

Waldemar Szaroma *

Próba interpretacji mechanizmu neurotoksycznego działania kwasu kainowego

Streszczenie

W artykule przedstawiono metody wybiórczego uszkodzania poszczególnych struktur mózgu. Podkreślono właściwości neuropobudzającego i neurotoksycznego wpływu kwasu kainowego. Zwrócono uwagę na selektywną degenerację neuronów w strukturach mózgu przez ten analog kwasu glutaminowego jako wynik specyficznego działania receptorowego. Ponadto omówiono dotychczasowe hipotezy dotyczące mechanizmu neuropobudzającego i neurotoksycznego działania kwasu kainowego.

Wprowadzenie

Powszechnie przyjmuje się, iż poznanie strukturalnej i funkcjonalnej organizacji mózgu stało się możliwe między innymi dzięki uszkodzeniom określonych struktur mózgu u zwierząt laboratoryjnych. Wybiórcze uszkodzenia różnych połączeń i struktur mózgu wywoływano najczęściej przy zastosowaniu tzw. aparatów stereotaktycznych, w sposób mechaniczny, termiczny, elektrolityczny i chemiczny. Następstwem tych uszkodzeń było "wyłączenie" określonych struktur mózgu, co dostarczało informacji o ich roli w procesach fizjologicznych (Oderfeld-Nowak, 1977).

Z drugiej strony okazało się, iż metody te nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie, czy obserwowany efekt jest konsekwencją uszkodze-

* Zakład Fizjologii Zwierząt Instytutu Biologii WSP w Krakowie.

nia tylko specyficznych grup komórek nerwowych czy też innych struktur mózgu.

W związku z tym zaczęto stosować wybiórcze neurotoksyny - czyli substancje, które trwale i w sposób selektywny uszkadzają neurony produkujące odpowiednie neurotransmitery.

W poszukiwaniu tych wybiórczych neurotoksyn zwrócono uwagę na kwas glutaminowy, a przede wszystkim na jego strukturalne analogi. Wyniki licznych prac eksperymentalnych wykazały, że pochodne kwasu glutaminowego, takie, jak kwas ibotenowy, N- metylo-D-asparaginowy, DL-homocysteinowy, a szczególnie kwas kainowy, charakteryzują się neurotoksycznymi właściwościami i powodują selektywną degenerację komórek nerwowych w różnych obszarach mózgu (Olney i inni, 1974; Price i inni, 1978; McGeer i McGeer, 1981; Kohler i Schwarcz, 1983; Kleinschmidt i inni, 1986).

Należy podkreślić, że zainteresowanie kwasem kainowym wynikło także z faktu, iż jest on tzw. sztuczną ekscytotoksyną, a więc substancją nie syntetyzowaną w organizmie zwierzęcym, która działa bardzo silnie pobudzająco i neurotoksycznie na pewne typy komórek nerwowych.

Dlatego też w końcu lat siedemdziesiątych wysunięto hipotezę, że przyczyną płasawicy Huntingtona zwanej inaczej płasawicą przewlekłą są uszkodzenia określonych grup komórek nerwowych mózgu, co można wywołać działaniem kwasu kainowego. Wykazano bowiem, iż podanie kwasu kainowego w odpowiednie okolice mózgu (prążkowie) wywołuje u zwierząt stan uważany za zwierzęcy model płasawicy Huntingtona (Coyle i Schwarcz, 1976; McGeer i McGeer, 1976; Krammer, 1980).

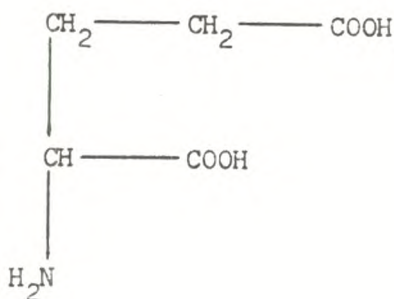
W związku z powyższym nasuwa się pytanie, w jaki sposób kwas kainowy "rozpoznaje" odpowiedni neuron, który ma zniszczyć? Jakie są obecnie poglądy w świetle wyników badań ostatnich lat na neurotoksyczny mechanizm działania kwasu kainowego?

Niniejsze opracowanie jest próbą przybliżenia sygnalizowanej powyżej problematyki.

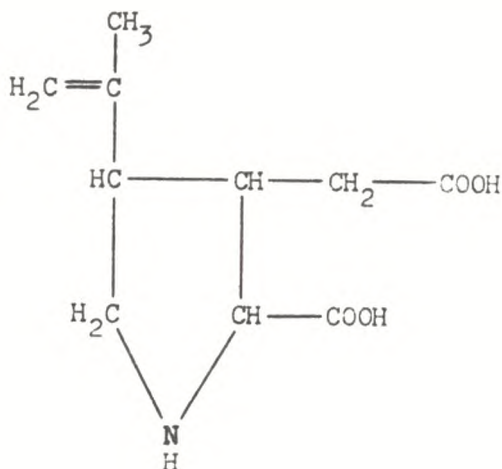
Budowa chemiczna i działanie kwasu kainowego

Kwas kainowy (2-carboxyl-3-carboxymethyl-4-isopropenyl-pyrrolidine) został wyizolowany przez Murakami i wsp. w 1953 roku z krasnorostu *Digenia simplex* (Murakami i inni, 1953).

Związek ten określa się mianem cyklicznego strukturalnego analogu kwasu glutaminowego. W skład heterocyklicznej cząsteczki kwasu kainowego wchodzi aktywne grupy cząsteczki kwasu glutaminowego, które zasadniczo są nie naruszone. Podobieństwo struktury chemicznej kwasu glutaminowego i kwasu kainowego przedstawiają strukturalne wzory chemiczne, które mają następującą postać (Olney i inni, 1974).



Kwas glutaminowy



Kwas kainowy

Kwas kainowy przypomina w budowie i działaniu kwas glutaminowy najbardziej rozpowszechniony obok kwasu asparaginowego pobudzający neuromediator aminokwasowy w centralnym systemie nerwowym ssaków (Watkins i Evans, 1981; Fagg i Foster, 1983).

Biochemiczne, elektrofizjologiczne i autoradiograficzne dowody wskazują, iż w działaniu pobudzających aminokwasów w mózgu kręgowców pośredniczą trzy różne typy receptorów nazwane kwiskwalinowymi, N-metylo-D-asparaginowymi i kainowymi w zależności od substancji pobudzających (ago-

nistów) najsilniej z nimi reagujących (Watkins i Evans, 1981; Greenamyre i inni, 1985).

Jeśli chodzi o wpływ kwasu kainowego na komórki centralnego systemu nerwowego, to można wyróżnić dwa nurty badań. Pierwszy dotyczył badań histologicznych, drugi zaś biochemicznych.

Intensywny etap badań histologicznych rozpoczął się od 1974 roku kiedy to Olney i wsp. wykazali zmiany degeneracyjne neuronów jądra łukowatego podwzgórza myszy po ogólnoustrojowym podaniu kwasu kainowego (Olney i inni, 1974).

W toku dalszych badań liczni autorzy stwierdzili, że zarówno ogólnoustrojowe, dokomorowe, jak i domózgowe iniekcje tego kwasu powodują selektywną degenerację, a także wyraźne zmiany biochemiczne w wielu strukturach mózgu u różnych gatunków kręgowców. Neurotoksyczne efekty kwasu kainowego stwierdzono między innymi w hipokampie, siatkówce oka, substancji czarnej, mózdzku, prążkowie, ciele migdałowatym, podwzgórzu, wzgórzu i korze mózgu (McGeer i McGeer, 1981; Motles i inni, 1985). Selektywne działanie tego kwasu obserwowano w różnych neuronach tych struktur. Na przykład w hipokampie, obserwowano, że największe uszkodzenia dotyczą komórek piramidowych pól CA3 i CA1, natomiast neurony obszaru CA2 i komórki ziarniste zwoju zębatego wykazywały znacznie niższą wrażliwość na działanie kwasu kainowego (Nadler i inni, 1978). Podobne efekty wykazano w mózdzku, gdzie szybkiej degeneracji uległy komórki Purkinjego, komórki koszyczkowe, gwiazdziste i komórki Golgi II, a więc neurony otrzymujące synaptyczny impuls z komórek ziarnistych, których kwas kainowy nie uszkadzał (Herdon i Coyle, 1977).

Na podkreślenie zasługuje także fakt, iż kwas kainowy powoduje uszkodzenia neuronów nie tylko w miejscach jego podania do mózgu, ale także w odległych strukturach. Ponadto kwas ten oprócz zmian degeneracyjnych komórek nerwowych powoduje również zmiany morfologiczne komórek glejowych (Murabe i inni, 1981), a także wywiera wpływ na ich metabolizm (Krespan i Nicklas, 1982).

Z drugiej strony istnieją liczne opracowania dotyczące zmian biochemicznych w różnych strukturach mózgu w wyniku działania tego analogu kwasu glutaminowego. Wykazano, że kwas kainowy po podaniu do prążkowie

szczura niszczy tam neurony cholinergiczne, gabaergiczne (zawierające kwas γ - aminomasłowy, który jest najważniejszym z hamujących neuro-mediatorów w mózgu) oraz neurony zawierające neuropeptyd zwany substancją P. Zmiany te wywołują biochemiczny zwierzęcy model płasawicy Huntingtona z wyraźnym obniżeniem się koncentracji enzymów biorących udział w syntezie neuromediatorów, a mianowicie acetylotransferazy cholinowej i dekarboksylazy kwasu glutaminowego (Coyle i Schwarcz, 1976; McGeer i McGeer, 1976). Z kolei Nicklas i wsp. (1979) stwierdzili, iż w homogenatach prądkowia po iniekcji tego kwasu występuje istotne obniżenie zawartości kwasu glutaminowego, asparaginowego i γ - aminomasłowego, a także wyraźne obniżenie aktywności dehydrogenazy kwasu glutaminowego, aminotransferazy kwasu asparaginowego, transaminazy kwasu γ - aminomasłowego i dehydrogenazy mleczanowej.

W innych badaniach wykazano również, że dokomorowe i domózgowe podanie kwasu kainowego wywiera istotny wpływ na aktywność układów neurotransmisyjnych mózgu (Kleinrok i Turski, 1981), hamuje wychwyt kwasu glutaminowego i asparaginowego przez skrawki mózgu i synaptosomy (Pastuszko i inni, 1984), obniża aktywność γ -glutamylotranspeptydazy (Lisy i Murphy, 1984) oraz powoduje wyraźne zmiany zawartości jonów Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , i Ca^{2+} w tkance mózgowej (Korf i Postema, 1984; Sztriha i inni, 1985).

Mechanizm działania kwasu kainowego

Mechanizm neurotoksycznego działania kwasu kainowego jest przedmiotem licznych badań i rozmaite hipotezy są proponowane dla wyjaśnienia jego działania (Olney i inni, 1974; Coyle i inni, 1981; Coyle, 1983; Pastuszko i inni, 1984).

Hipoteza zaproponowana przez Olney i wsp. w 1971 roku (określana jako "excitotoxic hypothesis") zakłada, że neurotoksyczny efekt pobudzających aminokwasów związany jest z przedłużoną depolaryzacją neuronów. Podobnie przyjmuje się, iż neurotoksyczne działanie kwasu kainowego jest konsekwencją przedłużonego otwarcia kanałów jonowych, co prowadzi do depolaryzacji a w ostatecznym efekcie do degeneracji neuronów. Zachwia-

nie równowagi jonowej i zakłócenie metabolizmu neuronów przypuszczalnie prowadzi do zaburzeń komórkowej homeostazy, a w rezultacie do degeneracji neuronów.

Poparciem dla pobudzających hipotez jest mechanizm wakuolizacji neuronów wywołany działaniem kwasu kainowego. Kleinschmidt i inni, (1986) sugerują, że w siatkówce oka kwas kainowy wiąże się ze specyficznymi membranowymi receptorami, zlokalizowanymi przede wszystkim w dendrytach horyzontalnych komórek i powoduje przedłużone otwarcie kanałów dla wybiórczych kationów w tych membranach, co prowadzi do depolaryzacji i do dużego napływu jonów sodowych do tych neuronów przy równoczesnej utracie jonów potasowych. Ponadto przedłużona depolaryzacja także powoduje wnikanie jonów chlorkowych do tych neuronów, co prowadzi do wzrostu ciśnienia osmotycznego i w konsekwencji wystąpienia obrzęku. Degeneracja komórek może następować jako wynik jonowych zmian wewnątrzkomórkowych albo obrzęku lub obu tych czynników.

Z drugiej strony nie ulega wątpliwości, że neurotoksyczność kwasu kainowego jest wynikiem jego specyficznego działania receptorowego.

Ogólnie przyjmuje się, iż strukturalne podobieństwo pomiędzy kwasem kainowym i L-glutaminowym i wykrycie, że kwas glutaminowy sam jest neurotoksyczny (Lucas i Newhouse, 1957; Olney i inni, 1971) sugeruje, że te receptory są L-glutaminowymi receptorami albo że kwas kainowy oddziałuje w inny sposób na glutaminergiczną neurotransmisję.

Jako możliwe sposoby działania kwasu kainowego wyróżnia się między innymi:

1. Kwas kainowy, który jest agonistą dla klasy postsynaptycznych i pozasynaptycznych L-glutaminowych receptorów i działa bezpośrednio na te receptory (Olney, 1978).

2. Neurotoksyczność kwasu kainowego jest wynikiem interakcji tego kwasu z kwasem glutaminowym i polega na pobudzaniu L-glutaminowych receptorów (Biziere i Coyle, 1978).

3. Kwas kainowy działa na presynaptyczne glutaminergiczne zakończenia nerwowe i powoduje uwolnienie kwasu glutaminowego z tych zakończeń, którego ilość wyzwała właściwości neurotoksyczne (McGeer i McGeer, 1978).

W świetle powyższych danych inną możliwość neurotoksycznego działania kwasu kainowego sugerują Pastuszko i wsp. (1984), którzy stwierdzili, że kwas ten wywiera wpływ na receptory glutaminowe i stymuluje wychwyt jonów Ca^{2+} przez synaptosomy mózgu, powodując otwieranie kanałów wapniowych. Dochodzi wówczas do wzrostu wewnątrzkomórkowej akumulacji wapnia, co uważa się za główny czynnik zmian degeneracyjnych neuronów (Korf i Postema, 1984; Sztriha i inni, 1985).

W ostatnich latach dla wyjaśnienia mechanizmu działania kwasu kainowego coraz więcej uwagi poświęca się receptorom kainowym. Chociaż należy zaznaczyć, że biochemiczna i fizjologiczna funkcja tych receptorów w mózgu nie jest jasna i precyzyjna. Brak jest bowiem jednoznacznych danych wskazujących, czy receptory kainowe reprezentują specyficzny typ receptorów, czy należą do nich różne znane w mózgu rodzaje receptorów, na które oddziałuje kwas kainowy.

Ogólnie przyjmuje się, iż w mózgu membranowe receptory kainowe są ściśle zlokalizowane w synaptycznym zakończeniu, co wskazuje, że są one receptorami synaptycznymi (Foster i inni, 1981). W związku z tym sugeruje się, że receptory kainowe odgrywają istotną rolę w transmisji i modulacji synaptycznej, a także w uwalnianiu różnych neurotransmiterów (za Henley i Oswald, 1988).

Wydaje się, iż dokładne poznanie fizjologicznej roli receptorów kainowych pozwoli odpowiedzieć na wiele nie rozwiązanych i dotychczas nie w pełni wyjaśnionych problemów dotyczących mechanizmu neurotoksycznego działania kwasu kainowego.

Literatura

- Biziere K., Coyle J. T., 1978. Influence of cortico-striatal afferents on striatal kainic acid neurotoxicity. *Neurosci. Lett.*, 8, 303-310.
- Coyle J. T., 1983. Neurotoxic action of kainic acid. *J. Neurochem.*, 41, 1-11.
- Coyle J. T., Schwarcz R., 1976. Lesion of striatal neurons with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. *Nature (Lond.)*, 263, 244-246.

- Coyle J. T., Bird S. J., Evans R. H., Gulley R. L., Nadler V., Nicklas W., Olney J. W., 1981. Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity and mechanism action, *Neurosci. Res. Bull.*, 19, 337-427.
- Fagg W. C., Foster A. C., 1983. Amino acid neurotransmitters and their pathway in the mammalian central nervous system. *Neuroscience.*, 9, 701-719.
- Foster A. C., Mena E. E., Monaghan D. T., Cotman C. W., 1981. Synaptic localization of kainic acid binding sites. *Nature (Lond.)*, 289, 73-75.
- Greenamyre J. T., Olson J. M. M., Penney I. B., Young A. B., 1985. Autoradiographic characterization of N-methyl-D-aspartate, quisqualate and kainate-sensitive glutamate binding sites *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 233, 254-263.
- Henley J. M., Oswald R. E., 1988. Solubilization and characterization of kainate receptors from goldfish brain. *Biochim. Biophys. Acta.*, 937, 103-111.
- Herndon R. M., Coyle J. T., 1977. Selective destruction of neurons by a transmitter agonist. *Science.*, 198, 71-72.
- Kleinrok Z., Turski L., 1981. Biochemical consequences of kainic acid injection into the lateral brain ventricle in rat. *Acta Biochemica Polonica.*, 28, 111-122.
- Kleinschmidt J., Zucker C. L., Yazulla S., 1986. Neurotoxic action of kainic acid in the isolated toad and goldfish retina: II. Mechanism of action. *J. Com. Neurol.*, 254, 196-208.
- Kohler C., Schwarcz R., 1983. Comparison of ibotenate and kainate neurotoxicity in rat brain: A histological study. *Neurosci.*, 8, 819-835.
- Korf J., Postema F., 1984. Regional calcium accumulation and cation shifts in rat brain by kainate. *J. Neurochem.*, 43, 1052-1061.
- Krammer E. B., 1980. Anterograde and transsynaptic degeneration "en cascade" in basal ganglia induced by intrastriatal injection of kainic acid: an animal analogue of Huntington's disease. *Brain Res.*, 196, 209-221.

- Krespan B., Berl S., Nicklas W. J., 1982. Alteration in neuronal-glial metabolism of glutamate by the neurotoxin kainic acid. *J. Neurochem.*, 38, 509-518.
- Lisy V., Murphy S., 1984. γ -glutamyl transpeptidase activity can be altered by kainic acid and related compounds. *Physiol. bohemoslav.* 33, 17-22.
- Lucas D. R., Newhouse J. P., 1957. The toxic effects of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *Arch. Ophthalmol.*, 58, 193-201.
- McGeer E. G., McGeer P. L., 1976. Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injections of glutamic and kainic acids. *Nautre (Lond.)*, 263, 517-519.
- McGeer E. G., McGeer P. L., 1978. Some factors influencing the neurotoxicity of intrastriatal injections of kainic acid. *Neurochem. Res.*, 3, 501-517.
- McGeer P. L., McGeer E. G., 1981. Kainate as a selective lesioning agent. In: Roberts P. J., Storm-Mathesen J., Johnston G. A. R., eds. "Glutamate: Transmitter in the central nervous system". J. Wiley, Sons, London, pp., 55-75.
- Motles E., Cury M., Gonzalez M., Glisser E., 1985. Morpho-functional effects of kainic acid injection into the cats pulvinar lateralis posterior nucleus complex. *Arch. Ital. Biol.*, 123, 269-281.
- Murabe Y., Iyata Y., Sano Y., 1981. Morphological studies on neuroglia. II. Response of glial cells to kainic acid-induced lesions. *Cell. Tissue Res.*, 216, 569-580.
- Murakami S., Takemoto T., Shimizu Z., Daigo R., 1953. Effective principle of *Digenea simplex*. III. Treatment of ascariasis. *Jap. J. Pharmacol.*, 25, 571-574.
- Nadler J. V., Perry B. W., Cotman C. W., 1978. Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature (Lond.)*, 271, 676-677.
- Nicklas W. J., Munez R., Berl S., Duvsin R. 1979. Neuronal-glial contributions to transmitter amino acid metabolism studies with kainic acid-induced lesions of rat striatum. *J. Neurochem.*, 33, 839-844.

- Oderfeld-Nowak B., 1977. Wpływ niektórych uszkodzeń mózgu na mechanizmy cholinergiczne hipokampa. *Post. Biochem.*, 23, 579-618.
- Olney J. W., Ho O-L., Rhee V., 1971. Cytotoxic effects of acidic and sulphur containing amino acids on the infant mouse central nervous system. *Exp. Brain Res.*, 14, 61-67.
- Olney J. W., 1978. Neurotoxicity of excitatory amino acid. In McGeer E. G., Olney J. W., McGeer P. L., (eds.), *Kainic acid as a tool in Neurobiology*. New York: Raven Press, pp. 201-218.
- Olney J. W., Rhee B., Ho O-L., 1974. Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res.*, 77, 507-512.
- Pastuszko A., Wilson D. F., Erecińska T., 1984. Effects of kainic acid in rat brain synaptosomes: the involvement of calcium. *J. Neurochem.*, 43, 747-754.
- Price M. T., Olney J. W., Cicero T. J., 1978. Acute elevations of serum luteinizing hormone induced by kainic acid, N-methyl aspartic acid or homocysteic acid. *Neuroendocrinol.*, 26, 352-358.
- Sztriha L., Joo F., Szerdahelyi P., 1985. Accumulation of calcium in the rat hippocampus during kainic acid seizures. *Brain Res.*, 360, 51-57.
- Watkins J. C., Evans R. H., 1981. Excitatory amino acid transmitters. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 21, 165-204.

AN ATTEMPT OF INTERPRETATION OF KAINIC ACID NEUROTOXIC ACTION

In the present article the methods of selective injuring of separated brain structures are presented. The neuroexcitatory and neurotoxic influence of kainic acid is pressed. The attention is paid to the selective degeneration of neurons in brain structures caused by this analog of glutamic acid as a result of the specific receptoring action. Furthermore the previous hypotheses concerning the mechanism of the neuroexcitatory and neurotoxic action of kainic acid are discussed.

Вальдемар Шарома

Попытка интерпретации нейротоксического
влияния каиновой кислоты

Резюме

В этой работе представлены методы селективного повреждения отдельных структур мозга. Были подчеркнуты свойства нейростимулирующего, а также нейротоксического влияния каиновой кислоты. Было обращено внимание на селективную дегенерацию нейронов в структурах мозга этим аналогом глутаминовой кислоты как итог специфического рецепторного действия. Кроме того обсуждались полученные до сих пор гипотезы, касающиеся нейростимулирующего нейротоксического влияния каиновой кислоты.