



Стратегическое
общественное
движение

www.2045.ru

ОБЗОР ПО ТЕМЕ

«Обоснование метаболической составляющей перфузионной среды
для изолированного мозга»

Автор Е.В. Терёшина, д.б.н.

Москва, 2012 год

	2
Оглавление	
1. ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР. ОБЩИЕ СВОЙСТВА	3
2. ГЛИЯ. ОБЩИЕ СВОЙСТВА	3
3. ОСНОВНЫЕ СУБСТРАТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ КЛЕТКАМИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	4
3.1. Глюкоза	4
3.2. Жирные кислоты	8
3.3. Электролиты и рН	10
3.4. Другие металлы	13
3.5. Аминокислоты	13
3.6. Холин, метионин, фолиевая кислота	15
4. БИОСИНТЕЗ ОСНОВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	16
4.1. Нейротрансмиттеры	16
4.2. Биосинтез глутамата, глицина и ГАМК	17
4.3. Глутатион	18
4.4. Холестерин	19
4.5. Моноамины	21
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	23
ЛИТЕРАТУРА	25

1. Гематоэнцефалический барьер. Общие свойства

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) выполняет функцию защиты от проникновения в нервную ткань повреждающих агентов и вывода продуктов жизнедеятельности клеток мозга. Основное отличие капилляров, снабжающих мозг кровью, от капилляров в периферических тканях, – наличие сети плотных соединений, которые образуют клеточный интерфейс между кровью и внеклеточным пространством мозга. ГЭБ состоит из клеток трех типов: эндотелий капилляров, перициты и астроциты. Эндотелий и перициты имеют общую базальную мембрану, с которой взаимодействует 99% астроцитов. Плотное соединение позволяет проталкивать вещества, которые проходят сквозь клетки от люминальной (близкой к сосудам) до аблюминальной (близкой к ткани мозга) мембраны капилляров путем пассивной диффузии или благодаря специфической транспортной системе.

2. Глия. Общие свойства

Клетки нейроглии определяют гомеостаз нервной ткани, ее защиту от повреждений, предотвращая развитие патологических процессов. Астроглия регулирует нейрогенез и развитие циркулярных токов. В мозге взрослого человека астроциты находятся в тесном динамическом контакте с нейронами, особенно в районах синаптической передачи, где они частично формируют тройственный синапс. В этих точках астроциты регулируют гомеостаз ионов и транснамиттеров, обеспечивают метаболическую поддержку нейронов и активность синапсов. Путем активизации внутриклеточной передачи Ca^{2+} -зависимых сигналов астроциты регулируют высвобождение нейротранснамиттеров. Попадая во внеклеточное пространство, глиотранснамиттеры модулируют пластичность синапсов нейронов. Кроме того, астроциты – основные игроки в развитии и проявлении неврологических расстройств.

Клетки глиии имеют первостепенное значение для нормального развития и функционирования головного мозга человека. Они модулируют пролиферацию нейронов, их выживание и их метаболизм, образование синапсов, синаптическую передачу, поддерживают локальный экстрацеллюлярный гомеостаз (постоянство основных параметров среды) и много чего еще, о чем мы пока не знаем.

Эволюционно астроциты появились прежде нейронов, но их число и сложность эволюционировали одновременно с построением структуры мозга. Количество астроцитов в 20 раз превышает количество нейронов. Астроциты и танциты (специализированные клетки глиии, выстилающие третий вентрикул), транспортируют в мозг и в ткани мозга все поступающие в него вещества. На этих клетках экспрессируются рецепторы к многочисленным нейропептидам, нейротранснамиттерам, факторам роста. Они производят нейроактивные соединения, в них экспрессируются ключевые ферменты для получения и метаболической обработки поступающих соединений. Клетки глиии – первая линия восприятия и контроля метаболических сигналов. Астроциты участвуют в гормон-индуцированных перестройках синапсов, выполняющих эндокринные функции.

3. Основные субстраты, используемые клетками центральной нервной системы

3.1. Глюкоза

Мозг потребляет около 60% глюкозы крови, т.е. около 450 калорий ежедневно. Глюкоза – один из немногих субстратов, которые пересекают ГЭБ. В период голодания энергию телу дают жирные кислоты. Раньше считалось, что они не проникают через ГЭБ. В печени жирные кислоты конвертируются в кетоновые тела. Кетоновые тела – дополнительный источник энергии для мозга, они свободно преодолевают ГЭБ. В клетках мозга (клетках глии) есть рецепторы к инсулину и глюкагону, но они не влияют на потребление глюкозы, поэтому снабжение клеток мозга всецело зависит от содержания глюкозы в крови и от количества переносчиков. Глюкоза сама управляет своим собственным переносом через ГЭБ подобно тому, как она сама управляет синтезом и секрецией инсулина в бета-клетках поджелудочной железы. Но в целом именно ГЭБ определяет, сколько глюкозы поступает в мозг.

Глюкоза не растворяется в липидах, поэтому не может преодолеть ГЭБ путем простой диффузии. Для ее переноса необходимы специальные транспортные белки. В мозге находят 4 типа переносчиков глюкозы: GLUT1, GLUT2, GLUT3 и GLUT4. GLUT1 – основной переносчик, который забирает глюкозу с люминального слоя ГЭБ. В этом процессе инсулин не участвует. Много GLUT1 в эритроцитах, куда глюкоза поступает также без участия инсулина. Возможно, в эритроцитах, поджелудочной железе и в мозге существует один механизм транспорта глюкозы, который не стимулируется инсулином. В ГЭБ в переносе глюкозы от люминальной мембраны к аблюминальной участвуют несколько типов GLUT. Когда глюкозы в крови мало, количество GLUT1 в эпителиальных клетках ГЭБ увеличивается. Это компенсаторная реакция для поддержания работы мозга в условиях дефицита его основного энергетического субстрата. Когда глюкозы в крови много, число GLUT1 остается прежним, и это – причина катастроф, связанных с острой гипергликемией, и нейродегенеративных процессов, обусловленных хронической гипергликемией. Почему мозг не защищен от избытка энергетического субстрата? Возможно, в период эволюционного формирования организм человека находился в условиях постоянного голодания – голод был реальнее и опаснее переизбытка. Избыточность высококалорийной пищи – «завоевание» современного человечества. Потому оно и вымирает от сахарного диабета и платит деменцией. Хроническая гипергликемия может быть одной из причин развития болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных процессов.

При острой гипергликемии повышение глюкозы в мозге сопровождается увеличением осмолитов и кетоновых тел. Повышенное содержание этих соединений хронизируется вплоть до 10 недель. При длительной гипергликемии только после 4 недель снижается концентрация таких нейросоединений, как N-ацетиласпартат и глутатион, которая также хронизируется. Транспорт глюкозы при этом не изменяется. Когда после гипергликемии уровень глюкозы нормализуется, некоторые нейрохимические нарушения становятся необратимыми.

GLUT2 помогает GLUT1. Снижение GLUT2 стимулирует аппетит, модификации GLUT2 в астроцитах гипоталамуса влияют на гомеостаз глюкозы в теле и усиливают желание потреблять глюкозы больше [1]. GLUT2, экспрессируемый в астроцитах гипоталамуса, в эндимимальных клетках глии, таницитах и нейронах, чувствительных к глюкозе, вовлечен в механизм, регулирующий гомеостаз глюкозы в теле. В отличие от GLUT2, GLUT3 работает в нейронах по всему мозгу. Он присутствует в клетках, которым необходимо быстро поглотить большое количество глюкозы. В мозге такие клетки – активно работающие нейроны. GLUT3, по-видимому, специфичен для нейронов, так как он был обнаружен в других клетках (сердце, печень) лишь в следовых количествах и совсем не обнаружен в скелетной мышце. Правда, сердце предпочитает использовать в качестве субстрата энергии жирные кислоты, а печень и мышца потребляют глюкозу при стимуляции инсулином. Нейронам такая стимуляция не требуется.

Тем не менее, в мозге есть отделы, которые контролируют потребление энергии в этом органе. В клетках мозга обнаружен чувствительный к инсулину переносчик GLUT4. Инсулин здесь может играть роль нейромодулятора. Уровень экспрессии GLUT4 in cerebellum зависит от уровня инсулина в крови. Физические упражнения приводят к снижению инсулина в крови и соответствующему снижению экспрессии GLUT4. Вентромедиальный гипоталамус – первый сенсор, который отвечает на гипогликемию. Транспорт глюкозы через ГЭБ в этом районе обеспечивается тремя переносчиками – GLUT1, GLUT2 и GLUT4. Причем GLUT1 находятся на эндотелиальных клетках, GLUT2 – в эндимимальных клетках третьего ventрикула, а чувствительная к инсулину изоформа GLUT4 локализуется в васкулярных структурах внутри вентромедиального гипоталамуса.

Астроциты и нейроны сообщаются друг с другом, объединяясь в комплекс, «перерабатывающий» глюкозу. Астроциты первыми захватывают глюкозу, которую им поставляет GLUT1. Транспорт астроцитами нейротрансмиттеров и глюкозы определяет состав экстрацеллюлярной жидкости, омывающей нейроны. Они прямым образом влияют на электрическую активность нейронов и на их чувствительность к глюкозе [2, 3]. Метаболические изменения в теле и диетарные модификации оказывают влияние прежде всего на функции клеток глии. Тем не менее поступление глюкозы в мозг и ее потребление клетками глии напрямую зависит от активности нейронов. Глюкоза необходима не только для того, чтобы обеспечить энергетические потребности, но и для синтеза нейромедиаторов, например глицина, глутаминовой кислоты и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) [4, 5].

Астроциты группируются около синаптических контактов, где располагаются рецепторы. Глутамат стимулирует захват глюкозы астроцитами, в котором участвуют транспортные белки, специфические к глутамату. Они быстро забирают глутамат после его высвобождения из синапсов и работают благодаря электрохимическому градиенту Na^+ . Натрий-зависимый захват глутамата астроцитами запускает каскад молекулярных событий, в котором участвует Na^+/K^+ -АТФаза (энергозависимый процесс). Внутри клеток глюкоза гликолитически расщепляется и образуется лактат, который высвобождается из астроцитов. На перенос одной молекулы глутамата требуется три атома натрия, при этом входит одна молекула глюкозы, две молекулы АТФ синтезируются в результате гликолиза и высвобождаются две молекулы лактата. В астроците одна молекула АТФ расходуется на

один оборот мембранной протоновой помпы, а вторая потребляется при превращении глутамата в глутамин ферментом глутаминсинтетазой. Показано, что даже в аэробных условиях лактат – предпочтительный энергетический субстрат, который используют нейроны. В присутствии кислорода лактат превращается в пируват, который поступает в митохондрию и в цикл трикарбоновых кислот (ацетат). При сгорании одной молекулы лактата генерируется 17 молекул АТФ. Это означает, что при активации мозг временно прогоняет глюкозу через астроциты, где проходит гликолиз, а затем окисляет лактат в нейронах с использованием кислорода. Захват глюкозы стимулируется увеличением активности нейронов [8].

Астроциты забирают глутамат из синаптической щели, он метаболизируется в глутамин (глутаминсинтаза). Затем они отдают глутамин нейронам, которые вновь делают из него глутамат или ГАМК (фермент глутаматдекарбоксилаза). Переносчик глутамата GLT1 экспрессируется преимущественно в астроцитах, а глиальный высокоаффинный переносчик глутамата (GLAST) – как в астроцитах, так и в других клетках глии. Накопление глутамата в экстрацеллюлярном пространстве делает его токсичным. Контроль за экстрацеллюлярными концентрациями глутамата и ГАМК – одна из фундаментальных функций клеток глии [7]. Баланс концентраций этих двух нейротрансмиттеров – решающий, он характеризует активность метаболических процессов [6].

Гомеостаз глюкозы в теле поддерживается не только инсулином. Инсулин экспрессируют три органа – печень, жировая ткань и мышца. Мышца и жировая ткань – основные потребители глюкозы, при этом мышца сжигает глюкозу, а жировая ткань конвертирует ее в жирные кислоты и триглицериды. В этом метаболическом треугольнике решающая роль принадлежит мышце, так как сжигание глюкозы – один из способов ее выведения из тела. Синтез жирных кислот – ее накапливание и задержка в теле. При снижении расхода глюкозы в мышце происходит увеличение запасов жира в жировой ткани. В результате в метаболическом треугольнике увеличивается поток жирных кислот, которые блокируют поступление глюкозы в мышцу. Развивается резистентность к инсулину и нарушается гомеостаз глюкозы. Нагрузка на мышцу поддерживает уровень глюкозы в крови. Вот почему физические упражнения предотвращают развитие нейродегенеративного процесса, связанного с нарушением гомеостаза глюкозы.

Жировая ткань – эндокринный орган, секретирующий большое количество разнообразных факторов и гормонов. Среди них гормон лептин, который регулирует потребление жирных кислот клетками в качестве субстрата энергии. Лептин активирует фермент карнитин пальмитоил трансферазу (CPT1), которая переносит пальмитиновую кислоту через двойную мембрану митохондрий. Лептин проникает через ГЭБ и оказывает центральное действие, стимулируя гипоталамус. Лептин и инсулин контролируют чувства голода и насыщения.

В поддержании гомеостаза глюкозы в теле одну из важных ролей играет гормон лептин, секретируемый белой жировой тканью. В последние годы лептину уделяется большое внимание в связи с проблемами, связанными с ожирением. Концентрация лептина в крови возрастает одновременно с увеличением массы жировой ткани (прямая зависимость). Возможно, лептин действует непосредственно на нейроны гипоталамуса, оказывая

влияние на транспорт глюкозы и ее потребление с пищей. В экспериментах *in vitro* показано, что к лептину чувствителен GLUT3. Действуя через этот переносчик, лептин снижает активность нейрона и его потребность в глюкозе. Лептин влияет также на продукцию белка α реЕ астроцитами. Лептин оказывает действие на нейроны дугообразного ядра (ARH-нейроны), что приводит к восстановлению утраченной чувствительности к инсулину в печени, т.е. снимает резистентность к инсулину в этом органе. Показано, что к лептину чувствительны гены, кодирующие полипептид POMC (про-опиомеланокортин), которые экспрессируются в шишковидной железе. При его расщеплении образуются адренокортикотропин, бета-липотропин, а также другие пептиды, которые на уровне тканей тела могут контролировать энергетический гомеостаз.

POMC-нейроны иннервируют дорзозагальный комплекс. Это такой район в мозге, в котором находится дорзальное ядро блуждающего нерва. Много таких нейронов иннервируют печеночную артерию, они обеспечивают анатомическую связь между лептин-чувствительными нейронами и печенью. Лептин активирует также вентромедиальные нейроны гипоталамуса. Но неизвестно, как связаны эти нейроны с симпатической нервной системой. Как видно, центральное действие лептина направлено на снятие инсулинорезистентности в печени, которая потребляет глюкозу для синтеза гликогена (запасная форма), а жирные кислоты – для синтеза триглицеридов, которые она секретирует в кровь. Запасы глюкозы временны и быстро расходуются в первые дни голодания. Печень – основной орган, регулирующий потоки глюкозы и жирных кислот в крови, т.е. непрерывность функционирования метаболического узла. Воздействуя на печень, мозг регулирует гомеостаз глюкозы, т.е. свое собственное обеспечение и поддержание своей собственной функциональности.

В целом сеть нейрональных токов, контролирующих потребление пищи и поддержание энергетического гомеостаза, довольно сложна и недостаточно изучена. Поддержание энергетического гомеостаза обеспечивается также благодаря системе циркадианных ритмов, так как это – заложенное эволюцией чередование периодов сна и бодрствования, голода и приема пищи.

Мозг не делает запасов глюкозы. Запасы глюкозы в виде гликогена создают только печень на случай голода и мышца на случай непредвиденной активизации. Для быстрого синтеза АТФ при повышенной интенсивности работы мышца делает энергетические резервы в виде фосфатов в форме креатинфосфата. Запасы креатинфосфата образуются в мышце и мозге, но в мозге гораздо в меньших количествах. Мозг и мышца – основные потребители глюкозы, поэтому при активной физической работе сохраняется целостность мозга (нет дегенеративного процесса). При собственной активной работе мозг тоже способен долго сохраняться, так как он – еще один потребитель, перерабатывающий глюкозу в нейромедиаторы. Активность мышц отражается в снижении митохондриальных окислительных процессов в мозге (нейропротекторное действие): повышается содержание супероксиддисмутазы, снижается уровень лактата, глутамата, оксида азота. Нейродегенеративные процессы практически всегда сопровождаются развитием окислительного стресса (даже при гипоксии).

3.2. Жирные кислоты

Считается, что жирные кислоты (ЖК) не являются источником энергии для клеток нервной системы. Они нужны в основном для синтеза фосфолипидов и цереброзидов. Синтезируют ли клетки мозга ЖК сами, или они получают их из крови? Общая концентрация ЖК в крови 0.4–0.5 mM, но 99% циркулирующих свободных ЖК связано с альбумином, несвязанных ЖК всего 7.5 nM. Для входа в мозг ЖК крови надо преодолеть ГЭБ, но ГЭБ не пропускает белки, поэтому комплексы ЖК с альбумином должны диссоциировать. Существует две точки зрения относительно прохождения ЖК через мембрану: пассивная диффузия и активный транспорт. Короткоцепочечные ЖК (12 и менее атомов углерода) проходят через мембрану, для более длинных нужен активный транспорт. Найдены специальные белки, переносящие ЖК через мембрану. Если бы не было переносчиков, ЖК практически не поступали бы в нервную систему, несмотря на свою липофильность. Транспорт ЖК в мозг имеет большее значение, чем их обратный транспорт из мозга в кровь.

Степень ненасыщенности и длина цепи определяют характер переноса ЖК через ГЭБ. Известно несколько типов переносчиков, транспортирующих ЖК через мембрану. Для олеиновой кислоты (C18:0) – это CD36. С ним не связываются полиненасыщенные ЖК, такие как арахидоновая (C20:4) и докозагексаеновая (C22:6), несмотря на то что CD36 имеет большое сродство к длинноцепочечным ЖК (C18-24). В ГЭБ CD36 «специализируется» не только на переносе олеата, но и ЖК с короткой и средней длиной цепи как насыщенных, так и ненасыщенных (масляная, миристиновая, линоленовая), а также с очень большой длиной цепи (лигноцериновая).

Олеиновая, линолевая (C18:2) и арахидоновая кислоты переносятся с большей скоростью, чем насыщенные ЖК с той же длиной цепи. Пальмитиновая (C16:0) и стеариновая (C18:0) кислоты не преодолевают ГЭБ, несмотря на то что для синтеза сфингомиелинов, основного липида миелиновых оболочек, требуется именно пальмитиновая кислота. Возможно, мозг синтезирует ее самостоятельно. В клетках тела пальмитиновая и олеиновая кислоты являются основными субстратами энергии, другие жирные кислоты расходуются в разнообразных процессах синтеза. Белки-переносчики ЖК через мембрану FATP-1 и FATP-4 транспортируют длинные цепи (олеиновую 18:1 и линолевую 18:2). FATP-1 и FATP-4 – единственные белки этого семейства, которые экспрессируются в мозге. FATP-1 найден в больших количествах не только в ГЭБ, но и по всей ткани мозга. CD36 экспрессируется в меньших количествах. Определяющее значение для транспорта ЖК через ГЭБ имеет отношение FAT/CD36.

В метаболизме ЖК значимую роль играет фермент карнитин пальмитоил трансфераза (CPT1), который переносит ЖК через двойную мембрану митохондрий. Когда она была обнаружена в мозге, стало ясно, что клетки нервной ткани могут получать энергию от сжигания жирных кислот. В отличие от клеток тела в мозге этот фермент способствует расщеплению очень длинных ЖК, например лигноцериновой (24:0), когда в диете не хватает жиров. При диете, содержащей много жира, в клетках мозга содержится нормальное количество C24 кислот, т.е. в клетках мозга идут процессы элонгации ЖК, так как с пищей такие длинные цепи ЖК не поступают. В таком случае CPT1 – компонент системы элонгации ЖК в мозге. Хотя кислот C24 в липидах мозга немного, даже

небольшие изменения в их содержании приводят к серьезным неврологическим расстройствам, так как они – основной компонент цереброзидов. СРТ1 активируется малонил-СоА, который получается при присоединении CO₂ к ацетил-СоА. Ацетат – метаболит глюкозы. Так метаболизм глюкозы связан с метаболизмом ЖК в клетках мозга.

Гипоталамус контролирует потребление пищи в ответ на окисление длинноцепочечных ЖК [9, 10, 11] и продукцию свободных радикалов [12, 13]. Метаболизм ЖК связан с функционированием редокс-системы клетки. Малонил-СоА в гипоталамусе влияет на ожирение, изменяя пищевое поведение [14, 15]. Правда, пока неясно, какие клетки отвечают за первичный ответ – глия или нейроны, и как СРТ1 контролирует чувство сытости или гликемию и повышает расход энергии в периферических тканях [16, 17].

В экспериментах на генетически измененных мышах с фенотипом ожирения диета с высоким содержанием жира (главным образом длинноцепочечные ЖК ларда) снижала содержание жира в теле животных. Диета с низким содержанием жира возвращала им фенотип ожирения. Действие диетических ЖК на центральную нервную систему выражается также в изменении гомеостаза глюкозы, так как влияет на глюконеогенез в печени. Интрацеребровентрикулярное введение длинноцепочечных ЖК подавляет глюконеогенез. Это означает, что существует центральная регуляция гомеостаза глюкозы, независимая от инсулина и опосредуемая лептином через действие на СРТ1. СРТ1 может осуществлять связь между пищевым сенсором в гипоталамусе и гомеостазом глюкозы в печени. Потребление мышами диеты «канола (вид рапса) / соевые бобы» приводило к увеличению содержания в нервной ткани олеиновой кислоты и снижению в этаноламиновых глицерофосфолипидах белого вещества мозга арахидоновой кислоты. В сером веществе в тех же фосфолипидах увеличивалось содержание докозагексаеновой кислоты.

Для здорового мозга имеет значение также содержание эйкозапентаеновой (C22:5) кислоты. В клетках мозга интенсивно проходят процессы немитохондриального окисления и увеличено окисление полиненасыщенных жирных кислот. Казалось бы, имея большое количество легкоокисляемых ЖК, мозг становится уязвимым для действия липоперекисей. Однако не было обнаружено таких продуктов окисления C22:5 кислоты, которые оказывали бы разрушительное действие. Напротив, некоторые продукты окисления C22:5, такие как 15-A3t-IsoP, имели цитопротективное действие в условиях окислительного стресса.

Метаболизм ЖК связывает нервную ткань с жировой тканью. На метаболизм ЖК в мозге влияет недостаточность триглицеридлипазы жировой ткани (фермент расщепляет триглицериды с высвобождением ЖК), которая экспрессируется в больших количествах в жировой ткани. Даже небольшое снижение активности этого фермента приводит к многократному увеличению концентрации триглицеридов в мозге и изменению состава их ЖК. Значительная аккумуляция нейтральных липидов наблюдалась в цереброваскулярных клетках, а также во всей вентрикулярной системе. Триглицеридлипаза найдена в эндимальных клетках, в пирамидальных клетках гиппокампа, в choroid plexus и dentate gyrus, она вовлечена в метаболизм липидов в областях мозга, отвечающих за транспорт и обмен, т.е. в интерфейсе «мозг – цереброспинальная жидкость», барьере «кровь – цереброспинальная жидкость» и в ГЭБ.

Кстати, через спинной мозг в мозг могут поступать липопротеиды высокой плотности. Они участвуют в обмене фосфолипидов (фосфатидилхолина) и холестерина.

Индукцированное диетой повышение содержания в крови холестерина и триглицеридов вызывало увеличение содержания в гиппокампе холестерина, галактозилцерамида, сульфатидов (сульфатная форма церамида) и сфингомиелина. Одновременно возрастает окислительный стресс. Церамид образуется при расщеплении сфингомиелина ферментом сфингомиелиназой, который активируется при окислительном стрессе. Образование церамида и его аккумуляция вызывает апоптоз клеток мозга. Диетарная гиперлипидемия предшествует инсулинорезистентности и изменяет липидный профиль гиппокампа соответственно тому, что наблюдается при болезни Альцгеймера. Таким образом, существует перекрещивание центральных и периферических метаболических путей. Особенно это касается энергетических субстратов – глюкозы и жирных кислот. Мозг взаимодействует с метаболическим треугольником, образованным мышцей, печенью и жировой тканью. Этот треугольник совместно с мозгом поддерживает гомеостаз глюкозы и жирных кислот.

3.3. Электролиты и pH

Мозг млекопитающих имеет четыре разных компартмента, наполненных жидкостью: кровь в капиллярах и сосудах, цереброспинальная жидкость в вентрикулярной системе и субарахноидальном пространстве, интерстициальная и внутриклеточная жидкость клеток глии и нейронов. Вода в каждом компартменте представляет собой солевой раствор определенного состава, поэтому они разделены специальными клеточными барьерами, которые регулируют перетекание жидкости из одного компартмента в другой. Барьеры: ГЭБ (эндотелиальные клетки мозга), «кровь – спинной мозг» (эпителий choroid plexus) и плазматические мембраны клеток глии и нейронов. Поддержание водно-солевого гомеостаза в мозге является критическим для его нормального функционирования, поэтому транспорт воды и ионов взаимно связан и корегулирован.

Более 70% жидкости в мозге находится внутри клеток. В сравнении с остальными компартментами внутри клетки содержится больше калия, вне клетки – натрия и кальция. Транспорт ионов внутрь клетки и из клетки – энергозависимый процесс. Существуют ионные насосы – Na^+/K^+ -АТФаза и Ca^{2+} -АТФаза. Na^+/K^+ -АТФаза осуществляет контроль осмотического давления, она может работать совместно с котранспортерами NKCC1 (вход в клетку хлора и калия) и Na^+/H^+ -обменником NHE1 , который, в свою очередь, связан с $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменником. Клетки могут поддерживать свой объем в заданных пределах благодаря экспрессии генов, кодирующих белки ионных каналов и белки-транспортёры. Постоянно экспрессируются NHE и NKCC1 , которые отвечают за транспорт натрия внутрь клеток. NKCC1 – катион-хлоридный котранспортер, он принадлежит к семейству генов SLC12 . Эти внутримембранные белки транспортируют ионы хлора совместно с натрием и/или калием через клеточную мембрану.

В клетках есть рецепторы, непосредственно связанные с ионными каналами, такие как N-метил-D-аспарататный (NMDA) и AMPA-рецепторы не-NMDA типа. NMDA-рецепторы связаны с вольтаж-чувствительными высокопроводимыми катионными каналами как для натрия, так и для кальция. В отличие от клеток глии и нейронов эндотелиальные клетки

ГЭБ не экспрессируют вольтаж-чувствительные натриевые каналы. На люминальной стороне ГЭБ находится NKCC1, который перетаскивает натрий и хлор из крови в мозг. Он не специфичен для мозга, так как обнаружен на базолатеральной мембране секреторных эпителиальных клеток по всему телу. В физиологических условиях NKCC1 модулирует уровень ионов хлора в нейронах, глии, клетках эндотелия ГЭБ, в choroid plexus. Он помогает поддерживать осмолярность. В то же время, запасенная потенциальная энергия этих каналов не может быть преобразована в движение воды и солевых растворов, если изменена проницаемость клеток эндотелия ГЭБ. От степени проникновения в клетку натрия и хлора зависит активация глутаматного рецептора, что вызывает эксцитотоксическую нейродегенерацию. Изменение соотношения «кислород/глюкоза» индуцирует гибель нейронов через эксцитотоксичность, в генерации которой участвуют ионотропные NMDA-рецепторы.

Регуляция pH – гомеостатический параметр, который поддерживается всеми клетками тела. Механизмы, регулирующие концентрацию протонов вне и внутри клетки, особенно важны для мозга, так как электрическая активность нейронов может легко сдвигать значения pH в ту или иную сторону. Такие кислотно-щелочные сдвиги влияют на активность нейронов, так как изменяют функцию ионных каналов. Механизмы, регулирующие pH в клетках мозга, такие же, как и в других тканях. В морфологически разных нейронах и клетках глии были обнаружены различия в экспрессии и эффективности этих механизмов. Существует значительная гетерогенность в изоформах белков среди разных регионов мозга и среди клеток разного типа. Внутриклеточные колебания pH в нейронах и глии связаны с транспортом Ca^{2+} , с активацией систем «выталкивания» протонов и активностью угольной ангидразы.

В нервной системе регуляция pH является функцией нескольких совмещенных процессов – забуферивание H^+ , ограничение внутриклеточных протонов от внеклеточных, диффузия CO_2 , активность угольной ангидразы, трансмембранный транспорт кислотных и щелочных эквивалентов. Они включают Na^+/H^+ -обмен, движимый натрием – Cl^-/HCO_3^- -обмен, $Na^+-HCO_3^-$ котранспорт и пассивный Cl^-/HCO_3^- обмен. Клетки глии участвуют во всех этих процессах и играют важную роль в поддержании общего кислотно-щелочного равновесия во всей нервной системе. Перепады pH случаются во всех трех основных компартментах нервной ткани – в нейронах, глии и экстрацеллюлярном пространстве – в ответ на стимуляцию нейронов, на действие нейротрансмиттеров и гормонов, вторично – на внутриклеточный метаболизм и ионный транспорт. Основная роль в поддержании и модуляциях pH принадлежит электрогенному и обратимому $Na^+-HCO_3^-$ мембранному котранспорту, который присутствует только в клетках глии. Активация котранспорта приводит к захвату клетками глии основных эквивалентов, которые зависят от мембранного потенциала. Регуляция pH необходима для целого ряда процессов: функционирования ионных каналов и проведения нервного импульса, синаптической передачи, межклеточных взаимодействий, обмена метаболитами, возбудимости нейронов. Модуляции pH сами по себе могут быть сигналами, т.е. составной частью информационных процессов в нервной ткани.

Механизмы, регулирующие pH в клетках глии, сходны с теми, которые есть у нейронов. В одном глиа отличается от других клеток – в ней экспрессируется электрогенный Na^+ -

связанный транспортер бикарбоната, который зависит от мембранного потенциала. В астроцитах также есть $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмен.

В клетках позвоночных в семействе генов Na^+/H^+ -обменников насчитывается 7 членов: от NHE-1 до NHE-7. Белки-транспортеры содержат как мембранный участок, связывающий лиганд, так и регуляторный цитозольный. У человека NHE-1 активируется фактором роста и играет ведущую роль в поддержании pH. Он широко распространен в клетках ЦНС у позвоночных. Транспорт бикарбоната для регуляции pH осуществляется другими транспортерами, также принадлежащими к одному семейству (4 члена). Один из них, AE3, экспрессируется как в нейронах, так и в сердце. Эти белки осуществляют разные физиологические функции: $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ совместный транспорт и опосредованный натрием – $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмен.

В широком смысле клетки мозга не очень отличаются от других клеток тела по механизму поддержания гомеостаза pH. Внутриклеточная буферная система состоит из бикарбонат-зависимой и небикарбонат-зависимой компоненты. Эта система «открыта» относительно углекислого газа, так как должно соблюдаться равновесие между внутриклеточным и внеклеточным CO_2 , при этом внутри клетки концентрация CO_2 поддерживается постоянной благодаря постоянству внеклеточного CO_2 . Иными словами, именно внеклеточная буферная система определяет концентрацию углекислого газа (а следовательно, и его продукцию) внутри клетки. В нейронах существуют Na^+/H^+ обмен и Na^+ -зависимый транспорт бикарбоната HCO_3^- . Эти виды транспорта принципиальны для поддержания гомеостаза pH и для восстановления после ацидоза. В некоторых нервных клетках существует пассивный $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмен, который используется как кислото-загружающий механизм для восстановления pH при защелачивании цитозоля. Нейроны гиппокампа могут вытеснять кислоту, используя как Na^+/H^+ обмен, так и опосредованный натрием $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмен.

Внутриклеточная среда нейронов млекопитающих может закисляться в ответ на возбуждающее действие аминокислот. Закисление сопровождается входением в клетку Ca^{2+} . Причины Ca^{2+} -зависимого ацидоза цитозоля может быть множество. Когда нейрон долго работает, закисление цитозоля может быть вызвано накоплением кислотных метаболитов, а также углекислого газа и лактата (механизмы аналогичны тем, что наблюдаются в мышцах). Эти продукты образуются благодаря энергетическим затратам, ассоциированным с входением в клетку Ca^{2+} , или вследствие работы Na^+/K^+ помпы. Ацидоз, имеющий метаболическое происхождение, снижает внутриклеточный и интерстициальный pH.

В общем случае поддержание взаимных концентраций $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ в буферной системе зависит от кинетических характеристик реакции $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{CO}_3 = \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. В физиологических условиях равновесие сдвинуто в сторону образования бикарбоната и протонов (вправо), в то время как взаимодействие углекислого газа с образованием угольной кислоты и ее дегидратация с образованием углекислого газа (движение влево) происходит довольно медленно. В биосистемах это замедление преодолевается с помощью фермента угольной ангидразы, которая катализирует как гидратацию, так и дегидратацию углекислого газа. В интерстициальном пространстве мозга активность

угольной ангидразы – решающий фактор, регулирующий поддержание pH. Фермента очень много в глии, но есть он и в нейронах.

Транспорт глутамата через электрогенный Na^+ переносчик сопровождается независимым входом в клетку протонов. В принципе пул экстрацеллюлярных протонов может поддерживаться электрохимическим градиентом протонов и OH^- ионов. Достоверно установлен выход из клеток бикарбоната, что приводит к защелачиванию среды. Высокую проницаемость для бикарбоната имеют рецепторы к ГАМК и глицину. Через рецептор к ГАМК может проходить также муравьиная кислота. Вообще рецепторы к ГАМК контролируют, по-видимому, движение бикарбоната. Рецепторы к ГАМК открывают вход для бикарбоната. Чем отрицательнее мембранный потенциал, тем скорее открывающийся анионный канал ГАМКа будет пропускать бикарбонат, что приведет к внутриклеточному закислению и внеклеточному защелачиванию. pH среды поддерживает совместное действие глутаматных и ГАМК рецепторов. В то же время, остаются неизвестными механизмы, активность которых модулируется pH. В культуре клеток модуляторы pH не имеют отношения к биологическим стимулам.

В клетках Пуркинье и в гиппокампе высоко экспрессируется опосредованный натрием - $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ переносчик (NCBE). Уровень его экспрессии зависит от возраста и типа клеток. Он содержит аминокислотный паттерн (PDZ мотив), который особенно активен в регуляции pH. Этот мотив реагирует с цитоскелетом клетки.

3.4. Другие металлы

Церулоплазмин – это феррооксидаза, которая превращает Fe^{2+} в Fe^{3+} и регулирует выход железа из клетки. Когда церулоплазмин не вырабатывается (генетические нарушения), в печени и селезенке наблюдается умеренный гемосидероз, тогда как в гиппокампе содержание железа резко падает. Снижение железа не вызывает функционального дефицита у моторных нейронов, а также не влияет на процессы обучения и памяти. В то же время с транспортом железа в мозг связан метаболизм серотонина и норэпинефрина в гиппокампе. Дефицит железа вызывает приступы тревоги. Общая схема процесса такова: дефицит церулоплазмينا ведет к снижению содержания железа в мозге, что ведет к снижению активности ферментов триптофангидроксилазы, тирозин гидроксилазы, дофамин бета-гидроксилазы, что ведет к возрастанию тревоги, что, в свою очередь, приводит к повышению уровня кортикостерона в крови.

Относительно других микроэлементов сведения в литературе отрывочные.

3.5. Аминокислоты

Проникновение аминокислот из мозга в кровь зависит от химической структуры и наличия полярных групп в молекуле. Через ГЭБ проходят практически все незаменимые аминокислоты. Для их транспорта существуют L1 и y^+ системы. Система y^+ предназначена для переноса катионных аминокислот, включая лизин, аргинин, орнитин и гомоаргинин. Соединения, проходящие через L1 систему, – это лейцин, валин, метионин, гистидин, изолейцин, тирозин, триптофан, фенилаланин и треонин. Система L1 – наиболее важные врата для транспорта аминокислот. Однако аминокислоты «соревнуются» за преимущественное право пересекать ГЭБ. Например, подобная

конкуренция между триптофаном и другими аминокислотами определяет содержание в мозге серотонина.

Третья система переноса аминокислот – система n . Она осуществляет перенос глутамина и аналогична системе, описанной для везикул плазматической мембраны гепатоцитов. В печени транспорт через систему n ингибируется аспарагином и гистидином. В ГЭБ система n есть только на люминальной стороне, она обеспечивает перенос из мозга в кровь аспартата и глутамина. Четвертая – система xG^- . Она транспортирует глутамат и цистин. Цистин не конкурирует с глутаматом за перенос. Глутамат переносится только через люминальную мембрану и только в направлении «мозг – плазма».

Na^+ -зависимые транспортные системы переносят аминокислоты против градиента концентраций, они имеют механизмы для элиминации неэссенциальных и токсичных аминокислот, поддерживают оптимальные концентрации других аминокислот. Все аминокислоты транспортируются минимум одной, максимум тремя транспортными системами. Na^+ -зависимый транспорт касается систем: А (преимущественно аланин), ASC (преимущественно аланин, серин и цистеин), N (преимущественно глутамин, аспарагин и гистидин), транспортеры кислых аминокислот (преимущественно аспартат и глутамат), LNAA – для переноса эссенциальных аминокислот (большое сродство к лейцину). Na^+ -зависимый транспорт существует только на аблюминальной мембране, на люминальной – только обычные переносчики. LNAA – антипод L1 системе, которая переносит эссенциальные аминокислоты из крови в мозг.

Наибольшее количество в содержании всех аминокислот мозга приходится на долю глутамата, который является основным нейротрансмиттером. Необходимо поддерживать очень низкую концентрацию его в экстрацеллюлярном пространстве. Перенос глутамата – энергозависимый процесс. На сегодняшний день описано 5 Na^+ -зависимых глутаматных переносчиков (семейство EAAT). Все селективно расположены по различным клеткам мозга: EAAT1, 2, и 3 присутствуют в эндотелиальных клетках и астроцитах, EAAT3 – в нейронах. Глутамин и глутамат «путешествуют» между нейронами, астроцитами и эндотелиальными клетками.

На аблюминальной мембране ГЭБ находятся три разных переносчика. Переносчик xG^- , присутствующий в ГЭБ, позволяет минимизировать поступление глутамата в мозг. Перенос глутамата через ГЭБ составляет всего 1/10 от общего переноса аминокислот через LNAA систему и от всех катионных аминокислот. Отсутствие облегченного переноса глутамата на аблюминальной мембране не позволяет ему свободно проникать в эпителиальные клетки. Напротив, он легко переносится из клеток в кровь. В эндотелиальных клетках фермент глутаминаза делает из глутамина глутамат и ионы аммония. Так контролируется перенос глутамата и глутамина из мозга в кровь и поддерживается их гомеостаз. При этом мозг освобождается от избыточного азота.

ГЭБ определяет доступность эссенциальных аминокислот, но в активации их переноса и регулировании их экстрацеллюлярной концентрации участвуют астроциты и нейроны. В клетках есть Na^+ -зависимые транспортные системы для переноса нейтральных и кислых аминокислот. Эти системы также обеспечивают низкую экстрацеллюлярную концентрацию нейротрансмиттеров глутамата, аспартата и глицина. Аблюминальная

мембрана ГЭБ имеет определяющее значение в регуляции состава экстрацеллюлярной жидкости.

Эссенциальные аминокислоты – предшественники биогенных аминов и нейропептидов.

3.6. Холин, метионин, фолиевая кислота

В центральной нервной системе холин – предшественник холинсодержащих фосфолипидов в нейронах и клетках глии, а также ацетилхолина в холинергических нейронах. Холин, по-видимому, не синтезируется в клетках мозга, а поступает в него из крови. В кровь холин поступает из пищи. Путь от пищи до мозга довольно длителен и накопление холина в соответствующих метаболитах происходит постепенно. В мозге он включается преимущественно в фосфатидилхолин по пути его биосинтеза из фосфатидилэтаноламина. Холин может входить в клетки мозга, включаясь в фосфатидилхолин, и выходить из нервной системы в кровь при распаде фосфатидилхолина. Дефицит холина вызывается нарушениями в системе метаболизма метильных групп, который также изменяет степень метилирования ДНК и экспрессию генов. Дефицит холина можно рассматривать как предвестник пролиферации и апоптоза нервных клеток.

Холин поступает не только в фосфолипиды, но и расходуется на синтез основного нейромедиатора – ацетилхолина. Ацетилхолин собирается из ацетата и холина под действием фермента ацетилхолинэстеразы. Метаболизм ацетилхолина оказывает множественное действие на физиологию мозга и развитие патологий. Активность ацетилхолинэстеразы значительно снижена при болезни Альцгеймера.

Холин – форма запасания метильных групп, которые при необходимости поступают в систему переноса одноуглеродных соединений. Дефицит холина в пище приводит также к дисфункции печени, к развитию гепатокарциномы. В клетках накапливается 1,2-диацилглицерол, активатор протеинкиназы С.

Метаболические пути холина, метионина и фолатов взаимосвязаны в процессах переноса метильных групп и синтезе гомоцистеина из метионина. В получении гомоцистеина задействованы два пути – в одном используется метил-тетрагидрофолиевая кислота, в другом – бетаин (триметилглицин), который получается при переносе метильных групп от холина на глицин. В первом пути, который катализируется метионин синтазой, кофактором фермента является витамин В12. Дефицит фолата и витамина В12 или полиморфизм гена тетрагидрофолатредуктазы приводит к увеличению содержания гомоцистеина в крови. Второй путь катализируется ферментом бетаин гомоцистеин метилтрансферазой. Бетаин, который получается из диетарного холина при действии фермента холин дегидрогеназы, донор метильной группы в этой реакции. Эта реакция не нуждается в витамине В12. Система переноса одноуглеродных соединений находится в тесном взаимодействии с редокс-системой клетки, а также с синтезом миелина. Диетарная фолиевая кислота и витамин В12 пассивно пересекают ГЭБ как липотропные вещества.

4. Биосинтез основных соединений

Мозг млекопитающих проявляет уникальные потребности в метаболитах и пищевых ингредиентах. Мозг потребляет 20% всей энергии организма, но до сих пор неясно, что он при этом синтезирует и как. Дело осложняется гетерогенной структурой центральной нервной системы, специфическими межклеточными взаимодействиями и относительной недоступностью его для исследования. Большая часть базовых нейробиохимических процессов неизвестна или отсутствует единая точка зрения относительно их последовательности и механизмов.

4.1. Нейротрансмиттеры

В центральной нервной системе ГАМК и глицин действуют как тормозящие, глутаминовая кислота (глутамат) – как возбуждающий нейротрансмиттеры. Быстрая трансмиссия ГАМК через активацию ионотропного ГАМКа рецептора (GABAAR) доминирует во всех отделах мозга. Глицин тоже осуществляет быструю тормозящую нейротрансмиссию через ионотропные глициновые рецепторы (GlyR), которые доминируют в спинном мозге и стволе мозга. Они нужны, чтобы осуществлять опосредованную ионами хлора деполяризацию на ранних стадиях развития нервной системы. В дальнейшем экспрессия этих рецепторов снижается. Были проклонированы два глициновых транспортера. Один – GLYT1, который главным образом экспрессируется в клетках глии и колокализован с NMDA рецепторами. Другой, GLYT2, экспрессируется исключительно в нейронах и колокализован с рецепторами-ингибиторами глицина.

Внутриклеточный транспорт нейротрансмиттеров осуществляется через ионные каналы. Семейство Na⁺ - и Cl⁻ – зависимых транспортеров молекул-нейротрансмиттеров и их метаболитических предшественников, а также моноаминов составляют 12 трансмембранных белков. В этих белках есть специальные аминокислотные последовательности, отвечающие за связывание с транспортируемыми аминокислотами и ионами.

Специфические транспортные системы освобождают синаптические пузырьки от нейротрансмиттеров. Это относится к трем нейротрансмиттерам – глутамату, ГАМК и глицину. Глия играет важную роль в модулировании возбуждения и торможения при нейротрансмиссии. Транспортные системы клеток глии для трех аминокислот: глутамата, ГАМК и глицина участвуют в остановке нейротрансмиссии. ГАМК – основной ингибиторный нейротрансмиттер. Клетки глии экспрессируют Na⁺/Cl⁻ – зависимые высокоаффинные транспортеры ГАМК (GATы): GAT1, GAT2, and GAT3, а также низкоаффинный транспортер BGT1. У каждого транспортера свое региональное распределение. Снижение ГАМК-передачи наблюдается при эпилепсии.

К настоящему моменту проклонированы 5 различных высокоаффинных натрий-зависимых транспортеров глутамата: GLT1, GLAST, EAAC1, EAAT4 и EAAT5. Два первых экспрессируются преимущественно в клетках глии, они, скорее всего, доминируют в мозге. Несмотря на то что транспорт является Ca²⁺ и энергонезависимым, эти белки функционируют как ионные каналы.

Для ГАМК и глицинового ответа необходим перенос ионов хлора, так как его используют соответствующие переносчики (ионные каналы). Na-K-Cl котранспортер (NKCC)

осуществляет активный транспорт натрия, калия и хлора из и вовнутрь клетки. NKCC1 экспрессируется во многих отделах мозга в течение раннего развития, во взрослом возрасте – нет. Возможно, изменяется ответ на ГАМК и глицин от возбуждения к торможению. Во взрослом возрасте повышается экспрессия KCC2.

Ткань мозга имеет замечательную способность аккумулировать внутриклеточный глутамат благодаря белкам, транспортирующим его в клетки. Так поддерживаются его низкие экстрацеллюлярные концентрации, что позволяет избежать токсичности глутамата. Клетки глии, захватывая глутамат, защищают нейроны от его токсичности. Белки-транспортеры присутствуют в цитоплазматических мембранах как клеток глии, так и нейронов. У всех этих белков есть только один механизм перемещения глутамата из экстрацеллюлярной жидкости. Эти белки модифицируют скорость процессов, происходящих в синаптическом пузырьке, а также поставляют глутамат для синтеза ГАМК, глутатиона и белков, для производства энергии в митохондриях. Такие же белки есть в периферических органах (кости, сердце, кишечник, почки, поджелудочная железа, плацента).

Захват глутамата модулируется на разных уровнях – транскрипция ДНК, сплайсинг иРНК и ее деградация, синтез белка, активность аминокислотного транспорта и ионных каналов. Различные растворимые соединения (цитокины, факторы роста) влияют на экспрессию переносчиков глутамата и их активность. Сам глутамат и его переносчики вовлечены как в нормальное функционирование мозга, так и в развитие патологий и нейродегенеративных процессов.

Обратный захват нейротрансмиттера происходит пресинаптическими нейронами после того, как он выполнил свою функцию. Для этого тоже есть свои переносчики. Описано целое семейство таких белков, которое включает переносчиков дофамина, норэпинефрина, серотонина, глицина, пролина и ГАМК. Они относятся к классу Na^+/Cl^- -зависимых переносчиков.

4.2. Биосинтез глутамата, глицина и ГАМК

Глутаминовая кислота может быть синтезирована из глюкозы (цикл трикарбоновых кислот – альфа-кетоглутарат-глутаминовая кислота) и из глутамина. При синтезе из глюкозы источником аминогруппы является аспарагиновая кислота, при синтезе из глутамина – сам глутамин, который поступает в нервную ткань из крови. ГАМК – декарбоксилированное производное глутаминовой кислоты. Для ее производства нужен всего один фермент – глутаматдекарбоксилаза.

Глутамин используют как клетки глии, так и нейроны, куда он переносится транспортными белками ASCT2, GlnT и SN1. При этом ASCT2 и SN1 находятся в астроцитах, а GlnT – в нейронах. Они обеспечивают доступность глутамата для глутаматергических и ГАМКергических нейронов. Глутамат может превращаться в глутамин благодаря последовательности реакций трансаминирования, которые катализируются аспаратаминотрансферазой. Этот фермент использует в качестве кофермента пиридоксальфосфат, который является производным пиридоксина. Пиридоксин – витамин B6, он поступает в мозг из крови, а в кровь – из пищи. Глутаматдекарбоксилаза также использует в качестве кофермента пиридоксальфосфат.

Синтезированный глутамат собирается в синаптических пузырьках нейронов. Метаболизируется глутамат в клетках астроглии. ГАМК метаболизируется при действии фермента ГАМК-трансаминазы, который присутствует как в ГАМКергических нейронах, так и в других типах нейронов и в глии.

Глицин синтезируется в пути «глюкоза-3-фосфоглицерат-серин-глицин». В реакции «3-фосфоглицерат-серин» участвует глутаминовая кислота, которая передает аминогруппу, в реакции «серин-глицин» выделяется метильная группа, которую подхватывает переносчик метильных групп тетрагидрофолиевая кислота. Мозгу необходимо потреблять фолиевую кислоту. Четыре протона к ней присоединяют НАДФН и глутатион. НАДФН берет протоны у глюкозы и отдает их на синтез жирных кислот и глутатиону. Если в клетках мозга не синтезируются жирные кислоты, то протоны уходят к глутатиону. Биосинтез глутатиона происходит в системе переноса одноуглеродных соединений, где задействовано несколько витаминов группы В, включая витамин В12, а также незаменимая аминокислота метионин и фолиевая кислота.

4.3. Глутатион

Мозг взрослого человека потребляет 20% всего кислорода, утилизируемого организмом, хотя его клеточная масса составляет всего 2% от массы тела. Кислород поступает в клетку диффузно, распределяясь по всему ее пространству. Посредством кислорода происходят энергогенерирующие процессы окисления в митохондриях, а также работает редокс-система, в которой не запасается энергия в виде АТФ. Основной участник немитохондриальной редокс-системы – глутатион, выполняющий функции восстановителя (переносчик протонов).

Глутатион – трипептид, который состоит из глицина, глутаминовой кислоты и цистеина. Гомеостаз глутатиона поддерживается благодаря рециркуляции его предшественников, но, несмотря на это, необходимо их поступление в мозг. Это касается, прежде всего, глутамата и цистеина. Глутатион сам по себе тоже может пересекать ГЭБ по натрий-зависимым каналам.

В астроцитах глутатиона содержится больше, чем в нейронах, а аскорбиновой кислоты (другой восстановитель) больше содержится в нейронах, чем в астроцитах. Несмотря на то что мозг потребляет так много кислорода, активность ферментов, синтезирующих глутатион, в мозге гораздо ниже, чем в печени или почках.

В клетках мозга есть цистин/глутамат обменная система, которая переносит одну молекулу цистина внутрь клетки и выводит одну молекулу глутамата наружу. Эта система переноса индуцируется окислительным стрессом, так как цистеин и глутамат – компоненты глутатиона, основного восстанавливающего агента клеток. Однако эта система работает независимо от глутатиона, подчиняясь своему собственному редокс-балансу. Цистин – окисленная форма цистеина, поэтому взаимный перенос этих двух соединений регулируется мембранным редокс-потенциалом, а также и редокс-балансом между внутриклеточным и экстраклеточным пространствами. Внутри клетки цистин восстанавливается в цистеин.

Цистеин проникает в мозг посредством L-системы, предпочитающей лейцин. Глицин, присутствующий в глутатионе астроглии, может иметь происхождение от экзогенного глицина или серина. Астроциты могут использовать дипептиды в качестве предшественников глутатиона. Дипептид ГЛИ-ЦИС, захватываемый астроцитами в миллимолярных количествах, является непосредственным субстратом для синтеза глутатиона. Дипептид ЦИС-ГЛИ реутилизируется астроцитами в микромолярных количествах. После внутриклеточного гидролиза ЦИС-ГЛИ цистеин и глицин тоже служат сырьем для синтеза глутатиона.

Глутатион синтезируется в астроцитах и нейронах, но эти два типа клеток предпочитают разные предшественники синтеза глутатиона. Фактически астроциты снабжают нейроны метаболическими предшественниками для синтеза глутатиона. Астроциты также формируют пул экстрацеллюлярного глутатиона, который становится доступным для нейронов. Они секретируют окисленную форму глутатиона.

Глутатион участвует в редокс-реакциях совместно с перекисью водорода, которая генерируется в нейронах. Астроциты увеличивают продукцию антиоксидантных ферментов, в частности глутатионпероксидазы, нейтрализуя перекись водорода, которая образуется в ответ на повреждающие воздействия. Астроциты оказывают протективное действие на нейроны, защищая их от окислительного повреждения. При ишемии возрастают концентрации экстрацеллюлярного глутатиона.

Важная функция глутатиона и ферментов глутатионтрансфераз – участие в метаболизме лейкотриенов, которые, в свою очередь, задействованы в синтезе нейрогормонов. В пикоконцентрациях LTC₄ стимулирует высвобождение лютеинизирующего гормона в шишковидной железе.

При старении наблюдается снижение активности глутатионовой системы, несмотря на то что потребление цистеина остается прежним.

4.4. Холестерин

Гомеостаз липидов в мозге строго поддерживается, так как обеспечивает его функциональность, ведь мозг буквально соткан из мембран. Метаболизм липидов является решающим при развитии мозга, при репарации нанесенных повреждений и в поддержании эффективной нейротрансмиссии. В центральной нервной системе в построении и функционировании мембран, в формировании синаптических пузырьков и их работе участвует холестерин. ГЭБ препятствует проникновению холестерина в мозг из крови. Весь холестерин мозга синтезируется его собственными клетками. Однако степень синтеза холестерина мозгом неизвестна.

Мозг очень обогащен холестерином. Он синтезирует его в клетках глии, которые секретируют холестерин в форме липопротеидов. Нейроны тоже могут синтезировать холестерин. Активируемые липолизом рецепторы к липопротеидам были обнаружены только в нейронах. Эти рецепторы связаны с холестерином.

Практически все рецепторы закрепляются на мембране синапсов в особых уплотненных образованиях, получивших название «рафтов» (плот). Мембранные рафты тесно контактируют с цитоскелетом. Холестерин синтезируется из ацетата в пероксисомах.

Постсинаптические белки-шапероны транспортируют вновь синтезированный холестерин из цитоплазматического ретикула к рафтам, к которым присоединяются еще и G-белки. Для закоривания в липидном матриксе G-белки прикрепляют пальмитиновую или миристиновую (14:0) кислоты. В рафтах синапсов содержатся еще H^+ -транспортирующая АТФаза и Na^+/K^+ -АТФаза, играющие решающую роль в поддержании трансмембранных ионных градиентов и возбуждении нейронов. С рафтами связываются также «многоходовые» белки.

Мембранные, или липидные, рафты – это маленькие гетерогенные, обогащенные холестерином и сфингомиелином образования, предполагаемая функция которых – компартиментализация клеточных процессов. Они короткоживущие и крайне динамичные, распределены по всей мембране. Под влиянием стимулов рафты объединяются в большие стабильные скопления. Они уже не плотики, а платформы, захватывающие сигнальные молекулы. Рафты способствуют проведению сигналов, участвуют в клеточной адгезии и т.п. В рафтах основные компоненты – сфингомиелин и холестерин, в мембране – фосфатидилхолин. Цереброзиды синтезируются из серина с участием пальмитиновой кислоты. Для синтеза галактозидов требуются углеводы. Холин – витамин, который поступает в мозг из крови.

Холестерин мембран напрямую взаимодействует с дофаминовым рецептором, осуществляющим транспорт дофамина. Степень связывания зависит от состава липидов в рафте: чем больше холестерина и сфингомиелина, тем сильнее взаимодействие.

Избыточный холестерин выводится из нейронов, которые могут продуцировать его более полярное соединение 24ОНС (24S)-гидроксихолестерол) благодаря специфическому нейрональному ферменту 24-гидроксилазе (CYP46A1). Мозг – основной источник 24ОНС крови. Уровень 24ОНС в плазме крови свидетельствует об активности нейронов мозга и объеме структур серого вещества. При нейродегенеративных процессах, таких как рассеянный склероз, болезни Альцгеймера и Хаттингтона, уровень 24ОНС в крови снижается пропорционально степени атрофии ткани. Менее 1% 24ОНС экскретируется через цереброспинальную жидкость. Именно здесь содержание 24ОНС повышается при нейродегенерации, и этот показатель рассматривается как диагностический.

24ОНС действует как сигнальная молекула, активируя опосредованный апоЕ (аполипопротеин Е) выход холестерина из астроцитов. 24ОНС имеет прямой эффект на транскрипцию гена апоЕ, синтез белка и его секрецию. При болезни Альцгеймера существенно повышается синтез 24ОНС и уровень апоЕ. Повышение синтеза холестерина и нарушения его метаболизма – одно из событий, предшествующих образованию бета-амилоида и амилоидных бляшек. В процессе нейродегенерации холестерин накапливается в нейронах и окисляется в 24ОНС. Вне мозга образуется 27-гидроксихолестерол (27ОНС), который может проникать в мозг через нарушенный ГЭБ. Развитие болезни Альцгеймера, вызванной внутриклеточным накоплением тяжелей и внеклеточным накоплением бета-амилоида, может быть следствием нарушений метаболизма липидов и функционирования редокс-системы.

АпоЕ – основной медиатор, контролирующий гомеостаз (транспорт и клиренс) липидов и холестерина в мозге, он обеспечивает потребности в липидах для быстрого синтеза

мембран, тем самым поддерживая необходимый уровень нейротрансмиссии. Кроме того, апоЕ, синтезированный первично в глии, необходим для элиминации токсичных пептидов, продуцируемых мозгом. Он участвует в репарационных процессах наряду с липопротеидами высокой плотности, поступающими из спинномозговой жидкости. Диета и возраст влияют на синтез липидов и апоЕ в мозге. Метаболизм холестерина также связан с использованием холина и поставкой метильных групп.

В теле основная функция апоЕ – переносить хиломикроны и липопротеиды промежуточной плотности в печень. Эти липопротеиды имеют относительно большие размеры и содержат как холестерин, так и триглицериды. Хиломикроны захватывают холестерин из кишечника, а липопротеидам промежуточной плотности его поставляют липопротеиды высокой плотности. В крови он участвует, главным образом, в транспорте триглицеридов в печень. В мозге он проявляет специфичность к холестерину. По-видимому, он имеет разные сайты связывания для триглицеридов и холестерину. Так, генетически измененная изоформа Е2 приводит к нарушениям транспорта триглицеридов и атеросклерозу, а изоформа Е4 – к болезни Альцгеймера и когнитивным расстройствам. Рецептор к апоЕ – нуклеарный, он регулирует метаболизм глюкозы, холестерина и жирных кислот.

4.5. Моноамины

Катехоламины (дофамин, эpineфрин, норэpineфрин), продуцируемые надпочечниками, не пересекают ГЭБ. В то же время показано, что некоторые из них могут проходить в мозг в районе гипоталамуса. Предшественниками катехоламинов в мозге являются незаменимые ароматические аминокислоты (тирозин), серотонина – триптофан, который окисляется в фенилаланин. Синтез катехоламинов и моноаминов полностью зависит от наличия в крови этих незаменимых аминокислот, которые поступают в организм с пищей. Физиологические и патофизиологические факторы, которые влияют на концентрацию этих аминокислот в крови, и другие аминокислоты, которые конкурируют с ними за системы, переносящие их через ГЭБ. Большие нейтральные аминокислоты (LNAA) определяют концентрацию моноаминов в мозге, а через них – функционирование мозга в целом.

Катехоламины синтезируются из тирозина в ряду последовательных реакций «тирозин-ДОФА-дофамин-норэpineфрин-эpineфрин». Тирозин гидроксилируется до ДОФА, который очень быстро декарбоксилируется до дофамина. Дофамин используют дофаминовые нейроны. Нейроны, использующие норэpineфрин, гидроксилируют дофамин. Нейроны, использующие эpineфрин, метилируют норэpineфрин. Таким образом, разные нейроны содержат разные ферменты цепочки последовательного превращения катехоламинов. Лимитирующим в этом ряду является гидроксилирование тирозина, поэтому весь ряд зависит от наличия в мозге этой аминокислоты. Катехоламины синтезируются и метаболизируются при участии редокс-системы.

Серотонин не может проникать в мозг из крови через ГЭБ, но, нарушая проницаемость ГЭБ, он проходит через паренхиму. Мозг синтезирует свой собственный серотонин из триптофана. Триптофан конкурирует с тирозином не только за проникновение через ГЭБ, но и за фермент тирозингидроксилазу. Триптофан гидролизруется до серотонина, а

серотонин метилируется с образованием мелатонина. Гидролиз триптофана определяет последовательность остальных реакций синтеза, так что и в данном случае от наличия триптофана зависит количество серотонина и мелатонина. Серотонин метаболизируется в редокс-системе.

Тирозин, основной предшественник катехоламинов, и фенилаланин, предшественник серотонина и мелатонина, гидролизуются при участии тетрагидробиоптерина. Этот кофактор – незаменимое соединение, частичный синтез которого проходит в клетках человека. Он проходит через ГЭБ.

Хотя ГЭБ отделяет мозг от тела, он не препятствует проникновению в него некоторых гормонов, просто контролирует. Липотропные стероидные гормоны проходят по механизму трансмембранной диффузии, поэтому их содержание в мозге соответствует их содержанию в крови. Тиреоидные гормоны, многие пептиды и регуляторные белки требуют для своего переноса транспортные системы. В мозге некоторые гормоны оказывают эффект, противоположный тому, как они действуют на периферии. Клетки, формирующие ГЭБ, сами могут функционировать как эндокринные, реагируя на вещества, циркулирующие в крови, и секретирова соединения в кровь и мозг. ГЭБ работает как интерфейс, регулирующий гормональные и гуморальные связи между мозгом и остальным телом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение метаболических основ функционирования центральной нервной системы подчинено требованиям, которые предъявляет поиск мишеней для терапевтического воздействия с целью коррективки неврологических расстройств. Побочная ветвь исследований – познание филогенетического (эволюционного) и онтогенетического (процесс созревания) развития ЦНС. В последние годы выясняется, что образ жизни и процессы старения оказывают свое влияние на ЦНС, в частности на развитие нейродегенеративных процессов. Подобные исследовательские установки дают отрывочные знания и не способствуют созданию целостной картины о том, как работает ЦНС.

Исследования проводятся, как правило, на культурах клеток, на срезах ткани и на генетически измененных животных. Не удалось найти ни одной работы с использованием перфузии изолированного мозга.

Тем не менее постепенно вырисовывается представление о своеобразной обособленности нервной ткани и ее отношений с «телом». Мозг практически не потребляет продуктов, вырабатываемых телом, а производит все для себя самостоятельно. Для этих целей и служит ГЭБ. Он отфильтровывает вещества, необходимые для нервной ткани и поступающие в тело преимущественно с пищей. Это касается, прежде всего, незаменимых аминокислот, витаминов, жирных кислот. Через ГЭБ не проходят жирные кислоты, которые синтезируются в теле, например, пальмитиновая кислота. Мозг выбирает те жирные кислоты, которые он может доводить путем элонгации и десатурации до своих потребностей.

Основной субстрат, используемый мозгом, – глюкоза. Она используется для получения энергии и синтеза аминокислот – нейротрансмиттеров глутамата, глицина и ГАМК. Мозг работает в режиме стационарного количества поступающей в него глюкозы. Он контролирует эту стационарность на уровне тела, управляя основным распределителем потоков глюкозы и жирных кислот в теле – печенью. Аминокислоты и глутамин, поступающие в мозг, служат источником азота. Возможно, они используются для синтеза нейропептидов, но это еще не доказано. Нейропептиды имеют строго определенную аминокислотную последовательность. Это означает, что либо аминокислоты поступают выборочно, либо мозг сам синтезирует то, что ему нужно. В ГЭБ существует несколько систем для выборочного поступления в мозг аминокислот.

Глюкоза может использоваться также как сырье для синтеза холестерина, жирные кислоты – как сырье для синтеза фосфолипидов, сфингомиелинов и цереброзидов. Для синтеза сфингомиелинов и цереброзидов нужна пальмитиновая кислота, которую мозг синтезирует сам в нужных ему количествах.

Между тем ткань мозга, как и другие ткани тела, омывается одной жидкостью, имеющей один солевой состав. Основные соли – хлористый натрий и бикарбонат. Мозг использует ту же систему поддержания pH, как и все тело. В ткани мозга работает тот же фермент угольная ангидраза, поставляющая протоны при растворении углекислого газа в воде.

Глюкоза при ее распаде по пентозофосфатному пути также является поставщиком протонов. Они переносятся глутатионом, который синтезируется клетками глии и передается нейронам. Глутатион поддерживает внутриклеточную редокс-систему и систему переноса одноуглеродных соединений (метильной группы). Функционирование редокс-системы чрезвычайно важно для мозга, так как в нее «вписаны» синтез и распад биогенных аминов. По-видимому, мозг работает в большей степени на энергиях анаэробного расщепления глюкозы, электрохимического и редокс-потенциала, чем на энергии АТФ, продуцируемой в митохондриях. В митохондриях производится, главным образом, глутамат. Важность редокс-системы настолько велика, что гипоксия вызывает острый окислительный стресс, разрушающий ткань мозга.

Нетребовательность мозга к продуктам, производимым телом, и его большая автономность позволяют верить в успех поддержания активности мозга, отделенного от тела. Перфузия изолированного мозга даст больше ценной информации для познания деятельности мозга, чем те объекты исследования, которые использовались до настоящего времени.

ЛИТЕРАТУРА

Marty N. et al. Regulation of glucagon secretion by glucose transporter type 2 (glut2) and astrocyte-dependent glucose sensors // *J. Clin. Invest.* 2005. № 115 (12). P. 3545–3553.

Guillod-Maximin E., Lorsignol A., Alquier T., Pénicaud L. Acute intracarotid glucose injection towards the brain induces specific c-fos activation in hypothalamic nuclei: involvement of astrocytes in cerebral glucose-sensing in rats // *J. Neuroendocrinol.* 2004. № 16 (5). P. 464–471.

Serres S., Bouyer J.-J., Bezancon E., Canioni P., Merle M. Involvement of brain lactate in neuronal metabolism // *NMR Biomed.* 2003. № 16 (6–7). P. 430–439.

Nedergaard M., Ransom B., Goldman S.A. New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain // *Trends Neurosci.* 2003. № 26 (10). P. 523–530.

Pellerin L. How astrocytes feed hungry neurons // *Mol Neurobiol.* 2005. № 32 (1). P. 59–72.

Pellerin L, Bouzier-Sore A.-K., Aubert A. et al. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update // *Glia.* 2007. № 55 (12). P. 1251–1262.

Stanley B.G., Urstadt K.R., Charles J.R., Kee T. Glutamate and GABA in lateral hypothalamic mechanisms controlling food intake // *Physiol. Behav.* 2011. № 104 (1). P. 40–46.

Pellerin L., Magistretti P.J. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization// *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. № 91 (22). P. 10625–10629.

Obici S., Feng Z., Morgan K., Stein D., Karkanias G., Rossetti L. Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake // *Diabetes.* 2002. № 51. P. 271–275.

Obici S., Feng Z., Arduini A., Conti R., Rossetti L. Inhibition of hypothalamic carnitine palmitoyltransferase-1 decreases food intake and glucose production // *Nat. Med.* 2003. № 9. P. 756–761.

Lam T.K., Schwartz G. J., Rossetti L. Hypothalamic sensing of fatty acids // *Nat. Neurosci.* 2005b. № 8. P. 579–584.

Andrews Z.B., Liu Z.W., Wallingford N. et al. UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals // *Nature.* 2008. № 454. P. 846–851.

Horvath T.L., Sarman B., Garcia-Caceres C. et al. Synaptic input organization of the melanocortin system predicts diet-induced hypothalamic reactive gliosis and obesity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. № 107. P. 14875–14880.

Chakravarthy M.V., Zhu Y., Lopez M. et al. Brain fatty acid synthase activates PPARalpha to maintain energy homeostasis // *J. Clin. Invest.* 2007. № 117. P. 2539–2552.

Cha S.H., Hu Z., Lane M.D. Long-term effects of a fatty acid synthase inhibitor on obese mice: food intake, hypothalamic neuropeptides, and UCP3 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. № 317. P. 301–308.

Kumar M.V., Shimokawa T., Nagy T.R., Lane M.D. Differential effects of a centrally acting fatty acid synthase inhibitor in lean and obese mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. № 99. P. 1921–1925.

Cha S.H., Hu Z., Chohnan S., Lane M.D. Inhibition of hypothalamic fatty acid synthase triggers rapid activation of fatty acid oxidation in skeletal muscle // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. № 102. P. 14557–14562.