

# Роль фосфорилирования при психических расстройствах

**Федоренко Ольга Юрьевна**

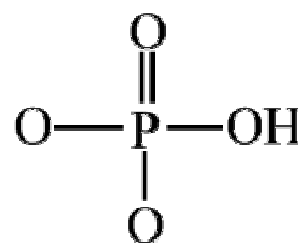
*Д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории  
молекулярной генетики и биохимии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН*

## ЧАСТЬ 1

### ПРОТЕИНКИНАЗЫ И ЗНАЧЕНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ

#### Почему фосфорилирование белков так важно?

Протеинкиназы – это ферменты, которые модифицируют другие белки путем фосфорилирования, то есть переноса фосфата от АТФ к специфическому аминокислотному остатку (серин, треонин, тирозин и т.д.).



**Фосфатная группа**

Фосфорилирование – один из наиболее распространенных видов посттрансляционной модификации белка.

Фосфорилирование, как правило, изменяет ферментативную активность, положение белка в клетке или взаимодействие с другими белками.

Впервые принципиально важное значение фосфорилирования в функциональной регуляции белков продемонстрировали американские биохимики Эдвин Кребс и Эдмонд Фишер в 1950-е годы. Они изучали фермент гликогенфосфоорилазу, катализирующий распад гликогена.

Ученые обнаружили, что активация-инактивация фермента вызывалась его обратимым фосфорилированием. Когда фермент фосфорилирован, его конформация изменяется, и он становится

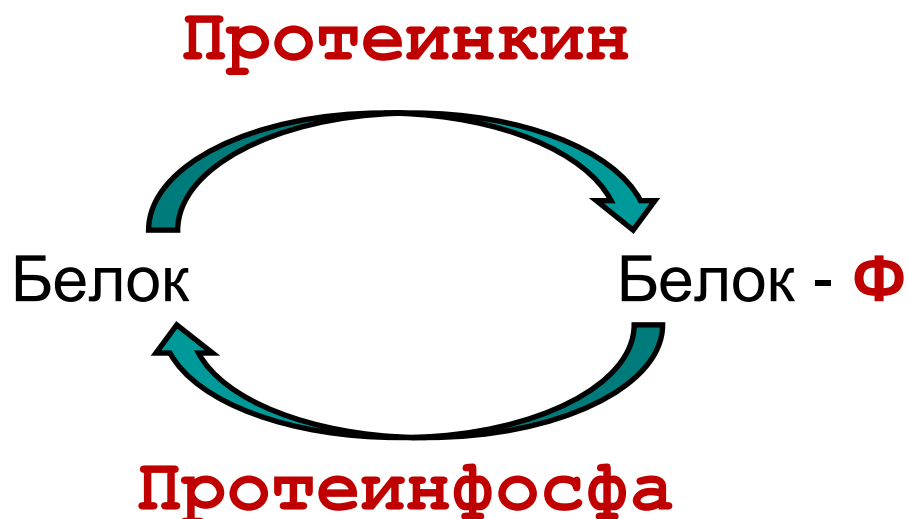
каталитически активным, а когда фермент дефосфорилирован, то он возвращается в изначальную неактивную форму.

В 1992 году за открытие обратимого белкового фосфорилирования Эдвин Кребс и Эдмонд Фишер получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины.



Эдвин Кребс и Эдмонд Фишер

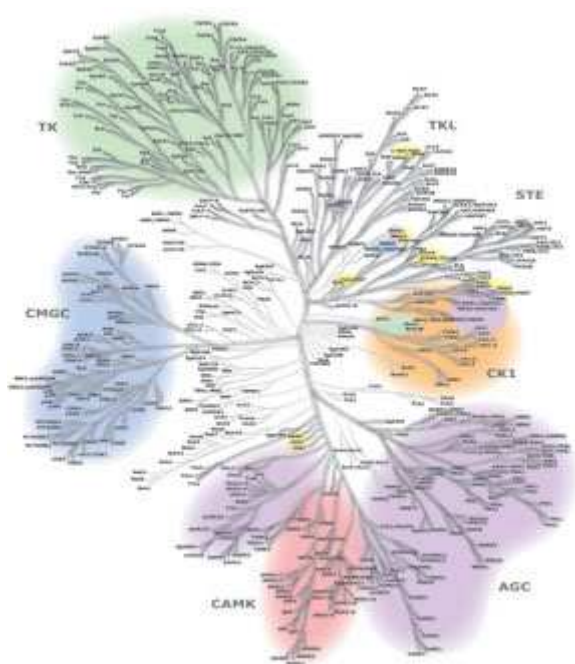
Протеинфосфатазы – ферменты, которые отщепляют фосфатную группу от белка. Фосфатная группа добавляется к белку с помощью протеинкиназы.



Более половины белков в организме человека находятся в фосфорилированном или дефосфорилированном состояниях. Таким образом, они могут быть «включены» или «выключены». Эта

фундаментальная концепция представляет собой суть и значение фосфорилирования в регуляции функции белков.

Протеинкиназы – это молекулярные переключатели, которые регулируют функцию белков. Такие переключения происходят в наших клетках все время. Таким образом, всего одна маленькая фосфатная группа может колоссально изменить функциональное состояние большого белка.



Со времени открытия Кребса и Фишера стало ясно, что существует много других протеинкиназных сигнальных путей, играющих важную роль как в физиологических процессах, так и в патофизиологии многих заболеваний. Историю их открытия можно описать экспоненциальной кривой.

Кином – полный набор киназ и их продуктов, находящийся внутри клеток данного организма.

В мозге взрослого человека экспрессировано более чем 250 протеинкиназ. Они влияют на различные функции мозга (процессы обучения, памяти, внимания и т.д.), действуя на возбудимость нейронов и синаптическую трансмиссию, изменяя свойства или плотность ионных каналов. Кроме того, они регулируют экспрессию генов или синтез белков, вызывая структурные изменения имеющихся синапсов или модулируя синаптогенез.

## **ЧАСТЬ 2**

### **НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНЫЕ ГИПОТЕЗЫ ШИЗОФРЕНИИ**

#### **Актуальные нейротрансмиттерные гипотезы шизофрении**

Шизофрения - тяжёлое психическое заболевание, склонное к хроническому течению, которым страдает 1% населения. Колоссальные усилия уже затрачены на выяснение этиопатогенеза шизофрении, но фундаментальные нейробиологические процессы, ведущие к этому заболеванию, до сих пор остаются невыясненными.

Наиболее актуальными нейротрансмиттерными гипотезами шизофрении являются дофаминовая и глутаматная.

#### **Эффекты дофамина**

**Дофамин – нейромедиатор** (нейромедиаторы – биологически активные химические вещества, посредством которых осуществляется передача электрического импульса между нейронами через синаптическое пространство), служит важной частью «системы поощрения» мозга, поскольку вызывает чувство удовольствия (или удовлетворения).

Дофамин естественным образом вырабатывается в больших количествах во время позитивного, по субъективному представлению человека опыта – к примеру, секса, приема вкусной пищи, приятных телесных ощущений, а также стимуляторов, ассоциированных с ними.

Нейробиологические эксперименты показали, что даже воспоминания о позитивном поощрении могут увеличить уровень дофамина, поэтому данный нейромедиатор используется мозгом для оценки и мотивации, закрепляя важные для выживания и продолжения рода действия.

## **Действие дофамина**

Дофамин действует через дофаминовые рецепторы: D1, D2, D3 и D4. Мы все наследуем какое-то количество дофаминовых рецепторов. При болезни Паркинсона происходит утрата дофаминергических нейронов. При избыточном количестве D2 в мезолимбической области развивается шизофрения, а избыток дофамина приводит к развитию галлюцинаций.

Для аддиктивных состояний характерен дефицит D2 дофаминовых рецепторов, обуславливающий снижение способности испытывать удовольствие от естественных радостей нормальной жизни. При употреблении наркотиков стимулируются D2 дофаминовые рецепторы, что приводит к развитию галлюцинаций.

## **Дофаминовая теория шизофрении**



Арвид Карлсон – основоположник дофаминовой теории шизофрении, получил в 2000 году Нобелевскую премию в области медицины.

Дофаминовая теория шизофрении постулирует дисфункцию дофаминергической нейротрансмиттерной системы. Она основана на психодислептических эффектах дофаминовых агонистов, а также на способности типичных антипсихотических препаратов, являющихся антагонистами дофаминовых рецепторов 2 (D2) лечить позитивные симптомы (бред, галлюцинации) шизофрении.

## **Глутаматная теория шизофрении**

Тот клинический факт, что D2 блокада значительно менее эффективна при лечении негативных симптомов (таких как социальный аутизм, отсутствие мотивации) или когнитивные изменения, включая дефицит внимания и рабочей памяти) указывает на вовлечение других, отличных от дофаминовых, механизмов.

Глутаматергическая гипотеза в изначальной форме постулирует, что гипоглутаматергические состояния и гипофункция NMDA рецепторов представляют основные элементы патофизиологии заболевания.

В последнее время общий интерес к исследованиям глутаматергической системы при шизофрении многократно возрос в связи с успешными клиническими испытаниями антипсихотического вещества, действующего на метаботрофные глутаматные рецепторы.

Несмотря на противопоставление дофаминергических и глутаматергических механизмов в историческом аспекте, ни одна унитарная нейротрансмиттерная гипотеза не может полностью объяснить это комплексное гетерогенное заболевание.

## **Взаимодействие дофаминовой и глутаматной теорий шизофрении**

Фактически, глутаматная и дофаминовая системы тесно взаимодействуют как в регуляции нормальной кортикальной активности, относящейся к познанию, во взаимодействиях между префронтальной корой, средним мозгом и стриатумом, имеющим отношение к шизофрении, так и в контексте генетического риска заболевания.

Поэтому сейчас эти теории существуют не отдельно, а во взаимодействии, постулируя сбалансированность между дофаминергическими и глутаматергическими нейронами. Дефицит глутаматной трансмиссии может приводить к дофаминовой

дисфункции, ассоциированной с шизофренией. Дофаминовые изменения, в свою очередь, могут усиливать дефицит глутаматной трансмиссии.

### ЧАСТЬ 3

## ДОФАМИНОВАЯ НЕЙРОТРАНСМИССИЯ, KCNQ КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ, EAAT3 ГЛУТАМАТНЫЕ ТРАНСПОРТЕРЫ И PIP5K2A ПРОТЕИНКИНАЗА

### Дофаминергическая нейротрансмиссия и KCNQ каналы

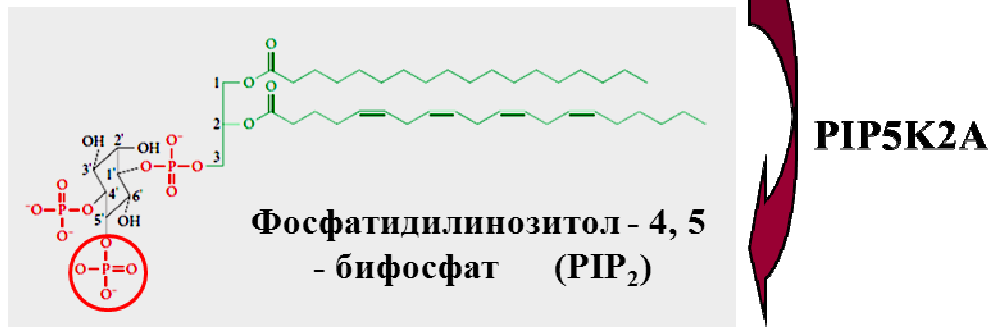
Недавно получены доказательства тесной связи между дофаминергической нейротрансмиссией и функционированием KCNQ калиевых каналов. При шизофрении наблюдается снижение активности KCNQ калиевых каналов и повышение дофаминергической нейротрансмиссии.

Для открытия KCNQ-каналов требуется фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат ( $PIP_2$ ).



$PIP_2$  образуется при фосфорилировании фосфатидилинозитол-4-фосфата в 5 положении инозитольного кольца фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназой тип 2 альфа ( $PIP5K2A$ ).

### Фосфатидилинозитол - 4 - фосфат

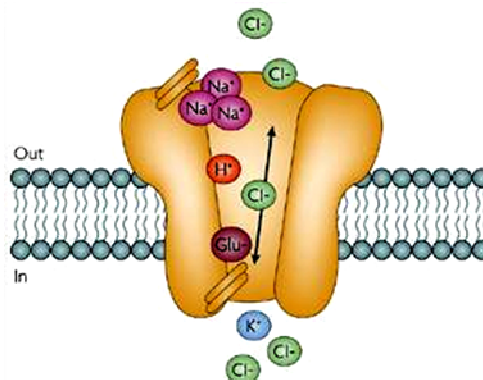


Ген PIP5K2A выдвинут в качестве перспективного гена-кандидата предрасположенности к шизофрении на позиционном основании. Ген расположен на хромосоме 10p (10p12) в районе, сцепленном с шизофренией.

Доказательства ассоциации между полиморфизмами PIP5K2A и шизофренией получены в нескольких независимых исследованиях на немецкой, голландской, китайской и других популяциях.

### EAAT3 глутаматные транспортеры

Основная функция EAAT3 — быстрое удаление избыточного глутамата из синапса. Таким образом предотвращается цитотоксический эффект глутамата на нейроны и ограничивается рецепторная десенситизация.



EAAT3 самый первый экспрессируется в мозге плода и поэтому играет значительную роль в поддержании низкого уровня



внеклеточного глутамата на самых ранних стадиях развития, когда остальные транспортёры ещё неэффективны.

Выявлено снижение экспрессии EAAT3 белка в префронтальной коре у больных шизофренией, что предполагает уменьшение обратного захвата глутамата, вовлеченное в патофизиологию данного заболевания.

В свете полученных доказательств ассоциации между мутацией (N251S)-PIP5K2A и шизофренией нами проведены комплексные исследования функциональной регуляции нейрональной PIP5K2A киназой и её мутантной формой (N251S)-PIP5K2A, ассоциированной с шизофренией, нейрональных KCNQ калиевых каналов, отвечающих за стабильность потенциала покоя нейронов, и глутаматных EAAT3 транспортёров, предотвращающих нейротоксический эффект.

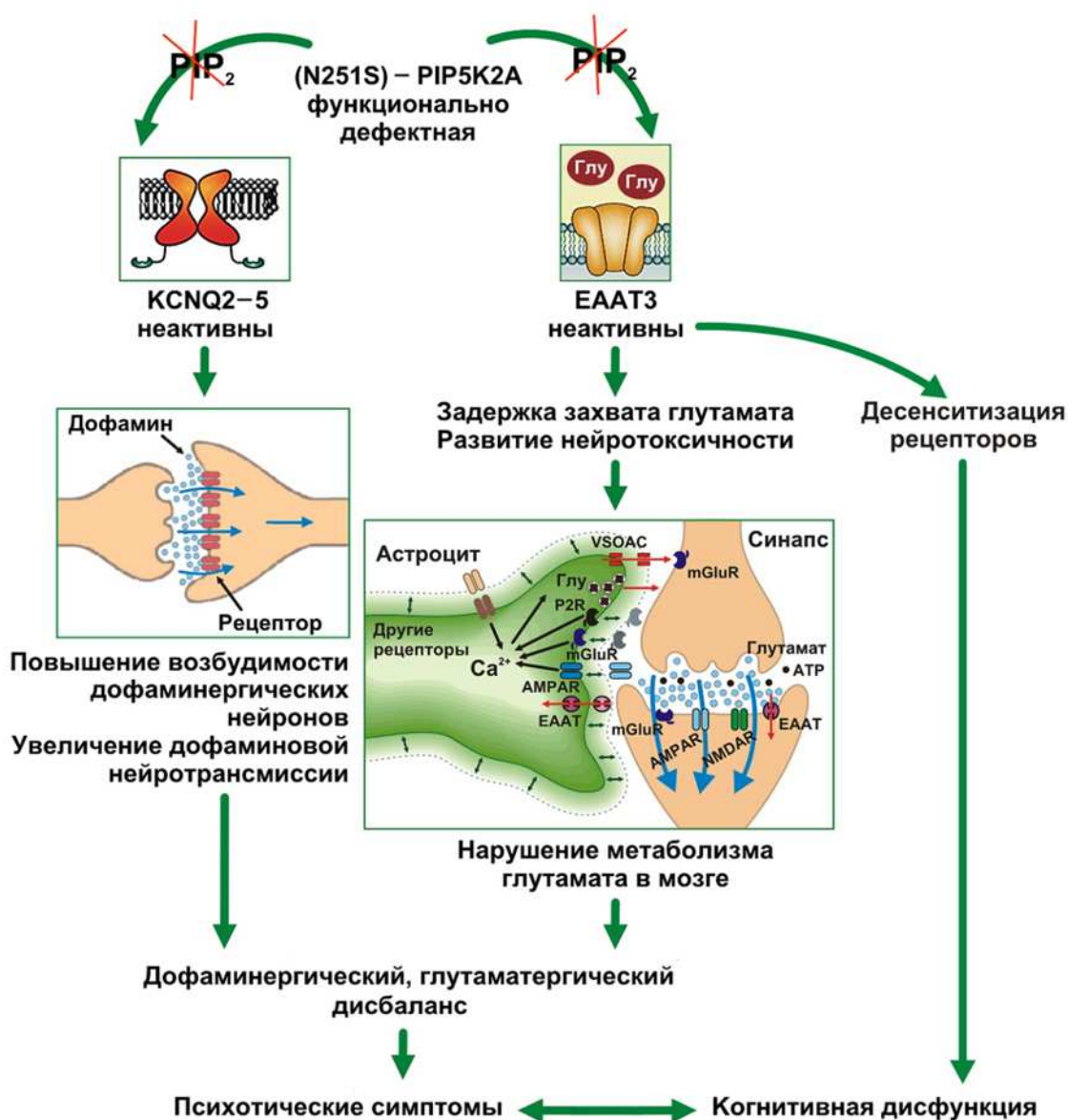
Нами впервые в мире обнаружено, что мутантная форма (N251S)-PIP5K2A киназы оказывает угнетающее действие на работу нейрональных KCNQ калиевых каналов. Выявленное снижение активности нейрональных KCNQ калиевых каналов способствует повышению возбудимости дофаминергических нейронов и увеличению дофаминергической нейротрансмиссии.

Получены принципиально новые фундаментальные данные о том, что PIP5K2A стимулирует нейрональные глутаматные EAAT3 транспортёры, а у мутантной формы (N251S)-PIP5K2A эта функция нарушена. Выявленное снижение активности нейрональных EAAT3 глутаматных транспортёров способствует нарушению захвата внеклеточного глутамата, что приводит к развитию нейротоксичности и десенситизации рецепторов (уже на самых ранних стадиях развития мозга плода).

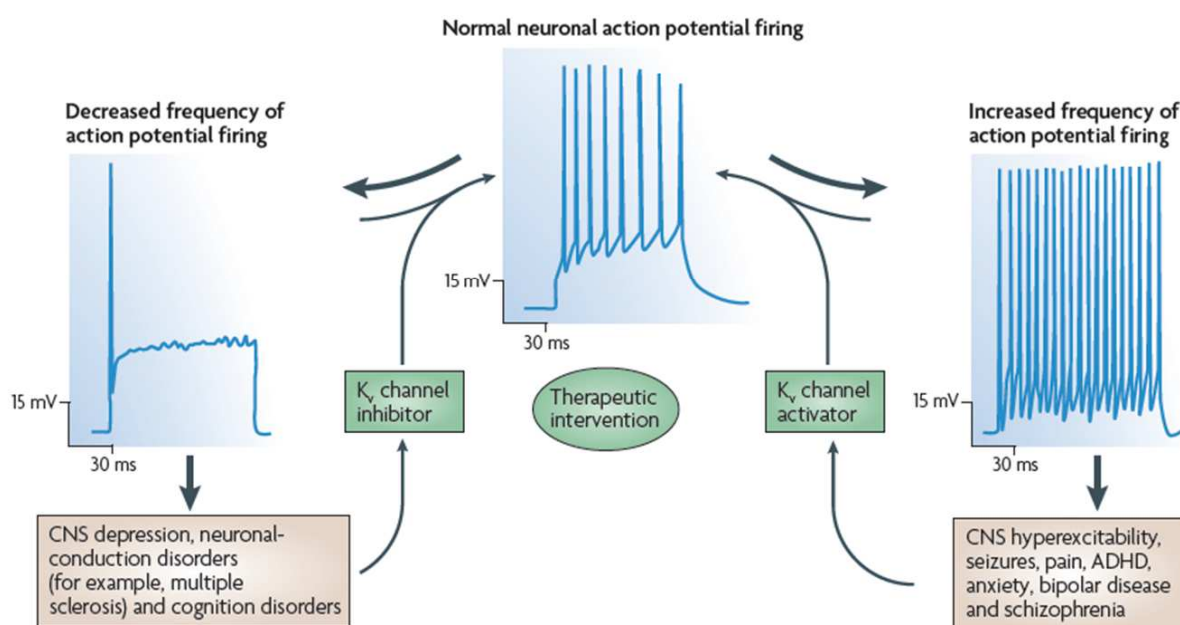
Выраженные функциональные нарушения регуляции нейрональных KCNQ калиевых каналов и глутаматных EAAT3 транспортёров мутантной, ассоциированной с шизофренией (N251S)-

PIP5K2A киназой, в значительной мере объясняют повышение мезенцефалического дофаминового потенциала действия у больных шизофренией (носителей этой мутации), а также нарушение метаболизма глутамата в мозге у больных, которое и ведёт к развитию психотических симптомов.

На основании полученных нами данных, а также данных литературы нами построена гипотетическая схема участия протеинкиназных сигнальных путей в патофизиологических процессах при шизофрении.



В свете вышесказанного представляются чрезвычайно важными новые данные о вовлечении KCNQ каналов в патологически изменённую нейрональную активность. Измененный разряд потенциала действия нейронов наблюдается при таких состояниях, как гипервозбудимость ЦНС, эпилепсия, тревожность, боль, биполярное расстройство и шизофрения, депрессия, нарушение нейрональной проводимости (например, при множественном склерозе) и когнитивных расстройствах (Wulff et al., 2009).



Активаторы нейрональных KCNQ каналов, эффективно купирующие психотические симптомы на модели животных, называют потенциально новым классом антипсихотических препаратов.

Учитывая значение KCNQ каналов в широком диапазоне нейрональных процессов, неудивительно, что существенные усилия были приложены к получению терапевтических препаратов, мишенью которых являются KCNQ каналы. Получено более 20 патентов на новые модуляторы KCNQ каналов и более 100 патентов в Америке в настоящее время находятся на различных стадиях апробации.

Протеинкиназные сигнальные молекулы вовлечены в механизм действия антипсихотических препаратов, действующих на дофаминовую, серотониновую и глутаматную нейротрансмиссию. Вместе взятые, эти белки находятся на пересечении глутамат-дофамин-серотониновых сигнальных путей и могут быть рассмотрены как важные молекулярные мишени для современных и новых поколений антипсихотических фармацевтических препаратов.

Аналогичные патогенетические механизмы могут быть ассоциированы с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при других психических заболеваниях и поведенческих расстройствах, связанных с измененной нейрональной активностью.

По нашему мнению, при других психических и поведенческих расстройствах, в основе которых лежат нарушения дофаминовой и глутаматной нейротрансмиссии, могут выявляться нарушения работы нейрональных каналов и транспортеров, связанные с полиморфными вариантами различных нейрональных киназ. В связи с этим нами проводятся генетические исследования по выявлению ассоциаций между полиморфными вариантами различных киназ с шизофренией и депрессией в русской популяции Сибирского региона.

В результате проведенных исследований получены данные по ассоциации полиморфного варианта (N251S)-PIP5K2A с шизофренией, которые подтверждают результаты зарубежных исследований, полученных ранее в нескольких независимых исследованиях. Вместе с тем, эти результаты получены в русской популяции Сибирского региона впервые. Ассоциация генотипа AA полиморфного варианта rs1057293 гена SGK1 с шизофренией обнаружена нами впервые в мире. Кроме того, установлены принципиально новые приоритетные фундаментальные данные об ассоциации полиморфного варианта (N251S)-PIP5K2A с

двигательными расстройствами у больных шизофренией на фоне нейролептической терапии.

В совокупности, полученные результаты сопоставимы с уровнем мировых исследований, а по ряду позиций, опережают аналогичные исследования.

Таким образом, дальнейшее изучение молекулярно-генетических механизмов дизрегуляции нейрональных протеинкиназных сигнальных путей позволит в перспективе выявить комплекс маркеров основных социально значимых психических расстройств и предоставит возможности использования киназ в качестве молекулярной мишени для разработки терапевтических стратегий.