

УРИДИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА:  
ЛИГАНДНЫЙ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АСПЕКТЫ

МАКЛЯКОВ Ю. С., СТРАДОМСКИЙ Б. В., БАРДАХЧЬЯН Э. А.

Ростовский государственный медицинский институт,  
Научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону

В настоящее время показано, что эндогенные производные пиримидина принимают непосредственное участие в формировании эмоционального статуса человека и животных. Так, при генетически детерминированном заболевании—оротатацидурии, заключающемся в блокировании биосинтеза эндогенных пиримидинов, у больных ярко выражен депрессивный симптомокомплекс [1, 2]. Аналогичные нарушения эмоциональной сферы выявляются и при использовании селективного блокатора биосинтеза пиримидинов—6-азаурацила, вызывающего пиримидиндефицитные состояния [3, 4]. В то же время, пиримидиновый нуклеозид уридин проявляет характерные свойства антидепрессанта, а также анксиолитика в экспериментальных условиях [5].

Одним из ведущих механизмов, обеспечивающих прямое воздействие на состояние ЦНС, является способность уридина взаимодействовать с рецепторами нервных клеток. Однако конкретные ультраструктурные изменения на уровне отдельных нейронов при действии уридина остаются до сих пор не изученными. С нашей точки зрения, особенно перспективным представляется исследование проблем, связанных со специфическим поглощением молекул уридина эндотелием и нейронами за счет опосредованного рецепторами эндоцитоза.

Чтобы исключить возможное участие в реализации биологического действия уридина гуморальных и клеточных медиаторных систем, в специальной серии опытов осуществлено внутрикостерильное введение его в обход ГЭБ, то есть созданы условия для прямого контакта молекул уридина со структурами мозга.

Другой целью настоящей работы явилось изучение уридина в качестве возможного эндогенного лиганда некоторых типов рецепторов, локализованных на синаптических мембранах.

Исследования лигандных свойств уридина выполнены на 48 белых беспородных крысах-самцах массой 250—300 г. В синапсосомной фракции головного мозга определяли наличие мест специфического связывания [<sup>3</sup>H]уридина. С помощью анализа Скэтчарда определяли величины  $K_{d1}$  и  $K_{d2}$  уридина, а также влияние на эти параметры трициклического антидепрессанта имипрамина. Кроме того, изучали влияние диазепамы, медазепамы, коразола и ГАМК на уровень спе-

цифического связывания уридина. Полученные данные подвергали статистической обработке.

Для электронномикроскопического исследования (31 крыса) сенсомоторной коры, гиппокампа, таламуса и центрального серого вещества использована глутаросмевая фиксация. Материал от 9 белых крыс-самцов массой 200 г изучали через 30 мин, 3 и 24 ч после внутрибрюшинного введения уридина (50 мкг/кг), а от 12 животных — через 10 и 30 мин, 1,5 и 3 ч после внутрицистернального введения вещества в дозе 100 мкг/кг в объеме 10 мкл исследовали только центральное серое вещество. В 10 контрольных опытах осуществляли соответствующее введение (внутрибрюшинное или внутрицистернальное) эквивалентного количества стерильного физиологического раствора. После общепринятых процедур кусочки ткани заключали в эпон 812. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме LKB 8800, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 S.

Наиболее существенным результатом электронномикроскопического исследования является свойство уридина при внутрибрюшинном введении проникать через ГЭБ и вступать в специфическое взаимодействие с нервными клетками и эндотелиоцитами. При этом идентифицируются два типа нейронов, отличающиеся по способности образовывать окаймленные везикулы.

В случае присутствия уридиновых рецепторов на плазмалемме нервных клеток после введения лиганда (уридина) в цитоплазме выявляется отчетливая реакция, связанная с массивным образованием окаймленных везикул, которые у интактных животных единичны или вообще отсутствуют (рис. 1, а). Обе популяции нейронов регистрируются во всех изученных отделах ЦНС, однако представительство клеток без специфических рецепторов является наибольшим в таламической области.

В цитоплазме эндотелиальных клеток окаймленные везикулы особенно многочисленны в центральном сером веществе (рис. 1, б). Интересно, что иногда удается проследить все этапы эндоцитоза — от формирования окаймленного углубления, интернализации и вплоть до образования окаймленных везикул (рис. 1, б).

Как известно, появление последних ассоциируется с процессом специфического захвата и транспорта молекул в результате опосредованного рецепторами эндоцитоза [6—8]. Поскольку пузырьки с дополнительной оболочкой нехарактерны для цитоплазмы нейронов и эндотелиоцитов [9], следует допустить их образование в ответ на введение уридина.

При введении уридина в ликвор довольно выраженная реакция формирования окаймленных везикул происходит в три раза быстрее, чем при внутрибрюшинном введении. Действительно, уже спустя 10 мин после внутрицистернальной инъекции препарата в нейронах центрального серого вещества наблюдаются многочисленные окаймленные везикулы, локализующиеся в зоне пластинчатого комплекса и заполненные электронноплотным веществом (рис. 2, а). Интернализация уридина в составе окаймленных везикул весьма интенсивна на протяжении всех 3 ч наблюдения.

Благодаря внутрицистернальному способу введения препарата нам удалось положительно ответить на принципиальный вопрос о наличии специализированных участков связывания уридина на нейрональной плазмалемме. Введение уридина, минуя ГЭБ, обеспечивает ускоренную интернализацию его молекул и более быструю реакцию энергетического, белоксинтезирующего и протеолитического ап-



*Рис. 1.* Ультраструктурные изменения в мозгу при внутрибрюшинном введении уридина: *а*—увеличение количества окаймленных везикул в цитоплазме нервной клетки гиппокампа (увел. 14000); *б*—появление многочисленных окаймленных везикул в эндотелии капилляра центрального серого вещества (увел. 18000)

парата нервных клеток. Реакция глиально-сосудистого комплекса находится в зависимости от выраженности адаптивных изменений нейронов. Кроме того установлено, что уридин стимулирует синаптическую передачу и активизирует межнейронные связи (рис. 2, *б*).

Результаты радионуклидных исследований также свидетельству-

ют о наличии специфических мест связывания уридина на синапсомных мембранах клеток нервной ткани. Специфическое связывание [ $^3\text{H}$ ]уридина полностью блокировалось при добавлении к суспензии синапсом немеченого уридина в концентрации  $10^{-4}$  М и выше.



*Рис. 2.* Ультраструктурные изменения в мозгу при внутристеринальном введении уридина: *а*—образование окаймленных везикул в нейроне центрального серого вещества (увел. 18000); *б*—группа активных аксо-дендритических синапсов в центральном сером веществе (увел. 14000)

При изучении влияния лигандов бензодиазепиновых рецепторов на взаимодействие уридина с синапсомной фракцией головного мозга было обнаружено, что диазепам, медазепам и коразол снижают специфическое связывание [ $^3\text{H}$ ]уридина. ГАМК, напротив, повышала аффинитет уридина к рецепторам. Анализ этих данных позволяет сделать вывод о способности уридина связываться с бензодиазепиновыми рецепторами, что, по-видимому, объясняет его анксиолитические свойства.

С помощью анализа Скэтчарда были определены  $K$  уридина ( $1,30 \pm 0,16$  нМ/мг синапсомного белка) и  $V_{\max}$  ( $7,08 \pm 0,69$  пМ/мг

белка). Имипрамин, взятый в конечной концентрации  $10^{-4}$  М, ингибировал связывание [ $^3$ H]уридина с рецепторами, повышая константу диссоциации более чем вдвое и практически не изменяя количества мест связывания уридина. Воздействие такого типа свидетельствует о том, что между уридином и имипраминном существует конкуренция за общие для этих соединений места специфического связывания, то есть уридин является, по-видимому, эндогенным лигандом имипраминовых рецепторов, что и позволяет объяснить его антидепрессивные свойства.

## BRAIN URIDINE RECEPTORS: LIGANDS AND ULTRASTRUCTURAL ASPECTS

MAKLYAKOV U. S., STARODOMSKY B. V., BARDAKHCHAN E. A.

Department of Clinical Pharmacology, Rostov-on-Don Medical Institute, Rostov-on-Don  
Research Antiplague Institute

Intraperitoneal (50 mg/kg) or intracisternal (100 mg/kg) administration of uridine to rats lead to abundant appearance of numerous vesicles in neurons of different brain structures as shown by EM. The experimental data suggest that this effect is associated with specific receptors for uridine and this was confirmed by radioligand studies. The sites of specific uridine binding were identified as benzodiazepine and imipramine receptors.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Huguley C. M., Bain J. A., Rivers L. S., Scoggins P. S. *Blood*, v. 14, p. 615—634, 1959.
2. Becroft D. M. O., Phillips L. I. *Britt. Med. J.*, № 1, p. 547—552, 1965.
3. Shnider B. I., Fret E., Tuohy J. H., Gorman J., Freireich E. J., Brindley C. O., Clements J. *Cancer Res.*, v. 20, p. 28—33, 1960.
4. Krstak M., Janku I. *Int. J. Neuropharmacol.*, v. 8, p. 199—207, 1968.
5. Karkischenko N. N., Stradomsky B. V., Choronko V. V. -In: *Molecular basis of neural function*, p. 429, Prague, 1986.
6. Каркищенко Н. Н., Солодилов В. В., Бардахчан Э. А. *Известия СКНЦ ВШ*, № 2, с. 122—127, 1987.
7. Brown M. S., Goldstein J. L. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, v. 60, p. 3—6, 1982.
8. Snyder S. H. *Science*, v. 224, p. 22—31, 1984.
9. Морозов Г. В., Боголепов Н. Н. — В кн.: *Морфинизм*, с. 176, М., 1984.

Поступила 9.XI.1989