10.1016/j.jtbi.2009.03.024. Epub 2009 Mar 27.
20. A multi-etiology model of systemic degeneration in schizophrenia. Rădulescu A1.



ГЛУТАМАТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

ГЛУТАМАТ НАТРИЯ ВЛАДЕЕТ УМАМИ

Автор: Anonimch

Редакция: -

Изображения: -

Опубликовано 09.02.2016.

Введение

Как много сплелось в этом слове для нашего человека! Одни боятся «страшного и ядовитого глутамата натрия» как огня, другие же являются ценителями вкуса «умами». Автор даже слышал истории о том, как некоторые счастливицы смогли выкрасть с работы в колбасном цеху целый килограмм глутамата!

Глутамат (он же глутаминовая кислота) впервые был открыт немецким химиком Карлом Генрихом Раттгаузенем в 1866 году. Он изучал продукты взаимодействия глютена (смеси белков, получаемых из злаковых растений) с серной кислотой. В 1907 году японец Икэда Кикинаэ, изучая состав водорослей комбу и их применение в пищевой промышленности, решил попробовать на вкус кристаллы, оставшиеся после выпаривания бульона из водорослей. К его удивлению, вкус оказался таким же, как и у цельных кусков комбу, используемых в кулинарии. Позднее, идентифицировав состав осадка, Икэда понял, что выделил глутамат. Позднее он улучшил и запатен-

товал свой метод получения глутамата из водорослей (именно тогда при очистке сырья глутамат начали переводить в форму натриевой соли). Этот метод интересен также и тем, что был применён в первом производстве бульонных кубиков в Японии. Японцы, кстати говоря, очень высоко оценили такой вкус и даже придумали для него слово «умами», дословно – приятный вкус.

Впервые глутамат был обнаружен в организме животных в 1940-х годах. В 50-х было установлено, что наибольшие его концентрации отмечаются в органах, составляющих нервную систему. В конце 50-х годов группа учёных под руководством Дэвида Кёртиса и Джеффри Уоткинса установила, что глутамат может выполнять роль нейротрансмиттера в нервной системе. В своих опытах на изолированном спинном мозге жабы учёные впервые наблюдали эффекты глутамата *in vivo*: в концентрациях 10^{-2} – 10^{-4} М вещество сначала возбуждало нейроны, а затем, подобно открытой и описанной ранее ГАМК, проявляло тормозящие свойства. В дальнейшем те же учёные провели опыт на изолированных клетках Реншоу – вставочных нейронах спинного мозга, регулирующих мышечный тонус путём выброса глицина, тормозного нейромедиатора. Эти клетки к тому време-

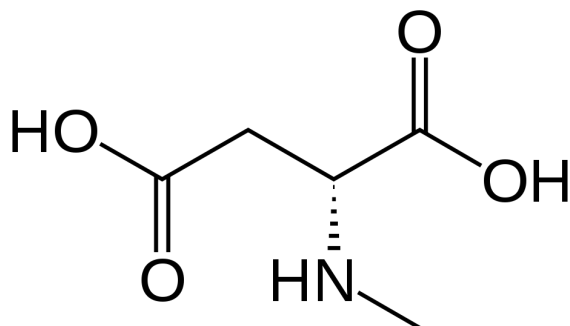


Рисунок 1 | N-метил-D-аспартат

ни были достаточно хорошо изучены: о них уже было известно то, что они являются тормозными нейронами и что их активность избирательно стимулируется ацетилхолином. В процессе опытов *in vitro* выяснилось, что они, как оказалось, могут также быть активированы и глутаматом в достаточных концентрациях! Интересно, что была проведена серия опытов не только с L-глутаматом, который и присутствует в нервной системе в нормальных условиях, но и с его D-изомером. Также были опыты с L- и D-изомерами аспартата, который структурно схож с глутаматом. Таким образом, изначально глутамат и близкие к нему по структуре соединения получили название «возбуждающие аминокислоты» (excitatory amino acids). В 70-х годах было выдвинуто предположение о разделении рецепторов возбуждающих аминокислот на NMDA и не-NMDA. Данное предположение было основано на опытах с единичными нейронами из разных отделов нервной системы: N-метил-D-аспартат в тех же концентрациях, что и глутамат, возбуждал нейроны спинного мозга сильнее, нежели чем нейроны мозга головного. Также выяснилась интересная вещь: избирательные блокаторы NMDA-рецепторов блокировали только их, в то же время неизбирательные блокаторы рецепторов возбуждающих аминокислот подавляли активность нейронов как в спинном, так и в головном мозге. При скрининге активности производных различных аминокислот среди NMDA-рецепторов были выделены ещё два класса – каинатные рецепторы (возбуждаются каиновой кислотой) и AMPA-рецепторы (возбуждаются альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислотой). В начале 80-х годов выявлена роль глутаматных рецепторов в феномене долговременной потенциации (LTP), когда при повторяющемся выбросе нейромедиаторов с пресинаптического нейрона на постсинаптический он начинает возбуждаться при меньших концентрациях нейромедиатора. Этот эффект лежит в основе явления синаптической пластичности и может быть описан правилом Хэбба: «Если аксон клетки А расположен достаточно близко к клетке Б, чтобы возбуждать её, и постоянно участвует в её активации, то в одной или обеих клетках происходят такие метаболические изменения или процессы роста, что эффективность А как одной из клеток, активирующих Б, повышается». Таким обра-

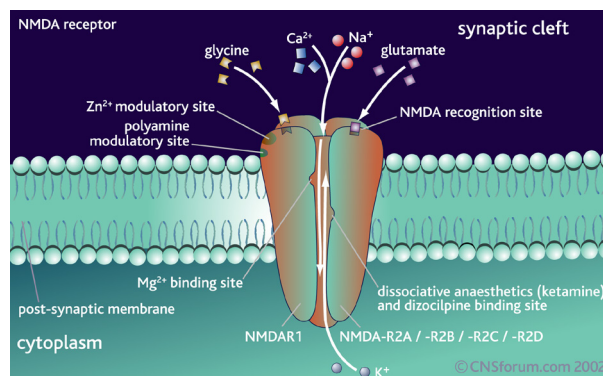


Рисунок 2 | Структура NMDA-рецептора

зом, глутаматергические нейроны являются одним из главных звеньев процессов обучения и запоминания. В 90-х, благодаря применению молекулярно-биологических методов изучения работы рецепторов глутамата, они были разделены на ионотропные (iGlu) и метаботропные (mGlu). К ионотропным (т.е. представляющим собой ионный канал) рецепторам отнесли NMDA, AMPA и каинатные. К метаботропным – все остальные, которые разделили на 3 группы в зависимости от наблюдаемых при возбуждении эффектов.

NMDA-рецепторы

Данный тип рецепторов глутамата представляет собой одновременно потенциал-зависимый и лиганд-зависимый ионный канал, избирательно пропускающий положительно заряженные ионы. Исключение составляют ионы магния и цинка, которые, находясь вне клетки, выступают в качестве блокаторов. Таким образом, основную часть ионного тока составляют ионы кальция и натрия – их данный ионный канал пропускает внутрь клетки, и ионы калия – их он из клетки выпускает. Стоит отметить интересную особенность NMDA-рецептора: он не может быть активирован лишь одной молекулой лиганда. Для открытия ионного канала необходимо два лиганда на разных субъединицах. Лигандами могут быть только D-изомеры аминокислот-нейромедиаторов.

Структурно NMDA-рецептор состоит из четырёх субъединиц, две из которых являются представителями класса NR1, и две другие – представителями класса NR2. В середине нулевых также был выделен новый класс субъединиц – NR3, о нём мы поговорим отдельно.

На внеклеточной части рецептора расположены сайты связывания различных модуляторов и агонистов. Здесь у субъединиц NR2 расположен сайт связывания глутамата, аспартата и собственно N-метил-D-аспартата, а у субъединиц NR1 – сайт связывания ко-агониста – глицина или серина.

Трансмембранная часть формирует ионный канал, и также стоит отметить, что именно эта часть рецепторного белка богата сайтами связывания различных агонистов – от всем известных анестетика кетаминна и диссоциатива PCP (фенциклидин) до модельных NMDA-блокаторов, таких как MK810, который часто используют в фармакологических исследованиях.

Наконец, внутриклеточная часть NMDA-рецептора: она является регуляторной и может взаимодействовать с различными киназами и фосфатазами, которые путём фосфорилирования или дефосфорилирования влияют на активность ионного канала.

GluN1, или же NR1 – это название группы белков, составляющих одноимённую субъединицу NMDA-рецептора. Существует в восьми вариантах: NR1-1a, NR1-1b, NR1-2a, NR1-2b, NR1-3a, NR1-3b, NR1-4a, NR1-4b. Из этих субъединиц NR1-1a является самой распространённой. Необходимо отметить также, что все эти варианты субъединиц кодируются одним геном – GRIN1. Такое разнообразие возможно благодаря альтернативному сплайсингу, который в разных частях и клетках нервной системы происходит по-разному. Интересно, что мутации гена GRIN1 ассоциированы с риском развития ранней эпилепсии и риском возникновения острого психоза при приёме метамфетамина и иных психостимуляторов.

GluN2, или же NR2 — название группы белков, составляющих другую субъединицу NMDA-рецептора. В отличие от NR1, в ней присутствуют 4 различных белка, каждый из которых кодируется индивидуально отдельным геном: GRIN2A, GRIN2B, GRIN2C, GRIN2D.

С этим типом субъединиц связан интересный феномен. В мозге новорождённых и молодых млекопитающих в составе NMDA-рецепторов преобладает NR2B-субъединица. При активации рецепторов, которые содержат эту субъединицу, соответствующие каналы остаются в открытом положении гораздо дольше. Кроме того, нейроны с такими рецепторами быстрее развивали долговременную потенцию. Однако с возрастом большая часть NR2B-субъединиц в рецепторных комплексах заменяется на NR2C и

NR2A. Это отчасти объясняет снижение с возрастом способностей к обучению, так как долговременная потенция является одним из ключевых механизмов в процессе запоминания. Не стоит думать, что такая «замена» направлена исключительно во вред организму – в опытах *in vivo* и *in vitro* установлено, что клетки с NR2B-субъединицами не имеют никакой защиты от эксайтотоксичности, в то время как преобладание рецепторной субъединицы NR2A значительно повышало порог, при котором наступала клеточная гибель.

GluN3, он же NR3 – это относительно недавно открытая группа белков, существующих в вариантах NR3A и NR3B и являющихся субъединицами NMDA-рецептора. У генов белков субъединиц третьей группы наблюдается наименьшая гомология с остальными генами субъединиц не только NMDA-рецептора, но и других глутаматных ионотропных рецепторов. Интересно также, что гомология между генами белков этой группы меньше, чем гомология внутри остальных групп. Однако, как и во второй группе, соотношение различных вариантов субъединиц также изменяется с возрастом.

Как видно из вышеприведенных абзацев, NMDA-рецепторы со временем изменяют свой состав и комбинации субъединиц. Это нормальное явление, наблюдаемое не только у человека, но и у других позвоночных. К сожалению, конкретный механизм такой замены ещё не до конца ясен, а самое главное – пока что не выявлены эпигенетические механизмы, лежащие в основе таких изменений.

Лиганды NMDA-рецепторов

В клинике в основном применяются антагонисты NMDA-рецепторов. Самое широкое применение дан-

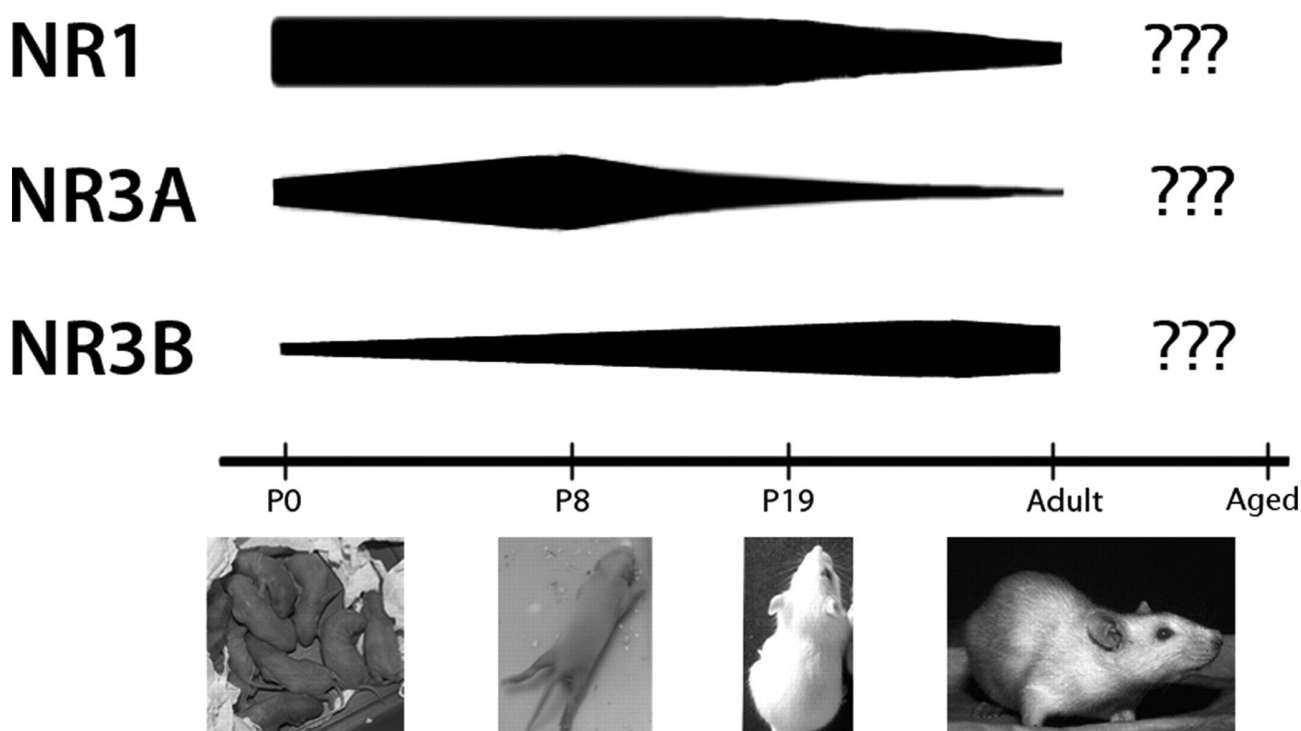


Рисунок 3 | Относительное изменение количества различных вариантов NR3-субъединицы с возрастом

ный фармакологический класс соединений нашёл в неврологии и анестезиологии. Например, стоит отметить такие широко известные соединения, как кетамин, фенциклидин, декстрометорфан. Изначально они использовались для анестезии (кетамин, фенциклидин – под маркой «Сернил») и подавления кашля. Однако их свойства вызывать в немедицинских дозировках интересные нарушения психики были тепло оценены психоделической контркультурной тусовкой, что, собственно, и послужило главной причиной введения контроля за их оборотом. Интересно также, что фенциклидин, он же ПЦП/PCP, рассматривался американскими военными в качестве химического оружия-психотомиметика, способного гуманно снизить уровень боеспособности войск противника. У военных PCP даже получил своё кодовое обозначение – SN, от торгового имени «Сернил» под которым он первое время использовался в клинике.

Помимо этих известных препаратов, в клиническом использовании до сих пор находятся флупиртин (анальгетик) и мемантин (используется для лечения деменций различного генеза).

Интересно также, что в опытах на животных NMDA-антагонисты эффективно предотвращали гибель нейронов от эксайтотоксичности, однако при длительном и частом введении в больших количествах они вызывали специфическое поражение ЦНС, названное лезиями Олни (в честь учёного, впервые их описавшего – Джона Олни). В отдельных публикациях были описаны т.н. пограничные морфологические состояния. Например, у крыс после длительной анестезии оксидом азота (I) наблюдалась вакуолизация цитоплазмы нейронов – обычно после данного процесса происходит гибель нейронов путем некроза или апоптоза.

Агонисты NMDA-рецепторов в клинике практически не используются. В 2015 году был зарегистрирован препарат небогламин. В опытах на животных он показал способность ускорять обучение и процессы запоминания. Также в процессе испытаний была выявлена способность небогламина избавлять от кокаиновой зависимости.

AMPA-рецепторы

Этот подтип ионотропных глутаматных рецепторов, способных пропускать положительно заряженные ионы, был назван AMPA в честь избирательного агониста — альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты. Как и NMDA, AMPA-рецептор является гетеромерным тетрамером, т.е. состоит из четырёх различных субъединиц: GluR1, GluR2, GluR3, и GluR4. Каждая из субъединиц кодируется своим собственным геном. Стоит отметить, что зачастую AMPA, как и NMDA-рецепторы, состоят не из всех четырёх разных субъединиц, а из сочетания двух одного типа, и двух – другого.

Рецепторы, содержащие в своём составе GluR1-субъединицу, обнаруживаются чаще всего в гранулярных и пирамидальных клетках гиппокампа.

Субъединица GluR2 является необходимой для

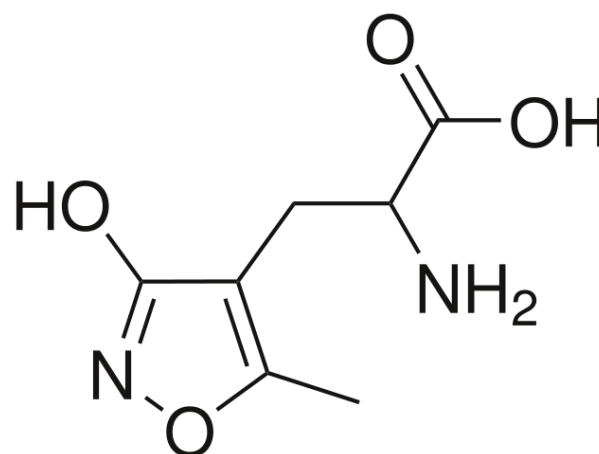


Рисунок 4 | Альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота (AMPA)

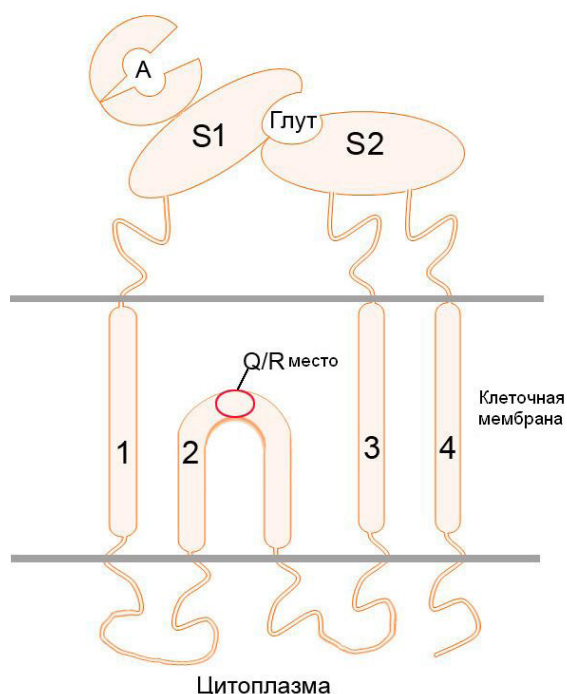


Рисунок 5 | Структура AMPA-рецептора, Q/R – название места замены глутамина на аргинин

группы AMPA-рецепторов, которые не пропускают ионы кальция. Интересно, что перед началом трансляции мРНК гена данной субъединицы взаимодействует с белком ADAR (аденозилдеаминаза РНК), который заменяет триплет CAG на CIG (аденозин заменяется на инозин). Соответствующие изменения наступают и в структуре белка – глутамин в 607-й позиции заменяется на аргинин, также, в 764 позиции аргинин заменяется на глицин. В опытах на трансгенных мышах, у которых данный процесс редактирования мРНК был нарушен и AMPA-рецепторы с GluR2-субъединицей были проницаемы для ионов кальция, у животных наблюдались симптомы, схожие с амиотрофическим боковым склерозом. Данная замена аминокислот затрагивает структуру самого ионного канала, а точнее – сайта, ответственного за пропуск ионов с зарядом 2⁺. Таким образом, нейроны с де-

фектной GluR2-субъединицей, пропускавшей ионы кальция, были подвержены «физиологической» эксайтоотоксичности вследствие повышенной концентрации глутамата в синапсе, которая в нормальных условиях не возникала благодаря избирательной блокаде входа кальция в клетку через конкретно этот тип каналов. Интересно, что при полном выключении редактирования мРНК GluR2, когда не происходило замен глутамин-аргинин и аргинин-глицин, трансгенные мыши умирали в младенчестве от судорог. Такая же замена была обнаружена и при изучении синтеза субъединиц каинатных рецепторов GluR5 и GluR6, однако у них данная замена, наоборот, увеличивает пропускную способность ионного канала в отношении Ca^{2+} . Антитела к GluR2 также используются при иммуногистохимическом выявлении солитарной фиброзной опухоли (SFT) и взрывающейся дерматофибросаркомы (DFSP).

GluR3-субъединица

Эта субъединица, как и GluR2, проходит редактирование на уровне мРНК. Замена в данном случае также происходит благодаря ферментам группы ADAR. В данном случае – ADAR3, который находится исключительно в тканях нервной системы. Однако здесь замена носит необязательный характер – лишь в 80% случаев мРНК субъединиц GluR2 проходят соответствующее редактирование. Разница между отредактированными и неотредактированными субъединицами никак не отражается на выживаемости клетки: у рецепторов с отредактированными субъединицами состояние десенсibilизации длится короче.

GluR4-субъединица

Специфических отличий от GluR2 и GluR3 субъединиц нет. У GluR4 обнаружена высокая гомология с генами этих субъединиц. Так же, как и GluR3, может встречаться в отредактированном и неотредактированном варианте, в обоих случаях влияния на выживаемость нейрона не обнаружено. Согласно исследованиям японских генетиков, у гена субъединицы GluR4 существует 6 SNP-мутаций, которые повышают риск развития шизофрении.

AMPA, наряду с NMDA-рецепторами, является одним из главных звеньев в механизме долговременной потенциации, а значит, и в механизме запоминания. Долговременная потенциация (LTP) выражается в увеличении возбуждающего постсинаптического

потенциала в ответ на какой-либо повторяющийся стимул. Согласно современным теориям, LTP в первую очередь связывают с апрегуляцией (увеличением плотности) AMPA-рецепторов на мембране постсинаптического нейрона.

Упрощённо механизм апрегуляции выглядит примерно так: на постсинаптическом нейроне находятся NMDA и AMPA-рецепторы и глутамат возбуждает AMPA-рецептор (NMDA в это время остаётся закрытым благодаря иону магния в ионном канале), и в клетку устремляются ионы натрия, что вызывает деполяризацию. Деполяризация мембраны как бы выталкивает магний из ионного канала в NMDA-рецепторе, таким образом открывая его для кальция. Кальций, входя в клетку, запускает каскад реакций, ведущий к увеличению плотности AMPA-рецепторов на мембране. Кроме того, кальций запускает работу киназы CaMKII, которая путём фосфорилирования регуляторных участков уже существующих AMPA-рецепторов увеличивает их проводимость.

Установлено, что AMPA-рецепторы, наряду с каинатными, являются также и ключевым звеном, задействованным в патогенезе судорожного синдрома. В настоящее время ведутся разработки новых противоэпилептических препаратов, избирательно блокирующих активность AMPA-рецепторов.

Каинатные рецепторы

Как и NMDA, и AMPA-рецепторы, каинатный рецептор также является ионотропным. Своё название он получил благодаря каиновой кислоте, которая является первым открытым избирательным агонистом рецепторов данной подгруппы.

Каинатный рецептор состоит из четырёх субъединиц, так же как и NMDA и AMPA. Однако не всё так просто – этих субъединиц на самом деле пять, но они могут быть совмещены в тетрамерных комплексах различного состава и по определённым правилам. Каинатный рецептор формирует ионный канал, проницаемый для натрия и кальция.

Стоит отметить, что после 2009 года произошло переименование субъединиц:

1. Glu5 теперь GluK1
2. Glu6 теперь GluK2
3. Glu7 теперь GluK3
4. KA1 теперь GluK4
5. KA2 теперь GluK5

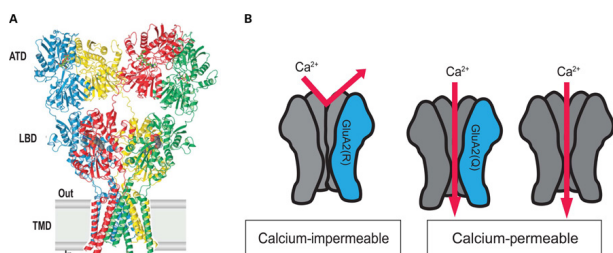


Рисунок 6 | Рецепторы с GluR2, прошедшим на уровне мРНК правильную обработку, непроницаемы для ионов кальция

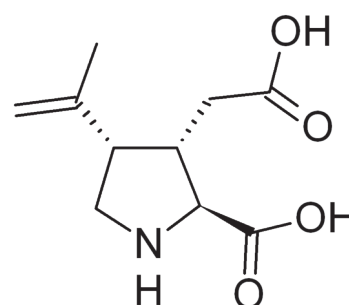


Рисунок 7 | Каиновая кислота

Теперь о правилах компоновки – Glu1-3 могут формировать гомотетрамеры, т.е. рецепторы, состоящие, например, только из GluK2 субъединиц. Однако GluK4 и GluK5 такой способности лишены и могут присутствовать лишь в составе гетеротетрамеров (одна GluK4 и три GluK3, например).

GluK1

Эта субъединица каинатного рецептора, которая, как и некоторые субъединицы AMPA-рецепторов, подвергается редактированию на уровне мРНК. Интересно, что характер наиболее часто встречающейся замены, а именно – глутамина на аргинин, ведёт к абсолютно тем же последствиям – утрате способности рецептора, содержащего такую субъединицу, пропускать ионы кальция. В отличие от AMPA-рецепторов, отсутствие или наличие отредактированных субъединиц не влияет на выживаемость нейрона. Более того – в отдельных частях нервной системы (спинной мозг, мозолистое тело, мозжечок) редактируется лишь 50% субъединиц, в других же частях (таламус, миндалевидное тело, гиппокамп) редактирования подвергается 70%. Кроме того, отредактированные субъединицы могут быть избирательно заблокированы некоторыми жирными кислотами — арахидоновой и докозагексаеновой.

GluK2

Данная субъединица также подвергается редактированию в процессе синтеза. Однако даже тут есть свои уникальные отличия – например то, что процент редактирования непрерывно растёт в процессе эмбрионального развития: начиная от полного отсутствия на стадиях закладки нервной трубки, заканчивая 80% редакцией всех GluK2-субъединиц обнаруженных в мозге новорождённого. Из этих 80% отредактированных рецепторов 90% приходится на расположенные в сером веществе, остальные 10% — на те, что в белом веществе. Также у этой субъединицы присутствует своя отличительная черта среди всех редактируемых субъединиц – у неё редакция ведёт, наоборот, к увеличению проницаемости ионного канала для кальция. Как уже отмечалось выше, каинатные рецепторы являются одним из ключевых звеньев в возникновении судорожного синдрома. И, как показали исследования, в этом больше задействованы рецепторы, содержащие GluK2-субъединицу – трансгенные мыши, у которых выключена редакция этой субъединицы, показывали сниженный судорожный порог.

GluK3

Эта субъединица изучена чуть меньше, однако уже известны мутации (замена серина в 310 позиции на аланин), которые повышают риск развития белой горячки после запоев и шизофрении. Также описан случай, когда при генетическом обследовании пациента с отставанием в развитии обнаружилась микроделеция 1p34.3 (регион 34.3, малого плеча 1-й хромосомы), включающий в себя и ген этой субъеди-

ницы. Так как в указанном регионе находился только один ген, чьё участие в процессах, происходящих в нервной системе, не подвергается сомнению, то причину отставания в развитии связали именно с его отсутствием.

GluK4

Эта субъединица изучена больше в силу исторических причин – она долгое время считалась первой истинно-каинатной. Таким образом, функции этой субъединицы наиболее изучены клиницистами. Например, выявлены мутации гена этой субъединицы, которые влияют на восприимчивость пациента к циталопраму. Как уже упоминалось выше, каинатные рецепторы являются ключевым звеном патогенеза судорог, но в целом на выживаемость нейрона при эксайтотоксичности не влияют. Так вот эта субъединица является исключением – при избыточной активации рецепторов, её содержащих, эксайтотоксичность наступает. Это было подтверждено опытами на мышах (забавный факт – избирательных блокаторов GluK4 на момент проведения опыта в 2009 году не существовало, исследователи пользовались моноклональными антителами к данной субъединице) – при выключении этой субъединицы нейроны дольше выживали в условиях индуцированной эксайтотоксичности.

GluK5

Я, признаться, был несколько удивлён – несмотря на то, что данная субъединица была открыта еще в 1995 году, по ней крайне мало информации. О клиническом значении этой субъединицы существует лишь одна публикация, и то – с отрицательными результатами исследований корреляции различных SNP в её гене с риском психических и неврологических заболеваний. Однако, существует публикация 2013 года, за авторством учёных из Университета Бордо. Они показали, что фосфорилирование GluK5 с помощью уже упомянутой ранее киназы CaMKII регулирует плотность рецепторов на постсинаптической мембране.

Касательно каинатных рецепторов, для того, чтобы ещё раз подчеркнуть их важность и функции, следует упомянуть такой нейротоксин, как домоевая кислота. Это соединение является сильным агонистом ионотропных глутаматных рецепторов, в основном связывается с каинатными рецепторами гиппокампа, вызывая избыточную активацию этих самых рецепторов и, таким образом, оказывая эксайтотоксическое действие. Помимо общей неврологической симптоматики, частым симптомом отравления является временная антероградная амнезия – неспособность запоминать новую информацию. Механизм действия этого токсина прекрасно подтверждает как роль гиппокампа в процессах запоминания, так и роль глутаматных рецепторов в процессе установления долговременной потенциации.

Про ионотропные глутаматные рецепторы, в целом следует также рассказать о «молчащих синапсах». Это «несозревшие» синапсы, которые содержат NMDA-рецепторы, однако практически

лишены AMPA-рецепторов. В таких случаях, даже если глутамат и ко-активатор связываются с NMDA-рецептором, он остаётся закрытым, ионный канал для кальция заблокирован ионом магния – который может отсоединиться лишь в случае смены потенциала благодаря работе AMPA-рецепторов, которых в данном случае нет. Именно поэтому такой синапс и называется «молчащим». Такие синапсы постепенно могут перейти в нормальное активное состояние – достаточно вызвать сильную деполяризацию мембраны, чтобы освободить ионный канал в NMDA-рецепторе для кальция, который затем активирует CaMKII и кальмодулин. А они уже через цепь посредников запускают процесс экзоцитоза везикул с AMPA-рецепторами, в результате которого эти рецепторы будут выставлены на постсинаптической мембране, делая синапс полноценным.

И ещё – среди ионотропных рецепторов глутамата выделено два рецептора-сироты – GluD1 и GluD2. Эндогенные лиганды этих рецепторов ещё не найдены, глутаматом они не активируются, а в эту группу отнесены были лишь по доброте душевной и высокой гомологии. С помощью синтетических лигандов даже выяснена их роль – они отвечают за развитие синаптических связей в мозжечке, главным образом находясь в клетках Пуркинье. В опытах на животных мыши с определённым мутантным вариантом этого рецептора умирали вскоре после рождения – при исследовании мозга было обнаружено значительное уменьшение объёма заднего мозга. Люди добрые, не проходите мимо! Помогите этим рецепторам найти свои эндогенные лиганды!

Метаботропные рецепторы глутамата

Данная группа рецепторов, как следует из названия, при активации не «открывается» для тока ионов через мембрану нейрона, а оказывает своё действие

опосредованно – через цепи внутриклеточных сигнальных веществ – вторичных мессенджеров.

Метаботропные рецепторы разделены на группы в зависимости от их механизма работы, гомологии структуры и перечня селективных лигандов (Таб. 1).

Всего существует три группы:

6. mGluR1, mGluR5

7. mGluR2, mGluR3

8. mGluR4, mGluR6, mGluR7, mGluR8

Во-первых, группы рецепторов различаются по механизму действия. Рецепторы первой группы связаны с Gq-белком. При активации тот запускает фермент фосфолипазу C (PLC), который осуществляет расщепление фосфатидилинозитол-4,5-фосфата (PIP₂) на диацилглицерол (DAG) и инозитол-1,4,5-трифосфат (IP₃). DAG в свою очередь активирует протеинкиназу C (PKC), которая осуществляет фосфорилирование других белков; а IP₃ служит агонистом IP₃-рецепторов, которые запускают высвобождение кальция из эндоплазматического ретикула, таким образом, ионы кальция активируют кальмодулин-зависимые протеинкиназы, также участвующие в фосфорилировании белков.

Остальные группы глутаматных рецепторов, вторая и третья, осуществляют своё действие через Gi-белок. Это означает, что при активации этих рецепторов блокируется работа аденилатциклазы, которая в активном состоянии превращает АТФ в цАМФ. Следовательно, останавливается работа цАМФ-зависимой протеинкиназы (второе название – протеинкиназа А, PKA), и каскад реакций фосфорилирования, изменяющих гомеостаз кальция, не запускается.

Исходя из вышеизложенного, можно уяснить различия в эффектах этих рецепторов: при активации рецепторов 1 группы активность NMDA и AMPA-рецепторов увеличивается (в т.ч. за счёт повышения

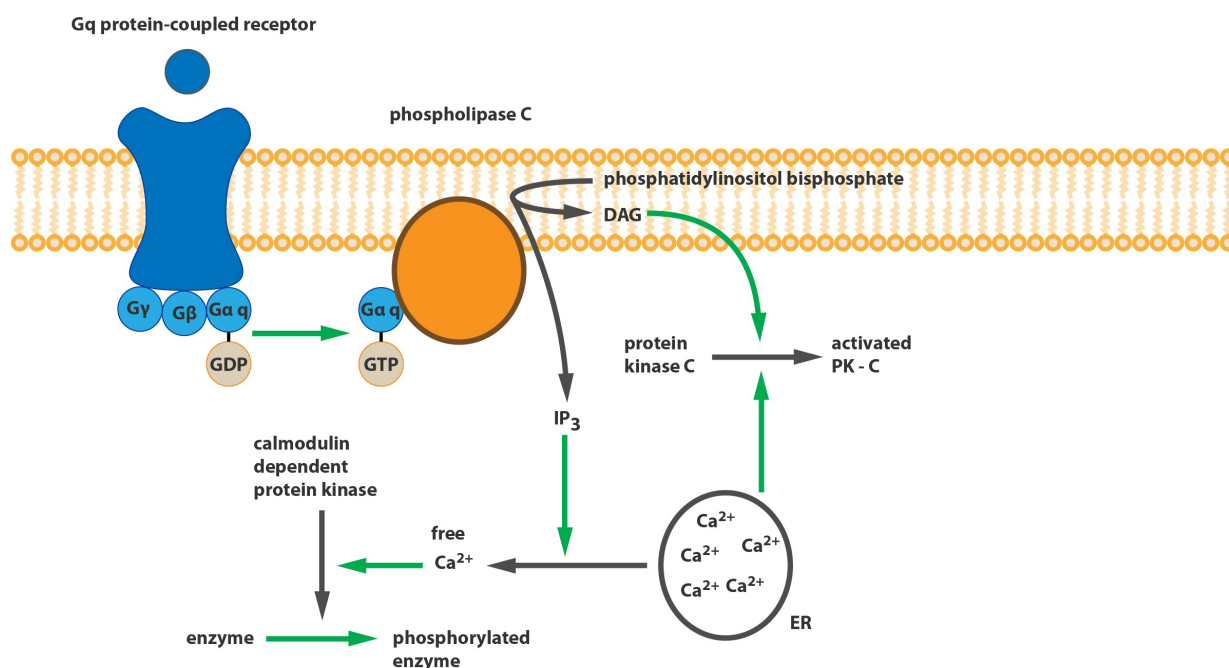


Рисунок 8 | Принципиальная схема работы G_q-связанного рецептора

Таблица 1 | Метаботропные рецепторы глутамата

Группа	Рецептор	Механизм	Функция	Групповой агонист	Групповой антагонист	Основное месторасположение
1	mGluR1	G _q -белок, опосредованно открывают ионные каналы на вход ионов калия и натрия	Увеличивают активность ионотропных рецепторов, повышают восприимчивость к эксайтотоксичности	3,5-дигидроксифенилглицин		Постсинаптическое
	mGluR5					
2	mGluR2	G _i -белок	Уменьшают активность ионотропных рецепторов, снижают восприимчивость к эксайтотоксичности	Эглумегад Бифенилинданон А DCG-IV	APICA EGLU LY-341,495	Пресинаптическое
	mGluR3					
3	mGluR4			L-AP4		
	mGluR6					
	mGluR7					
	mGluR8					

синаптической плотности), но также увеличивается восприимчивость к эксайтотоксичности; при активации рецепторов 2 и 3 групп, наоборот, активность и плотность ионотропных рецепторов уменьшается, также уменьшается вероятность возникновения эксайтотоксического возбуждения.

Касательно групповых агонистов стоит сделать ещё небольшую заметку. Агонисты рецепторов 2 группы в основном проявили себя как антипсихотики – например, бифенилинданон А (BINA) даже смог купировать модельный психоз, вызванный ДОБом, DCG-IV показал себя как антиконвульсант. Однако, оба эти вещества нарушали процессы запоминания. Причём, в отличие от домоевой кислоты, чьё амнестическое действие возникает из-за прямой индукции эксайтотоксичности в нейронах гиппокампа, агонисты метаботропных рецепторов 2 группы лишь блокировали «молекулярный субстрат», необходимый для возникновения долговременной потенциации. Таким образом, можно разделить метаботропные рецепторы на возбуждающие и тормозные, хотя такое разделение лишь условно.

Говорить об отдельных рецепторах можно и вне контекста группы, однако отдельные особенности рассмотреть однозначно стоит.

1 группа

mGluR1

Находится на адренергических нейронах и является положительным модулятором активности соответствующих рецепторов – селективные антагонисты mGluR1 оказывают аденолитическое действие. В исследованиях на мышах, лишённых гена данного рецептора, выявлено отсутствие каких-либо макро- и микроскопических патологий. Однако в тестах на координацию движений и запоминание мыши без этого рецептора показали худшие результаты по сравнению с контрольной группой. Интересно, что имеются сообщения о случаях, когда при болезни Ходжкина организм пациента вырабатывал аутоантитела к

mGluR1, что выражалось в виде паранеопластической атаксии. Мутации гена этого рецептора также могут быть причиной рецессивной спиноцеребеллярной атаксии.

mGluR5

Этот метаботропный рецептор интересен тем, что является одной из мишеней лития в организме. Литий (в форме кислых органических солей или карбоната) применяется в медицине в качестве нормотимика. На рецепторе имеется три сайта связывания – один для глутамата, а два других – для модуляторов и экзогенных лигандов, что делает mGluR5 перспективной мишенью для разработки нормотимиков, антидепрессантов и транквилизаторов. Например, лиганды этого рецептора, лишённые способности проникать через ГЭБ, исследуются в качестве средств, влияющих на тонус мочевого пузыря. Однако клиническое использование антагонистов и негативных модуляторов mGluR5 скорее всего будет ограниченным, так как уже в исследованиях на крысах данный класс соединений наряду со способностью снимать тревогу показал негативный побочный эффект – нарушения памяти. Агонисты mGluR5 исследуются в качестве средств против деменции и для восстановления после травм, уже опубликованы положительные результаты с 2-хлоро-5-гидроксифенилглицином в качестве перспективного агониста.

2 группа

mGluR2

Этот рецептор является «тормозным», как и большинство тех, что будут описаны ниже. В данном случае антагонисты и негативные модуляторы являются перспективными антидепрессантами — MGS-0039, например. Клиническое значение – в некоторых случаях амиотрофического бокового склероза описана низкая плотность mGluR2-рецепторов на нейронах. Скорее всего, это и явилось одной из причин гибели нервных клеток в случаях с теми пациентами, т.к.



данные рецепторы защищают нейроны от гибели, в том числе и от эксайтотоксичности. Также данный рецептор способен взаимодействовать с 5-HT_{2a}-рецептором серотонина. При посмертном исследовании мозга больных шизофренией было открыто, что при некоторых вариантах заболевания увеличение плотности (upregulation) 5-HT_{2a}-рецепторов коррелирует с уменьшенной плотностью (downregulation) mGluR₂-рецепторов, которые являются тормозными, в т.ч. и в случае расположения на серотонинергических нейронах.

mGluR3

Мутации гена этого рецептора повышают риск развития биполярного расстройства, шизофрении и склонности к зависимостям. Соответственно, как и mGluR₂, данный рецептор также является мишенью для различных экспериментальных препаратов. Более того, благодаря высокой гомологии (в т.ч. и сайта связывания) в научной литературе некоторые групповые лиганды обозначаются как mGluR_{2/3}-агонисты (или антагонисты). Также мутации в гене этого рецептора могут влиять на риск развития меланомы – в 16,3% случаев меланомы, у пациента обнаруживается мутация mGluR₃, выражающаяся в замене глутамина в 870 позиции на лизин.

3 группа

mGluR4

Этот рецептор интересен тем, что помимо ЦНС находится также и... на языке! Да, именно благодаря нему человек способен чувствовать тот самый вкус «умами», благодаря которому и началась история глутамата. Также, помимо обычных для таких рецепторов функций (LTP, участие в процессах запоминания и координации движений), mGluR₄ обнаружен и в иммунных клетках – Т-хелперах. При активации этих рецепторов Т-хелпер снижает продукцию интерлейкина-17. Мыши, лишённые этого рецептора, были более восприимчивы к экспериментальным формам энцефаломиелита и рассеянного склероза.

mGluR6

Данный подвид глутаматного рецептора найден в больших количествах в сетчатке. Клетки, имеющие этот рецептор (в большинстве своём – ON-подтип биполярных клеток, у них рецептор располагается постсинаптически), участвуют в регуляции силы восприятия светового раздражителя. Некоторые мутации гена этого рецептора ведут к никталопии (народное название – «куриная слепота»), нарушению сумеречного зрения.

mGluR7

Большая плотность этих рецепторов наблюдается в нейронах слуховых органов и вестибулярного аппарата. Также, благодаря селективному антагонисту — XAP044, mGluR₇-рецепторы были обнаружены в миндалевидном теле. Мыши, у которых отсутствовал этот рецептор, (+ NB) и те, у которых он был заблокиро-

ван упомянутым веществом, были меньше подвержены стрессу и беспокойству, однако у них была замедлена выработка рефлексов.

mGluR8

Об этом рецепторе известно мало. Однако, исходя из его близкого расположения к региону 7-й хромосомы, который подвергается делеции при синдроме Смита-Лемли-Опица, высказаны предположения о том, что его отсутствие влияет на неврологический статус пациента, в т.ч. обуславливая умственную отсталость, наблюдаемую при этом заболевании.

Клиническое значение глутаматергической системы

Как вы могли уже выяснить из прочтённого, рецепторы глутамата играют огромную роль в регуляции функционирования и развития нервной системы. Например, глутамат играет роль в гибели нейронов в условиях гипоксии – в таких условиях транспортёр глутамата (EAAT) просто не способен осуществлять обратный захват нейромедиатора в клетку. Таким образом, при массовой гибели нервных клеток количество высвободившегося глутамата растёт в геометрической прогрессии, вызывая эксайтотоксичное возбуждение в ещё живых нейронах, которые тоже могут умереть из-за этого.

Глутаматергическая система играет роль ключевого звена во множестве неврологических и психиатрических заболеваний – у более чем 30 нозологических единиц заболеваний доказана роль нарушений метаболизма глутамата в процессе патогенеза. Описать их всех в рамках единичной публикации, увы, невозможно – интересующихся отсылаю к книге «Нейропсихофармакология антагонистов NMDA-рецепторов» (авторы — Беспалов А.Ю., Звартау Э.Э.), эта книга является одной из самых информативных из русскоязычных.

Стоит рассказать об отечественных наркологах Кругицком и Гриненко и их изобретении – кетаминотерапии алкоголизма. Само название звучит довольно интересно. Это в прямом смысле шоковая терапия – согласно теории авторов, после сильного психоэмоционального переживания, связанного с алкоголем, у пациента пропадёт тяга к алкоголю.

Терапия проводится в три этапа:

1. С пациентом проводится просветительская беседа о вреде алкоголя, его пагубном влиянии на качество жизни. Также на этом этапе пациенту объясняют, что от введённых препаратов он будет испытывать галлюцинации, связанные с алкоголем, которые изменят его отношение к пьянству.
2. Пациенту вводится бемеград (блокатор ГАМК-рецепторов), этимизол (дыхательный аналептик) и кетамин. По сути, помимо галлюциногенного действия данная смесь является анксиогенной – вызывающей тревогу и страх. А затем пациента нужно немного поугаждать, цитирую – «Далее на фоне эмоциогенной, драматической по характеру музыки проводят психотерапевтические воз-

действия на больного, находящегося в состоянии легкого кетаминowego наркоза, во время которого определенный раппорт с ним сохраняется». Подбирать угрозы авторы советуют исходя из индивидуального анамнеза и истории болезни. Авторы рекомендуют на пике эмоциональных переживаний дать пациенту понюхать или даже подержать во рту немного алкоголя.

3. На следующий день после процедуры с пациентами проводится групповая психотерапия, где они делятся пережитым опытом, пересказывают друг другу свои галлюцинации и обсуждают вынесен-

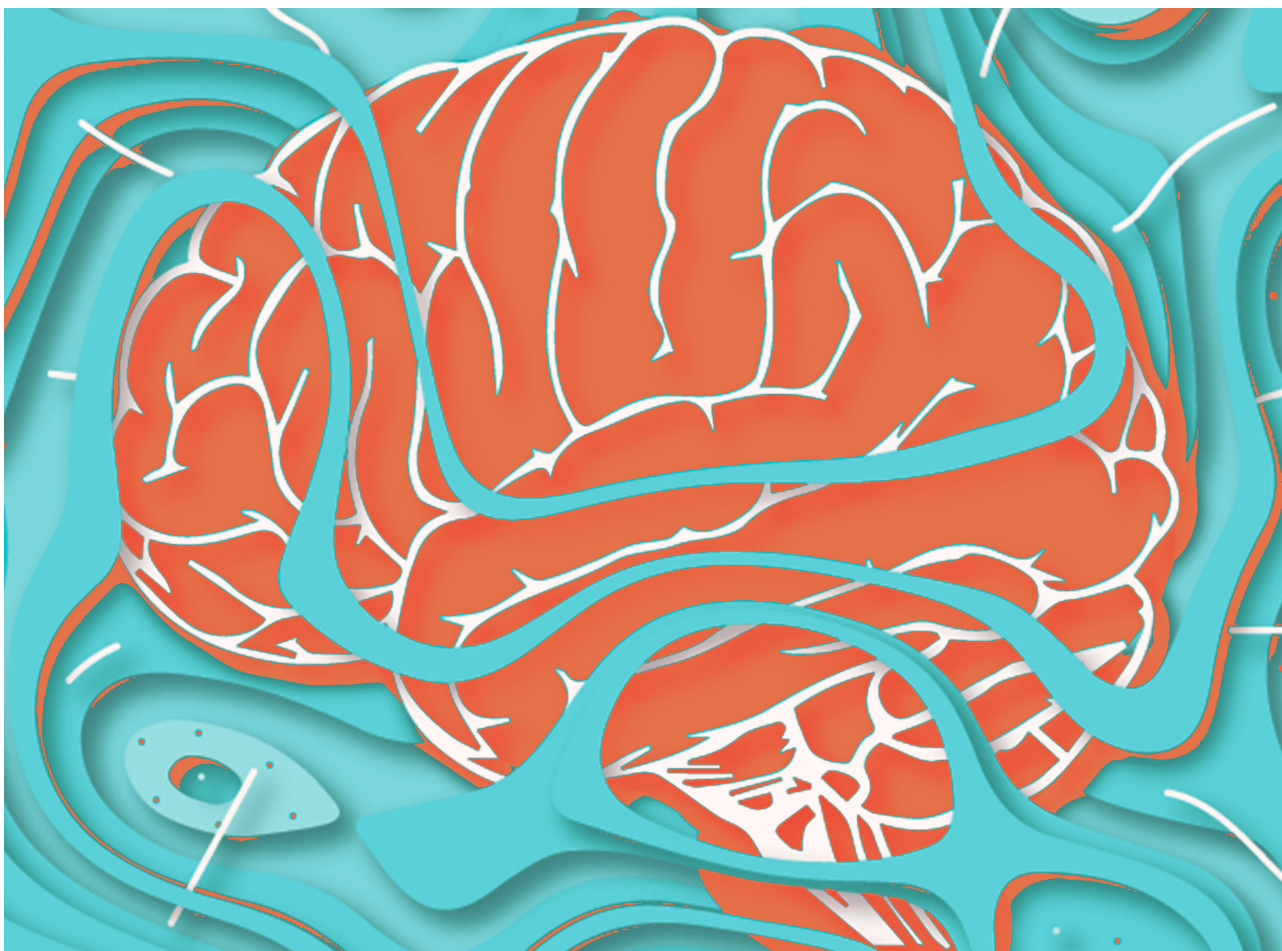
ный опыт.

Довольно интересное изобретение, что-то на уровне атропинокоматозной терапии. Самое интересное, что процедура действительно обладала большой эффективностью и после неё было относительно мало рецидивов.

В качестве заключения могу сказать, что глутаматергическая система мозга – это одна из самых широкоспециализированных сигнальных систем в нашем мозге и нервной системе, и её роль действительно сложно переоценить.

Список литературы

1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12467378>
Neuroscientist. 2002 Dec;8(6):562-73. GABA and glutamate in the human brain. Petroff OA1.
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16402093> Br J Pharmacol. 2006 Jan;147 Suppl 1:S100-8. The glutamate story.



ГАМК

СПИ МОЯ РАДОСТЬ, УСНИ

Автор: Anonimch

Редакция: -

Изображения: -

Опубликовано 19.12.2015.

Введение

История открытия некоторых нейромедиаторов порой поражала своей закрученностью: сначала адреналин открыли путём введения подопытным экстракта надпочечников, потом оказалось, что при нанесении вытяжки из блуждающего нерва напрямую на сердце подопытного животного сердце замедляет свой ритм из-за ацетилхолина. Подобных историй можно найти много, однако история открытия ГАМК (гамма-аминомасляной кислоты) выбивается из общего ряда. Я бы даже сказал, что в данном случае история открытия прямо коррелирует с физиологическими эффектами этого нейромедиатора:

1. 1883 год – Первые сообщения о синтезе ГАМК, вне контекста фармакологии и физиологии
2. 1950 год – Во время изучения химического состава мозга позвоночных с помощью бумажной хроматографии было выделено в больших количествах соединение, реагировавшее с нингидрином. Причём данное соединение находилось именно

в нервной ткани – ганглии, мозг – и только следовые количества его могли быть обнаружены в крови, моче и иных биологических жидкостях. В дальнейшем это соединение было идентифицировано Робертсом и Франкелем как ГАМК.

То есть в истории открытия ГАМК отсутствует какой бы то ни было экстрим, азарт, эйфория и безудержное веселье, наблюдавшееся в опытах с, например, блокаторами холинорецепторов.

В организме ГАМК синтезируется из глутаминовой кислоты (он же – глутамат) с помощью фермента глутаматдекарбоксилазы (GAD) и в присутствии витамина B6 в качестве кофактора. Сама же глутаминовая кислота образуется следующими путями:

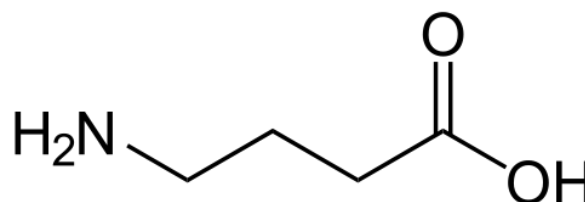


Рисунок 1 | ГАМК, простенькая аминокислота, которая выполняет уйму функций, не ограничиваясь нейромедиаторными

Таблица 1 | ГАМК, простенькая аминокислота, которая выполняет уйму функций, не ограничиваясь нейромедиаторными

Исходные соединения	Продукты	Фермент
Глутамин + H ₂ O	Глутамат + аммиак	GLS (глиальная глутаминаза) и GLS2 (печёночная глутаминаза)
N-ацетилглутаминовая кислота + H ₂ O	Глутамат + уксусная кислота	N-ацетилглутаматсинтетаза
Альфа-кетоглутарат + NADPH + NH ₄ ⁺	Глутамат + NADP ⁺ + H ₂ O	GLUD1, GLUD2 (глутаматдегидрогеназа 1 и 2)
Альфа-кетоглутарат + любая альфа-аминокислота	Глутамат + альфа-кетокислота	Специфические трансминазы
Дельта-1-пирролин-3-гидрокси-5-карбоксилат + NAD ⁺ + H ₂ O	Глутамат + NADH	ALDH4A1 (специфическая альдегиддегидрогеназа)
N-ацетиласпартилглутамат	Глутамат + N-ацетиласпартат	Глутаматкарбоксипептидаза 2

Интересно также, что глутамат, будучи биохимическим предшественником ГАМК, является возбуждающим нейромедиатором, и ГАМК при определённых условиях способна превращаться обратно в глутамат по биохимическому пути называемому «ГАМК-шунт»: ГАМК-трансминаза, которая тоже использует витамин B6 как кофактор, превращает ГАМК в янтарный полуальдегид, который превращается дегидрогеназой янтарного полуальдегида в янтарную кислоту, которая в свою очередь участвует в цикле Кребса. В цикле Кребса вырабатывается альфа-кетоглутарат, из которого синтезируется глутамат.

Окончательный катаболизм ГАМК возможен на стадии янтарного полуальдегида, когда он реагирует не со специфической дегидрогеназой, а с альдокеторедуктазой, в результате чего получается ГОМК – гамма-оксимасляная кислота. Её натриевую или магниевую соль, например, принято в определённых кругах и называть бутиратом, ну или пляс-водой. Это соединение тоже имеет определённое фармакологическое действие на ЦНС человека, однако оно бы-

стро распадается в конечном итоге до углекислого газа и воды.

Функции ГАМК

ГАМК как нейромедиатор

В качестве нейромедиатора ГАМК выполняет в первую очередь тормозящие функции. Активируя ГАМК-рецептор на поверхности клеточной мембраны, она открывает ионный канал, который пропускает ионы [Cl⁻] внутрь клетки или выпускает [K⁺] из неё в межклеточное пространство. Оба этих действия ведут к гиперполяризации мембраны нейрона. Во время периода гиперполяризации, который длится всего несколько миллисекунд, невозможна генерация разности потенциалов между внешней и внутренней стороной мембраны нейрона, что ведёт к задержке в передаче нервного импульса. На уровне же организма это ведёт к задержке при реакции на внешние раздражители или стимулы. Похожий механизм наблюдается в схеме действия агонистов мю-опиоидных рецепторов, которые через цепь посредников

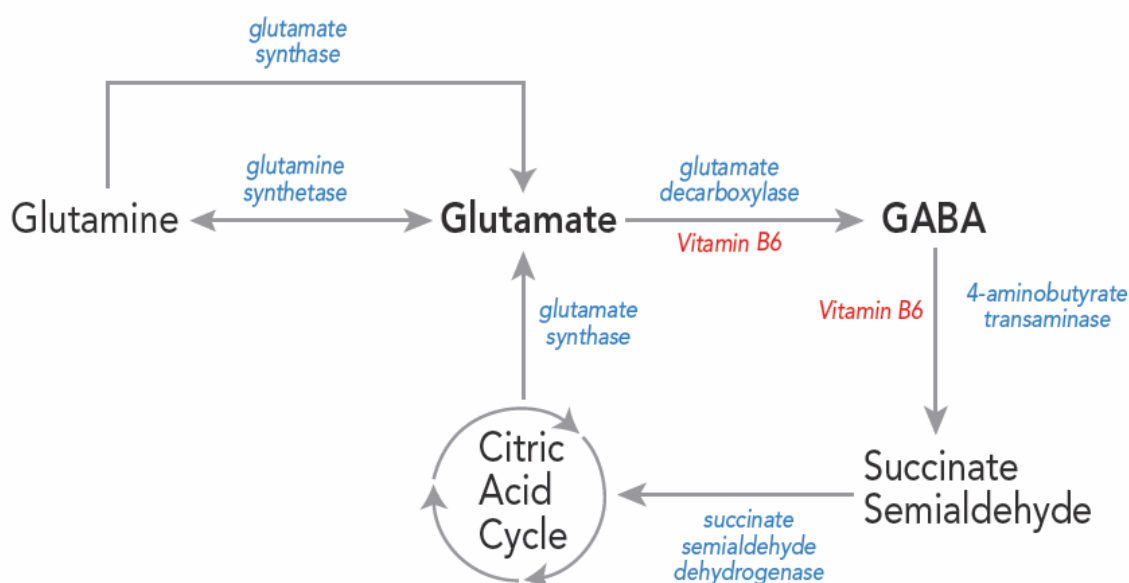


Рисунок 2 | Биосинтез ГАМК и ГАМК-шунт

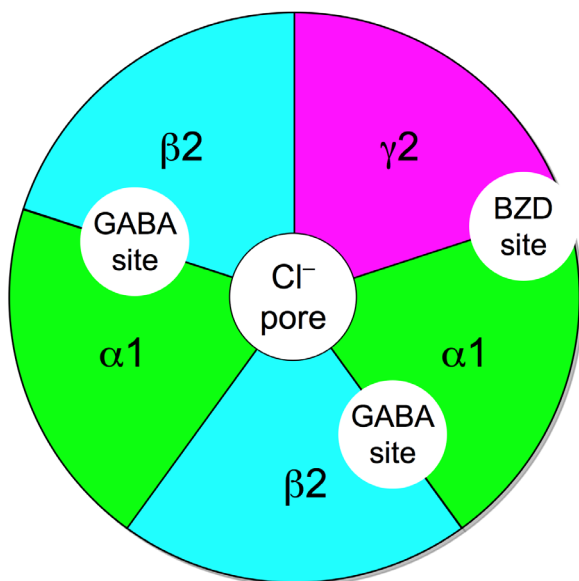


Рисунок 3 | Пример: $(\alpha 1)_2(\beta 2)_2(\gamma 2)$ -ГАМК-рецептор (следует читать как – две альфа1-субъединицы, две бета2-субъединицы и одна гамма2-субъединица). На границах альфа-1 и бета-2 субъединиц расположен сайт связывания ГАМК, чье присоединение напрямую открывает ионный канал. На границе гамма-2 и альфа-1 субъединиц расположен сайт связывания бензодиазепинов – при его активации специфическим лигандом (любым лекарственным веществом класса бензодиазепинов) ионный канал не открывается, однако увеличивается чувствительность рецепторного комплекса к ГАМК и иным лигандам этого сайта связывания

так же, как и ГАМК, открывают ионный канал, который выпускает ионы калия из клетки, не давая ей возможности создать разность потенциалов.

Также интересно, что если в полностью сформировавшемся мозге ГАМК выполняет тормозящие функции, то в развивающемся мозге этот же нейромедиатор может работать в качестве возбуждающего. В опытах на нейронах новорождённых крыс было обнаружено повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} при добавлении в перфузат ГАМК, и это кардинально отличается от того, что происходит во взрослом мозге, где при активации ГАМК-рецепторов концентрация Ca^{2+} , наоборот, снижается. В том же эксперименте было показано, что повышение концентрации ионов кальция в нейронах новорождённых крыс может быть заблокировано путём перфузии антагонистом ГАМК-А рецепторов бикакуллином, либо блокатором кальциевых каналов L-типа нимодипином. Механизм, по которому происходит переключение роли ГАМК с возбуждающего нейромедиатора на тормозящий, в настоящее время изучен недостаточно.

Существует три типа ГАМК-рецепторов: ГАМК-А, ГАМК-В и ГАМК-С (иногда указывается как ГАМК-ро). ГАМК-А и ГАМК-С являются ионотропными (бикакуллин и пикротоксин –чувствительные), ГАМК-В – метаботропным (баклофен-чувствительный) рецептором.

Стоит отметить, что ГАМК-А и ГАМК-С (иногда – ро/ rho) рецепторы иногда объединяются в одну группу.

Ионотропные ГАМК рецепторы состоят из пяти субъединиц и служат каналами для хлорид-ионов. По своему составу и функциям белковые субъединицы также могут различаться, образуя различные комбинации с различными функциями.

ГАМК-ро рецепторы (они же ГАМК-С) также относятся к ионотропным и также, как и ГАМК-А рецепторы, участвуют в транспорте хлорид-ионов. Также как и ГАМК-А рецепторы, ГАМК-ро рецепторы являются пентамерными, но в отличие от ГАМК-А они могут состоять из одинаковых субъединиц (т.е. быть гомопентамерными — $(\rho 15, \rho 25, \rho 35)$). В ГАМК-ро рецепторе могут присутствовать только ро-субъединицы, хотя есть и исключение: $\rho 1$ может входить в состав ГАМК-А рецепторов, содержащих как минимум одну гамма-2 субъединицу. Отличительной их особенностью является большее время, на которое открывается ионный канал при активации рецептора: ГАМК-А рецепторы активируются и инактивируются очень быстро – ионный канал открывается на время до 5 миллисекунд, в то время как ГАМК-ро рецепторы могут провести в открытом состоянии до 15-20 миллисекунд. Несмотря на то, что эти рецепторы являются ионотропными, они не проявляют чувствительности к бикакуллину и не блокируются пикротоксином (как ГАМК-А рецепторы), также они нечувствительны к баклофену (как ГАМК-В рецепторы). У них также отсутствует чувствительность к бензодиазепинам, барбитуратам и нейростероидам. Избирательными агонистами являются (+)-САНР и цис-4-аминокротоновая кислота, а антагонистами — ТРМРА и оксид азота (I). Следует заметить, что оксид азота (I) в отношении $\rho 1$ -гомопентамерного ГАМК-ро рецептора является положительным аллостерическим модулятором.

ГАМК-В рецепторы являются метаботропными. В отличие от ГАМК-А и ро рецепторов, которые непосредственно осуществляют транспорт ионов хлора, ГАМК-В рецепторы влияют на внутриклеточную концентрацию ионов калия путём открытия калиевых ионных каналов через цепь вторичных посредников. Этот тип рецепторов связан с Gi-белком, который осуществляет внутриклеточную сигнализацию путём ингибирования аденилатциклазы и последующего снижения конверсии АТФ в цАМФ. При этом повышается активность ионного канала для калия GIRK (главным образом GIRK3). Пресинаптические ГАМК-В рецепторы при своей активации также снижают проницаемость мембраны для ионов кальция, что задерживает выброс нейромедиаторов в межсинаптическое пространство. ГАМК-В рецептор является гетеродимерным и состоит из двух субъединиц: ГАМК-В1 и ГАМК-В2.

Одним из самых изученных подтипов ГАМК-эргических нейронов являются канделябровидные клетки. Они расположены в коре, формируют контакты исключительно с пирамидальными нейронами и участвуют в «фильтрации» импульсов с пирамидаль-

Таблица 2| Субъединицы ГАМК-А рецептора (включая присутствующие в ГАМК-ро рецепторе)

Субъединица	Кодирующий ген	Функции и связанные патологии
Альфа-1 ($\alpha 1$)	GABRA1	Белок GABRA1, для того что бы стать активным, должен быть фосфорилирован. Интересно, что фосфорилирование в этом случае является гликолиз-зависимым, так как помимо киназ в этом процессе задействована глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH). Соответственно уровень фосфорилирования альфа-1 субъединиц коррелирует с уровнем потребления глюкозы клеткой. Нарушения процесса фосфорилирования альфа-1 субъединицы связаны с такими заболеваниями как ювенильная миоклоническая эпилепсия – в образцах коры головного мозга людей, страдавших этим заболеванием, этот белок являлся менее фосфорилированным, чем у здоровых
Альфа-2 ($\alpha 2$)	GABRA2	Мутации в гене GABRA2 имеют положительную корреляцию с вероятностью развития алкоголизма. Также альфа-2 субъединица интересна тем, что лиганды ГАМК-А рецептора, осуществляющие своё связывание преимущественно через эту субъединицу (пример- L-838,417), показали способность купировать нейропатическую боль, либо боль вследствие воспаления, не оказывая побочных эффектов в виде седации, что присуще лигандам, связывающимся через альфа-1 субъединицу
Альфа-3 ($\alpha 3$)	GABRA3	Мутации гена GABRA3 связаны с развитием рака лёгких и гепатоцеллюлярной карциномы. Также альфа-3 субъединица является мишенью для ГАМК-эргических анальгетиков (таких как L-838,417, связывающийся также и с альфа-2 субъединицей)
Альфа-4 ($\alpha 4$)	GABRA4	Рецепторы, содержащие альфа-4 субъединицу, являются нечувствительными к 1,4-бензодиазепинам
Альфа-5 ($\alpha 5$)	GABRA5	У некоторых людей обнаруживается полная или частичная дупликация гена GABRA5. Он расположен на длинном плече 15 хромосомы, в регионе, который обычно подвергается делеции при синдромах Ангельмана и Прадера-Вилли. Антагонисты ГАМК-рецепторов, содержащих альфа-5 субъединицу, в настоящее время проходят испытание для коррекции когнитивных нарушений при синдроме Дауна. (напр. RO5186582, он же Басмисанил)
Альфа-6 ($\alpha 6$)	GABRA6	Как и альфа-4, эта субъединица не связывает классические 1,4-бензодиазепины. Рецепторы, содержащие альфа-6 субъединицу, находятся главным образом в мозжечке, где участвуют в процессах координации движений. Также интересно, что уровни экспрессии генов GABRA6 и GABRD (дельта субъединица) каким-то образом взаимосвязаны: при снижении экспрессии GABRA6 наблюдается и снижение экспрессии GABRAD
Бета-1 ($\beta 1$)	GABRB1	При шизофрении, биполярном расстройстве и большом депрессивном расстройстве наблюдается изменение экспрессии гена GABRB1 в боковых участках мозжечка. Также мутации этого гена связаны с большей вероятностью развития алкоголизма.
Бета-2 ($\beta 2$)	GABRB2	Мутации этого гена связаны с риском развития шизофрении и когнитивными нарушениями, при ней возникающими. Также в некоторых исследованиях установлена связь между мутациями GABRB2 и риском развития диссоциального расстройства личности
Бета-3 ($\beta 3$)	GABRB3	Как и GABRA5, ген GABRB3 расположен на длинном плече 15 хромосомы и утрачивается при синдромах Ангельмана и Прадера-Вилли. Сниженная экспрессия гена GABRB3 наблюдается при аутизме
Гамма-1 ($\gamma 1$)	GABRG1	Оба гена GABRG1 и GABRG2 кодируют гамма-субъединицы ГАМК-рецептора, которые ответственны (наряду с определёнными вариантами альфа-субъединиц) за связывание с бензодиазепинами
Гамма-2 ($\gamma 2$)	GABRG2	Полиморфизмы в гене GABRG2 связаны со сниженным порогом судорожной готовности и сниженной чувствительностью к аллостерической регуляции ГАМК-рецептора ионами цинка. Также гамма-2 субъединица взаимодействует с белком GABARAP (белок, связывающийся с ГАМК-рецептором), который в свою очередь также регулирует процессы аутофагии
Гамма-3 ($\gamma 3$)	GABRG3	Участвует в аллостерической регуляции активности ГАМК-рецептора ионами цинка. Также мутации в нём могут быть ещё одним маркером предрасположенности к алкоголизму

Таблица 2 | (продолжение)

Субъединица	Кодирующий ген	Функции и связанные патологии
Дельта (δ)	GABRD	Мутации в этом гене играют роль в вероятности развития эпилепсии. Также GABRD связаны с ранним дебютированием психических заболеваний. Путём альтернативного сплайсинга и посттрансляционной модификации получаются три типа дельта-субъединицы – 1A, 1B и 1C
Эпсилон (ε)	GABRE	Во время беременности в регионах продолговатого мозга, ответственных за дыхание, наблюдается увеличение ГАМК-рецепторов с эпсилон-субъединицей. Также гиперметилирование гена GABRE наблюдается при раке простаты, и в настоящее время выдвинуто предложение по использованию этого генетического маркера для диагностики и прогноза при лечении этого типа рака
Пи (π)	GABRP	Наибольшая экспрессия гена GABRP наблюдается в матке. ГАМК-рецепторы, содержащие пи-субъединицу, являются чувствительными к стероидным гормонам: нейростероидам (в случае ЦНС) и эстрогенам с андрогенами (ткани вне ЦНС)
Тета (θ)	GABRQ	Предположительно, мутации в GABRQ связаны с ранним паркинсонизмом. Также повышенная экспрессия GABRQ обнаруживается в клетках гепатоцеллюлярной карциномы – для опухолевых клеток, в которых присутствует данная мутация, ГАМК является стимулятором опухолевого роста. Иногда мутации GABRQ обнаруживаются при аутизме

Таблица 3 | Субъединицы ГАМК-ро (ГАМК-С) рецептора

Субъединица	Кодирующий ген	Функции и связанные патологии
Ро (ρ1)	GABRR1	Мутации в гене субъединицы связаны с риском развития пигментного ретинита
Ро (ρ2)	GABRR2	Так же, как и в GABRR1, мутации GABRR2 способны повышать риск развития пигментного ретинита. Имеются статистические данные, доказывающие связь между мутацией этого гена и вероятностью развития алкогольной зависимости
Ро (ρ3)	GABRR3	У некоторых людей присутствует SNP мутация, делающая данную субъединицу неактивной – тимин в 732 позиции гена GABRR3 заменяется на аденин, в результате чего кодон ТА(Т) превращается в ТА(А). В результате чего при трансляции вместо присоединения тирозина происходит обрыв синтеза белка, т.к. ТАА является стоп-кодоном. Ген GABRR3, в отличие от GABRR1 и 2, которые расположены на длинном плече 6 хромосомы, располагается на длинном плече 3 хромосомы (3q11-q13)

Таблица 4 | Субъединицы ГАМК-В рецептора

Субъединица	Кодирующий ген	Функции и связанные патологии
ГАМК-В1	GABBR1	Путём альтернативного сплайсинга гена GABBR1 образуется несколько версий этой субъединицы; <i>in vivo</i> такие изменения обнаруживаются при различных зависимостях, в т.ч. и при алкоголизме. Мутации регуляторной области гена GABBR1 повышают вероятность шизофреноподобных расстройств
ГАМК-В2	GABBR2	Эта субъединица непосредственно участвует в передаче сигнала в клетку и в запуске цепи вторичных мессенджеров. Мутации в GABBR2 повышают вероятность развития никотиновой зависимости, мигрени. Сниженный уровень экспрессии этого гена наблюдался в некоторых случаях шизофрении и расстройств личности

Таблица 4 | Отличительной особенностью ГАМК-рецепторов является то, что они расположены буквально везде – постсинаптически, пресинаптически и даже экstrasинаптически, вне региона синаптического контакта. Большая часть рецепторов к ГАМК находится на следующих типах клеток

Тип клеток	Отличительные особенности рецепторов
Dendrite targeting interneuron	В основном присутствуют ГАМК-А рецепторы, содержащие альфа-5 субъединицу в своём составе
Нейроглиаформные клетки	Присутствуют ГАМК-А рецепторы с альфа-1 субъединицей и значительное количество ГАМК-В рецепторов
Парвальбумин-положительные корзинчатые клетки	В основном присутствуют ГАМК-А рецепторы с альфа-1 субъединицей
Холецистокинин-положительные интернейроны	В основном ГАМК-А рецепторы с альфа-2 или альфа-3 субъединицами
Канделябровидные клетки	Обнаруживается много ГАМК-А рецепторов с альфа-2 субъединицами

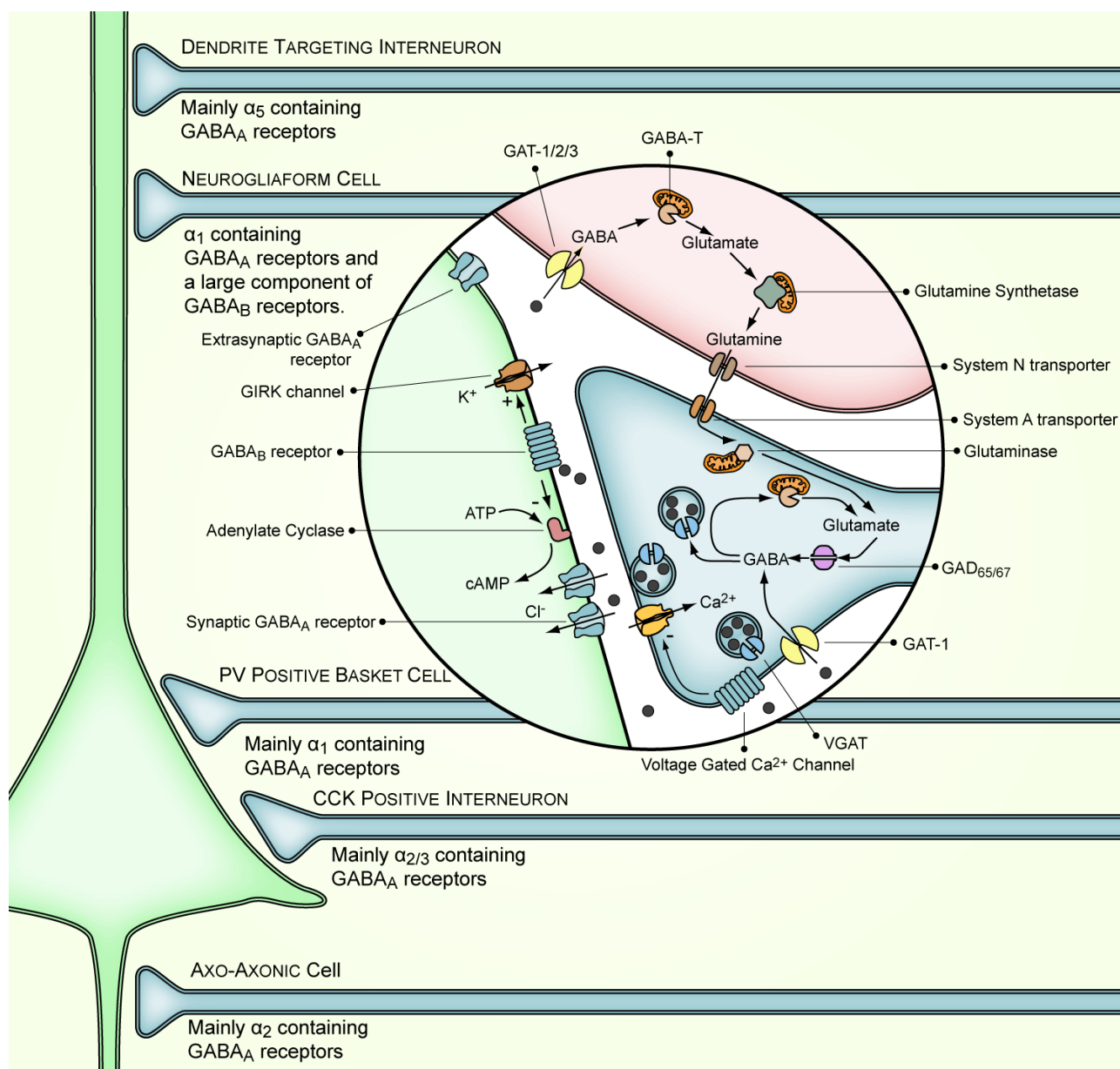


Рисунок 4 | Схема ГАМКергического синапса.

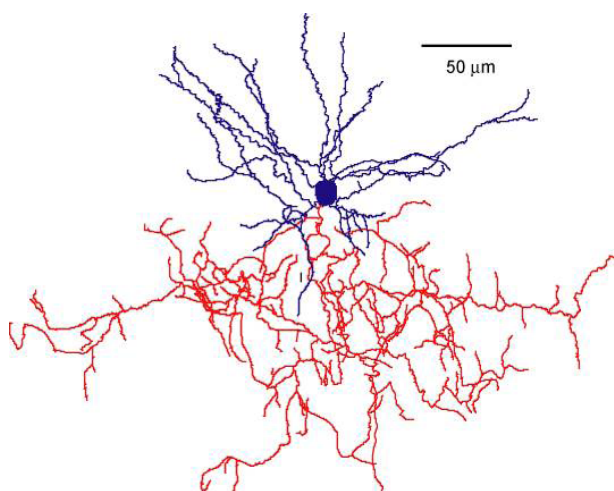


Рисунок 5 | Канделябровидная клетка. Тело нейрона и дендриты указаны синим цветом, аксон – красным

ных нейронов к другим клеткам. Канделябровидные клетки богаты ферментами глутаматдекарбоксилазой и GAT-1; первый участвует в синтезе ГАМК, а второй – в обратном захвате этого нейромедиатора. Несмотря на тормозящее действие, они способны к быстрой генерации импульсов, и, согласно современным данным, могут быть двух видов – парвальбумин-положительные (PV-positive) и парвальбумин-негативные (PV-negative). Также интересно, что при ИГХ-окрашивании срезов мозга людей, страдавших шизофренией, антителами к глутаматдекарбоксилазе, в канделябровидных клетках обнаружено значительное снижение количества этого фермента, что в свою очередь вызывало снижение тормозящей функции этих клеток.

Фармакология ГАМК-рецепторов

Как и должно быть по канонам истории, лиганды этого рецептора были известны человеку задолго до изобретения слова «лиганд» и задолго до, собственно, выделения каких-либо действующих веществ из натурального сырья. В данном случае под натуральным сырьём стоит понимать обычную валериану лекарственную, которая известна человечеству ещё с античности и использовалась в лечении различных форм «одержимости», так как раньше считалось, что большая часть психических заболеваний вызывалась именно злыми потусторонними силами. Стоит отметить, что за две с половиной тысячи лет, показания к применению экстрактов валерианы лекарственной не претерпели существенных изменений: бессонница, беспокойство, нервные тики, и, самая писечка, женская истерия. Очевидно, что в данном случае имеется ввиду лечение недостатка витамина Е в организме и психозы на фоне ПМС. Касательно ПМС и ГАМК – среди фармакологов ходит легенда, что бедного будапештского химика жена так терроризировала во время ПМС, что он изобрёл тофизопам, более известный отечественному читателю как грандаксин.

И на счёт валерианы стоит добавить, что из нескольких активных веществ, в ней содержащихся,

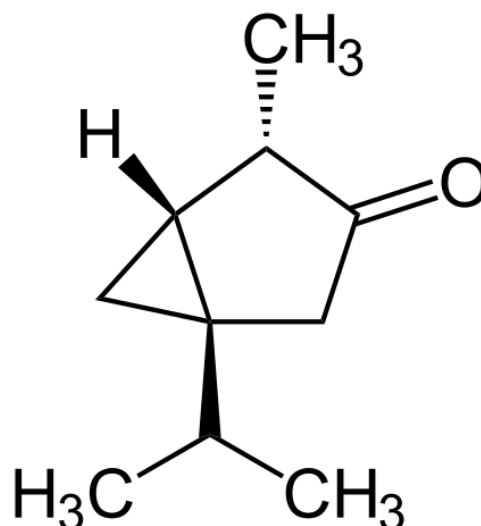


Рисунок 6 | Туйон

большая часть так или иначе является агонистами, либо положительными аллостерическими модуляторами, ГАМК-рецепторов. Сюда входят: валериановая кислота, изовалериановая кислота (прямые агонисты) и валереновая кислота с изовалерамидом (аллостерические модуляторы).

Всё бы было хорошо, но человеку свойственно иногда иметь желание подрыгать конечностями. На этот случай присутствуют антагонисты ГАМК-рецепторов. В исторической ретроспективе самым распространённым и известным ГАМК-Влокатором является туйон, компонент абсента, который настоян на полыни горькой. Учёные долгое время считали это вещество, основывая свои выводы на его нетипичной структуре, лигандом каннабиноидных рецепторов, однако исследования показали, что он избирательно блокирует ГАМК-A рецепторы. К эффектам туйона относят ксантопсию (изменение цветового восприятия в сторону жёлтого цвета) и галлюцинации. Хотя автор пил абсент в больших количествах, единственный эффект которым могу похвастаться, была лишь лёгкая ксантопсия.

Первыми синтетическими лигандами ГАМК-рецепторов были хлоральгидрат, синтезированный Юстусом Либихом в 1832 году, и барбитал, синтезированный в 1902 году Фишером и Мерингом. Позже, в 1955 году, Лео Штернбах открыл способность хлордиазепоксида подавлять тревогу, таким образом открыв для фармакологии эру бензодиазепинов. Примерно в это же время в США патентуют метаквалон, тоже продвигая его в качестве безопасного заменителя барбитуратов. В 1962 году был изобретён баклофен, избирательно активировавший ГАМК-B рецепторы и благодаря которому этот подкласс ГАМК-рецепторов был выделен отдельно от ГАМК-A рецепторов.

К тому времени уже было известно, что ГАМК как таковая неспособна при пероральном приёме или внутривенном введении пересечь гематоэнцефалический барьер. Эта возмутительная фишка в фармакодинамике ГАМК подвигла советских учёных



Рисунок 7 | Та самая «Зеленая фея»

изобрести в 1969 году пикамилон – пролекарство, являющееся ГАМК, «сшитой» с никотиновой кислотой. Такое соединение хорошо преодолевает ГЭБ, и уже за ГЭБом гидролизуется на собственно никотиновую кислоту и ГАМК.

Из новинок линейки стоит отметить прегабалин – вещество, открытое в середине нулевых, но уже завоевавшее популярность и одобрение пациентов. Несмотря на его структурное сходство с ГАМК, оно не является ни аллостерическим модулятором, ни прямым агонистом. Оно взаимодействует с $\alpha 2\delta$ -субъединицей кальциевого ионного канала. Ионные каналы, содержащие эту субъединицу, располагаются в основном на ГАМК-эргических нейронах; соответственно, их активация вызывает последующую активацию ГАМК-рецепторного комплекса. Данное вещество продается под торговым названием «Лирика». Стоит заметить, что старый агонист ГАМК-В рецепторов, фенибут, наряду с прямым действием на эти рецепторы, так же как и прегабалин, имеет аффинитет к кальциевым ионным каналам, содержащим $\alpha 2\delta$ -субъединицу.

К большому сожалению, человек – существо ленивое. Ему хочется просто лежать на диване под транками и ничего не делать. В результате чего получилась ситуация, когда в медицинской практике применяются десятки агонистов ГАМК-рецепторов и лишь один антидот при отравлении ими – флумазенил. Его дозы составляют несколько сотен микрограмм: при острой фазе отравления ГАМК-агонистами его вводят по 200 мкг в минуту; эффект интоксикации проходит через 5 минут. Рекомендуются использовать не более 3мг (3000мкг) в час.

Хотя, конечно, не всегда желание заблокировать ГАМК-рецепторы связано с необходимостью проснуться от долгого и качественного сна, вызванного транквилизаторами. Иногда это делается с целью убить кого-либо. Существует целая группа соединений, называемая «судорожными ядами». Они делятся на три группы:

3. Блокаторы путей синтеза ГАМК
4. Блокаторы ГАМК-рецепторов
5. Блокаторы высвобождения ГАМК

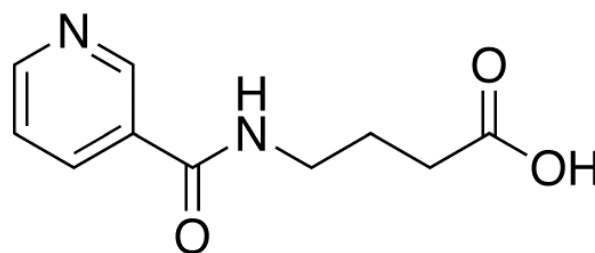


Рисунок 8 | Пикамилон. Пролекарство, являющееся предшественником ГАМК

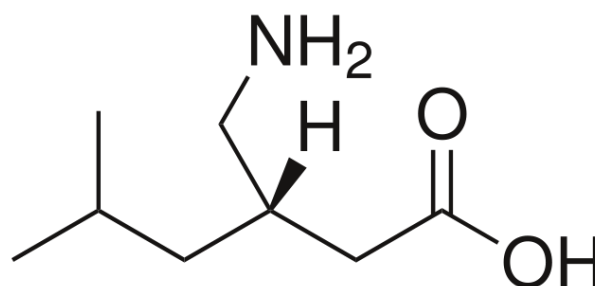


Рисунок 9 | Прегабалин, он же «Лирика», он же СЕЙ-ЧАС ЗАТУСИМ ПОСОНЫ

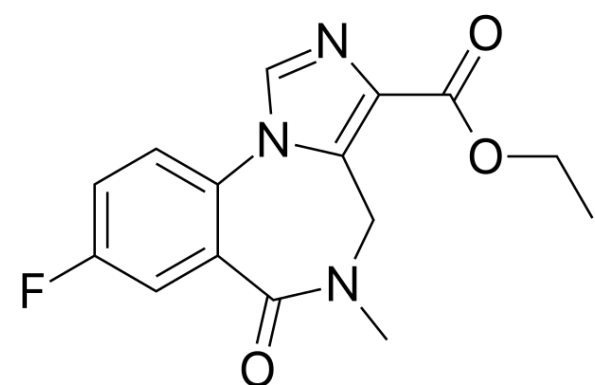


Рисунок 10 | Флумазенил – ваш билет из сонного царства обратно в объективную реальность

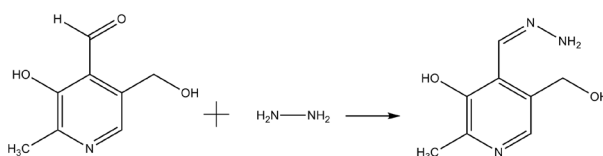


Рисунок 11 | Механизм действия гидразина и образование пиридоксальгидразона

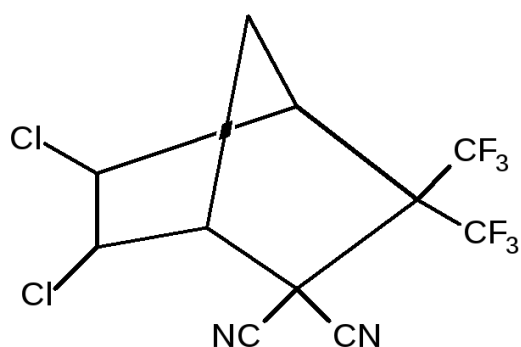


Рисунок 12 | Норборан

К первой группе относятся некоторые гидразиновые соединения, в том числе и ранние неселективные и необратимые ИМАО (например, фенелзин в больших количествах). Они действуют по двум путям: либо блокируют ГАМК-трансаминазу, либо в случае соединений с малым молекулярным весом (гидразин, несимметричный диметилгидразин) вступают в реакцию с витамином В6, образуя пиридоксальгидразон, который уже не может выступать кофактором в процессах синтеза ГАМК.

Стоит отметить, что в случае отравления блокаторами синтеза ГАМК наблюдается относительно продолжительный скрытый период в отравлении: это связано с тем, что в глиальных клетках, окружающих ГАМК-эргический нейрон, имеются некоторые запасы ГАМК, которые могут использоваться в случае чего. Терапия – витамин В6 в больших количествах, для снятия судорог можно использовать диазепам.

Ко второй группе можно отнести в основном блокаторы ГАМК-А рецепторов – бикукуллин, пикротоксин (являющийся эквимольной смесью пикротинина и пикротиона), упоминавшийся выше туйон и довольно интересное соединение – вещество Мидлтона (иногда обозначают как норборнан). Крайне реакционно-способное каркасное соединение, сайт связывания которого находится в области, наиболее близкой к ионному каналу. Это вещество связывается с рецептором необратимо, терапии нет, смерть неизбежна, Россия – наше отечество. К счастью, оно применяется лишь в исследованиях.

Интересным соединением также является ДСТА, которое имеет схожий механизм действия и, по некоторым данным, использовалось как яд от вредителей.

Также существуют соединения класса бициклофосфатов, которые, в отличие от иной ядовитой фосфорорганики, действуют через ГАМК-рецепторы. К счастью, из-за их физико-химических свойств они не являются подходящими кандидатами для принятия на

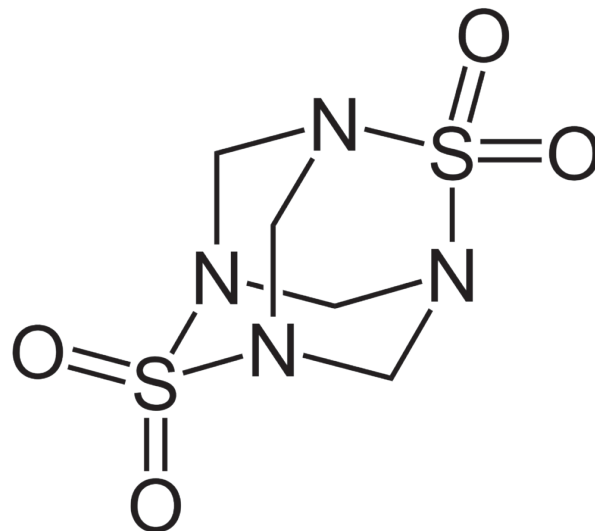


Рисунок 12 | ДСТА

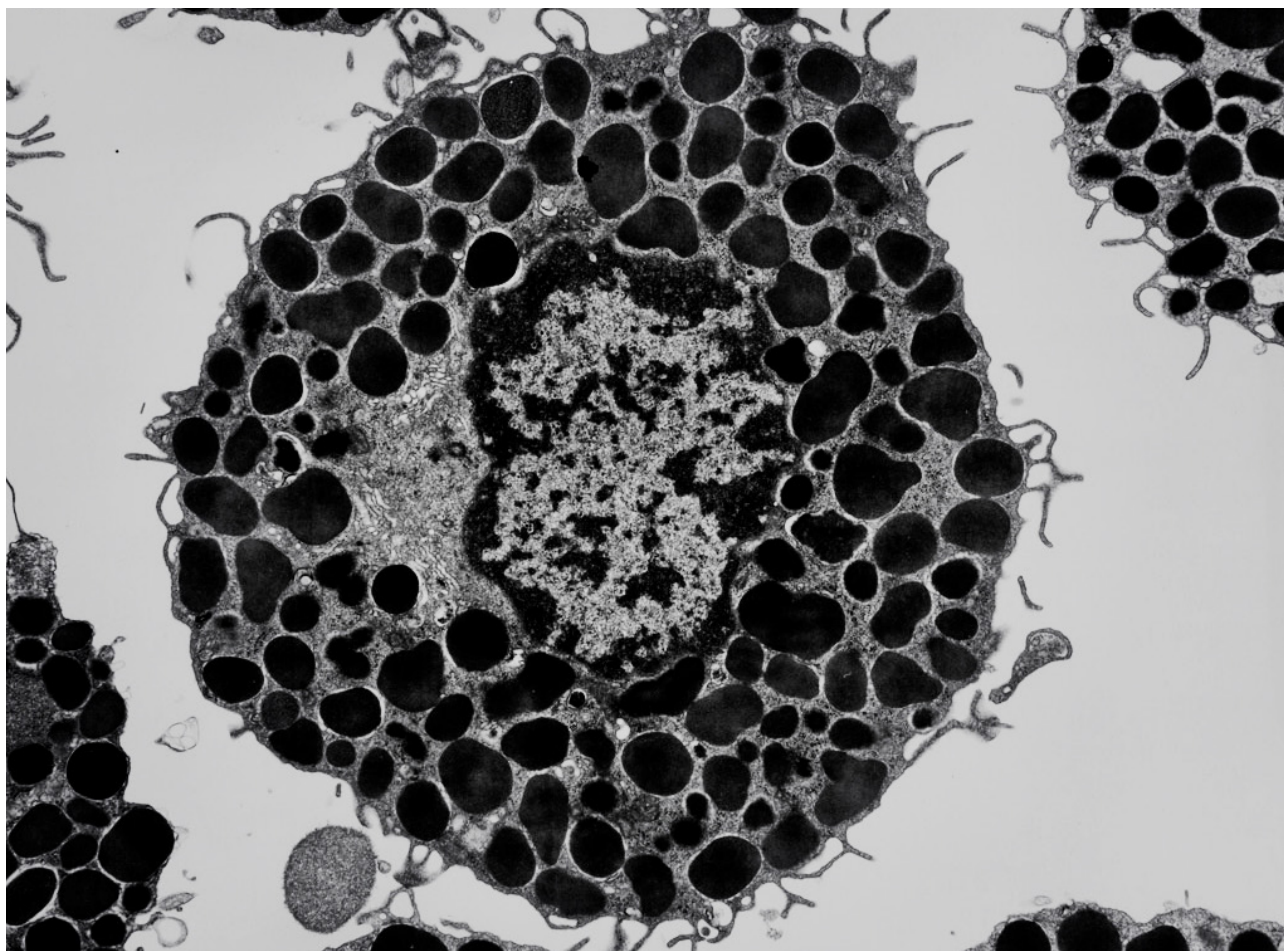
вооружение, так что они также используются лишь в нейрофизиологических исследованиях.

К ингибиторам высвобождения ГАМК можно отнести бактериальный токсин тетанотоксин, вырабатываемый *Clostridium tetani* (столбнячная палочка). Его строение и функции во многом похожи на ботулотоксин, правда, в отличие от ботулотоксина, который нарушает высвобождение возбуждающего нейромедиатора ацетилхолина, тетанотоксин блокирует высвобождение везикул с ГАМК, являющимся тормозящим нейромедиатором. В данном случае лечение имеется как и этиотропное (введение противостолбнячной сыворотки), так и симптоматическое (миорелаксанты и транквилизаторы).

Так что будьте спокойны: для этого у современной науки есть все средства.

Список литературы

1. <http://themedicalbiochemistrypage.org/nerves.php>
Michael W King, PhD
2. «Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита», С. А. Куценко
3. «Regulation of adult neurogenesis by GABAergic transmission: signaling beyond GABAA-receptors», Marta Pallotto, Francine Deprez
4. «Effects of GABA Receptor Antagonists on Retinal Glycine Receptors and on Homomeric Glycine Receptor Alpha Subunits», Peiyuan Wang, Malcolm M. Slaughter
5. «Use of concatamers to study GABAA receptor architecture and function: application to δ -subunit-containing receptors and possible pitfalls» Erwin Sigel, Kuldeep H. Kaur, Benjamin P. Lüscher, Roland Bau
6. «Inhibition in the Nervous System and Gamma-aminobutyric Acid», Roberts, E., Baxter, C.F., Van Harreveld, A., Wiersma, C.A.G., Adey, W.R., and Killam, K.F.
7. «The Biochemical Basis of Neuropharmacology», Jack R. Cooper, Floyd E. Bloom, Robert H. Roth



ГИСТАМИН

Автор: Anonimch

Редакция: -

Изображения: -

Опубликовано 22.01.2016.

Введение

Вас когда-нибудь били? Когда-нибудь вы обжигались об крапиву? Вас кусали насекомые? Поздравляю! Вы один из семи миллиардов несчастных, испытавших на себе эффекты гистамина!

Гистамин (он же β -имидазолилэтиламин) – биогенный амин, нейромедиатор и вообще интересное соединение (Рис.1). Помимо участия в аллергических реакциях, его функции в организме также включают в себя регуляцию суточного ритма, тонуса сосудов и активности секреторных клеток слизистой оболочки. Даже половое влечение отчасти зависит от гистаминергических систем.

История

Изначально гистамин был «молекулой-сиротой»: ученые, проводившие первые исследования, даже не думали, что он может присутствовать в теле человека. Но обо всём по порядку.

Эрготизм, или же Антониев огонь, был описан ещё средневековыми медиками. Это заболевание с довольно интересной симптоматикой: диарея, галлю-

цинации, судороги, при тяжёлых формах возможно возникновение гангрены. Однако лишь к середине XIX века у врачей появилось относительно реалистичное представление о главной причине эрготизма – паразитическом грибке *Claviceps purpurea*, он же спорынья. Внимательный читатель спросит: «А причём здесь, собственно, спорынья, если мы говорим о гистамине?» В 1904 году кембриджский аспирант-физиолог Генри Дейл и его научный руководитель Джон Лэнгли были приглашены на работу в лабораторию Генри Уэллкома в Южном Лондоне. Уэллком поставил исследователям задачу выяснить механизмы действия экстракта спорыньи и найти ему новые терапевтические приложения. К их работе подключился Джордж Баргер, который к тому времени уже имел опыт выделения и очистки отдельных соединений из спорыньи, и вместе с Дейлом они начали систематизацию и описание фармакологических свойств выделенных веществ. В 1910 году они выделили из стандартизированного экстракта спорыньи бета-аминоэтилимидазол, имевший структурное сходство с аминокислотой гистидином, но лишённый карбоксильной группы. Впоследствии он получил название «гистамин». Однако позднее выяснилось, что за три года до выделения гистамина из спорыньи это вещество уже было описано в 1907 году Виндхаусом и Вогтом в качестве синтетического аналога гистиди-

на. Это не могло не порадовать Дейла: синтез гистамина оказался намного легче его выделения. Таким образом, Дейл получил источник больших количеств гистамина для последующих исследований его фармакодинамики и фармакокинетики [1]. Первые исследования по изучению действия гистамина проводились на млекопитающих; в процессе выяснилось, что соединение способно вызывать сокращение гладкой мускулатуры матки, бронхов и кровеносных сосудов, также гистамин вызывал усиление секреторной функции слизистых оболочек и увеличение кислотности желудочного сока. Также Дейл в сотрудничестве с Линдлоу отметил существенное сходство между анафилактической реакцией и эффектами, вызываемыми введением больших количеств гистамина подопытным морским свинкам. В 1927 году Дейл доказал существование эндогенного гистамина, обнаружив его в экстрактах печени и лёгких сенситизированных животных.

Спустя десятилетие медики признали связь между гистамином и аллергическими реакциями, и в 1937 году Бове и Штауб из Института Пастера, используя соединения, синтезированные Эрнестом Форно, показали возможность частичного блокирования действия гистамина. Первым антигистаминным препаратом, показавшим нужную активность, был пипероксан.

Стоит также отметить, что из-за недостатка фактического материала первые исследования антигистаминных препаратов проводились достаточно грубо: единственным свойством, определявшим допуск вещества к клиническим испытаниям, являлась способность купировать бронхоспазм у экспериментальных животных. На побочные эффекты вроде сонливости и частичного холинолитического действия никто не обращал внимания.

Со временем выяснилось, что не все эффекты гистамина блокируются введением антигистаминных препаратов. Это натолкнуло учёных на мысль о существовании нескольких типов рецепторов гистамина.

Доказательства этой гипотезы появились уже в 1940-х годах: первые модели действия гистамина были опубликованы Уэллсом в 1945 и Фолкю в 1948 годах. В качестве доказательства существования нескольких типов гистаминовых рецепторов приводился опыт на кошках, где димедрол лишь частично блокировал вазодилатацию, вызванную введением гистамина.

В 1960 году Тренделенбург в процессе уточнения pA2^* для пириламида обнаружил, что для разных органов (сердце и подвздошная кишка) значение pA2 довольно сильно отличается. Впоследствии было установлено, что пириламид в малых дозах блокирует эффекты гистамина в отношении бронхов и мускулатуры подвздошной кишки, однако не оказывает никакого воздействия на тонус матки и правого предсердия.

Тип гистаминовых рецепторов, находящихся в бронхах и подвздошной кишке, получил обозначение H_1 . Исследователям стало очевидно, что для характе-

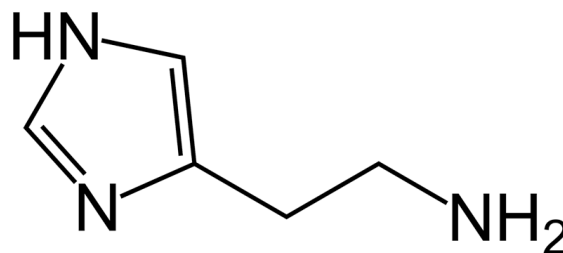


Рисунок 1 | Гистамин (β-имидазолилэтиламин)

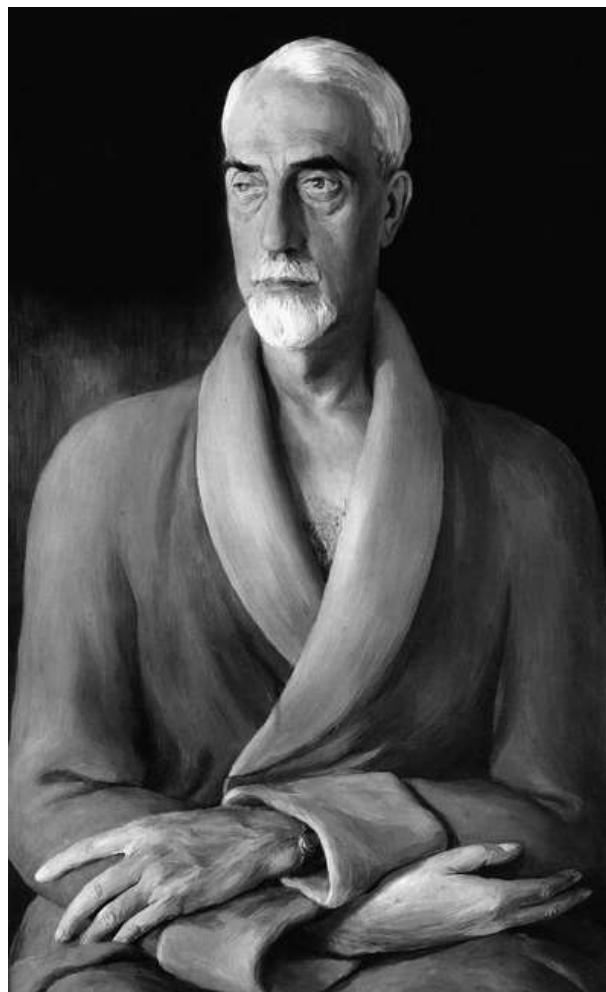


Рисунок 2 | Эрнест Форно

** pA2 применяется для относительного измерения фармакологической активности соединений; это отрицательный логарифм молярной концентрации антагониста, при которой для получения стандартного эффекта агониста его концентрацию надо увеличить вдвое.*

ризации и изучения функций H_2 -рецепторов (в предыдущих исследованиях они были обнаружены в матке и правом предсердии) нужны новые селективные лиганды.

Нужные соединения были созданы в 1965 году. Джеймс Блек, работавший ранее над разработкой лигандов бета-адренорецепторов, решил пойти по пути модификации исходных гормонов. Следуя логике, которой он руководствовался при создании изопрена-

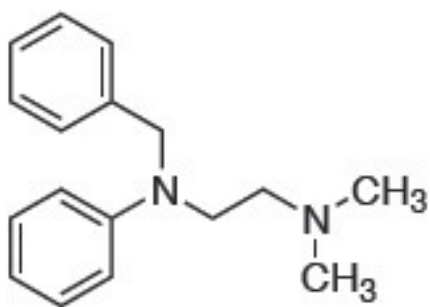


Рисунок 3 | Первым антигистаминным средством, вошедшим в клиническую практику, стал антегран (RP 2339)

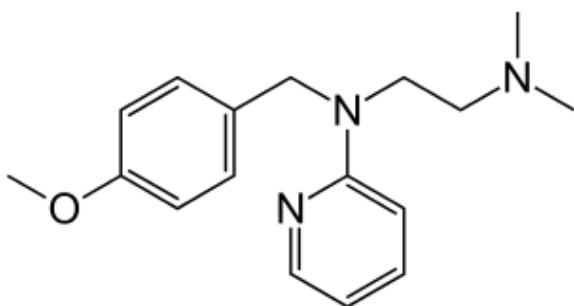


Рисунок 4 | В последствии на рынок была выпущена модификация антегрена – пириламин

лина и дихлоризопреналина, Блек решил синтезировать различные модификации гистамина и провести анализ их фармакологической активности. Итогом стали два соединения – 5-метилгистамин и N-альфа-гуанилгистамин, избирательно возбуждавшие H_2 -рецепторы. Окончательным итогом его работы стали H_2 -блокаторы буримаид и метиамид. Буримаид интересен тем, что он первым полностью блокировал эффекты гистамина в отношении тонуса сосудов. Метиамид же стал отправной точкой для разработки циметидина – H_2 -блокатора, использующегося для понижения кислотности желудочного сока и лечения язвенной болезни.

Однако и это ещё не все. В последующих исследованиях выяснилось, что совместное введение H_1 -и H_2 -блокаторов купировало не все эффекты гистамина, и особенно ярко это проявилось во время опытов на изолированных срезах мозга. В 1983 году Аррандж проводил исследование с меченным изотопной меткой гистамином и выяснил, что буримаид (раннее классифицированный как H_2 -блокатор) и импромидин (H_2 -блокатор) имели слишком большую разницу в активности: относительно гистаминовых рецепторов, находившихся в срезах коры головного мозга мышей, буримаид оказался в 300 раз более активным. Это дало основание для выделения нового типа гистаминовых рецепторов – H_3 . Позже, в 1987 году, Тжечаковский обнаружил похожую разницу в фармакологических активностях буримаида и импромида относительно активности нервов ауэрбахового сплетения. Его исследования привели к разра-

ботке модельных лигандов H_3 -рецепторов – агониста α -метилгистамина и антагониста тиоперамида. В настоящее время некоторые лиганды H_3 -рецепторов рассматриваются как потенциальные лекарства против болезни Альцгеймера, СДВГ и нарколепсии.

Наконец, в 1990х был выделен четвёртый тип гистаминовых рецепторов. В 1996 году Рейбль обнаружил, что увеличение внутриклеточной концентрации кальция в эозинофилах в ответ на введение гистамина можно успешно блокировать тиоперамидом, но не пириламином или циметидином. Это стало доказательством того, что в данном случае эффект являлся следствием возбуждения H_3 -рецепторов. Однако в последующих экспериментах с альфа-метилгистамином (избирательным H_3 -агонистом) увеличения концентрации кальция в эозинофилах не происходило. Подобным образом были протестированы и другие известные на тот момент H_3 -агонисты, однако они не оказывали на эозинофилы такого же эффекта, как чистый гистамин. Это дало исследователям основания утверждать о выделении нового типа гистаминовых рецепторов – H_4 . В дальнейшем выяснилось, что H_4 -рецепторы находятся главным образом в клетках иммунной системы, и с нарушением их функционирования связали несколько аутоиммунных заболеваний, однако их селективные лиганды до сих пор не нашли клинического применения. У мышей, лишённых H_4 -рецепторов, нарушен процесс хемотаксиса иммунных клеток. Также H_4 -рецепторы являются единственными, чья структура остаётся неясной до конца.

Недавно (2012, «Histamine-gated ion channels in mammals?» Fleck M., Biochemical Pharmacology) появились сообщения об ионных каналах хлора, для которых гистамин является специфическим лигандом, однако на сегодняшний день они недостаточно хорошо описаны.

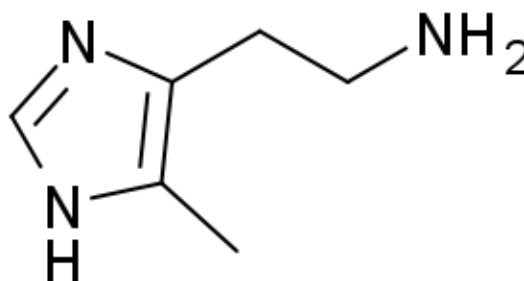


Рисунок 5 | 5-метилгистамин

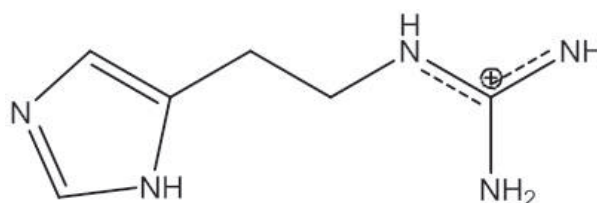


Рисунок 6 | N-альфагуанилгистамин

Рецепторы гистамина

Итак, все изученные и охарактеризованные на сегодняшний день рецепторы гистамина являются метаботропными и осуществляют своё действие через цепь вторичных внутриклеточных мессенджеров (Таб.1).

Механизм действия гистамина

Как следует из схемы, одним из ключевых моментов в запуске аллергической реакции является высвобождение гистамина вместе с протеазами и цитокинами из тучных клеток (mast cells); также этот процесс называют дегрануляцией.

Гистамин синтезируется в цитозоле из аминокислоты гистидина. Затем он с помощью белка VMAT2 (везикулярный транспортёр моноаминов) закачивается в «молодые» везикулы, отделившиеся от комплекса Гольджи. Кроме того, в процессе созревания

и движения по микротрубочкам к мембране в везикулы упаковываются различные протеазы и цитокины. На поверхности тучной клетки расположены высокоспецифичные рецепторы FCER1 (Рис. 9). Данные рецепторы прочно связываются с высокоспецифичными IgE, выработанными плазматическими клетками в ответ на аллерген. Связывание с рецептором происходит таким образом, что Fab-регион, ответственный за связывание с антигеном, остаётся вне клетки. Соответственно, таким образом тучная клетка уже «знает», на какой из антигенов нужно среагировать.

Когда специфический антиген связывается с FCER1, запускается LYN-зависимое фосфорилирование ITAM-фрагментов и активация протеинкиназ FYN и SYK. Эти активные протеинкиназы, в свою очередь, фосфорилируют LAT (LYN и SYK) и GAB2 (FYN). Фосфорилирование LAT ведёт к активации фосфолипазы

Таблица 1 | Рецепторы гистамина

Рецептор	Мессенджеры	Функция	Местонахождение	Агонисты	Антагонисты
H ₁	G _q – вызывает повышение уровня IP ₃ и ДАГ	ЦНС: регуляция цикла «сон-бодрствование» (осуществляет переход в состояние бодрствования), регуляция температуры тела, ноцицепции, нейроэндокринного гомеостаза, процессов запоминания и аппетита. ПНС: ключевое звено механизма бронхоконстрикции, регулирует процессы вазодилатации, висцеральной ноцицепции, участвует в развитии крапивницы и зуда	ЦНС: туберомамиллярные ядра гипоталамуса, которые имеют проекции к дорсальным ядрам шва и синему пятну. ПНС: гладкая мускулатура, эндотелий, чувствительные нейроны	Гистамин, HTFMT, UR-AK49, бетагистин, 2-пиридилэтиламин	Дифенгидрамин, лоратадин, цетиризин, фексофенадин, клемастин
H ₂	G _s – увеличивает уровень цАМФ	Частично участвует в процессе вазодилатации, регулирует секрецию желудочного сока и функции ЖКТ	Париетальные клетки желудка, гладкая мускулатура сосудов	Гистамин, амтамин, бетазол, димаприт, HTFMT, импромидин, UR-AK49	Ранитидин, циметидин, фамотидин, низатидин
H ₃	G _i – снижает уровень цАМФ	Пресинаптический ауторецептор, ингибирует выброс гистамина, серотонина, норадреналина и ацетилхолина. Регулирует аппетит и частично секрецию желудочного сока	Главным образом находятся в ЦНС	Гистамин, альфа-метилгистамин, ципралисант, иметит, иммепип, имметридин, метимипип, проксифан	ABT-239, ципроксифан, клобенпропит, тиоперамид
H ₄	G _i – снижает уровень цАМФ	Участвует в осуществлении хемотаксиса, развитии зуда и воспаления, выбросе цитокинов. Также играет роль в возникновении болевых ощущений	Базофилы, CD4+ лимфоциты, костный мозг, тимус, тонкая кишка, селезёнка, толстая кишка	Гистамин, 4-метилгистамин, альфа-метилгистамин, OUP-16, VUF-8430	Тиоперамид

Также стоит перечислить меченные изотопными метками специфические лиганды, которые используются для исследования рецепторов: H₁ – [3H]-пириламин, H₂ – [125I]-аминопотентидин, H₃ – [125I]-йодопроксифан, H₄ – [3H]- JNJ7777120

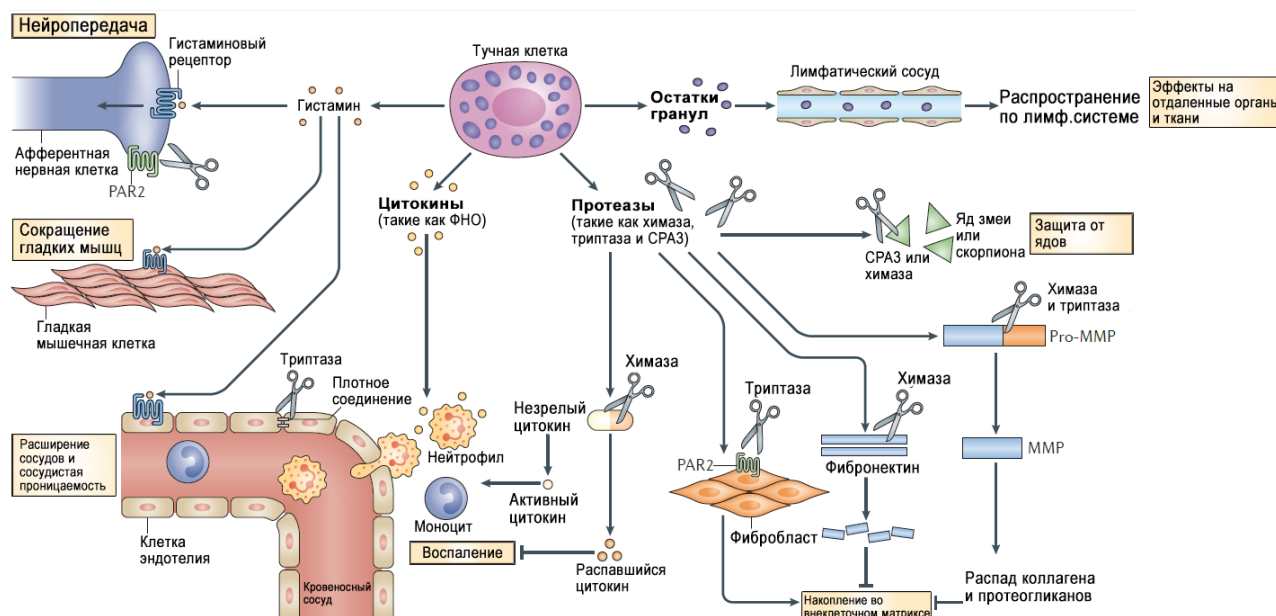


Рисунок 7 | Схема действия гистамина на уровне тканей и клеток на примере аллергической реакции. Как следует из схемы, одним из ключевых моментов в запуске аллергической реакции является высвобождение гистамина вместе с протеазами и цитокинами из тучных клеток (mast cells); также этот процесс называют дегрануляцией

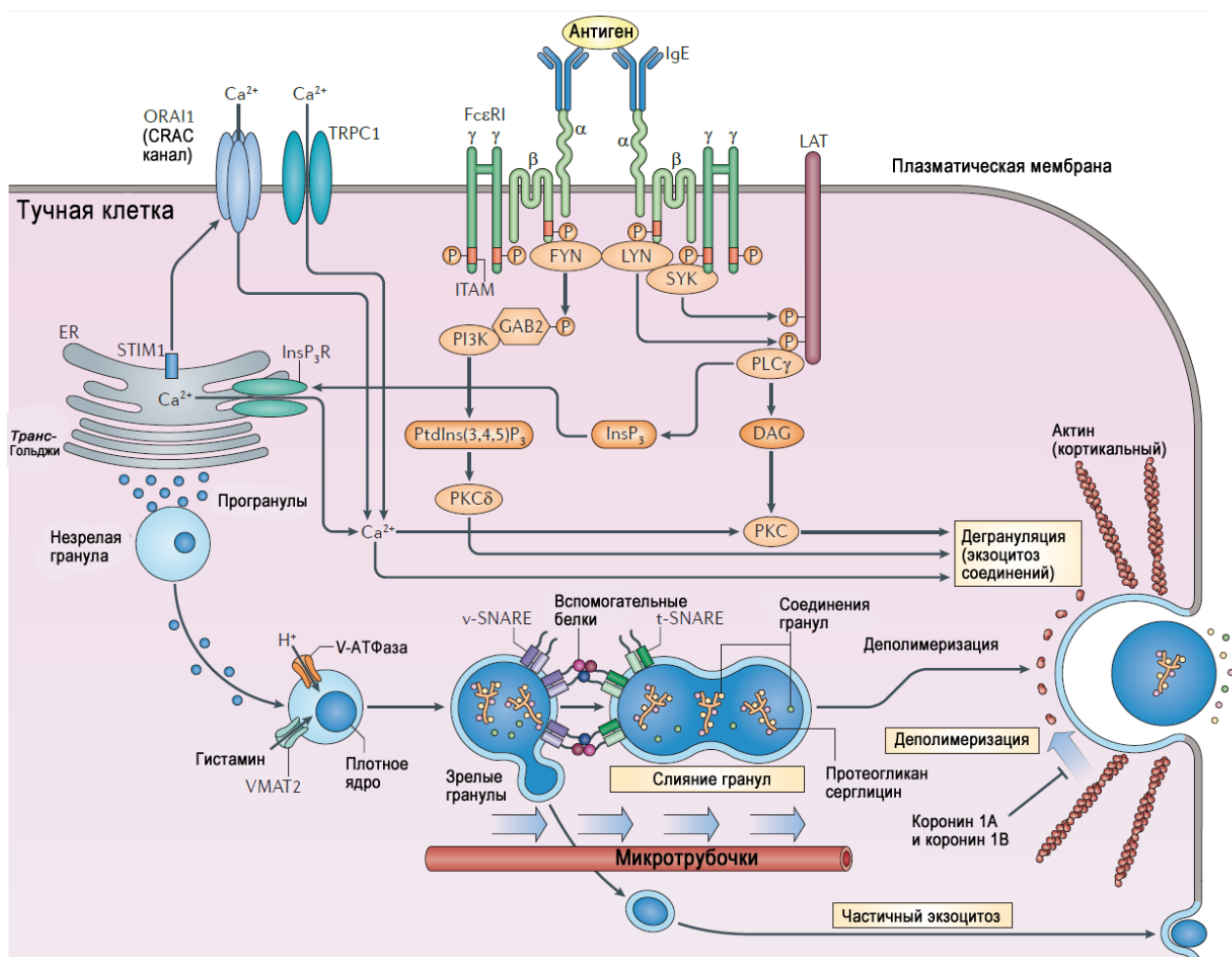


Рисунок 8 | Схема дегрануляции тучной клетки

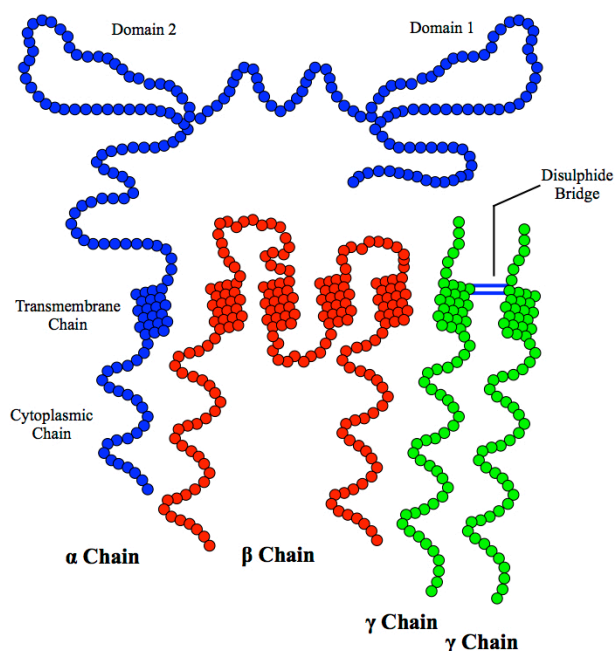


Рисунок 9 | FCER1 состоит из нескольких субъединиц: α -субъединица ответственна за связь с IgE и антигеном, β -субъединица содержит активационный тирозинсодержащий мотив иммунорецепторов (ITAM), γ -субъединица также содержит два ITAM-фрагмента, соединённых дисульфидной связью

С γ (PLC γ), а фосфорилирование GAB2 – к активации фосфоинозитид-3-киназы (PI3K). Их активация ведёт к запуску сигнальных путей, активируемых вторичными мессенджерами – инозитолтрифосфатом (IP $_3$), диацилглицеролом (DAG) и фосфатидилинозитол-3-фосфатом (PtdIns(3,4,5)P $_3$). Это ведёт к активации протеинкиназы C и выходу Ca $^{2+}$ из эндоплазматического ретикула в цитозоль. Выход Ca $^{2+}$ из ЭПР ведёт к активации белка STIM1, который открывает ионные каналы ORAI1 и TRPC1. Они также повышают концентрацию внутриклеточного Ca $^{2+}$, впуская кальций из межклеточного пространства внутрь. И, наконец, активированная протеинкиназа C и повышенный уровень Ca $^{2+}$ являются триггерами для запуска процесса дегрануляции. Созревшие везикулы подтягиваются по микротрубочкам ещё ближе к мембране благодаря корониным 1A и 1B, происходят множественные слияния везикул одна с другой благодаря связям между t-SNARE и v-SNARE, а после везикулы сливаются с мембраной и их содержимое выбрасывается во внеклеточное пространство. Ну а дальше вы знаете: покраснение кожных покровов, отёк, повышение секреции слизи, иногда бронхokonстрикция и всё такое.

Стоит также отметить, что в париетальных клетках желудка дела обстоят намного легче: там гистамин просто активирует H $_2$ -рецептор, активация которого ведёт к увеличению количества цАМФ и запуску работы Н/К-АТФазы через активацию протеинкиназы А. Н/К-АТФаза (она же протонная помпа) транспортирует ионы водорода против градиента концентрации, что ведёт к синтезу HCl и повышению кислотности желудочного сока.

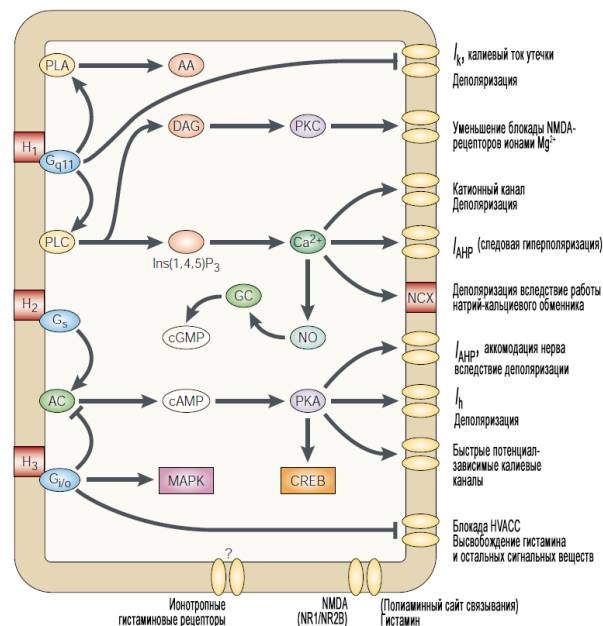


Рисунок 10 | Краткая схема работы трёх типов гистаминовых рецепторов (H $_4$ -рецепторы не показаны, т.к. их механизм действия схож с H3-рецепторами) Обозначения: AA – арахидоновая кислота, AC – аденилатциклаза, CREB – фактор транскрипции, связывающийся с цАМФ-реактивным элементом, DAG – диацилглицерол, GC – гуанилатциклаза, HVACC – потенциал-зависимый кальциевый ток, I $_{AHP}$ – кальций-зависимый калиевый ток, I $_h$ – активируемый гиперполяризацией катионный ток, I $_k$, leak – калиевый ток утечки, Ins(1,4,5)P $_3$ – инозитол-1,4,5-трифосфат, MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа, NCX – натрий-кальциевый обменник, NMDA – N-метил-D-аспартат и его рецептор, NO – оксид азота II, PKA – протеинкиназа А, PLA – фосфолипаза А, PLC – фосфолипаза С

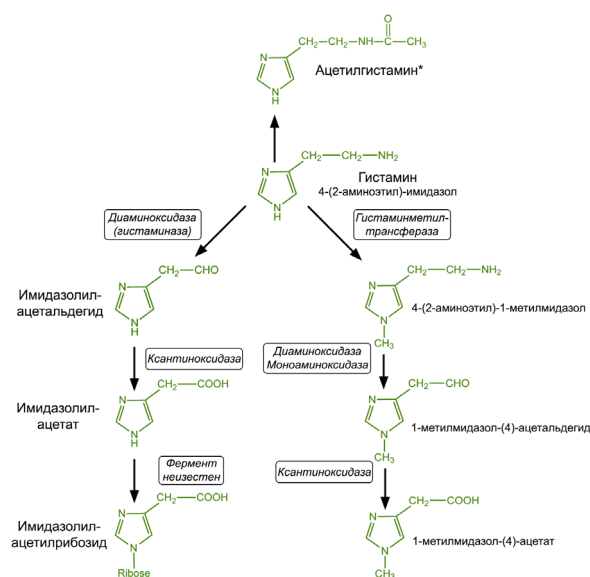
Метаболизм гистамина

Гистамин является продуктом декарбоксилирования аминокислоты гистидина. Эта реакция опосредована ферментом гистаминдекарбоксилазой.

Распад же гистамина может происходить по двум путям: с помощью ДАО (диаминоксидазы) до N-имидазолацетальдегида или с помощью гистамин-N-метилтрансферазы (которая использует S-аденозилметионин в качестве донора метильной группы) до N-метилгистамина, который в дальнейшем при участии ДАО или МАО метаболизируется до N-метилимидазолацетальдегида.

Все три основных фермента, участвующих в метаболизме гистамина, могут быть заблокированы различными веществами в исследовательских или клинических целях.

Интересны ингибиторы гистидиндекарбоксилазы, которые имеют потенциал в качестве атипичных антигистаминных препаратов. Стоит отметить, что некоторые ингибиторы этого фермента имеют широкий спектр действия и действуют сразу на несколько белков-мишеней в организме. Например, катехин, нарингенин и мециаданол. В настоящее время кли-



*Образуется в основном при деградации гистамина микроорганизмами

Рисунок 11 | Пути метаболизма гистамина

ническое применение нашёл только тритоквалин, ограниченно используемый для лечения крапивницы и аллергического ринита.

Из ингибиторов диаминооксидазы применяется пимагедин, он же аминогуанидин. К сожалению, его

испытания были в конечном счёте свёрнуты. Однако соединение показало себя достаточно эффективным против диабетической нефропатии, также обнаружилось ингибирующее действие относительно NO-синтетазы. Но все же производные аминогуанидина наиболее ярко проявили себя не на поприще фармакологии, а в производстве взрывчатых веществ.

Что касается блокаторов гистамин-N-метилтрансферазы, то их достаточно много, и большая часть из них (как и в случае с гистидиндекарбоксилазой) имеет несколько белков-мишеней в организме. Например, амодиахин (противомалярийное), дифенгидрамин (являющийся по совместительству H_1 -блокатором), гармалин (вещество натурального происхождения, имеющее комплексное психостимулирующее действие, в т.ч. и благодаря способности ингибировать MAO-A), мепакрин (противомалярийное), такрин (ингибитор ацетилхолинэстеразы). Чистым же блокатором гистамин-N-метилтрансферазы можно назвать вещество SKF-91488 и метоприн.

Гистамин и мутации

В настоящее время обнаружилось несколько мутаций гистаминовых рецепторов и ферментов, отвечающих за его метаболизм. Они могут никак не влиять на жизнь человека и никак себя не проявлять. Однако в определённых условиях (например, при приёме НПВС) такие мутации могут привести к достаточно тяжёлым последствиям [3].

Таблица 2 | Мутации гистаминовых рецепторов и ферментов

Белок	Мутации и нарушения экспрессии
H_1 -рецептор	Выявлена связь между повышенной плотностью H_1 -рецепторов в миндалевидном теле и возникновением нервной анорексии. Также мутация Leu-449-Ser (лейцин в 449 позиции заменяется на серин) связана с риском развития болезни Паркинсона.
H_2 -рецептор	Мутации H_2 -рецептора влияют на риск перехода различных предраковых состояний ЖКТ (напр. атрофического гастрита) в полноценный рак. Также мутации Cys-17-Tyr и Ala-271-Asp влияют на различную восприимчивость к антигистаминным препаратам
H_3 -рецептор	Выявлена мутация Ala-280-Val, которая значительно увеличивает чувствительность рецептора. Также данная мутация является фактором риска развития мигрени
H_4 -рецептор	Установлена связь между большой вариацией копий числа генов H_4 -рецептора и риском развития атопического дерматита. Различные варианты SNP-мутаций гена H_4 -рецептора связаны с риском развития приобретённой астмы. Снижение экспрессии гена иногда наблюдается при раке желудка
Гистидиндекарбоксилаза	Мутация, связанная с заменой треонина на метионин в 31 позиции, повышает риск возникновения хронической сердечной недостаточности. Вариант с мутацией Ser-354-Gly затрагивает активный центр фермента и ведёт к снижению активности. Также в 2013 году у больных с синдромом Туррета была найдена мутация Trp-317-Ter, которая ведёт к обрыву синтеза белка на 317 аминокислоте
Диаминооксидаза	Существуют несколько вариантов ДАО, причём разные мутантные варианты могут как повышать риск развития шизофрении, так и снижать его. Также обнаружена SNP Thr-16-Met, значительно повышающая риск развития аллергических реакций на НПВС [4]
Гистамин-N-метилтрансфераза	Выявлена SNP, повышающая восприимчивость к астме – Thr-105-Ile. Данная мутация значительно снижает активность HNMT и таким образом повышает время жизни гистамина в тканях организма. Этот же полиморфизм связан с риском развития болезни Паркинсона. Также обнаружена мутация Ala-939-Gly, повышающая риск развития миастении; эта же мутация связана с риском непереносимости аспирина. Существует также третья распространённая мутация – Cys-314-Thr, которая проявляется в сниженной чувствительности к метилпреднизолону

Клиническое применение лигандов гистаминовых рецепторов

Как уже стало понятно из предыдущих частей статьи, существует несколько основных направлений применения антигистаминных препаратов в клинической практике: лечение аллергий и анафилактических реакций, применение в гастроэнтерологической практике и неврологии.

Применение антигистаминных препаратов для профилактики и купирования анафилактических реакций (согласно «Федеральным клиническим рекомендациям по анафилактическому шоку», 2013г) [5].

При отягощенном аллергологическом анамнезе перед оперативным вмешательством, рентгеноконтрастным исследованием, стоматологической процедурой с использованием местных анестетиков необходимо провести премедикацию: за 30 минут — 1 час до вмешательства вводят дексаметазон 4-8 мг или преднизолон 30-60 мг в/м или в/в капельно на 0,9%-растворе натрия хлорида; клемастин 0,1%-2 мл или хлоропирамина гидрохлорид 0,2%-1-2 мл в/м или в/в на 0,9% растворе натрия хлорида или 5% растворе глюкозы. В случае наступления анафилактического шока (АШ), необходимо уточнить его тяжесть:

1. Острое злокачественное течение характеризуется острым началом с быстрым падением АД (диастолическое — до 0 мм. рт. ст.), нарушением сознания и нарастанием симптомов дыхательной недостаточности с явлениями бронхоспазма. Данная форма является достаточно резистентной к интенсивной терапии и прогрессирует с развитием тяжелого отека легких, стойкого падения АД и глубокого коматозного состояния. Чем быстрее развивается АШ, тем более вероятно развитие тяжелого АШ с возможным летальным исходом. Поэтому для данного течения АШ характерен неблагоприятный исход.
2. Острое доброкачественное течение характерно для типичной формы АШ. Расстройство сознания носит характер оглушенности или сопорозности, сопровождается умеренными функциональными изменениями сосудистого тонуса и признаками дыхательной недостаточности. Для острого доброкачественного течения АШ характерны наличие хорошего эффекта от своевременной и адекватной терапии и благоприятный исход.
3. Затяжной характер течения выявляется после проведения активной противошоковой терапии, которая дает временный или частичный эффект. В последующий период симптоматика не такая острая, как при первых двух разновидностях АШ, но отличается резистентностью к терапевтическим мерам, что нередко приводит к формированию таких осложнений, как пневмония, гепатит, энцефалит. Данное течение характерно для АШ развившегося вследствие введения препаратов пролонгированного действия.
4. Рецидивирующее течение характеризуется возникновением повторного шокового состояния по-

сле первоначального купирования его симптомов. Часто развивается после применения ЛС пролонгированного действия. Рецидивы по клинической картине могут отличаться от первоначальной симптоматики, в ряде случаев имеют более тяжелое и острое течение, более резистентны к терапии.

5. Абортивное течение является наиболее благоприятным. Часто протекает в виде асфиксического варианта типичной формы АШ. Купируется достаточно быстро. Гемодинамические нарушения при этой форме АШ выражены минимально.

Первое, что необходимо сделать при АШ, — ввести внутримышечно 0,3-0,5 мл 0,1% раствора адреналина (эпинефрина). Взрослым из расчета 0,01 мл/кг (максимально — 0,5 мл раствора), детям — до 0,3 мл раствора. В случае отсутствия достаточной реакции можно провести повторное введение адреналина через 5-15 минут. В дальнейшем необходимо уложить пациента и при необходимости заинтубировать, обеспечив доступ кислорода 6-8 л/мин. При невозможности интубации необходимо провести коникотомию. Переход на ИВЛ показан при отеке гортани и трахеи, нарушении сознания, стойкой гипотонии, отеке легких, бронхоспазме и коагулопатическом кровотечении.

При неэффективности проводимой терапии эпинефрин может вводиться в/в струйно (1 мл раствора адреналина гидрохлорида 0,1% разводят в 10 мл 0,9% раствора хлорида натрия), вводится дробно, в течение 5-10 минут, и/или возможно в/в капельное введение эпинефрина (0,1% — 1 мл в 100 мл 0,9% раствора хлорида натрия) с начальной скоростью введения 30-100 мл/час (5-15 мкг/мин); доза титруется в зависимости от клинического ответа или побочных эффектов эпинефрина.

В тяжелых случаях можно перейти на вазопрессорные средства второй линии:

6. Норэпинефрин (норадреналин) в/в капельно 2-4 мг (1-2 мл 0,2% раствора), разведенный в 500 мл 5% раствора глюкозы или 0,9% раствора хлорида натрия, со скоростью инфузии 4-8 мкг/мин до стабилизации АД.
7. Допамин 400 мг растворяют в 500 мл 0,9% раствора натрия хлорида или 5% раствора глюкозы; начальная скорость введения 2-20 мкг/кг/мин, доза титруется таким образом, чтобы систолическое давление было более 90 мм.рт.ст. При тяжелом течении анафилаксии доза может быть увеличена до 50 мкг/кг/мин и более. Суточная доза 400-800 мг (максимальная — 1500 мг).

При стабилизации гемодинамических показателей рекомендовано постепенное снижение дозы. Длительность введения прессорных аминов определяется гемодинамическими показателями. Подбор препарата и скорости его введения осуществляется в каждой конкретной ситуации индивидуально. Отмена адреномиметиков производится после стойкой стабилизации АД.

В зарубежной литературе также имеются данные об использовании глюкагона у пациентов с резистентностью к адреномиметикам. Это часто отмечается у больных, получавших β -блокаторы до развития АШ. Глюкагон вводится в дозе 1-5 мг (у детей 20-30 мг/кг, максимально 1 мг) внутривенно в течение 5 минут, затем в титруемой дозе 5-15 мкг/мин в зависимости от ответа на проводимую терапию. Необходимо помнить, что глюкагон может вызывать рвоту и, как следствие, аспирацию, поэтому рекомендуется положить пациента на бок.

Для ликвидации гиповолемии показана инфузионная терапия (коллоидные и кристаллоидные растворы): декстран (средняя молекулярная масса 35000-45000 Дальтон) 0,9% раствор натрия хлорида или другие официальные изотонические растворы. Возможно назначение дополнительной терапии препаратами второго ряда:

8. Применение блокаторов H_1 -гистаминовых рецепторов (клемастин, хлоропирамина гидрохлорид, дифенгидрамин и другие) возможно только на фоне полной стабилизации гемодинамики и при наличии показаний. Рекомендуемые дозировки: клемастин (тавегил) 0,1% — 2 мл (2 мг) взрослым для внутривенного или внутримышечного введения; детям — внутримышечно по 25 мкг/кг/сут, разделяя на 2 инъекции; хлоропирамина гидрохлорид (супрастин) 0,2% — 1 мл (20 мг) для внутривенного или внутримышечного введения 1-2 мл взрослым, детям начинают лечение с дозы 5 мг

(0,25 мл); дифенгидрамин (димедрол) для взрослого 25-50 мг, для ребенка весом менее 35-40 кг 1 мг/кг, максимально 50 мг.

Применение антигистаминных препаратов для лечения пептических язв и гастроэзофагальной рефлюксной болезни

Как уже упоминалось ранее, гистамин участвует в регуляции кислотности желудочного сока. На поверхности париетальных клеток, обращенной к кровеносным сосудам, присутствуют H_2 -рецепторы. Энтерохромаффинные клетки, являющиеся аналогом тучных клеток, имеют на своей поверхности рецепторы соматостатина и M_3 -холинорецепторы. Соматостатин тормозит выброс гистамина из энтерохромаффинных клеток, ацетилхолин же способствует его высвобождению. На поверхности париетальных клеток, обращенной к кровеносным сосудам, присутствуют H_2 -рецепторы. Гистамин, активируя H_2 -рецептор, увеличивает количество цАМФ внутри клетки, что ведёт к активации протеинкиназы А, которая запускает H^+/K^+ -АТФазу. Этот мембранный белок, являющийся ионной помпой, «обменивает» ион калия из внеклеточной жидкости на ион водорода (протон) из цитоплазмы.

Естественно, повышенная кислотность — это не всегда хорошо, а в случае язв — совсем плохо. Во время первых исследований физиологического действия гистамина была отмечена его способность усиливать желудочную секрецию и кислотность. Поз-

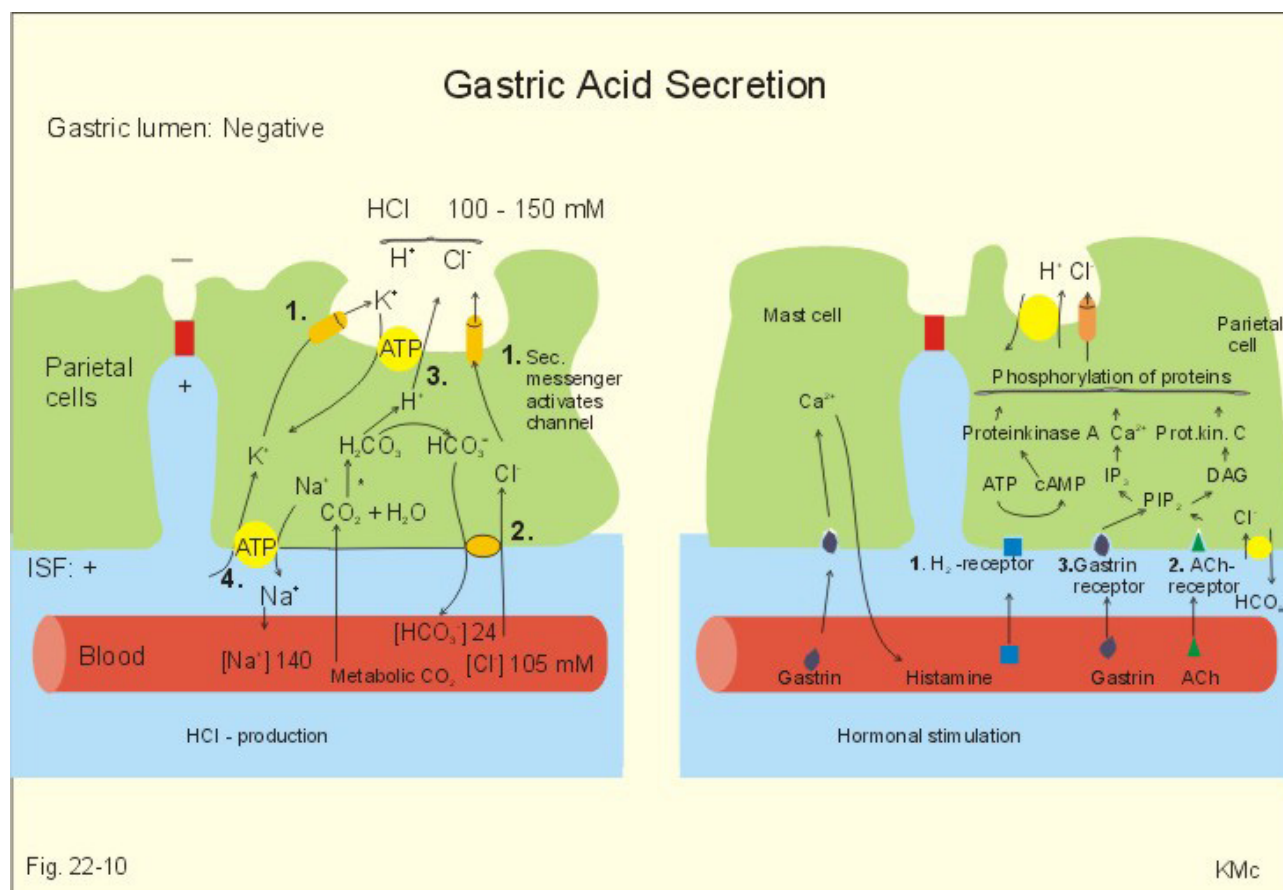


Рисунок 12 | Синтез HCl в париетальных клетках

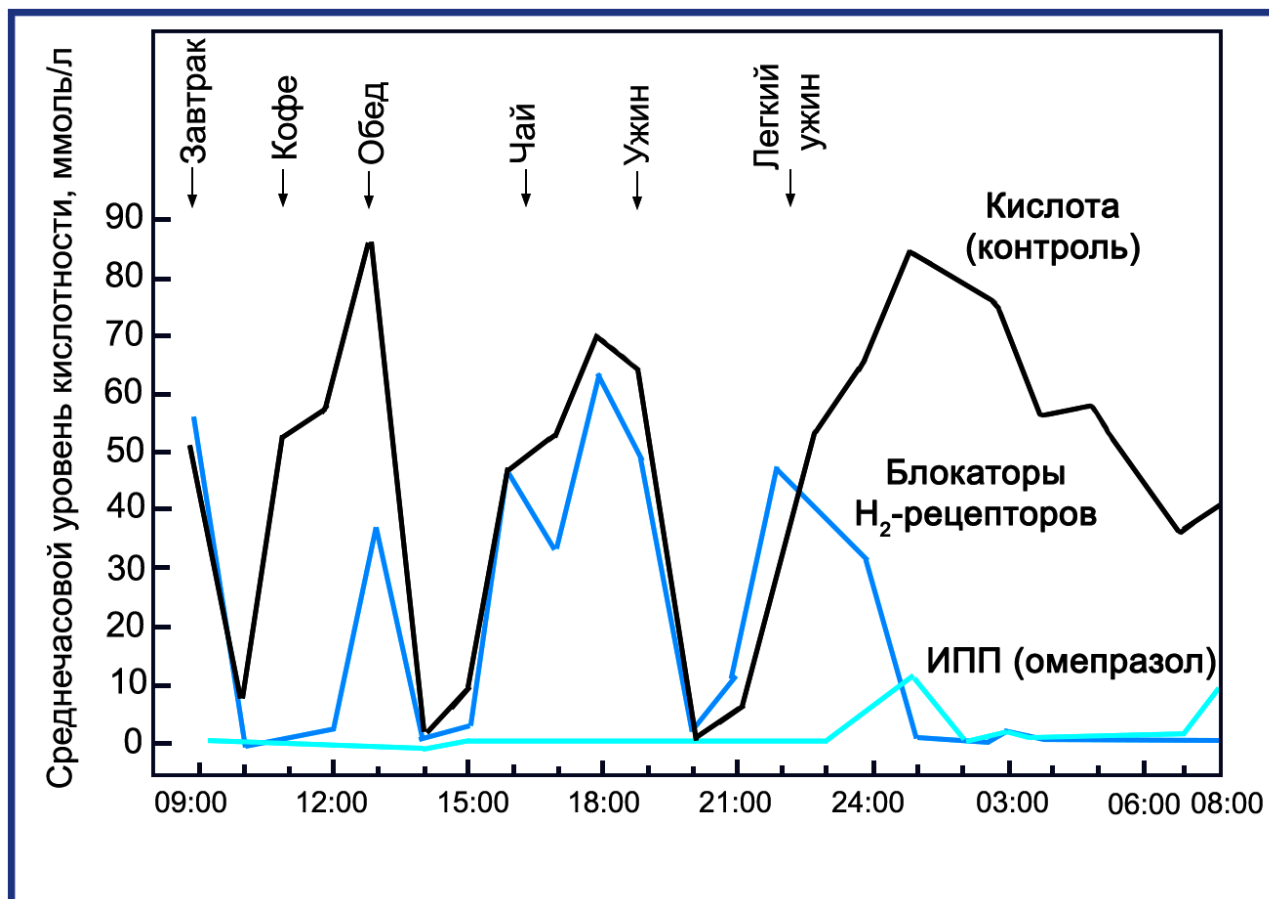


Рисунок 13 | Суточное изменение кислотности желудка при применении H₂-блокаторов и ингибиторов протонной помпы. Чёрная линия – контроль, светло-синяя – ранитидин, тёмно-синяя – омепразол

же были созданы избирательные H₂-блокаторы, которые успешно применяются для лечения следующих кислотозависимых заболеваний: пептидная язва, гастроэзофагальный рефлюкс, диспепсия. Также применение H₂-блокаторов значительно снижает риск желудочно-кишечных кровотечений у пациентов с подобными заболеваниями. Комбинированные препараты (ранитидин с цитратом висмута) используются для эрадикации *Helicobacter pylori*.

Несмотря на то что при терапии современными H₂-блокаторами не наблюдается серьёзных побочных эффектов, существует множество публикаций, доказывающих большую эффективность иного, близкого класса препаратов – ингибиторов Н/К-АТФазы, или же ингибиторов протонной помпы. Сторонники использования ингибиторов протонной помпы ссылаются на наблюдаемое *in vivo* увеличение продукции эндогенного гистамина. Такой эффект, при котором со временем необходимо увеличение терапевтической дозировки, называется тахифилаксией. У ингибиторов протонной помпы такого эффекта не наблюдается, соответственно, терапию ими можно проводить дольше [6].

Также во время массовых клинических испытаний H₂-блокаторов обнаружился интересный эффект: у некоторых добровольцев мужского пола возникала временная эректильная дисфункция [7]. Бразильские ученые под руководством А. М. Кара провели собственные исследования. Первые опыты они про-

вели на изолированных тканях пещеристых тел, перфузируемых раствором Кребса. Сначала в перфузат был добавлен норадреналин, чтобы вызвать сокращение тканей, затем гистамин, который вызывает расслабление. Потом опыт повторили в двух вариантах: в первом перед введением гистамина в перфузат вводили циметидин (H₂-блокатор), во втором – мепирамин (H₁-блокатор). Потом добавляли гистамин, и в первом случае расслабления тканей не произошло, а во втором – произошло.

Далее опыты повторили на здоровых добровольцах, но уже без норадреналина. 30 мкг гистамина, введённые интракавернально, вызвали полноценную эрекцию у 13% добровольцев, а у 87% отметились набухание полового члена или частичная эрекция. Во второй серии опытов (с 60мкг гистамина интракавернально) полноценная эрекция возникла у 26%, а частичная – у 74%. Затем было предложено провести опыты на пациентах, страдающих подтверждённой психогенной импотенцией; к тому же, этот гистаминовый тест был предложен бразильскими учёными в качестве диагностического.

Гистамин в диагностике феохромоцитомы

Феохромоцитома – гормонально-активная опухоль, состоящая из хромоаффинных клеток мозгового вещества надпочечников. В норме хромоаффинные клетки участвуют в синтезе адреналина, норадреналина, дофамина и частично энкефалина. Феохромоцитома

проявляет себя в частых симпатоадреналовых кризах: наступают паника, беспокойство, бледнеют кожные покровы, значительно повышаются АД и ЧСС, появляются тремор, рвота, при анализе крови – лейкоцитоз, гипергликемия, эозинофилия. Для диагностики используют УЗИ, томографию, анализ мочи на катехоламины и их метаболиты, также существует и т.н. провокационная проба с использованием гистамина. Проба с гистамином проводится при нормальном исходном артериальном давлении. Больному, находящемуся в горизонтальном положении, измеряют артериальное давление, затем вводят внутривенно 0,05 мг гистамина в 0,5 мл физраствора и измеряют артериальное давление каждую минуту в течение 15 минут. В первые 30 секунд после введения гистамина АД может снизиться, но в дальнейшем наблюдается его увеличение. Повышение цифр на 60/40 мм рт. ст. против исходных в течение первых четырех минут после введения гистамина указывает на наличие гормонально активной феохромоцитомы.

Гистамин и рассеянный склероз

Рассеянный склероз – аутоиммунное заболевание, при котором Т-клетки (в данном случае они получили название «аутореактивные лимфоциты») атакуют нейроны, воспринимая миелин в качестве антигена. Учёные, исследуя роль гистамина в воспалении, не могли обойти стороной это заболевание. Группа исследователей из Ирана, используя животных с ау-

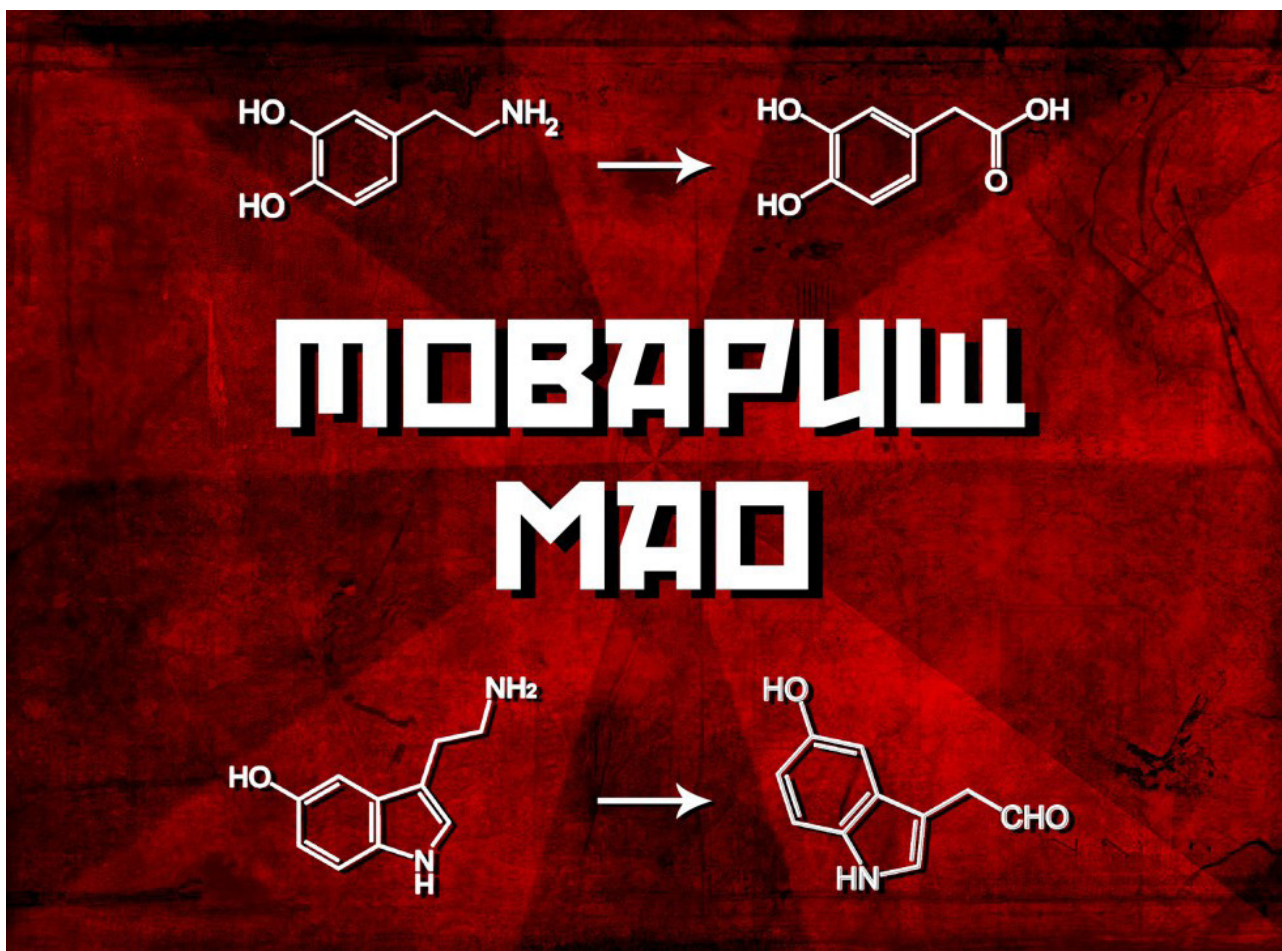
тоиммунным энцефаломиелитом (в качестве модели рассеянного склероза), показала: гистаминовые рецепторы H_1 и H_4 значительно ухудшали течение заболевания, так как увеличивали проницаемость ГЭБ для аутореактивных лимфоцитов. В то же время H_2 и H_3 рецепторы при активации уменьшали проницаемость ГЭБ. Более того, в процессе исследования выяснилось, что H_2 -агонисты значительно уменьшают активность аутореактивных лимфоцитов и проницаемость ГЭБ. Также было установлено, что циметидин (H_2 -блокатор) ухудшает состояние и неврологический статус мышей с аутоиммунным энцефаломиелитом. Кроме того, той же исследовательской группой были проведены исследования H_1 -блокатора гидроксизина, который тормозил развитие симптомов заболевания у опытной группы мышей на 50% по сравнению с контрольной. Однако типичный H_1 -антагонист дифенгидрамин (димедрол) вообще не показал никакого эффекта. По итогам исследования учёными было выдвинуто предложение об использовании H_2 -агонистов и H_1 -антагонистов для лечения рассеянного склероза.

И помните: гистамин это не только «Вася, Вася! Беги сюда! Тут Олега оса укусила, он распух и задыхается!», но и действительно достойное внимания сигнальное вещество, участвующее в нескольких интересных физиологических и патологических процессах.

Любите гистамин. Аминь.

Список литературы

1. Robin. L. Thurmond. Histamine in inflammation// Landes Bioscience. – 2010.
2. Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle// Nature Reviews Immunology. — 2014. T.14 – №17. – С. 478-494
3. Elena García-Martín, Pedro Ayuso, Carmen Martínez et al. Histamine pharmacogenomics// Pharmacogenomics. – 2009. –Т.9. – №5. – С. 867-883
4. Agúndez J.A., Ayuso P., Cornejo-García J.A. et al. The diamine oxidase gene is associated with hypersensitivity response to non-steroidal anti-inflammatory drugs// PLoS One. – 2012. — Т.7. — №.11.
5. Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов. Федеральные клинические рекоменда-
- ции по анафилактическому шоку //М. – 2013.
6. Alhazzani W. et al. Proton pump inhibitors versus histamine 2 receptor antagonists for stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis //Critical care medicine. – 2013. – Т. 41. – №. 3. – С. 693-705.
7. Cara A. M. et al. The role of histamine in human penile erection //British journal of urology. – 1995. – Т. 75. – №. 2. – С. 220-224.
8. Jadidi-Niaragh F., Mirshafiey A. Histamine and histamine receptors in pathogenesis and treatment of multiple sclerosis //Neuropharmacology. – 2010. – Т. 59. – №. 3. – С. 180-189./li>



ТОВАРИЩ МАО

Автор: Anonimch

Редакция: -

Изображения: -

Опубликовано 22.01.2016.

Введение

В удивительном мире психофармакологии существует множество не менее удивительных веществ. Многие из них сложны – по своему строению, схеме назначения, расчёту дозировок, методикам ведения пациентов и, самое главное, механизму действия. Все мы знаем и готовы хоть в три часа ночи рассказать механизм действия СИОЗС – «имея сродство к транспортеру серотонина флуоксетин не даёт этому транспортеру выполнять свою функцию по обратному захвату нейромедиатора, в результате чего повышается концентрация серотонина в межсинаптическом пространстве». Здорово, да? Только вот неувязочка – согласно современным данным, большая часть клинического эффекта флуоксетина (и других СИОЗС его группы) проявляется не столько благодаря сродству к белку SERT, сколько его влиянию на BDNF – нейротропный фактор мозга, влияющий на образование связей между нейронами [1]. И самое главное – касательно механизмов действия СИОЗС существует сразу несколько взаимодополняющих версий.

Однако, среди веществ, используемых в психофармакотерапии, можно выделить отдельный класс антидепрессантов, чей механизм действия изучен досконально, чьи схемы назначения просты как автомат Калашникова и терапия побочных эффектов ясна как ключевая вода. Конечно же я говорю об ингибиторах моноаминоксидазы.

Что же из себя представляет МАО? МАО – это «биохимические тормоза» мозга. Данный фермент расщепляет избыточные нейромедиаторы, выброшенные в межсинаптическое пространство, до соответствующих им метаболитов, не являющихся активными в отношении рецепторов.

В первую очередь следует упомянуть, что МАО существует двух типов – МАО-А и МАО-Б. Обе формы присутствуют в нашей нервной системе. За её пределами же МАО-А наиболее активна в печени, ЖКТ, лёгочной ткани и плаценте, МАО-Б – в тромбоцитах.

Каждая из МАО имеет свой эндогенный субстрат. МАО-А в первую очередь обуславливает биохимическое расщепление серотонина, мелатонина, норадреналина и адреналина. МАО-Б – ФЭА и иные т.н. «следовые амины». Дофамин же, наряду с тирамином и триптамимином, имеет равное сродство к МАО-А и Б. Также субстратом МАО является амфетамин, ДМТ и другие психоактивные вещества класса фенэтиламинов и триптамиминов.

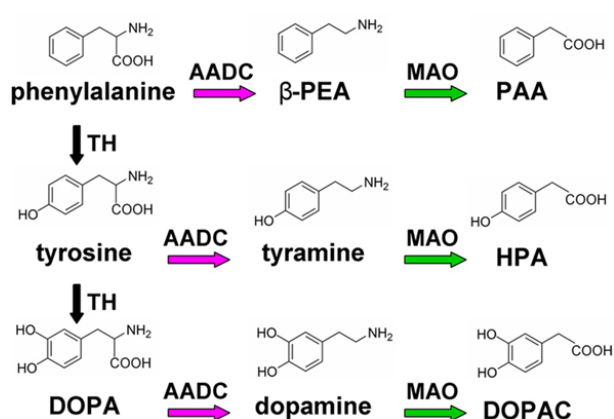


Рисунок 1 | Катаболизм основных нейромедиаторов с помощью MAO

История изучения

Первые штрихи в изучении роли MAO и веществ, влияющих на неё, были сделаны ещё в 50х годах XX века [2], во время изучения причины маниакальных состояний, возникающих вследствие приёма ипрониазида – антитуберкулёзного препарата. Однако, он не получил роли в качестве антидепрессанта, т.к. помимо высокой токсичности обладал также сродством к ферменту глутаматдекарбоксилазе, участвующей в синтезе ГАМК. Из-за одновременного блокирования ГАД и MAO пациент получал лишь временное облегчение депрессии, которое в конце концов переходило в патологическое маниакальное состояние [3].

Чуть позже, когда был уточнён список субстратов и составлен список структур-фармакофоров, имеющих сродство к MAO, были синтезированы ниламид, фенелзин и фенипразин. Два последних заслуживают особого упоминания, т.к. являются по сути фенэтиламином и амфетамином, у которых аминогруппа заменена на гидразиновую. Данные антидепрессанты являлись неселективными (блокировали в равной степени MAO-A и MAO-B) и необратимыми (за счёт гидразинового фрагмента происходило образование прочной связи с активным центром фермента и вся молекула навсегда теряла свою ферментативную активность). Вроде бы всё просто – человек в депрессии, выбиваем работу биохимического стоп-крана, человек становится активнее и веселее. Однако в реальности всё ещё существовала проблема расчёта дозировки – поскольку фермент блокировался необратимо, а количество новых молекул MAO синтезировалось клетками с разной скоростью, то по ходу курса лечения был необходим постоянный мониторинг. Кроме того, сами препараты были всё ещё токсичны и так же (на уровне метаболитов – фенилэтилиден) нарушали работу ГАМК-эргической системы.

В качестве вишенки на торте, стоит упомянуть интересный побочный эффект ИМАО первого поколения – «тираминовый синдром», который ещё иногда называют «сырным». Он назван так не зря – в сыре содержится очень много тирозина который в нормальных условиях проходит деаминацию и де-

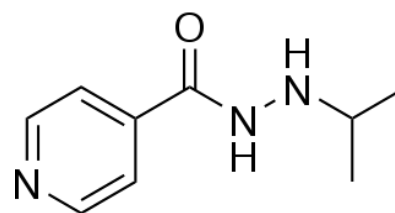


Рисунок 2 | Структура ипрониазида – первого подтверждённого ингибитора моноаминоксидазы, который также нарушал синтез ГАМК

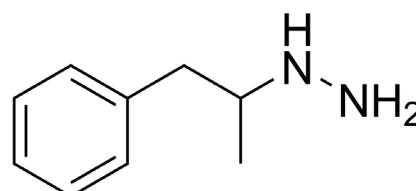


Рисунок 3 | Структура фенипразина, который по сути являлся гидразиновым амфетамином

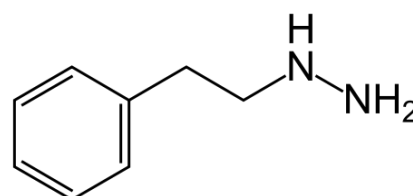


Рисунок 4 | Структура фенелзина

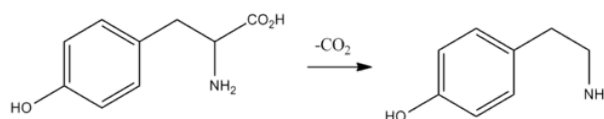


Рисунок 5 | При приёме старых ИМАО большая часть тирозина лишь декарбоксилировалась, превращаясь в тирамин – сильный вазоконстриктор, который может спровоцировать гипертонический криз

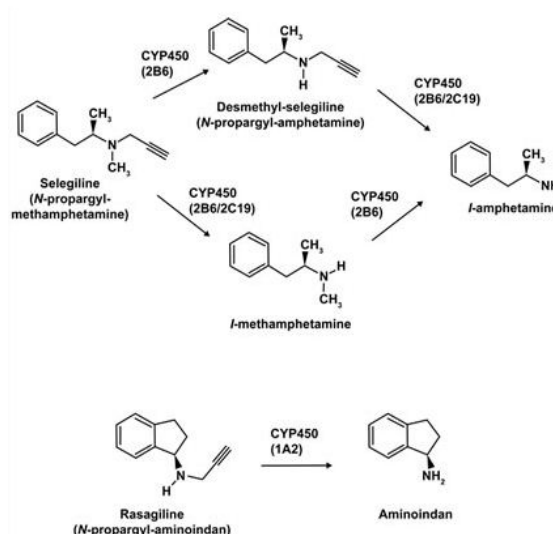


Рисунок 6 | Метаболизм селегилина и расагилина. К сожалению, селегилин даёт только L-изомеры метамфетамина и амфетамина, которые практически не имеют психостимулирующей активности

карбоксилирование в печени. Как мы уже знаем, первые ИМАО блокировали также и МАО-А, которая находилась в печени. В результате из тирозина, путём лишь декарбоксилирования, получался тирамин, который в больших количествах оказывал сильный вазоконстрикторный эффект и мог вызвать гипертонический криз [4]. Не очень приятно, однако. Также первое поколение ИМАО оказывало негативное влияние на зрительный нерв, что могло привести к слепоте.

Именно вышеописанное и подтолкнуло учёных к созданию селективных и обратимых ИМАО, лишённых такого рода побочных эффектов и позволяющих выбирать дозировки более свободно.

В дальнейшем были синтезированы ИМАО, которые получили более широкое распространение – это были селегилин (используется в ЕС и США) и пиразидол (СНГ и БССР). Оба вещества имеют хорошую переносимость, широкую вариабельность дозировки и, самое главное, практически нулевой риск возникновения тираминового синдрома, т.к. в малых и средних дозировках они не блокируют печёчную МАО, которая ответственна за деаминацию тирозина. Конкретно по селегилину стоит упомянуть интересный факт – он частично распадается до L-метамфетамина. Однако, не стоит радоваться раньше времени – из-за малых доз самого селегилина, эффекты от его метаболитов практически незаметны. К тому же, L-изомеры амфетамина и метамфетамина практически не оказывают центрального психостимулирующего действия, в отличие от D-изомеров. Далее следует упомянуть наш родной и дотканый пиразидол, который по сути является очень дальним родственником триптамина – советская психофармакология очень увлеклась триптамими (инказан и тетриндол тому примеры) и бета-карболинами, благодаря колоссальной работе химика Жунгиету [5] [6], впоследствии написавшего двухтомник по данной теме.

Безазотистые ИМАО

Отдельного упоминания заслуживают соединения, которые являются безазотистыми ИМАО. Вроде бы, согласно логике и здравому смыслу – чтобы выключить активный центр фермента, надо иметь в своей структуре нечто, напоминающее триптаминавый или фенэтиламинавый фармакофор. Пусть и извращённый до состояния инденамида, как у расагилина (Азилект), но такой фрагмент должен присутствовать. Однако, существует целый ряд производных кумарина [7], халкона, катехина и иных безазотистых соединений, обладающих свойствами ИМАО. По всей видимости, они являются лишь аллостерическими модуляторами активности фермента, не затрагивающими напрямую активный центр – вполне возможно какой-либо фрагмент поверхности МАО, доступный для связывания, совпадает с их «целью» в организме. В пользу этой версии говорит то, что практически все безазотистые ИМАО имеют комплексное действие и являются лигандами ещё и для огромного списка иных белков.

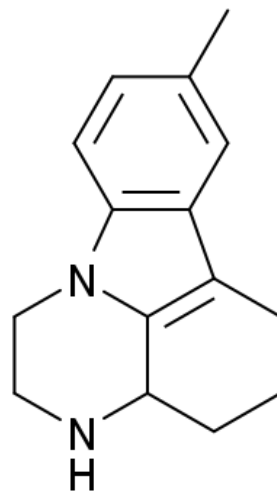


Рисунок 7 | Пиразидол

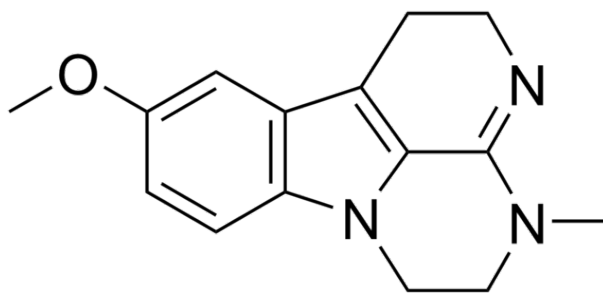


Рисунок 8 | Инказан

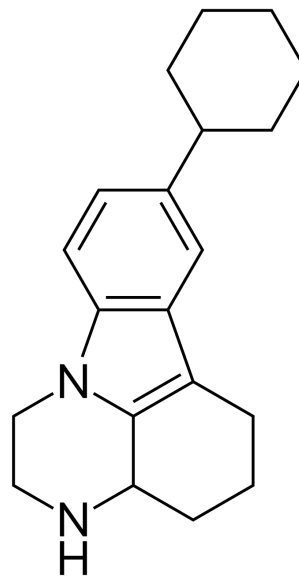


Рисунок 9 | Тетриндол



Заключение

Однако, всегда ли малая активность MAO выгодна мозгу? Нет. У людей с патологически пониженной экспрессией гена данного белка (либо при наличии мутаций, которые снижают его каталитическую активность) наблюдается высокий риск развития маниакальных расстройств различного рода. Более того, при врождённой сниженной активности MAO-A возрастает риск возникновения различных форм умственной отсталости и затруднения обучения. Однако, при исследованиях на мышах, у которых гены MAO-A и B были отключены, в их поведении наблюдались отклонения схожие не с маниакальными состояниями, а с аутизмом [8] – что частично подтверждает теорию т.н. «нейронного шума», одной из причин аутизма, согласно современным исследованиям.

Помимо влияния на обмен нейромедиаторов, MAO также имеет несколько других функций. Среди них есть и такие важные, как защита организма от рака. Например, в исследованиях *in vitro* было показано, что при заблокированной MAO-A клетки меланомы быстрее метастазируют [9].

Список литературы

1. <http://www.nature.com/npp/journal/v33/n1/abs/1301571a.html> «administration of antidepressant selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) enhances BDNF gene expression»
2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23934742> Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression.
3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7931216> Chronic administration of the antidepressant phenelzine and its N-acetyl analogue: effects on GABAergic function.
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2738414/> Hypertensive crisis and cheese S. Sathyanarayana Rao and Vikram K. Yeragani
5. <http://patentdb.su/4-810686-sposob-polucheniya-2-acetilindolov.html>
6. <http://patentdb.su/3-696016-sposob-polucheniya-2-acilindol-3karbonovykh-kislots.html>
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16884303> Structural insights into monoamine oxidase inhibitory potency and selectivity of 7-substituted coumarins from ligand- and target-based approaches.
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20573161> Autism severity is associated with child and maternal MAOA genotypes.
9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14697906> Amine oxidases and tumors.

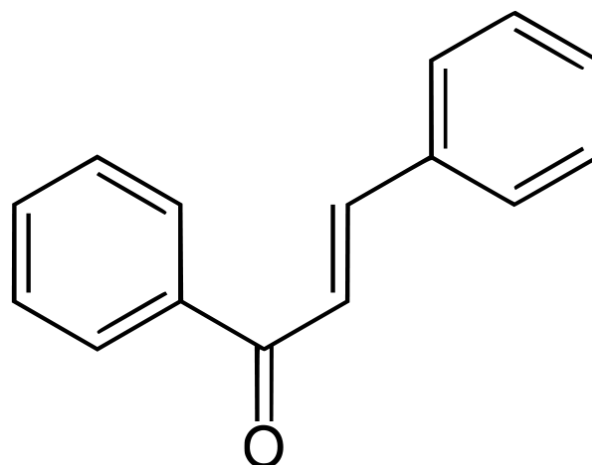


Рисунок 10 | Халкон

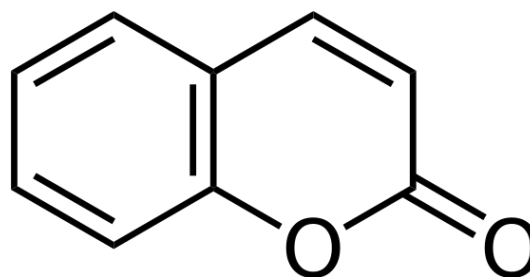


Рисунок 11 | Кумарин

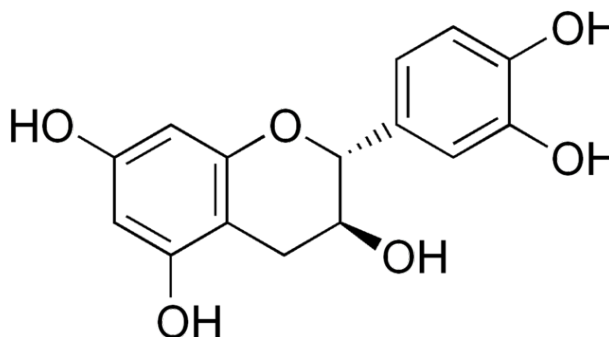


Рисунок 12 | Катехин



НЕЙРОТРОПНЫЕ ФАКТОРЫ

Автор: Anonimch

Редакция: Deepest Depths, Елена Лисицына,

Дмитрий Сильнов, Борис Ли, Юлия Белова

Изображения: Cornu Ammonis

Опубликовано 03.06.2016.

Введение

Разобравшись с низкомолекулярными сигнальными веществами, стоит перейти к сигнальным белкам. История изучения нейротропных регуляторных белков начинается с интересных опытов Риты Леви-Монтанчини по изучению влияния экстракта из мышечной саркомы на развитие нервной системы куриного эмбриона. Интересно, что сведения об этом важном опыте, положившем основу изучению пептидной регуляции роста и развития нервной системы, Леви-Монтанчини опубликовала в журнале, посвященном зоологии [1]. Ещё до второй мировой войны было известно, что тканевые экстракты содержат в себе биологически активные сигнальные вещества, но до 1950-х годов данным вопросом никто всерьёз не занимался. Исторически первым выделенным в чистом виде нейротропным фактором был NGF (Nerve growth factor – фактор роста нейронов) – своё название он получил потому, что самым первым и самым очевидным эффектом от его воздействия на куриный эмбрион было ускорение раз-

вития чувствительных нейронов. Несмотря на то, что его функции с момента открытия были изучены достаточно хорошо, его структура была описана только в 70-х. Через десять лет уже другими учёными [2] был открыт BDNF (Brain-derived neurotrophic factor – нейротропный фактор мозга). По своей структуре и функциям он оказался близок к NGF, но обнаруживался (как легко понять из названия) преимущественно в мозге. Примерно в то же время у животных были обнаружены и описаны другие нейротропные факторы – NT-3 и NT-4/5 (это связано с историческими причинами: тогда нейротрофин лягушек и нейротрофин мышей считались совершенно разными белками, действующими по разным сигнальным путям). Также относительно недавно были выделены нейротрофины NT-6 и NT-7, обнаруженные лишь у Данио-рерио.

Что же представляют собой нейротропные факторы? Это огромная группа белков, включающая не только вышеописанные нейротрофины, но и т.н. глиальные факторы роста: (GDNF) – нейрутин (иногда встречается написание — ньюртуин, NRTN), артемин (ARTN), персифин (PSPN) и некоторые другие (напр. семейство нейрегулинов, некоторые представители которого влияют на развитие холинэргических нейронов [3]). Главной их особенностью является способность контролировать развитие нервной системы, миграцию и дифференциацию нервных кле-

ток. Их сигнальные пути и функции во многом перекрываются между собой. Также главным отличием белковых сигнальных молекул от низкомолекулярных нейромедиаторов (серотонин, дофамин, ГАМК, ацетилхолин и т.п.) является то, что, рассматривая сигнальные системы низкомолекулярных веществ, мы отвечаем на вопрос «Как нейроны взаимодействуют между собой?», а вот факторы белковой природы и их изучение дадут нам ответ на вопрос «Почему нейроны взаимодействуют между собой?».

Семейство нейротрофинов

Из огромного списка белковых молекул, регулирующих развитие и функционирование мозга, можно выделить несколько семейств. Одним из таких являются вышеописанные нейротрофины (NGF, BDNF, NT3, NT4).

Как уже упоминалось ранее, их сигнальные пути и перечень рецепторов, ими активируемых, взаимопересекаются. Но можно выделить два основных типа рецепторов – это Trk-рецепторы и NGFR (Nerve growth factor receptor, также иногда обозначается как низкоафинный рецептор нейротрофинов (LNGFR) и p75). Так что для начала имеет смысл рассмотреть сами «цели» нейротрофинов, а потом перейти к индивидуальным особенностям сигнальных белков.

Trk-рецепторы

TrkA-рецептор

Лигандом TrkA-рецепторов является NGF. Его основная функция – поддержание жизнеспособности нейрона и блокирование механизмов апоптоза, т.е. данный механизм является частью чрезвычайно сложной внутриклеточной системы сигналов ЗА и ПРОТИВ запуска гибели клетки. Тут стоит сделать отступление и немножечко пояснить: наши клетки довольно суицидальны, и в них постоянно идёт «борьба» сигналов, запускающих и блокирующих апоптоз. С этим, кстати, связан один из механизмов гибели нейронов при заболеваниях, связанных с накоплением белковых агрегатов (бета-амилоид, скреппи-форма прионного белка): они блокируют целый ряд рецепторов, чья активация необходима для выживания клетки.

Для активации TrkA-рецептора необходим не только сам NGF, но и ещё одна единица TrkA. То есть рецептору необходимо димеризоваться для проявления активности. После каскада реакций фосфорилирования запускаются два основных сигнальных пути:

1. TrkA и адаптерные белки GRB2 и GAB1 образуют комплекс, который активирует фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K). PI3K, в свою очередь, активирует Akt (иногда этот белок применительно к другим процессам называют более корректно – протеинкиназа B, PKB). Данный сигнальный путь поддерживает клетку живой, так как протеинкиназа B в норме сохраняет белок-триггер апоптоза

Сигналинг нейротрофинов

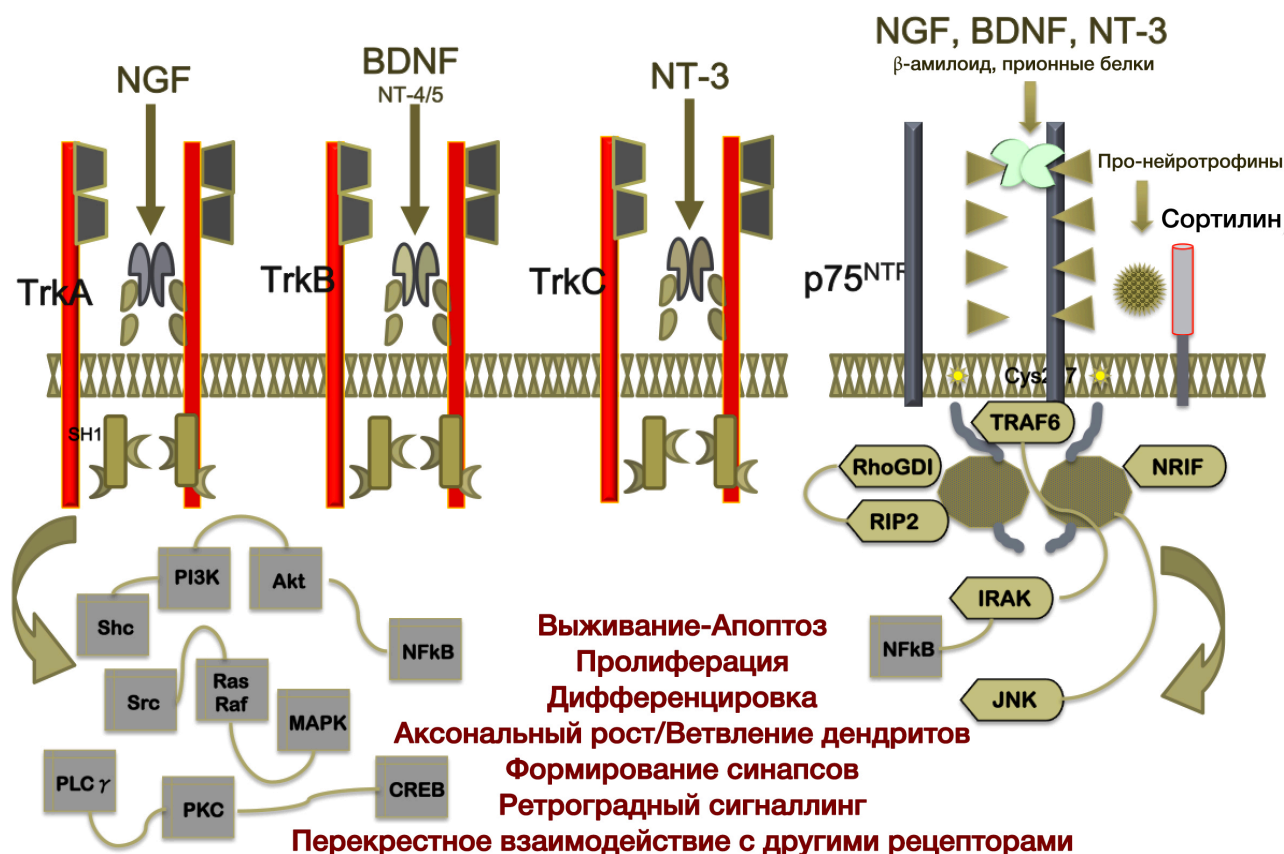


Рисунок 1 | Основные рецепторы нейротрофинов и сигнальные пути, ими активируемые [4]

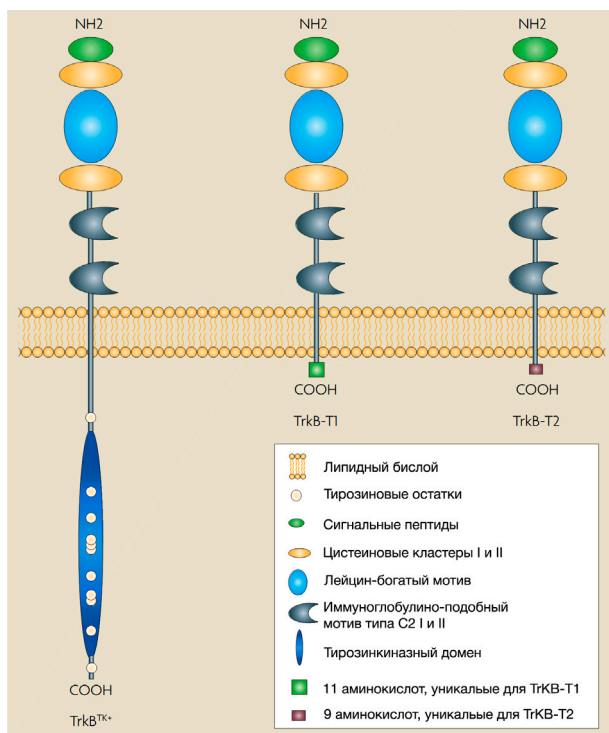


Рисунок 2 | Изоформы TrkB-рецептора

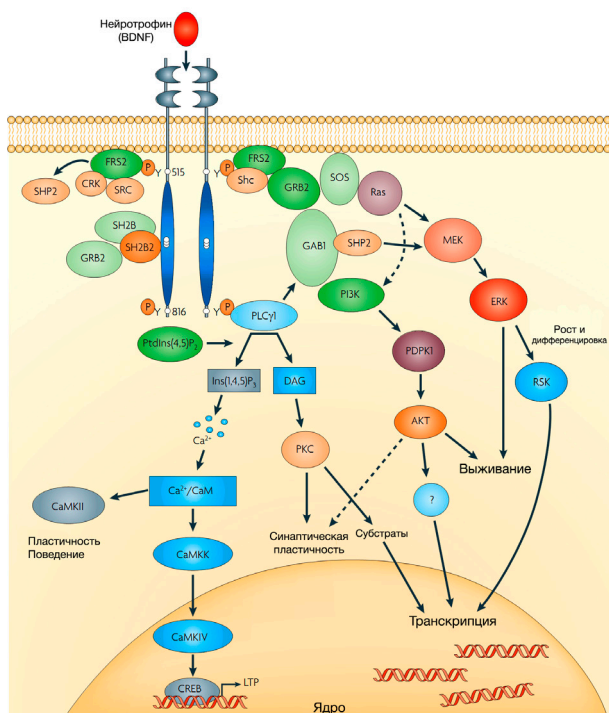


Рисунок 3 | Для активации TrkB необходима димеризация

BAD (какое говорящее название!) неактивным [5]. Исследования показали, что поддержание активности Akt (вне зависимости от того, стал ли этот белок активным вследствие эффектов NGF или же по иным причинам) является ключевым фактором выживания нейронов [6].

2. Второй путь заключается в активации MAPK. В данном случае рецептор также образует комплекс с адаптерными белками, который в свою очередь активирует белок SOS1 (принадлежащий к семейству факторов обмена гуаниновых нуклеотидов). SOS1 запускает работу белков семейства Ras, чья активность становится напрямую связанной с протеканием клеточного цикла. Ras путём фосфорилирования изменяют активность множества белков, но в данном случае нас интересует Raf (группа серин/треонин-специфичных киназ, также уличённых во влиянии на клеточный цикл [7]). Белки группы Raf запускают работу MAPK, которая является положительным модулятором активности белков группы Rsk (рибосомальные S6-киназы), чья активная работа является залогом выживаемости клетки и нормального протекания клеточного цикла.

Интересно, что сама плотность TrkA-рецепторов может регулироваться убиквитином: при взаимодействии с нейрон-специфичной убиквитинлигазой NEDD-4 происходит «сшивание» рецептора с собственным убиквитином, который транспортирует белок в протеасому для расщепления [8].

Эти лишь основные функции TrkA и NGF. Помимо этого, сама первооткрывательница в своих поздних работах утверждала, что функции NGF гораздо более обширны [9]. Большая плотность TrkA-рецепторов обнаруживается на пептидэргических ноцицептивных (чувствительных к тахикининам) нейронах.

Относительно недавно обнаружена патологическая изоформа TrkA – TrkAIII. Данная изоформа, будучи активной в отсутствие лиганда(!), запускает перерождение ранних нейронов-прогениторов в нейробластому [10].

TrkB-рецепторы

Главными лигандами данного рецептора являются BDNF и NT-4. NT-3 также имеет к нему аффинитет, но гораздо меньший, чем к своей основной цели – рецептору TrkC.

Данный рецептор может существовать в трёх изоформах, которые различаются не только по строению, но и по типу запускаемых сигнальных путей: длинная изоформа – TrkB TK+ – и две коротких – TrkB T1 и TrkB T2 (иногда объединяются под обозначением TrkB TK-). Две последних изоформы отличаются между собой короткими специфичными аминокислотными фрагментами [11].

Для активации TrkB необходима димеризация, причём, согласно современным данным, активны только гомодимеры, состоящие из определённой изоформы. Сигнальный путь проиллюстрирован

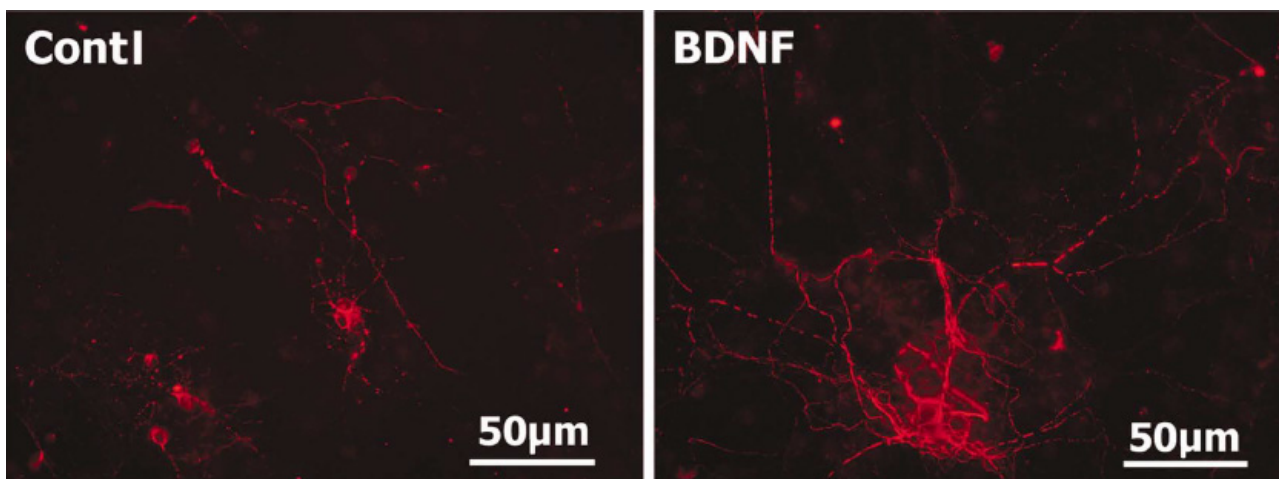


Рисунок 4 | Воздействие BDNF на культуру нейронов, флюоресцентное ИГХ-окрашивание. Как видно, контроль без избыточного уровня BDNF демонстрирует менее развитые связи

на примере TK+ изоформы при её активации BDNF. При присоединении лиганда происходит следующее: адаптерные белки (среди них уже известные нам GRB2 и GAB1) активируют сигнальный путь MAPK (состоящий из сигнальной цепи MEK, ERK, RSK), который в свою очередь ведёт к выключению про-апоптотических белков и активизации транскрипции генов, ответственных за предотвращение апоптоза.

Другой сигнальный путь начинается с активации фосфолипазы C (PLC). Она повышает уровни IP3 и DAG. DAG активирует протеинкиназу C (PKC), которая участвует в процессах повышения плотности рецепторов (синаптической пластичности) и в выключении про-апоптотических белков. IP3 высвобождает ионы кальция из эндоплазматического ретикула. Кальций активирует Ca/кальмодулин-зависимые киназы CaMKII, CaMKK, CaMKIV. Они включают транскрипционный фактор CREB, который стимулирует транскрипцию генов (активных в данной клетке), ответственных за формирование LTP (долговременной потенциации). Данный механизм влияет, например, на процессы запоминания.

Конечно, между различными изоформами существует разница в том, какие сигнальные пути они активируют [12]. Так, изоформа TK1 запускает сигнальный путь, влияющий на концентрацию кальция и последующий запуск CREB. Также TK1 может запускать белок RhoGDI1, регулирующий работу Rho-ГТ-Фаз, тем самым влияя на морфологию клетки за счёт регуляции сборки нитей актина [13].

TrkC-рецептор

Данный рецептор имеет всего лишь один главный лиганд – NT-3. Его механизм схож с таковым у TrkB, однако различается локализацией. Большие скопления рецепторов обнаруживаются на проприоцептивных и механоцептивных нейронах. С нарушением функций данных рецепторов и последующей смертью нейронов, на которых они расположены, могут быть связаны головокружение и утрата координации движений, характерные для многих нейродегенеративных заболеваний.

LNGFR

Необходимо также рассмотреть и этот рецептор нейротрофинов. LNGFR (Low-affinity Nerve Growth Factor Receptor, иногда — p75 neurotrophin receptor) не проявляет особой избирательности (любой из четырёх нейротрофинов может с ним связаться), но отличает его низкий аффинитет, т.е. он активируется лишь при высоких концентрациях сигнальных молекул.

В пику рецепторам группы Trk, LNGFR наоборот запускает при активации программу апоптоза. Разница заключается лишь в концентрациях нейротрофинов. Также данный рецептор может образовывать комплекс с TrkA, который переводит TrkA в высокоаффинное состояние, позволяя связывать NGF при ещё меньших концентрациях и одновременно запускать те же самые сигнальные пути, что и в обычном состоянии. То есть LNGFR действует тремя основными путями:

1. Прерывание цепи сигналов от Trk-рецепторов, направленных на выживание клетки, путём блокирования работы PI3K (фосфатидилинозитолкиназы).
2. Блокирование процесса аксонального роста через блокаду RhoA с помощью активации белка-ингибитора RhoGDI.
3. Третий путь заключается в активации MAPK8 (киназа из семейства JNK). Данная киназа отвечает за последующий прямой запуск апоптоза при сигналах от TNF-подобных рецепторов (к которым, кстати, и относится LNGFR [14]).

Глиальные факторы роста

Другой большой группой белков, регулирующих рост и развитие нервной системы, являются глиальные факторы роста (иногда обозначаются как GFL – glial family of ligands). С ними произошла классическая ситуация, когда белок, выделенный из одной ткани, оказывается более активным в совершенно другой. Так и здесь: будучи впервые выделенными из культуры глиальных клеток, GFL были обнаружены и в других популяциях нейронов.

Интересной особенностью данного класса сигнальных белков является то, что в их отношении

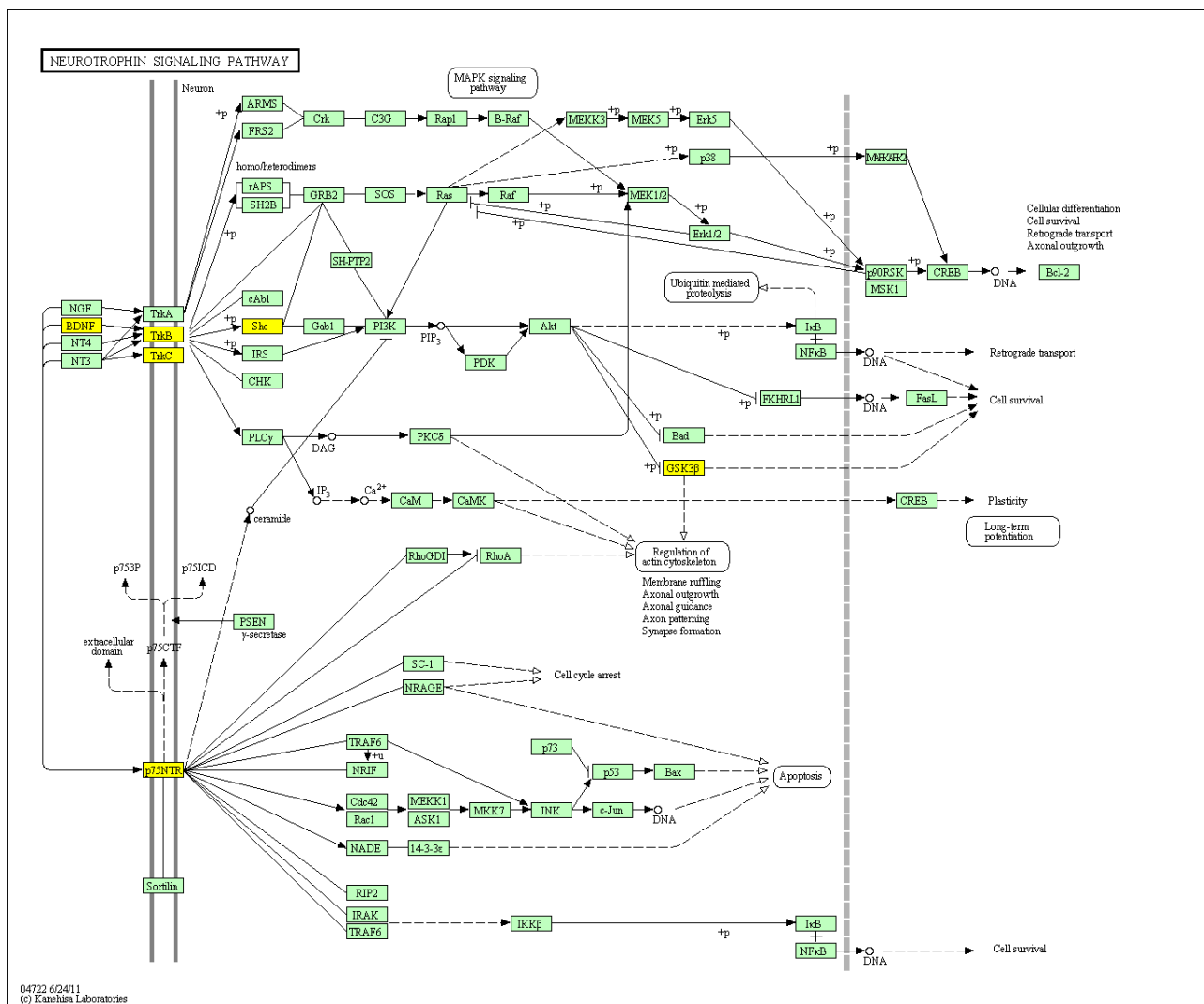


Рисунок 5 | Взаимодействие про-апоптотического и анти-апоптотического действия рецепторов нейротрофинов

есть опыт клинического применения! Но об этом чуть ниже.

В целом функции GFL аналогичны нейротрофинам: дифференциация (развитие), поддержание жизнедеятельности, блокирование нежелательного апоптоза. Как и рецепторы, механизмы, обеспечивающие реализацию функций глиальных факторов, были открыты не так давно – до сих пор в статьях по этой тематике можно встретить такие выражения: “ещё не определён”, “роль по-прежнему неясна”, “результаты противоречивы” и так далее, что, естественно, не очень хорошо. Но имеет перспективы для тех, кто хочет выяснить, как работает этот аспект регуляции функционирования нервной системы. В отличие от BDNF, который влияет на выработку релина, необходимого для правильного развития мозга в частности и выживания в целом, некоторые представители этого класса белков не являются жизненно важными, например, нейрутин [15]. В настоящее время, однако, уже выяснено, что каскады передачи сигнала схожи с таковыми у нейротрофинов (Рис. 6).

Это говорит о наличии основных сигнальных путей MEK/ERK (отвечает за клеточное деление, дифференциацию и рост аксонов), PI3K/Akt (ПКВ) (отве-

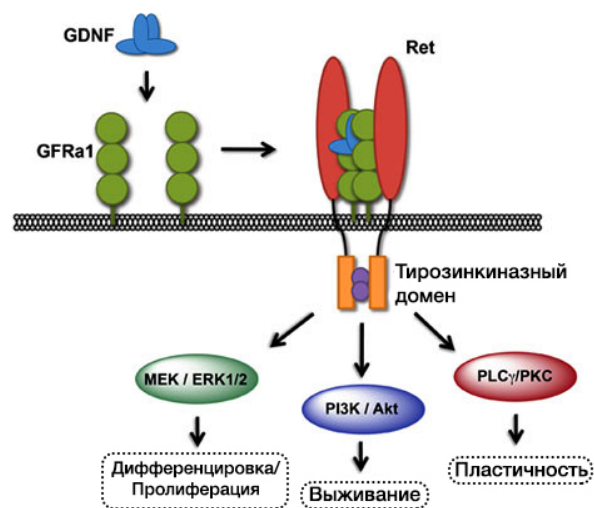


Рисунок 6 | Каскады передачи сигнала GDNF

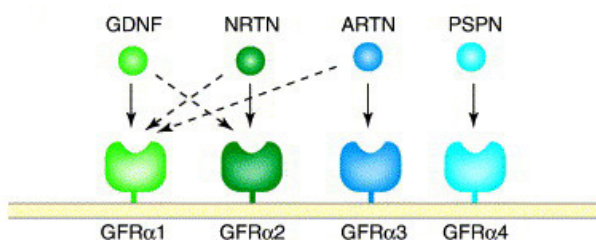


Рисунок 7 | Профили связывания лигандов семейства GDNF

чаёт за блокирование про-апоптотических белков и поддержание клетки живой) и PLC/PKC (отвечает за синаптическую пластичность). Следует помнить, что сигнальные пути иногда «пересекаются» на уровне вторичных мессенджеров.

Стоит отметить, что перекрываются также и профили связывания с рецепторами (Рис. 7) [16].

Известно, что существуют четыре типа рецепторов глиальных факторов роста: GFRα1 – преимущественно с ним связывается GDNF, GFRα2 – связывает нейртин, GFRα3 – для артемина и GFRα4 – для персефина. Но существует также и перекрёстное связывание: GFRα1 с меньшим аффинитетом способен активироваться нейртином и артемином, а GFRα2 – GDNF.

Конечно же, в рецепторах глиальных факторов существуют и специфические отличия от рецепторов нейротрофинов, которые стоит рассмотреть [17].

Поскольку в целом для этой группы факторов роста нейронов механизм работы рецепторов схож, то в описании можно использовать общее наименование – GFL. Их главное отличие от нейротрофинов состоит в том, что связывания с «голым» рецептором никогда не происходит. Сам процесс связывания может проходить по двум возможным механизмам: взаимодействием с комплексом RET/GFR (GDNF-Family

Receptor), когда сигнальная молекула связывается с заякоренными на мембране рецепторами, и второй вариант, при котором сначала связывание происходит со свободно растворённой молекулой GFR, затем – с последующим образованием комплекса GFR/GFL с RET. Главное отличие состоит в том, что в первом случае GFR имеет прямую связь с мембраной, а во втором – «висит» на RET. Это выражается в наборе рекрутируемых адаптерных белков: в случае прямой связи с мембраной там присутствуют FRS2 и Ras, которые запускают MEK/ERK-путь (заканчивающийся активацией MAPK), а в случае связи GFR через RET в комплексе обнаруживается PI3K, запускающая PI3K/Akt-путь. Также среди комплексов адаптерных белков можно обнаружить PLC, чья активация запускает PLC/PKC-путь.

Исследователи также предполагают наличие RET-независимого пути действия GFL (Рис. 10).

В случае заякоренного GFR рецепторная молекула может димеризоваться с ещё не открытым белком (но чьё существование высоко вероятно) и активировать SFK (Src-Family Kinase). SFK, будучи заякоренной с внутренней стороны мембраны, может свободно по ней перемещаться на липидном рафте, изменяя путём фосфорилирования активность других мембранных белков.

Функции GFL в процессе развития нервной системы

1. В процессе эмбрионального развития прогениторным клеткам нейронов верхнего шейного ганглия необходим ARTN (артемин) для миграции на своё место, деления и роста аксонов. Под конец эмбрионального развития и в перинатальном периоде ARTN уступает место NT-3 в качестве главного сигнального фактора. В процессе жизнедеятельности клетки становятся зависимыми от NT-3

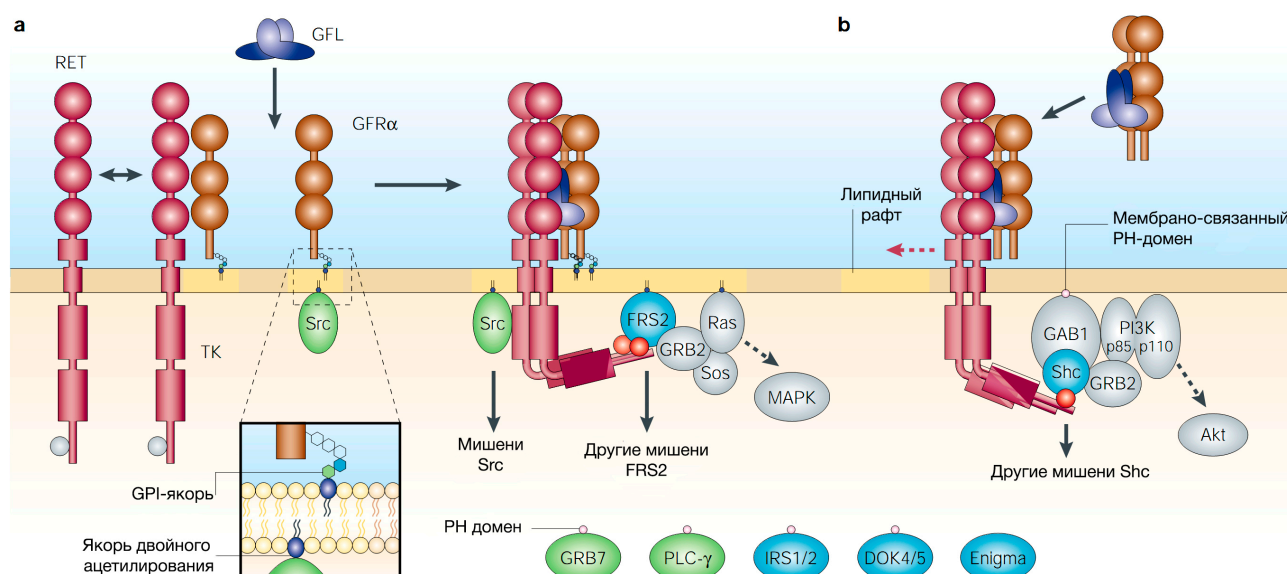


Рисунок 8 | В рецепторах глиальных факторов существуют и специфические отличия от рецепторов нейротрофинов

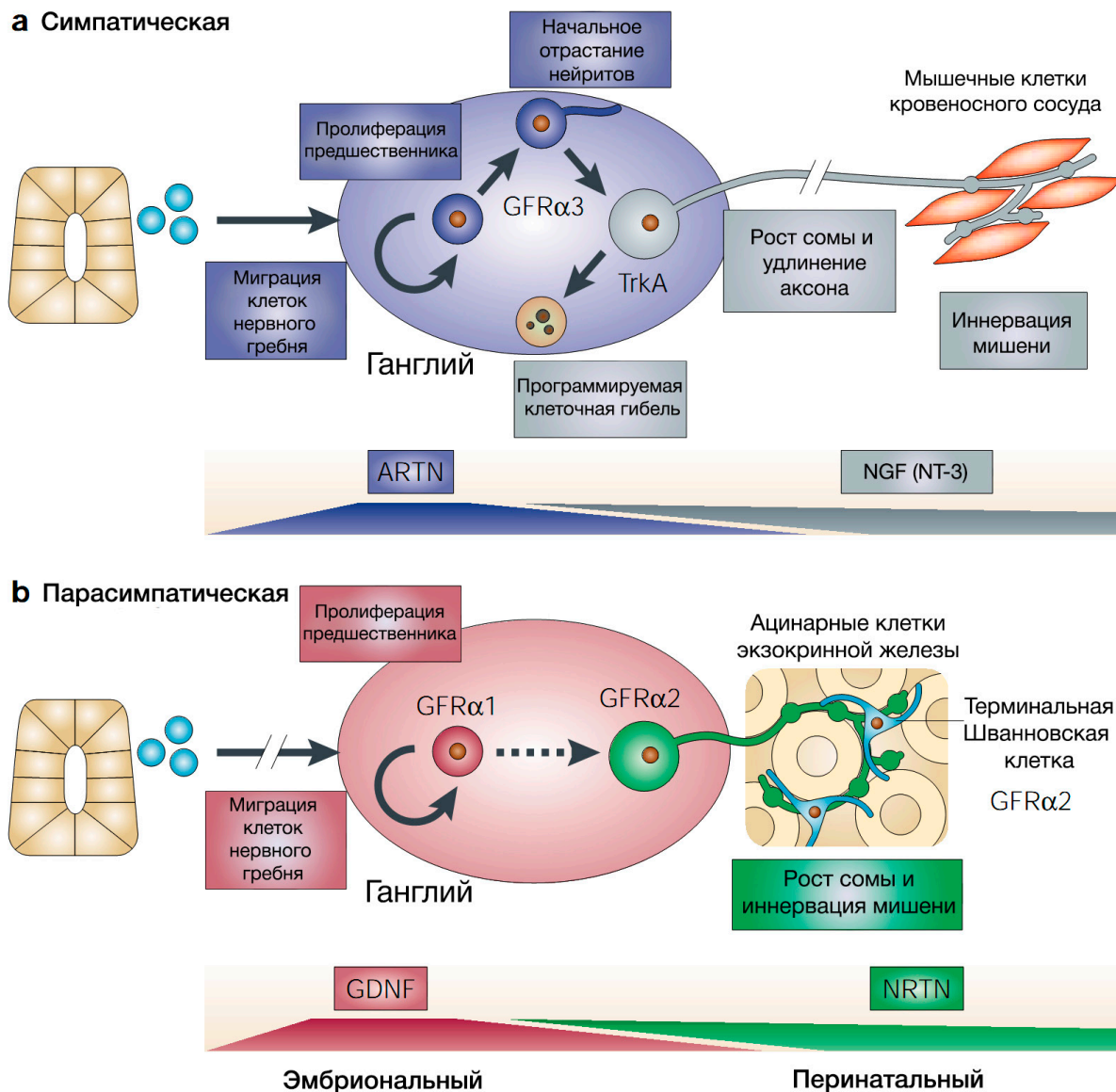


Рисунок 9 | Условно можно разделить роли глиальных факторов роста на две категории: участие в развитии симпатической (а) и парасимпатической (б) нервной системы. Это продемонстрировано на примере верхнего шейного и крылонёбного ганглиев соответственно

и без него уже не способны жить.

2. А вот у клеток-прогениторов нейронов крылонёбного ганглия главным сигнальным белком, дающим команду к миграции, делению и дифференциации в эмбриональном периоде, является GDNF. Затем он сменяется на NRTN (нейртулин), потому что клетки в перинатальном периоде «переключают» тип рецепторов на клеточной мембране с GFRα1 на GFRα2 [17]. Интересное отличие: данная популяция клеток, которая с одного GFL перешла на другой, не становится от него зависимой, т.е. её жизнедеятельность может продолжаться и при отсутствии этого сигнального фактора.

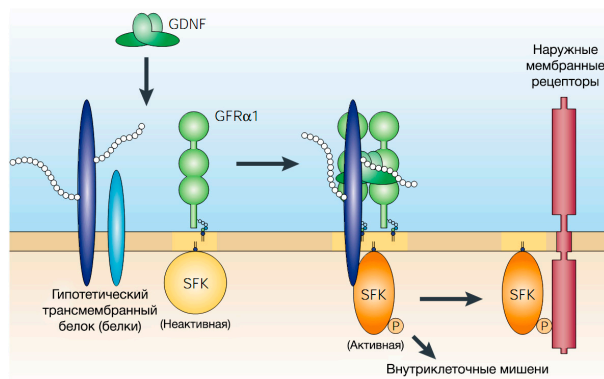


Рисунок 10 | RET-независимое пути действие GFL

Выключение генов семейства GFL или RET

Как видно из таблицы, факторы роста для нервной системы являются чем-то вроде чертежей, по которым она строится и развивается не только в эмбриональный период, но и весь постнатальный период



Таблица 1 | Последствия выключения генов семейства GFL и RET

Выключен- ный ген/по- следствия	RET	GDNF и/или его рецептор	NRTN и/или его рецептор	ARTN и/или его рецептор	PSPN и/или его рецептор
Организм в целом	Смертельно	Смертельно	Псевдоптоз, со- хранена фертиль- ность, замедление роста после отнятия от груди	Птоз, сохранена фертильность и жизнеспособность	Сохранена жизнеспособность и фертиль- ность
Висцеросен- сорная система	Диспноэ	Отсутствие 40% ней- ронов в височных англиях, диспноэ	Без изменений	Без изменений	Без изменений
Соматосен- сорная система	Спинальный ганглий незна- чительно из- менён	Ганглий тройничного нерва: демиелиниза- ция нервных окончаний у вибрисс мышей. Спинальный ганглий незначительно из- менён, наблюдается уменьшение разме- ров тел нейронов	Спинальный ган- глий незначи- тельно изме- нён, наблюдается уменьшение разме- ров тел нейронов и пониженная термочувстви- тельная	Спинальный ган- глий незначи- тельно изменён	Без изменений
Симпатиче- ская нервная система	Нарушение миграции и деления кле- ток-прогени- торов верх- него шейного ганглия, не- значитель- ные наруше- ния развития в других ган- глиях	Нейроны верхнего шейного ганглия не- значительно измене- ны, имеются неболь- шие отклонения в развитии	Нейроны верхнего шейного ганглия незначительно из- менены	Снижение мигра- ции, деления и жизнеспособно- сти клеток-про- гениторов верх- него шейного ганглия. Большая часть нейронов во взрослом воз- расте оказывается мёртвой	Без изменений
Парасим- патическая нервная система	Отсутствие крылонёб- ного и ушно- го ганглиев, уменьшение размеров тел нейронов в подчелюстном и других ганглиях	Отсутствие крылонёб- ного и ушного гангли- ев, уменьшение раз- меров тел нейронов в подчелюстном и других ганглиях	В крылонёбном ганглии сохране- но относительно нормальное коли- чество нейронов, однако замечено уменьшение свя- зей между ними. В других гангли- ях наблюдается уменьшение раз- меров тел нейронов и нарушение формирования связей между ними	Незначительные изменения в подчелюстных нейронах	Без изменений
Нервная система ЖКТ	Полное отсут- ствие нейро- нов по ходу кишечника, начиная от желудка	Полное отсутствие нейронов по ходу ки- шечника, начиная от желудка	Умеренное умень- шение количества нервных волокон в тонком кишечни- ке, снижена мото- рика ЖКТ	Незначительные изменения	Без изменений

Таблица 1 | (продолжение)

Выключен- ный ген/по- следствия	RET	GDNF и/или его рецептор	NRTN и/или его рецептор	ARTN и/или его рецептор	PSPN и/или его рецептор
Двигатель- ные функции	Множествен- ные наруше- ния развития ядер нервов	Умеренные наруше- ния развития ядер не- рвов	Незначительные нарушения раз- вития	Незначительные изменения	Без изменений
Мозг	Незначитель- ные измене- ния в чёрном веществе	Незначительные из- менения в чёрном ве- ществе, замедлены процессы обучения во взрослом возрас- те при гетерозиготном нокаутном варианте	Умеренные нару- шения в работе гиппокампа	Незначительные нарушения разви- тия.	Незначи- тельные нарушения развития
Другие ткани и органы	Отсутствие почек, частич- ная потеря С-клеток щитовидной железы	Отсутствие почек, атрофия яичек во взрослом возрасте при гетерозиготном нокаутном варианте	Без изменений	Без изменений	Без изменений

жизни [17]. Существует теоретическая модель влияния GFL на дофаминэргическую передачу [18], точнее, она раскрывает одну из сторон синаптической пластичности.

Выяснено [19], что уровень экспрессии различных GFL гораздо ниже уровня экспрессии рецепторов к ним. Однако при стимуляции или судорогах уровень мРНК GDNF и NRTN увеличивается, правда, пока неясно, происходит ли это напрямую от повышенной активности нейронов либо имеются какие-нибудь сигнальные белки, повышающие экспрессию GFL в этой ситуации. Также пока неизвестно, является ли выброс GFL зависимым от активности нейрона. Пока что данные таковы: при повышенной концентрации калия во внеклеточном пространстве и соответственно частой деполяризации изменяется и экспрессия рецепторов: увеличивается количество мРНК GFR α 1 и уменьшается – GFR α 2, правда, эти данные получены в опытах *in vitro* на нейронах ганглиев цыпленка. Однако в последующих экспериментах выяснилось, что эти данные можно проэкстраполировать на взрослый организм: при инсульте и эпилепсии обнаруживается схожее изменение паттерна экспрессии генов! Хотя значение таких изменений до сих пор неясно.

Предположительное влияние GFL на образование синаптических связей обнаружилось после того, как гетерозиготные мыши, нокаутные по гену GDNF, с трудом проходили водный тест Морриса.

На Рисунке 11 представлена теоретическая модель влияния GDNF на дофаминэргический синапс в нейронах полосатого тела. GDNF, скорее всего, высвобождается постсинаптическим нейроном или соседними нейронами. Также окружающие нейроны могут высвобождать GFR α 1 в свободной форме. Затем GDNF или комплекс GDNF/ GFR α 1 взаи-

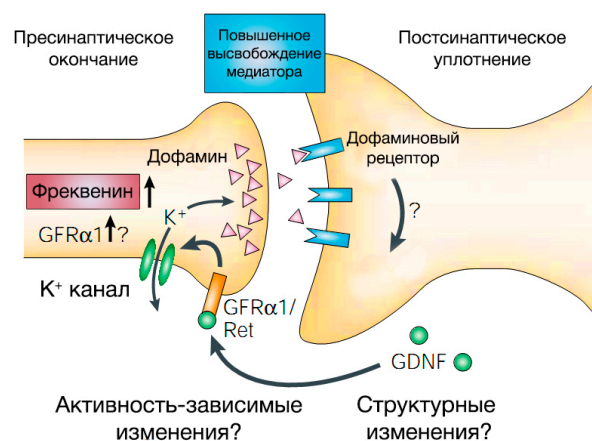


Рисунок 11 | Теоретическая модель влияния GFL на дофаминэргическую передачу

модействует с GFR α 1/RET или RET соответственно на мембране пресинаптического нейрона. В опытах показано, что GDNF увеличивает количество высвобождаемого из пресинаптической терминали дофамина. Это происходит в результате потенциации кальциевых каналов [20] с помощью увеличения экспрессии NCS-1 (он же Frequentin на схеме), так как этот белок, взаимодействуя с альфа-субъединицей вольтаж-зависимых кальциевых каналов, увеличивает поступление кальция в клетку. Также изменяется работа калиевых каналов А-типа (в основном Kv4.x — Kv4.1, Kv4.2, Kv4.3). Все эти изменения ведут в конечном счёте к увеличению выброса дофамина при возбуждении.

Клиническая роль нейротрофинов и глиальных факторов роста

BDNF

Проводились эксперименты по применению чистого BDNF при поражениях сетчатки и зрительного нерва [21]. Опыты на кошках показали, что введение BDNF в больших количествах вызывало специфическое воспаление, выборочно сохраняющее нейроны средних размеров, которые являются наиболее распространёнными и поражаются в первую очередь.

Также BDNF является одной из мишеней для лечения хореи Гентингтона [22]. Выяснено, что мутантный хантингин вызывает не только накопление белковых агрегатов, но и напрямую снижает уровень BDNF в нейронах, в то время как нормальный хантингин его наоборот поддерживает на постоянном уровне. Анти-BDNF действие мутантной формы хантингина происходит потому, что из-за структурных изменений невозможна сборка комплекса хантингин/HAP1, благодаря которому происходит нормальный транспорт и выделение BDNF [23]. Введение с помощью генотерапии нормальной формы хантингина может не только предотвратить накопление белковых агрегатов, но и оказать прямое поддерживающее действие с помощью увеличения уровня BDNF.

Также, несмотря на то, что многие клиницисты считают нейрогенез во взрослом мозге невозможным, он (нейрогенез) играет одну из ключевых ролей в действии антидепрессантов [24]. Многие представители данного класса препаратов увеличивают плотность AMPA и NMDA-рецепторов, чья стимуляция немного увеличивает уровень BDNF [25].

Наконец, BDNF играет роль в старении нервной системы. Со временем экспрессия BDNF снижается, но введение экзогенного BDNF или усиление его экспрессии (равно как и рецепторов группы TrkB) обратило в опытах на животных [26] некоторые функциональные и морфологические признаки старения в нервной системе.

NGF

Интересной особенностью данного сигнального вещества является регуляция влюблённости. И – я не шучу – вот почему: у людей, состоящих в постоянных отношениях около 12 месяцев, уровень NGF в крови ~ 227pg/ml; у тех, кто недавно расстался или же состоит в более долговременных отношениях ~ 123pg/ml, а у истинных титанов одиночества, не состоящих в отношениях вообще, он ~149 pg/ml [28]. Причём изменяется уровень лишь этого нейротрофина. Забавно, что этим же объясняются «приливы крови» в минуты смущения: NGF напрямую стимулирует выброс вазопрессина, который в свою очередь вызывает повышение уровня АКТГ, а он заставляет надпочечники секретировать кортизол. Кроме того, АКТГ сам по себе является стимулятором выброса NGF, таким образом вызывая достаточно долгий самоподдерживающийся цикл физиологических реакций [29]. Собственно, это один из нейробиологических механизмов любви, живите с этим знанием.

Кстати, в период повышенного уровня NGF наблюдается повышенная синаптическая пластичность, и, как следствие, воспоминания, полученные в этот период, остаются на очень долгое время. Кстати, интересно, что наиболее подробный механизм этого процесса, запускаемого красивыми женщинами, изложен в психиатрическом журнале, специализирующемся на аффективных состояниях. Чуть не забыл: со временем высокий уровень кортизола заглушит секрецию NGF [30] и прикроет ваши отношения. Можешь ей не звонить, у неё то же самое в голове.

Также NGF может выделяться тучными клетками, вызывая рост аксонов близлежащих ноцицептивных нейронов, таким образом увеличивая ощущение боли при воспалении. Чтобы жизнь мёдом не казалась.

GDNF

В чистом виде этот регуляторный белок предлагали использовать для лечения различных заболеваний, среди которых болезнь Паркинсона [31]. Пациентам был произведён курс двустороннего введения GDNF в скорлупу (путамен). Спустя 24 недели их неврологический статус был вновь измерен по шкале UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) и было отмечено улучшение в среднем на 30%. Также GDNF был испытан в качестве перспективного средства для лечения бокового амиотрофического склероза, однако больших результатов это исследование не достигло [32].

Также, конечно, было изучено влияние этого белка в процессах формирования наркотической и алкогольной зависимостей. В случае алкогольной зависимости его внезапно увязали с ибogaином. Исследователи объединили данные по использованию ибogaина [33] в качестве средства от алкоголизма, приучили мышей к алкоголю, а затем вводили им ибogaин в VTA (вентральная область покрышки) и чёрное вещество. Результата они получили два: первый – значительное снижение потребления (self administration) алкоголя, а второй – более чем двухкратное увеличение экспрессии GDNF. Свои догадки о том, что зависимость от алкоголя пропадает именно от GDNF, исследователи решили подтвердить прямым введением этого сигнального белка в дофаминэргические зоны мозга. Результатам стало, как не трудно догадаться, то же самое снижение потребления алкоголя, что и от ибogaина, только несколько слабее. К несомненным плюсам лечения алкоголизма ибogaином можно отнести и то, что процессы экспрессии GDNF были увеличены в течение 24 часов с момента введения, т.е. мозг производил больше GDNF, чем при прямом введении этого белка.

NRTN

Данный белок также рассматривался в качестве перспективного нейропротективного средства при различных нейродегенеративных заболеваниях. Однако опыты с ним стоит расписать, поскольку в них использовался один из моих любимых экспериментальных нейротоксикантов – 6-OHDA (6-гидроксидофа-

мин). Он по структуре очень похож на дофамин как таковой, также он и захватывается внутрь клетки с помощью DAT (дофаминовый транспортер), а затем, являясь одним из субстратов MAO (моноаминоксидазы), он производит активный кислородный радикал. Множество таких молекул внутри клетки способны создать оксидативный стресс, ведущий к гибели нейрона. Так вот, NRTN в данных опытах оказался способен защитить дофаминэргические нейроны среднего мозга не только от паркинсонизма как такового, но и от токсически-индуцированной его формы [34]. Также NRTN показал способность защищать холинэргические нейроны, но, увы, пока что лишь *in vitro* [35]. Интересно, что несмотря на то, что для культивации был взят образец эмбриональной нервной ткани, клетки которой в месте выреза лишь начали дифференцироваться в клетки именно мозга, благодаря культивированию с NRTN и PSPN они успешно дошли до стадии зрелых холинэргических нейронов переднего мозга (BFCN).

ARTN

Этот сигнальный белок в чистом виде предлагали применять для лечения хронических нейропатических болей [36]. В экспериментах было произведено повреждение нервов и выяснено, что артемин оказывает дозозависимое и хронозависимое действие. То есть чем больше и дольше вводим, тем лучше проходит нейропатическая боль. Даже при маленьких дозировках артемин действовал в среднем 28 дней, т.е. в течении этого времени после последней инъекции в тканях и клетках наблюдались изменения, характерные для процесса регенерации.

PSPN

А вот его предлагали применять для лечения последствий ишемического инсульта [37]. Вообще его антиишемическое действие было открыто при наблюдениях за мышами, имеющими дефицит персефина: у них было отмечено 300% повышение объёма отмирания нервных клеток при ишемии по сравнению с контрольной группой. Также были проведены опыты с введением человеческого(!) рекомбинантного персефина, который в моделях на PSPN-дефицитных мышах показывал хорошие нейропротекторные свойства. Затем было уточнено, что PSPN защищает конкретно от глутаматной эксайтоксичности, являющейся одной из главных причин смерти нейронов при ишемии.

В качестве заключения

Стоит отметить, что в статье рассмотрены лишь самые основные белки-регуляторы роста, развития и жизнедеятельности нервных клеток. На самом деле их ещё больше, правда, они менее исследованы. Например, существуют семейства белков CNTF, эфрининов и нейрегулинов. Они очень разнообразны, и я постараюсь их как-нибудь разобрать. Ведь среди них встречаются действительно очень интересные экземпляры, например, NRG-1 тип I, избирательно

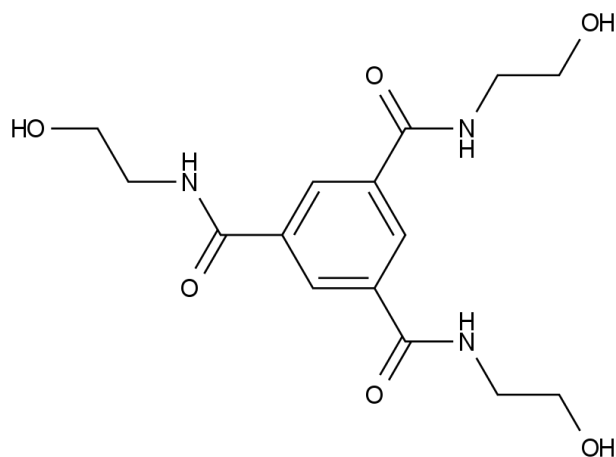


Рисунок 12 | LM22A-4

увеличивающий плотность ацетилхолиновых рецепторов. Все эти типы сигнальных молекул вместе с другими регуляторными белками и низкомолекулярными соединениями являются одним большим оркестром, очень слаженно исполняющим тонкую партию развития нервной системы.

Что касается нейротрофинов и глиальных факторов, то они, вне всякого сомнения, играют жизненно важные роли в развитии нервной системы (см. таблицу с нокаутными по генам глиальных факторов мышами). Однако их клиническое применение, несмотря на вышеописанные попытки, сильно ограничено. Главными проблемами являются их дороговизна получения и сложность доставки: как читатель мог заметить, во всех случаях происходило введение белка прямо в мозг, что делает такие методы малоприменимыми в клинической практике.

Но и эту проблему можно обойти: относительно недавно были изобретены несколько веществ с пептидомиметической активностью. Например, внимания заслуживает LM22A-4

На выживаемость и деление нейронов он оказывает такое же действие, как и сам BDNF. Тут стоит отметить, что низкие результаты по TUNEL/DAPI означают большую выживаемость, так как этот метод окраски клеток позволяет выяснить, какие из клеток умерли (живые клетки этот краситель в себя не пропускают).

Кроме того, исследовательская группа, проводившая это исследование, осуществила замечательный эксперимент по моделированию нейродегенеративных заболеваний и сравнению нейропротекторной активности BDNF и LM22A-4 (Рис. 14):

Для пояснения:

А. Модель болезни Альцгеймера с бета-амилоидом. Все эксперименты дублировались с K252a (на схеме – K), избирательным блокатором Trk-рецепторов. Культуры были разделены на 2 большие надгруппы:

1. Контроль, контроль+K
2. Экспериментальная группа с бета-амилоидом. Как видно, контрольные культуры потерпели наибольшие потери, а вот в культурах с BDNF и

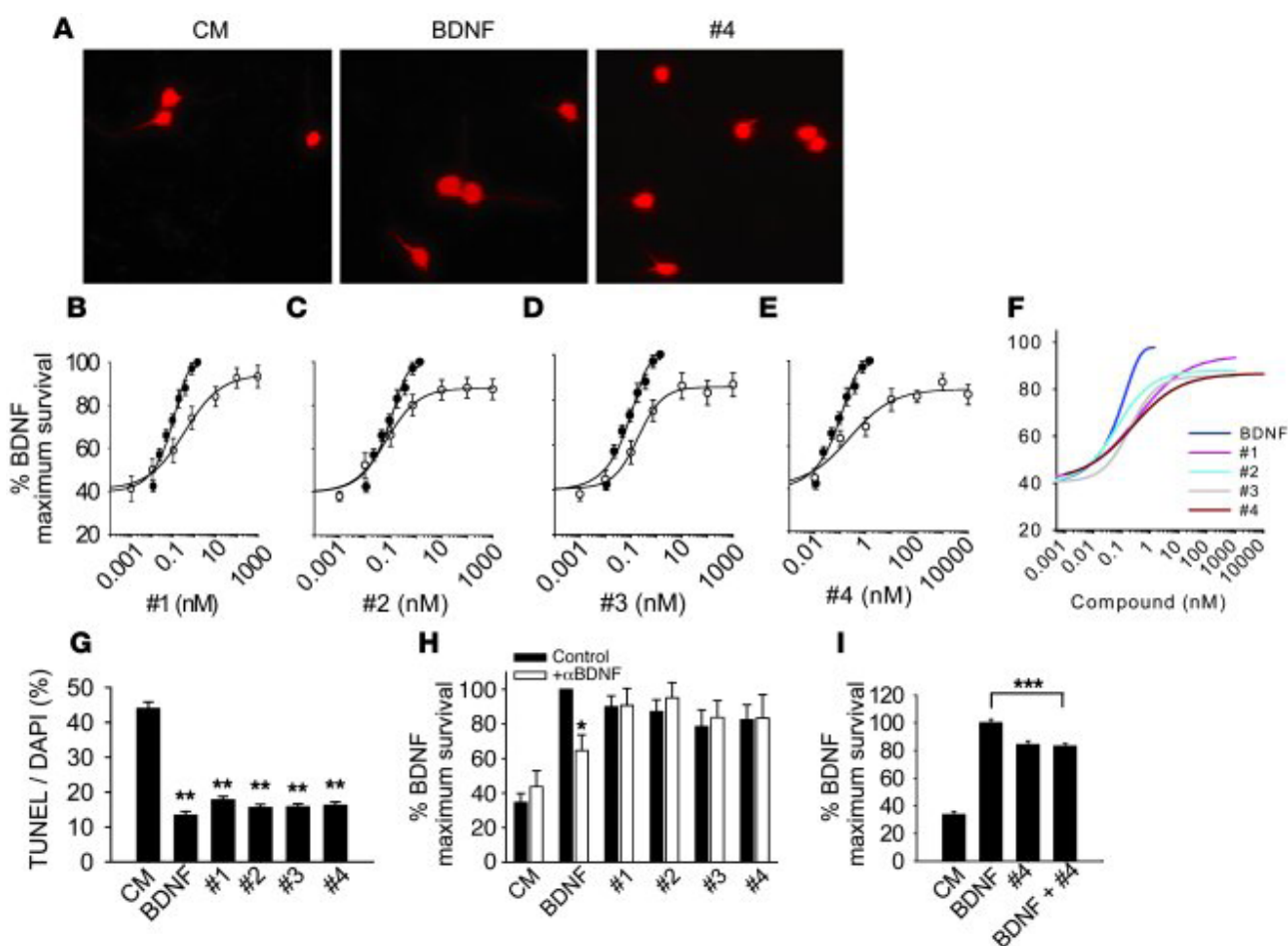


Рисунок 13 | BDNF-миметик и TrkB-агонист [38]

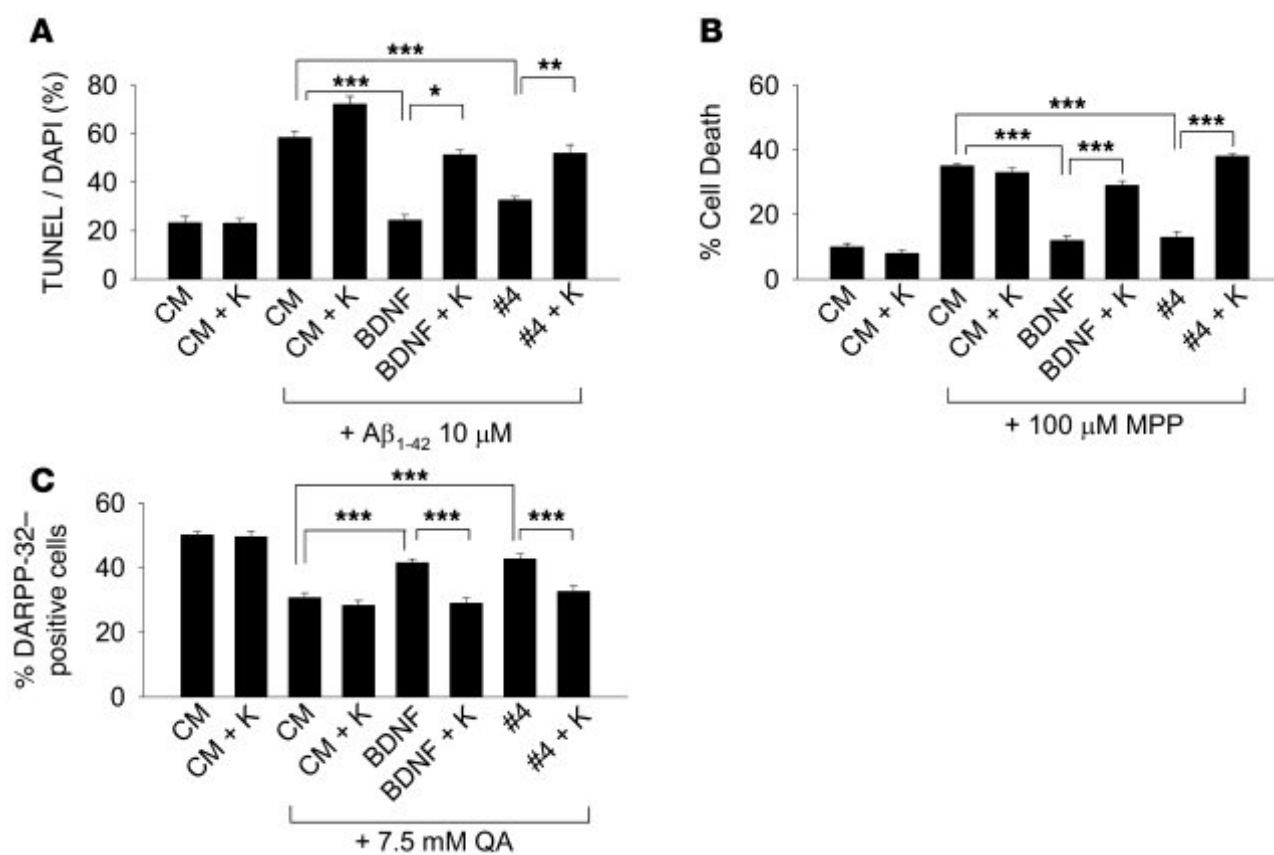


Рисунок 14 | Нейропротекторная активность BDNF и LM22A-4



LM22A-4 картина похожая: если Trk-рецептор не заблокирован, то нейроны вполне успешно выживают в присутствии бета-амиоида.

- В. Модель болезни Паркинсона. Тут также культуры разделены на 2 надгруппы – контроль, контроль+K и экспериментальная серия с избирательным дофаминэргическим нейротоксикантом MPP⁺ (производное MPTP, которое переносится в клетку с помощью DAT и становится активным с помощью MAO, убивает клетку путём разрушения цепи переноса электронов). Как видно, в группе, подвергшейся действию токсина, контрольные культуры понесли самые большие потери, а те, что были с BDNF и LM22A-4, – наименьшие. За исключением случаев +K, так как при блокировании Trk-рецептора нивелируется и нейропротекторное действие.
- С. Модель хорей Гентингтона. Здесь в качестве модельного токсиканта выбрана хинолиновая кис-

лота (QA — Quinolinic acid), NMDA-агонист. Только в данном случае было выбрано окрашивание не мёртвых, а живых клеток с помощью антител к DARPP-32. Дизайн эксперимента был тем же: 2 надгруппы – без токсина и с присутствием токсина. Опять же, в надгруппе с токсином BDNF и синтетическое вещество показали одинаковую защитную активность!

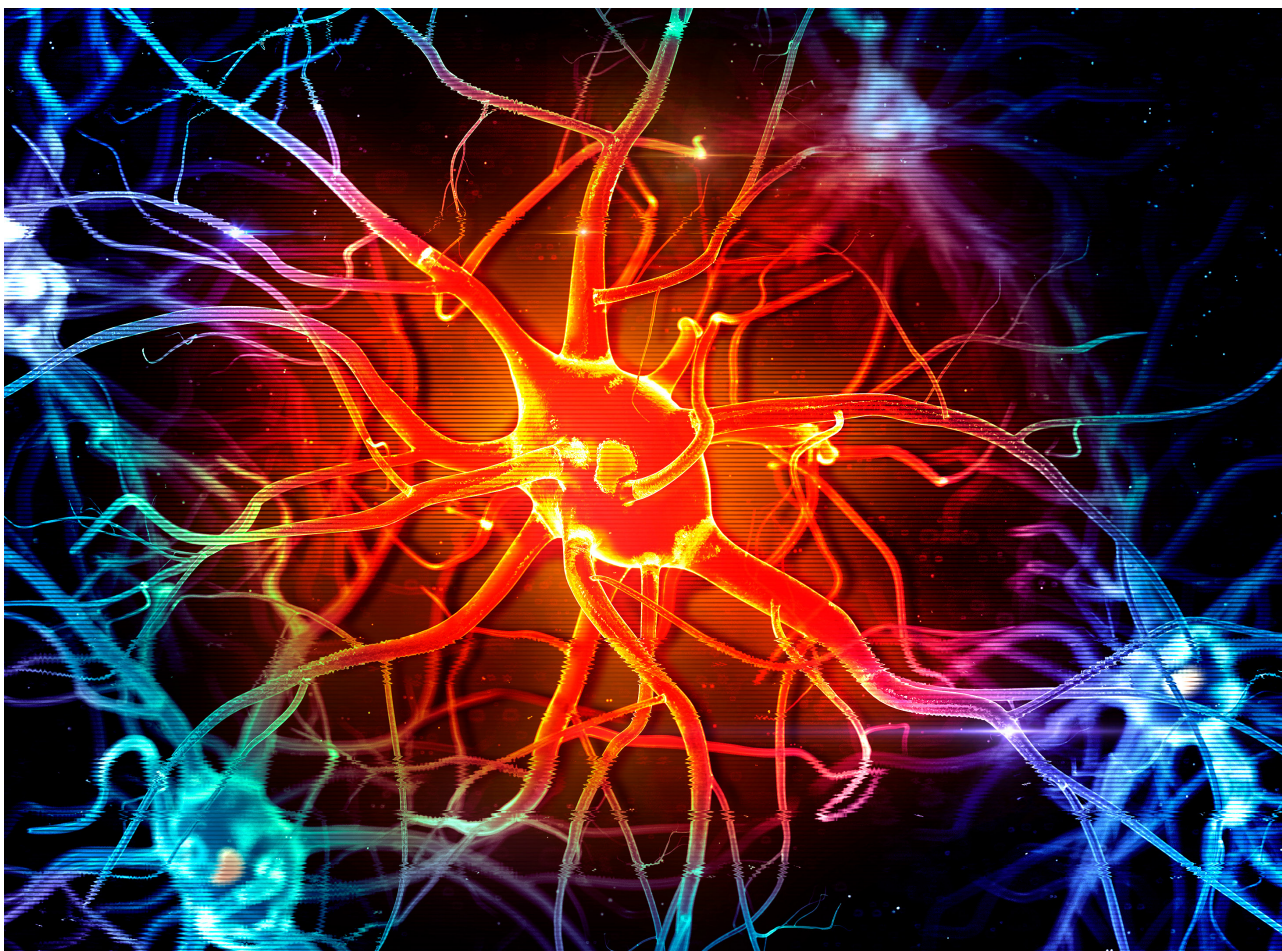
Создание подобных лигандов с профилем активности, не уступающим эндогенному высокомолекулярному аналогу, открывает, по сути, новую страницу в истории неврологии. Представьте себе, что появится возможность регенерировать нервы так же легко, как и кожу! Дело за малым – протестировать и спроектировать избирательные лиганды факторов роста нейронов. Структуры известны, механизмы работы известны – иди и занимайся докингом и синтезом! Просто встань и иди.

Список литературы

1. Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. LEVI-MONTALCINI R, HAMBURGER V J Exp Zool. 1951 Mar; 116(2):321-61.
2. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. Barde YA, Edgar D, Thoenen H EMBO J. 1982; 1(5):549-53.
3. Liu X, Bates R, Yin DM, Shen C, Wang F, Su N, Kirov SA, Luo Y, Wang JZ, Xiong WC, Mei L (June 2011). «Specific Regulation of NRG1 Isoform Expression by Neuronal Activity». J. Neurosci. 31 (23): 8491–501. doi:10.1523/JNEUROSCI.5317-10.2011. PMC 3154699. PMID 21653853.
4. Neuroprotection in Glaucoma By Sotiria Palioura and Demetrios G. Vavvas DOI: 10.5772/54294
5. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). «Figure 15-60: BAD phosphorylation by Akt». Molecular biology of the cell. New York: Garland Science. ISBN 0-8153-3218-1.
6. Crowder RJ, Freeman RS (Apr 1998). «Phosphatidylinositol 3-kinase and Akt protein kinase are necessary and sufficient for the survival of nerve growth factor-dependent sympathetic neurons». The Journal of Neuroscience 18 (8): 2933–43. PMID 9526010.
7. Zebisch A, Troppmair J (June 2006). «Back to the roots: the remarkable RAF oncogene story». Cell. Mol. Life Sci. 63 (11): 1314–30. doi:10.1007/s00018-006-6005-y. PMID 16649144.
8. Yu T, Calvo L, Anta B, López-Benito S, Southon E, Chao MV, Tessarollo L, Arévalo JC (April 2011). «Regulation of trafficking of activated TrkA is critical for NGF-mediated functions». Traffic 12 (4): 521–34. doi:10.1111/j.1600-0854.2010.01156.x. PMC 3547592. PMID 21199218.
9. Levi-Montalcini R (2004). «The nerve growth factor and the neuroscience chess board». Progress in Brain Research 146: 525–7. doi:10.1016/s0079-6123(03)46033-0. PMID 14699984.
10. Mol Cell Biol. 2009 Sep;29(17):4812-30. doi: 10.1128/MCB.00352-09. Epub 2009 Jun 29. The alternative TrkAIII splice variant targets the centrosome and promotes genetic instability. Farina AR1, Tacconelli A, Cappabianca L, Cea G, Panella S, Chioda A, Romanelli A, Pedone C, Gulino A, Mackay AR.
11. «TrkB signalling pathways in LTP and learning» Liliana Minichiello Nature Reviews Neuroscience 10, 850-860 (December 2009) doi:10.1038/nrn2738
12. Clin Cancer Res. 2009 Oct 1;15(19):5962-7. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0651. Epub 2009 Sep 15. On Trk—the TrkB signal transduction pathway is an increasingly important target in cancer biology. Thiele CJ1, Li Z, McKee AE.
13. J Neurosci. 2005 Feb 9;25(6):1343-53. A truncated tropomyosin-related kinase B receptor, T1, regulates glial cell morphology via Rho GDP dissociation inhibitor 1. Ohira K1, Kumanogoh H, Sahara Y, Homma KJ, Hirai H, Nakamura S, Hayashi M.
14. http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?133840406410261/hsa04722.args
15. Gill S, Patel N, Hotton G, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, Brooks D, Svendsen C, Heywood P (2003). «Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease». Nat Med 9 (5): 589–95. doi:10.1038/nm850. PMID 12669033.
16. «Is GAS1 a co-receptor for the GDNF family of ligands?»Schueler-Furman, Ora et al. Trends in Pharmacological Sciences , Volume 27 , Issue 2 , 72 — 77
17. The GDNF family: Signalling, biological functions and therapeutic value Matti S. Airaksinen & Mart Saarma Nature Reviews Neuroscience 3, 383-394 (May 2002) doi:10.1038/nrn812
18. Poo, M. M. Neurotrophins as synaptic modulators. Nature Rev. Neurosci. 2, 24–32 (2001).
19. Airaksinen, M. S., Titievsky, A. & Saarma, M. GDNF family neurotrophic factor signaling: four masters, one servant? Mol. Cell. Neurosci. 13, 313–325 (1999).
20. Wang, C. Y. et al. Ca²⁺ binding protein frequenin



- mediates GDNF-induced potentiation of Ca²⁺ channels and transmitter release. *Neuron* 32, 99–112 (2001).
21. Chen, H., Weber, A. J. BDNF enhances retinal ganglion cell survival in cats with optic nerve damage. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42: 966–974, 2001
 22. Zuccato, C., Ciammola, A., Rigamonti, D., Leavitt, B. R., Goffredo, D., Conti, L., MacDonald, M. E., Friedlander, R. M., Silani, V., Hayden, M. R., Timmusk, T., Sipione, S., Cattaneo, E. Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science* 293: 493–498, 2001
 23. Gauthier, L. R., Charrin, B. C., Borrell-Pages, M., Dompierre, J. P., Rangone, H., Cordelieres, F. P., De Mey, J., MacDonald, M. E., Lebmman, V., Humbert, S., Saudou, F. Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell* 118: 127–138, 2004.
 24. Mattson MP (Nov 2008). «Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1144: 97–112.
 25. Sequential changes in BDNF mRNA expression and synaptic levels of AMPA receptor subunits in rat hippocampus after chronic antidepressant treatment. Martínez-Turrillas R, Del Río J, Frechilla D *Neuropharmacology*. 2005 Dec; 49(8):1178–88.
 26. *Brain Res Rev.* 2008 Nov;59(1):201–20. doi: 10.1016/j.brainresrev.2008.07.007. Epub 2008 Aug 3. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. Tapia-Arancibia L1, Aliaga E, Silhol M, Arancibia S.
 27. Gall C, Lauterborn J, Bundman M, Murray K, Isackson P (1991). «Seizures and the regulation of neurotrophic factor and neuropeptide gene expression in brain». *Epilepsy Research. Supplement* 4: 225–45.
 28. Emanuele, Enzo; Politi, Pierluigi; Bianchi, Marika; Minorette, Piercarlo; Bertona, Marco; Geroldi, Diego (2006-04-01). «Raised plasma nerve growth factor levels associated with early-stage romantic love». *Psychoneuroendocrinology* 31 (3): 288–294.
 29. Valiengo, Leandro L.; Soeiro-de-Souza, Márcio G.; Marques, Andrea H.; Moreno, Doris H.; Juruena, Mário F.; Andreazza, Ana Cristina; Gattaz, Wagner F.; Machado-Vieira, Rodrigo (2012-04-01). «Plasma cortisol in first episode drug-naïve mania: Differential levels in euphoric versus irritable mood». *Journal of Affective Disorders* 138 (0): 149–152.
 30. Lipov, Eugene; Kelzenberg, Briana; Rothfeld, Courtney; Abdi, Salahadin (2012-12-01). «Modulation of NGF by cortisol and the Stellate Ganglion Block — is this the missing link between memory consolidation and PTSD?». *Medical Hypotheses* 79 (6): 750–753.
 31. *J Neurosurg.* 2005 Feb;102(2):216–22. Improvement of bilateral motor functions in patients with Parkinson disease through the unilateral intraputamin infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor. Slevin JT1, Gerhardt GA, Smith CD, Gash DM, Kryscio R, Young B.
 32. *Science.* 1994 Nov 11;266(5187):1062–4. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. Henderson CE1, Phillips HS, Pollock RA, Davies AM, Lemeulle C, Armanini M, Simmons L, Moffet B, Vandlen RA, Simpson LC corrected to Simmons L, Koliatsos VE, Rosenthal A, et al.
 33. *J Neurosci.* 2005 Jan 19;25(3):619–28. Glial cell line-derived neurotrophic factor mediates the desirable actions of the anti-addiction drug ibogaine against alcohol consumption. He DY1, McGough NN, Ravindranathan A, Jeanblanc J, Logrip ML, Phamluong K, Janak PH, Ron D.
 34. *J Neurosci.* 1998 Jul 1;18(13):4929–37. Neurturin exerts potent actions on survival and function of midbrain dopaminergic neurons. Horger BA1, Nishimura MC, Armanini MP, Wang LC, Poulsen KT, Rosenblad C, Kirik D, Moffat B, Simmons L, Johnson E Jr, Milbrandt J, Rosenthal A, Bjorklund A, Vandlen RA, Hynes MA, Phillips HS.
 35. *Exp Neurol.* 2003 Nov;184(1):447–55. Neurturin and persephin promote the survival of embryonic basal forebrain cholinergic neurons in vitro. Golden JP1, Milbrandt J, Johnson EM Jr.
 36. *Nat Med.* 2003 Nov;9(11):1383–9. Epub 2003 Oct 5. Multiple actions of systemic artemin in experimental neuropathy. Gardell LR1, Wang R, Ehrenfels C, Ossipov MH, Rossomando AJ, Miller S, Buckley C, Cai AK, Tse A, Foley SF, Gong B, Walus L, Carmillo P, Worley D, Huang C, Engber T, Pepinsky B, Cate RL, Vanderah TW, Lai J, Sah DW, Porreca F.
 37. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Jul 9;99(14):9521–6. Epub 2002 Jul 1. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in Persephin. Tomac AC1, Agulnick AD, Haughey N, Chang CF, Zhang Y, Bäckman C, Morales M, Mattson MP, Wang Y, Westphal H, Hoffer BJ.
 38. Small molecule BDNF mimetics activate TrkB signaling and prevent neuronal degeneration in rodents Stephen M. Massa ... Jayakumar Rajadas, Frank M. Longo Published May 3, 2010 Citation Information: *J Clin Invest.* 2010;120(5):1774–1785. doi:10.1172/JCI41356.



НЕЙРОТРОПНЫЕ ФАКТОРЫ II

Автор: Anonimch

Редакция: Елена Лисицына, Юлия Белова,
Михаил Повиленский, Николай Лисицкий

Изображения: Cornu Ammonis

Опубликовано 22.08.2016.

Введение

Продолжаем рассказывать интересные вещи о сигнальных белках нервной системы, которые регулируют её рост, развитие и жизнедеятельность. В предыдущей серии мы рассмотрели как довольно известные белки, такие как BDNF, так и дикуую экзотику вроде ARTN.

Позволю себе небольшую рекапитуляцию прошлой статьи: всё началось с того, что Рита Леви Монтанчини решила изучить влияние опухолевых экстрактов на куриный эмбрион и в итоге заметила, что некие вещества ускоряют развитие нервной системы. А дальше пошло-поехало: сначала выделили NGF и BDNF, а затем и многие другие белки-регуляторы. Некоторые умные люди даже провели опыты с нокаутными по генам различных нейротрофинов мышами и выяснили, какие отклонения в развитии влечёт за собой сбой работы того или иного белка. Ну а под конец я нашёл публикацию, которой сам удивился, где описывалось низкомолекулярное соединение, обла-

дающее той же активностью, что и BDNF.

В этой части я решил продолжить ликбез по таким малоизвестным, но важным белкам.

CNTF

Цилиарный нейротропный фактор

Впервые он был выделен из глаз куриного эмбриона, а точнее из ресничного тела (corpus ciliare), откуда и получил своё название. Хотя дальнейшие исследования показали, что конкретно у человека наибольшая его экспрессия наблюдается в обонятельном бугорке.

Как и другие нейротропные факторы, CNTF регулирует рост, развитие и поддержание жизнедеятельности нейронов. CNTF «отдаёт предпочтение» моторным, ГАМКергическим и холинэргическим нейронам. Хотя это один из немногих нейротрофинов, чьё воздействие на молодой нейрон может определить тип используемого нейромедиатора – исследования на культурах клеток показали, что CNTF, добавленный в среду вместе с норадреналином, вызывает увеличение числа адренергических нейронов.

Рецептор CNTF

Его сигнальные пути значительно отличаются от таковых у белков класса NGF и GDNF. В отличие от них

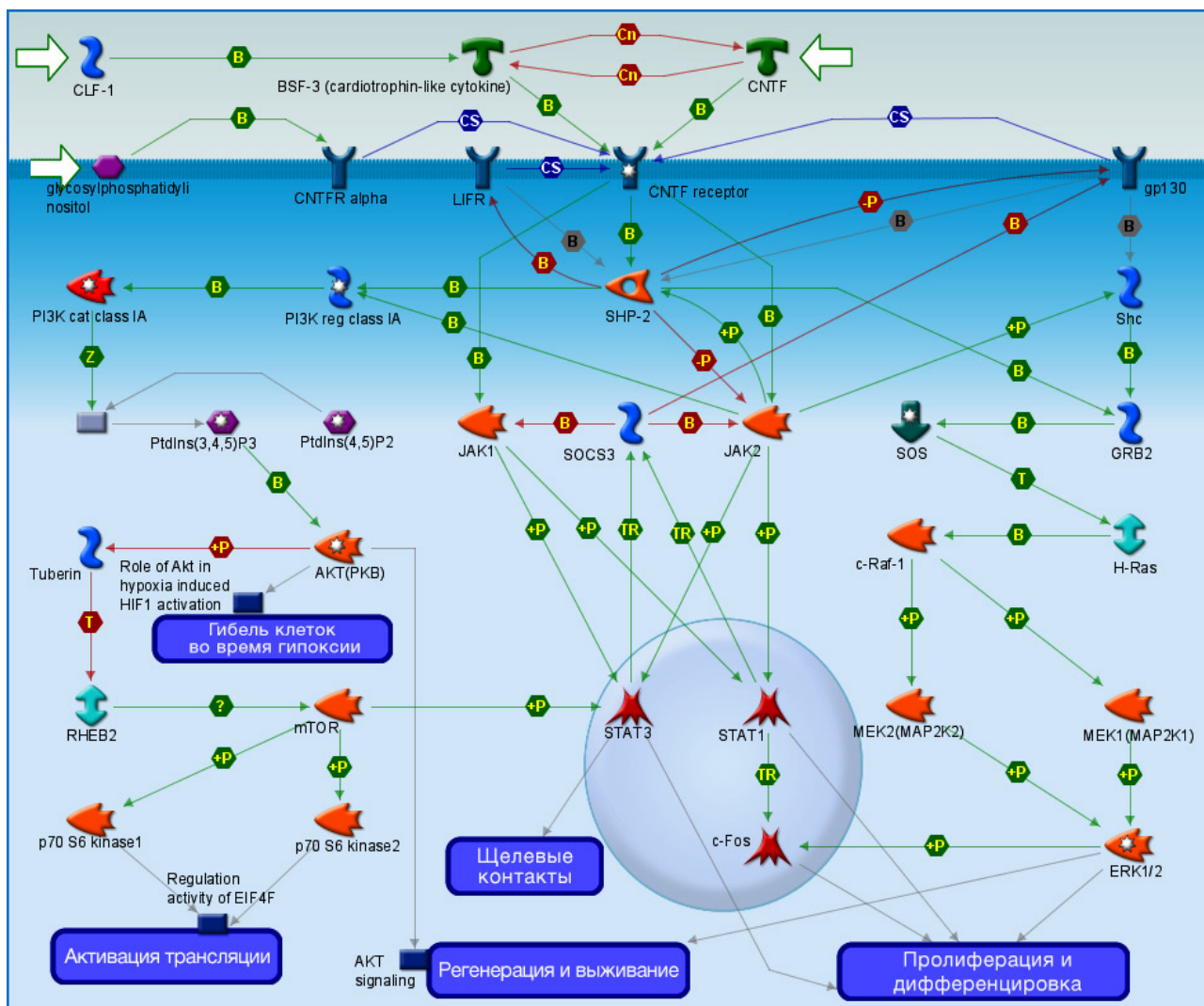


Рисунок 1 | Сигнальные пути рецептора CNTF

он является не единым белком, а рецепторным комплексом-тримером, состоящим из собственно CNTF-альфа субъединицы, LIFR-субъединицы (рецептор лейкоингибирующего фактора) и IL6st (иногда обозначается как gp130, гликопротеин). Альфа-субъединица может быть активной в свободной либо в связанной с клеточной мембраной формах.

Помимо CNTF, у рецептора также существует и другой лиганд – BSF-3 (фактор стимуляции В-клеток 3, второе название которого – кардиотрофин-подобный цитокин). Интересно, что сам BSF-3 в чистом виде не имеет аффинитета к CNTR (краткое название для всего рецепторного комплекса), и для получения возможности связаться с рецептором ему необходимо сначала сформировать гетеродимер с CLF-1 (цитокин-подобный фактор 1), и только после этого BSF-3 получит возможность связаться с CNTR.

При активации CNTR запускает следующие сигнальные пути в клетке: JAK/STAT, MAPK/ERK (через ERK-1 и ERK-2) и Akt/PCB. Эти сигнальные каскады часто пересекаются между собой, однако можно выделить отдельные эффекты, которые вызывает их активация: сигнальный путь JAK/STAT запускает механизмы формирования новых синапсов и отвечает за

пролиферацию и дифференциацию (в молодых нейронах); Akt/PCB влияет на ответ клетки на гипоксию, запускает регенерацию при повреждениях и повышает выживаемость нейрона (например, в случае аксономии), также он запускает транскрипцию определенных генов, активных в данной клетке; путь MAPK/ERK отвечает лишь за выживаемость.

Интересно, что эти сигнальные каскады работают по принципу «спаси или добей». JAK2 и активируемый им белок SHP2 запускают каскад Akt/PCB, который может либо спасти клетку при умеренных повреждениях, либо добить её, ускорив наступление апоптоза при длительной гипоксии.

Также CNTF принимает участие в дифференцировке глиальных клеток. В опытах на клетках-прогениторах коры мозга грызунов обнаружена способность CNTF повышать экспрессию GFAP (глиального фибриллярного кислого белка), который является астроцит-специфичным белком. Показано, что такой эффект CNTF развивает только при совместном воздействии на клетку ещё и FGF2 (фактора роста фибробластов 2). В данном случае FGF2 модулирует активность сигнального пути JAK/STAT, изменяя паттерны метилирования гистонов H3 в месте связы-

вания STAT, таким образом эпигенетически запуская работу промотора гена GFAP. Помимо этого, сама экспрессия CNTF может регулироваться другими белками, например SOX10: эксперименты на клеточных культурах с геном SOX10 под суперпромотором показали последующее увеличение концентрации CNTF более чем в сто раз.

Отдельного разбора заслуживает сигнальный путь JAK/STAT (Рис. 2). Связывание CNTF с рецепторным комплексом активирует киназу JAK, которая фосфорилирует STAT (signal transducer and activator of transcription – передатчик сигнала и активатор транскрипции, хорошее имя для белка). STAT в фосфорилированной форме димеризуется и проникает в ядро клетки, где изменяет уровень экспрессии генов. Кстати, данный механизм лежит в основе одного из интересных, клинически значимых эффектов CNTF *in vivo* – уменьшения объёма потребляемой пищи: в дугообразном ядре CNTF стимулирует образование ПОМК (проопиомеланокортина) и альфа-MSH (меланоцит-стимулирующий гормон), который является агонистом меланокортинового рецептора 4 типа (MC4R), чья активация ведёт к снижению потребления пищи.

Как я уже упоминал ранее, CNTF и его модифицированные версии пытались применять в клинике, в том числе и для лечения такого нейродегенеративного заболевания как боковой амиотрофический склероз. Однако CNTF – высокоиммуногенный белок, и его прямое введение провоцирует лихорадочные явления. Именно из-за этого его применение ограничено: компания Regeneron, разработавшая Ахокине (модифицированный CNTF без 15 аминокислот с С-конца и с двумя заменёнными аминокислотами; он показал себя в 3-5 раз более активным *in vitro*, чем чистый CNTF), обнаружила антитела к лекарственному веществу у более чем 70% добровольцев. Хотя у той группы людей, чьи организмы не вырабатывали антитела к этому белку, действительно произошло снижение веса – они потеряли в 3 раза больше, чем группа, получавшая плацебо. Гораздо позже другая компания – Хенсор – представила рекомбинантный аналог CNTF со сниженной иммуногенностью. Также учёными был предложен и испытан совершенно киберпанковский способ лечения пигментного ретинита с помощью генномодифицированных клеток, запрограммированных на выделение больших количеств CNTF, и их введения в глаза пациентов. Помимо этого, роль CNTF в развитии бокового амиотрофического склероза была глубже исследована группой немецких учёных, описавших семейный случай БАС. Их исследование началось после смерти 25-летнего пациента, умершего от крайне раннего и быстрого варианта этого заболевания: от первых симптомов и до смерти прошло лишь 11 месяцев. Результаты исследования генов, ответственных за развитие данного заболевания, выявили миссенс-мутацию гена SOD1. Помимо него самого, врачи также обратили внимание на здоровую 35-летнюю сестру и 54-летнюю мать, у которой были замечены ранние симптомы БАС, и у обеих

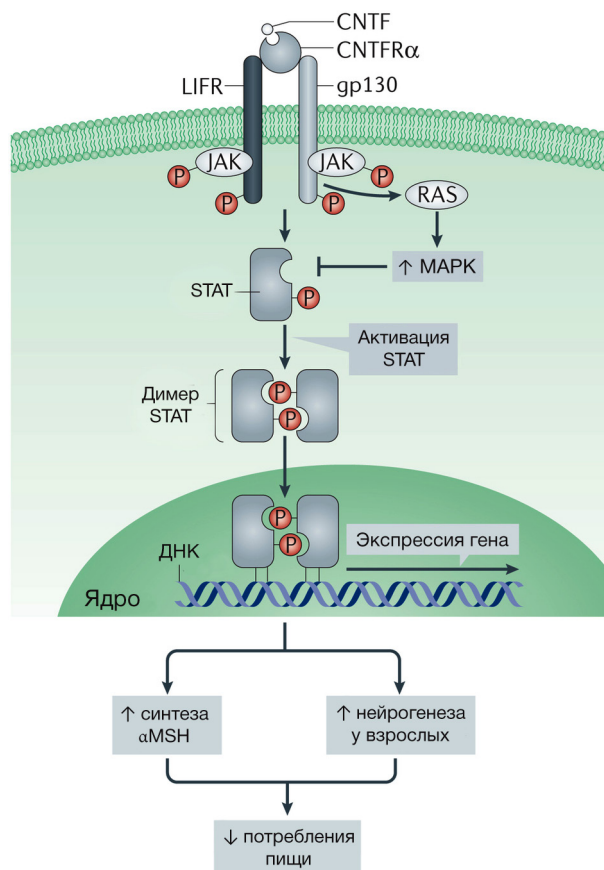


Рисунок 2 | Сигнальный путь JAK/STAT

была обнаружена та же самая мутация. Две сестры матери пациента (т.е. его тётки) также умерли от БАС в возрасте 43 и 56 лет соответственно. Бабушка и прабабушка пациента умерли в возрасте 62 и 50 лет от прогрессирующей мышечной атрофии (к сожалению, установить точную причину заболевания не представлялось возможным, но по описанной симптоматике это был тот же БАС). Как видно из приведённых цифр, этот случай семейного бокового амиотрофического склероза характеризовался поздним (50-60 лет) дебютом. Почему же пациент, с которого всё началось, умер в 25 лет? Анализ его генома выявил гетерозиготную мутацию гена CNTF, которая отсутствовала у других родственников, умерших от БАС. Таким образом, заключают авторы исследования, дефектный ген CNTF значительно ускорил наступление и развитие заболевания. Их выводы были подтверждены в опытах на двух группах мышей: первая была с похожей миссенс-мутацией гена SOD1, вторая – с той же миссенс-мутацией, а также гетерозиготным отсутствием CNTF. Относительное соотношение возраста мышей, в котором у разных групп развивался БАС, было схоже с наблюдаемым у человека. Однако более новые исследования заставляют усомниться в таком механизме, регулирующем возраст наступления симптомов заболевания: вполне возможно, в вышеописанном случае семейного БАС присутствовало взаимодействие трёх и более генов и дефицит CNTF выступил лишь триггером. На похожие мысли также могут натолкнуть данные другого исследования, но уже относительно роли CNTF в развитии рас-

сеянного склероза: 7 из 288 обследованных пациентов с этим заболеванием демонстрировали дефицит данного белка. Вроде бы статистически незначимая цифра, однако конкретно у этих 7 пациентов заболевание имело наиболее быстрое и раннее развитие (в среднем, дебют наблюдался в 17 лет). Также у этой группы CNTF-дефицитных пациентов не наблюдалось улучшения неврологических функций, которые, как правило, улучшаются после подавления аутоиммунной реакции. На основе данных этих наблюдений можно заключить, что мутации CNTF являются не столько источником неврологических заболеваний, сколько фактором, их утяжеляющим.

Что касается нарушений функций, связанных с мутациями гена CNTF, то тут можно упомянуть опыт с нокаутными мышами. У них наблюдалась быстрая прогрессирующая дегенерация моторных нейронов, достигшая своего пика на 6-7 неделе после рождения и, что закономерно, приведшая к смерти от дыхательного паралича. Для того, чтобы железно связать отсутствие CNTF и дегенерацию мотонейронов, исследователи вводили нокаутным мышам чистый CNTF и наблюдали замедление прогрессирования негативных изменений. Но опять же, обращение или остановка дегенерации мотонейронов в данном случае оказалась невозможной из-за высокой иммуногенности CNTF.

Также CNTF испытывался как потенциальный нейропротектор на животных моделях хореи Хантингтона. Животному вводились в полосатое тело генномодифицированные клетки почек хомяка, запрограммированные (как и в одном из вышеописанных опытов) на синтез CNTF. Спустя неделю туда же ввели модельный нейротоксин – хинолоновую кислоту, которая вызывает повреждения нервных клеток, схожие с теми, которые наблюдаются при болезни. Выяснилось, что человеческий CNTF (который является высококонсервативным белком и проявляет хорошую межвидовую кросс-реактивность) повысил выживаемость ГАМКергических, холинэргических и диафораз-позитивных нейронов полосатого тела. Кроме того, он предотвратил гибель нейронов V слоя моторной коры и ГАМКергических нейронов бледного шара; также была отмечена повышенная выживаемость тех же ГАМКергических нейронов в *pars reticulata* чёрного вещества. Вышеупомянутые типы нейронов и структуры мозга первыми поражаются при хорее Хантингтона, следовательно, CNTF имеет неплохие шансы в качестве нейропротективного вещества при данном заболевании.

Генетические исследования роли CNTF у людей открыли интересный факт: 2,3% этнических японцев гетерозиготны по неактивному варианту гена этого белка. При такой версии гена транскрибируемая мРНК является нестабильной и быстро разрушается в процессе сплайсинга. Интересно, что такая мутация не вызывает каких-либо неврологических, поведенческих или когнитивных отклонений. Учёные предположили существование компенсаторного механизма, позволяющего CNTF-дефицитным клеткам

хранить этот белок про запас и секретировать его в случае стресса или повреждения.

Нейрегулины

Это довольно внушительный класс белков, так же, как и остальные нейротропные белки, участвующий в процессах развития и функционирования нервной системы. Отличительной особенностью нейрегулинов является то, что их функции нервной системой не ограничиваются: они также регулируют развитие, например, кардиомиоцитов.

Нейрегулины, как и остальные подобные белки, относятся к огромному семейству факторов роста. Однако их механизмы действия и рецепторы отличны от тех сигнальных веществ, которые уже удостоились описания. В основном они осуществляют своё действие через рецепторы эпидермального фактора роста ErbB 2, ErbB 3 и ErbB 4.

Нейрегулин-1

Он же NRG-1. И он заслуживает пристального рассмотрения благодаря тому, что в организме он присутствует в нескольких изоформах за счёт альтернативного сплайсинга. Изначально он был идентифицирован в качестве лиганда ERBB-2 рецептора. Позже были обнаружены сходные с ним по составу херегулины (HRG), глиальный фактор роста (GGF-2) и фактор чувствительных и моторных нейронов (SMDF), которые оказались лишь его изоформами. В своей структуре нейрегулин-1 содержит Ig-подобный и EGF-подобный домены, однако их состав может отличаться в зависимости от изоформы. Например, GGF-2 содержит также дополнительный домен в виде двойной петли, скреплённой тремя дисульфидными мостиками, а SMDF в результате альтернативного сплайсинга похож на другие изоформы лишь составом EGF-подобного домена.

Различные изоформы обладают различной тканевой специфичностью. Таким образом, нейрегулин-1 влияет на развитие не только нейронов, но и эпителиальных и глиальных клеток.

Изоформы NRG-1 осуществляют своё действие через рецепторы ErbB-3 и ErbB-4. Для активации ErbB-3 необходима димеризация, которая проис-

Таблица 1 | В настоящее время всего известно 6 изоформ NRG-1

Тип	Используемые названия (если имеются)
I	Херегулин, NDF, ARIA — acetylcholine receptor inducing activity (название получено благодаря способности повышать плотность рецепторов ацетилхолина)
II	GGF2
III	SMDF
IV	-
V	-
VI	-

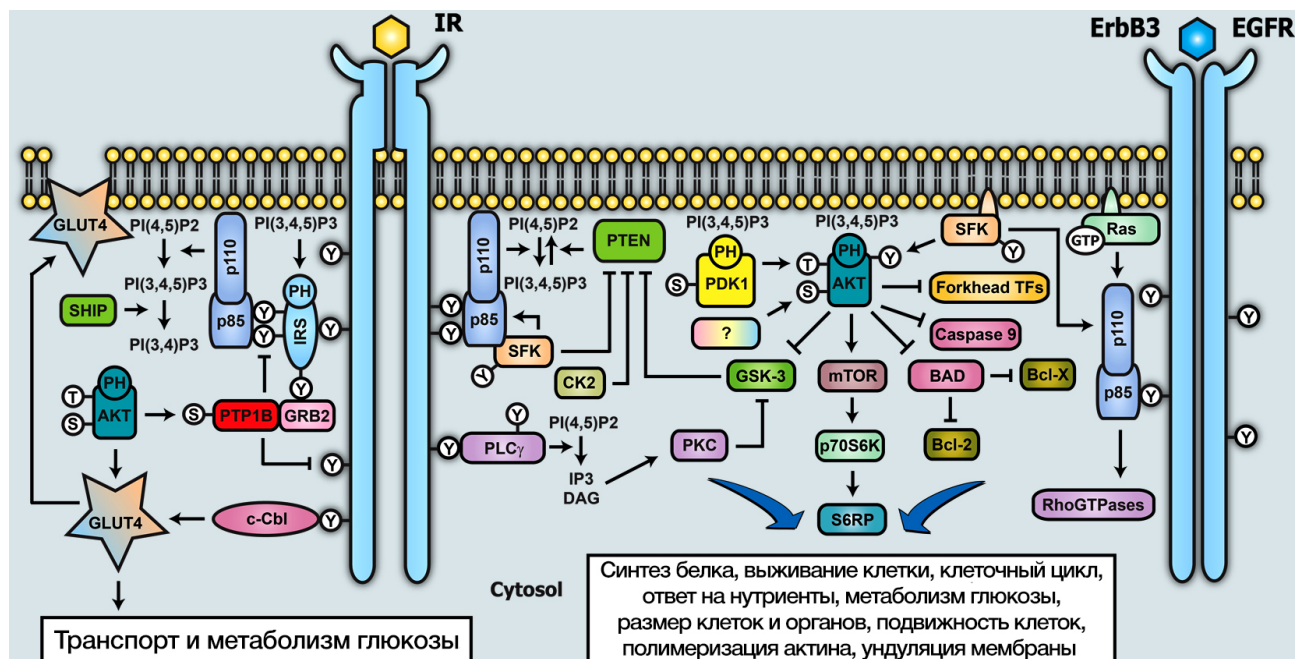


Рисунок 3 | Схема работы NRG-1/ErbB3-комплекса с рецептором ErbB3

ходит после связывания с NRG-1, однако рецептор не способен формировать функциональные гомодимеры, т.е. комплексы NRG-1/ErbB3/ErbB3, так как в данном случае невозможно перекрёстное фосфорилирование, необходимое для дальнейшего запуска внутриклеточного сигнального пути, и, соответственно, функциональными будут только димеры NRG-1/ErbB3-комплекса с любым другим рецептором ErbB. Схематично это выглядит так: активный рецептор запускает работу киназы SFK, которая запускает работу протеинкиназы B (PKB, она же – Akt). PKB, в свою очередь, влияет путём фосфорилирования на работу нескольких жизненно важных белков: первым делом блокируется BAD, один из белков-психопатов, которые, если не будут заблокированными в норме, запустят процесс апоптоза; затем наступает очередь каспазы 9, которая, собственно, апоптоз и осуществляет. Однако затем, если отбросить побочные сигнальные пути, начинается самое интересное – активация mTOR (mammalian target of rapamycin – мишень рапамицина у млекопитающих), запускающего работу протеинкиназы P70 S6, которая фосфорилирует S6RP – рибосомальный протеин, обладающий множеством функций, в том числе и относительно клеточного цикла, выживаемости и дифференциации.

В этом примере рассмотрены лишь эффекты от взаимодействия NRG-1 с ErbB3. Я считаю целесообразным забежать немного вперёд и объяснить работу ErbB-рецепторов в целом (Рис. 4). Из схемы видно, что существуют три различных димерных комплекса: ErbB2/ErbB4 может связывать все NRG (1, 2, 3 и 4), ErbB2/ErbB3 может связывать только NRG 1 и 2, гомодимер ErbB4/ErbB4 – он также может связываться со всеми NRG. Как часто бывает, их общие сигнальные пути пересекаются. Во всех случаях они ведут к активации транскрипционных факторов, запускающих работу жизненно важных для клетки генов.

Закончив такое лёгкое лирическое отступление, будет целесообразно вернуться к описанию функций отдельных нейрегулинов, а точнее продолжить разговор о роли NRG-1. Например, доказана роль мутаций гена данного белка в патогенезе шизофрении: при посмертном исследовании мозга больных шизофренией, у носителей данной мутации было обнаружено недоразвитие дендритных шипиков. Помимо этого был обнаружен специфический однонуклеотидный полиморфизм SNP8NRG243177, при котором также имеется повышенный риск развития шизофрении. Он характеризуется смещением сплайсинга мРНК NRG-1 в сторону чрезмерного преобладания IV-изоформы. Кстати, конкретно эта форма шизофрении, согласно опытам на животных, больше всего восприимчива к лечению атипичным нейролептиком клозапином.

Интересно, что у ГАМКергических нейронов миндалевидного тела были обнаружены рецепторные комплексы к NRG-1. При воздействии на такой нейрон этот белок запускал процессы повышения плотности ГАМК-рецепторов, соответственно, у клеток повышалась чувствительность к самой эндогенной ГАМК. Это предположение было проверено в опыте на мышах, которым вводили NRG-1 прямо в миндалевидное тело, что приводило к видимым анксиолитическим эффектам.

Также показано, что один из альтернативных вариантов нейрегулина-1 (III изоформа) запускает процессы миелинизации в нервной системе путём активации олигодендроцитов. Причём активация олигодендроцитов в моделях на животных происходила лишь у взрослых и старых мышей, но не у новорождённых (т.к. у них некоторая часть олигодендроцитов представлена ещё клетками-предшественниками).

Возможно, что сбой процессов миелинизации в уже описанном случае смещения альтернативного сплайсинга с третьей на четвёртую изоформу мо-

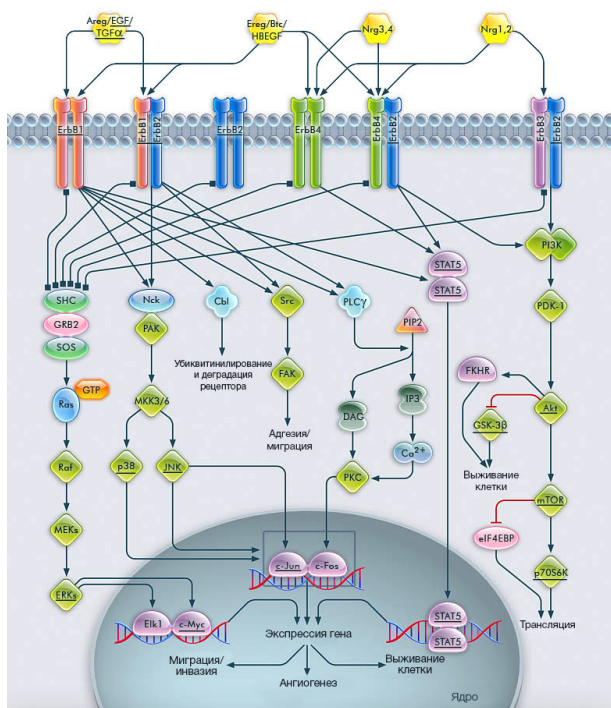


Рисунок 4 | Схема работы ErbB-рецепторов

жет быть причиной некоторых случаев психических расстройств. На данный момент, помимо шизофрении, с мутациями в нейрегулине-1 связывают также и болезнь Альцгеймера, точнее, семейные генетически обусловленные случаи, в которых у больных часто возникает состояние психоза.

Помимо ЦНС, нейрегулин-1 также активен и в других системах организма. Например, в сердечно-сосудистой системе нейрегулин-1 является защитным фактором при хронической сердечной недостаточности. Интересно, что в кардиомиоцитах он запускает экспрессию не просто анти-апоптотических факторов, а именно «кардиоспецифичных» белков, например ионной помпы SERCA2, регулирующей гомеостаз кальция в клетках сердца. Помимо этого, нейрегулин-1 повышает в кардиомиоцитах уровень фокальной адгезивной киназы (FAK), играющей одну из ключевых ролей в поддержании структуры сердца и сосудов. Конкретно в кардиомиоцитах FAK необходима для синхронного изменения потенциала, и, как это уже понятно логически, для синхронного сокращения. Нейрегулин-1 также выполняет важную функцию по защите кардиомиоцитов от стрессовых факторов (т.е. токсинов, гипоксии, АФК). Суть в том, что клетки сердца эмбриона способны к регенеративной пролиферации без явления сердечной гипертрофии, а вот во взрослом организме сердце склонно именно к гипертрофии с нарушениями проводимости, и в таком случае кардиомиоциты выгоднее сохранять с помощью нейрегулина, а не замещать. Помимо FAK и SERCA2 нейрегулин-1 также повышает уровень кардиоспецифичной киназы лёгких цепей миозина, cMLCK. В опытах на крысах с модельной хронической сердечной недостаточностью рекомбинантный нейрегулин (rhNRG-1) повышал уровень cMLCK, что

выражалось в улучшении сердечной сократимости и снижении видимых симптомов ХСН. Суммируя вышесказанное, можно заявить, что в клетках сердца нейрегулин-1 выполняет сразу несколько функций: сохраняет и поддерживает структуру кардиомиоцитов за счёт увеличения уровня FAK, защищает кардиомиоциты от апоптоза, улучшает проводимость вследствие увеличения экспрессии SERCA2 и уменьшения уровня протеинфосфатазы-1. Опыты на животных также показали важность правильных изоформ нейрегулина-1 в процессе эмбрионального развития, например генно-инженерные мыши, у которых весь нейрегулин-1 содержал Ig-подобные домены, умирали ещё в процессе внутриутробного развития от дефектов, связанных с неправильной закладкой сердечной мышцы, причём умирали на 12-й день – в то время, когда «окно чувствительности» клеток к нейрегулину-1 закрылось и дальнейшее развитие уже происходило с серьёзными нарушениями. Дальнейшие опыты, в которых нейрегулин-1 у трансгенных мышей был представлен лишь формой CRD-NRG1 (т.е. весь нейрегулин-1 содержал домены, богатые цистеином), показали, что мыши способны выжить, у них наблюдалось нормальное развитие сердечно-сосудистой системы, однако наблюдались и проблемы с нервной. Несмотря на то что закладка хода нервов происходила нормально, нервно-мышечные контакты развились неправильно, также гистологический анализ выявил дефицит шванновских клеток. Дальнейшие опыты в этом направлении привели к обнаружению альтернативного пути формирования нервно-мышечных контактов: у мышей, нокаутных на этот раз не по нейрегулину-1, а по его рецепторам (ErbB2 и ErbB4), всё равно нервно-мышечные контакты формировались! Пусть и в меньшей плотности. Было выяснено, что в данном случае работал белок агрин, чья функция окончательно была установлена именно в этом эксперименте.

Стоит рассмотреть роль нейрегулина-1 и в таком заболевании как миодистрофия Дюшена. Причиной данного заболевания является отсутствие белка дистрофина. Однако у человека имеется белок утrophин – он структурно и функционально схож с дистрофином и может частично компенсировать его функции при отсутствии. Транскрипция утrophина частично регулируется теми же сигнальными путями, на которые влияет нейрегулин-1. Таким образом, повышение уровня нейрегулина-1 может быть использовано в качестве защитного механизма против миодистрофии Дюшена. К таким же выводам пришла и группа учёных, создавших олигопептид, повторяющий EGF-мотив нейрегулина-1. В своих опытах они вводили данный пептид дистрофин-нокаутным мышам (т.е. страдающим от модельной миодистрофии), и в течение трёх месяцев наблюдалось значительное улучшение их неврологического статуса. Такой подход, по мнению исследователей, является более предпочтительным, чем классическая «низкомолекулярная» фармакотерапия и дорогостоящая генотерапия.

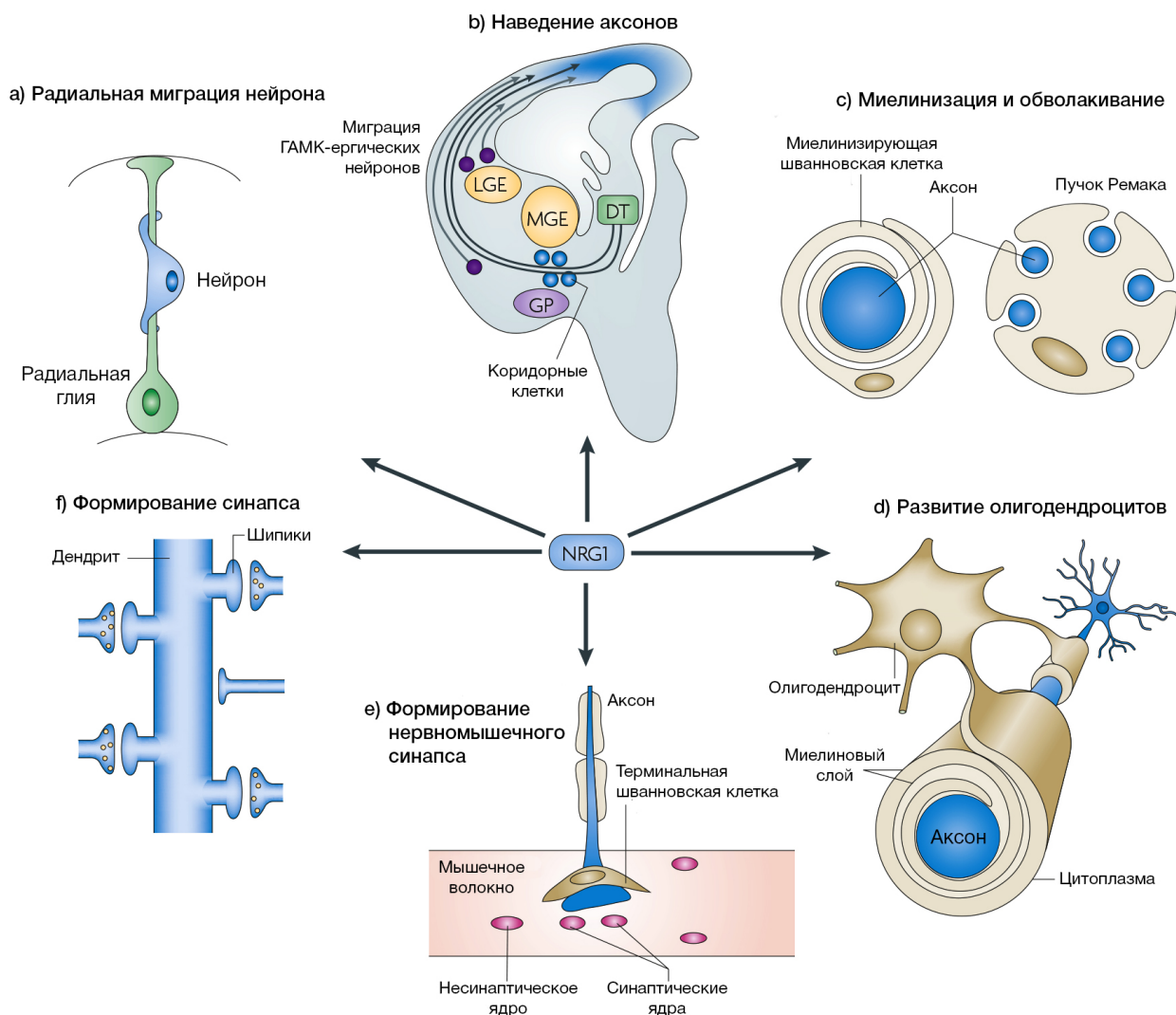


Рисунок 5 | Роль нейрегулина-1

Нейрегулин-2

Этот белок структурно очень близок к нейрегулину-1, однако функционально они не совсем близки. Например, одна из изоформ нейрегулина-2 оказывает тормозящее воздействие на ангиогенез, а его высокие уровни являются маркером негативного прогноза при раке молочной железы. Его функции в норме изучены недостаточно, однако исследования классическим методом нокаута гена показали лишь незначительные изменения по сравнению с нейрегулином-1: нейрегулин-2-нокаутные мыши не умирали от нарушения развития сердца и рождались практически здоровыми. Проблемы начинались лишь при выходе мышей из младенческого возраста – на данном этапе смертность возрастала на 34%, замедлялись процессы развития и роста, в дальнейшем обнаруживалось частичное бесплодие. Интересно, что в тканях, в которых у здоровых мышей присутствует высокий уровень нейрегулина-2, у нокаутных не было отмечено никаких гистологических изменений.

У человека мутация в гене нейрегулина-2 связывается с болезнью Шарко-Мари-Тута, сенсорно-моторной нейропатией, сопровождающейся также атрофией мышц. К большому сожалению, данный

белок всё-таки очень мало изучен.

Нейрегулин-3

Этот белок также имеет большое структурное сходство с нейрегулином-1, более того, их EGF-домен практически идентичен, т.е. они имеют равную активность в отношении ErbB4-рецепторов. Так же, как и остальные нейрегулины, нейрегулин-3 участвует в развитии нервной системы. Конкретно этот контролирует развитие нервов в кишечнике: при мутациях, делающих нейрегулин-3 нефункциональным, появляется врождённое заболевание толстого кишечника – болезнь Гиршпрунга. Данное заболевание характеризуется полной атонией толстой кишки из-за нарушения развития нервов, контролирующих сокращения мышц. Однако справедливости ради стоит отметить, что в этом заболевании также бывают «повинны» и мутации других нейротропных факторов, например NRTN, GDNF и так далее.

Кроме того, в норме нейрегулин-3 участвует в механизмах рабочей памяти. Идентифицированы даже особые SNP, которые увеличивают активацию перифронтальной коры во время заданий, задействующих рабочую память, но одновременно также и увеличи-

вают риск шизофрении. Причём, что тоже интересно, у пациентов с шизофренией различные варианты нейрегулина-3 влияют на внимательность и усидчивость, чего не наблюдается у здоровых людей. Опять же, как и в случае нейрегулина-1, уровни различных изоформ нейрегулина-3 изменены при шизофрении: при данном заболевании количество I изоформы нейрегулина-3 в лобной доле коры больших полушарий увеличено на 40% по сравнению со здоровыми, а количество IV изоформы – на целых 50%.

Касательно нейропротекторной функции, нейрегулин-3 также схож с другими представителями белков этой группы: в опытах на клеточных культурах он увеличивал выживаемость олигодендроцитов при дефиците питательных веществ, но не оказывал никакого действия на незрелые клетки-предшественники этих олигодендроцитов.

Также ген этого белка интересен и своей эволюцией: согласно исследованиям по теме эволюционной генетики, NRG3 человеческих популяций Евразии имеет большее сходство с аналогичным геном неандертальца, чем вариант NRG3 из популяций коренных народов южной Африки. На основе полученных данных исследователи заключили, что неандертальские версии NRG3 и ещё некоторых белков, влияю-

щих на функционирование нервной системы и поведение, так широко распространились по Евразии благодаря положительному отбору.

Нейрегулин-4

А вот с этим нейрегулином ситуация интересная: как я уже выше упоминал, повышенная экспрессия нейрегулина-2 является маркером негативного прогноза при раке молочной железы, но в данном случае, в случае нейрегулина-4 и рака мочевого пузыря, ситуация становится полностью обратной, т.е. повышенный уровень нейрегулина-4, ErbB3 и ErbB4 является маркером прогноза благоприятного. Также при стеатозе печени нейрегулин-4 выступает защитным фактором.

Заключение

Конечно же, это не все нейротропные факторы – их намного больше. Скорее всего, следующие статьи цикла о пептидных и белковых сигнальных веществах будут посвящены не только целым группам регуляторных белков (например эфринам), а отдельным, интересным, но малоизвестным, но от этого не менее важным, представителям.

Список литературы

1. <http://biogps.org/#goto=genereport&id=1270>
2. <http://lsresearch.thomsonreuters.com/maps/2231/>
3. Vergara C, Ramirez B «CNTF, a pleiotropic cytokine: emphasis on its myotrophic role». Brain research. Brain research reviews. 2004 Dec;47(1-3):161-73
4. Park K, Luo JM, Hisheh S, Harvey AR, Cui Q Cellular mechanisms associated with spontaneous and ciliary neurotrophic factor-cAMP-induced survival and axonal regeneration of adult retinal ganglion cells. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 2004 Dec 1;24(48):10806-15
5. Aki T, Mizukami Y, Oka Y, Yamaguchi K, Uemura K, Fujimiya T, Yoshida K Phosphoinositide 3-kinase accelerates necrotic cell death during hypoxia. The Biochemical journal 2001 Sep 1;358(Pt 2):481-7
6. Song, M.-R., Ghosh, A. FGF2-induced chromatin remodeling regulates CNTF-mediated gene expression and astrocyte differentiation. Nature Neurosci. 7: 229-235, 2004. [PubMed: 14770186]
7. Ito, Y., Wiese, S., Funk, N., Chittka, A., Rossoll, W., Bommel, H., Watabe, K., Wegner, M., Sendtner, M. Sox10 regulates ciliary neurotrophic factor gene expression in Schwann cells. Proc. Nat. Acad. Sci. 103: 7871-7876, 2006. [PubMed: 16684879, images]
8. Lambert PD, Anderson KD, Sleeman MW, Wong V, Tan J, Hjarunguru A, Corcoran TL, Murray JD, Thabet KE, Yancopoulos GD, Wiegand SJ (2001). «Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity». Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (8): 4652–7. doi:10.1073/pnas.061034298. PMC 31889. PMID 11259650.
9. «Axokine from Regeneron (REGN): Unexpected Antibodies and Modest Efficacy in Phase III Study». Press Release. Regeneron Pharmaceuticals. 2003-03-31. Retrieved 2011-08-20.
10. US application 2005064555, Marshall S, Barbosa M, «Ciliary neurotrophic factor variants», published 2005-03-24
11. Talcott KE, Ratnam K, Sundquist SM, Lucero AS, Lujan BJ, Tao W, Porco TC, Roorda A, Duncan JL (April 2011). «Longitudinal study of cone photoreceptors during retinal degeneration and in response to ciliary neurotrophic factor treatment». Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 52 (5): 2219–26. doi:10.1167/iovs.10-6479. PMC 3080173. PMID 21087953.
12. Giess, R., Holtmann, B., Braga, M., Grimm, T., Muller-Myhsok, B., Toyka, K. V., Sendtner, M. Early onset of severe familial amyotrophic lateral sclerosis with a SOD-1 mutation: potential impact of CNTF as a candidate modifier gene. Am. J. Hum. Genet. 70: 1277-1286, 2002. [PubMed: 11951178, images]
13. Al-Chalabi, A., Scheffler, M. D., Smith, B. N., Parton, M. J., Cudkowicz, M. E., Andersen, P. M., Hayden, D. L., Hansen, V. K., Turner, M. R., Shaw, C. E., Leigh, P. N., Brown, R. H., Jr. Ciliary neurotrophic factor genotype does not influence clinical phenotype in amyotrophic lateral sclerosis. Ann. Neurol. 54: 130-134, 2003. [PubMed: 12838531]
14. Giess, R., Maurer, M., Linker, R., Gold, R., Warmuth-Metz, M., Toyka, K. V., Sendtner, M., Rieckmann, P. Association of a null mutation in the CNTF gene with early onset of multiple sclerosis. Arch. Neurol. 59: 407-409, 2002. [PubMed: 11890844]
15. Sendtner, M., Schmalbruch, H., Stockli, K. A., Carroll, P., Kreutzberg, G. W., Thoenen, H. Ciliary neurotrophic factor



- prevents degeneration of motor neurons in mouse mutant progressive motor neuronopathy. *Nature* 358: 502-504, 1992. [PubMed: 1641039]
16. Emerich, D. F., Winn, S. R., Hantraye, P. M., Peschanski, M., Chen, E.-Y., Chu, Y., McDermott, P., Baetge, E. E., Kordower, J. H. Protective effect of encapsulated cells producing neurotrophic factor CNTF in a monkey model of Huntington's disease. *Nature* 386: 395-399, 1997. [PubMed: 9121555]
 17. Takahashi, R., Yokoji, H., Misawa, H., Hayashi, M., Hu, J., Deguchi, T. A null mutation in the human CNTF gene is not causally related to neurological diseases. *Nature Genet.* 7: 79-84, 1994. Note: Erratum: *Nature Genet.* 7: 215 only, 1994. [PubMed: 8075647]
 18. Steinhorsdottir V, Stefansson H, Ghosh S, Birgisdottir B, Bjornsdottir S, Fasquel AC, Olafsson O, Stefansson K, Gulcher JR (November 2004). «Multiple novel transcription initiation sites for NRG1». *Gene* 342 (1): 97-105. doi:10.1016/j.gene.2004.07.029. PMID 15527969.
 19. Barros CS, Calabrese B, Chamero P, Roberts AJ, Korzus E, Lloyd K, Stowers L, Mayford M, Halpain S, Müller U (February 2009). «Impaired maturation of dendritic spines without disorganization of cortical cell layers in mice lacking NRG1/ErbB signaling in the central nervous system». *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106 (11): 4507-4512. doi:10.1073/pnas.0900355106. PMC 2657442. PMID 19240213.
 20. Law AJ, Lipska BK, Weickert CS, Hyde TM, Straub RE, Hashimoto R, Harrison PJ, Kleinman JE, Weinberger DR (April 2006). «Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease». *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103 (17): 6747-52. doi:10.1073/pnas.0602002103. PMC 1458952. PMID 16618933.
 21. Stefansson, H., Sigurdsson, E., Steinhorsdottir, V., Bjornsdottir, S., Sigmundsson, T., Ghosh, S., Brynjolfsson, J., Gunnarsdottir, S., Ivarsson, O., Chou, T. T., Hjaltason, O., Birgisdottir, B., and 26 others. Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am. J. Hum. Genet.* 71: 877-892, 2002.
 22. Bi LL, Sun XD, Zhang J, Lu YS, Chen YH, Wang J, Geng F, Liu F, Zhang M, Liu JH, Li XW, Mei L, Gao TM (2014). «Amygdala NRG1-ErbB4 is Critical for the Modulation of Anxiety-Like Behaviors». *Neuropsychopharmacology*. doi:10.1038/npp.2014.274. PMID 25308353.
 23. Taveggia C, Thaker P, Petrylak A, Caporaso GL, Toews A, Falls DL, Einheber S, Salzer JL (2008). «Type III neuregulin-1 promotes oligodendrocyte myelination». *Glia* 56 (3): 284-93. doi:10.1002/glia.20612. PMID 18080294.
 24. Fernandez, P.-A., Tang, D. G., Cheng, L., Prochiantz, A., Mudge, A. W., Raff, M. C. Evidence that axon-derived neuregulin promotes oligodendrocyte survival in the developing rat optic nerve. *Neuron* 28: 81-90, 2000.
 25. Go, R. C. P., Perry, R. T., Wiener, H., Bassett, S. S., Blacker, D., Devlin, B., Sweet, R. A. Neuregulin-1 polymorphism in late onset Alzheimer's disease families with psychoses. *Am. J. Med. Genet.* 139B: 28-32, 2005.
 26. Xu Y, Li X, Liu X, Zhou M (2010). «Neuregulin-1/ErbB signaling and chronic heart failure». *Adv. Pharmacol. Advances in Pharmacology* 59: 31-51. doi:10.1016/S1054-3589(10)59002-1. ISBN 9780123849038. PMID 20933198.
 27. Bersell K, Arab S, Haring B, Kühn B (July 2009). «Neuregulin1/ErbB4 signaling induces cardiomyocyte proliferation and repair of heart injury». *Cell* 138 (2): 257-70. doi:10.1016/j.cell.2009.04.060. PMID 19632177.
 28. MacDougall LK, Jones LR, Cohen P (March 1991). «Identification of the major protein phosphatases in mammalian cardiac muscle which dephosphorylate phospholamban». *Eur. J. Biochem.* 196 (3): 725-34. doi:10.1111/j.1432-1033.1991.tb15871.x. PMID 1849481.
 29. Wolpowitz, D., Mason, T. B. A., Dietrich, P., Mendelsohn, M., Talmage, D. A., Role, L. W. Cysteine-rich domain isoforms of the neuregulin-1 gene are required for maintenance of peripheral synapses. *Neuron* 25: 79-91, 2000.
 30. Escher, P., Lacazette, E., Courtet, M., Blindenbacher, A., Landmann, L., Bezakova, G., Lloyd, K. C., Mueller, U., Brenner, H. R. Synapses form in skeletal muscles lacking neuregulin receptors. *Science* 308: 1920-1923, 2005.
 31. Krag, T. O. B., Bogdanovich, S., Jensen, C. J., Fischer, M. D., Hansen-Schwartz, J., Javazon, E. H., Flake, A. W., Edvinsson, L., Khurana, T. S. Heregulin ameliorates the dystrophic phenotype in mdx mice. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 101: 13856-13860, 2004.
 32. *Ann Oncol.* 2008 Jan;19(1):73-80. Epub 2007 Oct 24. ErbB/HER ligands in human breast cancer, and relationships with their receptors, the bio-pathological features and prognosis. Révillion F1, Lhotellier V, Hornez L, Bonnetterre J, Peyrat JP.
 33. Ring, H. Z., Chang, H., Guilbot, A., Brice, A., LeGuern, E., Francke, U. The human neuregulin-2 (NRG2) gene: cloning, mapping and evaluation as a candidate for the autosomal recessive form of Charcot-Marie-Tooth disease linked to 5q. *Hum. Genet.* 104: 326-332, 1999
 34. *J Neurosci.* 2014 Jan 15;34(3):1051-6. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3496-13.2014. Effects of neuregulin 3 genotype on human prefrontal cortex physiology.
 35. Tost H1, Callicott JH, Rasetti R, Vakkalanka R, Mattay VS, Weinberger DR, Law AJ. [35 *Mol Psychiatry*. 2011 Aug;16(8):860-6. doi: 10.1038/mp.2010.70. Epub 2010 Jun 15. Neuregulin 3 (NRG3) as a susceptibility gene in a schizophrenia subtype with florid delusions and relatively spared cognition. Morar B1, Dragović M, Waters FA, Chandler D, Kalaydjieva L, Jablensky A.
 36. Green, R. E., Krause, J., Briggs, A. W., Maricic, T., Stenzel, U., Kircher, M., Patterson, N., Li, H., Zhai, W., Fritz, M. H.-Y., Hansen, N. F., Durand, E. Y., and 44 others. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science* 328: 710-722, 2010.
 37. Memon AA, Sorensen BS, Melgard P, Fokdal L, Thykjaer T, Nexø E (December 2004). «Expression of HER3, HER4 and their ligand heregulin-4 is associated with better survival in bladder cancer patients». *Br. J. Cancer* 91 (12): 2034-41. doi:10.1038/sj.bjc.6602251. PMC 2409781. PMID 15583696.
 38. *Metabolism.* 2015 Dec;64(12):1667-73. doi: 10.1016/j.metabol.2015.08.013. Epub 2015 Aug 28.
 39. A case-control study: Association between serum neuregulin 4 level and non-alcoholic fatty liver disease. Dai YN1, Zhu JZ1, Fang ZY1, Zhao DJ2, Wan XY1, Zhu HT1, Yu CH1, Li YM3.