

Нейротоксичность возбуждающих аминокислот и заболевания центральной нервной системы

И. С. Магура, О. М. Рожманова

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины
252024, Киев, ул. Богомольца, 4

Избыточная активация рецепторов возбуждающих аминокислот приводит к повышению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в нервных клетках, что может вызывать активацию протеинкиназ, фосфолипаз, протеаз, NO синтазы, нарушение функции митохондрий, накопление свободных радикалов и изменение экспрессии генов. Транзиторный интенсивный приток Ca^{2+} в клетку может быть причиной неконтролируемой активности этих потенциально летальных процессов. Основным возбуждающим медиатором является L-глутамат. Гибель нейронов, сопровождающая воздействие возбуждающих аминокислот, является критическим фактором, общим для различных неврологических заболеваний от инсульта, черепно-мозговых травм, эпилепсии до таких хронических нейродегенеративных заболеваний, как болезнь Хантингтона, амиотрофический боковой склероз, болезнь Альцгеймера. Токсическое действие возбуждающих аминокислот возрастает при нарушениях энергетики нейронов. Оно также зависит от эффективности функционирования механизмов обратного захвата нейромедиаторов и состояния рецепторов возбуждающих аминокислот.

L-глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором центральной нервной системы. Взаимодействуя с ионотропными и метаботропными рецепторами, глутамат вовлекается в такие сложные процессы, как обучение и память [1, 2]. Избыточная активация рецепторов возбуждающих аминокислот, глутаматных и аспартатных, приводит к дегенерации и гибели нейронов [3, 4].

Это явление было названо эксайтотоксичностью [5]. Клеточные механизмы, ответственные за гибель нейронов после активации рецепторов возбуждающих аминокислот, сложны и мало изучены. Эксайтотоксическим повреждениям нейронов способствуют избыточное высвобождение возбуждающих аминокислот, нарушение их обратного захвата, нарушение энергетического метаболизма нейронов [6—8].

Эксайтотоксичность играет важную роль в механизмах, вызывающих гибель нервных клеток при различных острых и хронических заболеваниях нервной системы, в частности, ишемии мозга, гипогликемии, черепно-мозговых травмах, эпилепсии

и таких нейродегенеративных заболеваниях, как болезнь Хантингтона, болезнь Альцгеймера, амиотрофический боковой склероз [6]. Для последних характерна медленная, последовательная и неотступная гибель нейронов, не сопровождающаяся интенсивной тканевой реакцией или воспалительным ответом. Начало этих заболеваний часто неуловимо [8]. Происходит избирательная потеря определенных групп нейронов. Избирательное повреждение нейронов является одной из особенностей хронических нейродегенеративных заболеваний, некоторых типов эпилепсии, гипоксии и ишемии мозга [6]. Получены доказательства того, что важную роль в их развитии играет избыточная стимуляция катионных каналов, управляемых глутаматом и другими возбуждающими аминокислотами. Это утверждение основано на изучении дегенерации нейронов в экспериментальных моделях [9].

Ионотропные рецепторы возбуждающих аминокислот. Возбуждающие аминокислоты, включая глутамат и аспартат, взаимодействуют по крайней мере с двумя разновидностями рецепторов. Первая из них связана с ионными каналами (ионотропные рецепторы). Они представлены N-метил-D-аспар-

татными (NMDA), кинурениновыми (КА) и α -амино-3-гидрокси-5-метилизоксазол-4-пропионатными (AMPA) рецепторами. Агонисты трех типов ионотропных рецепторов возбуждающих аминокислот могут вызывать дегенерацию нейронов как *in vivo*, так и *in vitro* [6, 9]. Второй разновидностью рецепторов возбуждающих аминокислот являются метаботропные рецепторы, связанные с образованием вторичных посредников — диацилглицерола и инозитолтрифосфата. Они широко представлены в различных нейронах и клетках глии [10—12]. Метаботропные рецепторы разделяют на восемь подтипов, в которых выделены три группы. Хотя метаботропные рецепторы непосредственно не вызывают нейротоксического действия возбуждающих аминокислот, их активность может усиливать или ослаблять нейротоксичность [6, 12]. NMDA рецепторы привлекают особое внимание в связи с их высокой проницаемостью для ионов Ca^{2+} , а также вследствие их вовлечения в такие феномены, как синаптическая пластичность, долгодлущаяся потенциация, обучение и память, нейродегенерация [1—3, 13]. Существуют сложные механизмы регуляции NMDA рецепторов. NMDA рецептор-канальный комплекс обладает стрихнин-нечувствительным местом связывания глицина, которое аллостерически модулирует активность катионного канала. Глицин является коагонистом NMDA рецепторов [14, 15]. Имсеется несколько модулирующих локусов, регулирующих поток катионов через ионный канал рецептора. Канал потенциалозависимо блокируется физиологическими концентрациями Mg^{2+} [16, 17]. Другими физиологическими модуляторами NMDA рецепторов являются ионы цинка [18], полиамины [19], а также внутриклеточные белки, такие как протеинкиназы, протеинфосфатазы, элементы цитоскелета [20]. Была обнаружена механичественность NMDA рецепторов [21]. Для них характерна высокая проводимость одиночного канала и относительно медленная активация и деактивация [16, 20].

Большую роль в физиологии и патофизиологии мозга играют эндогенные метаболиты с эксайтотоксическими и антиэксайтотоксическими свойствами. В этой связи определенный интерес представляют такие метаболиты L-кинуриенинового пути, как квинолиновая и кинурениновая кислоты [22, 23]. Оба соединения присутствуют в низкой концентрации в мозгу млекопитающих. Изменение их концентраций и метаболизма происходит при нейродегенеративных, психиатрических и иммунологических заболеваниях человека, а также в экспериментальных моделях на животных [24, 25]. Квинолиновая кислота является высокоселектив-

ным эксайтотоксическим агонистом NMDA рецепторов, тогда как кинурениновая кислота — антагонист широкого спектра ионотропных рецепторов возбуждающих аминокислот с исключительно высоким сродством к глициновому локусу NMDA рецептора [24]. Нейрозащитное действие кинурениновой кислоты обнаружено в экспериментальных моделях [24, 26]. Блокаторы NMDA рецептор-канального комплекса рассматривают как возможные средства защиты от эксайтотоксического повреждения нейронов. Это конкурентные антагонисты, препятствующие связыванию глутамата, и неконкурентные — связывающиеся с ионным каналом [27]. NMDA рецепторы нейронов различных областей мозга могут обладать различными фармакологическими особенностями [27].

Роль ионов кальция в эксайтотоксичности. Чрезмерная стимуляция NMDA рецепторов приводит к избыточному входу Ca^{2+} в нейроны с последующим их повреждением. Существуют убедительные доказательства того, что стимуляция КА и AMPA рецепторов также может вызывать токсические повреждения нейронов. КА и AMPA рецепторные каналы преимущественно проницаемы для одновалентных катионов [28], однако при определенной их субъединичной структуре они относительно хорошо проницаемы и для Ca^{2+} [29]. Активация КА и AMPA рецепторов может играть определенную роль в возникновении нейротоксичности, обусловленной избыточным накоплением Ca^{2+} внутри нейронов [6].

Стимуляция ионотропных глутаматных рецепторов вызывает деполяризацию мембраны, что приводит к активации потенциал-управляемых кальциевых каналов. Активация L-типа кальциевых каналов обеспечивает продолжительный приток Ca^{2+} в нейроны [30]. Повышение $[Ca^{2+}]_i$, вызванное возбуждающими аминокислотами, может быть следствием как увеличенного притока Ca^{2+} в клетку из внеклеточной среды, так и высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо [31]. Рост $[Ca^{2+}]_i$ активирует протеинкиназы, фосфолипазы, протеазы, NO синтазу, вызывает нарушение функции митохондрий и избыточное появление свободных радикалов [6]. Интенсивный транзитный приток Ca^{2+} может быть причиной неконтролируемой активности этих потенциально летальных процессов [4, 6, 31, 32]. Возрастает количество данных о том, что механизмы цитотоксичности, обусловливаемые различными возбуждающими аминокислотами, отличаются [31].

Функциональное состояние митохондрий является важнейшим фактором, определяющим повреждение нейронов вследствие эксайтотоксичности

[33]. Гибель нейронов, вызванная токсическим воздействием возбуждающих аминокислот, связывают с потерей Ca^{2+} гомеостаза [34]. Транзиторные изменения $[Ca^{2+}]_i$ могут инициировать такие процессы, как модуляция синаптической передачи, изменения в экспрессии генов [35—37]. Получены доказательства, что Ca^{2+} активирует «гены гибели клетки» [38]. Стимуляция NMDA рецепторов и потенциал-управляемых Ca^{2+} каналов нейронов в культуре индуцирует быструю транзиторную экспрессию таких генов, как *c-fos* и *zif/268* [39].

Когда ионы Ca^{2+} попадают в цитозоль, кальциевый сигнал превращается во внутриклеточный ответ благодаря Ca^{2+} -связывающим белкам, которые вовлекаются в разнообразные виды активности, в частности, они выполняют функцию Ca^{2+} буфера и обеспечивают его транспорт. Предполагают, что изменение уровня некоторых Ca^{2+} -связывающих белков может приводить к нарушению кальциевого гомеостаза в нервных клетках [39]. Особо важную роль играет взаимодействие с кальмодулином.

Комплекс кальций — кальмодулин связывается с рядом ферментов и модулирует их активность. Мультифункциональная Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (CaM киназа II) регулирует многие Ca^{2+} -зависимые процессы в нейронах: синтез и высвобождение нейромедиаторов, метаболизм углеводов, функцию цитоскелета и нейрональную пластичность. При эксцитотоксичной активации NMDA рецепторов происходит нарушение активности CaM киназы II, что может вызвать гибель нейронов [40, 41].

I. S. Magura, O. M. Rozhmanova

Нейротоксичність збуджуючих амінокислот і захворювання центральної нервової системи

Резюме

Надмірна активація рецепторів збуджуючих амінокислот веде до підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , що викликає активацію протеїнкіназ, фосфоліпаз, протеаз, NO синтази, порушення функцій мітохондрій, накопичення вільних радикалів і експресії генів. Транзиторний інтенсивний струм Ca^{2+} у клітину може неконтрольовано активувати ці потенціально летальні процеси. Загибель нейронів, що супроводжує надмірну дію збуджуючих амінокислот, є критичним фактором, засадним для різноманітних неврологічних захворювань від інсульту, черепно-мозкових травм, епілепсії до таких хронічних нейродегенеративних захворювань, як хвороба Хантінгтона, аміотрофічний латеральний склероз, хвороба Альцгеймера. Токсична дія збуджуючих амінокислот зростає при порушеннях енергетики нейронів. Вона також залежить від ефективності функціонування механізмів зворотного транспорту нейромедиаторів і стану рецепторів збуджуючих амінокислот.

I. S. Magura, O. M. Rozhmanova

Excitatory amino acids neurotoxicity and diseases of the central nervous system

Summary

Excessive activation of excitatory amino acids (EAA) receptors leads to increased intracellular Ca^{2+} followed by activation of protein kinases, phospholipases, proteases, nitric oxide synthase, impaired mitochondrial function, the generation of free radicals, and alterations in gene expression. A transient intense influx of Ca^{2+} may lead to uncontrolled activation of one or more of these potentially lethal processes. Neuronal death subsequent to excessive excitatory amino acids EAA-mediated excitation, often referred to excitotoxicity, stand out as a critical factor common to a variety of neurological disorders range from acute insults, such as stroke, hypoglycemia, trauma and epilepsy, to chronic neurodegenerative states including AIDS-dementia complex, Huntington's disease, amyotrophic lateral sclerosis and Alzheimer's disease. Neurons may become more vulnerable to excitotoxic insult by excessive release or abnormal leakage of the neurotransmitter, impaired uptake, the possession of abnormal excitatory amino acid receptor subtypes, or if cellular energy metabolism is impaired.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Collingridge G. L., Singer W. Excitatory amino acids and synaptic plasticity // Trends Pharmacol. Sci.—1990.—11.—P. 290—296.
- Collingridge G. L., Bliss T. V. P. Memories of NMDA receptors and LTP // Trends Neurosci.—1995.—18.—P. 54—56.
- Choi D. V. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system // Neuron.—1988.—1.—P. 623—634.
- Beal M. F. Mechanisms of excitotoxicity in neurologic disease // FASEB J.—1992.—6.—P. 3338—3344.
- Olney J. W. Glutamate induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus // J. Neuropathol. Exp. Neurol.—1971.—30.—P. 75—90.
- Coyle J. T., Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders // Science.—1993.—162.—P. 689—695.
- Rosenberg P. A., Amin S., Leitner M. Glutamate uptake disguises neurotoxic potency of glutamate agonists in cerebral cortex in dissociated cell culture // J. Neurosci.—1992.—12.—P. 56—61.
- Beal M. F., Hyman B. T., Koroshetz W. Do defects in mitochondrial energy metabolism underline the pathology of neurodegenerative diseases? // Trends Neurosci.—1993.—16.—P. 125—131.
- Lipton S. A., Rosenberg P. A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders // N. Eng. J. Med.—1994.—330.—P. 613—622.
- Nakanishi S. Metabotropic glutamate receptors: synaptic transmission, modulation, and plasticity // Neuron.—1994.—13.—P. 1031—1037.
- Pin J. P., Duvoisin R. The metabotropic glutamate receptors: structure and functions // Neuropharmacology.—1995.—34.—P. 1—26.
- Bruno V., Sureda F. X., Storto M. et al. The neuroprotective activity of group II metabotropic glutamate receptors requires new protein synthesis and involves a glial-neuronal signaling // J. Neurosci.—1997.—17.—P. 1891—1897.
- Rothman S. M., Olney J. W. Excitotoxicity and the NMDA receptor-still lethal after eight years // Trends Neurosci.—1995.—18.—P. 57—58.
- Johnson J. W., Ascher P. Glycine potentiates the NMDA

- response in cultured mouse neurones // *Nature*.—1987.—325.—P. 529—533.
15. Kleckner N., Dingledine R. Requirement for glycine in activation of NMDA receptors expressed in *Xenopus oocytes* // *Science*.—1988.—241.—P. 835—837.
 16. Mayer M. L., Westbrook G. L., Guthrie P. B. Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurons // *Nature*.—1984.—309.—P. 261—263.
 17. Nowak L., Bregestovski P., Ascher P. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurons // *Ibid.*—1994.—307.—P. 462—465.
 18. Westbrook G. L., Mayer M. L. Micromolar concentration of Zn^{2+} antagonise NMDA and GABA responses of hippocampal neurons // *Ibid.*—1987.—328.—P. 640—643.
 19. Williams K., Romano C., Dichter M. A., Molinoff P. B. Modulation of the NMDA receptor by polyamines // *Life Sci.*—1991.—48.—P. 469—498.
 20. McBain C. J., Mayer M. L. NMDA receptor structure and function // *Physiol. Rev.*—1994.—74.—P. 723—760.
 21. Paoletti P., Ascher P. Mechanosensitivity of NMDA receptors in cultured mouse central neurons // *Neuron*.—1994.—13.—P. 645—655.
 22. Guidetti P., Eastman C. L., Schwarcz R. Metabolism of [$5-^3H$] kynurenine in the rat brain *in vivo*: evidence for the existence of a functional kynurenine pathway // *J. Neurochem.*—1995.—65.—P. 2621—2632.
 23. Naritsin D. B., Saito K., Markey S. P. *et al.* Metabolism of L-tryptophan to kynurenate and quinolinate in the central nervous system: effects of 6-chlorotryptophan and 4-chloro-3-hydroxyanthranilate // P. 2217—2226.
 24. Stone T. W. Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids // *Pharmacol. Rev.*—1993.—45.—P. 309—379.
 25. Jhamandas K. H., Boegman R. J., Beninger R. J. Quinolinic acid induced brain neurotransmitter deficits: modulation by endogenous excitotoxin antagonists // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.*—1994.—72.—P. 1473—1482.
 26. Kessler M., Terramani T., Lynch G., Baudry M. A glycine site associated with N-methyl-D-aspartic acid receptors: characterization and identification of a new class of antagonists // *J. Neurochem.*—1989.—52.—P. 1319—1328.
 27. Porter R. H. P., Greenamyre T. Regional variations in the pharmacology of NMDA receptor channel blockers: implications of therapeutic potential // *Ibid.*—1995.—64.—P. 614—623.
 28. Mayer M. L., Westbrook G. L. The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate nervous system // *Progr. Neurobiol.*—1987.—28.—P. 197—276.
 29. Hollmann M., Hartley M., Heinemann S. Ca^{2+} permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition // *Science*.—1991.—252.—P. 851—853.
 30. Lipton S. A. Calcium channel antagonists in the prevention of neurotoxicity // *Adv. Pharmacol.*—1991.—22.—P. 271—297.
 31. Frandsen A., Schousboe A. Mobilization of dantrolene-sensitive intracellular calcium pools is involved in the cytotoxicity induced by quisqualate and N-methyl-D-aspartate but not by 2-amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl) propionate and kainate in cultured cerebral cortical neurons // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1992.—89.—P. 2590—2594.
 32. Schulz J. B., Henshaw D. R., Siwek D. *et al.* Involvement of free radicals in excitotoxicity *in vivo* // *J. Neurochem.*—1995.—64.—P. 2239—2247.
 33. Ankarcona M., Dypbukt J. M., Bonfoco E. *et al.* Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function // *Neuron*.—1995.—15.—P. 961—973.
 34. Choi D. W. Calcium: still center-stage in hypoxic-ischemic neuronal death // *Trends Neurosci.*—1995.—18.—P. 58—60.
 35. Meldolesi J., Vope P., Pozzan T. Intracellular distribution of calcium // *Ibid.*—1988.—11.—P. 449—452.
 36. Kennedy M. B. Regulation of neuronal function by calcium // *Ibid.*—1989.—12.—P. 417—420.
 37. Hardingham G. E., Chawla S., Johnson C. M., Bading H. Distinct functions of nuclear and cytoplasmic calcium in the control of gene expression // *Nature*.—1997.—385.—P. 260—269.
 38. Schreiber S. S., Baudry M. Selective neuronal vulnerability in the hippocampus — a role for gene expression? // *Trends Neurosci.*—1995.—18.—P. 446—451.
 39. Ghosh A., Greenberg M. E. Calcium signaling in neurons: molecular mechanisms and cellular consequences // *Science*.—1995.—268.—P. 239—247.
 40. Shurn S. B., Limbrick D., Sombati S., DeLorenzo R. J. Excitotoxic activation of the NMDA receptor results in inhibition of calcium-calmodulin kinase II activity in cultured hippocampal neurons // *J. Neurosci.*—1995.—15.—P. 3200—3214.
 41. Kolb S. J., Hudmon A., Waxham M. N. Ca^{2+} /calmodulin kinase II translocates in a hippocampal slice model of ischemia // *J. Neurochem.*—1995.—64.—P. 2147—2152.

Поступила в редакцию 19.12.97