

адгезивные свойства штаммов стафилококков и эшерихий. Установлено, что на адгезию *S. aureus* и *E. coli* существенно влияют соответствующие минимальные бактериостатические и бактерицидные концентрации декаметоксина® (0,48–1,90 мкг/мл; 1,90–15,20 мкг/мл); ауридексана та горостена® (0,96–7,60 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл); декасана® (1,90–3,80 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл), которые могут обеспечить надежный профилактический и лечебный эффект.

Ключевые слова: адгезия, стафилококки, эшерихии, декаметоксин®, ауридексан, горостен®, декасан®.

Стаття надійшла 4.09.2015 р.

Staphylococcus and *Escherichia*. It was found, that minimal bacterial inhibitory and cidal concentrations of decamethoxin® (0,48–1,90 мкг/мл; 1,90–15,20 мкг/мл); auridexan and horosten® (0,96–7,60 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл); decasan® (1,90–3,80 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл) influence on adhesion of *S. aureus* and *E. coli*, though these medicines can provide reliable prophylactic and therapeutic effect.

Key words: adhesion, *Staphylococcus*, *Escherichia*, decamethoxin®, auridexan, horosten®, decasan®.

Рецензент Лобань Г.А.

УДК 547.495.9: 615.225: 661.982

С. В. Горбачева, И. Ф. Белевич
Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье

ПОКАЗАТЕЛИ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ И НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА В НЕЙРОНАХ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ IN VITRO И НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ NOS РАЗЛИЧНОЙ СЕЛЕКТИВНОСТИ

Анализ результатов показал наличие слабо выраженного эффекта в отношении ограничения NO-зависимых механизмов нейродеструкции у используемых ингибиторов NO-синтазы, который проявлялся только на начальных этапах развития глутаматной эксайтотоксичности. Внесение в инкубационную среду N-пропил-L-аргинина вызывало существенное снижение проявлений нитрозативного стресса и его эффект был более продолжительным. Полученные данные указывают на ограниченное значение нейрональной изоформы NO-синтазы в реакциях глутамат-кальциевого каскада. Более существенная роль в патобиохимических реакциях в данных условиях принадлежит индуцибельному изоферменту, ингибиторы которого целесообразно применять в восстановительном периоде церебральной ишемии.

Ключевые слова: ингибиторы NO-синтазы, тиол-дисульфидная система, нитрозативный стресс, глутаматная эксайтотоксичность

Работа является фрагментом НИР «Молекулярно-биохимические механизмы формирования митохондриальной дисфункции нейронов головного мозга в условиях острой церебральной ишемии: новые мишени для нейропротекции» (№ гос. регистрации 0113, шифр U000797).

Последствия циркуляторной ишемии мозга, степень ее повреждающего действия зависят от степени тяжести и длительности снижения церебральной гемодинамики. Основным патобиохимическим процессом, который разворачивается на фоне гипоксии ткани головного мозга, является глутамат-кальциевый каскад, разворачивающийся в первые минуты и часы сосудистого инцидента. Активные формы кислорода (АФК) образуются на всех этапах глутамат-кальциевого каскада, но большинство исследователей ведущую роль в индукции АФК при ишемии мозга отводят глутамат- и аспартатергическим системам. Так, активация NMDA-рецепторов на постсинаптической мембране глутаматергического синапса приводит к увеличению внутриклеточного Ca²⁺ и продукции АФК (супероксидрадикала, гидроксилрадикала, NO-радикала). В этих нейронах происходит активация Ca-зависимой нейрональной NO-синтазы, что приводит, во-первых, к гиперпродукции NO, а во-вторых, в условиях дефицита субстрата NO-синтазы – L-аргинина – к образованию супероксид-радикала и гидроксил-радикала. При взаимодействии супероксид-радикала и NO образуется более агрессивная молекула – пероксинитрит (ONOO–), который вызывает повреждение макромолекул [2].

Более существенная роль в образовании NO и ONOO– в условиях нейродеструкции принадлежит индуцибельной NO-синтазе, которая менее зависима от Ca²⁺ и экспрессируется в глиальных клетках под действием различных цитокинов (IL-1β, TNF-α, HIF-1) и регулируется факторами транскрипции (NFκB, JNK). Усиление образования АФК в ишемизированном мозге происходит при снижении функциональной активности антиоксидантной системы нейрона [12]. Наибольшее значение в защите нейрона в условиях ишемии имеет супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионредуктаза, соединения, которые содержат тиольные группы (цистеин, метионин и цистин), а также гистидиносодержащие дипептиды (карнозин, анзерин, гомокарнозин) [3]. Наиболее легко окисляются АФК сульфгидрильные группы в цистеине и метионине с образованием сульфоновых и дисульфидных групп. Этот вид модификации является обратимым и его обращение зависит от энергетического потенциала клетки и наличия в ней восстановленных

форм глутатиона, тиоредоксина. Таким образом, предотвращение усиленной синтеза оксида азота и его активных цитотоксических дериватов в условиях ишемического повреждения ткани мозга, может вызвать нормализацию состояния антиоксидантной системы и прервать патобиохимические реакции, приводящие к гибели нейронов [6].

Целью работы было изучение влияния ингибиторов NO-синтазы на состояние антиоксидантной системы, в частности системы глутатиона, при моделировании глутаматной эксайтотоксичности *in vitro*.

Материал и методы исследования. Исследования проведены в соответствии с Директивой Европейского Союза 2010/10/63 EU относительно экспериментов над животными. Для исследований *in vitro* нейроны выделяли из коры головного мозга 10-дневных крысят линии Вистар. Для получения нейронов животных декапитировали и быстро извлекали мозг. Кору головного мозга отделяли от белого вещества, измельчали и переносили в раствор, содержащий 7,5% поливинилпирролидона (ПВП), 1% бычьего сывороточного альбумина (БСА) и 10 ммоль/л CaCl₂. Полученную суспензию фильтровали под незначительным давлением для уменьшения потери нейрональных клеток. Для грубой очистки использовали тefлоновую воронку с двумя тefлоновыми ситами – 258 мкм и 82 мкм. Последующее фильтрование проводили через металлическое сито с диаметром пор 58 мкм. После последовательного пропускания через сита клеточную суспензию наслаивали на градиент, состоящий из 30% фиккола, 1,2 М и 1,65 М сахарозы. Центрифугирование проводили при 60000g в течение 15 мин (при t 10°C) в рефрижераторной центрифуге SIGMA 3-30K. В результате центрифугирования получали два слоя и плотный осадок. Верхний слой был представлен остатками миелиновых оболочек, второй слой состоял из глиальных и нейрональных клеток. В исследованиях использовали осадок, который был представлен телами нейронов со степенью чистоты 90%. Выделенные нейрональные клетки отмывали от сахарозы и альбумина охлажденным физиологическим раствором (температура раствора +40C) и ресуспендировали в 0,25M сахарозе [8].

Для моделирования глутаматной эксайтотоксичности в инкубационную среду вносили глутамат в дозе 100 мкмоль. После внесения в инкубационную среду иницирующего агента образцы инкубировали в течение 15, 30 и 60 мин при температуре 370C [10]. В качестве ингибиторов NO-синтазы использовали N-пропил-L-аргинина гидрохлорид (кат. № 1200) – высокоселективный ингибитор нейрональной NOS в концентрации 50 мкмоль [14] и N-нитро-L-аргинина метиловый эфир гидрохлорид – высокоэффективный ингибитор индуцибельной NOS (кат. № 0665) в концентрации 40 мкмоль [15] производства фирмы Tocris Bioscience (Великобритания), которые вносили в суспензию за 10 мин. до добавления глутамата.

Выраженность окислительного стресса в нейрональной суспензии оценивали по накоплению продуктов окислительной модификации белков – альдегидных и кетонных производных белковых молекул в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [13], а также по уровню нитротирозина, который определяли иммуноферментным методом с использованием стандартного тест-набора «Nitrotyrosine ELISA Kit» («HyCult biotechnology», Нидерланды) в соответствии с прилагаемой к набору инструкцией.

Функционирование антиоксидантных систем нейронов определяли по активности супероксиддисмутазы (СОД) и ключевых ферментов метаболизма глутатиона – глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T). Активность СОД, ГР, ГПО и Г-S-T оценивали спектрофотометрически [1]. Также определяли уровень восстановленного и окисленного глутатиона в реакции с о-фталевым ангидридом [10]. Уровень нитритов определяли спектрофотометрически с реактивом Грисса [4].

Результаты исследования обработаны с использованием статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5), а также «Microsoft Excel 2010». Статистическую обработку проводили с применением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия с уровнем значимости менее 0,05 (95%) [9].

Результаты исследования и их обсуждение. Моделирование в условиях *in vitro* глутаматной эксайтотоксичности путем внесения в инкубационную нейрональную суспензию токсических концентраций глутамата (100 мкМ) вызывало генерацию активных форм кислорода и усиленное образование оксида азота и его дериватов. Проведенные исследования показали, что начиная с ранних сроков наблюдения (на 15 минуте икубации) начинается усиленный синтез NO, стимуляция продукции которого осуществляется за счет гиперактивации нейрональной изоформы NO-синтазы. Активность обеих конститутивных изоформ (нейрональной и эндотелиальной)

прямо зависит от внутриклеточной концентрации ионов кальция, и значительно повышается при развитии глутаматной эксайтотоксичности, которая вызывает усиленный приток Ca^{2+} внутрь клетки [17]. Синтезированный NO взаимодействует с алифатическими и ароматическими аминами с образованием N-нитроаминов, о чем свидетельствует повышение содержания нитротирозина (табл. 1). Так, содержание нитритов повышалось на 51,8% на 30 минуте наблюдения, достигая превышения исходных значений в 2,6 раз к концу наблюдения (табл. 1).

Таблица 1

Состояние антиоксидантной системы при моделировании глутаматной эксайтотоксичности in vitro (M±m)

Показатели	Интактная суспензия			Суспензия с внесением глутамата (100 мкМ) (контроль)		
	15 мин	30 мин	60 мин	15 мин	30 мин	60 мин
АФГ, у.е./мг/белка	4,73 ± 0,64	5,13 ± 0,88	5,19 ± 2,09	5,5±0,28	8,9± 0,38*	11,4± 0,36*
КФГ, у.е./мг/белка	2,29 ± 0,38	2,36 ± 0,43	2,82 ± 0,45	2,0±0,14	4,9± 0,18*	6,2± 0,26*
НО- 2, мкмоль/л	5,4 ± 0,21	5,4 ± 0,28	5,5± 0,22	6,1±0,18	8,2 ± 0,22*	14,3± 0,28*
Нитротирозин, нмоль/г белка	9,65 ± 2,01	10,69 ± 2,23	11,15 ± 2,18	8,0±0,46	16,2± 0,39*	18,5± 0,27*
СОД у.е./ (мг белка*мин)	147,3 ± 9,2	145,9 ± 8,4	144,7±8,7	140,8± 7,7	124,3± 7,6*	90,7± 4,8*
глут. восст., мкм/г белка	3,77 ± 0,48	3,83 ± 0,28	3,68 ± 0,34	3,9±0,11	2,8± 0,16*	1,27± 0,11*
глут. окисл., мкм/г белка	0,130 ± 0,032	0,135±0,022	0,148 ± 0,024	0,16± 0,024	0,24± 0,05*	0,49±0,016*
Г-S-T, ммоль/(мин* г белка)	28,05 ± 3,98	27,25 ± 3,87	26,20 ± 3,07	30,2± 1,25	24,7± 1,2	16,4± 1,27*
ГР, ммоль/(мин* г белка)	13,06 ± 2,08	11,99 ± 2,38	12,03 ± 2,05	14,2± 0,22	11,1± 0,39	6,9± 0,39*
ГПО, ммоль/(мин* г белка)	15,3 ± 0,27	15,2 ± 0,32	15,1 ± 0,29	17,5± 0,18	13,9± 0,24	9,6± 0,23*

Примечание: * - $p \leq 0,001$ относительно интактной суспензии.

Схожие данные получены и для уровня нитротирозина, концентрация на 52,3% была выше исходных значений на 60 минуте наблюдения. Параллельно с формированием нитрозативного стресса отмечалось нарушение функционирования антиоксидантной системы, что проявлялось в накоплении свободных радикалов, и как следствие, увеличение уровня продуктов окислительной модификации белковых молекул. Повышение содержания альдегидных и кетонных производных белков регистрировалось на 30 минуте - на 20,4 и 22,9% соответственно, относительно значений контрольной суспензии (табл.1). Окислительной модификации в данных условиях поддаются и клеточные ферменты. Нами на 60 минуте наблюдения отмечалось снижение на 37,3% активности СОД, которая играет ключевую роль в обезвреживании образующегося супероксид-радикала, накапливающегося в тканях в большом количестве. При этом некоторая часть синтезированного NO, связываясь с высокотоксичным супероксид-радикалом, образует молекулу пероксинитрита. При этом, во-первых, накапливаются значительные количества чрезвычайно нейротоксичного ONOO-, а во-вторых значительно снижается биодоступность NO [7].

Нитриты взаимодействуют с цистеином с образованием S-нитрозоцистеина и с глутатионом с образованием S-нитроглутатиона. S-нитроглутатион является основной транспортной молекулой переноса NO [2]. Некоторыми исследованиями установлено, что транспорт NO происходит с образованием N_2O_3 , который затем нитрозилирует тиолы, еще более истощая запасы глутатиона и смещая тиол-дисульфидное равновесие, что нашло свое подтверждение в наших исследованиях [5, 11]. Из табл. 1 видно, что накопление окисленного глутатиона – в 3,3 раза относительно контрольной серии, происходило на фоне снижения его восстановленной формы в 2,9 раза и торможения активности ферментов его метаболизма. Так, активность ГР была снижена на 42,6%, Г-S-T – на 37,4%, а ГПО – на 36,4% на 60 минуте наблюдения. Снижение активности ГПО, которая обеспечивает расщепление нитрозотиолов с высвобождением NO, является одной из причин повышения их концентрации, а также фактором дополнительного снижения биодоступности оксида азота.

Введение в инкубационную нейрональную среду ингибиторов NO-синтазы способствовало снижению накопления NO и его цитотоксичных дериватов на 30 минуте наблюдения, что вызывало некоторое ограничение патобиохимических реакций формирования нитрозативного и окислительного стресса (табл.2).

Влияние ингибиторов NO-синтазы на состояние антиоксидантной системы при моделировании глутаматной эксайтотоксичности in vitro (M±m)

Показатели	Суспензия с внесением глутамата (100 мкМ) и N-нитро-L-аргинина (40 мкМ)			Суспензия с внесением глутамата (100 мкМ) и N-пропил-L-аргинина (50 мкМ)		
	15 мин	30 мин	60 мин	15 мин	30 мин	60 мин
АФГ, у.е./мг белка	5,6 ± 0,15	6,0 ± 0,24	7,2 ± 0,23	5,5 ± 0,18	5,7 ± 0,14#	7,0 ± 0,16#
КФГ, у.е./мг белка	2,0 ± 0,14	2,5 ± 0,17	7,4 ± 0,11	2,0 ± 0,21	2,1 ± 0,13#	6,5 ± 0,28
NO- 2, мкмоль/л	6,15 ± 0,16	6,87 ± 0,22#	14,2 ± 0,35	6,1 ± 0,26	6,44 ± 0,28#	13,5 ± 0,42
Нитротирозин, нмоль/мг белка	8,1 ± 0,25	13,6 ± 0,32#	17,3 ± 0,47	8,1 ± 0,31	12,6 ± 0,33#	16,8 ± 0,86
СОД у.е./мг белка*мин	139,4 ± 3,8	133,7 ± 3,7	92,6 ± 3,3	141,6 ± 4,6	138,2 ± 4,2	96,7 ± 4,5
глут. восст., мкМ/мг белка	3,8 ± 0,11	3,1 ± 0,08	1,3 ± 0,09	3,9 ± 0,2	3,3 ± 0,09	1,4 ± 0,1
глут. окисл., мкМ/мг/белка	0,17 ± 0,09	0,22 ± 0,05	0,48 ± 0,02	0,15 ± 0,04	0,2 ± 0,08	0,44 ± 0,05
G-S-T., ммоль/(мин* г белка)	29,6 ± 0,55	24,9 ± 0,66	16,6 ± 0,97	32,1 ± 0,71	24,5 ± 0,84	18,1 ± 0,27
ГР, ммоль/(мин* г белка)	14,2 ± 0,23	11,4 ± 0,37	7,4 ± 0,25	14,1 ± 0,3	11,8 ± 0,31	7,7 ± 0,23
ГПО, ммоль/(мин* г белка)	16,4 ± 0,2	14,3 ± 0,39	9,9 ± 0,17	17,2 ± 0,24	14,5 ± 0,35	10,6 ± 0,21

Примечание: * - # - p ≤ 0,05 относительно контрольной суспензии.

Использование в качестве ингибитора N-нитро-L-аргинина оказывало положительный эффект в отношении исследуемых показателей лишь на 30 минуте наблюдения. Так, под действием этого соединения на 16,2% снижался уровень стабильных метаболитов оксида азота и на 16% содержание нитротирозина, что указывает на ингибирование нейрональной изоформы NO-синтазы и ограничение развития нитрозативного стресса. В подтверждение этому нами отмечено торможение окислительной модификации белковых молекул – содержание альдегидфенилгидразонов (АФГ) на 36,8% и кетонфенилгидразонов (КФГ) на 19,3%. Однако при дальнейшем наблюдении указанные эффекты снижаются. В конце наблюдения указанное соединение не проявляло выраженной ингибирующей активности в отношении нейрональной NO-синтазы, на что указывает отсутствие статистически значимых отличий с показателями контрольной нейрональной суспензии на 60 минуте (табл. 2).

Внесение в инкубационную среду N-пропил-L-аргинина вызывало существенное снижение проявлений нитрозативного стресса и его эффект был более продолжительным. Указанное соединение также проявляло активность на 30 минуте наблюдения, на что указывает снижение NO-2 на 21,5%; нитротирозина на 22,2%; АФГ на 35,9%; КФГ на 57,1%. Содержание окисленного глутатиона в данной экспериментальной серии снижалось на 16,7%. На поздних сроках наблюдения в данной серии отмечено повышение уровня всех маркеров нитрозативного и оксидативного стресса, однако, полученные значения были ниже показателей серии с добавлением N-нитро-L-аргинина, что указывает на более пролонгированный эффект N-пропил-L-аргинина в отношении исследуемых показателей.

Результаты проведенных опытов in vitro на выделенной нейрональной суспензии показали наличие эффекта в отношении ограничения NO-зависимых механизмов нейродеструкции у обоих используемых соединений. Однако он проявлялся лишь на ранних сроках наблюдения. По выраженности и продолжительности действия лидировал N-пропил-L-аргинин, что согласуется с данными зарубежных авторов [16, 17].

Заключение

Анализ полученных данных указывает на ограниченную роль нейрональной изоформы NO-синтазы в условиях глутаматной эксайтотоксичности. По-видимому, основная роль в гиперпродукции оксида азота принадлежит индуцибельной изоформе, которая активируется на более поздних этапах за счет воспалительных реакций в клетках нейроглии. Таким образом, применение ингибиторов нейрональной изоформы NO-синтазы не является целесообразным для тушения реакций NO-зависимых нейродеструктивных процессов. Более существенная роль в патобиохимических реакциях в данных условиях принадлежит индуцибельному изоферменту, ингибиторы которого целесообразно применять в восстановительном периоде церебральной ишемии.

Перспективы дальнейших исследований. Учитывая все выше изложенное, перспективным направлением в области изучения возможных механизмов коррекции патобиохимических процессов при глутаматной эксайтотоксичности, является поиск эффективных ингибиторов индуцибельной изоформы NO-синтазы и изучение их эффективности на различных экспериментальных моделях нарушения мозгового кровообращения.

Список літератури

1. Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. / В.С. Асатиани // – М.: «Наука», - 1969. – 739 с.
2. Беленичев И. Ф. Нейропротекция и нейропластичность / И.Ф. Беленичев, В.И. Черний, Е.А. Нагорна [и др.] //– Киев: Логос, - 2015. – 512 с.
3. Вахидова Н. Т. Активность ферментов антиоксидантной системы организма при хронической внутриутробной гипоксии и реоксигенации в эксперименте / Н. Т. Вахидова, З. Р. Хайбуллина // Молодой ученый. - 2010. - №10. - С. 327 – 332.
4. Горбунов Н. В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитными глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток- зерен мозжечка / Н.В. Горбунов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. - №7. – С. 40–48.
5. Горбачева С. В. Антиоксидантная модуляция нейроапоптоза в условиях дисбаланса тиол-дисульфидной системы и накопления окисленных промежуточных соединений in vitro / С.В. Горбачева, И.Ф. Беленичев // Вісник проблем біології та медицини – 2015 - №3 – С.124 – 129.
6. Калинина Е. В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Е. В. Калинина, Н.Н. Чернов, М. Д. Новичкова //Успехи биол.наук. – 2014 – Т.54. – С. 299 – 348.
7. Малахов В. А. Оксид азота и иммунонейроэндокринная система / В. А. Малахов, В. О. Монастырский, Т. Т. Джанелидзе // Международный неврологический журнал – 2008. - №3 (19) – С. 3 – 6.
8. Прохорова М. И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / М.И. Прохорова // – Л.: Изд-во Ленинградского университета. – 1982. – 272 с.
9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва // – М., Медиасфера, - 2002, 312 с.
10. Чекман И.С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов. / И. С. Чекман, Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев // – К.: ГФЦ МОЗ Украины, - 2010. – 81 с.
11. Belenichev I. F. The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / I.F. Belenichev, S.V. Gorbacheva, N.V. Bukhtiyarova // Neurochemical Journal.- 2014.- Vol. 8, No. 1.-P. 24–27.
12. Este´vez A. G. Nitric Oxide and Superoxide Contribute to Motor Neuron Apoptosis Induced by Trophic Factor Deprivation / A. G. Este´vez, N. Spear, M. Manuel [et al.] //The Journal of Neuroscience – 1998 - № 18 (3). – P. 923–931.
13. Halliwell B. Molecular Biology of free Radicals in Human Diseases. / B. Halliwell // - London: St. Lucia: OICA, - 1999. - 410 p.
14. Klamer D. The neuronal selective nitric oxide synthase inhibitor, N-omega-propyl-L-arginine, blocks the effects of phencyclidine on prepulse inhibition and locomotor activity in mice / D. Klamer // Eur. J. Pharmacol. – 2004 – Vol. 503, No103. – P. 358 – 364.
15. Moore W.M. L-N6-(1-Iminoethyl)lysine: A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase / W.M. Moore, R.K. Webber, G.M. Jerome [et al.] //J Med Chem. – 1994. - No37. – P. 3886 – 3888.
16. Shibuta S. The neuroprotective effect of ONO-1714 on NMDA-mediated cytotoxicity in vitro / S. Shibuta, S. Varathan, T. Mashimo //Journal of the Neurological Sciences – 2003. – Vol. 215. – P. 31– 36.
17. Viteček J. Arginine-Based Inhibitors of Nitric Oxide Synthase: Therapeutic Potential and Challenges / J. Viteček, A. Lojek, G. Valacchi [et al.] // Mediators of Inflammation – 2012 – Vol. 2012 – P. 2541 – 2563.

Реферати

ПОКАЗНИКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ І НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ В НЕЙРОНАХ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ IN VITRO І НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРІВ NOS РІЗНОЇ СЕЛЕКТИВНОСТІ

Горбачова С. В., Беленичев І. Ф.

Отримані результати свідчать про наявність слабо вираженого ефекту щодо обмеження NO-залежних механізмів нейродеструкції у використуваних інгібіторів NO-синтази. Він проявлявся тільки на початкових етапах розвитку глутаматної ексайтотоксичності в умовах in vitro. Внесення до інкубаційного середовища N-пропіл-L-аргініну призводило до суттєвого зменшення проявів нітрозативного стресу, його ефект був більш тривалим. Отримані дані вказують на обмежене значення нейрональної ізоформи NO-синтази в реакціях глутамат-кальцієвого каскаду. Більш істотна роль у патобіохімічних процесах в даних умовах належить індусцибельному ізоферменту, інгібітори якого доцільно застосовувати у відновному періоді церебральній ішемії.

Ключові слова: інгібітори NO-синтази, тиол-дисульфідна система, нітрозативний стрес, глутаматна ексайтотоксичність.

CHARACTERISTICS OF THIOL-DISULFIDE SYSTEM AND NITROSATIVE STRESS IN NEURONS IN CONDITIONS OF GLUTAMATE EXCITOTOXICITY MODELING IN VITRO AS THE RESULT OF APPLICATION OF NOS INHIBITORS OF VARIOUS SELECTIVITY

Gorbacheva S. V., Belenichev I. F.

Analysis of the results showed a presence of ill-defined effect correspondingly to the limitation of NO-dependent mechanisms of neurodestruction among both using compounds which was exhibited only on the initial stages of glutamate excitotoxicity. Statistically significant differences have been observed only concerning nitrotyrosine level, stable metabolites of nitric oxide and markers of oxidized modification of protein molecules. N-Propyl-L-arginine was a leader by such characteristics as intensity and duration. The obtained data showed a limited value of neuronal isoform of NO-synthase in conditions of glutamate excitotoxicity. In the given conditions more essential role in pathobiochemical reactions belongs to an inducible isoenzyme which inhibitors are advisable to apply during the recovery period of cerebral ischemia.

Key words: NO-synthase inhibitors, thiol-disulfide system, nitrosative stress, glutamate excitotoxicity.

Стаття надійшла 4.09.2015 р.

Рецензент Єрошенко Г.А.