

Διεγερτικά αμινοξέα

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΜΑΘΗΜΑ ΝΕΥΡΟΑΝΑΤΟΜΙΑΣ

Α'Ν/Χ Κλινική ΕΚΠΑ

Αθήνα 5/5/2018

Διεγερτικά αμινοξέα



Στέργιος Γκατζώνης
Νευρολόγος

Αναπληρωτής Καθηγητής
Νευροχειρουργική Κλινική Παν/μίου Αθηνών
Μονάδα Χειρουργικής Θεραπείας της Επιληψίας
Νοσοκομείο «ο Ευαγγελισμός»

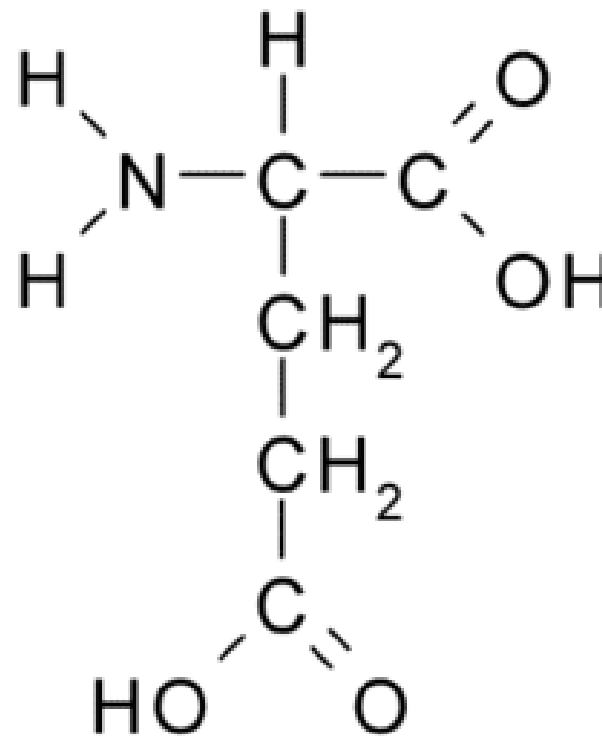
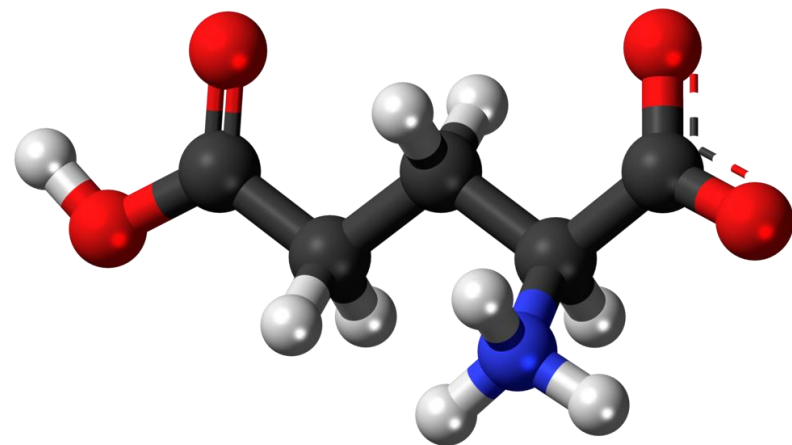


L-γλουταμικό και L-ασπαρτικό

- Πλέον διαδεδομένοι διεγερτικοί διαβιβαστές

Γλουταμικό: ένα μη απαραίτητο αμινοξύ

- Συμμετέχει σε πρωτεΐνες
- Αποτελεί στοιχείο του ενδιάμεσου μεταβολισμού
- Αποτελεί τελικό προϊόν



Βιοσύνθεση γλουταμικού (μη απαραίτητο)

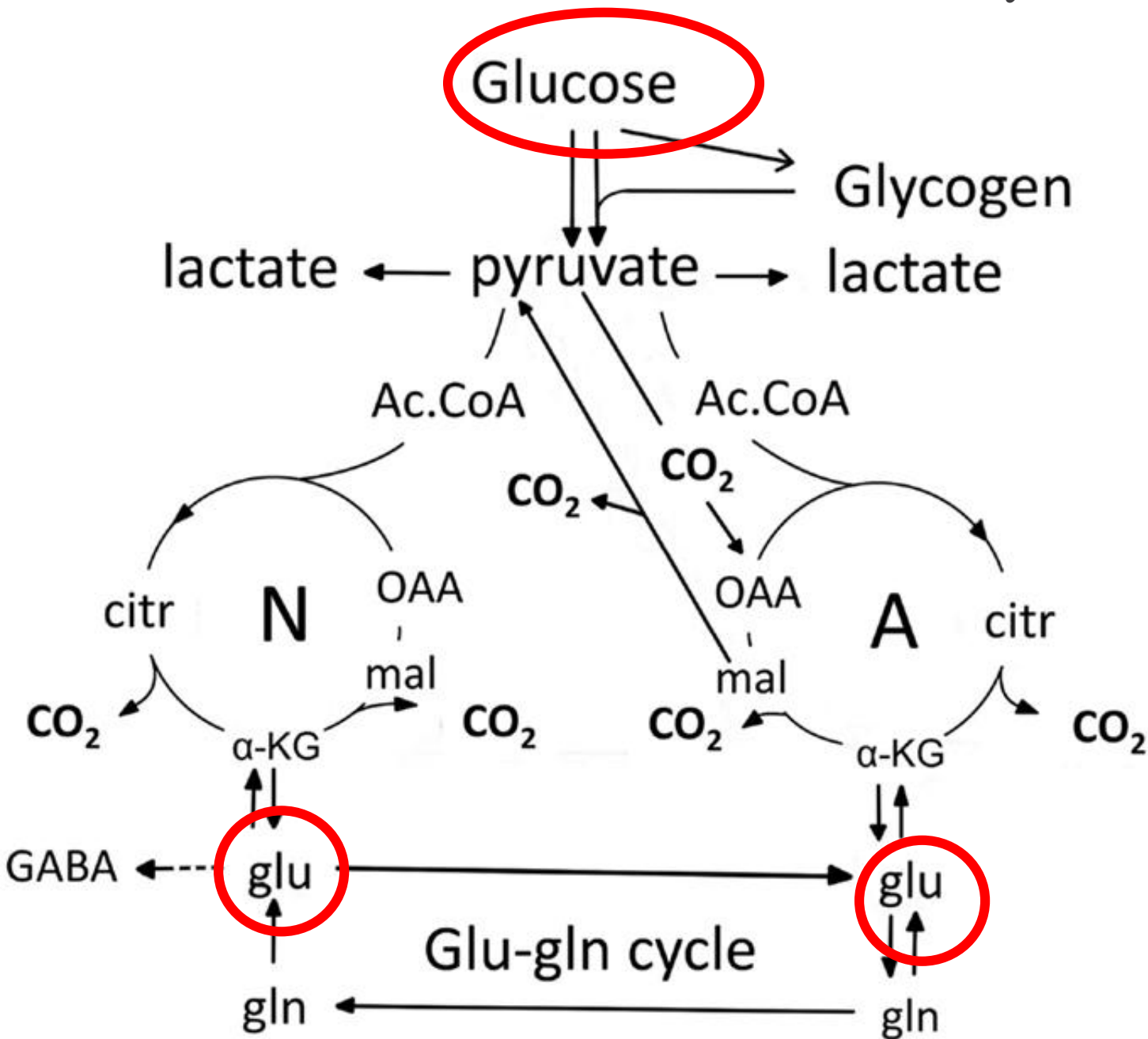
- Υδρόλυση γλουταμίνης
- Υδρόλυση του N-ακετυλογλουταμινικού οξέος
- Οξειδωτική αμίνωση α-κετογλουταρικού οξέος
- Τρανσαμίνωση α-κετογλουταρικού οξέος
- Αναγωγή 1-πυρρολινο-5-καρβοξυλικού οξέος
- Από N-φορμινογλουταμινικό οξύ

Κύριος πρόδρομος παράγοντας : γλυκόζη αλλά και η γλουταμίνη, το ασπαρτικό και οξυγλουταρικό.

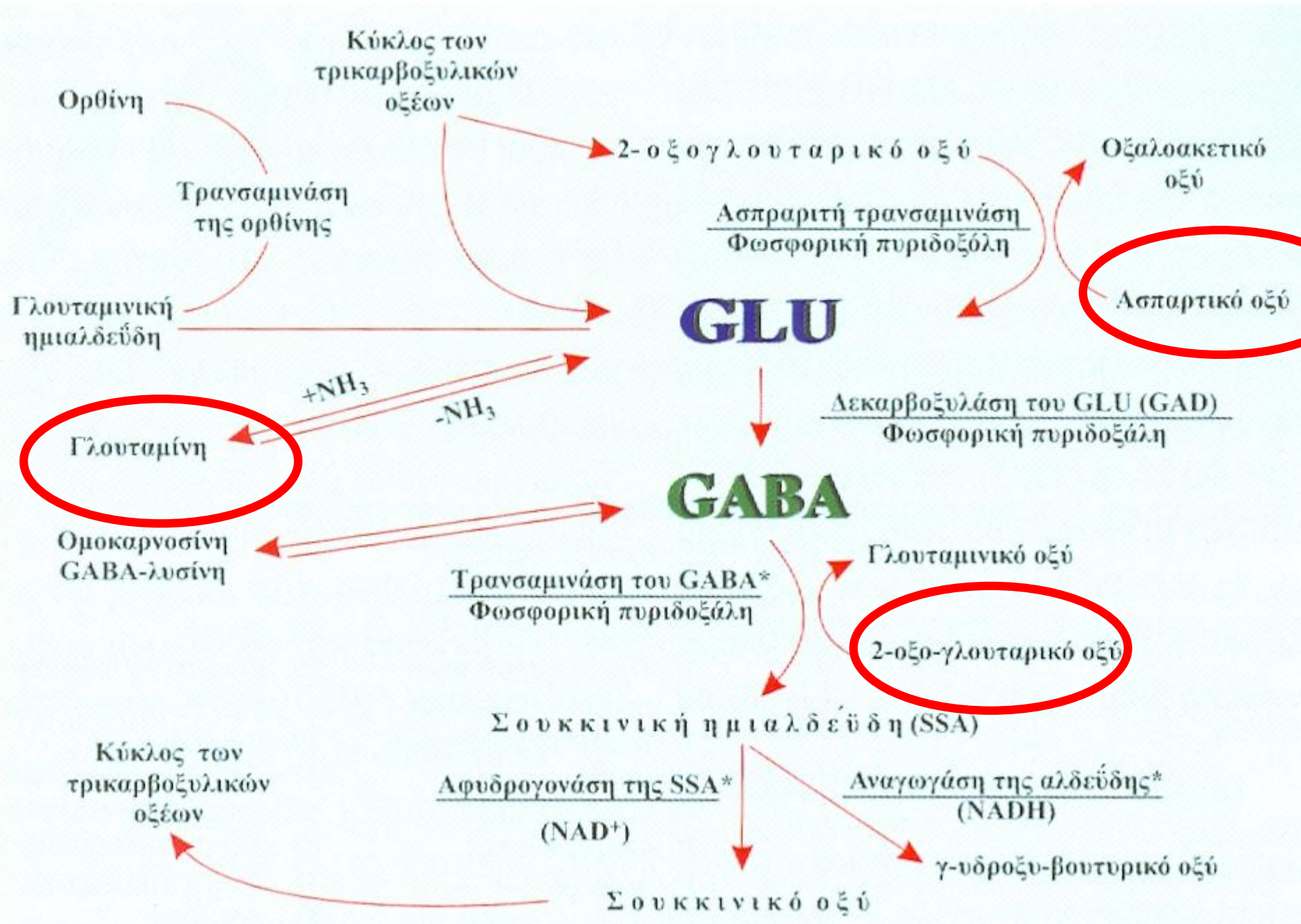
Αποκλειστικά τοπική σύνθεση στο ΚΝΣ

neurons

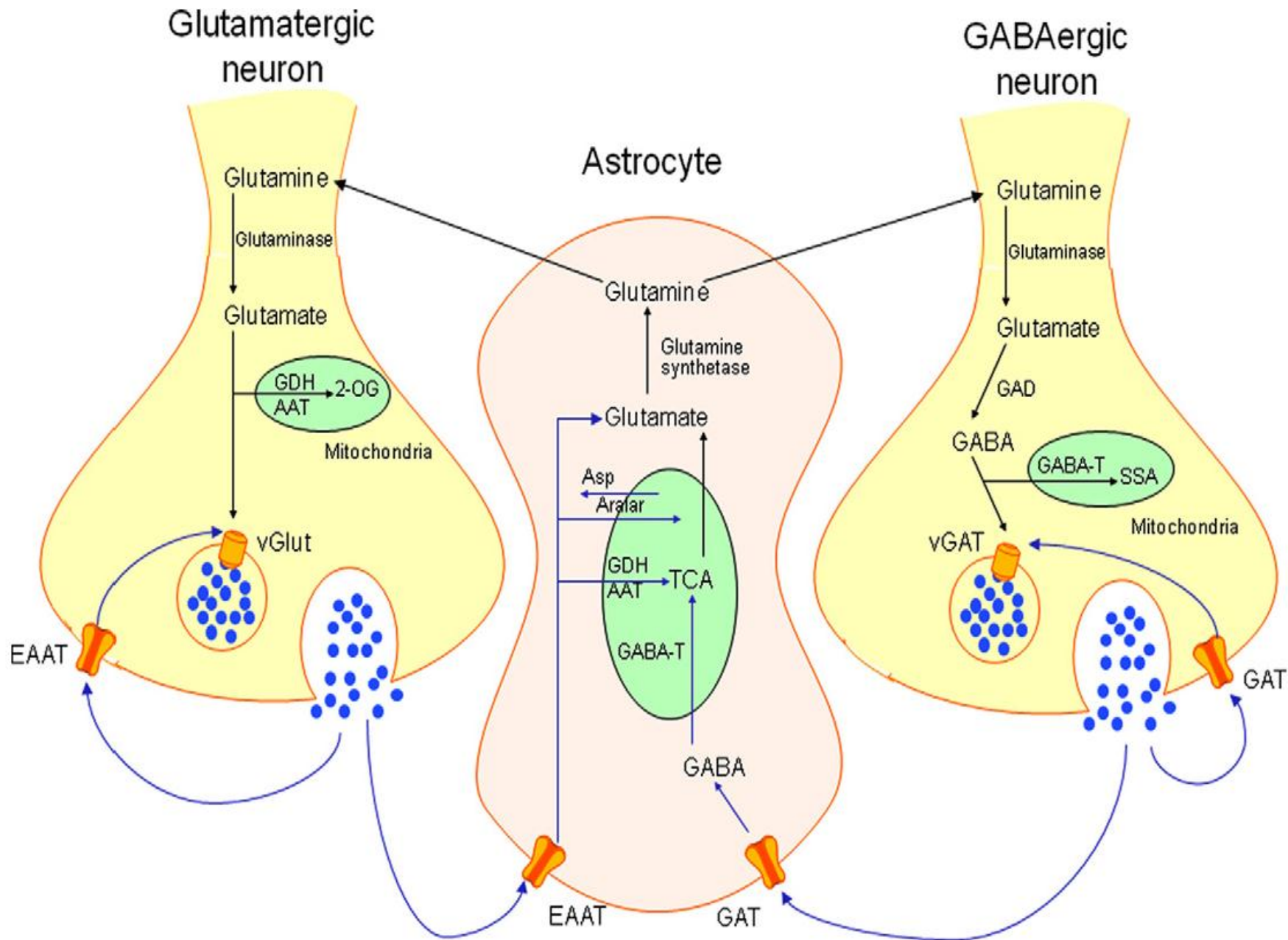
astrocytes



Κύριος πρόδρομος παράγοντας : γλυκόζη αλλά και η γλουταμίνη, το ασπαρτικό και οξυγλουταρικό

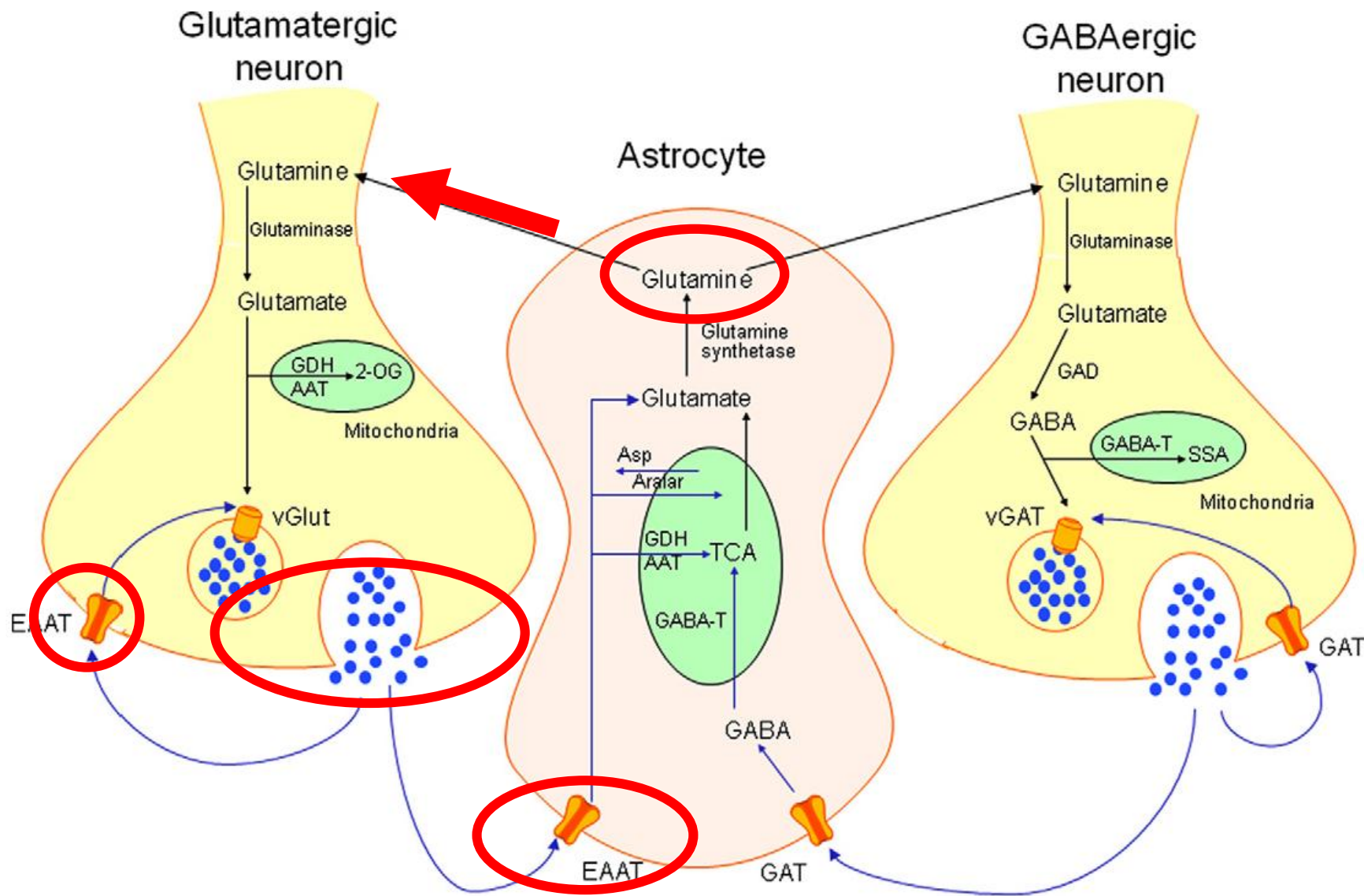


Κύριος πρόδρομος παράγοντας : γλυκόζη αλλά και η γλουταμίνη, το ασπαρτικό και οξυγλουταρικό



Ένζυμα για την σύνθεση και τον μεταβολισμό

βρίσκονται σε νευρώνες και σε γλοιακά κύτταρα.



Μετά την απελευθέρωση στο χάσμα:

Μεταφορείς για την επαναπρόσληψη (7 είδη)

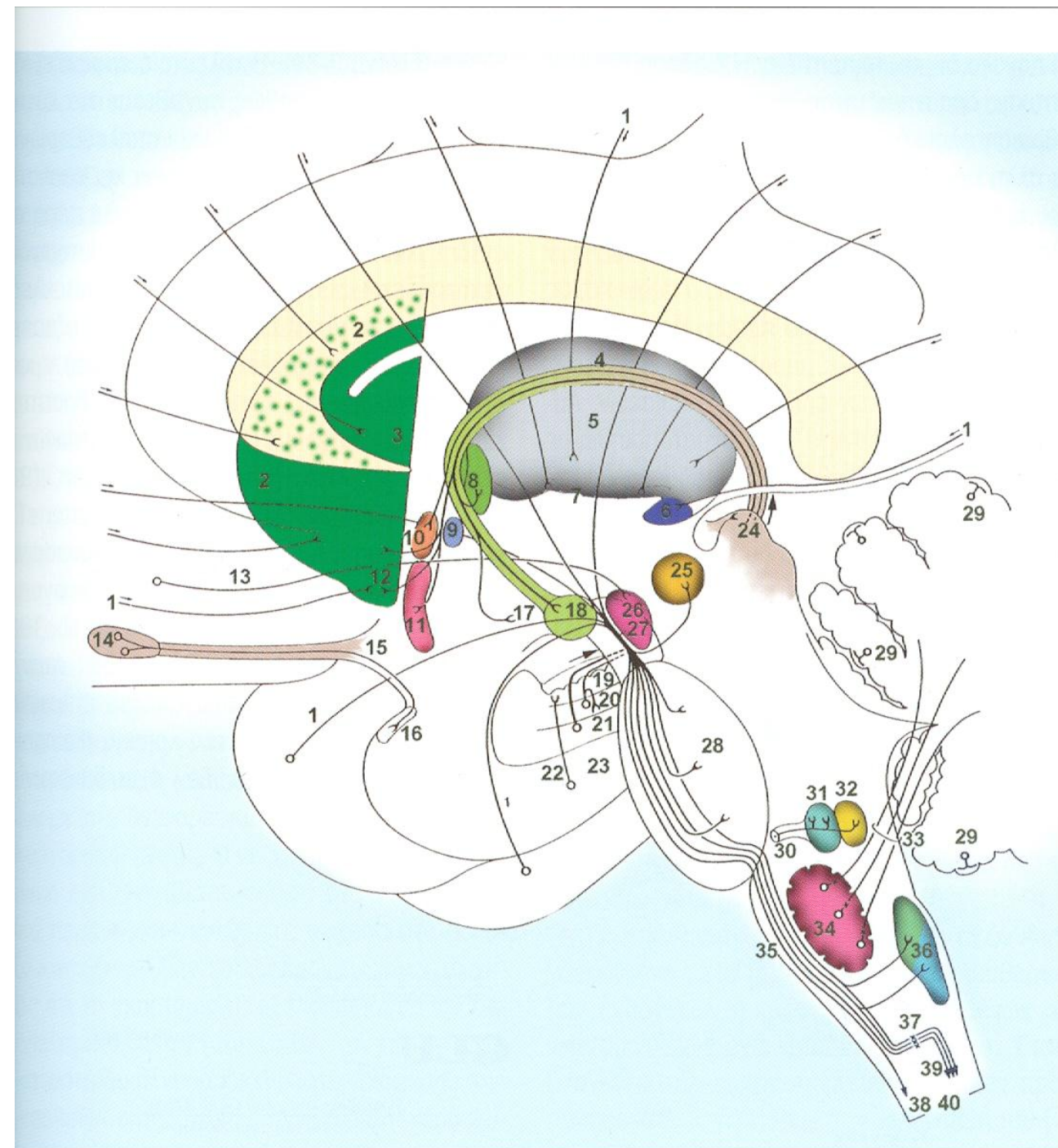
Σε γλοία και νευρώνες

Στη γλοία: γλουταμίνη

Ως γλουταμίνη: μεταφορά σε νευρώνες

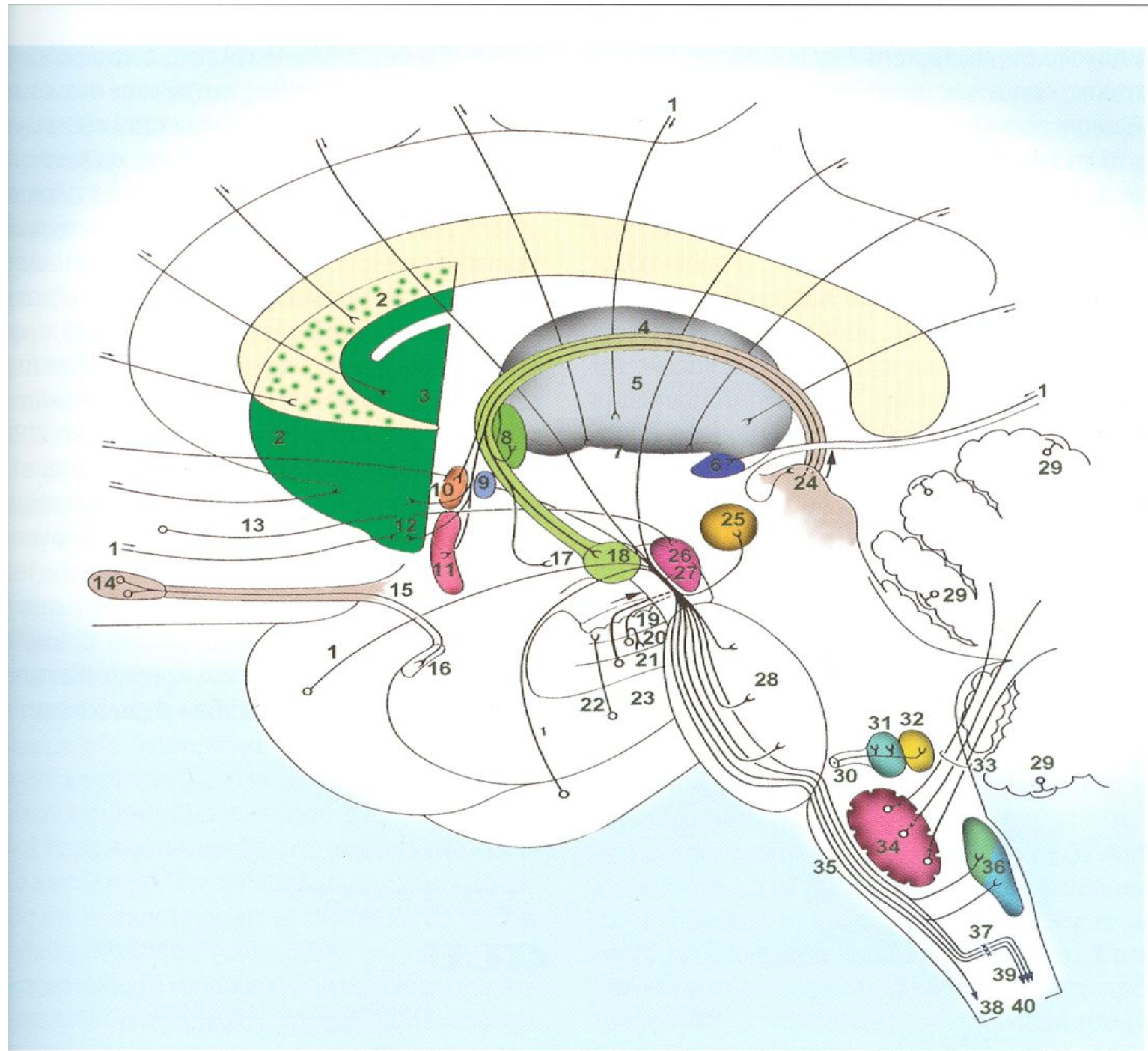
ΓΛΟΥΤΑΜΙΚΟ: Κατανομή στο ΚΝΣ

Στο **φλοιό** προβάλλοντας
σε υποφλοιώδεις δομές:
ιππόκαμπο
αμυγδαλοειδή
κερκοφόρο
μέλαινα ουσία
επικλινή πυρήνα
διδύμια
ερυθρό πυρήνα
γέφυρα



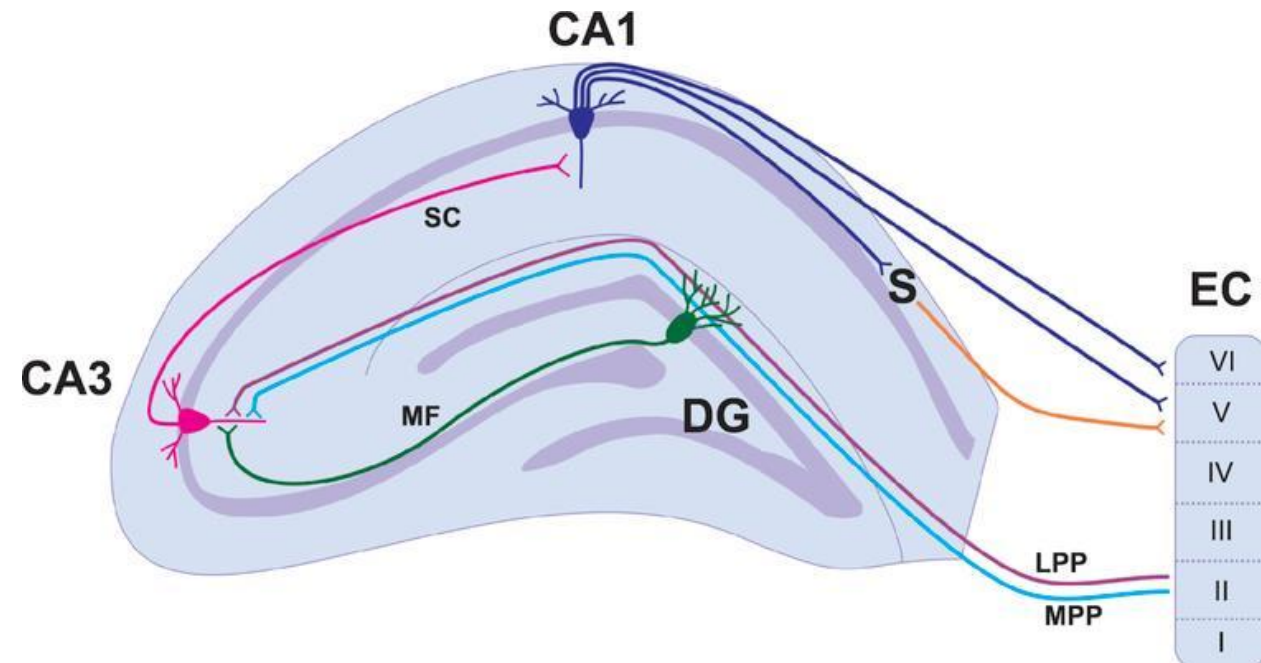
ΓΛΟΥΤΑΜΙΚΟ: Κατανομή στο ΚΝΣ

- Από τον ιππόκαμπο σε:
υποθάλαμο
επικλινή
π. διαφ.διαφράγματος



Πλέον μελετημένο δίκτυο γλουταμικού: τρिसυναπτικό ιπποκάμπου

Ύνες διάτρητης οδού προς
κοκκιώδη και πυραμοειδή CA3
πυραμοειδή CA1



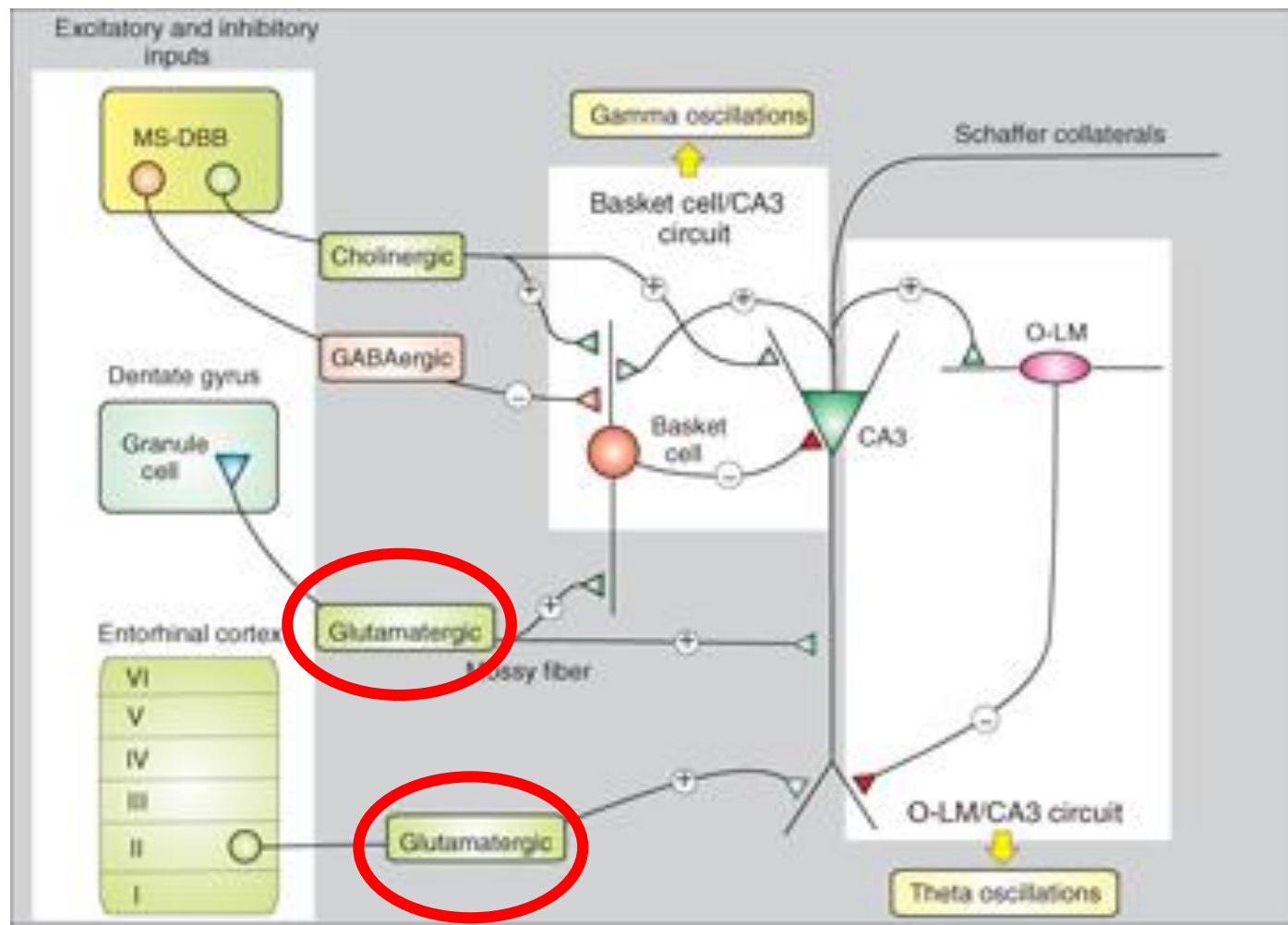
Κατανομή στο ΚΝΣ:

Τοπικά κυκλώματα

με θετική παλίνδρομη ενίσχυση

(π.χ.) όπως αυτό της περιοχής CA3

Hippocampal CA3 local neuronal circuit.



Γλουταμικό: Διεγερτικός διαβιβαστής

Κατηγορίες Υποδοχέων

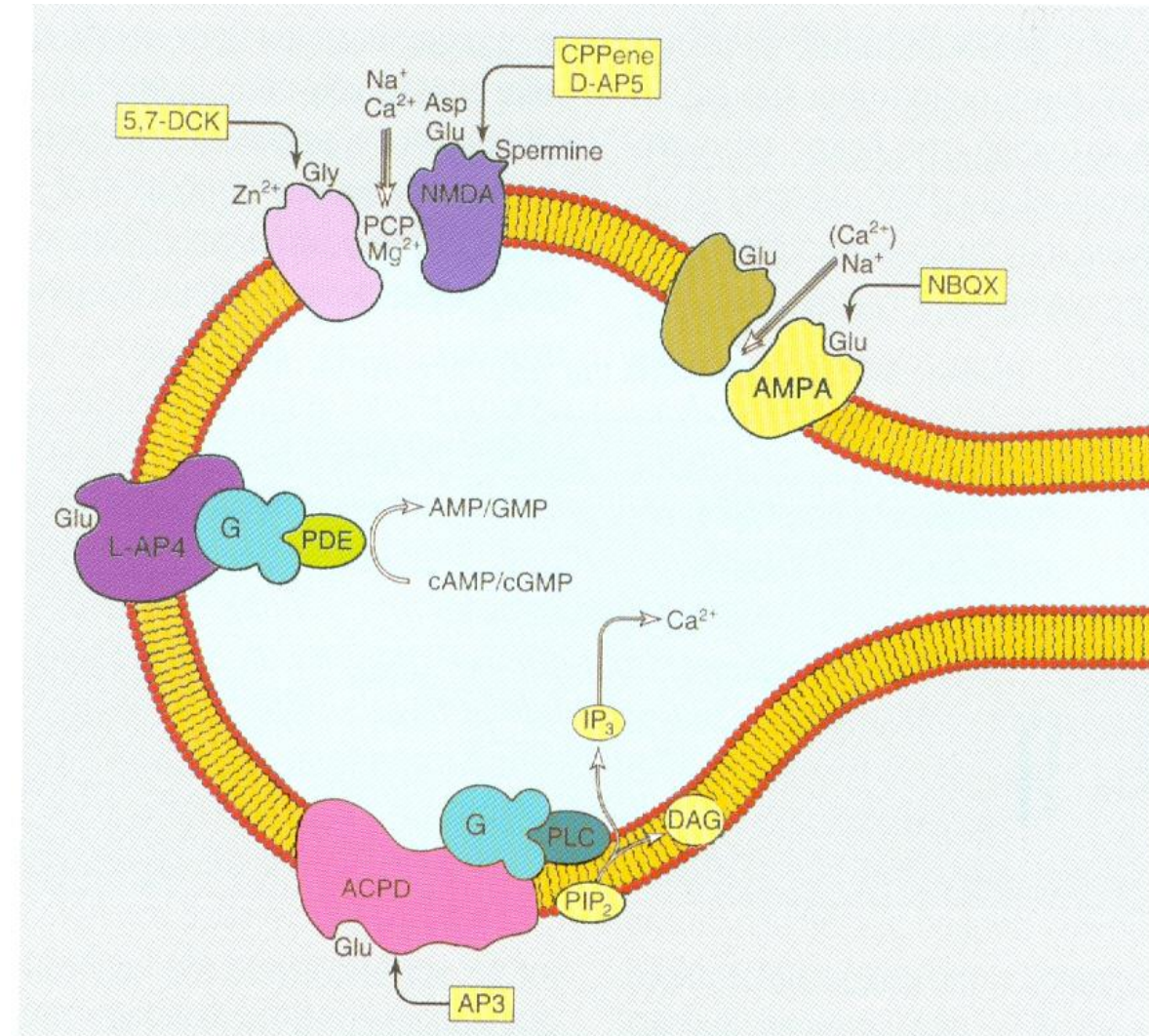
- **Ιοντοτροπικοί**

AMPA

Kainate

NMDA

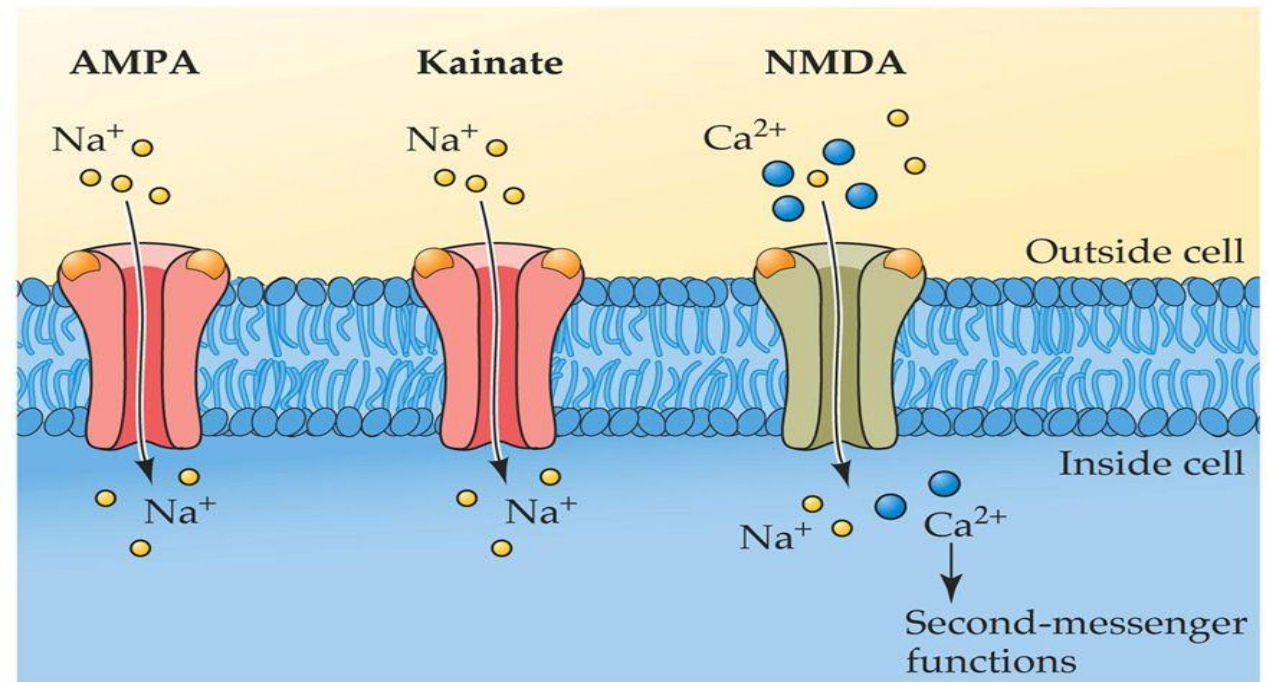
- **Μεταβοτροπικοί**



Υποδοχείς AMPA, Kainate

- Συνδέονται με κανάλι διαπερατό στο Na^+ (και το K^+)
- Είναι 4- μερή, όμο- ή ετερομερή .
- Αν **ΔΕΝ** περιέχουν την υπομονάδα GluR2, τότε είναι διαπερατοί και από Ca^{++}

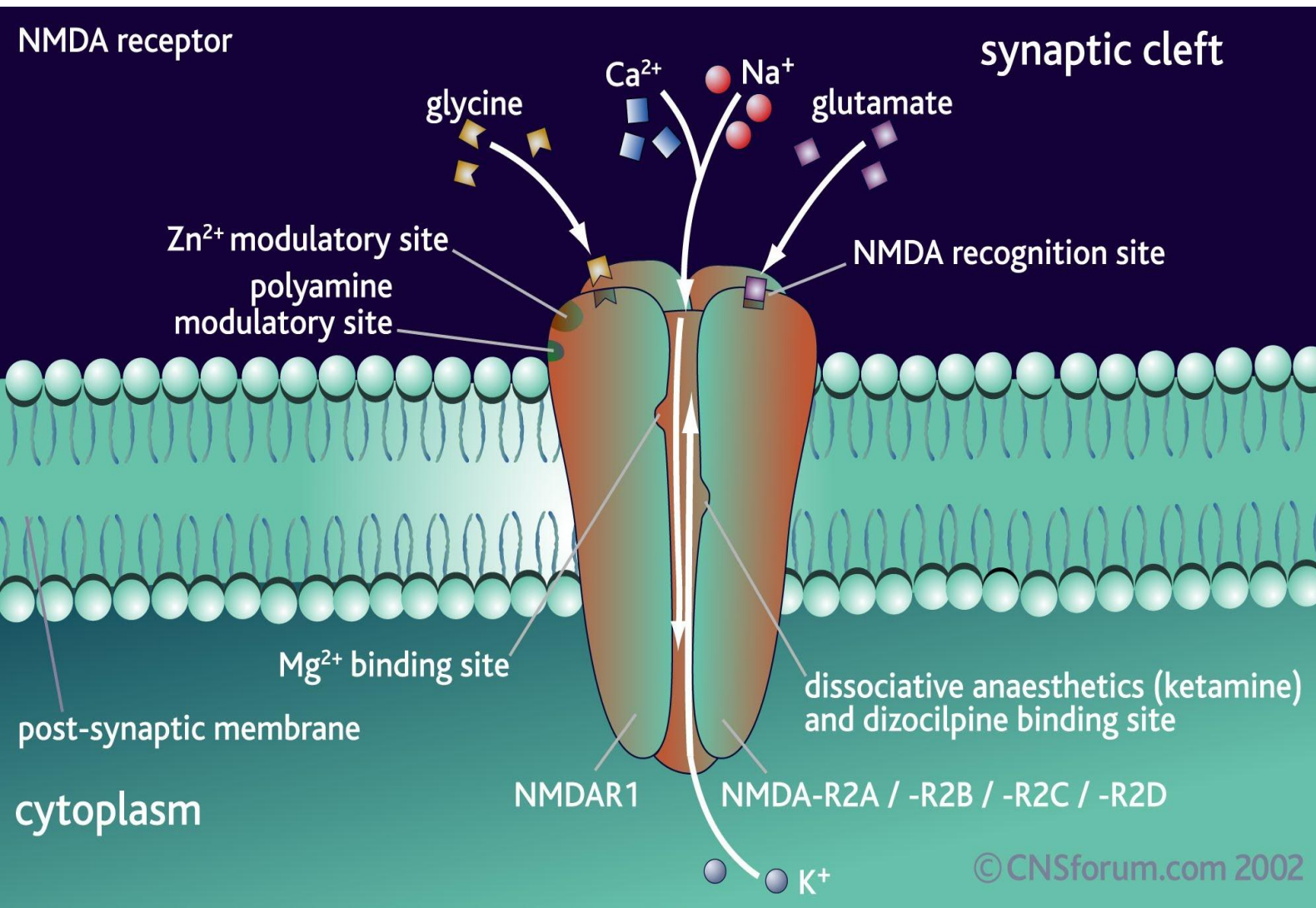
7.4 All ionotropic glutamate receptor channels conduct Na^+ ions into the cell



- Υποδοχείς AMPA βρίσκονται προ- και μετασυναπτικά.
- Η φαρμακολογική απομόνωση τους δεν είναι εύκολη

Υποδοχέας NMDA

Τετραμερή με 2 υπομονάδες NR1 και 2 NR2.
Οι λειτουργικές διαφορές οφείλονται σε διαφορετικές NR2 υπομονάδες.



Σε όλες τις περιοχές,
προ- και μετασυναπτικά,

20-25% ταύτιση αμινοξέων
με non-NMDA

Υποδοχέας NMDA: οι ιδιαιτερότητες

- Δεσμεύει το GLU για **περισσότερο** χρόνο (μεγαλύτερης διάρκειας EPSP)
- Αντιδρά πιο **αργά**
- Ενίστε το Ca^{++} : **παρατεταμένες** εκπολώσεις
- LTP και μνήμη
- Όσο πιο αλκαλικό το pH τόσο αυξάνει η **συχνότητα** διάνοιξης
- Η συμπεριφορά του εξαρτάται από την **φωσφορυλίωση**
- Η είσοδος ασβεστίου: πολυάριθμες ενδοκυττάρια διεργασίες

Υποδοχέας NMDA

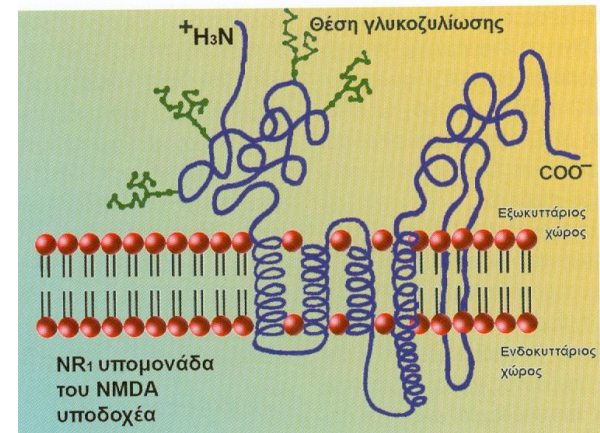
- Ίσως **ενεργοποίηση NMDA**: παραγωγή NO
- NO λιποδιαλυτό, περνά από κύτταρο σε κύτταρο
- Ενεργοποιεί παραγωγή cGMP σε γειτονικά κύτταρα

Mammalian receptor family	Subunit (Old nomenclature)	Gene	Chromosome (human)
AMPA	GluA1 (GluR ₁)	<i>GRIA1</i>	5q33
	GluA2 (GluR ₂)	<i>GRIA2</i>	4q32-33
	GluA3 (GluR ₃)	<i>GRIA3</i>	Xq25-26
	GluA4 (GluR ₄)	<i>GRIA4</i>	11q22-23
Kainate	GluK1 (GluR ₅)	<i>GRIK1</i>	21q21.1-22.1
	GluK2 (GluR ₆)	<i>GRIK2</i>	6q16.3-q21
	GluK3 (GluR ₇)	<i>GRIK3</i>	1p34-p33
	GluK4 (KA-1)	<i>GRIK4</i>	11q22.3
	GluK5 (KA-2)	<i>GRIK5</i>	19q13.2
NMDA	GluN1(NR1)	<i>GRIN1</i>	9q34.3
	GluN2A (NR2A)	<i>GRIN2A</i>	16p13.2
	GluN2B (NR2B)	<i>GRIN2B</i>	12p12
	GluN2C (NR2C)	<i>GRIN2C</i>	17q24-q25
	GluN2D (NR2D)	<i>GRIN2D</i>	19q13.1qter
	GluN3A (NR3A)	<i>GRIN3A</i>	9q31.1
	GluN3B (NR3B)	<i>GRIN3B</i>	19p13.3

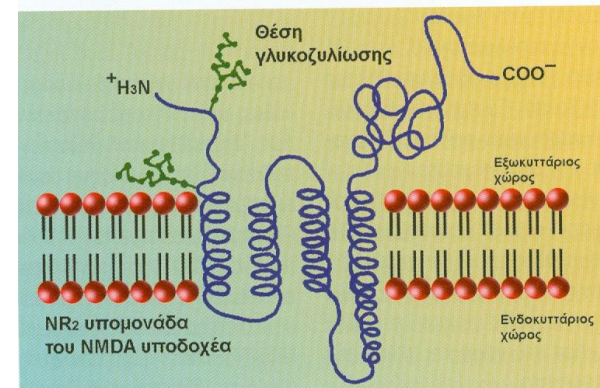
Dingledine et al 1999.

Andersson et al 2001

Mammalian ionotropic glutamate receptor subunits and their genes:



Εικόνα 3-26: Δομή της NR₁ υπομονάδας του NMDA υποδοχέα.



Εικόνα 3-27: Δομή της NR₂ υπομονάδας του NMDA υποδοχέα.

Θέσεις πρόσδεσης στον υποδοχέα NMDA

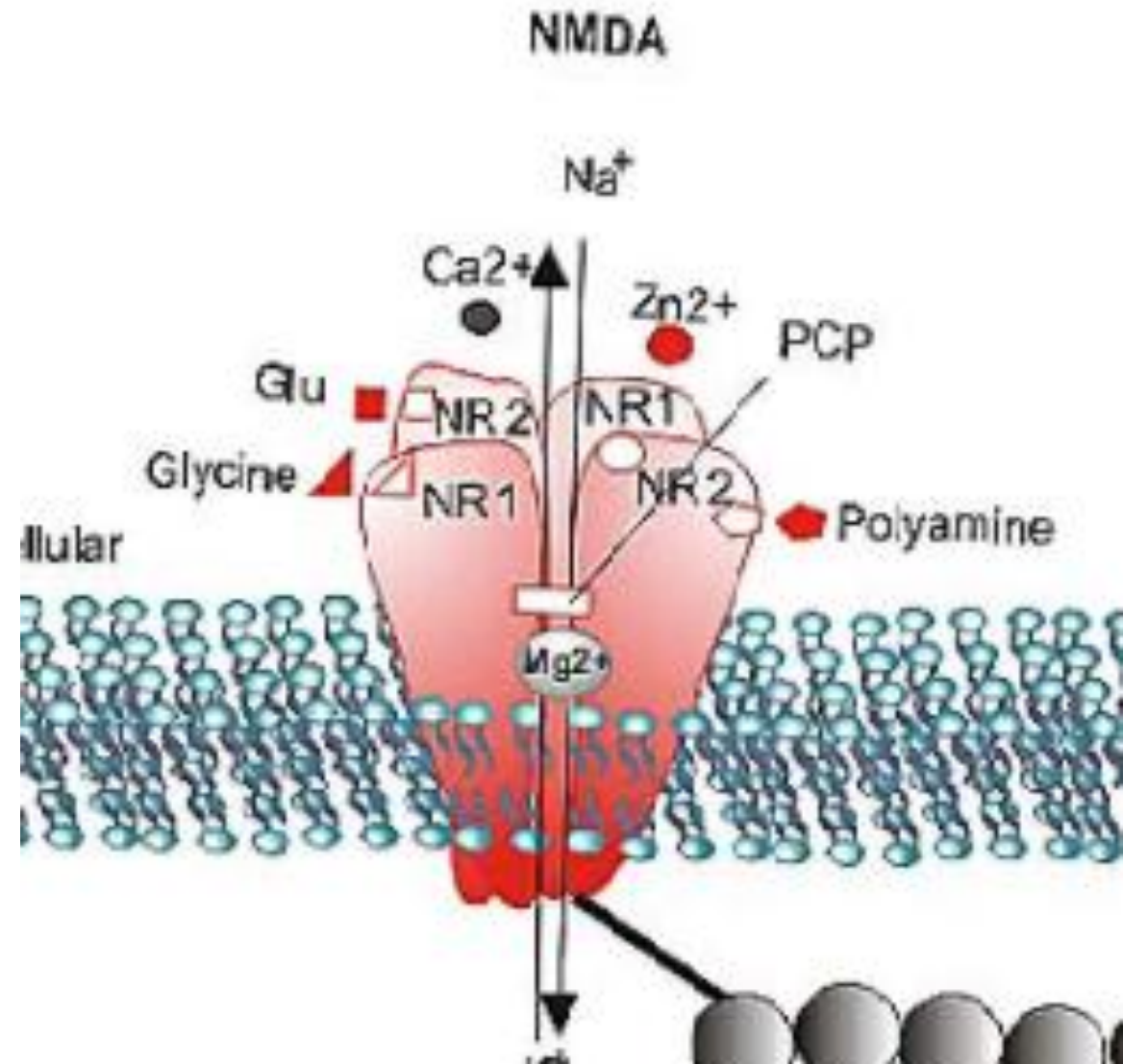
Θέση σύνδεσης πάνω στον υποδοχέα
(συναγωνιστικός ανταγωνισμός, \neq AP5)

Θέση σύνδεσης μέσα στο κανάλι (μη
συναγωνιστικός ανταγωνισμός, \neq MK-
801, memantine, ketamine, επίσης
Mg²⁺)

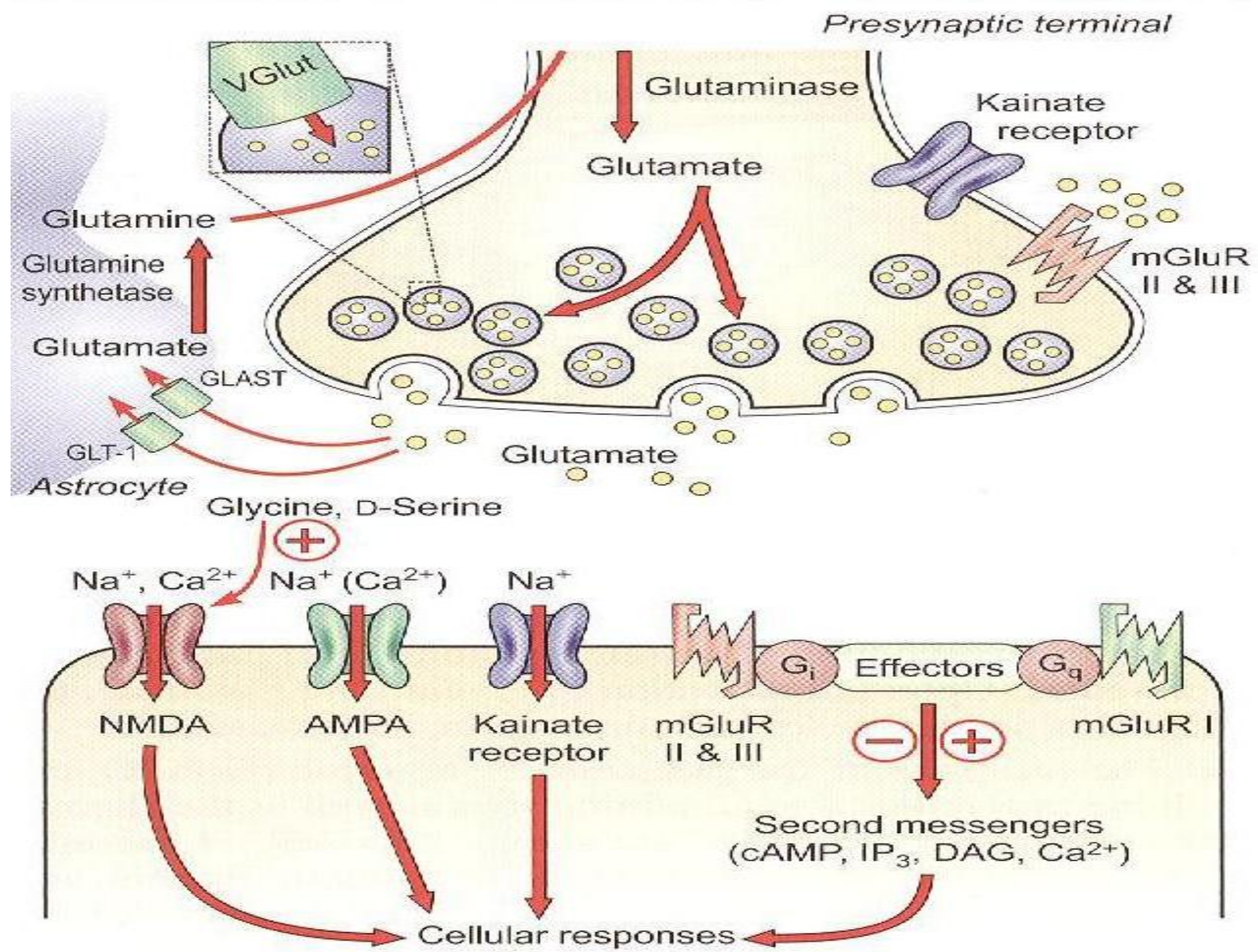
Θέση πολυαμίνης (σπερμίνη)

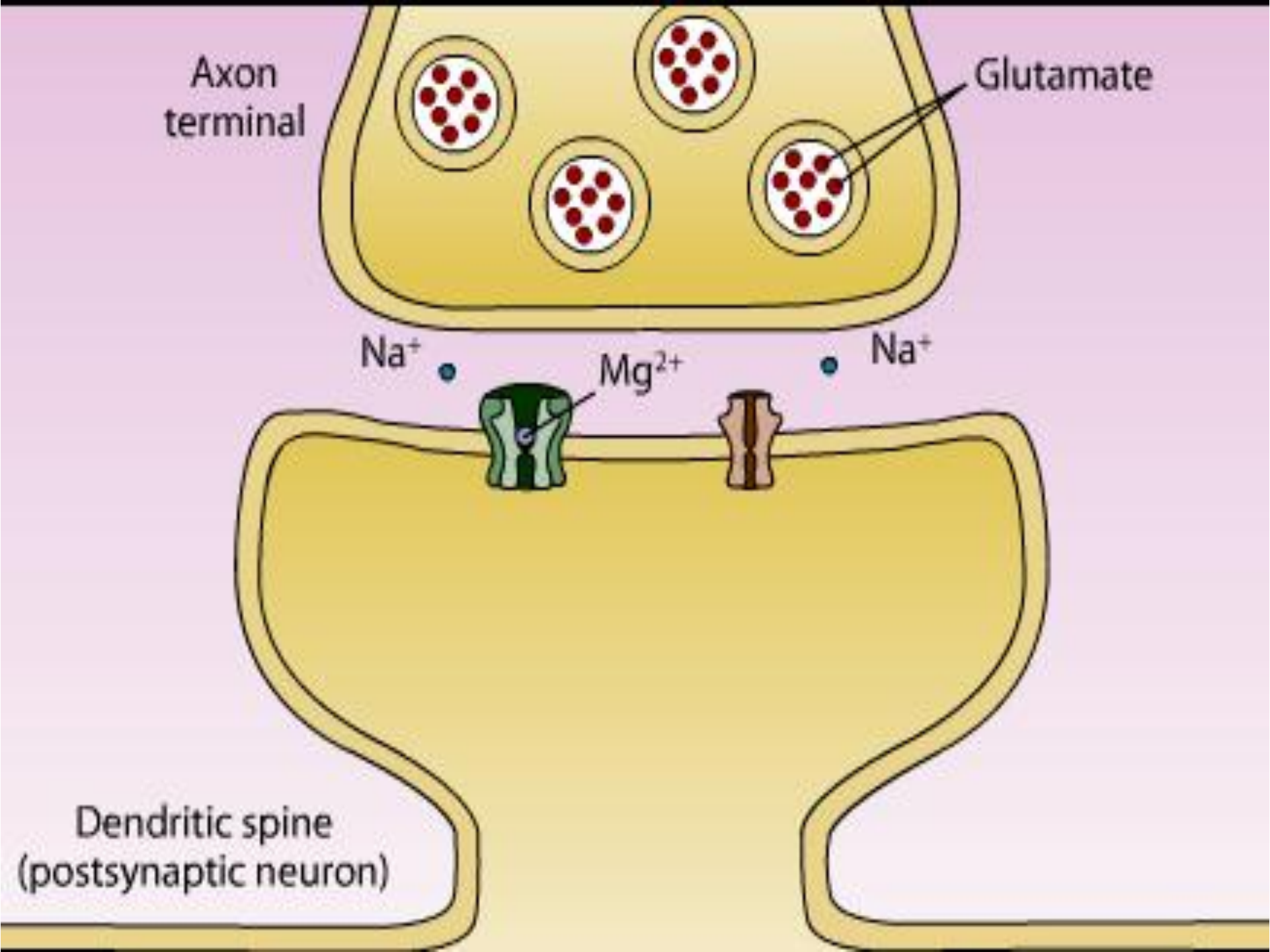
Θέση γλυκίνης

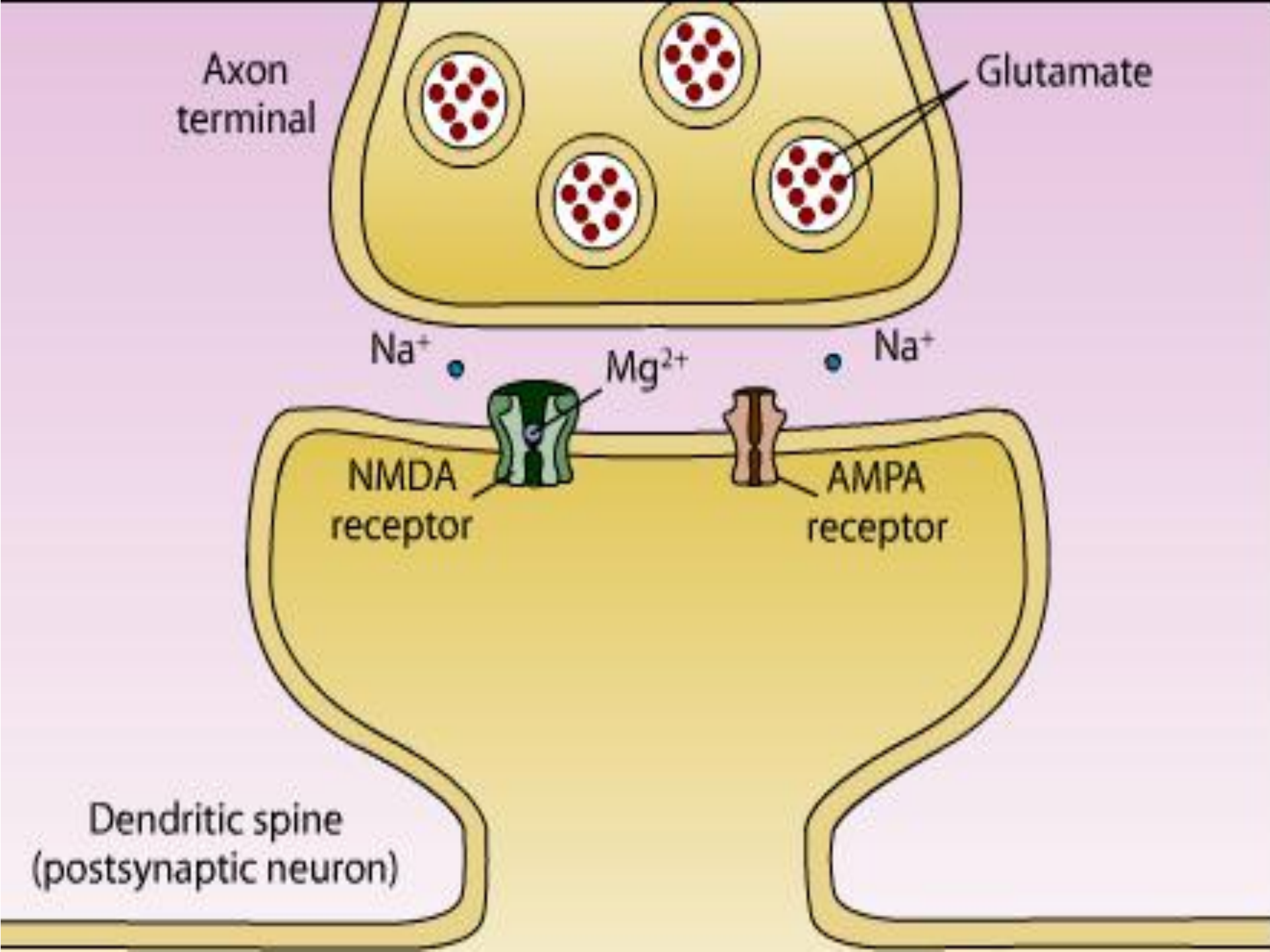
Θέση σερίνης



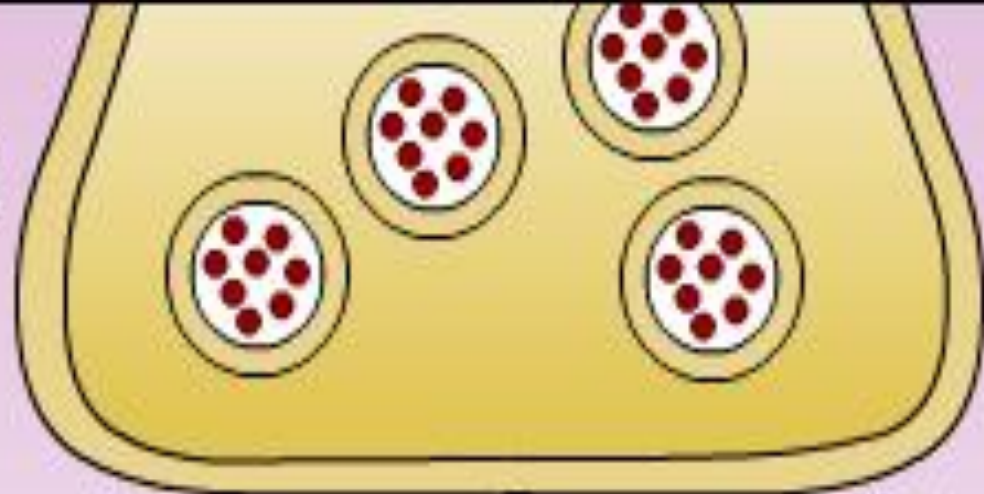
Η συναπτική λειτουργία του γλουταμικού





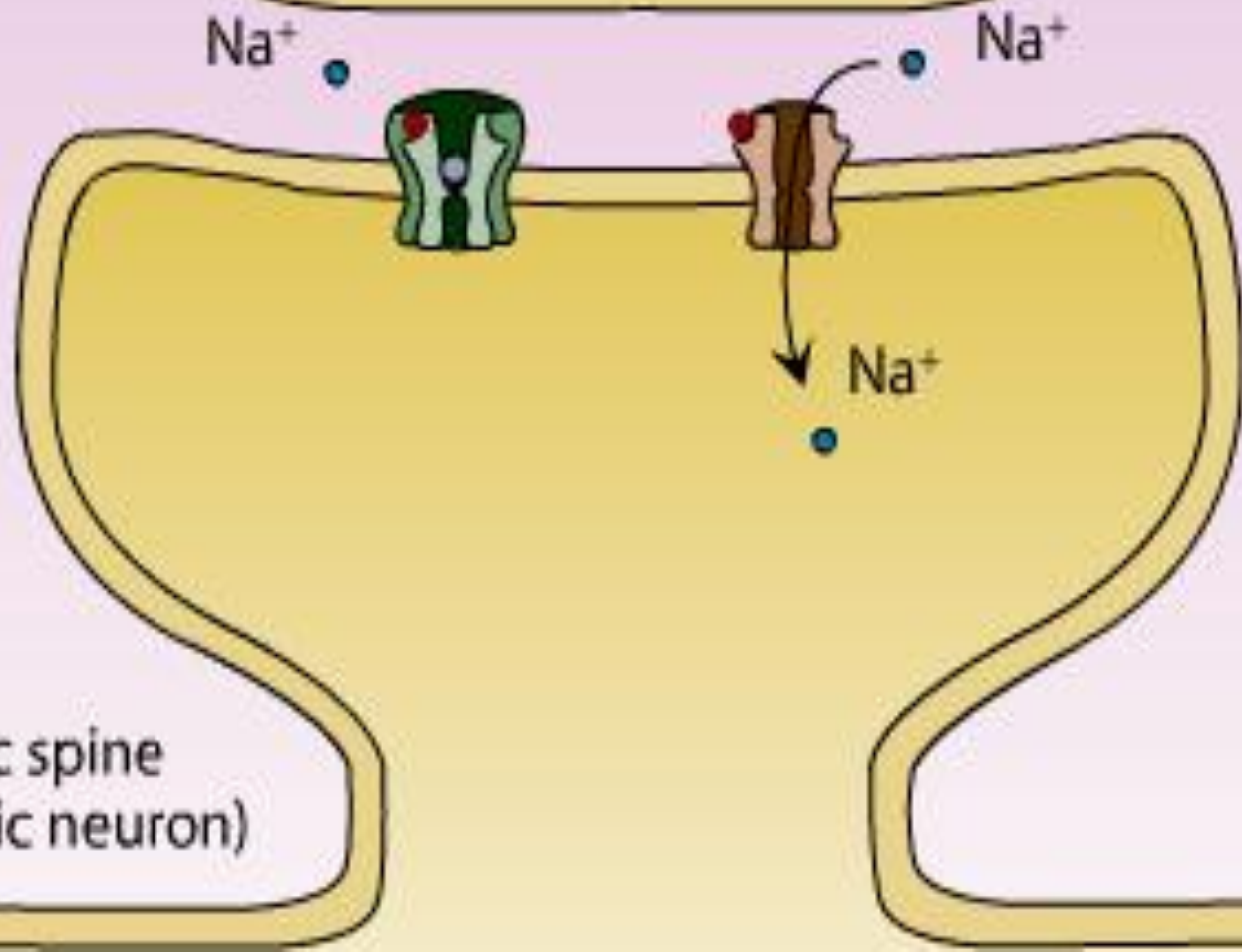


Axon terminal

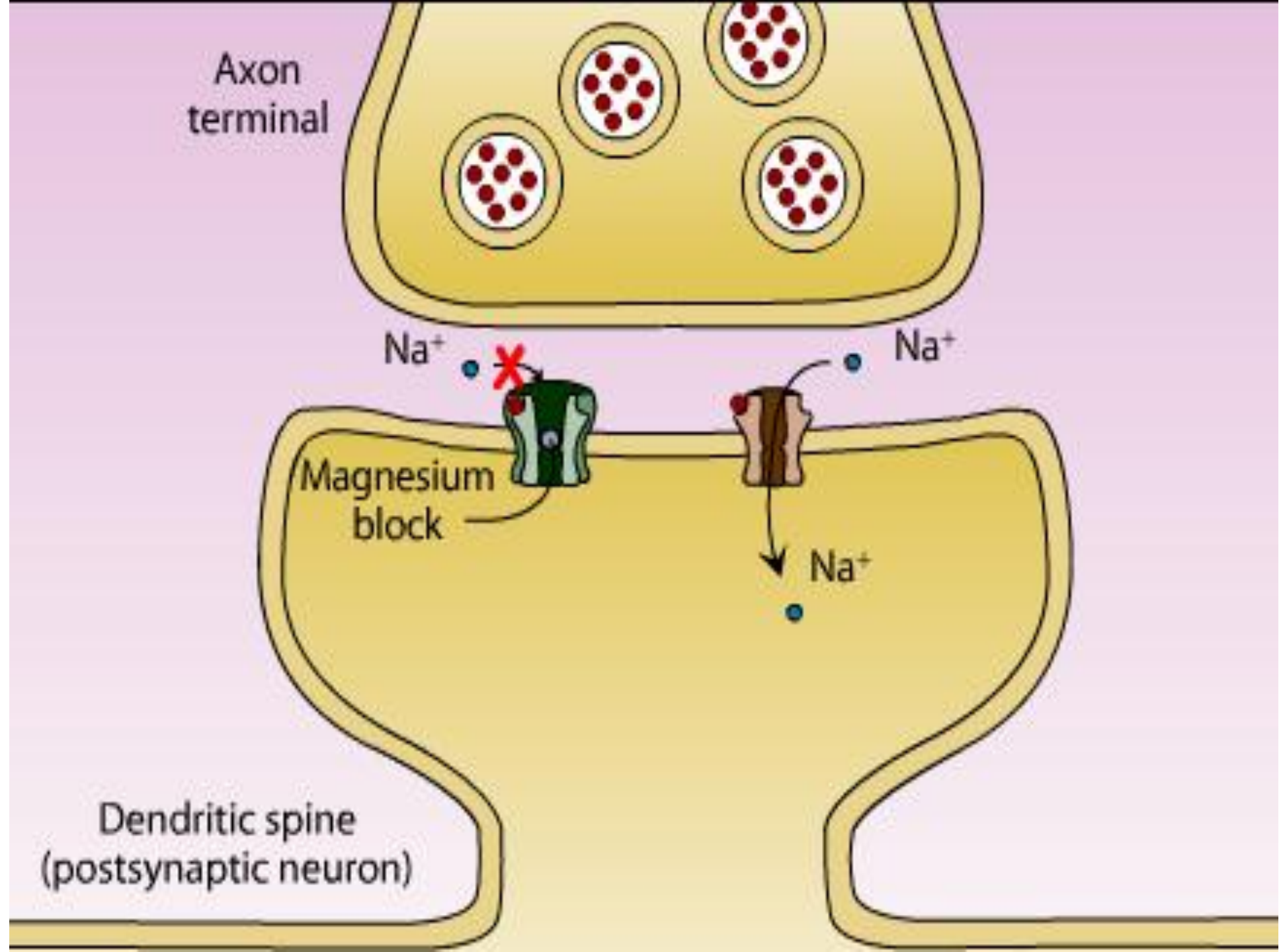


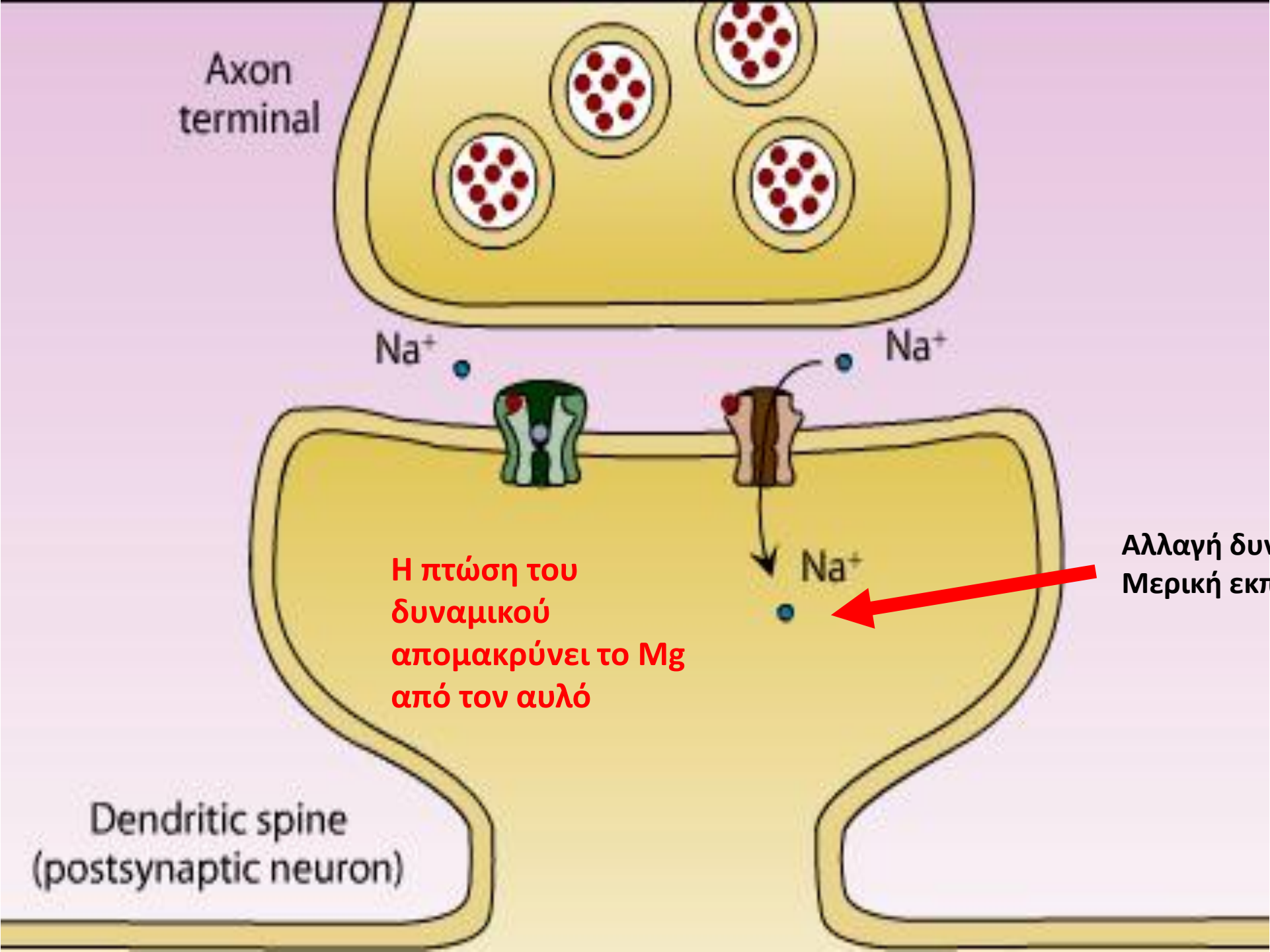
Na⁺

Na⁺

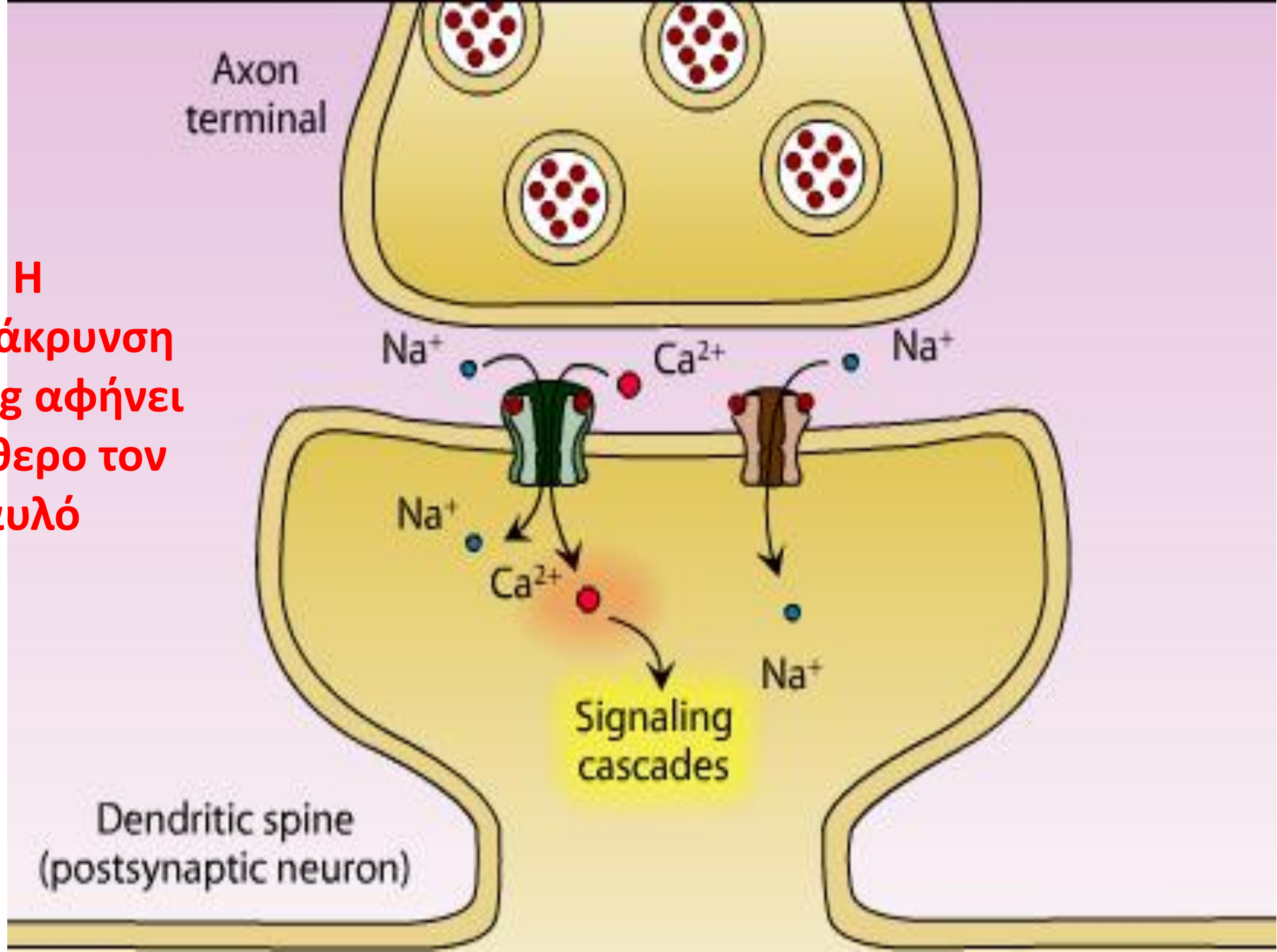


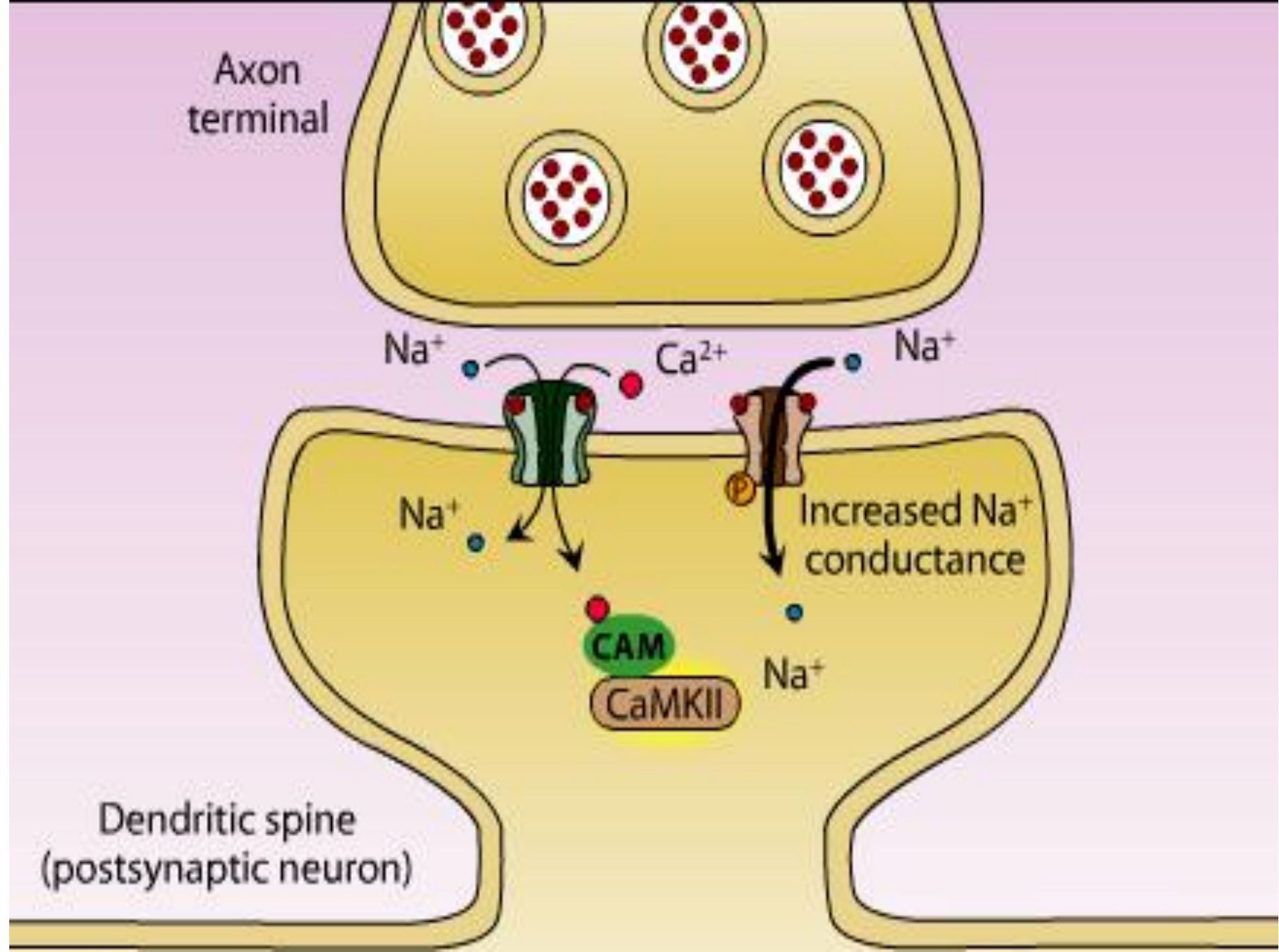
Dendritic spine
(postsynaptic neuron)

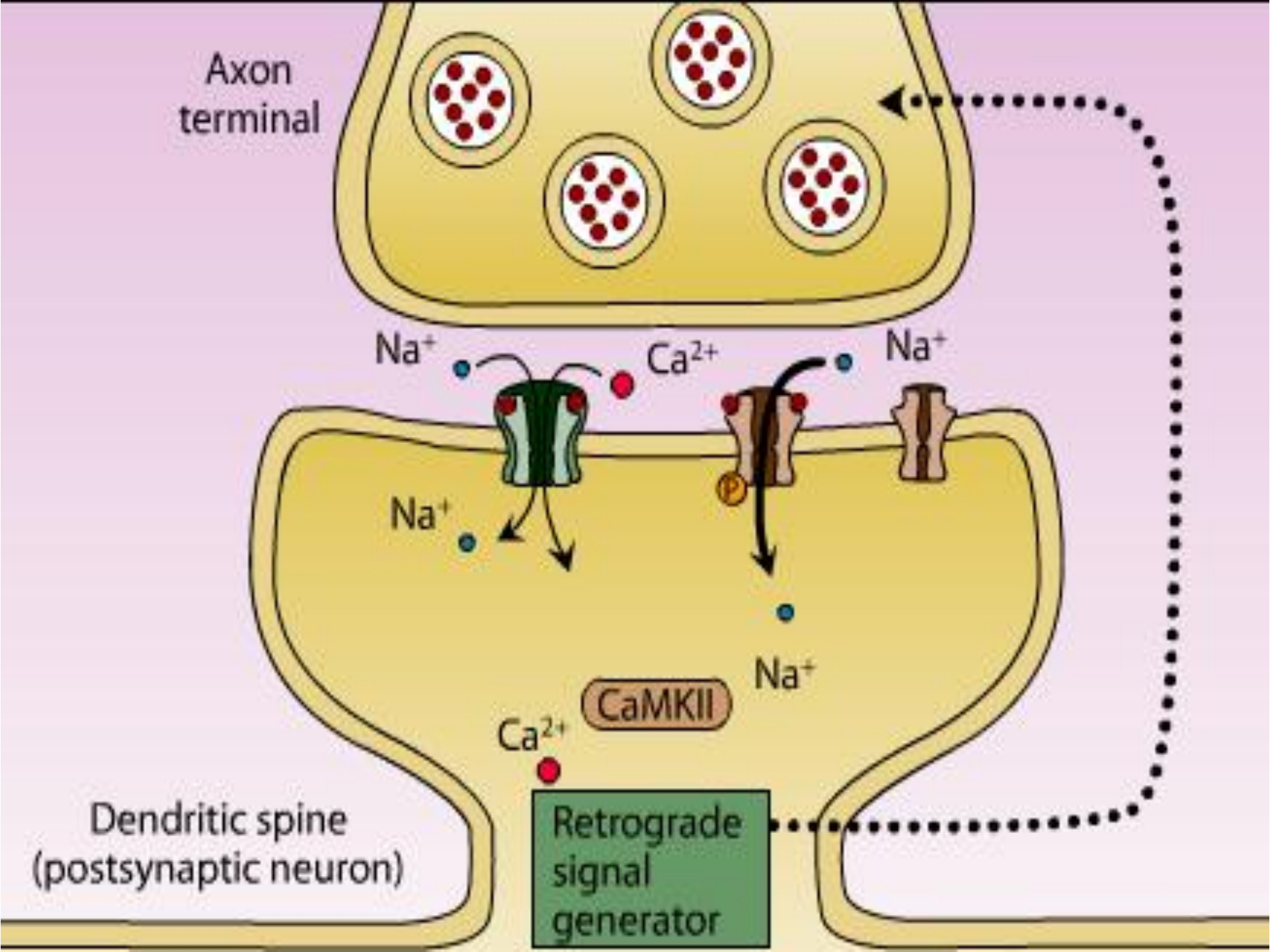




Η
απομάκρυνση
του Mg αφήνει
ελεύθερο τον
αυλό







Για την ενεργοποίηση του υποδοχέα NMDA Απαιτούνται:

- 1) γλουταμικό
- 2) γλυκίνη
- 3) να είναι ήδη εκπολωμένος (μερικά) ο νευρώνας

Ρόλος των μεταβοτροπικών υποδοχέων

- Το Glu τους ενεργοποιεί σε διαφορετικό βαθμό
- Ρυθμίζουν την συμπεριφορά διαύλων Ca (-) και K (+ και -)
- Μετασυναπτικά: μεγάλο φάσμα αποτελεσμάτων από διέγερση έως αναστολή.
- Προσυναπτικά: αναστολή απελευθέρωσης διαβιβαστή
- Δεν έχει υπάρξει ακόμη κλινική εφαρμογή κάποιου αγωνιστή ή ανταγωνιστή

Προσυναπτική ρύθμιση έκλυσης γλουταμικού

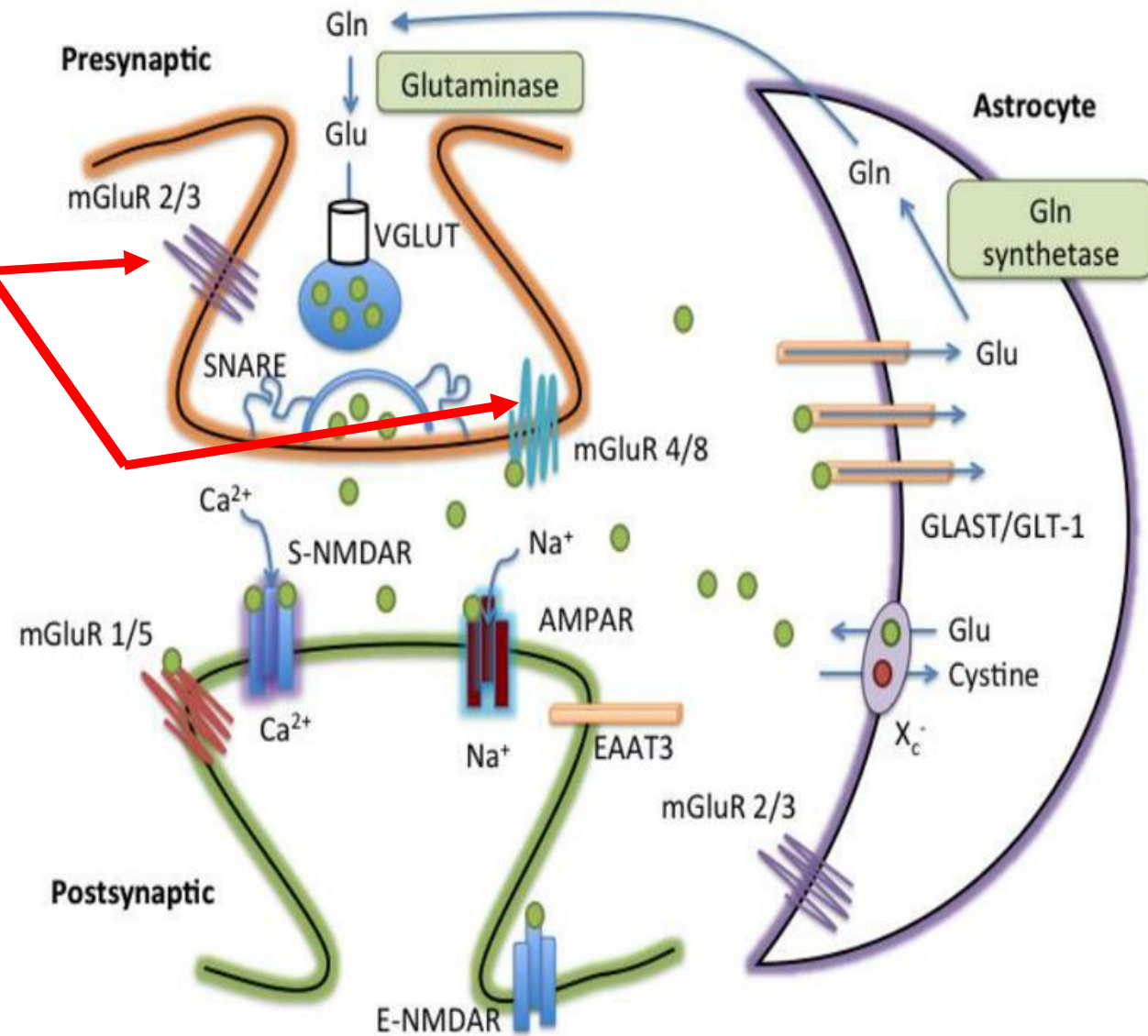
Μείωση απελευθέρωσης:

Μέσω των μετατροπικών υποδοχέων

Μέσω ασβεστίου

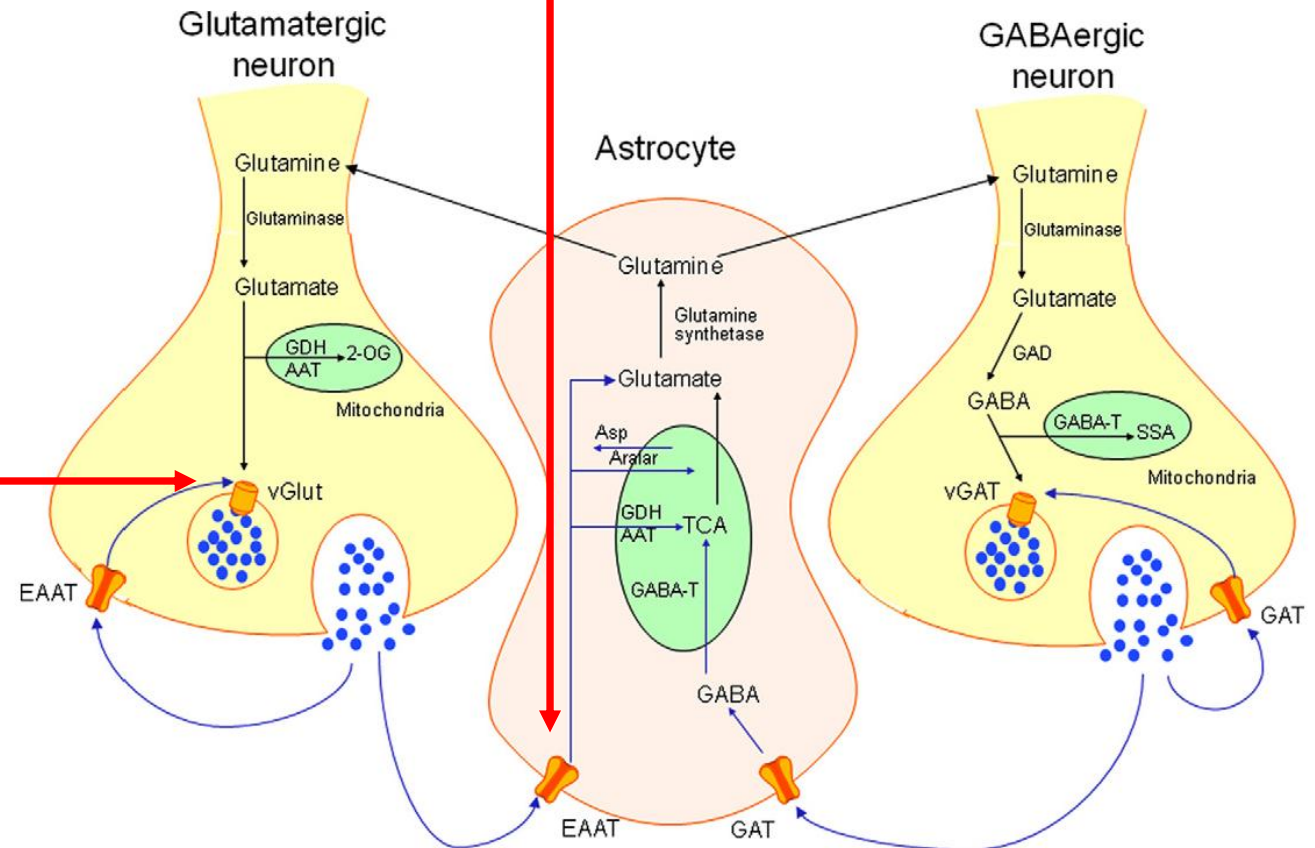
αύξηση απελευθέρωσης :

ενεργοποίηση
προσυναπτικών νικοτινικών
υποδοχέων



Μεταφορείς γλουταμικού **

- excitatory amino acid transporter (EAAT)
- vesicular glutamate transporter (VGLUT)



ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Μεταφορείς

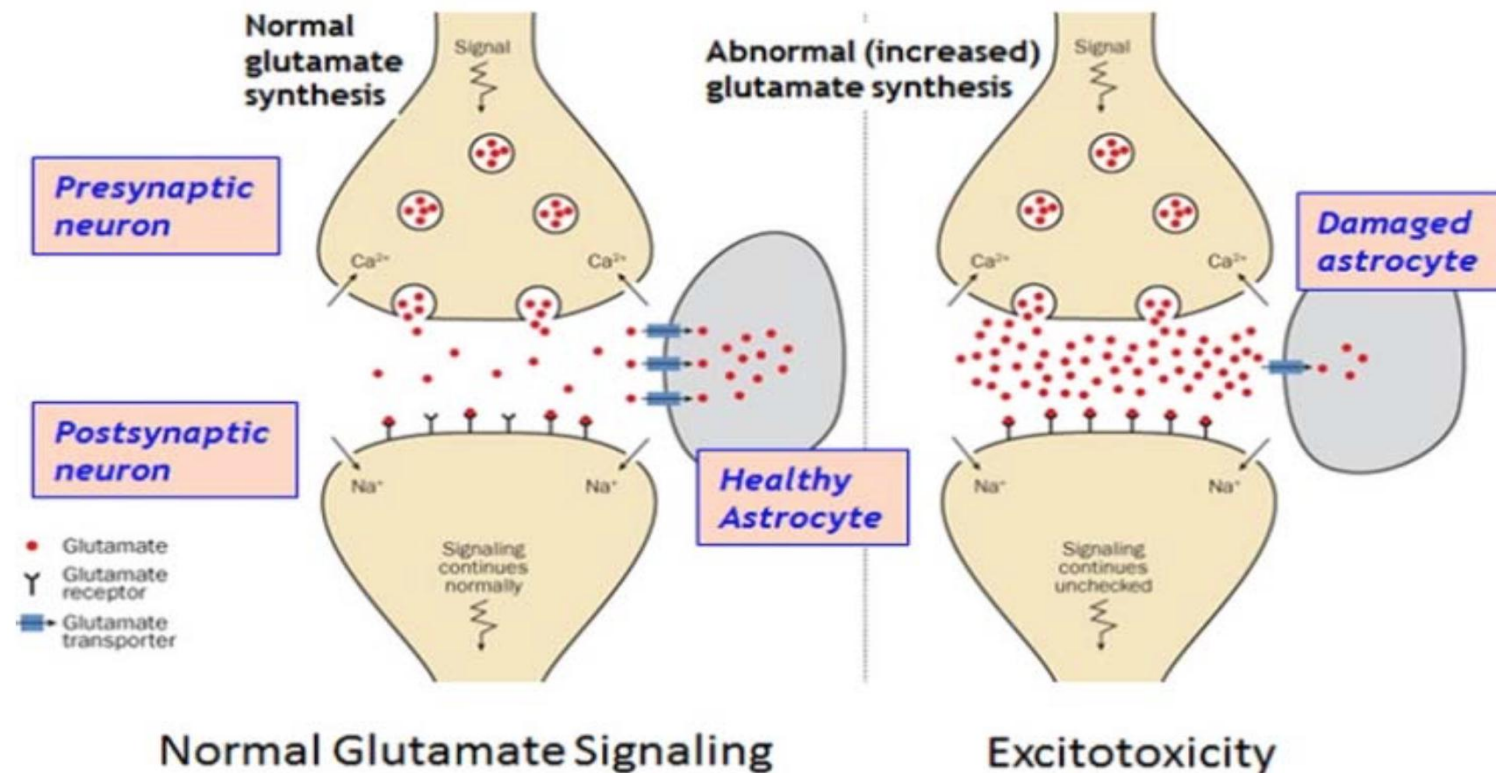
- Ελέγχουν το ρυθμό επαναπρόσληψης
- 5 οικογένειες EAAT
- EAAT 1 και 2 : στη γλοία
- EAAT 3 : στους νευρώνες

protein	gene	tissue distribution
EAAT1	SLC1A3	astroglia ^[5]
EAAT2	SLC1A2	Mainly astroglia ^[6] mediates >90% of CNS glutamate reuptake ^[7]
EAAT3	SLC1A1	all neurons – located on dendrites and axon terminals ^{[8][9]}
EAAT4	SLC1A6	neurons
EAAT5	SLC1A7	retina
VGLUT1	SLC17A7	neurons
VGLUT2	SLC17A6	neurons
VGLUT3	SLC17A8	neurons


Αύξηση του εξωκυττάρριου γλουταμικού

- Στην ισχαιμία
- Σε άλλες κυταροτοξικές καταστάσεις
- Πιθανή ενίσχυση δράσης των μεταφορέων = θεραπευτική αξία

- Μόνο πειραματικά



Παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με τους μεταφορείς

- Υπερδραστηριότητα μεταφορέων:  γλουταμικού : Σχιζοφρένεια

Ganel and Rothstein 1999

- Ισχαιμία και TBI :  δραστηριότητας μεταφορέων ή αναστροφή!!!!

Kim et al 2002

- Απώλεια EAAT2: Alzheimer, Huntington, ALS-Parkinson dementia complex

Yi et al Hazell 2006

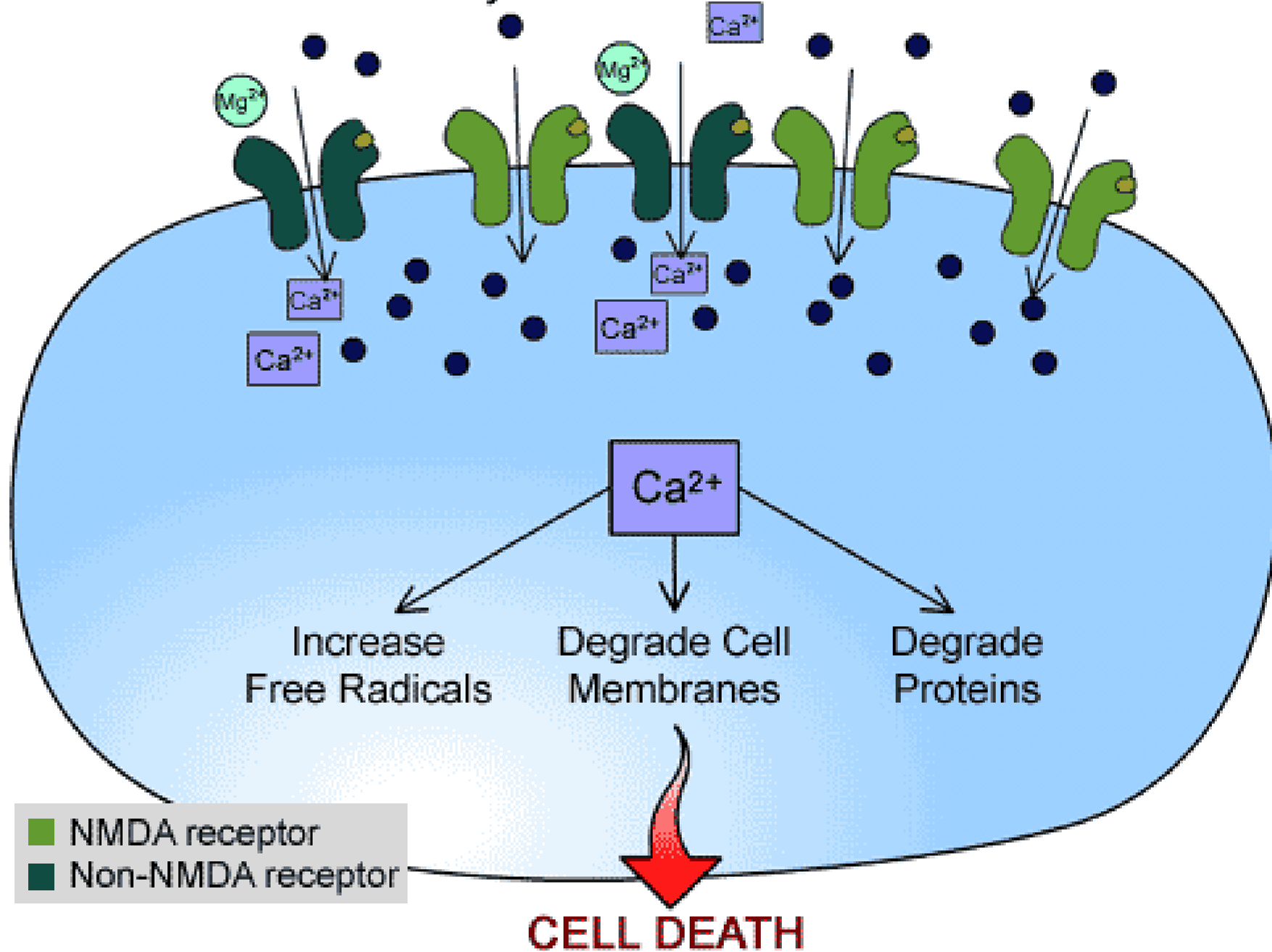
- Εθιστική συμπεριφορά:  EAAT2 σε επικλινή πυρήνα

McClure et al 2014

Κυτταροτοξικότητα

- Αυξημένη ποσότητα Glu= αυξημένη είσοδος Ca^{2+}
- Συνέπειες:
 1. οίδημα (λόγω της εισόδου ύδατος)
 2. την συμμετοχή του Ca^{2+} σε βιοχημικές διεργασίες που εκτρέπουν τον μεταβολισμό

Ca²⁺ Entry into the Cell



Κυτταρικός
θάνατος

Συνοπτικά:

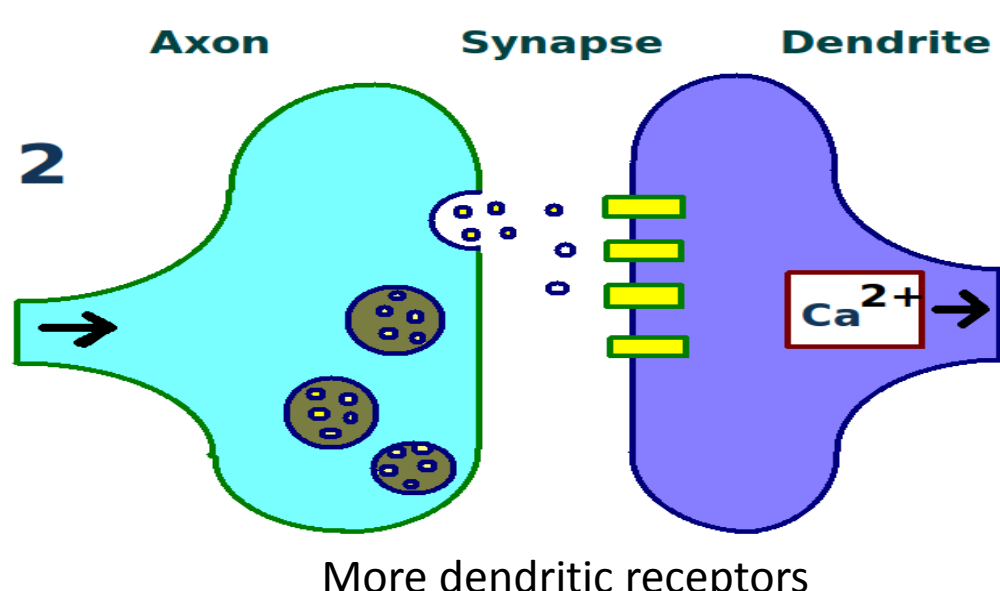
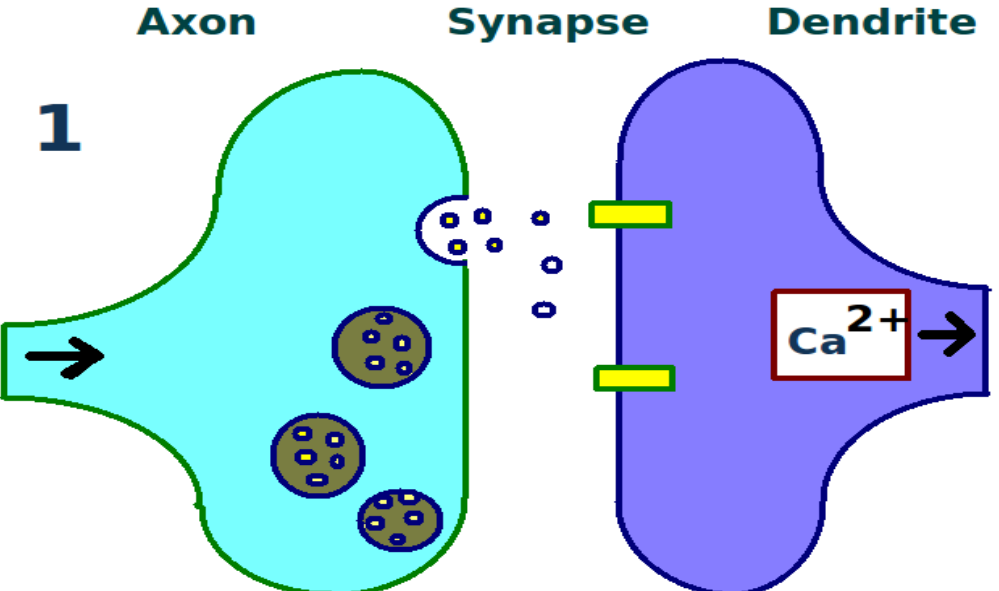
Βιολογικά αποτελέσματα της δράσης του Γλουταμικού

- Ταχεία συναπτική διέγερση (msec)
- LTP ή Μακράς διάρκειας τροποποιήσεις
- Ρυθμίζει απελευθέρωση ορμονών υπόφυσης
- Συμμετοχή στην νευρωνική μετανάστευση
- Βασικός διαβιβαστής κινητικής συμπεριφοράς

Τι είναι το LTP

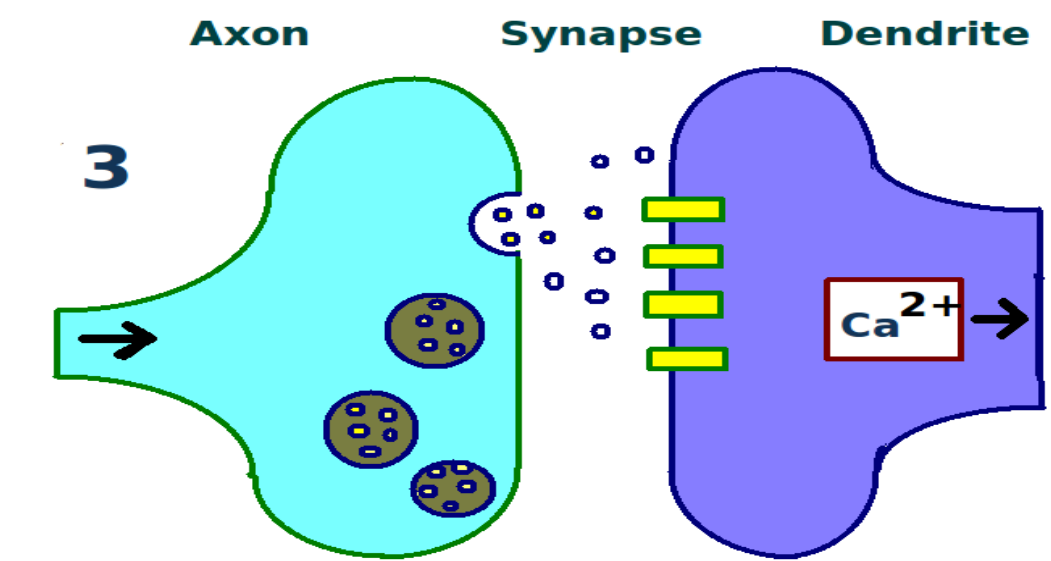
Επίταση των συναπτικών απαντήσεων μετά από ένα συγκεκριμένο πρότυπο διέγερσης

- Η διαδικασία ανάπτυξης διαρκεί λίγα δεύτερα
- Παραμένει για ώρες ή μέρες (πειραματικά)
- Βασικό ρόλο παίζουν οι υποδοχείς NMDA
- Το ηλεκτροφυσιολογικό υπόστρωμα και οι μοριακοί μηχανισμοί:
Δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητά

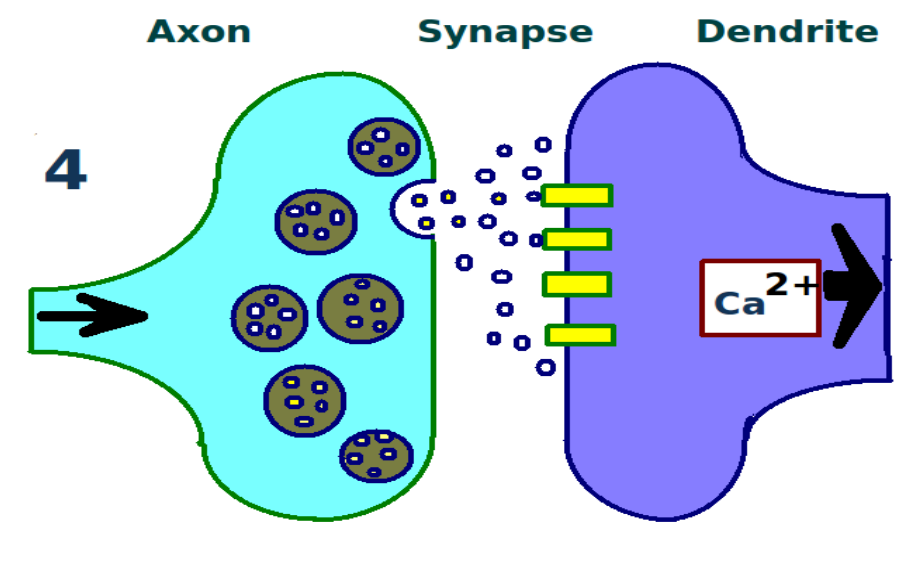


More dendritic receptors

A synapse is repeatedly stimulated

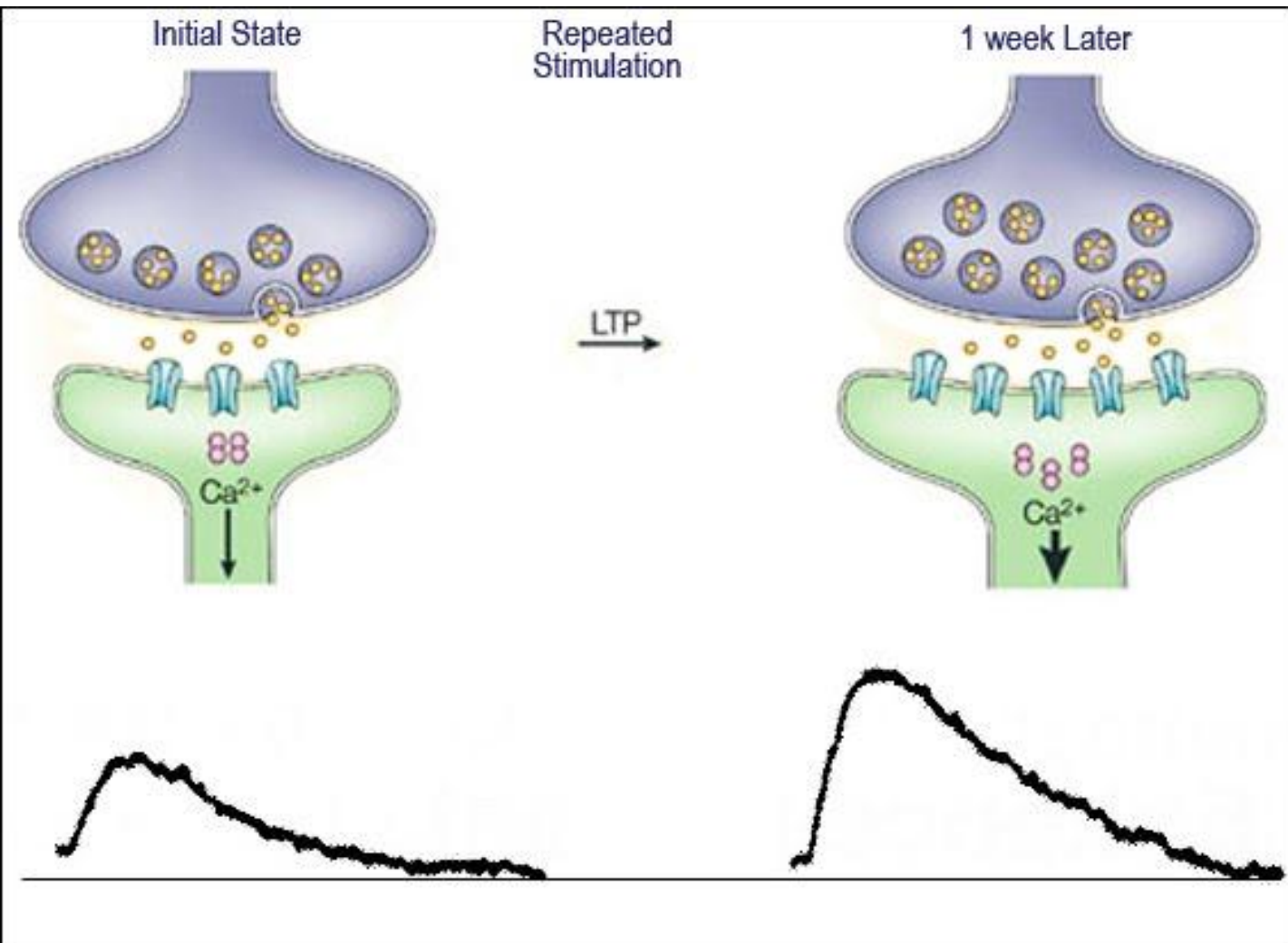


More neurotransmitters



A stronger link between neurons

McEachern and Shaw 1996



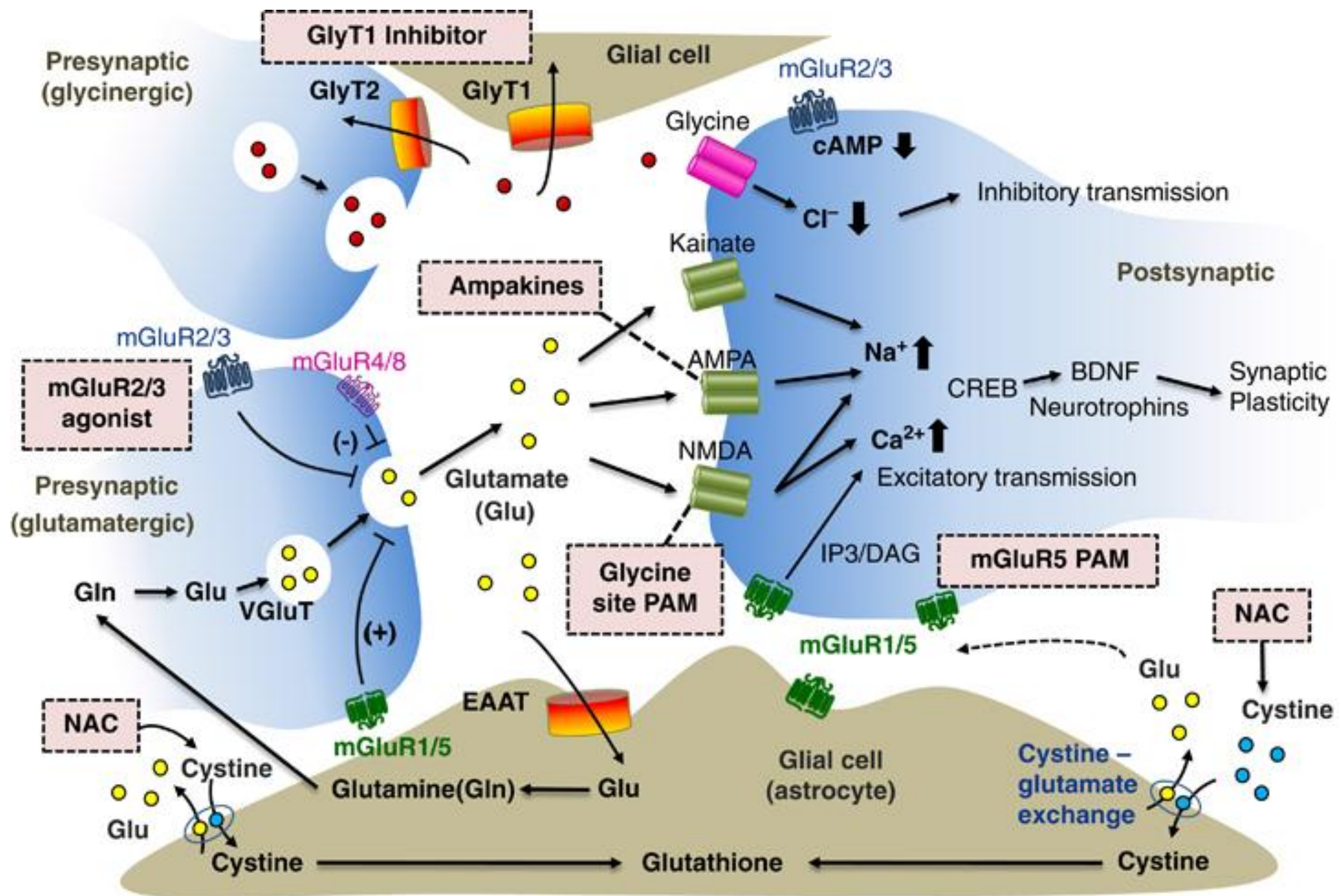
Η εγκατάσταση μνήμης
ή καλύτερα
η απόκτηση πληροφορίας
από το ΝΣ
γίνεται με την
εγκατάσταση LTP

Ιδιότητες LTP σε NMDA υποδοχείς

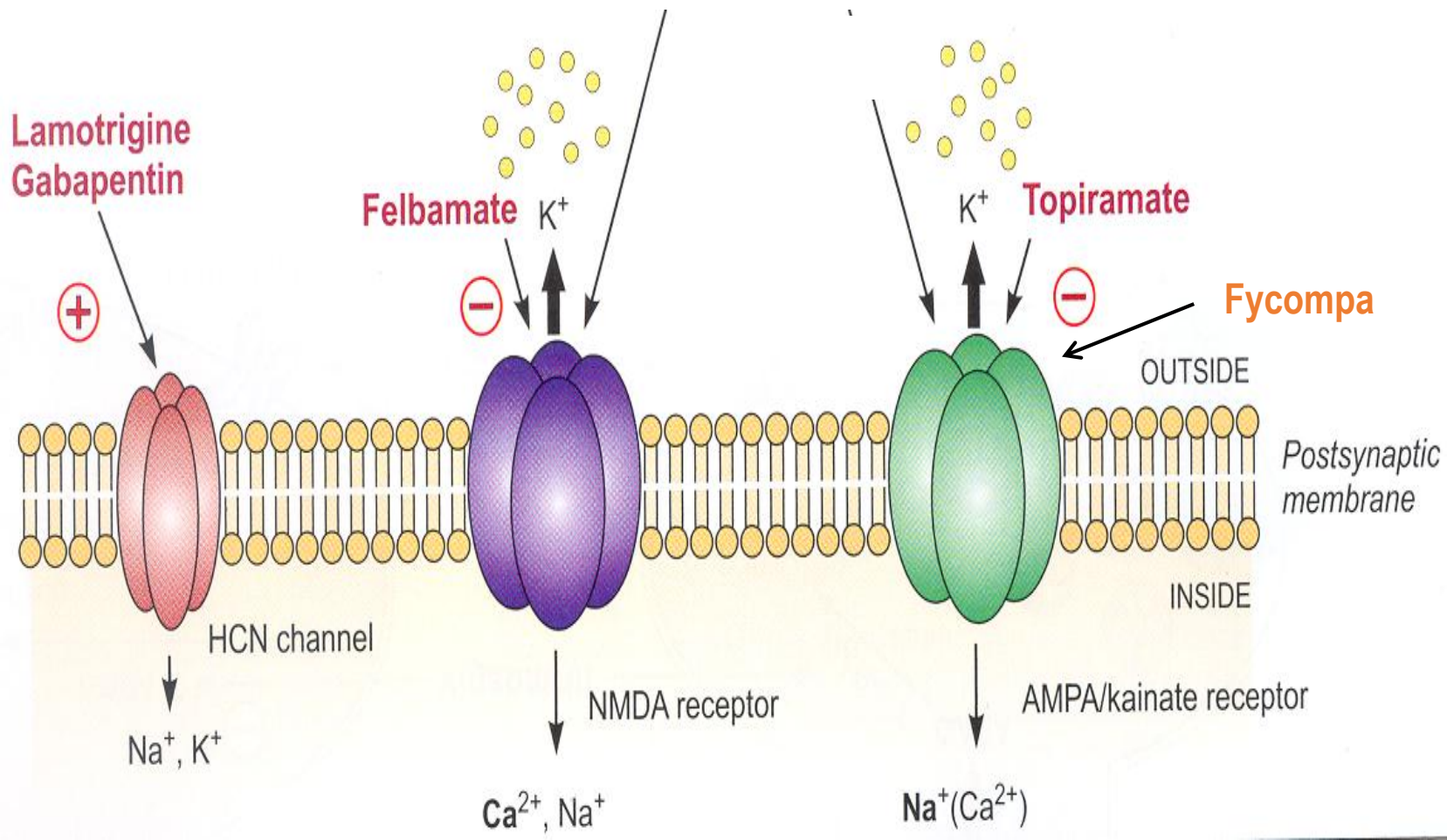
specificity, associativity, cooperativity, and persistence

- Αν εγκατασταθεί σε μια σύναψη δεν επεκτείνεται σε άλλες
- Ένα ανεπαρκές ερέθισμα σε μια οδό δεν παράγει LTP
Ταυτόχρονο ισχυρό ερέθισμα σε άλλη οδό εγκαθιστά LTP ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ
- LTP: είτε με ισχυρό τετανικό ερέθισμα μιας οδού προς την σύναψη ή με περισσότερα ερεθίσματα από πολλές οδούς.
- LTP αν εγκατασταθεί παραμένει λεπτά ως μήνες

Πιθανές θεραπευτικές εφαρμογές
από την τροποποίηση
των υποδοχέων γλουταμικού

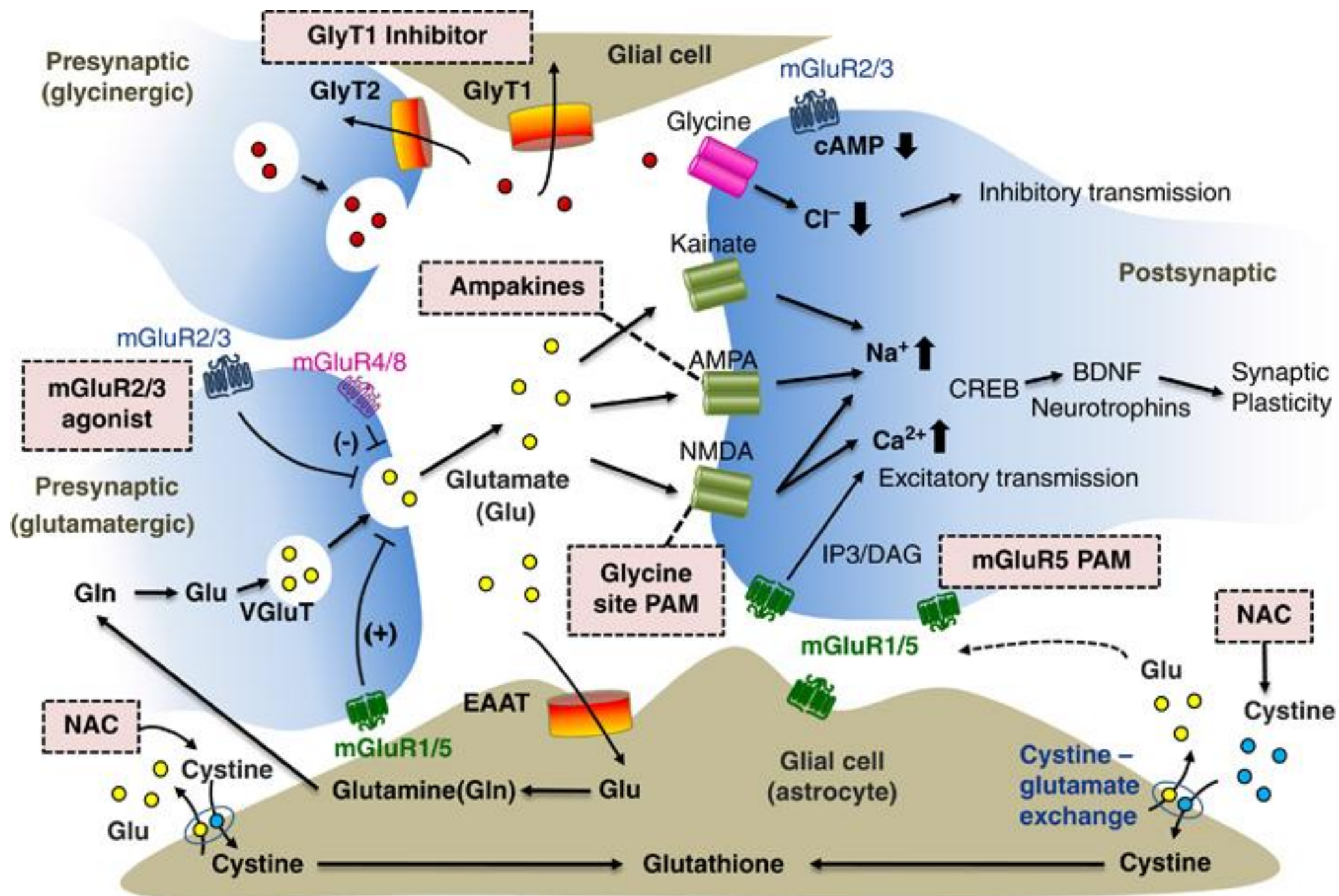


ΑΝΤΙΕΠΙΛΗΠΤΙΚΑ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΣΤΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΓΛΟΥΤΑΜΙΚΟΥ



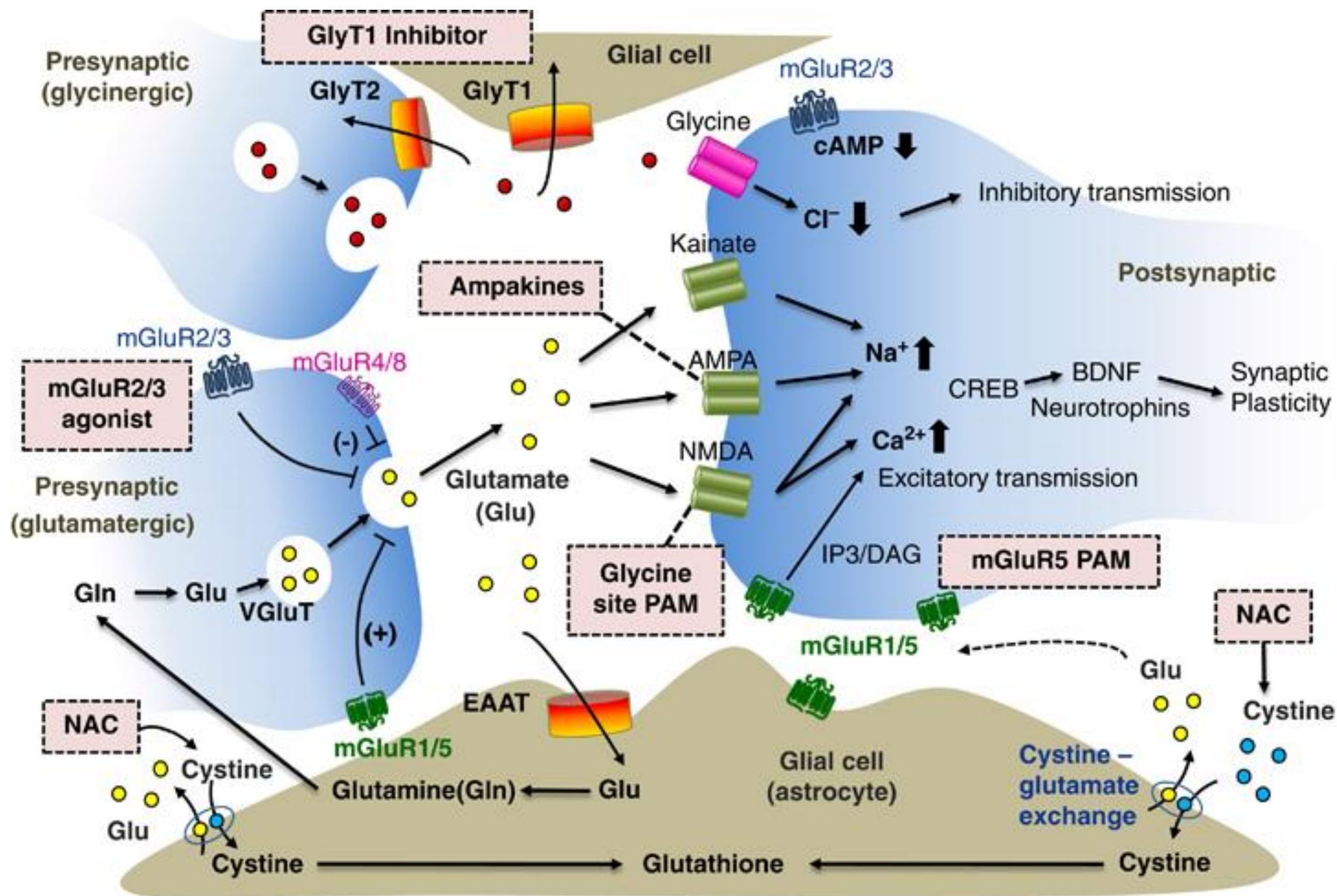
Μεταβοτροπικοί: Δράσεις με τις οποίες μπορεί να συνδέονται

- Πειραματικά τεράστιο εύρος δράσεων.
- Ενδείξεις συμμετοχής τους σε διαδικασίες μνήμης, αντίληψης πόνου, άγχους, νευροεκφύλισης.
- Φάρμακα που στοχεύουν στους προσυναπτικούς mGluRs δοκιμάζονται για άγχος και σχιζοφρένεια.



AMPA

Αγωνιστές, ανταγωνιστές και AMPAkinines
(θετικοί αλοστερικοί τροποποιητές του AMPA R)

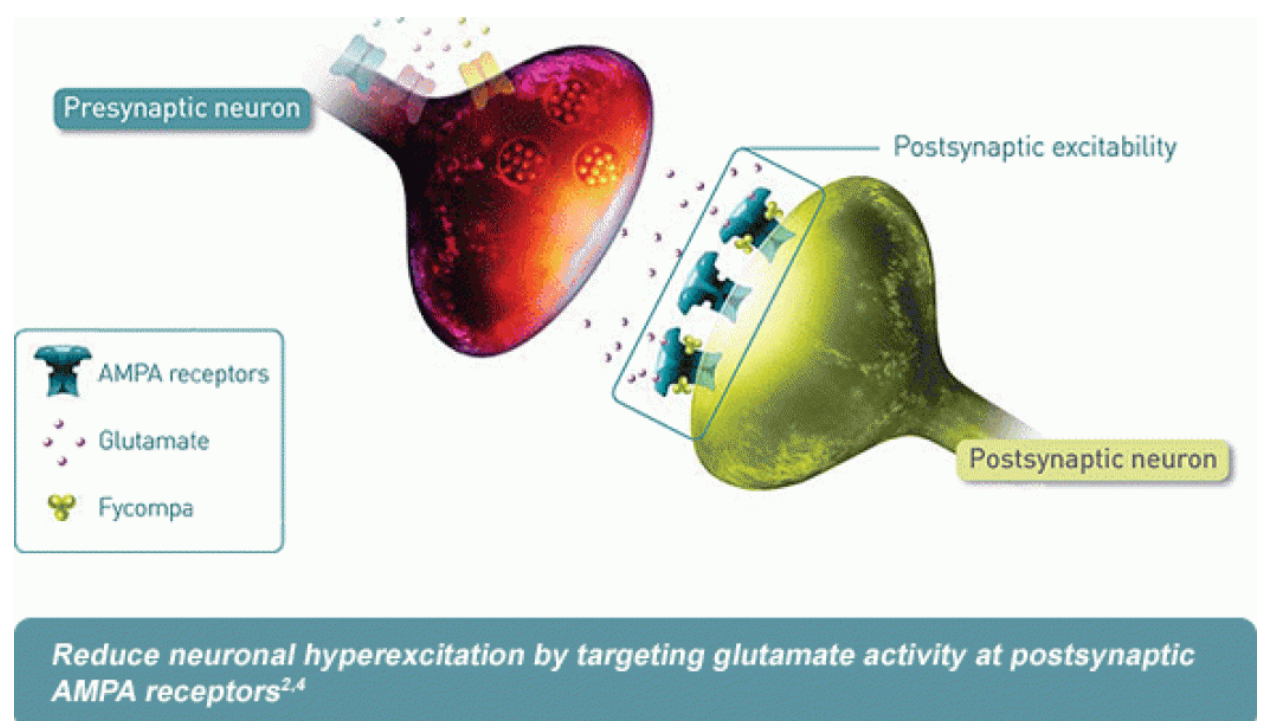
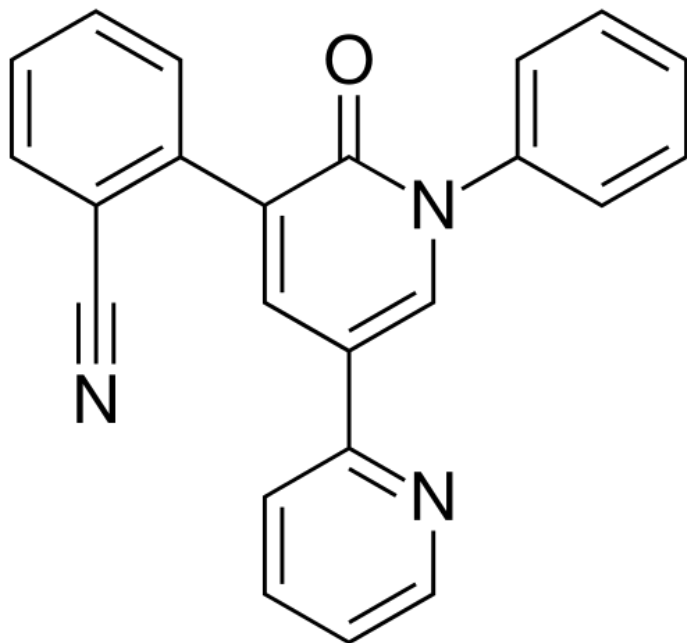


AMPA

- AMPAkinases: θετικοί αλοστερικοί τροποποιητές του AMPA R
- Ερευνώνται ως πιθανές θεραπείες σε Παρκινσον, Alzheimer, ανθεκτική κατάθλιψη, σχιζοφρένεια, διαταραχή ελλειμματικής προσοχής, σύνδρομο Rett
- Περαμπανέλη: non-competitive antagonist of AMPA receptors

Perambanel (Fycomba)

Αντιεπιληπτικό ευρέως φάσματος



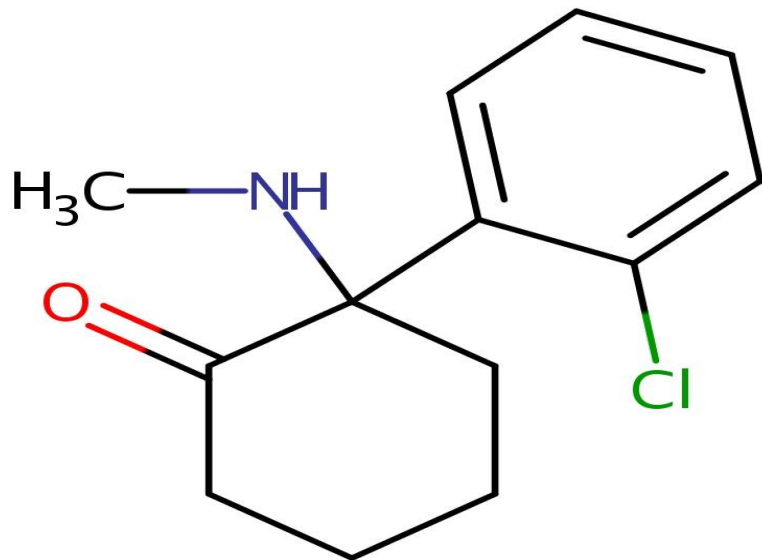
NMDA

D-Cycloserine: An Evolving Role in Learning and Neuroplasticity in Schizophrenia

Donald C. Goff*

- Cycloserine: Αντιφυματικό για ανθεκτικές μορφές
- Μερικός αγωνιστής στη θέση της γλυκίνης
- Έχει προταθεί στις αγχώδεις διαταραχές, και στον εθισμό

Κεταμίνη



Κεταμίνη

- Αποκλείει τον υποδοχέα NMDA με ενδοαυλική σύνδεση
- Αναισθητικό και ισχυρό αντιεπιληπτικό σε ανθεκτικό status
- Μερικός αγωνιστής ντοπαμίνης (D2)

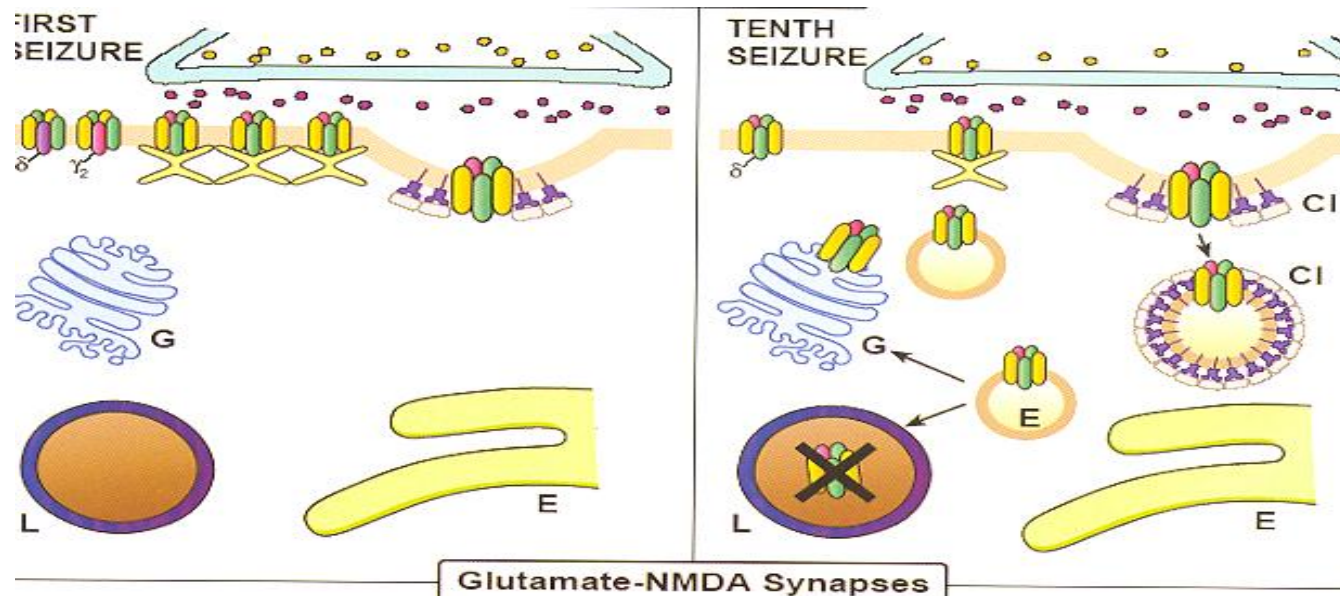
- ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ: Όταν το φάρμακο μειώνεται, ψυχολογικές αντιδράσεις.

Διέγερση, Σύγχυση, Ψευδαισθήσεις

Η μετάβαση από τη μεμονωμένη κρίση στο SE- ο ρόλος των ανασταλτικών μηχανισμών

- Μοντέλο SE λιθίου-πιλοκαρπίνης
- Σε 1h: μάρτυρες : 36 υποδοχείς GABA/ σύναψη
ζώα σε SE: 18 υποδοχείς GABA/ σύναψη

Naylor 2005

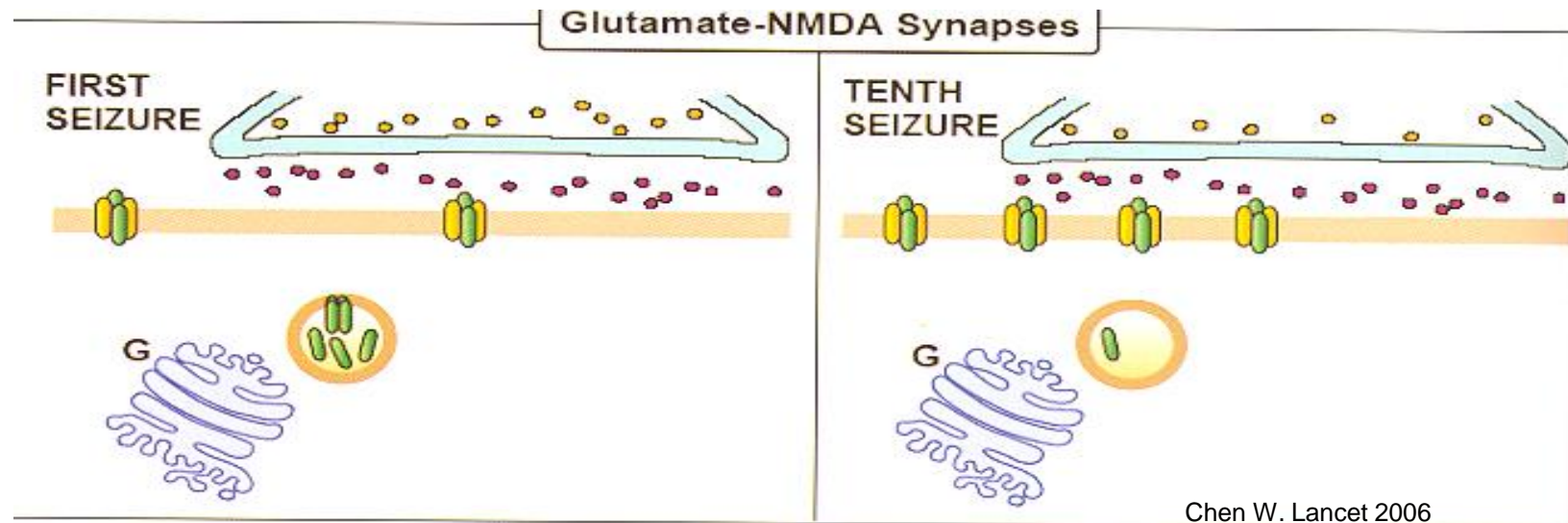


Chen W. Lancet 2006

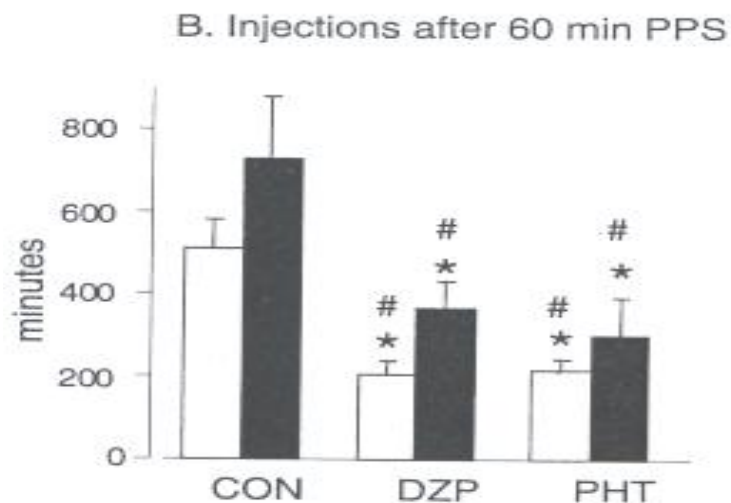
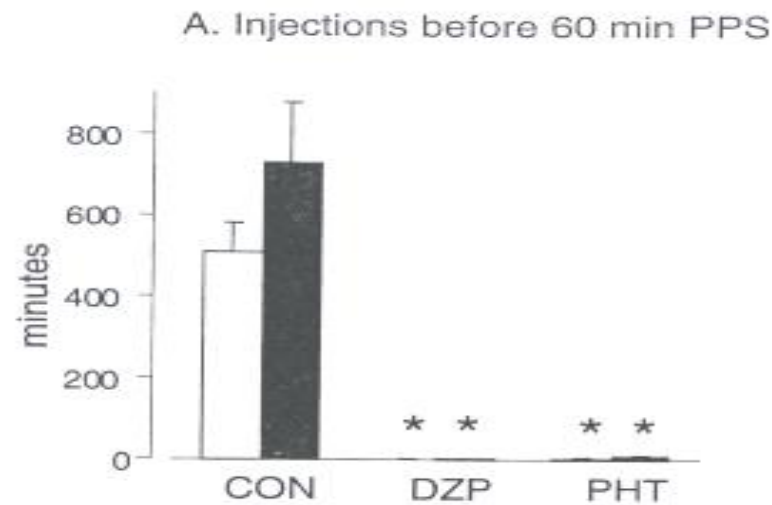
Μεταβολές των υποδοχέων NMDA

- Μετακίνηση στη κυτταρική μεμβράνη NMDA υποδοχέων
- Ανοσοκυτταρικές μελέτες: μετακίνηση NR1 υπομονάδας από υποσυναπτικές περιοχές στη σύναψη.
- Σε 1Η: μάρτυρες 5,2 υποδοχείς γλουταμικού/ σύναψη
ζώα σε SE 7.8 υποδοχείς γλουταμικού/ σύναψη

Wasterlain 2002



Φαρμακοανθεκτικότητα εξαρτώμενη από το χρόνο



- Φαινυτοΐνη και διαζεπάμη αν προ-χορηγηθούν δρουν αποτελεσματικά στη πρόληψη πειραματικού SE
- Αν χορηγηθούν **10 λεπτά** μετά την εφαρμογή του 60λεπτου ερεθισμού PPS δεν έχουν επίδραση στις κρίσεις.

- Δηλαδή αποτελεσματικά φάρμακα αποτυγχάνουν αν δοθούν μετά την εγκατάσταση του SE

(Mazarati, Baldwin 1998)

Phencyclidine ή PCP ή angel dust

- Ψυχοτρόπος ουσία
- Ανταγωνιστής υποδοχέων NMDA
- Άλλοι πλην ketamine: tiletamine, dextromethorphan, nitrous oxide, dizocilpine (MK-801)
- Παρόμοια δράση

Επιληψία

- Πειραματικά:

Αγωνιστές : επιληπτογόνα

Ανταγωνιστές: αντιεπιληπτικά

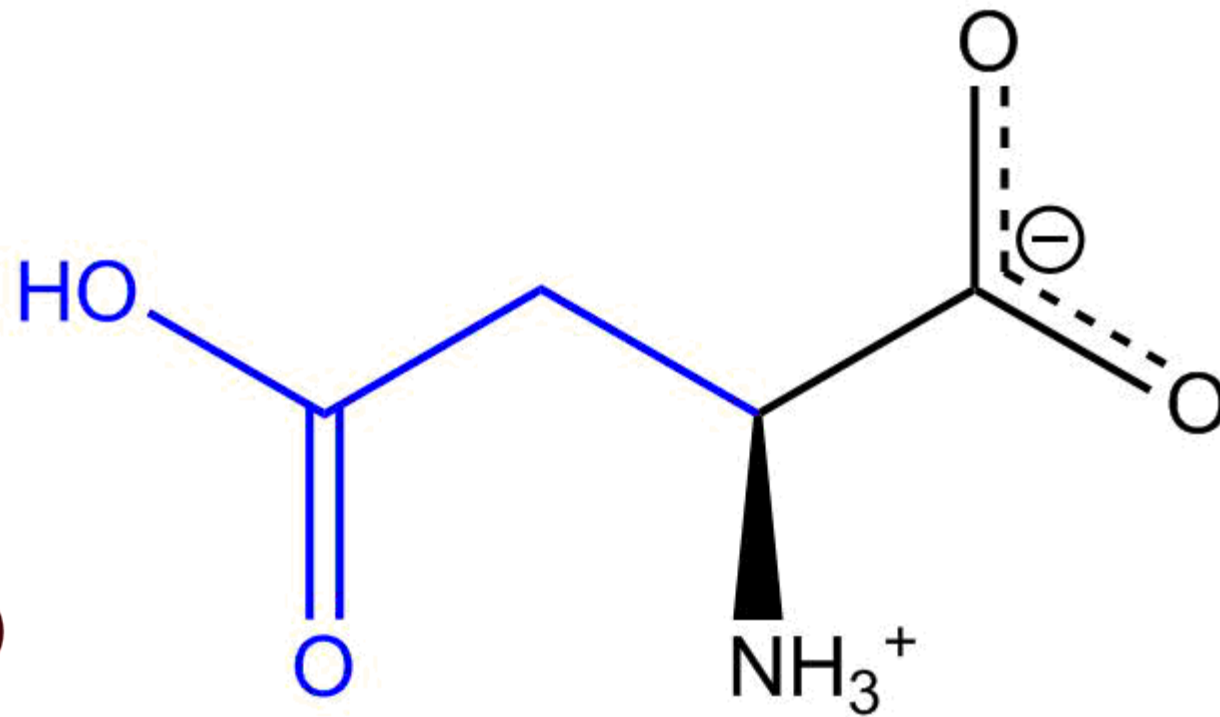
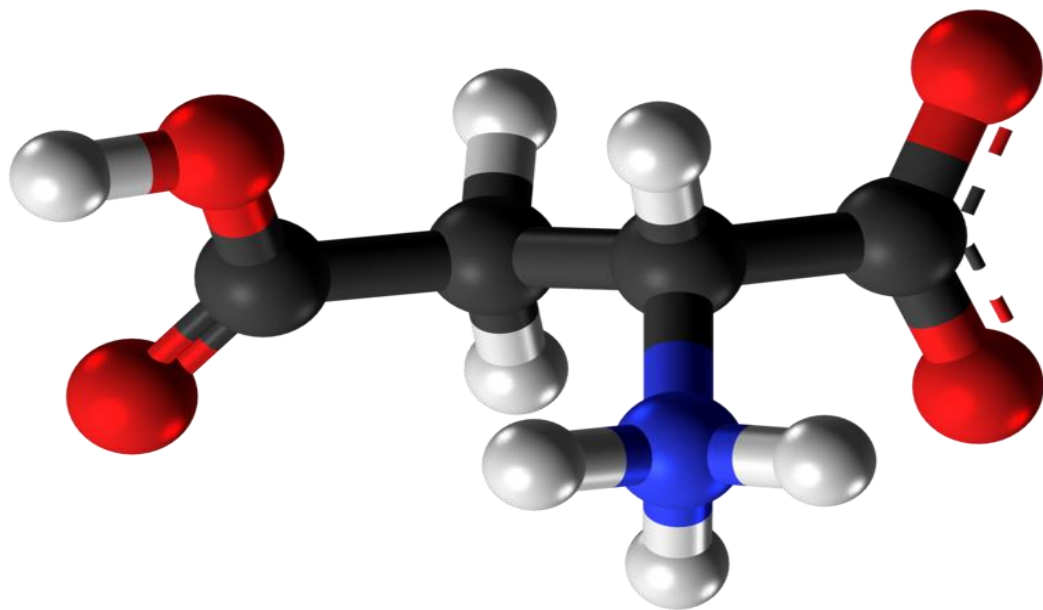
Calmodulin (CaM) (**calcium-modulated protein**)

- Πολλαπλών λειτουργιών ενδιάμεση πρωτεΐνη αγγελιαφόρος
Ενεργοποιείται από το Ca εκφράζεται σε όλα τα ευκαριωτικά κύτταρα.
- Διαμεσολαβεί τις αλληλεπιδράσεις του Ca^{++} με πολλούς στόχους
(π.χ. kinases or phosphatases).
- Βασικός ρόλος σε LTP.
- **CaMKII contributes to the phosphorylation of an AMPA receptor which increases the sensitivity of AMPA receptors.**

Ρόλος των υποδοχέων

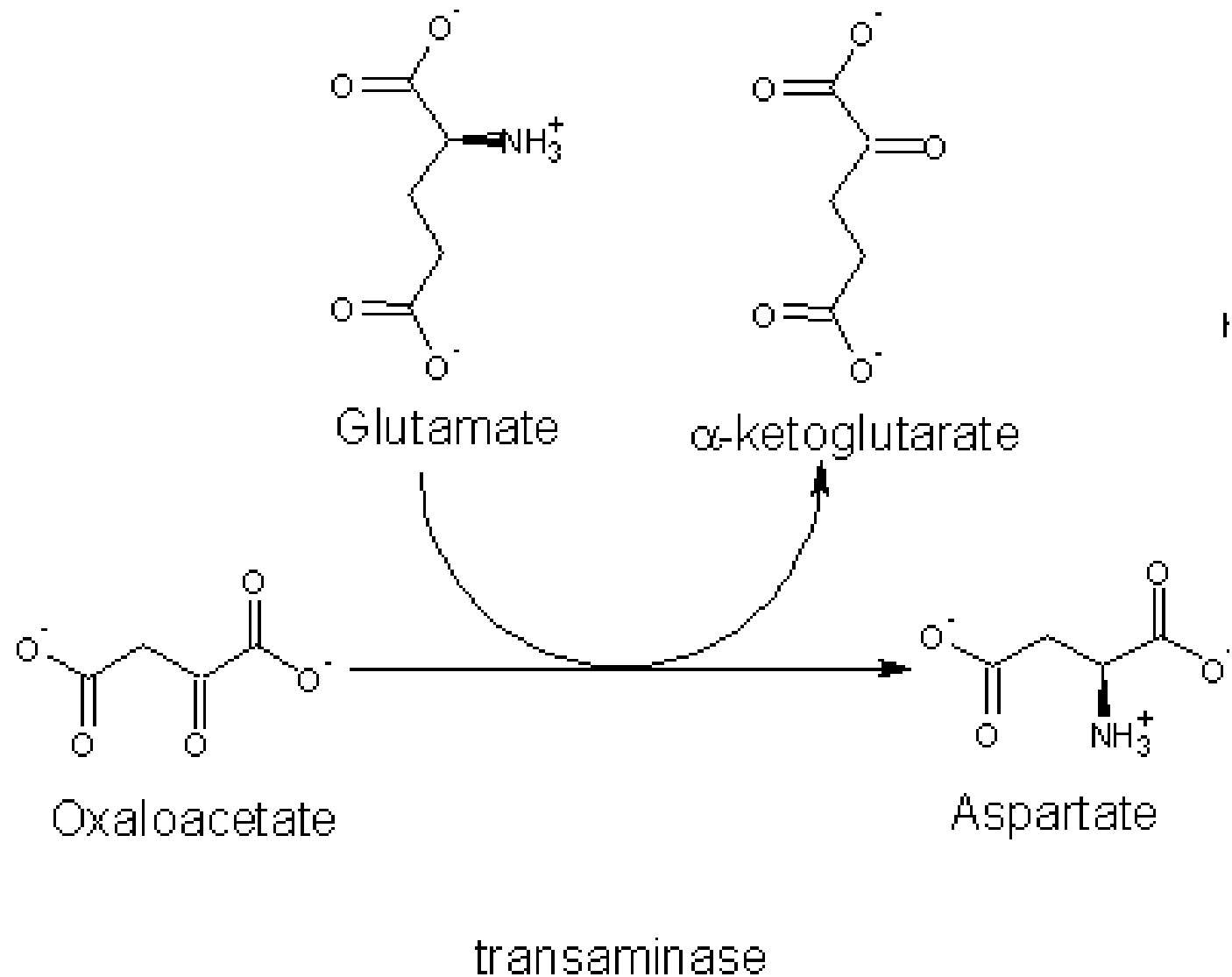
- Μνήμη LTP
- Επιληψία
- Πόνος
- Ανάπτυξη νευρικού
- Νευροτροφικός ρόλος και ρόλος στην ανάπτυξη νέων συνάψεων
- Κυτταροτοξικότητα

ΑΣΠΑΡΤΙΚΟ (L και D)



Βιοσύνθεση

- Συντίθεται (μη απαραίτητο)
- Τρανσαμίνωση
- Υποπροϊόν του κύκλου της ουρίας
- Συμμετέχει σε νεογλυκογένεση



Το ασπαρτικό συνδέεται με τον NMDA υποδοχέα

- Σε υψηλές συγκεντρώσεις στο ΚΝΣ
- Η απελευθέρωση του συνδέεται με το Ca
- Εκλεκτικός αγωνιστής NMDA υποδοχέων

Παραμένει ως διαβιβαστής

[J Neurochem](#). 2009 Aug;110(3):924-34. doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.06187.x. Epub 2009 Jun 22.

L-aspartate as an amino acid neurotransmitter: mechanisms of the depolarization-induced release from cerebrocortical synaptosomes.

[Cavallero A](#)¹, [Marte A](#), [Fedele E](#).

The role of L-aspartate as a classical neurotransmitter of the CNS has been a matter of **great debate**

Brief Communications

Is Aspartate an Excitatory Neurotransmitter?

[Bruce E. Herring](#)^{1*}, [Katlin Silm](#)^{2,3*}, [Robert H. Edwards](#)^{2,3} and [Roger A. Nicoll](#)^{1,2}

the vesicular glutamate transporters VGLUT1–3 do not transport or even recognize aspartate

aspartate is a highly selective agonist for NMDAR-type glutamate receptors and does not activate AMPA-type glutamate receptors

Διεγερτικοί νευροδιαβιβαστές

Μια διεγερτική σύναψη
αυξάνει την πιθανότητα ενός δυναμικού ενεργείας που εμφανίζεται σε
ένα μετασυναπτικό κύτταρο.

Η βάση της λειτουργίας του Νευρικού Συστήματος

Excitation and Inhibition



Τέλος του μαθήματος

Σαν συμπέρασμα

- Σύναψη = κατανόηση της λειτουργίας εγκεφάλου και της συμπεριφοράς.
- Συνάψεις = χώρος δράσης πολλών φαρμάκων
- Συνάψεις = η διαταραχή τους: πολλές νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές.

(σχιζοφρένεια, τον αυτισμό, την κατάθλιψη, την κατάχρηση ουσιών και τον εθισμό, τη νόσο του Parkinson, τη νόσο του Alzheimer, τον τραυματικό εγκεφαλικό τραυματισμό, το εγκεφαλικό επεισόδιο και την επιληψία)

Η σημασία των συνάψεων

η θεμελιώδης κατανόηση
του σχηματισμού, της δομής, της μοριακής οργάνωσης,
της λειτουργίας σηματοδότησης
και της πλαστικότητας των συνάψεων
είναι απαραίτητη για την κατανόηση
της **λειτουργίας** και των **νοσημάτων** του ΝΣ .