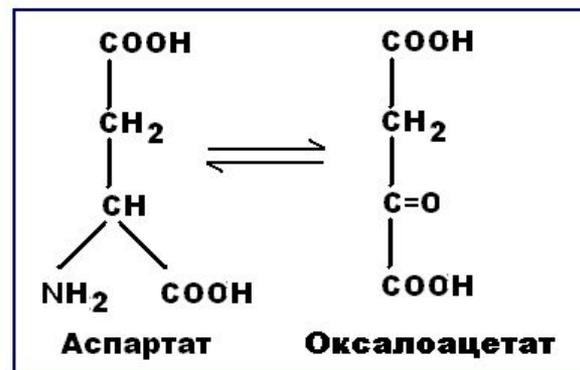
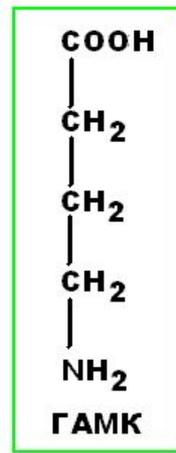
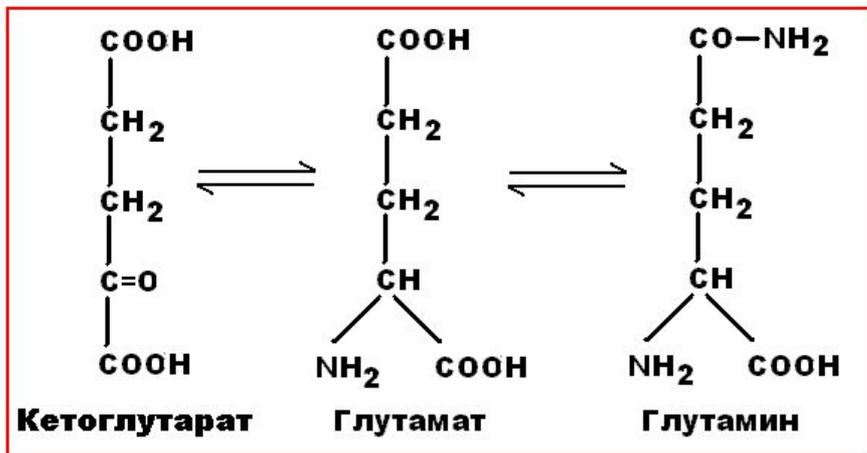




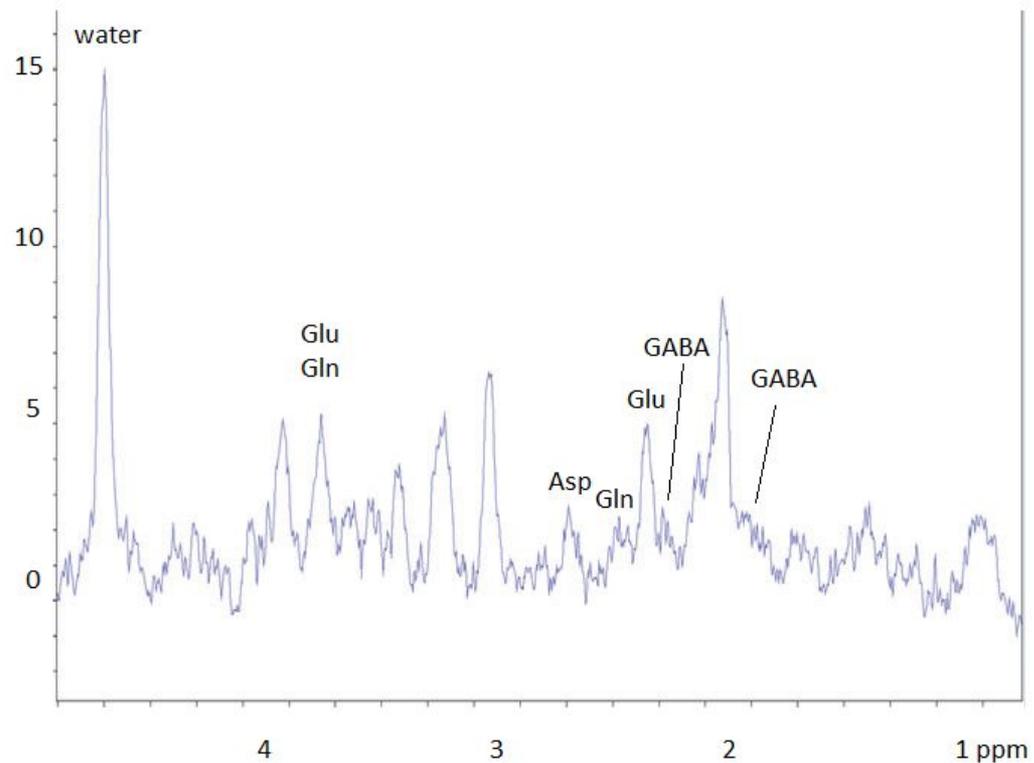
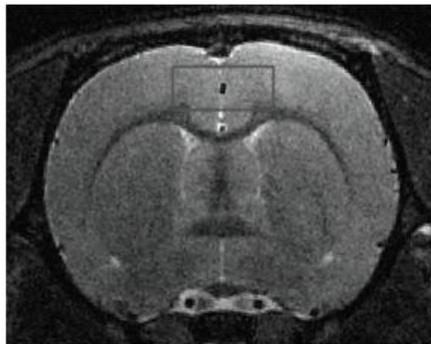
Молекулярные механизмы регуляции  
поведения  
Лекция 4  
Аминокислоты как медиаторы.  
Ацетилхолин

# Глутамат, аспартат и ГАМК



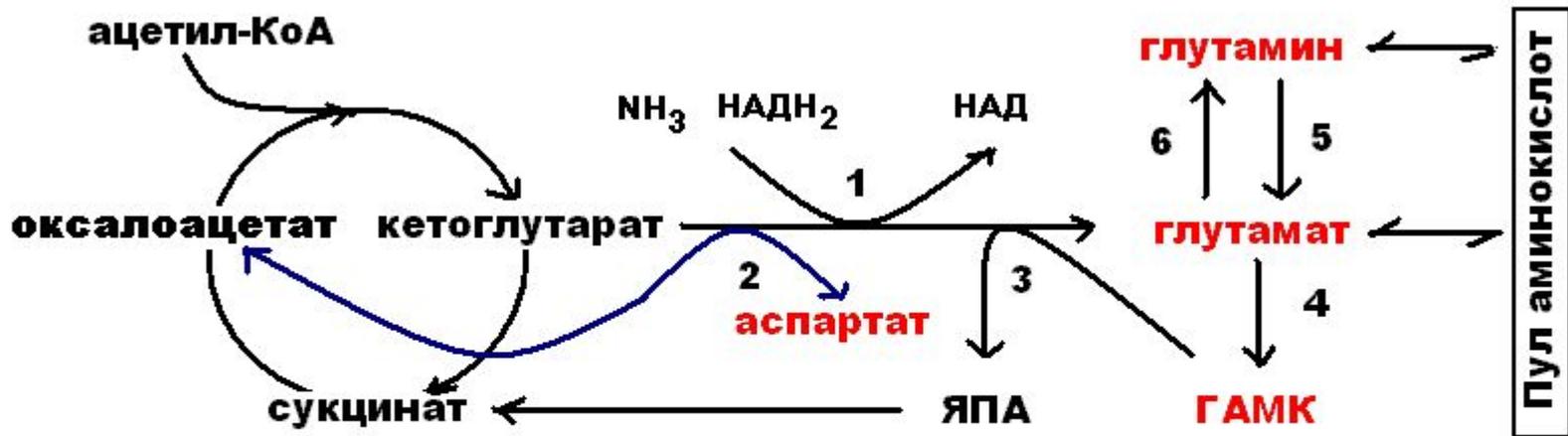
- Составляют 50% пула свободных аминокислот мозга
- Концентрация глутамата в 4 раза выше, чем ГАМК.
- Глутамат является метаболическим предшественником ГАМК.
- Выполняют противоположные функции в мозге: возбуждение – глутамат и аспартат; торможение – ГАМК.

# 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

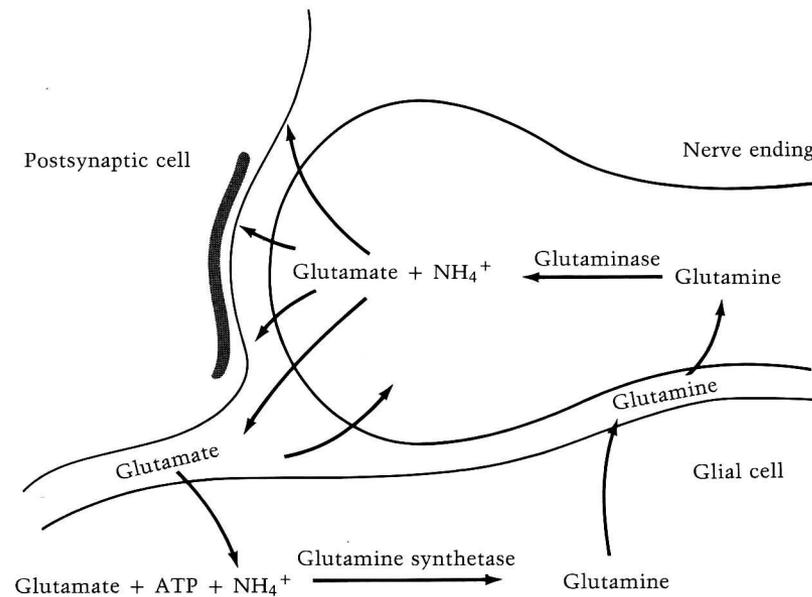
4 - глутаматдекарбоксилаза

5 - глутаминаза

6 - глутаминсинтетаза

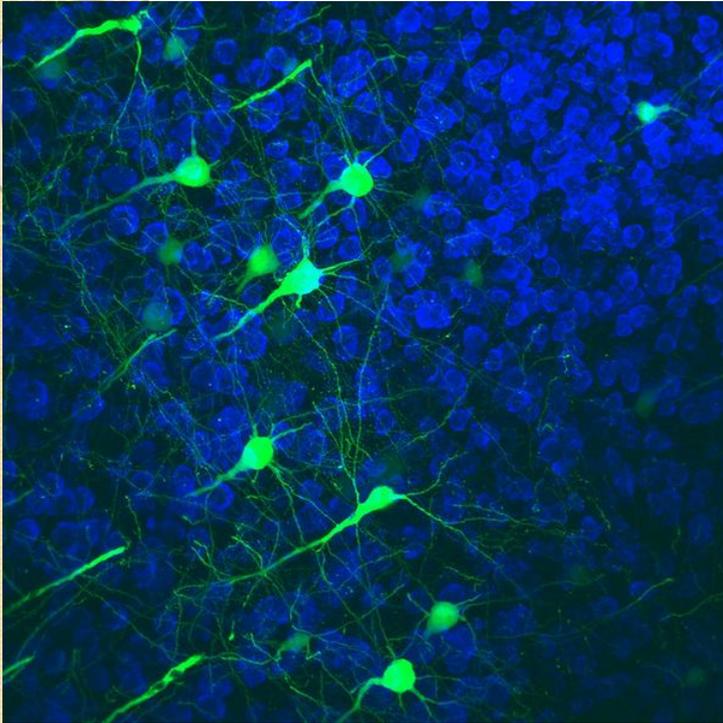
- 1. глутаматдегидрогеназа (КФ.1.4.1.3), 2. аспартатаминотрансфераза (КФ.3.6.1.1), 3. трансаминаза ГАМК, 4. глутаматдекарбоксилаза (КФ.4.1.1.15), 5. глутаминаза (КФ.3.5.1.2), 6. глутаминсинтетаза (КФ.6.3.1.2).

# Медиаторный пул глутамата



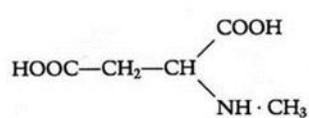
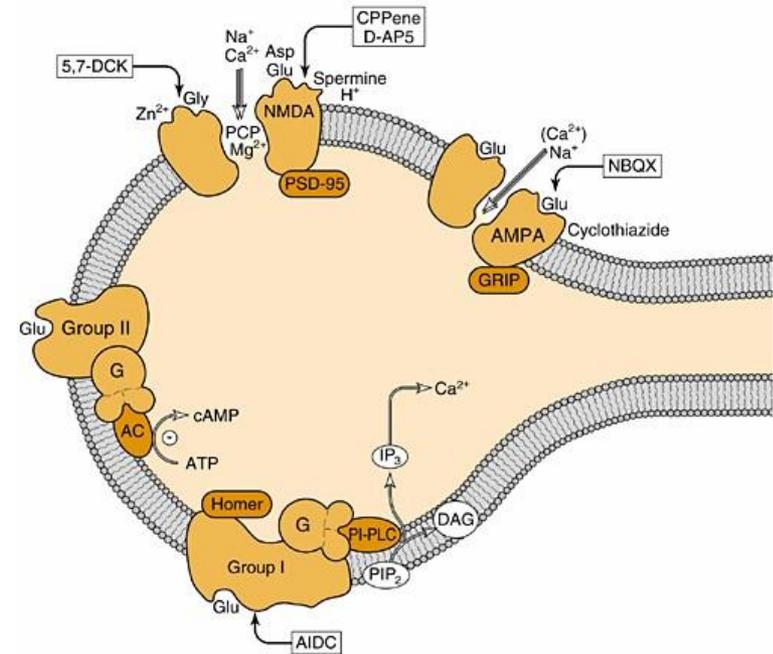
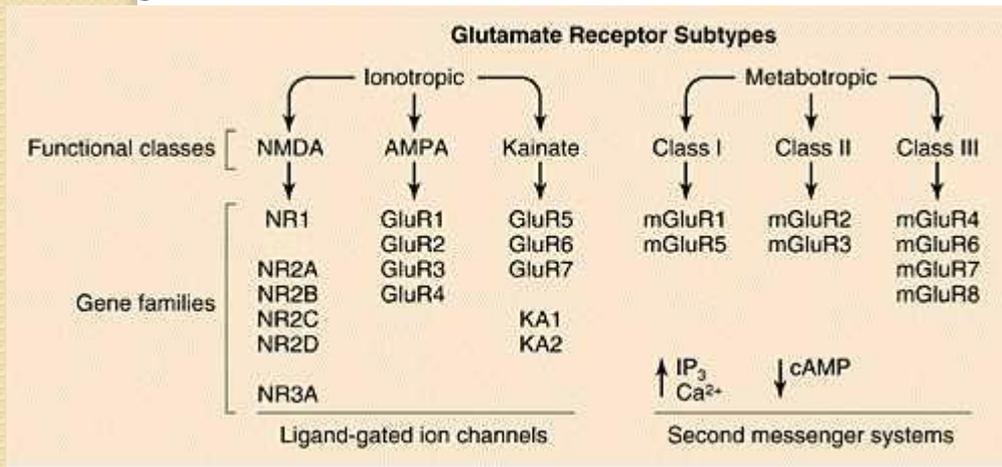
- С помощью использования меченых d-глюкозы и глутамина показано, что 80% медиаторного пула глутамата происходит из глутамина.
- Фермент глутаминаза дезаминирует глутамин до глутамата, который накапливается в везикулах и секретируется в синаптическую щель.
- Секретированный глутамат захватывается в нейрон 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

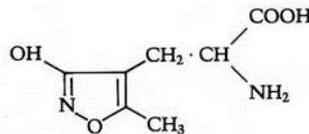


- Глутаматэргические нейроны используют глутамат и аспартат в качестве медиаторов.
- Глутаматэргические нейроны – глобальная возбуждающая система мозга.
- Для картирования глутаматной системы используют глутаминазу, рецепторы, транспортер и антитела к глутамату.
- В мозге глутаматные нейроны встречаются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

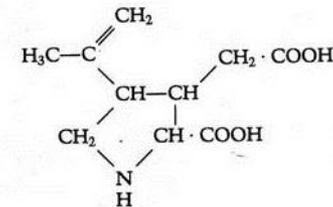
# Рецепторы глутамата



N-Methyl-D-aspartic acid (NMDA)



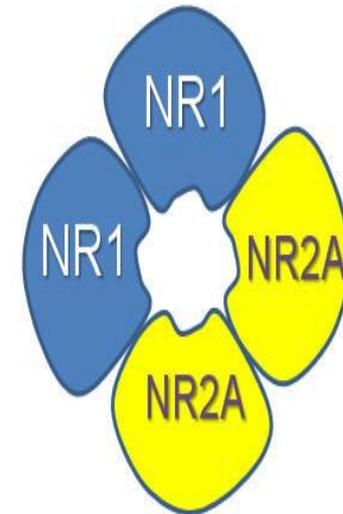
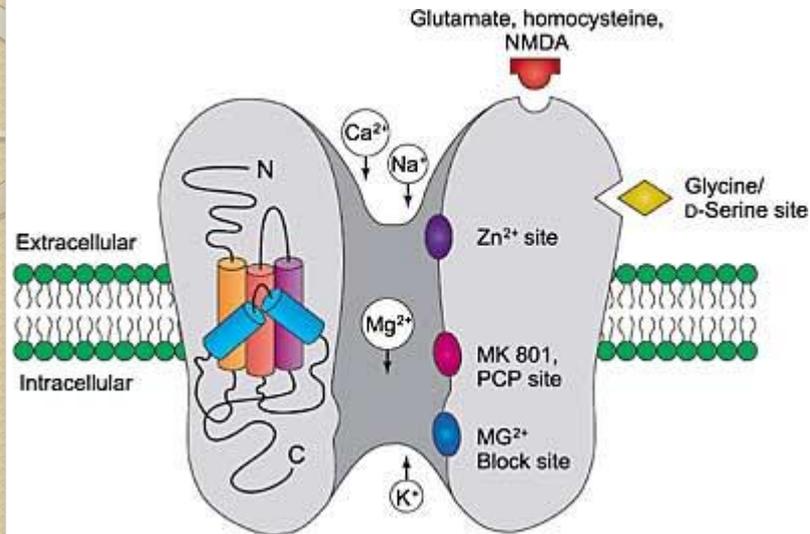
D-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)



Kainic acid

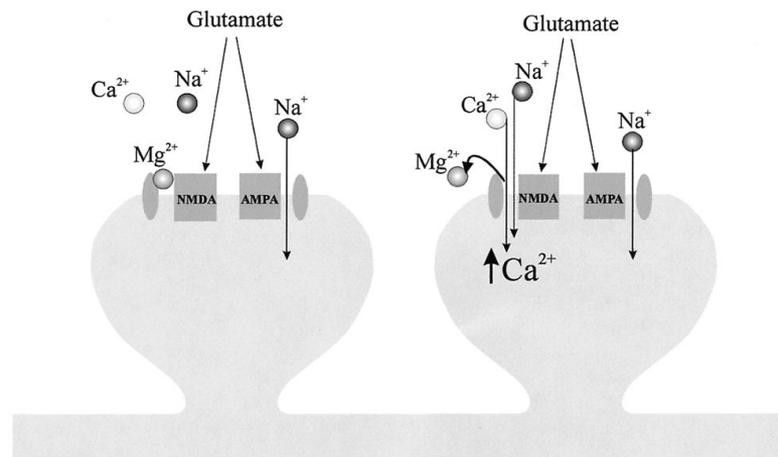
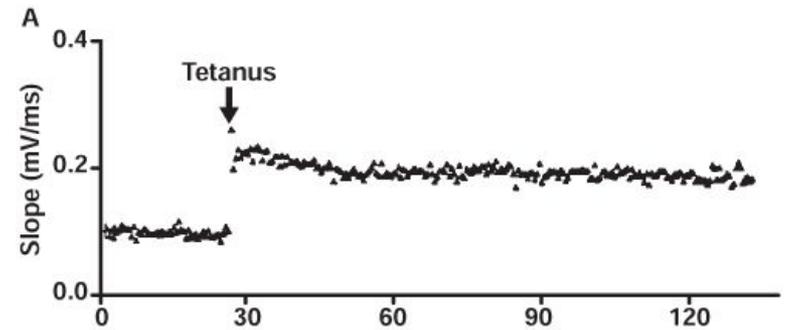
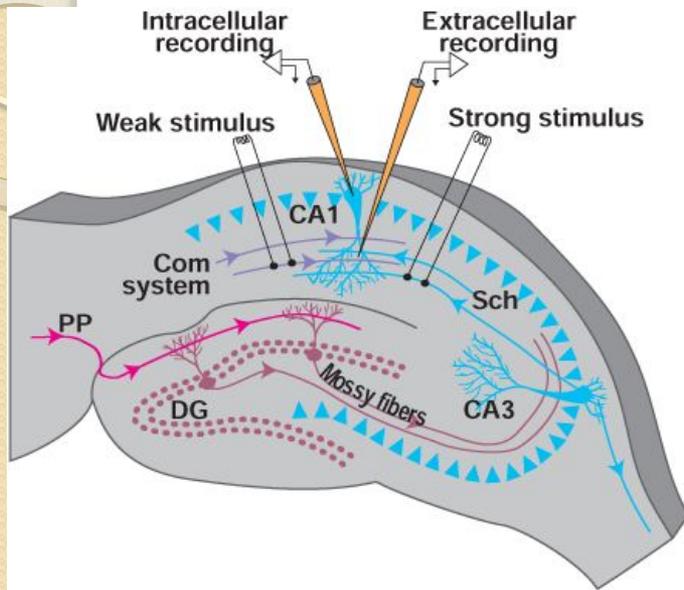
- NMDA чувствительные к N-метил-D-аспартату.
- AMPA чувствительные к D-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолепропионовой кислоте.
- Чувствительные к каиновой кислоте.
- mGluR2 и mGluR4 являются ауторецепторами, регулирующими секрецию глутамата.

# NMDA рецепторы

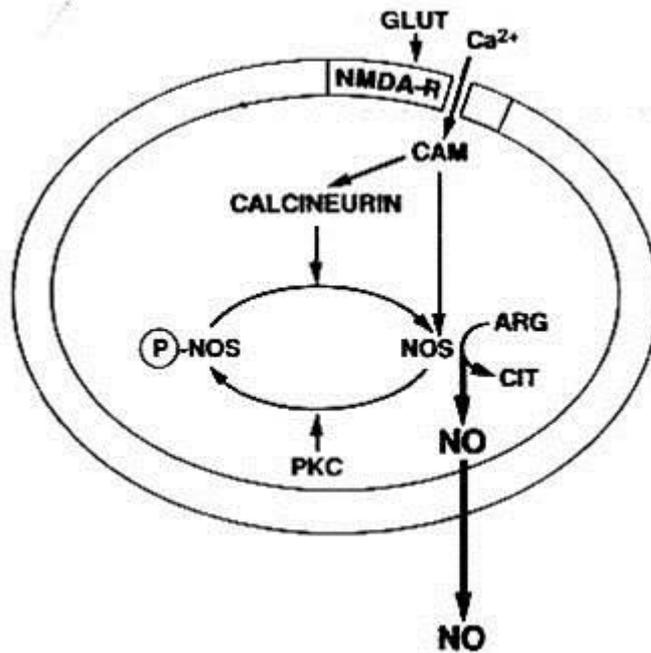


- Образованы сочетаниями шести следующих субъединиц (мономеров): NR1, NR2A-2D, NR3A.
- Только NR1 обладает рецепторной активностью, остальные – модуляторные.
- Имеют 5 функциональных участков связывания: 1) медиатора, 2) глицина, 3) фенилциклидина, 4)  $\text{Mg}^{+2}$ , 5) тормозной участок связывания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

# Долговременная потенция



# NMDA рецепторы и нейротоксичность

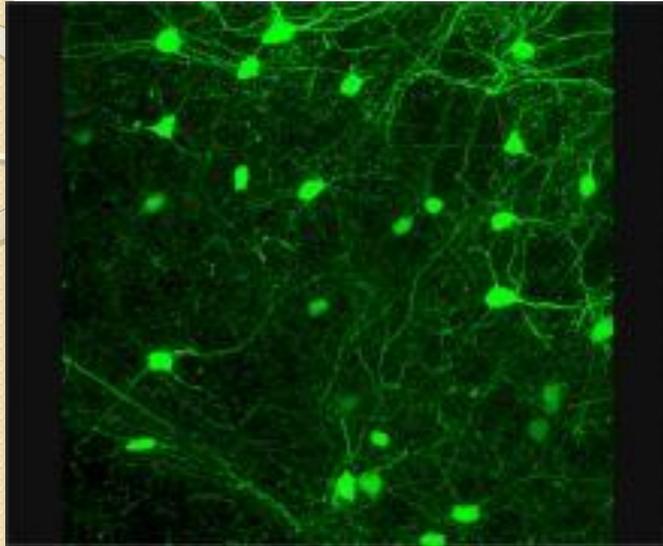


- Чрезмерная секреция глутамата оказывает нейротоксический эффект через NMDA рецепторы.
- Увеличение концентрации Ca<sup>2+</sup> в нейроне при активации NMDA рецепторов активирует NOS непосредственно через кальмодулин и опосредованно - через кальцинеурин.
- NOS-нейроны устойчивые к NO. В то же время 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.

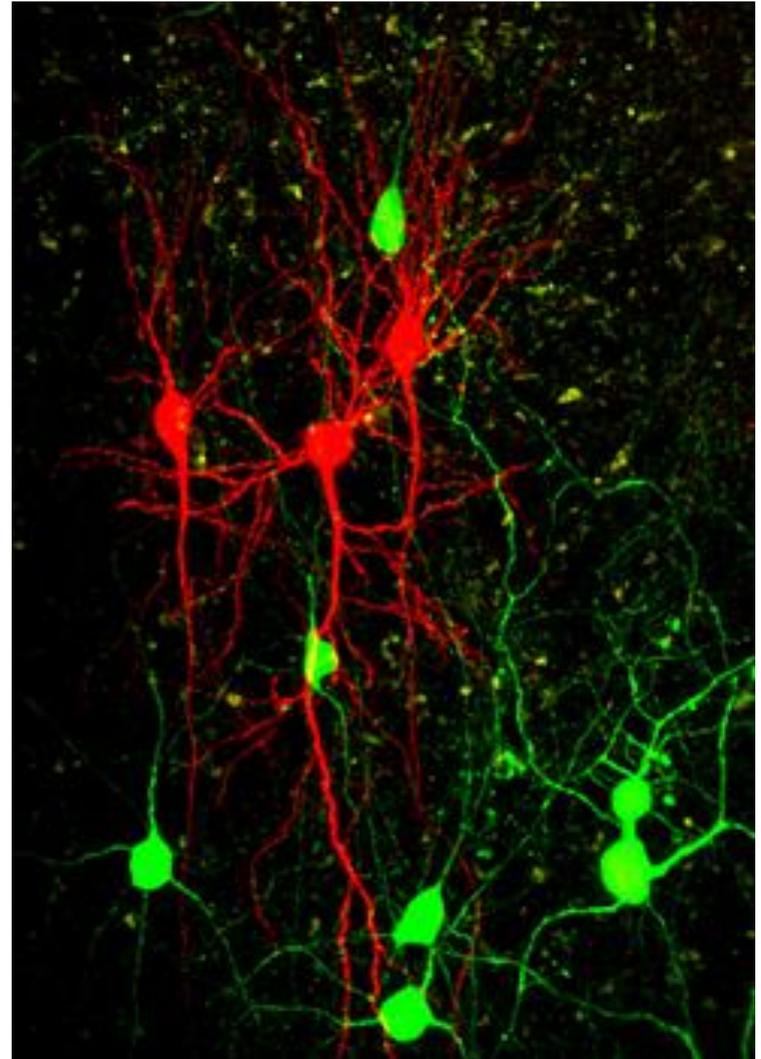
# Выводы

- 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

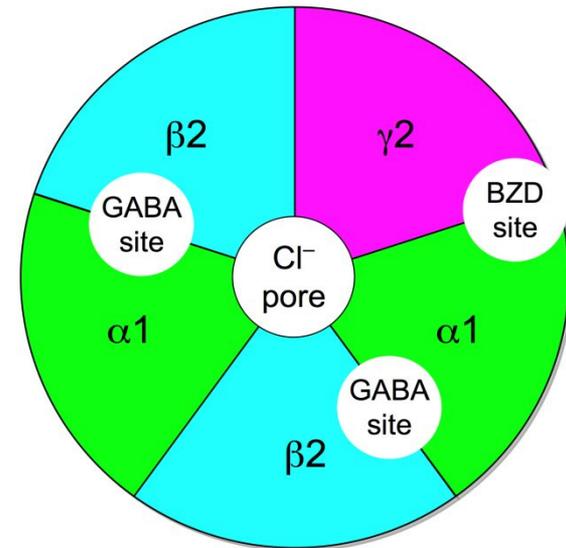
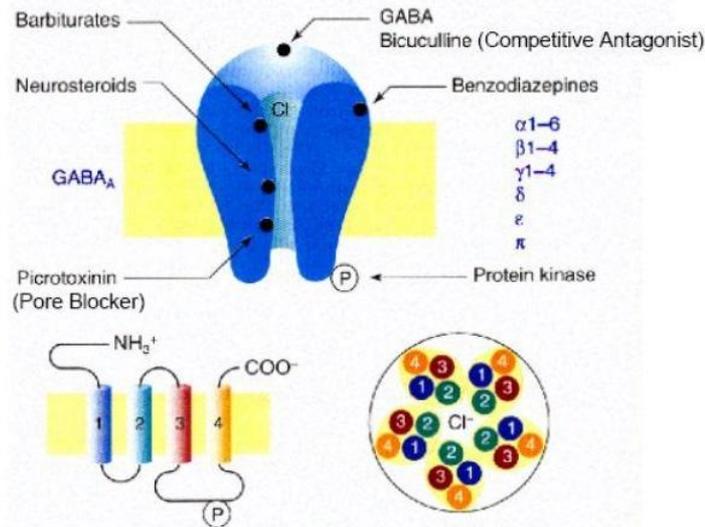
# ГАМК синапс



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

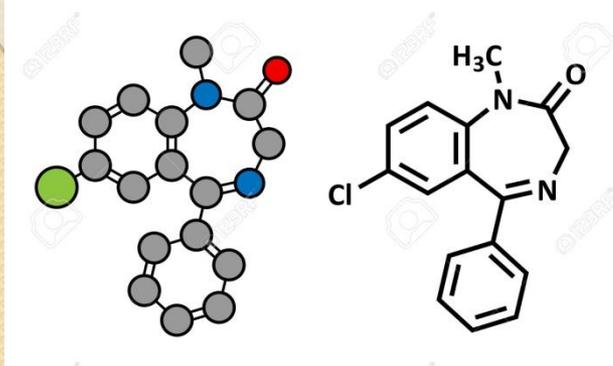
- В ГАМК нейроне медиатор синтезируется из глутамата, депонируется в везикулы и секретируется в синаптическую щель.
- Секретированная ГАМК удаляется транспортером в ГАМК нейрон или глиальную клетку и переаминируется с помощью фермента ГАМК трансаминазы в глутамат, а затем в ГАМК.
- В глиальных клетках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

# ГАМК рецепторы



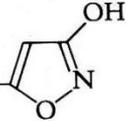
- **Ионотропный ГАМК-А**
- Агонист – мусцимол, антагонисты бикукулин и пикротоксин
- Пентамеры, регулирующие  $\text{Cl}^-$  каналы.
- Состоят из 6 -  $\alpha$ , 4 -  $\beta$ ,  $\gamma$  - 3,  $\delta$  - 1,  $\rho$  - 3,  $\epsilon$  - 1,  $\pi$  - 1.
- В мозге млекопитающих наиболее часто встречаются  $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ ,  $\alpha_2\beta_1\gamma_2$  и  $\alpha_2\beta_2\gamma_1$ .
- **Метаботрофный ГАМК-Б**
- Агонист – баклофен.
- Сопряжен с  $G_i$ -белком.
- ГАМК-Б – ингибирует аденилатциклазу и открывает  $\text{K}^+$  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  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицам показано, что разные бензодиазепины связываются с различными  $\alpha$  субъединицами.
- Диазепам не оказывает анксиолитический эффект на мышей с нокаутом по  $\alpha 2$  субъединице.

# Агонисты и антагонисты ГАМКА

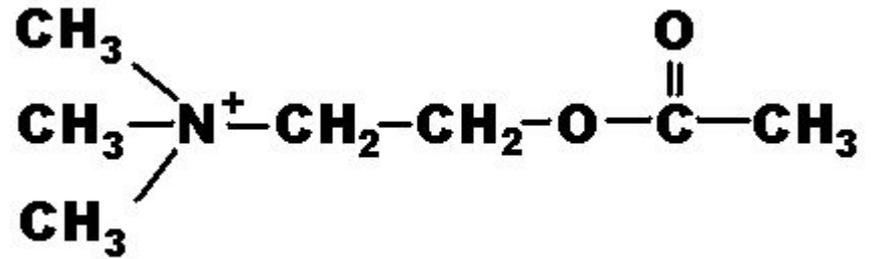
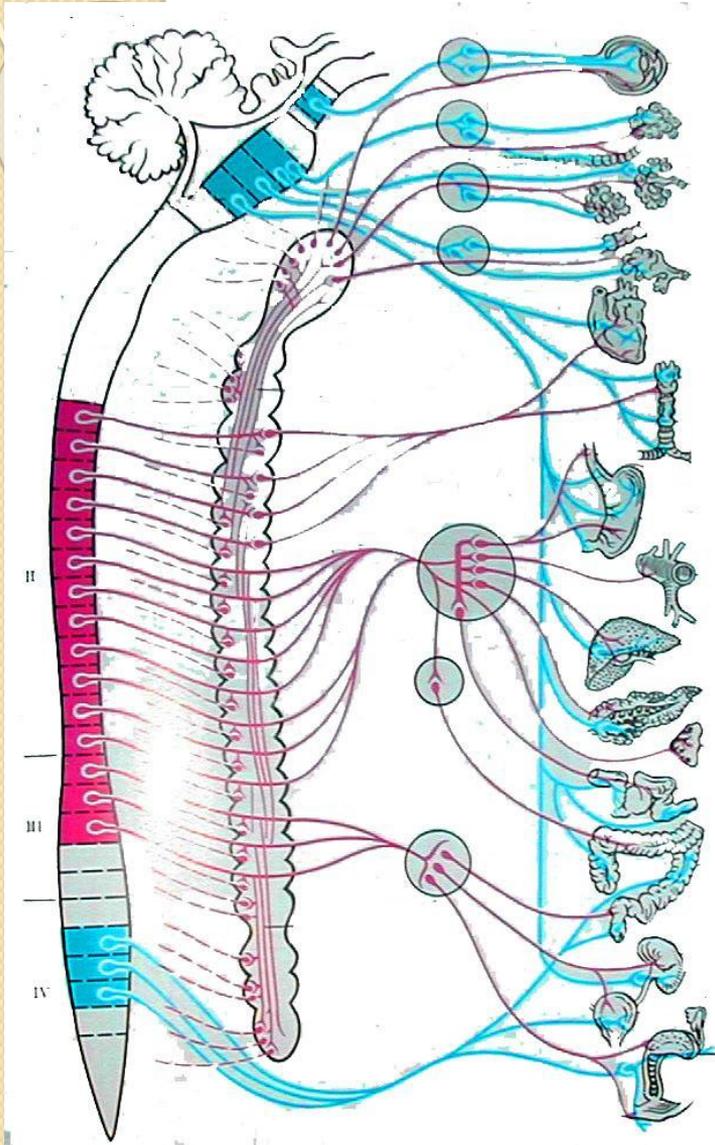
GABA	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Agonist
Muscimol		Agonist
Isonipocotic acid		Agonist
Isoguvacine		Agonist
<i>p</i> -Chlorophenyl GABA	$\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$	Agonist
Bicuculline	Alkaloid	Antagonist
Picrotoxin	Alkaloid	Antagonist
$\beta$ -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  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  субъединицам повышена судорожная активность.
- ГАМК нейроны опосредуют седативное действие этанола и барбитуратов.

# Выводы

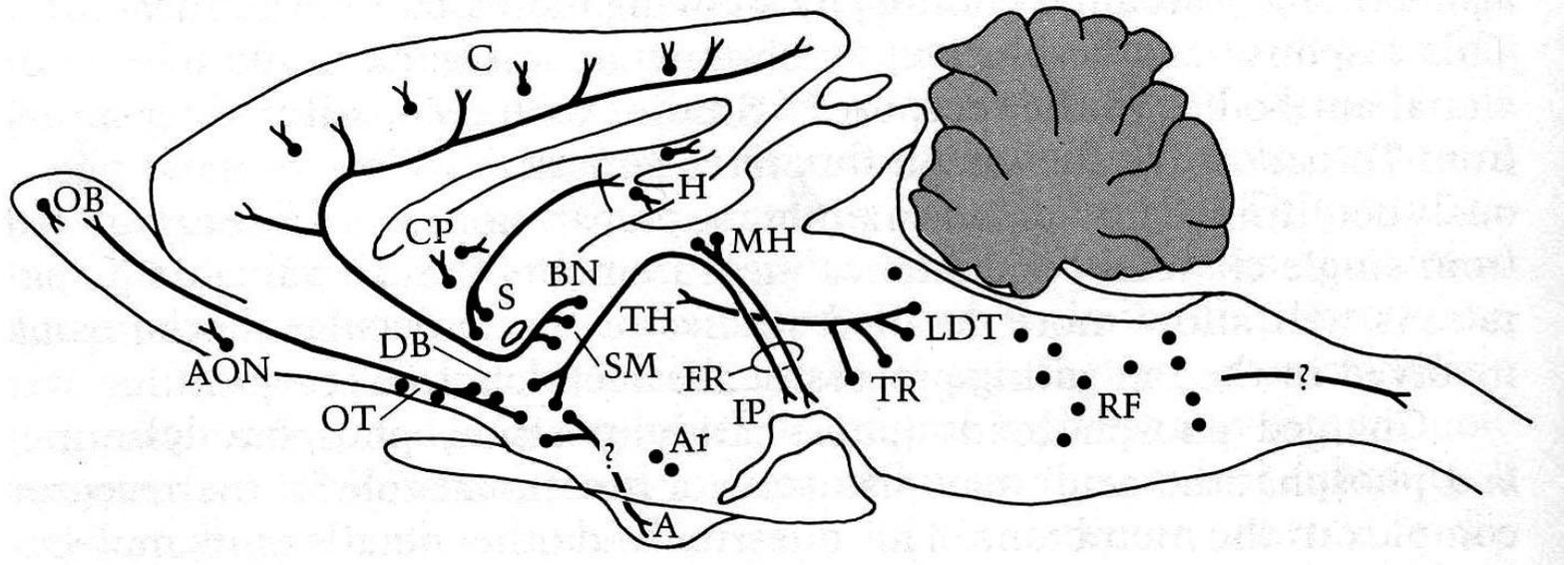
- ГАМК система одна из самых экспансивных – 50% синапсов являются ГАМКэргическими.
- ГАМК нейроны осуществляют глобальное ингибирование нейронов.
- Вовлечены в регуляцию всех форм поведения.
- Антагонисты ГАМК вызывают судорожную активность.
- Бензодиазепины активируют ГАМК-А рецептры и т.с. оказывают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



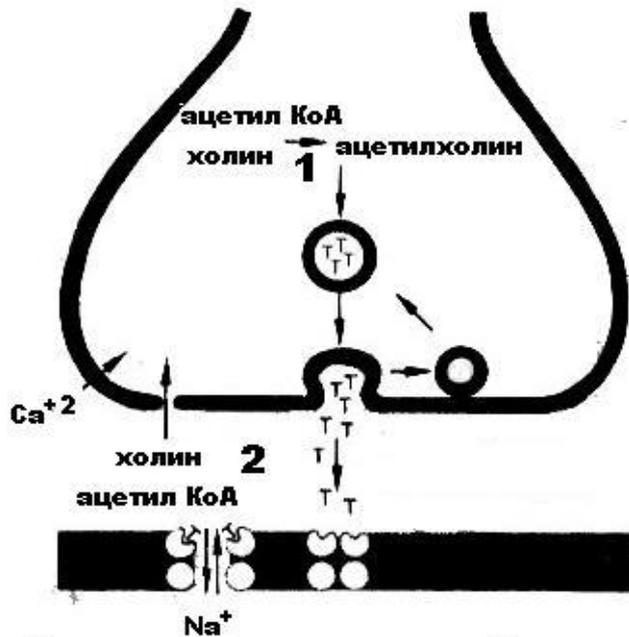
- В мозге холинергические нейроны выявляют с помощью антител к специфическим ферментам: холинацетилтрансферазы и ацетилхолинэстеразы.
- Холинергические нейроны и их проекции распределены повсеместно в мозге.
- Холинергическими нейронами являются интернейроны коры, основная масса – в подкорке: в базальном 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



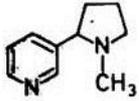
**1 - холинацетилтрансфераза**

**2 - ацетилхолинэстераза**

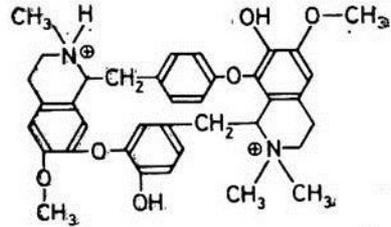
- Синтезированный медиатор упаковывается в везикулы (5 молекул на одну АТФ).
- Везикулы транспортируются в окончания и секретируются при деполяризации.
- Секреция регулируется ауторецепторами M<sub>2</sub> типа.
- Секретированный медиатор действует на постсинаптические рецепторы.
- Медиатор разрушается ацетилхолинэстеразой и холин захватывается в нейрон с помощью белка – транспортера.



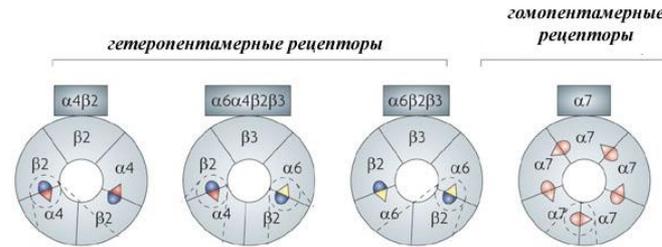
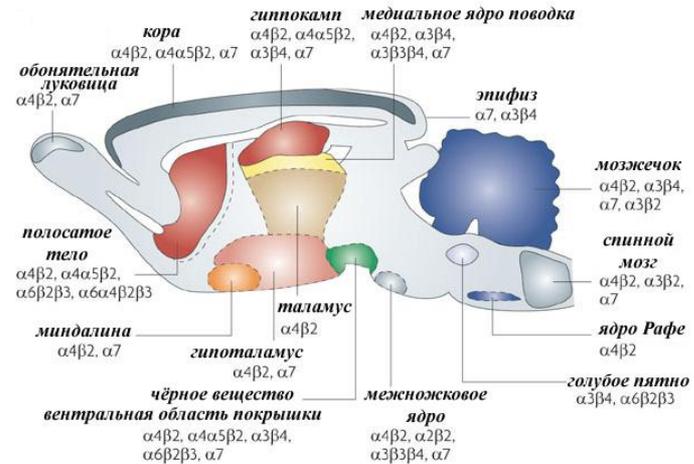
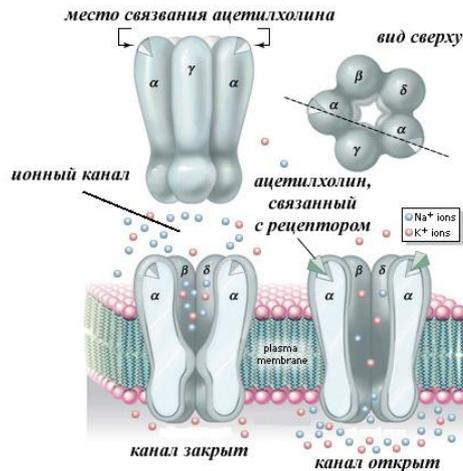
# Никотиновые рецепторы



НИКОТИН

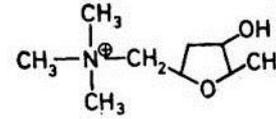


$\alpha$ -бунгаротин

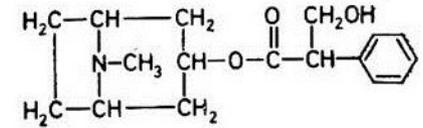


- Пентамеры, образованные 5 различными типами субъединиц  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$ .
- Существует  $\alpha$  - 10 и  $\beta$  - 4 субъединиц. Медиатор связывается с  $\alpha$  субъединицами.
- Рецептор нервно-мышечного соединения имеет состав  $\alpha 1_2\beta 1\gamma\delta$ .
- Чувствительные к  $\alpha$ -бунгаротоксину рецепторы в ЦНС являются гомопентамерами  $\alpha 9_5$  и  $\alpha 7_5$ .
- Нечувствительные к  $\alpha$ -бунгаротоксину рецепторы в ЦНС имеют состав  $\alpha_2\beta_3$ , где  $\alpha 2$  -  $\alpha 6$ , а  $\beta 2$  -  $\beta 4$ .
- Регулируют активность поперечно-полосатых мышц. В мозге их плотность невелика. А функция еще не ясна. Обезболивающий эффект никотина.

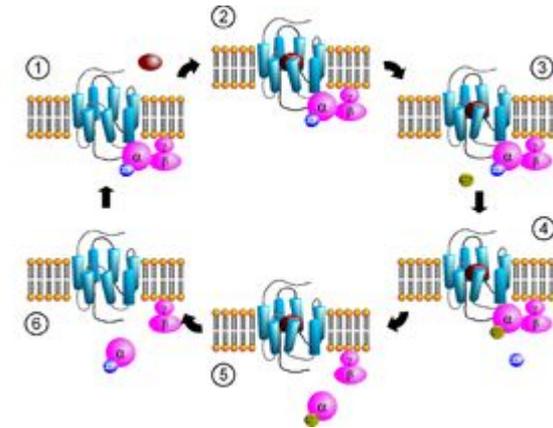
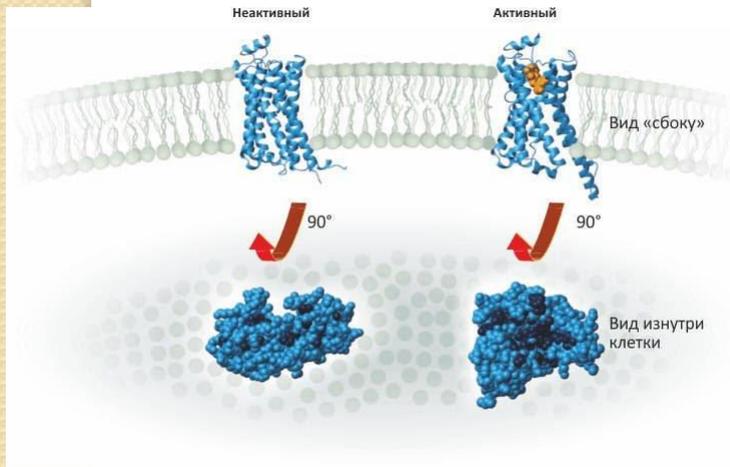
# Мускариновые рецепторы



*Мускарин*



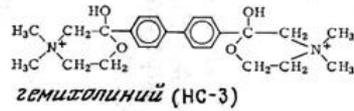
*Атропин*



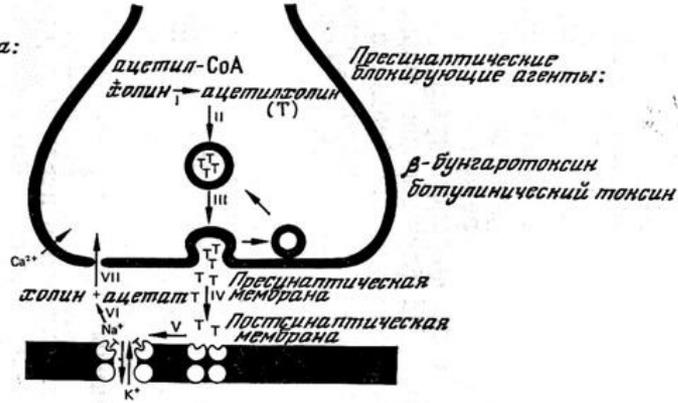
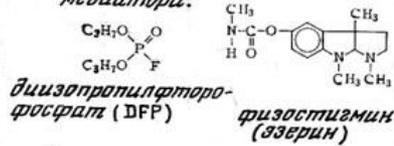
- Пять типов рецепторов, сопряжены с G белками.
- $M_1$ ,  $M_3$  и  $M_5$  сопряжены с  $G_q$  белками.  $M_2$  и  $M_4$  сопряжены с  $G_i$  белками.
- Основной тип рецепторов ацетилхолина в мозге и вегетативной нервной системе.
- Активация рецепторов карбахолом вызывает возбуждение и тремор, который 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:



Ингибиторы инактивации медиатора:



<sup>a</sup>Nicotine  
Carbechol  
Arecoline

<sup>a</sup>Tetramethylammonium  
<sup>a</sup>Phenyltrimethylammonium  
<sup>a</sup>Dimethylphenylpiperazine  
Suberyldicholine

D-Tubocurarine  
Succinylcholine (depolarizing, desensitizing)  
Decamethonium (depolarizing, desensitizing)  
Gallamine  
<sup>a</sup>Pempidine  
<sup>a</sup>Mecamylamine  
<sup>a</sup>Hexamethonium  
<sup>a</sup>Pentolinium  
Pancuronium  
α-Bungarotoxin

Muscarine  
Carbechol  
Methacholine  
Bethanechol  
Pilocarpine  
Arecoline  
Oxotremorine

Atropine  
Scopolamine (hyoscine)  
<sup>b</sup>Benztropine  
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.