

УДК 577.113.3

Аденозин и P_1 -пуринергические рецепторы ЦНС**Ю.В. КИСЕЛЕВСКИЙ, Н.А. ОГАНЕСЯН**

Гродненский государственный медицинский университет



Киселевский Юрий Вацлавович - к.м.н., доцент, заведующий курсом клинической лабораторной диагностики и клинической биохимии, врач высшей квалификационной категории по лабораторной диагностике, заведующий отделением клинической лабораторной диагностики УЗ «ГКО «СМП» г. Гродно



Оганесян Николай Андроникович - ассистент курса клинической лабораторной диагностики и клинической биохимии, врач первой квалификационной категории по неврологии

Введение

Пуриновые нуклеотиды, такие как АТФ, ГТФ, нуклеозиды, как аденозин и гуанозин и основания аденин, гуанин и продукты их метаболизма - инозин, ксантин, гипоксантин, вплоть до мочевой кислоты, играют чрезвычайно многоплановую роль в разнообразных структурах центральной нервной системы. Кроме хорошо известных функций внутри клетки, пурины и их метаболиты в экстраклеточном пространстве выступают в качестве межклеточных сигнальных молекул. В ЦНС они реализуют эффекты, как минимум, двух типов: а) немедленные, например, нейромодуляция; б) трофические, заключающиеся в изменении метаболизма, структуры и функции клеток нервной системы.

В настоящем обзоре суммированы литературные данные о путях метаболизма аденозина, локализации, структурных и функциональных особенностях P_1 -пуринергических рецепторов, а также о нейромодуляторной и трофической функциях аденозина в ЦНС. Эти сведения могут послужить базой для поиска путей фармакологической коррекции и совершенствования способов лечения таких патологических состояний, как гипоксия и ишемия

В прогрессивно нарастающем за последние пять лет числе публикаций, посвященных роли пуринов в ЦНС, основное внимание сфокусировано на функции аденозина. Экспериментально подтверждена роль аденозина в качестве нейротрансмиттера и нейромодулятора в периферической и центральной нервной системе. Идентифицирован и в значительной мере изучен специфический пуринергический рецепторный аппарат. Установлена трофическая роль аденозина в нейронах и клетках глии, например, влияние на пластические изменения, вовлеченные в процессы памяти и обучения, стимуляция коллатерального роста нервных окончаний, нейропротекторные свойства, а также регуляция количества клеток посредством индукции апоптоза.

Ключевые слова: аденозин, метаболизм, головной мозг, пуринергические рецепторы, нейромодуляция, нейротрансмиссия, нейропротекция.

The progressively growing number of publications of the last five years, dedicated to the role of purines in CNS, focuses its attention on the function of adenosine. The role of adenosine in the central nervous system as a neurotransmitter and a neuromodulator has been proved experimentally. Specific purinergic receptors were identified and studied to a significant degree. It has been shown adenosine carries out the function of trophic and neuroprotective agent in neurons and glial cells.

Key words: Adenosine, metabolism, brain, purinergic receptors, neuromodulation, neurotransmission, neuroprotection.

мозга, эпилепсия, а также других заболеваний, связанных с увеличением нейрональной активности.

Источники образования и пути утилизации аденозина в центральной нервной системе.

Основным источником аденозина в мозге является реакция гидролиза АМФ, катализируемая 5'-нуклеотидазой. Данный фермент имеет две цитоплазматические эндоизоформы и одну, так называемую, эктоформу, расположенную снаружи цитоплазматической мембраны. [32]. В связи с такой компартментацией 5'-нуклеотидазы, аденозин может образовываться как внутри клетки, так и в экстраклеточном пространстве.

Биодеградация АТФ в результате активации метаболических процессов приводит к увеличению внутриклеточного пула АМФ и аденозина. Аденозин посредством специфических двунаправленных транспортеров поступает в экстраклеточное пространство как из нейронов, так и из клеток глии. Нейроны с высокой активностью цитозольной 5'-нуклеотидазы и аденозинового транспортера, но с низкой активностью аденозин-метаболизирующих ферментов (аденозиндеаминаза и аденозинкиназа) могут рассматриваться как аденозин продуцирующие клетки. Такие клеточные группы были обнаружены в различных регионах мозга [3].

Еще одним источником образования экстраклеточного аденозина является дефосфорилирование АТФ во внеклеточном пространстве. В экстраклеточном пространстве АТФ подвергается гидролизу при участии эктонуклеотидаз. Существование эктоаденозинтрифосфатазы подтверждено в экспериментах на синапсосамах мозга млекопитающих [26]. Продукт реакции – АДФ – подвергается дальнейшему дефосфорилированию до АМФ при участии эктоаденозиндифосфатазы, активность которой обнаружена на синапсосамах коры мозга и гипоталамуса [27]. Аденозин-5-монофосфат гидролизуется до аденозина в реакции, катализируемой экто-5'-нуклеотидазой. Иммуногистохимический анализ выявил наличие этого фермента на цитоплазматической мембране клеток глии и нервных окончаниях мозга крыс. [31].

Помимо АМФ, еще одним источником аденозина служит гидролиз S-аденозингомоцистеина под действием специфической гидролазы. Однако активность этого фермента в мозге низка, и вклад в формирование пула аденозина незначителен [6].

Физиологическая концентрация аденозина в экстраклеточном пространстве мозга находится в диапазоне 30-300 нМ. Этот уровень обеспечивает индукцию тонической активации отдельных типов аденозиновых рецепторов. Однако экспериментально установлено, что при некоторых патологических состояниях концентрация аденозина во внеклеточном пространстве резко возрастает (≥ 10 мкМ) [30].

Экстраклеточный аденозин подвергается обратному захвату как клетками глии, так и нейронами посредством специфических транспортеров. Существуют два типа транспортеров: равновесные и концентрационные. Равновесные транспортеры действуют по концентрационному градиенту и классифицируются в соответствии с их чувствительностью к ингибированию нитробензилтиоинозином. Концентрационные транспортеры осуществляют активный транспорт аденозина благодаря трансмембранному градиенту натрия, таким образом, являясь со-транспортерами [16]. Концентрационные транспортеры обычно нечувствительны к действию классических ингибиторов и классифицируются на основании их субстратной селективности к пуринам (N1/ci формицин В), пиримидинам (тимидин N2/cit) или к обоим (N3/cib) [17]. Скорее всего, концентрационные транспортеры осуществляют транспорт нуклеозидов внутрь клетки, в то время как двунаправленные равновесные системы обеспечивают высвобождение нуклеозидов во внеклеточное пространство [11]. При патологических состояниях, таких как инсульт, или в тех случаях, когда нарушены ионные градиенты, концентрационные транспортеры могут способ-

ствовать выходу нуклеозидов из клетки. Высвобождение аденозина посредством натрий-зависимого транспорта может приводить к повышению его концентрации во внеклеточном пространстве до миллимолярного уровня, например, при ишемии мозга [2].

Утилизация аденозина в клетке осуществляется по двум основным направлениям: 1) рефосфорилирование до АМФ в реакции, катализируемой аденозинкиназой; 2) дезаминирование и дальнейшая биодеградация до мочевиной кислоты. При увеличении уровня аденозина до концентраций, значительно превышающих физиологические, ведущую роль в утилизации этого нуклеозина приобретает реакция дезаминирования [23, 25]. Фермент дезаминирования аденозина – аденозиндеаминаза, является преимущественно цитозольным ферментом. Однако обнаружена и эктоформа аденозиндеаминазы. Каталитическая активность этого фермента в глии в 5 раз выше, чем в периферических ганглиях, и в 9 раз выше, чем в центральных нейронах [5].

Эктоферменты катаболизма пуриновых нуклеотидов эктоаденозинтрифосфатаза, экто5'-нуклеотидаза и эктоаденозиндеаминаза локализованы с наружной стороны синаптической мембраны. Сопряженные реакции, катализируемые данными ферментами, играют важную роль в регуляции локальных рецепторных эффектов аденозина. Действительно, связывание аденозиндеаминазы с A_1 -рецептором увеличивает его сродство к аденозину [7]. Таким образом, аденозиндеаминаза, помимо своей каталитической функции, влияет на процесс передачи сигнала через пуринергический рецепторный аппарат.

Аденозиновые рецепторы центральной нервной системы

На основании структурных и фармакологических характеристик выделяют четыре подтипа аденозиновых рецепторов: A_1 , A_{2A} , A_{2B} и A_3 , которые в совокупности составляют P_1 -тип пуринергических рецепторов (Таблица). Аденозиновые рецепторы структурно связаны с белками G и имеют семь характерных трансмембранных доменов [14].

A_1 рецепторы обнаруживаются практически во всех структурах мозга. Наибольшая их плотность определяется в коре мозга, гипокампе, ядрах таламуса, а также на холинергических нейронах основания мозга и пресинаптической мембране их аксонов в коре мозга [21]. В полосатом теле A_1 рецепторы локализованы на ГАМК-ергических нейронах, которые посылают свои проекции в бледный шар и черную субстанцию. Наличие мРНК A_1 рецепторов обнаружено в холинергических интернейронах стриатума. [10]. Рецепторы A_1 активируются низкими концентрациями аденозина (по-

рядка 10 нМ) и связаны с подклассом чувствительных к токсину коклюша белков G: Gi(1-3) и Go. Активация этого подтипа рецепторов приводит к снижению активности аденилатциклазы [15]. Кроме того, рецепторы A₁ действуют посредством других эффекторных систем. Установлено влияние стимуляции A₁ рецепторов на ионные каналы и фосфолипазу C и D. Многочисленные исследования свидетельствуют о способности A₁ рецепторов ингибировать кальциевые каналы в нейронах, что, вероятно, обусловлено гиперполяризацией мембраны за счет открытия калиевых каналов [31]. Другим механизмом является прямое ингибирующее воздействие G-белка рецептора на активность Ca²⁺-канала [13].

A₂ рецепторы аденозина подразделяются на основании степени сродства к аденозину и его структурным аналогам на два вида: A_{2A} и A_{2B}.

Рецепторы A_{2A} чувствительны к низким концентрациям аденозина (порядка 30 нМ). Аденозиновые рецепторы A_{2A} локализованы, главным образом, в дофаминергических структурах мозга. Кроме того, эти рецепторы обнаружены в коре мозга и гипокампе. [29]. В стриатуме A_{2A} рецепторы локализованы на определенном типе нейронов, характеризующихся высокой плотностью D₂-дофаминергических рецепторов и использующих в качестве основных нейромедиаторов ГАМК и энкефалины. [12]. Регуляторные влияния на этот подтип рецепторов модулируют активность постсинаптических дофаминовых рецепторов D₂-типа.

Рецепторы A_{2B} являются доминирующим типом пуринергических рецепторов в астроцитах. Считается, что этот тип рецепторов имеет значение, главным образом, при патологических состояниях, поскольку они активируются только очень высокими, нефизиологическими концентрациями аденозина.

Рецепторы A_{2A} и A_{2B} связаны с белками G_s и через них активируют аденилатциклазу, приводя к росту концентрации внутриклеточного цАМФ.

Рецепторы A₃ локализованы, преимущественно, в периферической нервной системе. Подтверждено их наличие также в стриатуме, гипокампе,

гипоталамусе и мозжечке, однако их количество, по сравнению, например, с A₁, незначительно. Активация этого типа пуринергических рецепторов сопровождается увеличением образования инозитолтрифосфата, и за этим следует рост концентрации внутриклеточного кальция [24].

Наиболее убедительно экспериментально показано действие аденозина, приводящее к уменьшению нейрональной активности [22]. На пресинаптическом уровне аденозин ингибирует высвобождение целого ряда нейротрансмиттеров, таких, как ацетилхолин, норадреналин, дофамин, серотонин, глутамат, ГАМК, посредством стимуляции A₁ рецепторов [9]. Кроме того, активация постсинаптических A₁ рецепторов приводит к снижению возбудимости нейронов путем увеличения мембранного потенциала покоя [18]. Наряду с ингибирующим эффектом аденозин способен стимулировать высвобождение нейротрансмиттеров путем активации пресинаптических A_{2A} рецепторов [13].

Широко обсуждается нейропротекторная роль аденозина при гипоксии и ишемии ЦНС [8, 19]. Исследования последних лет показали, что защитное действие аденозин осуществляет, главным образом, через A₁ подтип рецепторов. Ключевое значение в процессах ишемического повреждения ткани головного мозга играют возбуждающие аминокислоты, в избытке высвобождающиеся из патологического очага. Показано, что ишемический избыток глутамата индуцирует выброс аденозина. Последний, в свою очередь, посредством пресинаптических A₁ рецепторов блокирует ток ионов кальция через вольтаж-зависимые кальциевые каналы типа N и возможно типа Q, что, в свою очередь, блокирует дальнейшее нарастание высвобождения глутамата. Другой механизм нейропротекторного действия аденозина осуществляется через A₁ рецепторы, расположенные на постсинаптической мембране. Их активация открывает калиевые каналы и приводит к гиперполяризации постсинаптических нейронов. В результате снижается чувствительность NMDA-рецепторов и проницаемость постсинаптической мембраны для ионов кальция [30].

Таблица

Аденозиновые рецепторы в центральной нервной системе

Рецептор	Механизм передачи сигнала	Локализация
A ₁	Чувствительный к коклюшному токсину белок G _i /G _o : ↓ аденилатциклазу; ↑ K ⁺ проводимость; ↓ Ca ²⁺ проводимость; ↑ фосфолипазу C и фосфолипазу D	Кора мозга, гипокамп, стриатум, ядра таламуса, мозжечок.
A _{2A}	G _s , G _{oif} : ↑ аденилатциклазу	Стриатум, обонятельные луковицы, кора мозга, гипокамп.
A _{2B}	G _s : ↑ аденилатциклазу	В мозге очень мало (гипофиз, кора мозга, стриатум), в основном, на клетках глии
A ₃	G _i , G _q : ↓ аденилатциклазу; ↑ фосфолипазу C	В мозге очень мало (кора мозга, гипоталамус, мозжечок)

Примечание: G – мембранные белки, ингибирующие (G_o, G_i, G_q) и активирующие (G_s, G_{oif}) аденилатциклазу; ↑ – активация; ↓ – угнетение.

В последнее время обсуждаются данные о возможном участии рецепторов A_3 в антиишемических эффектах аденозина. Показано, что при стимуляции этого типа рецепторов отмечается увеличение активности ферментов антиоксидантной системы (например, супероксиддисмутазы) [24].

Экспериментально установлено, что аденозин может индуцировать апоптоз клеток глии. [28] Предположительно, сигнал к апоптозу в астроциты поступает через A_3 -рецепторы [1]. Стимуляция этого типа рецептора активирует фосфолипазу C, что ведет к увеличению концентрации внутриклеточного Ca^{2+} через образование инозитолтрифосфата. Кроме того, аденозин путем активации A_2 рецепторов стимулирует реактивный астроглиоз [20].

Среди других функций аденозина в ЦНС следует назвать угнетение моторной активности, а также седативный, гипнотический и анальгетический эффекты [4].

Литература

1. Abbraccio M.P., Ceruti S., Brambilla R., et al. Modulation of apoptosis by adenosine in the central nervous system: a possible role for the A_3 receptor. Pathophysiological significance and therapeutic implications for neurodegenerative disorders. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1997 – Vol. 825. – P.11-22.
2. Borgland S.L., Parkinson F.E. Uptake and release of [3H]formycin B via sodium dependent nucleoside transporters of mouse leukemic L1210/M.A27.1 cells. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1997. – Vol. 281. – P. 347-352.
3. Braas K.M., Newby A.C., Wilson V.S., et al/ Adenosine-containing neurons in the brain localized by immunocytochemistry. // *J. Neurosci.* – 1986 – Vol. 6. – P. 1952-1961.
4. Burnstock G. Physiological and pathological roles of purines: an update. // *Drug Dev.* – 1993. – Vol. 28. – P. 195-206.
5. Ceballos G., Tuttle J.B., Rubio R. Differential distribution of purine metabolizing enzymes between glia and neurons. // *J. Neurochem.* – 1994. – Vol. 62. – P. 1144-1153.
6. Chagoya V., Hernandez R., Suarez H., Vidrio S. Twenty-four-h changes of S-adenosylmethionin, S-adenosylhomocysteine, adenosine and their metabolizing enzymes in the liver: possible physiological significance in phospholipid methylation // *Int. J. Biochem.* - 1991. - Vol. 23. - P. 1439 - 1443.
7. Ciruela F., Saura C., Canela I., et al. Adenosine deaminase affects ligand-induced signaling by interacting with cell surface adenosine receptors. // *FEBS Lett.* – 1996. – Vol 380. – P.219-223.
8. De Mendonca A., Sebastiao A.M., Ribeiro J.A. Adenosine: does it neuroprotective role after all? // *Brain Res. Rev.* – 2000. – Vol. 33. – P. 358-274.
9. Dunwiddie T. V. and Fredholm B. B. Adenosine neuromodulation. // In: *Purinergic Approaches in Experimental Therapeutics.*, Jacobson K. A. and Jarvis M. F. (eds), Wiley Liss, New York, 1997. - P.359-382.
10. Eelles J.T., Spector R. Identification, development and regional distribution of ribonucleotide reductase in adult rat brain. // *J Neurochem.* – 1983. – Vol. 40. – P. 1008-1012.
11. Eshleman A.J., Henningsen R.A., Neve K.A., et al. Release of dopamine via the human transporter. // *Molec. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 45. – P. 312.
12. Fink J.S., Weaver D.R., Rivkees S.A., et al. Molecular cloning of the rat A_2 adenosine receptor: selective co-expression with D_2 dopamine receptors in rat striatum. // *Mol. Brain Res.* – 1992. – Vol. 14. – P.186-190.
13. Fredholm B.B. Adenosine receptor in the central nervous system. // *News Physiol. Sci.* – 1995. – Vol. 10. – P. 122-128
14. Fredholm B. B., Abbraccio M. P., Burnstock G., et al. VI. Nomenclature and classification of purinoceptors. // *Pharmac. Rev.* – 1994. – Vol. 46 – P. 143-156.
15. Fredholm B.B., Ijzerman A.P. Jacobson K.A., et al. Adenosine receptors. // In *IUPHAR Compendium of receptor characterization and classification.* IUPHAR Media, London, 1998. - P. 48-57.
16. Griffith M., Jarvis S.M. Nucleoside and nucleobase transport systems in mammalian cells. // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1996. - Vol. 1286. - P. 153-180.
17. Gu J.G., Foga I.O., Perkinson F.E., et al. Involvement of bidirectional adenosine transports in the release of L-[3H] adenosine from rat brain synaptosomes. Preparations. // *J. Neurochem.* – 1995. – Vol. 64. – P. 2105-2110.
18. Haas H.L., Greene R.W. Endogenous adenosine inhibits hippocampal CA1 neurones: further evidence from extra- and intracellular recording. // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* – 1988. – Vol. 337. – P. 561-565.
19. Hagberg H., Anderson P., Lacadewicz J., et al. Extracellular adenosine, inosine, hypoxanthine and xantine in relation to tissue nucleotides and purines in rat striatum during transient ischemia. // *J. Neurochem.* – 1987. – Vol. 49. – P. 227-231.
20. Hindley S., Herman M.A., Rathbone M.P. Stimulation of reactive astroglial cells in vivo by extracellular ADP or an adenosine A_2 receptor agonist. // *J. Neurosci. Res.* – 1994. – Vol. 38. P. 39-406.
21. Impagnatiello F., Bastia E., Ongini E., et al. Adenosine receptor in neurological disorders. // *Emerg. Ther. Targets.* – 2000 – Vol. 4. – P. 635-664.
22. Jarvis M.F., Williams M. Adenosine in central nervous system function. // In *Adenosine and adenosine receptors.* Williams M. (ed.), The Humana Press, Clifton, 1990. - P. 423-474.
23. Kulkurani J.S., Wakade A.R. Quantitative analysis of similarities and differences in neurotoxicities caused by adenosine and 2-deoxyadenosine sympathetic neurons. // *J. Neurochem.* – 1996. – Vol. 67. – P. 778-786.
24. Linder J. Cloned adenosine A_3 receptors: pharmacological properties, species differences and receptor functions. // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1994. – Vol. 15. – P. 298-306.
25. Meghji P., Newby A.C. Sites of adenosine formation, action and inactivation in the brain. // *Neurochem. Int.* – 1990. – Vol. 16. – P. 227-232.
26. Nagy A.K., Schuster T., Delgado-Escueta A.V. Ecto-ATPase of mammalian synaptosomes. Identification and enzymic characterization. *J Neurochem.* – 1986. – Vol. 47. – P. 976-986.
27. Nagy A.K., Schuster T., Delgado-Escueta A.V. Rat brain synaptosomal ATP: AMP-phosphotransferase activity. // *J. Neurochem.* – 1989. – Vol. 53. – P. 1166-1172.
28. Rathbone M.P., DeForge S., DeLuca B., et al. Purinergic stimulation of cell division and differentiation: mechanism and pharmacological implication. // *Med. Hypotheses* – 1992 – Vol. 37. – P. 213-219.
29. Rosin D.L. Robeva A., Woodard R.L., et al Immunohistochemical localization of adenosine A_{2A} receptors in rat nervous system. // *J Comp. Neurol.* – 1998 – Vol. 401. – P. 163-186.
30. Rudolph K.A., Schuber P., Parkinson F.E., et al. Neuroprotective role of adenosine in cerebral ischemia. // *Trends Pharmacol.* – 1992. – Vol. 13. – P. 439-445.
31. Sabaia P. Receptory purynergiczne. // *W Receptory: struktura, charakterystyka, funkcja.* Novak J.Z i Zawilska J.B (red.), PWN, Warszawa, 1997. - P. 211-223.
32. Sebastiao A. M., Ribeiro J. A. Fine-tuning neuromodulation by adenosine. // *TIPS* – 2000. – Vol. 21. – P. 341-346.
33. Szatkowski M., Attwell D. Triggering and execution of neuronal death in brain ischaemia: two phases of glutamate realize by different mechanisms. // *Trend Neurosci.* – 1994. – Vol. 17. - P. 359-365.
34. Zimmerman H. Biochemistry, localization and functional roles of ecto-nucleotidases in the nervous system. // *Prog. Neurobiol.* – 1996. – Vol. 49. – P. 589-618.
35. Zimmerman U., Helbronn A., Maienschein V., et al. The roles of 5'-nucleotidase in the nervous system. // *Drug Dev. Res.* – 1996. – Vol. 37. – P. 138.

Resume

This review sums up different data about the site of formation, inactivation of adenosine in CNS and its localization, structural and functional features of P_1 purinergic receptors as well as neuromodulatory and trophic effects of adenosine in CNS. This information can be useful for the search of successful pharmacological correction of ischemic damage of CNS, epileptic and other disorders caused by the increase of neuronal activity.