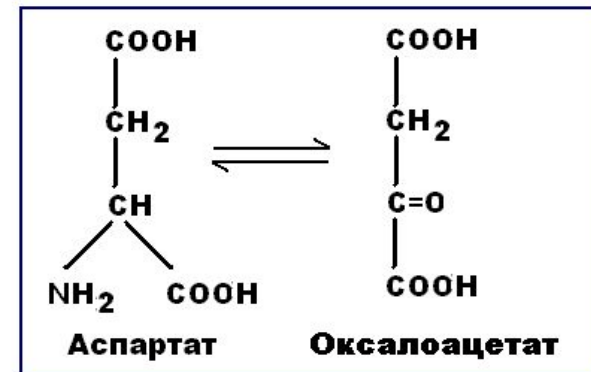
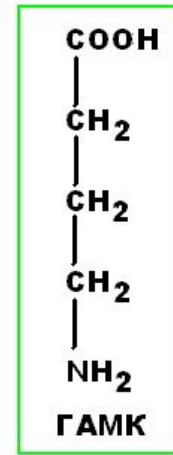
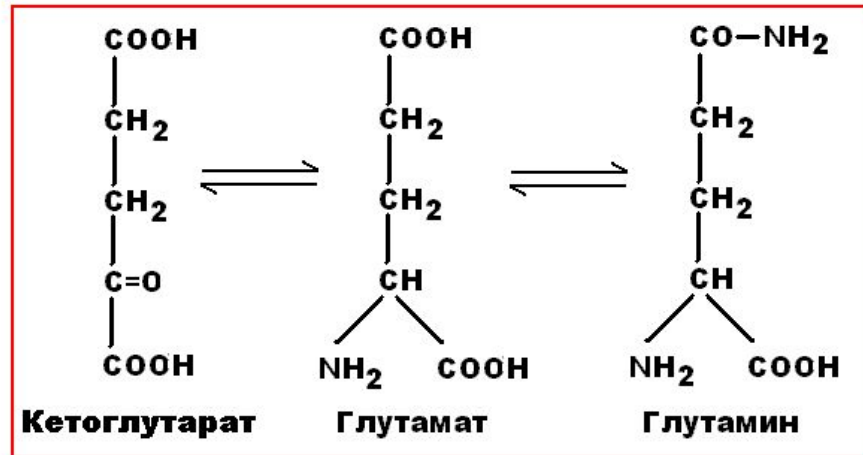


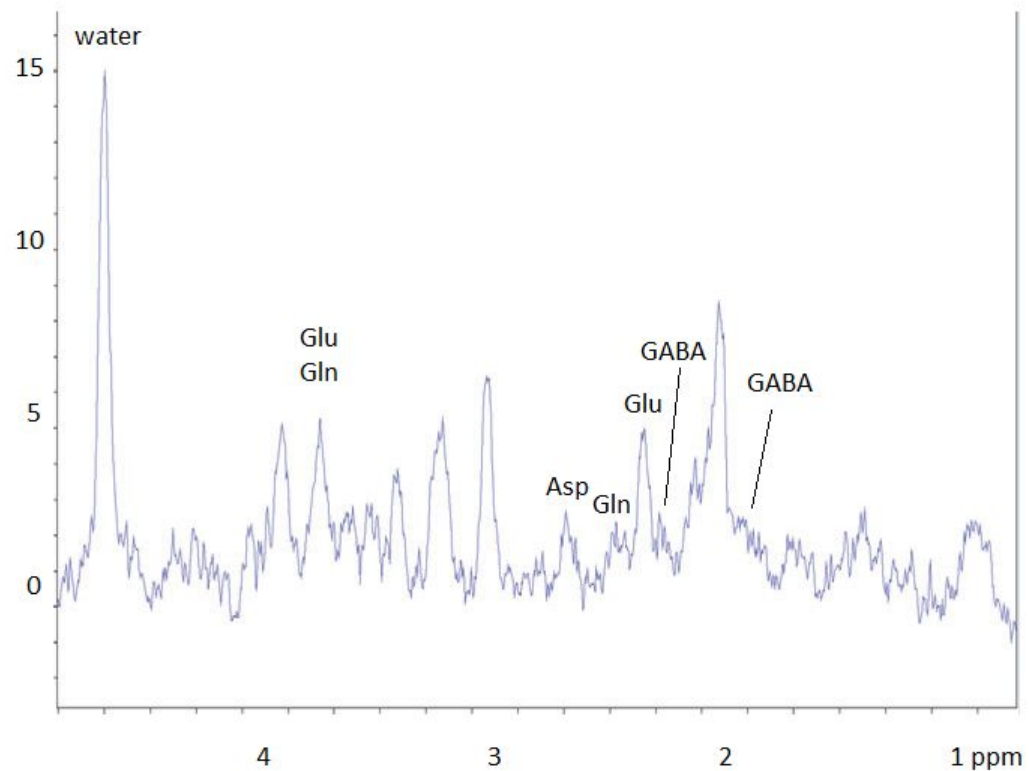
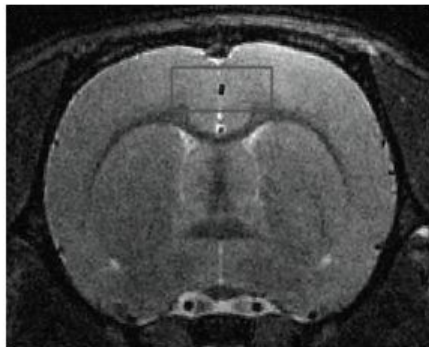
Молекулярные механизмы регуляции
поведения
Лекция 4
Аминокислоты как медиаторы.
Ацетилхолин

Глутамат, аспартат и ГАМК



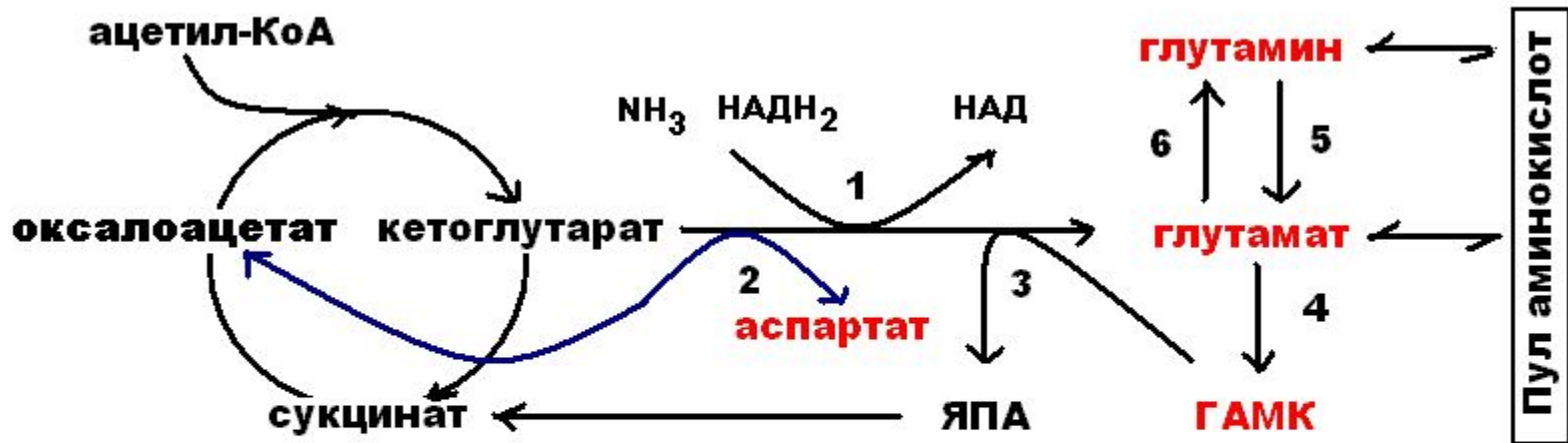
- Составляют 50% пула свободных аминокислот мозга
- Концентрация глутамата в 4 раза выше, чем ГАМК.
- Глутамат является метаболическим предшественником ГАМК.
- Выполняют противоположные функции в мозге: возбуждение – глутамат и аспартат; торможение – ГАМК.

In vivo определение глутамата и ГАМК с помощью ЯМР-спектроскопии



Shevelev et al., 2015

Метаболизм глутамата, аспартата и ГАМК



1 - глутаматдегидрогеназа

2 - аспартатаминотрансфераза

3 - трансаминаза ГАМК

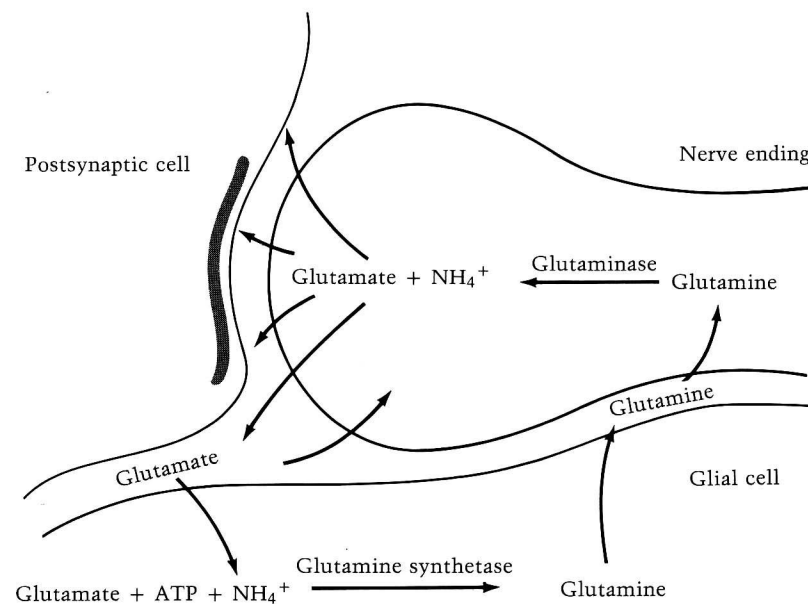
4 - глутаматдекарбоксилаза

5 - глутаминаза

6 - глутаминсинтетаза

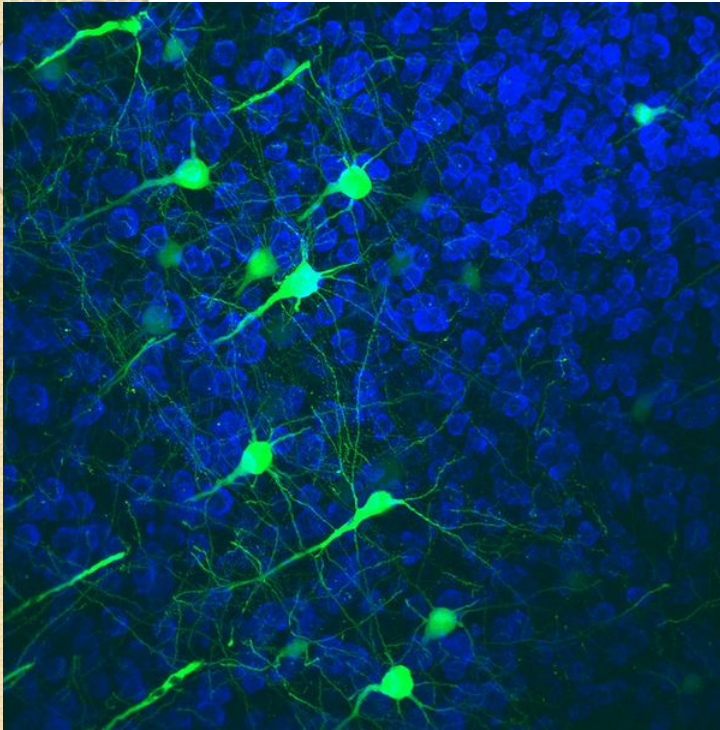
- 1. глутаматдегидрогеназа (КФ.1.4.1.3), 2. аспартатаминотрансфераза (КФ.3.6.1.1), 3. трансаминаза ГАМК, 4. глутаматдекарбоксилаза (КФ.4.1.1.15), 5. глутаминаза (КФ.3.5.1.2), 6. глутаминсинтетаза (КФ.6.3.1.2).

Медиаторный пул глутамата



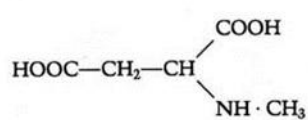
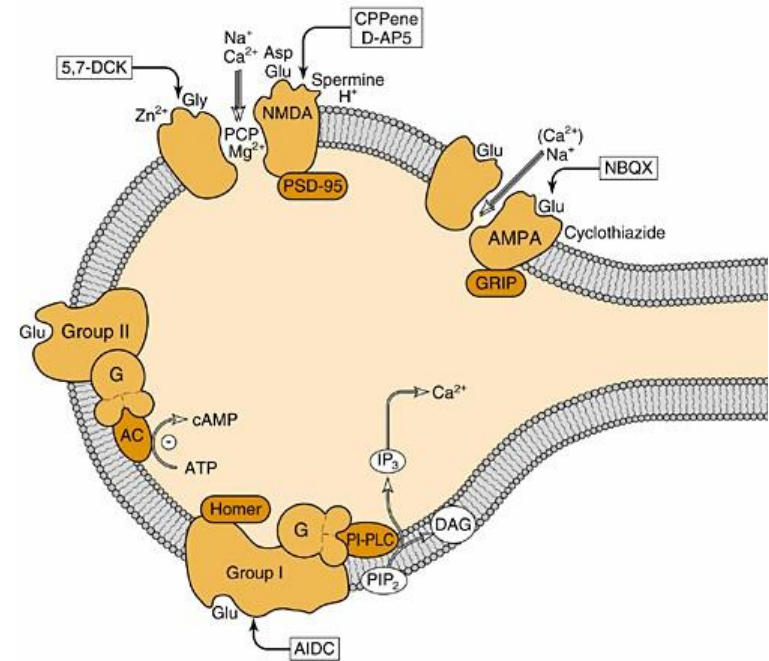
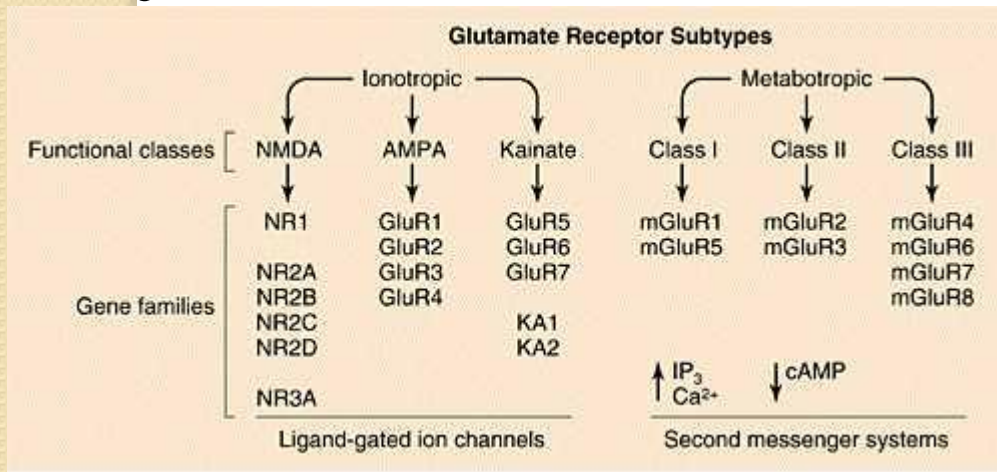
- С помощью использования меченых d-глюкозы и глутамина показано, что 80% медиаторного пула глутамата происходит из глутамина.
- Фермент глутаминаза дезаминирует глутамин до глутамата, который накапливается в везикулах и секретируется в синаптическую щель.
- Секретированный глутамат захватывается в нейрон или глию с помощью белка-транспортера.
- В глиальных клетках глутаминсинтетаза (КФ.3.6.1.1) аминировать глутамат в присутствии ионов аммония и АТФ до глутамина, который возвращается в глутаматэргический нейрон.
- Ключевой фермент – глутаминаза (КФ.3.5.1.2) состоит из двух субъединиц по 64 кД каждая. Активность регулируется глутаматом по принципу обратной связи.

Глутаматэргическая система мозга

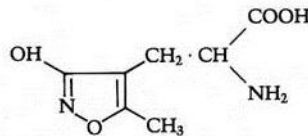


- Глутаматэргические нейроны используют глутамат и аспартат в качестве медиаторов.
- Глутаматэргические нейроны – глобальная возбуждающая система мозга.
- Для картирования глутаматной системы используют глутаминазу, рецепторы, транспортер и антитела к глутамату.
- В мозге глутаматные нейроны встречаются повсеместно. Это пирамидальные нейроны коры и гиппокампа, нейроны черного вещества.

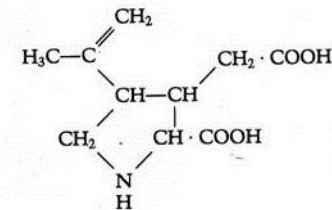
Рецепторы глутамата



N-Methyl-D-aspartic acid (NMDA)



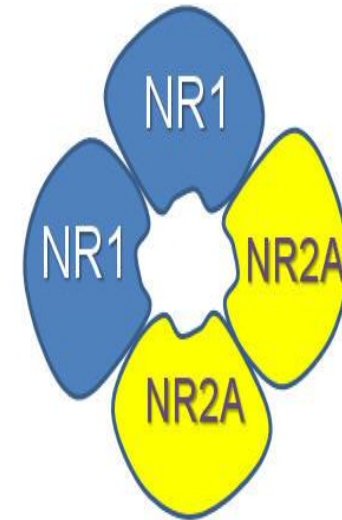
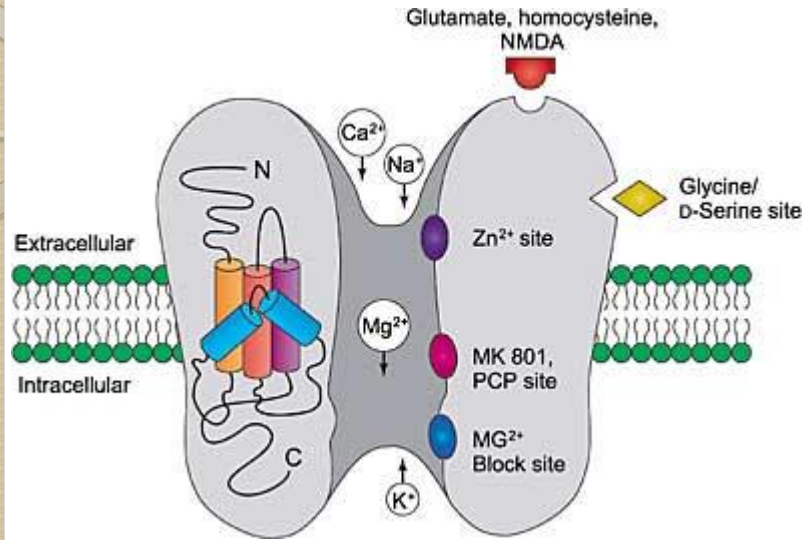
D-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)



Kainic acid

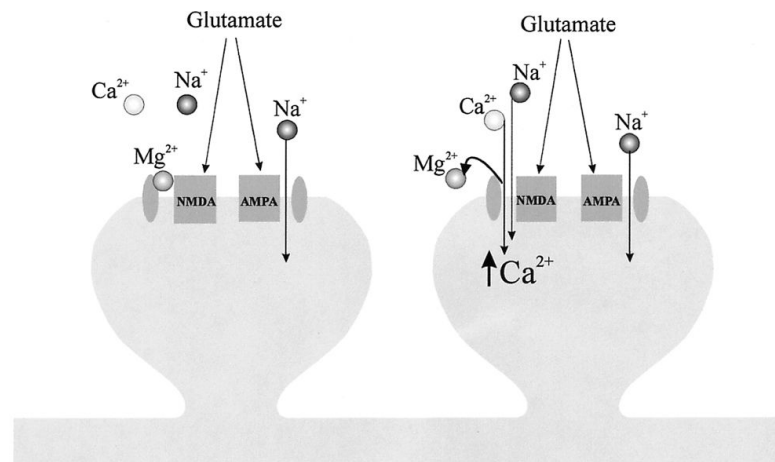
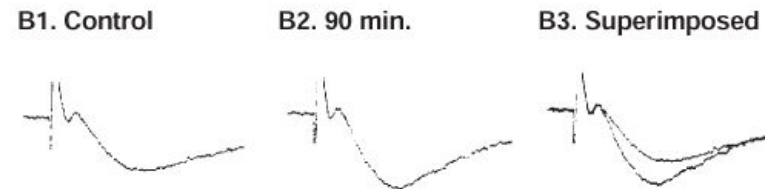
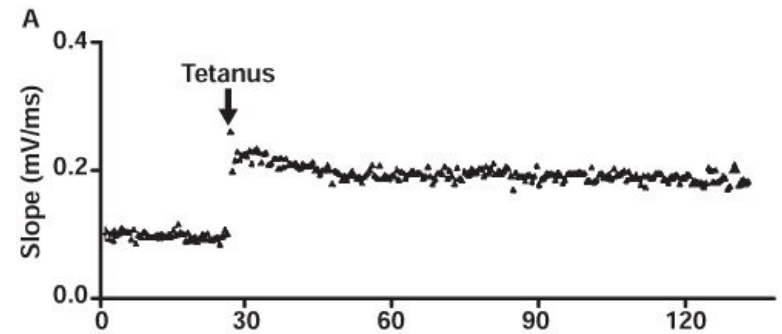
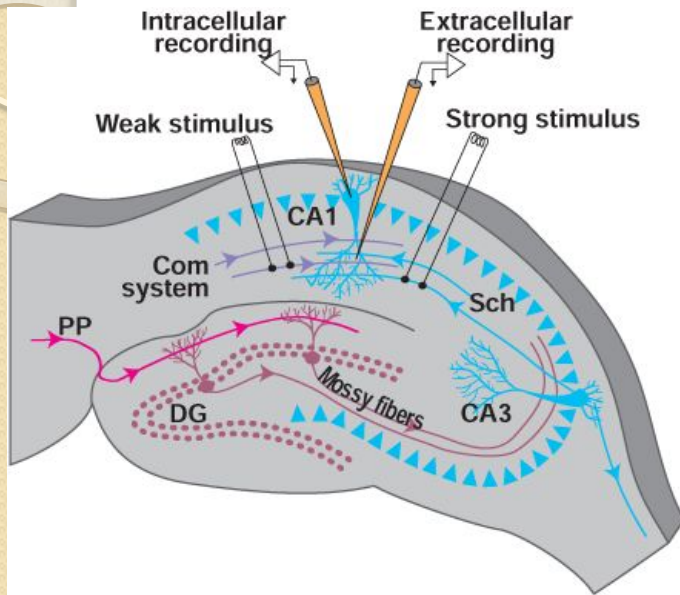
- NMDA чувствительные к N-метил-D-аспартату.
- AMPA чувствительные к D-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолепропионовой кислоте.
- Чувствительные к каиновой кислоте.
- mGluR2 и mGluR4 являются ауторецепторами, регулирующими секрецию глутамата.

NMDA рецепторы

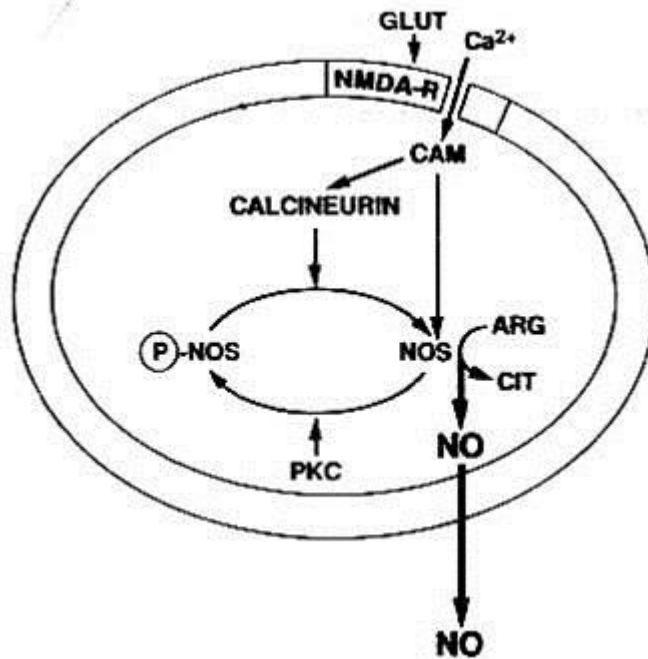


- Образованы сочетаниями шести следующих субъединиц (мономеров): NR1, NR2A-2D, NR3A.
- Только NR1 обладает рецепторной активностью, остальные – модуляторные.
- Имеют 5 функциональных участков связывания: 1) медиатора, 2) глицина, 3) фенилциклидина, 4) Mg⁺², 5) тормозной участок связывания двухвалентных катионов.
- Mg⁺² блокирует рецептор. Деполяризация мембраны удаляет магний и активирует рецептор.

Долговременная потенция



NMDA рецепторы и нейротоксичность

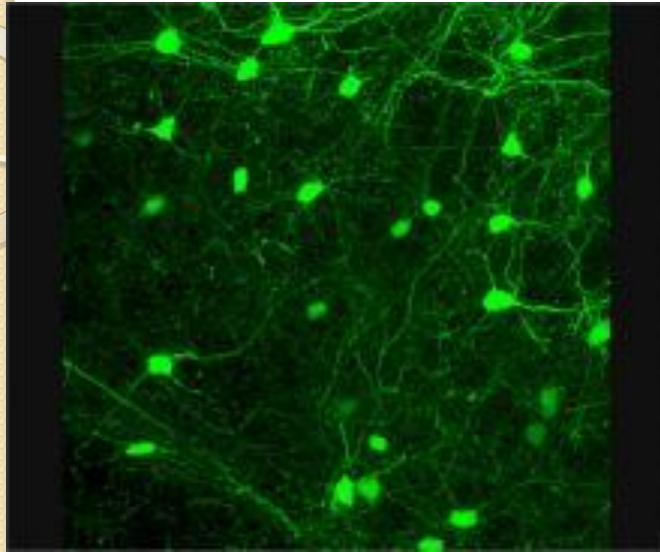


- Чрезмерная секреция глутамата оказывает нейротоксический эффект через NMDA рецепторы.
- Увеличение концентрации Ca²⁺ в нейроне при активации NMDA рецепторов активирует NOS непосредственно через кальмодулин и опосредованно - через кальциневрин.
- NOS-нейроны устойчивые к NO. В то же время NO повреждает другие нейроны, в том числе глутаматэргические.
- Повреждение затрагивает ДНК и вызывает апоптоз. Обработка культуры клеток NMDA убивает 60-90% нейронов.
- Нитроаргинин является нейропротектором.

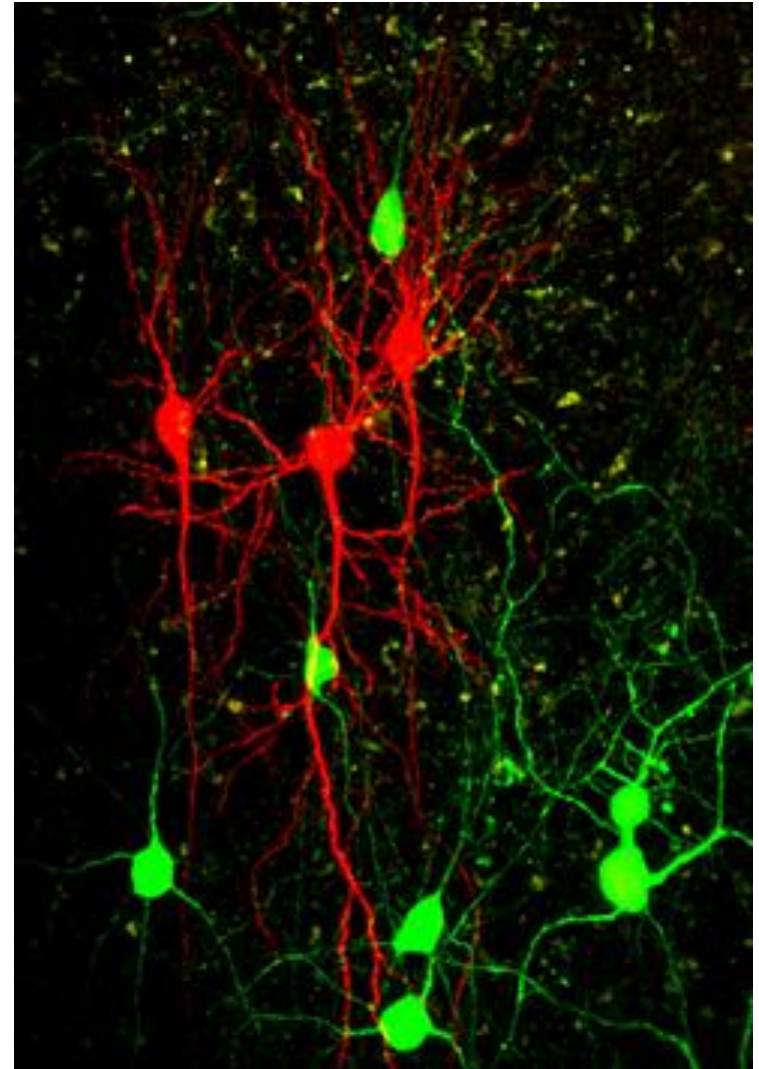
Выводы

- Глутаматные нейроны – глобальная активирующая система мозга.
- Вызывает активацию нейронов через NMDA и AMPA рецепторы.
- Активация NMDA и AMPA рецепторов вызывает гипервозбуждение, судороги и галлюцинации.
- Вовлечен в механизм любой формы поведения.
- Длительная активация NMDA и AMPA рецепторов приводит к избыточному синтезу NO и дегенерации глутаматных пресинаптических нейронов.

ГАМК нейроны



- ГАМК эргические нейроны распределены повсеместно в мозге как вставочные нейроны.
- 50% синапсов в мозге используют ГАМК.
- Образуют глобальную тормозную систему мозга.
- Тормозные нейроны коры и гиппокампа используют ГАМК. Медиатор большинства нейронов бледного шара и черного вещества.



Кора мозга. Красные – пирамидальные, зеленые -ГАМК

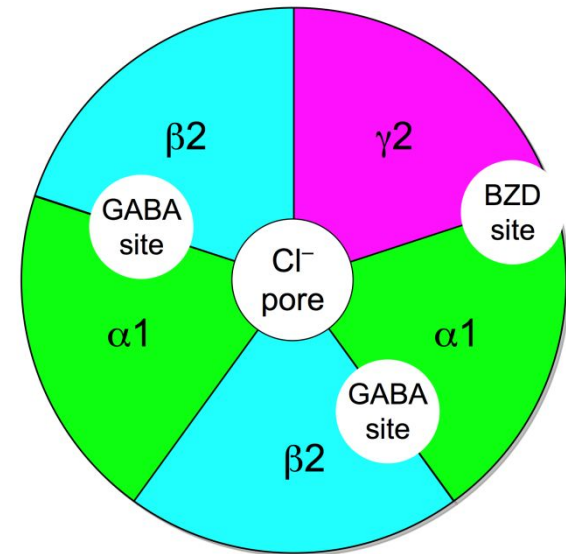
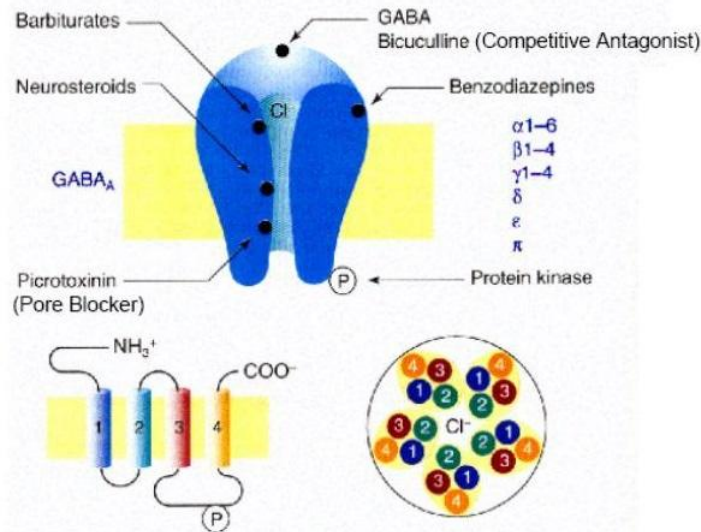
ГАМК синапс



- 1 - глутаматдекарбоксилаза
- 2 - ГАМК трансаминаза
- 3 - глутаминсинтетаза
- 4 - глутаминаза

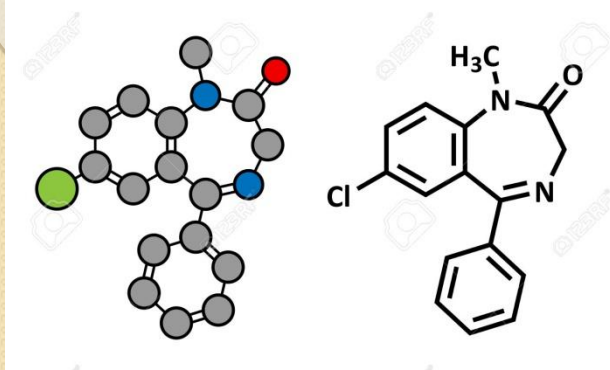
- В ГАМК нейроне медиатор синтезируется из глутамата, депонируется в везикулы и секретируется в синаптическую щель.
- Секретированная ГАМК удаляется транспортером в ГАМК нейрон или глиальную клетку и переаминируется с помощью фермента ГАМК трансаминазы в глутамат, а затем в ГАМК.
- В глиальных клетках глутамат аминируется до глутамина и возвращается в ГАМКэргический нейрон где превращается вначале в глутамат, а затем - в ГАМК

ГАМК рецепторы



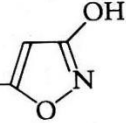
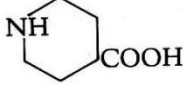

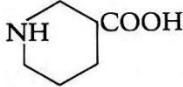

- **Ионотропный ГАМК-А**
- Агонист – мусцимол, антагонисты бикукулин и пикротоксин
- Пентамеры, регулирующие Cl⁻ каналы.
- Состоят из 6 - α , 4 - β , γ - 3, δ - 1, ρ - 3, ϵ - 1, π - 1.
- В мозге млекопитающих наиболее часто встречаются $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, $\alpha_2\beta_1\gamma_2$ и $\alpha_2\beta_2\gamma_1$.
- **Метаботрофный ГАМК-Б**
- Агонист – баклофен.
- Сопряжен с G_i-белком.
- ГАМК-Б – ингибирует аденилатциклазу и открывает K⁺ каналы.
- **ГАМК может вызывать только гиперполяризацию и тормозить активность нейронов.**

Бензодиазепины



- Бензодиазепины большая группа веществ с успокаивающим, анксиолитическим и седативным действием (диазепам, клоназепам, нитразепам).
- Соединяясь со специфическими сайтами ГАМК-А рецептора усиливают действие ГАМК и ее агонистов.
- Натуральными лигандами бензодиазепинов, по-видимому, являются пептиды эндозепины, которые ингибируют ГАМК-А рецепторы.
- С помощью мышей нокаутных по α и β субъединицам показано, что разные бензодиазепины связываются с различными α субъединицами.
- Диазепам не оказывает анксиолитический эффект на мышей с нокаутом по $\alpha 2$ субъединице.

Агонисты и антагонисты ГАМКА

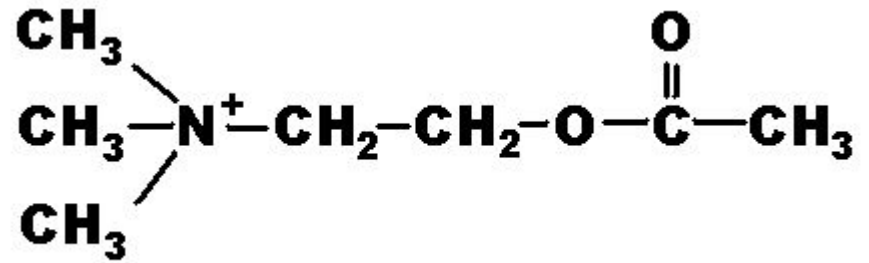
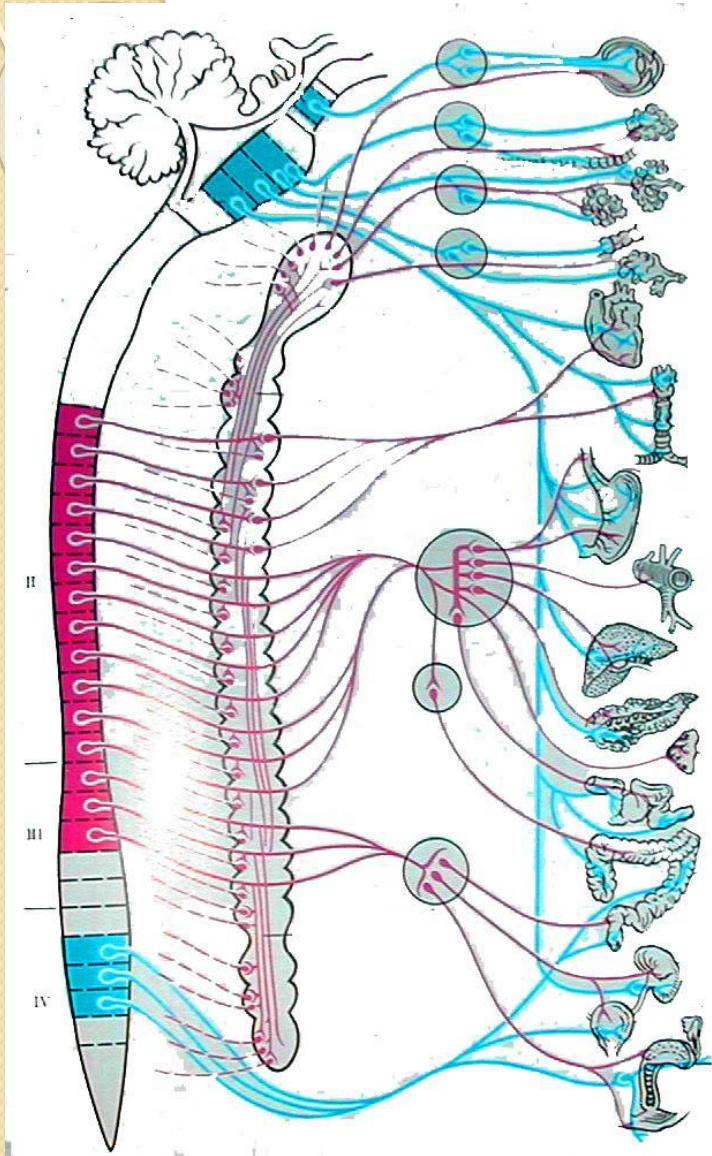
GABA	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Agonist
Muscimol		Agonist
Isonipocotic acid		Agonist
Isoguvacine		Agonist
<i>p</i> -Chlorophenyl GABA	$\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$	Agonist
Bicuculline	Alkaloid	Antagonist
Picrotoxin	Alkaloid	Antagonist
β -Alanine	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)\text{COOH}$	Uptake blocker
Diaminobutyric acid	$\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$	Uptake blocker
Nipocotic acid		Uptake blocker
Guvacine		Uptake blocker

- Антагонисты ГАМК-А бикикулин и пикртоксин вызывают судороги.
- У мышей с нокаутом по α , β и γ субъединицам повышена судорожная активность.
- ГАМК нейроны опосредуют седативное действие этанола и барбитуратов.

Выводы

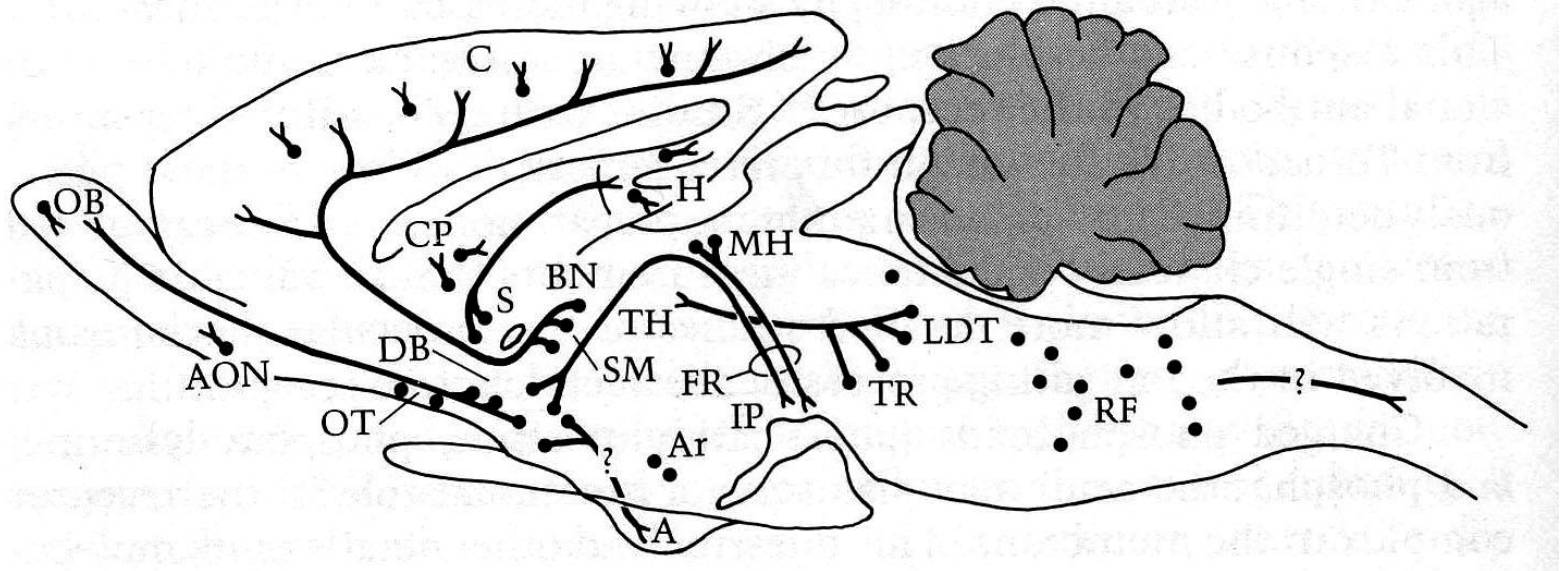
- ГАМК система одна из самых экспансивных – 50% синапсов являются ГАМКэргическими.
- ГАМК нейроны осуществляют глобальное ингибирование нейронов.
- Вовлечены в регуляцию всех форм поведения.
- Антагонисты ГАМК вызывают судорожную активность.
- Бензодиазепины активируют ГАМК-А рецептры и т.с. оказывают седативное и анксиолитическое действие.

Ацетилхолин



- В 1921 г О.Леви показал, что при раздражении блуждающего нерва выделяется вещество, замедляющее сердце.
- В 1936 г. Г. Дейл показал, что ацетилхолин – медиатор периферической нервной системы и нервно-мышечной передачи.
- Ацетилхолин является медиатором ЦНС, парасимпатической нервной системы и преганглионарных волокон симпатической нервной системы и нервно-мышечной передачи в поперечно-полосатых мышцах.

Топография холинергических нейронов



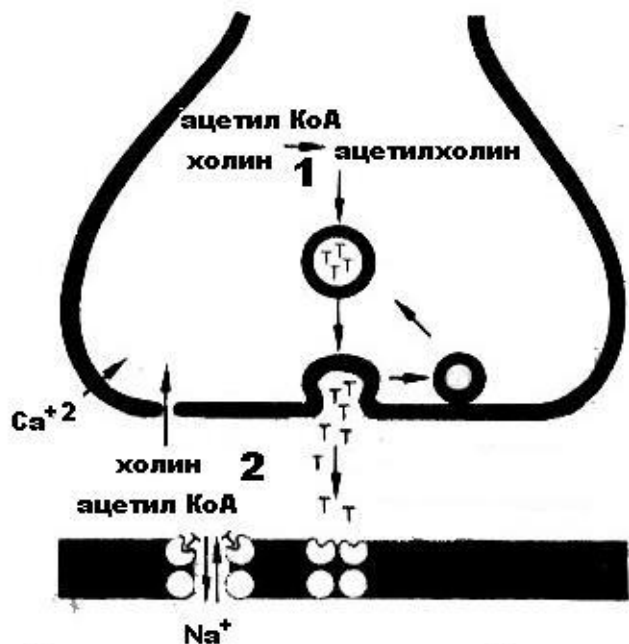
- В мозге холинергические нейроны выявляют с помощью антител к специфическим ферментам: холинацетилтрансферазы и ацетилхолинэстеразы.
- Холинергические нейроны и их проекции распределены повсеместно в мозге.
- Холинергическими нейронами являются интернейроны коры, основная масса – в подкорке: в базальном гигантоклеточном ядре с проекциями в кору. Вставочные холинергические нейроны – в хвостатом ядре. Нейроны в медиальной перегородке иннервируют гиппокамп. Таламус получает холинергические проекции из ретикулярной формации.

Метаболизм ацетилхолина



- Ацетилхолин синтезируется в нейроне из холина и ацетил КоА.
- Холин синтезируется в печени и проникает в нейрон активным транспортом.
- Синтез ацетилхолина катализируется ферментом **холинацетилтрансферазой (КФ.2.3.1.6)**. Это глобулярный белок с массой 67кДу человека. В нейроне фермент присутствует в цитозоле и прикрепленным к внутриклеточным мембранам. Синтезируется в теле клетки и транспортируется в окончания с скоростью 19 см/сутки (блуждающий нерв кролика). Время полужизни 12-20 дней.
- Разрушается ферментом ацетилхолинэстеразой (КФ.3.1.1.7)

Холинэргический синапс

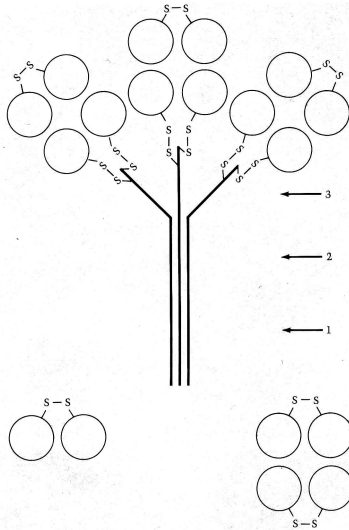
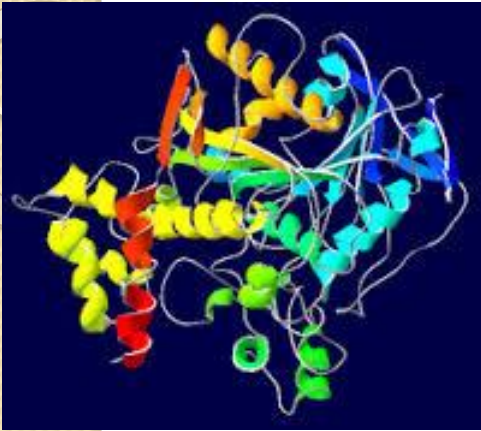


1 - холинацетилтрансфераза

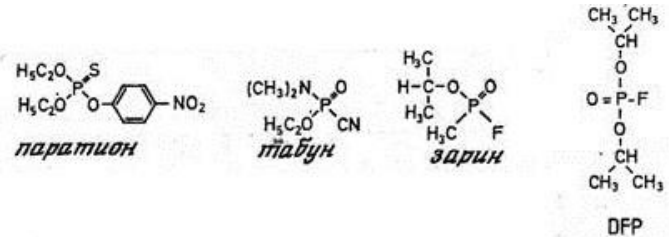
2 - ацетилхолинэстераза

- Синтезированный медиатор упаковывается в везикулы (5 молекул на одну АТФ).
- Везикулы транспортируются в окончания и секретируются при деполяризации.
- Секреция регулируется ауторецепторами M₂ типа.
- Секретированный медиатор действует на постсинаптические рецепторы.
- Медиатор разрушается ацетилхолинэстеразой и холин захватывается в нейрон с помощью белка – транспортера.

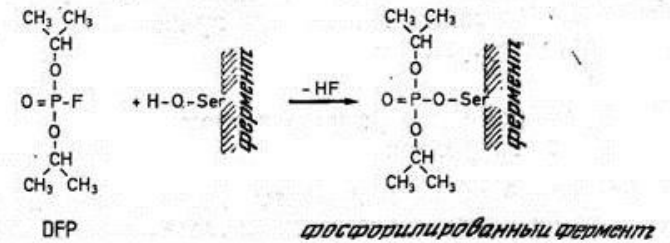
Ацетилхолинэстераза



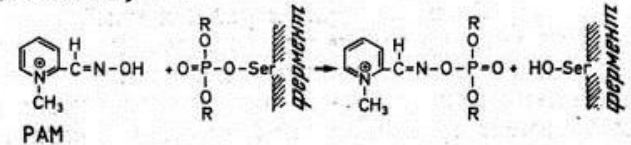
- Ацетилхолинэстераза (КФ.3.1.1.7) глобулярный гликопротеид. Синтезируется в теле нейрона и транспортируется в синаптическую щель. Существует в виде моно- ди- и тетрамера. Размер мономера около 80 кД. В электрическом органе ската тетрамеры связаны с коллагеноподобным «хвостом».
- Активный центр фермента содержит анионный участок, который связывает положительно заряженный азот.
- Отравляющие вещества диизопропилфторфосфат, табун и зарин ковалентно и необратимо связываются с серином активного центра и блокируют его.
- Антидоты, пиридинальдоксим реактивируют фермент.
- Диизопропилфлуорофосфат вызывает кошмары и галлюцинации, возбуждение, напряжение, снижение моторных и интеллектуальных способностей.



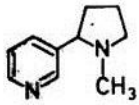
Инактивация:



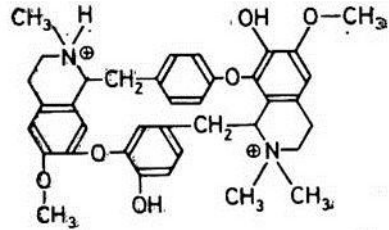
Реактивация (антидот)



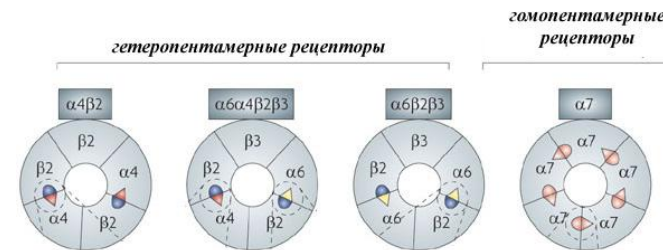
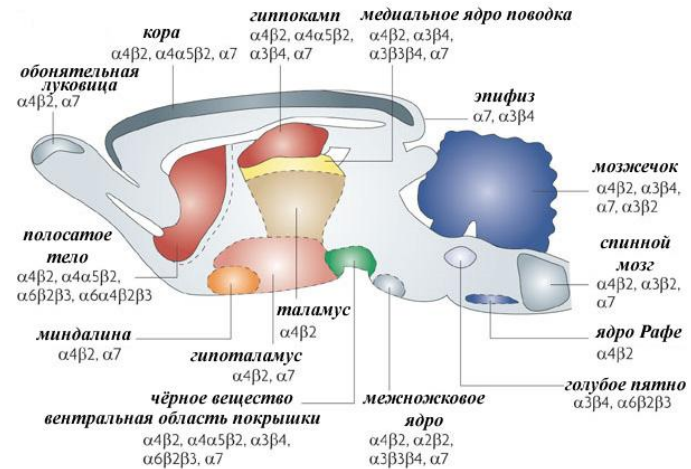
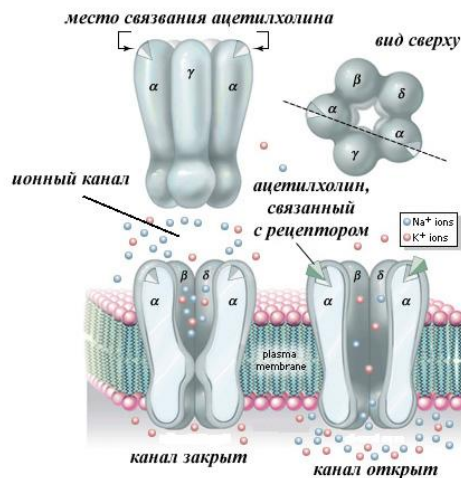
Никотиновые рецепторы



НИКОТИН

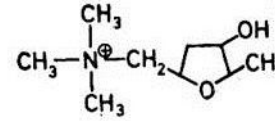


α -тубокурарин

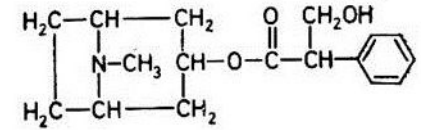


- Пентамеры, образованные 5 различными типами субъединиц α , β , γ , δ и ϵ .
- Существует α - 10 и β - 4 субъединиц. Медиатор связывается с α субъединицами.
- Рецептор нервно-мышечного соединения имеет состав $\alpha_1\beta_1\gamma\delta$.
- Чувствительные к α -бунгаротоксину рецепторы в ЦНС являются гомопентамерами α_5 и α_7 .
- Нечувствительные к α -бунгаротоксину рецепторы в ЦНС имеют состав $\alpha_2\beta_3$, где α_2 - α_6 , а β_2 - β_4 .
- Регулируют активность поперечно-полосатых мышц. В мозге их плотность невелика. А функция еще не ясна. Обезболивающий эффект никотина.

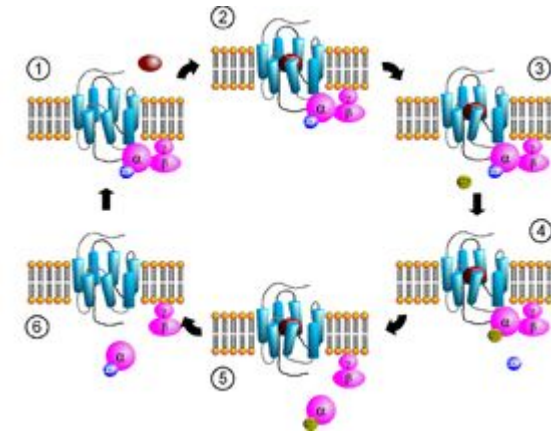
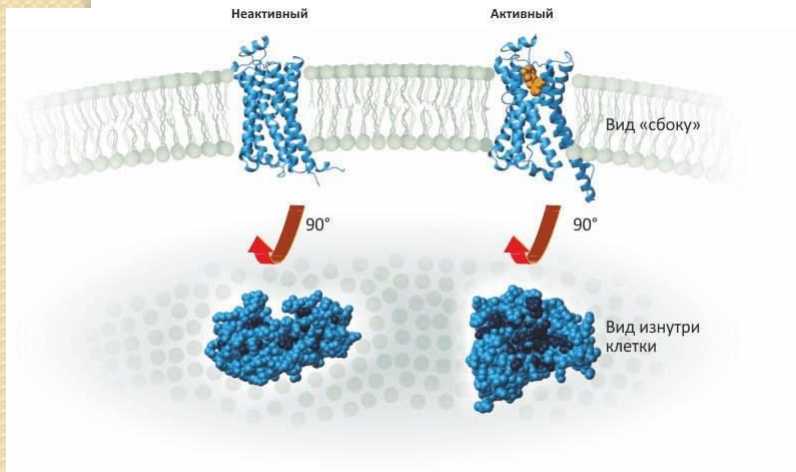
Мускариновые рецепторы



Мускарин



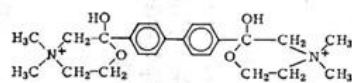
Атропин



- Пять типов рецепторов, сопряжены с G белками.
- M_1 , M_3 и M_5 сопряжены с G_q белками. M_2 и M_4 сопряжены с G_i белками.
- Основной тип рецепторов ацетилхолина в мозге и вегетативной нервной системе.
- Активация рецепторов карбахолом вызывает возбуждение и тремор, который снимается атропином.
- Вовлечены в регуляцию эмоций, агрессии, реакции избегания.
- Нарушение холинергической иннервации лежит в основе нарушений мышления при болезни Альцгеймера. У больных снижена плотность M_1 рецепторов. Нокауты по M_1 характеризуются сниженной памятью и способностью к обучению.

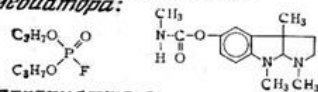
Холиномиметики и холинолитики

Пресинаптический ингибитор обратного поглощения медиатора:

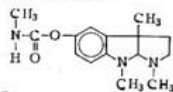


гемичолиний (НС-3)

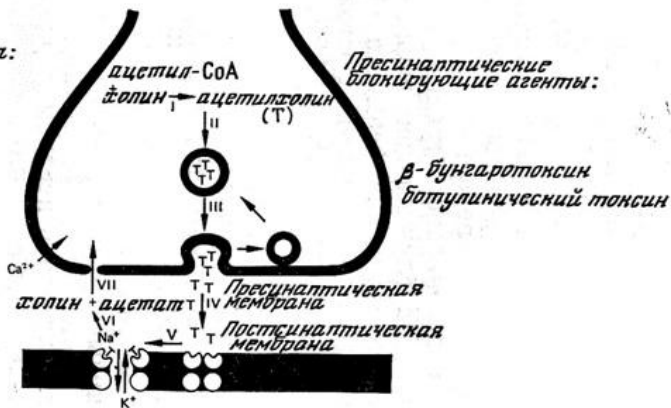
Ингибиторы инактивации медиатора:



диизопропилфторофосфат (ДФФ)



физостигмин (эзерин)



^aNicotine
Carbechol
Arecoline

^aTetramethylammonium
^aPhenyltrimethylammonium
^aDimethylphenylpiperazine
Suberyldicholine

D-Tubocurarine
Succinylcholine (depolarizing,
desensitizing)
Decamethonium (depolarizing,
desensitizing)
Gallamine

^aPempidine
^aMecamylamine
^aHexamethonium
^aPentolinium
Pancuronium
α-Bungarotoxin

Muscarine
Carbechol
Methacholine
Bethanechol
Pilocarpine
Arecoline
Oxotremorine

Atropine
Scopolamine (hyoscine)
^bBenztropine
Quinuclidinylbromide
Pirenzepine

- Антагонисты рецепторов являются сильными лекарствами и ядами, а блокаторы ацетилхолинэстеразы – боевыми отравляющими веществами.

Заключение

- Глутамат, ГАМК и ацетилхолин образуют глобальную нейронную сеть мозга.
- Вовлечены в регуляцию всех процессов в ЦНС.
- Нарушения баланса глутамата и ГАМК вызывает судорги.
- Ацетихолин вовлечен в механизм памяти и мышления.
- Нарушения функции этих систем связаны с психопатологиями.
- Молекулярные мишени психотропных соединений.