

ISSN 1810-5033

**НОВОСТИ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК**

**NEWS
OF BIOMEDICAL
SCIENCES**

Минск

1 2005

НОВОСТИ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

NEWS
OF BIOMEDICAL SCIENCES

Научное издание

№ 1, 2005

*Основан в 2001 году как журнал «Известия Национальной академии наук
Беларуси». Серия «Медико-биологических наук»*

Выходит четыре раза в год

СОДЕРЖАНИЕ

ФИЗИОЛОГИЯ И ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ

Titovets E.P., Koshkin V.V., Parhach L.P. Oxygen-flux control of mitochondrial respiration and energy function.....	5
Soltanov V.V., Lukashenko T.M. The bulbar neuron activity after intracolonic or intraabdominal administration of lipopolysaccharide <i>E.coli</i> in conditions of experimental colitis in rats.....	14
Лукашенко П.В., Калюнов В.Н. Влияние персистенции цитомегаловирусной инфекции на генную экспрессию в клеточных линиях нейробластомы человека.....	19
Шишкова М.К., Семененя И.Н., Пономарев В.В. Содержание провоспалительных цитокинов в ликворе и сыворотке крови при постинфекционном субфебрилитете у больных.....	23
Morozova I.L. Adenosine modulates the colonic afferent activity in normal rats and experimental colitis rats.....	27
Сергеев В.А. Инверсии реакций гладких мышц толстого кишечника на действие норадреналина в условиях экспериментального колита у крыс.....	31
Поздняк Л.В. Влияние эндотоксина на реализацию висцеро-соматических ноцицептивных рефлексов после вертикального укачивания.....	35
Шишкова М.К. Сравнительная характеристика постинфекционного субфебрилитета и субфебрильной лихорадки.....	38

НЕЙРОМОРФОЛОГИЯ И НЕЙРОХИМИЯ

- Арчакова Л.И., Гурий В.Н. Субмикроскопические основы нейротропного действия липополисахарида в центральной и периферической вегетативной нервной системе..... 42

БИОХИМИЯ И ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

- Moiseenok A.G., Omelyanchik S.N., Gurinovich V.A., Yevkovich I.N., Petukhova T.P. CoA biosynthetic system under lipopolysaccharide and aluminium chloride intoxication 51
- Головач О.А., Таганович А.Д. Особенности ферментативного расщепления дипальмитоилфосфатидилхолина в альвеолярных макрофагах при недостатке кислорода, повышенной температуре инкубации и воздействии бактериальных эндотоксинов..... 56
- Судникович Е.Ю., Лапшина Е.А., Кубышин В.Л., Доманский А.В., Рудяк Т.В., Макара Е.А., Забродская С.В. Окислительные повреждения эритроцитов крысы, индуцируемые гипохлорной кислотой 61
- Луначик С.В., Надольник Л.И., Нецкая З.В., Виноградов В.В. Эффект однократного введения йодида калия в большой дозе на функциональную активность щитовидной железы интактных и адреналэктомированных крыс..... 66
- Чемитова Л.М., Голубович В.П., Кирковский В.В., Лобачева Г.А., Каменецкая Т.А. Исследование эластолитической активности в плазме крови больных с панкреатитом и пневмонией с помощью четырех хромогенных пептидных субстратов..... 72
- Кондыба Н.И., Ельчанинова М.А., Величко М.Г. Ферменты обмена этанола и ацетальдегида в печени мышей-опухоленосителей на фоне токсического гепатита 75

ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

- Байрамов А.А., Зайченко И.Н., Ефремов О.М. Боровских Н.А., Лосев Н.А., Сапронов Н.С. Холинергическая модуляция половой активности при остром и хроническом стрессе..... 78

БИОФИЗИКА И БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

- Лобко Н.Ф. Новый метод определения содержания олигопептидов в плазме крови..... 85
- Солтанов В.В., Бурко В.Е. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных..... 90

МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

- Наджарян Л.И., Афонин В.Ю., Войтович А.М., Котеленец А.И., Степанищева В.А. Воздействие эписмолана на репродуктивную функцию животных..... 96
- Войтович А.М., Огурцова С.Э., Трусова В.Д. Аберрации хромосом в клетках костного мозга мышей C57BL/6j и DBA/2 после воздействия митомицина С в условиях предварительной обработки фенотарбиталом и β-нафтофлавоном..... 101

ОБЗОРЫ

- Судаков К.В. 30 лет объединению научно-исследовательского Института нормальной физиологии им. П.К. Анохина Российской академии медицинских наук с кафедрой нормальной физиологии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова..... 105
- Труфакин В.А., Кривошеков С.Г., Щурлыгина А.В., Пасынкова Н.Р. Биоритмологические аспекты экологии человека..... 116
- Жук О.Н. Некоторые молекулярные механизмы нейротоксичности и эндогенной защиты при дисбалансе системы ионы аммония-глутамат..... 122

ЮБИЛЕИ

- Мартин Нихельман (к 65-летию со дня рождения) 130

*О. Н. ЖУК***НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ
И ЭНДОГЕННОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ДИСБАЛАНСЕ СИСТЕМЫ
ИОНЫ АММОНИЯ-ГЛУТАМАТ***Институт физиологии НАН Беларуси, Минск*

Не теряет своей актуальности проблема техногенной загрязненности окружающей среды химическими соединениями с последующим попаданием их в организм человека и животных. Она порождается интенсивным развитием промышленного комплекса, сопровождаемым ростом аварийности, и применением химикатов в сельском хозяйстве, которое привело к значительному наполнению почвы солями аммония [11, 55, 72, 73]. Аммиак образуется в организме в процессе жизнедеятельности. Нарушение равновесия между образованием, утилизацией и выделением данного метаболита, имеющее место при различных патологиях и экзогенных интоксикациях, вызывает изменение его уровня в крови. Он легко проникает через клеточные мембраны в ткани, в том числе и мозг, который весьма уязвим. Гипераммониемия приводит к неспецифическим метаболическим и иммунологическим нарушениям, снижению общей устойчивости организма [3, 5, 12, 65]. Нейротоксичность аммония вовлекается в механизмы постаноксических повреждений, эпилепсий и др. Наиболее показательным выражением его агрессивного влияния на мозг является развертывание нейродегенеративного заболевания с невропсихиатрическим синдромом, которое обычно определяется как гепатическая энцефалопатия (ГЭ). Она возникает при нарушении детоксической функции печени. В зависимости от длительности и степени дисфункции этого органа, ГЭ может проявляться в острой и хронической формах. Острая или молниеносная печеночная недостаточность проявляется клиническим синдромом быстрой атаки, возникающей при тяжелой воспалительной и/или некротической болезни печени. Неврологическое расстройство прогрессирует от изменения ментального статуса до комы в период от часов до дней. Смерть часто наступает от массивной эдемы мозга и повышенного внутричерепного давления. Медленно развивающаяся ГЭ сопровождается портально-системное шунтирование или цирроз. Симптоматика включает нарушение сна, рассеянное внимание, расстройство координации, летаргию, атаксию, переходящие в конечном итоге в ступор и кому. Гистопатологически ГЭ характеризуются изменениями, известными как астроглиоз Альцгеймера типа II. Результаты, полученные при изучении патогенеза ГЭ с использованием таких методических подходов, как моделирование обеих форм ГЭ на животных, исследование ткани мозга людей, которые скончались от этого заболевания, применение позитронной томографии и ядерного магнитного резонанса, указывают, что основную роль в патофизиологических механизмах ГЭ играет нейротоксичность аммония [36, 71].

Связь между аммонием и энцефалопатией была установлена более века назад работами Экка [44], который описал эффекты портакавального анастомоза у собак. Эта модель на животных представляет лучшую модель, разработанную на сегодняшний день в исследовании эффектов выключения нормальной гепатической детоксификации. Скармливание мяса таким собакам вызывало нарушение координации, ступор и кому. Это давало основание предполагать, что причинным фактором "мясной интоксикации" у этих животных были продукты обмена азота. В 1952 г. была сделана попытка лечения асцита с помощью ионообменной смолы, которая абсорбировала ионы натрия и выделяла ионы аммония. Такая терапия привела к значительной редукции объема асцита, но привнесла тяжелые неврологические симптомы, которые были неотличимы от ГЭ, вновь указывая на патологическую роль аммония [37]. Повышенные уровни его выявляются в аутопсийных образцах мозга всех людей, причиной смерти которых была ГЭ, и часто (но не всегда) в крови пациентов с таким же диагнозом. Легкостью, с которой аммиак поступает в мозг из крови, можно объяснить гиперчувствительность пациентов с циррозом к аммониегенным условиям (например, высокопротеиновая диета, гастроинтестинальные кровотечения) и дисфункцию мозга у некоторых пациентов с уровнями аммония в крови, близкими к норме.

Вследствие присущей ему лабильной природы аммиак невозможно точно измерить в посмертных образцах мозга человека. Однако, используя соответствующие методы фиксации, уровни этого

соединения в мозге животных в стадии комы при экспериментальной ГЭ определяются в пределах 1-5 мМ [71].

Аммиак. Аммиак – весьма ядовитое вещество, особенно для нервной системы. Он легко диффундирует через плазматическую мембрану и взаимодействует в цитозоле с ионами H^+ , образуя NH_4^+ , в результате чего внутриклеточная концентрация ионов водорода падает и возрастает рН. Основную роль в устранении аммиака играет глутаминовая кислота, которая способна связывать аммиак с образованием глутамина. Непосредственный ее источник в мозговой ткани – путь восстановительного аминирования α -кетоглутаровой кислоты, в результате чего происходит отток α -кетоглутарата из пула промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты в митохондриях мозга и как следствие – снижение скорости окисления глюкозы, играющей роль главного поставщика энергии для клеток мозга. Глутамин – нейтральное нетоксическое соединение, способное легко проходить через клеточные мембраны. Этим он отличается от глутамата, который не обладает такой способностью, поскольку его молекулы несут суммарный отрицательный заряд. Глутамин попадает в кровь и ее током доставляется в печень, где под действием глутаминазы превращается в глутамат и аммиак, а последний, присоединяя HCO_3^- , конвертируется в безобидную молекулу мочевины [10]. Дисбаланс цикла мочевины в печени приводит к тому, что аммиак не выводится из организма, кумулируется в тканях, где может оказывать прямое токсическое действие. В нервной системе при этой ситуации нарушается процесс удаления глутамата из межклеточных щелей и происходит его накопление. Церебральный цикл мочевины отсутствует, что делает мозг почти полностью зависимым от синтеза глутамина как средства удаления аммония. Выявление 2–5-кратного повышения концентрации глутамина в образцах аутопсийного мозга людей свидетельствует, что он подвергался действию высоких доз аммония [47]. При этом, концентрация глутамина ЦНС хорошо коррелирует (лучше, чем другие изученные на сегодняшний день биохимические параметры) с тяжестью неврологических симптомов у пациентов с ГЭ [58].

Глутамат. Глутаминергическая система, медиаторами которой являются основные возбуждающие аминокислоты – глутамат и аспартат, занимает центральное место среди аминокислотных нейромедиаторных систем. Проекционные и вставочные нейроны этой системы выявляются в неокортексе, гиппокампе, мозжечке, обонятельной луковице, а глутаминергические синапсы, содержащие NMDA и не-NMDA рецепторы глутамата, широко представлены в неокортексе, гиппокампе, полосатом теле, гипоталамусе, мозжечке, миндалине. Поэтому данная система мозга принимает участие практически во всех его функциях, регулируя уровень возбуждения нейронов [1, 4, 13, 14]. Глутамат синтезируется в нейронах из предшественника – глутамина, хранится в синаптических пузырьках и выделяется через Ca^{2+} -зависимый механизм. Глутамат может действовать на постсинаптические глутаматные рецепторы (ионотропные, а также метаботропные). В организации эффектов глутамата принимают участие астроциты, которые, хотя и способны выделять эту аминокислоту, в основном выполняют функцию утилизации избытков глутамата, секретированного нейронами, поглощая его и метаболизируя до глутамина [64].

Астроциты удаляют глутамат из межклеточного пространства через Na^+ -зависимый механизм [48], поддерживая его внеклеточную концентрацию на уровне 0.3 мкМ [19]. Внутриклеточные концентрации глутамата составляют примерно 3 мМ, создавая 10000-кратный градиент между этими двумя компартментами. В астроцитах глутамат метаболизируется до глутамина при помощи астроцит-специфической глутаминсинтетазы и использования аммония. Этот процесс требует высоких затрат энергии [16]. Ключевые шаги синаптической регуляции и удаления аммония мозга представлены на рисунке. (В нейроне: глутамат синтезируется из его предшественника глутамина, хранится в синаптических пузырьках и выделяется через Ca^{2+} -зависимый механизм. Он действует на любой из глутаматных рецепторов (NMDA, не NMDA, метаботропные), которые находятся на мембране постсинаптических нейронов. В астроцитах: глутамат с помощью глутаминсинтетазы конвертируется в глутамин, используя NH_3 [71])

При хронической экспозиции первичных культур астроцитов крыс в среде, насыщенной ионами аммония, снижается образование глутамина и повреждается энергетический метаболизм астроцитов [20]. Редукция астроцитами способности метаболизировать аммоний увеличивает его концентрацию (и глутамата) во внеклеточной жидкости, что в свою очередь способствует аккумуляции глутамина нейронами и уменьшенному потреблению глюкозы в мозге. Последнее может привести к серьезным сбоям его метаболизма [46, 47]. Увеличение внутриклеточного содержания аммония влечет за собой подавление синтеза предшественников нейронального глутамата, снижение глутаматергической нейротрансмиссии, ингибирование поглощения нейротрансмиттера (глутамата) и изменение рецептор-опосредованных метаболических ответов астроцитов на нейрональные сигналы [15]. Взятые вместе, эти данные позволили заключить, что астроциты страдают первично по отношению к нейронам [18].

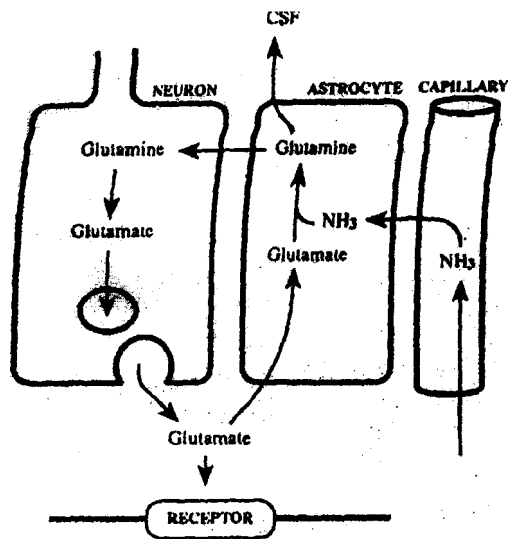


Рис. Ключевые шаги регуляции глутаминергического синаптогенеза и удаления аммония из мозга (CSF – спинномозговая жидкость) [71].

Результатом воздействия высоких доз глутамата на нервные клетки является уменьшение активности холинэстеразы, супероксиддисмутазы, стрептоавидинпероксидазы и увеличение выделения лактатдегидрогеназы [97]. Так, в культивируемых кортикальных нейронах глутамат (в концентрации от 100 мкМ до 1мМ при экспозиции в течение 60 мин) увеличивал активность лактатдегидрогеназы и инициировал гибель нейронов, которая протекала в основном по апоптотическому типу [49]. Повышенные концентрации аммония и глутамата нарушают фосфорилирование белков, а также индуцируют образование аномально фосфорилированного тау-белка, являющегося маркером болезни Альцгеймера [2]. Массивное выделение глутамата при экспериментальной ишемии мозга как прямо, так и опосредованно ведет к запуску механизма суицида клеток [54].

Таким образом, метаболизмы аммония и глутамата в мозге тесно взаимосвязаны и при естественных концентрационных условиях обеспечивают нормальное функционирование нервной системы.

Рецепторы глутамата. Эффекты глутамата на нервные и ненервные клетки опосредуются несколькими подтипами специализированных рецепторов. Их классифицируют прежде всего на основе изучения действия широко известных аналогов глутамата: N-метил-D-аспартата (NMDA), α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты (AMPA) и каиновой кислоты.

Ионотропные глутаматные рецепторы – NMDA и не-NMDA-рецепторы (к ним относятся рецепторы AMPA и каиновой кислоты) в нервной системе близки по своим физико-химическим свойствам и распространенности. Это гликопротеидные комплексы, формирующие ионные потенциалзависимые каналы для Na⁺, K⁺, Ca²⁺ и управляющие ими [1]. Метаботропные глутаматные рецепторы – mGlnR1 – реализуют сигнал через G-белки и систему внутриклеточных посредников – инозитолтрифосфатов, диацилглицерола, ионов кальция и др., а метаботропные глутаматные рецепторы – mGlnR2 – опосредуют сигнал, подавляя синтез цАМФ или активируя синтез цГМФ. Последнее наблюдается в мозжечке.

Открытие каналов NMDA зависит от связывания глутамата и первичной деполяризации мембраны. Сверхактивация рецепторов AMPA и NMDA, особенно в условиях метаболического и оксидативного стресса, инициирует каскад событий, включенных в активацию протеаз и дисфункцию митохондрий, что может привести к "эксайтотоксической" гибели клетки [40]. В частности, *in vivo* показано, что в головном мозгу крыс гипераммониемия вызывает чрезмерную активацию рецепторов NMDA с быстрым увеличением содержания внутримитохондриального Ca²⁺ и последующим уменьшением скорости его поглощения митохондриями клеток [52]. Эксайтотоксичность, вызванная избыточной активацией глутаматных рецепторов, как постулировано, лежит в основе гибели клеток, которая происходит после ишемического или травматического повреждения мозга, а также при ряде нейродегенеративных заболеваний, включая болезни Альцгеймера и Гентингтона, эпилепсию и др. [27]. И хотя ее связывают с пролонгированным и чрезмерным повышением внутриклеточного Ca²⁺ [52], мало известно о последующих событиях, которые в конечном итоге ведут к гибели клетки. Данные, представленные разными лабораториями, наводят на мысль, что имеет место активация как некротических, так и апоптотических путей [34]. Полагают, что глутаматные нейрорецепторы могут

служить маркерами деструктивных повреждений возбуждающих глутаматергических путей головного мозга и участвовать в аутоиммунных реакциях организма человека [34].

Гипераммониемия, повышая содержание глутамата в экстрацеллюлярной жидкости головного мозга, одновременно меняет содержание и функцию глутаматных рецепторов различных типов, нарушает глутаматные сигнальные пути. Поскольку глутаматергическая нейротрансмиссия модулирует важные процессы в центральной нервной системе, нарушение баланса между ее составляющими (глутамат – ионы аммония – глутамин) ведет к серьезным нейропсихическим расстройствам, в частности, изменению ритма сон–бодрствование, снижению интеллектуальных способностей, нарушению координации движений [69]. Клиническим проявлением гипераммониемии является нарушение поведенческих реакций и способности к обучению [3, 6, 7].

Роль астроцитов. Ответственными за функционирование системы ионы аммония–глутамат в настоящее время считают астроциты, занимающие около 25% объема ЦНС. Их тела образуют пограничный слой под мягкой мозговой оболочкой, а отростки – слой "концевых ножек" вокруг кровеносных сосудов. Считается, что у этих клеток бледная, "водянистая" цитоплазма, в которой практически нет гранулярного эндоплазматического ретикулула и сравнительно мало митохондрий. Различают два типа астроцитов – протоплазматические и волокнистые. Между ними нет ясных различий в структуре, если не учитывать того, что в волокнистых содержатся многочисленные пучки фибрилл. Наличие их часто интерпретируется как старение данной клетки или изменение ее функционального состояния.

Астроцитам обычно приписывают важную роль в обмене веществ между нейронами и кровеносной системой. Их "ноги"-отростки тесно связаны с синапсами, перехватами Ранвье, аксональными трактами и базальной мембраной кровеносных сосудов – в основном капилляров. Астроглия участвует во многих важных физиологических и патологических процессах, включая направление мигрирующих нейробластов во время онтогенеза ЦНС, формирование гематоэнцефалического барьера, регуляцию концентрации нейротрансмиттеров в синаптических щелях и реакцию ЦНС на различные повреждения и патологические процессы [94]. На последние она откликается реактивным астроглиозом, который характеризуется пролиферацией, гиперплазией, экстенсивной гипертрофией клеток, усиленным ветвлением астроцитарных отростков с формированием клеток звездчатой формы, увеличением синтеза глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) [35, 50]. Реактивные астроциты могут также синтезировать и выделять ряд протеиновых ростовых факторов, нейротрофинов и плейотрофинов. Хотя точный ход событий, включенных в инициацию астроглиоза, остается неясным, в запуск этого феномена вовлечен ряд молекул, включая ростовые факторы, цитокины и основной белок миелина [76]. К функции астроцитов относится секреция нейроростовых факторов, контроль экстрацеллюлярного pH, поглощение и метаболизм нейротрансмиттеров, свободных аминокислот, а также инактивация глутамата. Энзим глутаминсинтетаза, ответственный за детоксикацию аммония в мозге, локализуется почти исключительно в астроцитах [98]. Не удивительно, что при интегральной роли, играемой этими клетками, неврологическая картина при хронической печеночной недостаточности проявляется в первую очередь астроцитарной дисфункцией и повреждением. Как указывалось выше, гистопатологически в *post mortem* срезах головного мозга людей с ГЭ выявлялся астроцитоз Альцгеймера типа II. Он наблюдался также в мозге крыс при других хронических гипераммонийных состояниях, например, возникающих из-за врожденных дефектов энзимов цикла мочевины или вследствие инфузии уреазы [74]. Эти данные служат дополнительным подтверждением патофизиологической связи между хронической гипераммониемией и нарушением структуры и функции астроцитов, как и то, что: 1) морфометрические исследования мозга крыс с портокавальным анастомозом, постоянно получавших с пищей соль аммония, демонстрировали увеличение количества астроцитов и их размеров, признаки пролиферации и набухание в них митохондрий [56, 96.]; 2) увеличивается плотность локализованных на мембране митохондрий астроцитов рецепторов [3H]PK-1195 (так называемых бензодиазепиновых рецепторов периферического типа) в ткани аутопсийного мозга от пациентов с циррозом печени [85], в мозге портокавально-шунтированных крыс [39] и в мозге мышей с хронической гипераммониемией, возникающей из врожденной недостаточности энзима цикла мочевины [78], 3) активность астроцитарного маркера энзима глутаматсинтетазы уменьшается в мозге пациентов, которые умерли в гепатической коме [57], в мозге портокавально-шунтированных крыс и в первичных культурах астроцитов, экспонированных в уровнях аммония, эквивалентных наблюдаемым в мозге животных в гепатической коме [19].

Роль NH₄⁺ в эдеме мозга. Повышенные концентрации аммония мозга могут быть причинно связаны с феноменом церебральной эдемы. Увеличенные уровни воды в мозге были описаны у собак с уреазо-индуцированной гипераммониемией [61] и у крыс после инфузии ацетата аммония [86]. Обработка изолированных срезов коры головного мозга аммонием в концентрациях, эквивалентных

описанным для мозга при острой печеночной недостаточности, приводит к значительному их набуханию [38]. Подобное наблюдается после инфузии аммония у приматов [92] и при выдерживании культивируемых астроцитов в миллимолярных концентрациях аммония [75]. Как указывалось выше, удаление аммония в мозге зависит от синтеза глутамина. Обнаружена значительная корреляция между повышением глутамина и концентрацией воды в мозге нормальных крыс, инфузировавшихся аммонием [61, 86]. Поскольку при нормальных физиологических условиях транспорт глутамина принимает участие в движении воды в мозге [91], предполагается, что вызванное аммонием повышение содержания жидкости мозга опосредуется осмотическими эффектами глутамина у этих животных [86]. Введение аммония крысам после портокавального анастомоза приводило к отеку такой величины, что повышалось внутричерепное давление [93]. Значительное увеличение концентрации глутамина выявлено в ткани мозга людей, умерших от острой печеночной недостаточности [79]. При экспериментальной ишемической печеночной недостаточности концентрация глутамина мозга увеличивалась шестикратно параллельно с задержкой воды в ткани мозга этих животных [26]. Предположение о важной роли глутамина в развитии отека мозга поддерживается данными, что обработка животных метионинсульфоксимином, ингибитором синтеза мозгового глутамина, предотвращала повышение как уровня глутамина, так и содержания воды в мозге. Однако описана дозозависимая редукция уровней глутамина при увеличении концентрации этого ингибитора, хотя содержание воды мозга при этом не уменьшалось [21, 22], в предположении, что отека с увеличенной аккумуляцией глутамина связана не прочно.

Взятые вместе эти данные представляют достаточно обоснованные доказательства, поддерживающие роль аммония через один или более его метаболитов в патогенезе отека мозга.

Взаимодействие между нейротрофинами и глутаматом. Нейротрофины – генное семейство нейротрофных молекул пептидной природы, включающее фактор роста нервов (NGF), мозгопроизводный фактор роста (BDNF), нейротрофины 3, 4/5, 6 (NT3, NT4/5, NT6), опосредующие свое действие на клетки через общий низкоаффинный рецептор p75 и высокоаффинные тирозинкиназные рецепторы TrkA, TrkB и TrkC. NGF отдает предпочтение рецептору TrkA, BDNF и NT4/5 – TrkB, а NT3 – TrkC. Нейротрофины регулируют выживание и дифференциацию различных типов нейронов во время развития, а в зрелости – поддерживают их фенотип и пластичность [60]. На всех этапах развития имеет место синергическое взаимодействие между Glu и NGF [33] или другими нейротрофинами [70]. Сохраняется оно и у взрослых нейронов [68].

И нейротрофины, и глутамат играют существенную роль в модулировании нейрональной пластичности [29, 68, 89], которая опосредуется как пре-, так и постсинаптическими механизмами. Пресинаптически нейротрофины повышают выделение нейротрансмиттеров – глутамата и ацетилхолина [41, 51, 62, 63]. Постсинаптически BDNF повышает трансмиссию через рецепторы NMDA [59] и ослабляет через рецепторы GABA(A) [87]. Баланс между активностью Glu- и GABA-ергическими системами контролирует физиологические уровни BDNF и NGF mRNAs в гиппокампальных нейронах *in vivo* и *in vitro*. Блокада глутаматных рецепторов и/или стимуляция GABA-ергической системы редуцирует уровни BDNF- и NGF- mRNAs в гиппокампе, а самого протеина NGF – в гиппокампе и септуме. Редукция NGF в септуме отражает снижение количества этого нейротрофина в проекционном поле зависимых от него холинергических нейронов. Эти нейроны не синтезируют NGF сами, но аккумулируют его посредством захвата и ретроградного аксонального транспорта. Такая тонкая и быстрая регуляция синтеза BDNF и NGF Glu- и GABA-трансмиссивными системами предполагает, что эти факторы могут включаться в синаптическую пластичность [95]. Активация любого типа глутаматных рецепторов задействована в гибели нейронов, которая происходит в норме во время развития нервной системы, при различных нейродегенеративных заболеваниях, в том числе болезни Альцгеймера [31, 43, 66], боковом амиотрофическом склерозе [53, 80], при экспериментальных моделях удара [32], при удалении трофических факторов от культивируемых дофаминергических нейронов [82]. Сверхактивация рецепторов AMPA и NMDA, особенно в условиях метаболического и оксидативного стресса, инициирует каскад событий, включая активацию протеаз и дисфункцию митохондрий, ведущих к “эксайтотоксической” гибели клетки, которая может развиваться по некротическому либо апоптотическому пути в зависимости от интенсивности активации рецепторов или от других факторов, которые мало изучены [17, 84, 88]. Важную роль в координировании апоптотической гибели клеток играет активация семейства сериновых протеаз – каспаз [90]. Они расщепляют различные протеиновые субстраты, которые могут играть важные роли в опосредовании апоптоза, включая сжатие актина клеток и пузырчатость мембран; деградацию поли ADP-рибозополимеразы ядерной ДНК; подавление экспрессии NF- κ B генов, способствующих выживанию, Bcl-2-опосредованное нарушение проницаемости мембран митохондрий [30]. Ингибиторы каспаз и глутаматных рецепторов, могут протектировать нейроны от эксайтотоксической гибели [34, 45, 67, 88]. На первичных культурах астроцитов коры головного мозга крыс показано, что инкубация клеток в питательной среде, содержащей глутамат, дозозависимым образом индуцировала экспрессию NGF, рецептора основного фактора роста фибробластов

(bFGF) и протоонкогена *c-fos*. [77]. Экспозиция первичных сенсорных нейронов в среде, содержащей ростовые факторы, в том числе и NGF, уменьшает стимулированное брадикардином выделение ими глутамата [81]. Секретия нейротрофинов из нейронов гиппокампа регулируется активностью этих нейронов и опосредуется через возбуждающие нейротрансмиттеры глутамат и ацетилхолин [23, 24, 42]. Глутамат вызывает секрецию нейротрофинов через активацию метаболитных mGlu и ионотропных AMPA, но не NMDA рецепторов [23, 24]. Стимуляция рецепторов глутамата, как и рецепторов самих нейротрофинов, запускает трансдукционный сигнальный путь, включающий активацию фосфолипазы C с последующей мобилизацией Ca^{2+} из интрацеллюлярных хранилищ, который является общим механизмом секреции нейротрофинов [28]. В исследованиях, выполненных на культуре нейронов дорсальнокорешковых ганглиев, было показано, что сенсорная нейротрансмиссия, осуществляемая через глутамат, может модулироваться нейротрофинами (BDNF, NGF) через регуляцию гомеостаза внутриклеточного Ca^{2+} [81, 83].

Нами было показано также, что NGF, включаясь в метаболические события, может выступать в качестве агента, способного протектировать клетки нервной системы от повреждающего действия ионов аммония как *in vivo*, так и *in vitro*. Уровень этого нейроростового протеина повышается в головном мозге крыс при экспериментальной гипераммониемии [7], а его инфузия в межоболочечное пространство смягчает клиническую картину индуцируемой NH_4^+ энцефалопатии. При этом ослаблялась манифестация деструктивных изменений клеток нервной ткани, потенцировалось развитие в них репаративно-регенеративных процессов [5, 6, 9]. В культуральной системе NGF (100 нг/мл) предотвращал гибель различных типов клеток, в том числе первичных культур неокортекса и симпатических нейронов крыс, а также отзывчивых на NGF клеток крысиной феохромоцитомы PC12, индуцируемую внесением в питательную среду от 0,1 до 100 мМ NH_4Cl , сохраняя их жизнеспособность и морфофункциональные характеристики [8]. Эти результаты позволяют заключить, что NGF, включаясь в метаболические события, может выступать в качестве агента, способного протектировать клетки нервной системы от повреждающего действия ионов аммония.

Несмотря на то, что связь между тяжелыми нейродегенеративными процессами и дисбалансом обмена в системе аммоний-глутамат известна давно, многие аспекты ее развития и механизмы противодействия еще остаются неизученными. Их выяснение исключительно важно, поскольку поддержка выживания и сохранности структуры клеток нервной ткани, регуляция синтеза и инактивации глутамата и ионов аммония являются фундаментальными в становлении и функционировании нервной системы. Раскрытие механизмов эндогенной защиты обеспечит понимание этиопатогенеза ряда нейродегенеративных заболеваний, будет способствовать созданию эффективных путей их коррекции, как и последствий травматических повреждений. Данные, что NGF оказывает нейропротекторное действие при гипераммониемии, не только расширяют наши знания о функции этой молекулы, но и открывают перспективы исследований прикладного характера. Важным представляется изучение роли NGF в интимных процессах при дисбалансе системы ионы аммония-глутамат, в повышении степени морфологической пластичности мозга, что, с фармакологической точки зрения, поможет найти способ улучшить восстановление этой структуры после повреждения.

Литература

1. Ашмарин И.П., Стукалов П.В. Нейрохимия. М., 1996.
2. Бурбаева Г.Ш., Бокша И.С., Турищева М.С., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б., Воробьева Е.А. // Вестн. Росс. акад. мед. наук. 2001. № 7. С.34 – 37.
3. Володкович О.И., Жук О.Н., Петрусенко Г.П., Тумилович М.К. // В сб.: Здоровье и окружающая среда. Междунар. конф. к 75-летию НИИ санитарии и гигиены. Минск, 2002. Т. 1. С.194 – 198.
4. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. Функциональная биохимия синапсов. М., 1995.
5. Жук О.Н. // В сб.: Научно-правовое обеспечение социально-экономического и культурного развития Полесского региона в XXI веке. Минск, 2003. С.93 – 100.
6. Жук О.Н. // В сб.: Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности. Минск, 1999. С.64 – 65.
7. Жук О.Н., Калюнов В.Н., Лукашевич В.С., Петрусенко Г.П. // В сб.: Колосовские чтения-2002. Материалы. IV Междунар. конф. по функциональной нейроморфологии. СПб., 2002. С. 109.
8. Жук О.Н., Полукошко Е.Ф., Гронская Р.И., Лукашевич В.С., Калюнов В.Н. // В сб.: Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты. СПб., 2004. С. 98.
9. Жук О.Н. // В сб.: Фундаментальные проблемы морфологии. Минск, 2004. С.47 – 48.
10. Ленинджер А. Основы биохимии. М., 1985. Т. 2.
11. Литвинов Н.Н., Казачков В.И. // Мед. Тр. Пром. Экол. 1998. №9. С.1 – 12.
12. Петрусенко Г.П., Жук О.Н., Володкович О.И., Тумилович М.К., Калюнов В.Н. // В сб.: Экологическая антропология. Материалы VII Междунар. конф. Экология человека в постчернобыльский период. Минск, 1999. С. 411 – 415.

13. Хухо Ф. *Нейрохимия*. М., 1990.
14. Шеперд Г. *Нейробиология*. В 2 т. М., 1987. Т.1.
15. Albrecht J. // In: *The Role of Glia in Neurotoxicity*. / Aschner M., Kimelberg H.K., Eds. Boca Raton, FL. 1996. P. 137-153.
16. Albrecht J., Talbot M., Kimelberg H. K., Aschner M. // *Brain Res.* 1993. Vol. 607. P. 249 – 254.
17. Ankarcrona M., Dypbukt J. M., Bonfoco E., Zhivotovsky B., Orrenius S., Lipton S. A., Nicotera P. // *Neuron*. 1995. Vol.15, No 4. P.961 – 973.
18. Aschner M. // *FASEB*. 1996. Vol. 10. P. 1129 – 1136.
19. Aschner M., Allen J. W. // *Neurotoxicol.* 2000. Vol. 21, No 4. P. 573 – 580.
20. Aschner M., Du Y-L., Gannon M., Kimelberg H. K. // *Brain Res.* 1993. Vol. 602. P.181 – 186.
21. Blei A.T., Olafsson S., Therrien G., Butterworth R. // *Hepatology*. 1994. Vol. 19, No 6. P.1437 – 1444.
22. Blei A.T., Traber P.G. // In: *Hepatic Encephalopathy: Pathophysiology and Treatment*. / Butlerworth R.F., Pomier Layrargues G., Eds. Clifton. NJ. 1989. P.231 – 244.
23. Blochl A., Thoenen H. // *Eur. J. Neurosci.* 1995. Vol. 7, No 6. P. 220 – 228.
24. Blochl A., Thoenen H. // *Mol. Cell. Neurosci.* 1996. Vol. 7, No 3. 173 – 190.
25. Bonhoeffer T. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 1996. Vol. 6. P. 119 – 126.
26. Bosnian O.K., Chamuleau R.A.F.M., Bovee W.M.M.J., van Dijk J.R., Deutz E.P. // In: *Progress in Hepatic Encephalopathy and Metabolic Nitrogen Exchange*. // Bengtsson F., Jeppson B., Almdal T. Vilstrup H., Eds. Boca Raton. Ft. 1991. P. 197 – 209.
27. Bozzi Y., Vallone D., Borrelli E. // *J. Neurosci.* 2000. Vol. 20, No 22. P. 8643 – 8649.
28. Canossa M., Gartner A., Campana G., Inagaki N., Thoenen H. // *EMBO J.* 2001. Vol. 20, No 7. P.1640 – 1650.
29. Cellerino A., Maffei L. // *Prog. Neurobiol.* 1996. Vol. 49. P. 53 – 71.
30. Chan S. L., Mattson M. P. // *J. Neurosci. Res.* 1999. Vol. 58. P.167 – 190.
31. Cheng B., Davis D., Bryant K., Lieberburg I., Rydel R. E. // *J. Neurosci.* 1992. Vol. 12. P.376 – 389.
32. Choi D. W. // *J. Neurobiol.* 1992. Vol. 23. P.1261 – 1276.
33. Cohen-Cory S., Dreyfus C. F., Black I. B. // *J.Neurosci.* 1991. Vol. 11. P.462 – 471.
34. Du Y., Bales K. R., Dodel R. C., Hamilton-Byrd E., Horn J. W., Czilli D. L., Simmons L. K., Ni B., Paul S. M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. P. 11657 – 11662.
35. Eng L.F., Yu A.C. H., Lee Y.L. // *Prog. Brain. Res.* 1992. Vol. 94. P. 353 – 365.
36. Filipo V., Hermenegildo C., Montoliu C., Llansola M., Minana M. D. // *Neurotoxicology.* 1998. Vol. 19, No 4-5. P. 675 – 681.
37. Gabuzda D., Jr., Philips G. B., Davidson C. S. // *N. Eng. J. Med.* 1952. Vol. 246. P. 124 – 130.
38. Ganz R., Swain M., Traber P. P., DalCanto M., Butterworth R. F., Blei A. T. // *Metab. Brain Dis.* 1989. Vol. 4. P. 213 – 223.
39. Giguere J. F., Hamel F., Butterworth R. F. // *Brain Res.* 1992. Vol. 585. P. 295 – 301.
40. Glazner G. W., Chan S. L., Lu C., Mattson M. P. // *J. Neurosci.* 2000. Vol.20, No 10. P. 3641 – 3649.
41. Gottschalk W., Pozzo-Miller D., Figuero A., Lu B. // *J.Neurosci.* 1998. Vol. 18. P. 6830 – 6839.
42. Griesberg O., Canossa M., Campana G., Gartner A., Hoener M. C., Nawa H., Kolbeck R., Thoenen H. // *Microsc. Res. Tech.* 1999. Vol. 45, No 4-5. P. 262 – 275.
43. Guo Q., Fu W., Sopher B. L., Miller M. W., Ware C. B., Martin G. M., Mattson M. P. // *Nat. Med.* 1999. Vol. 5. P. 101 – 107.
44. Hahn M., Massen O., Nencki M., Pavlov J. // *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 1893. Vol. 32. P. 161 – 170.
45. Hara H., Friedlander R.M., Gagliardini V., Ayata C., Fink K., Huang Z., Shimizu-Sasamata M., Yuan J., Moskowitz M. A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. P. 2007 – 2012.
46. Hawkins R.A., Jessy J. // *Biochem J.* 1991. Vol. 277. P. 697 – 703.
47. Hawkins R.A., Jessy J., Mans A. M., De Joseph M. R. // *Neurochem.* 1993. Vol. 60. P. 1000 – 1006.
48. Hertz L. // *Prog. Neurobiol.* 1979. Vol. 13. P. 277 – 323.
49. Hirashima Y., Kurimoto M., Nogami K., Endo S., Saitoh M., Ohtani O., Nagata T., Muraguchi A., Takaku A. // *Brain Res.* 1999. Vol. 849, No 1-2. P. 109 – 118.
50. Kimelberg H.K., Norenberg M.D. // *Sci. Am.* 1989. Vol. 260, No 4. P.66 – 72.
51. Knipper M., Da Penha Berzaghi M., Blochl A., Breer H., Thoenen H., Lindholm D. // *Eur. J. Neurosci.* 1994. Vol. 6. P. 668 – 671.
52. Kosenko E., Kaminsky Y., Stavrovskaya I. G., Felipe V. // *Brain Res.* 2000. Vol. 880, No 1-2. P. 139 – 146.
53. Kruman I., Pedersen W. A., Mattson M.P. // *Exp. Neurol.* 1999. Vol. 160. P. 28 – 39.
54. Krupinski J., Lopez E., Marti E., Ferrer I. // *Neurobiol. Dis.* 2000. Vol.7, No 4. P. 332 – 342.
55. Kurtoglu S., Caksen H., Poyrazoglu M. H. et al // *J. Toxicol. Sci.* 2000. Vol. 25, No 2. P. 115 – 119.
56. Lamsen H., Diemer N. H. // *A. Neuropathol.* 1980 Vol. 51. P. 5 – 70.
57. Lavoie J., Giguere J.F., Pomier-Layrargues G., Butterworth R. F. // *Metab Brain Dis.* 1987. Vol. 2. P. 283 – 290.
58. Lavoie J., Giguere J. F., Pomier-Layrargues G., Butlerworth R. F. // *Neurochem.* 1987. Vol. 49. P. 692 – 697.
59. Levin E.S., Crozier R. A., Black I. B., Plummer M. R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. P. 10235 – 10239.
60. Levin G.R., Barde Y.A. // *Annu. Rev. Neurosci.* 1996. Vol. 19. P. 289 – 317.
61. Levin L.H., Kochler R.C., Brusilow S.W., Jones J., Traystman R. J. // In: *Intracranial Pressure*. / Hoff J.T., Betz A.L., Eds. Berlin. 1989. P. 1032 – 1034.

62. Li Y.X., Zhang Y. O., Lester H.A., Scuman E. M., Davidson N. // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18. P. 10231 – 10240.
63. Lohof A.M., Ip N.Y., Poo M.M. // *Nature.* 1993. Vol. 363. P. 350 – 353.
64. Martin D. // *Glia.* 1992. Vol. 5. P. 81 – 94.
65. Mateo R., Hoffman D. J. // *J. Toxicol. Environ. Health.* 2001. Vol. 64, No 7. P. 531 – 545.
66. Mattson M. P., Cheng B., Davis D., Bryant K., Lieberburg I., Rydel R. E. // *J Neurosci.* 1992. Vol. 12. P. 376 – 389.
67. Mattson M. P., Keller J. N., Begley J. G. // *Exp. Neurol.* 1998. Vol. 53. P. 35 – 48.
68. McAllister A.K. // *Annu. Rev. Neurosci.* 1999. Vol. 22. P. 295 – 318.
69. Monfort P., Munoz M.D., ElAyadi F., Kosenko E., Felipo V. // *Metab. Brain Dis.* 2002. Vol.17, No 4. P. 237 – 250.
70. Morrison M.E., Mason C.A. // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18. P. 3563 – 3573.
71. Mousseau D.D., Butterworth R.F. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1994. Vol. 206, No 4. P. 329 – 344.
72. Muller L., Sivertsen T., Langseth W. // *Acta Vet. Scand.* 1998. Vol. 39, No 4. P. 511 – 514.
73. Neuman C.M., Giffin S., Hall R., Henderson M., Buhler D. R. // *J.Public Health Policy.* 2000. Vol. 21, No 3. P. 342 – 359.
74. Norenberg M., Martinez-Henandcz A // *Brain Res.* 1979. Vol. 161. No 2. P. 303 – 310.
75. Norenberg M.D., Baker L., Norenberg L.O.B., Blicharska J., Bruce-Gregarios J.H., Neary J.T. // *Neurochem. Res.* 1991. Vol. 16. P. 833 – 836.
76. Norton W.T., Aquino D.A., Hozumi I., Chiu F. C., Brosnan C. F. // *Neurochem. Res.* 1992. Vol. 17. P. 877 – 885.
77. Pechan P. A., Chowdhury K., Gerdes W., Seifert W. // *Neurosci. Lett.* 1993. Vol. 153, No 1. P. 111 – 114.
78. Raghavendra Ran V. L., Qureshi I. A., Butlenth R. F. // *Pediat Res.* 1993. Vol. 34. P. 777 – 780.
79. Record C. O., Buxton B., Chase R., Curzon G., Murray-Lyon I. M., Williams R. // *Eur. J. Clin. Invest.* 1976. Vol. 6. P. 387 – 394.
80. Rothstein J.D. // *Clin. Neurosci.* 1995. Vol. 3. P. 348 – 359.
81. Rydh-Rinder M., Kerekes N., Svensson M., Hokfelt T. // *Regul. Pept.* 2001. Vol.102, No 2-3. P. 69 – 79.
82. Schierle G.S., Brundin P. // *Exp Neurol.* 1999. Vol. 157. No 2. P. 338 – 348.
83. Sofroniev M. V. // *Annu. Rev. Neurosci.* 2001. Vol. 24. P. 1217 – 1281.
84. Staton P.C., Bristow D. R. // *J. Neurochem.* 1997. Vol. 69, No 4. P. 1508 – 1518.
85. Szerb I.C., Butterworth R. F. // *Prog. Neurobiol.* 1992. Vol. 39. P. 135 – 153.
86. Takahashi H., Koehler R. C., Brusilow S. W., Traystman R. J. // *Am. J. Physiol.* 1991. Vol. 261. P. H825 – H829.
87. Tanaka T., Saito H., Matsuki N. // *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17. P.2950 – 2966.
88. Tennen L., D'Emilia D. M., Troy C. M., Lipton S. A. // *J. Neurochem.* 1998. Vol. 71, No 3. P. 946 – 959.
89. Thoenen H. // *Science.* 1995. Vol. 270. P. 593 – 598.
90. Thornberry N. A. // *Br. Med. Bull.* 1997 Vol. 53. P. 478 – 490.
91. van Gelder N. M. // In: *Basic Mechanisms of Neural Hyperexcitability.* New York. 1983. P. 5 – 29.
92. Voorhoies T. M., Ehrlich M. E., Duffy T. E., Petito C. K., Plum F. // *Pediat. Res.* 1983. Vol. 17. P. 970 – 975.
93. Webster S., Therrien G., Butterworth R.F., Blei AT. // *Hepatology.* 1992. Vol. 16. P. 85A.
94. Wilken G. P., Marriott D. R., Cholewinski A. J. // *Trends Neurosci.* 1990. Vol. 13. P. 43 – 45.
95. Zafra F., Castren E., Thoenen H., Lindholm D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. Vol. 88. P. 10037 – 10041.
96. Zamora A. J., Cavanagh J. R., Kyu M. H. // *J. Neurol. Sci.* 1973. Vol. 18. P. 25 – 15.
97. Zhang J., Li L., Chen X., Zhang B., Wang Y., Yamamoto K. // *Neurosci. Lett.* 2000. Vol. 290, No 1. P. 21 – 24.
98. Zieve L. // In: *Diseases of the Liver.* / Schiff L., Schiff E. R., Eds. Philadelphia: Lippincott. 1982. P. 433 – 459.

O. N. ZHUK

SOME MOLECULAR MECHANISMS OF NEUROTOXICITY AND ENDOGENOUS PROTECTION DURING DISBALANCE OF THE AMMONIUM IONS-GLUTAMATE SYSTEM

Institute of Physiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

Summary

A review of the literature data and some own studies of the aggressive influence of ammonium on the brain is presented. An excess of the agent that occurs at disturbances of the detoxication function of the liver or poisoning with ammonium salts leads to impairment of all body systems and development of neurodegenerative disease with neuropsychiatric syndrome. A relation between an increased intracellular content of ammonium ions and an increased level of glutamate in the intercellular space of the nervous tissue, with subsequent activation of all glutamate receptor types and activation both of necrotic and apoptotic ways of cell death, is considered. A relationship between glutamate and neurotrophins in the modulation of neuroplasticity, as well as the ability of one of them, nerve growth factor, to protect nerve cells from the damaging action of ammonium ions are shown.