

**Ю. М. Колесник, И. С. Чекман*, И. Ф. Беленичев, С. В. Горбачева,
Н. А. Горчакова*, Н. В. Бухтиярова**

*Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, 69035 Запорожье
Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца МЗ Украины, 01601 Киев

ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЕ РАВНОВЕСИЕ — ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ФАКТОР РЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕЙРОНОВ К НИТРОЗИРУЮЩЕМУ СТРЕССУ В УСЛОВИЯХ ИШЕМИИ МОЗГА (обзор литературы)

Проанализированы данные литературы о механизмах повреждения нейронов при остром нарушении мозгового кровообращения и основных принципах нейропротекции. Особая роль уделяется оксиду азота и его активным метаболитам — нитрозонию, нитроксил-иону, пероксинитриту. Оксид азота способен запускать каскад патобиохимических реакций и программу гибели нейрона благодаря уникальной химической природе и большому количеству мишеней в клетке. Его физиологически активные окислительно-восстановительные формы также оказывают повреждающее действие на нейрон в условиях ишемии. Избыток NO в постишемический период взаимодействует с гемовым железом и парными тиольными группами с образованием динитрозольного комплекса железа. В результате образуются N- и S-нитрозотиолы, происходит смещение тиол-дисульфидного равновесия и развитие нитрозирующего стресса. Исходя из вышеуказанного, перспективным направлением является поиск лекарственных препаратов, которые способны регулировать систему оксида азота в условиях ишемического повреждения.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, нейропротекция, оксид азота, нитрозирующий стресс, тиольные соединения, тиол-дисульфидная система.

Сосудистые заболевания головного мозга, среди которых классифицируется ишемический инсульт, остаются важной медико-социальной проблемой. Ее значимость определяется широкой распространенностью, высокой частотой инвалидизации и смертности. По данным ВОЗ, в экономически развитых странах летальность от инсульта занимает 2-3 место в структуре общей смертности и лидирует среди всех причин инвалидизации. В странах СНГ значения

показателей инвалидизации и смертности остаются одними из самых высоких в мире [9, 36].

Выяснение механизмов гибели нейрона при различных патологиях ЦНС и их фармакологическая нейропротекция является актуальной проблемой современной нейрофармакологии, обуславливая ее интенсивное изучение во всем мире [3, 9, 41]. Накоплено большое количество данных о функциях NO. Интерес привлекает участие в механизмах острой

Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины

Ю. М. Колесник — ректор, зав. кафедрой патологической анатомии, д.м.н., профессор

Кафедра фармакологии

И. Ф. Беленичев — зав. кафедрой, д.м.н., профессор

Н. В. Бухтиярова — доцент, к.м.н.

С. В. Горбачева — доцент кафедры биохимии и клинико-лабораторной диагностики, к.б.н.

Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца МЗ Украины

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии

И. С. Чекман — зав. кафедрой, чл.-кор. НАМН Украины (chekman_ivan@yahoo.co.uk)

Н. А. Горчакова — профессор кафедры, д.м.н.

© Ю. М. Колесник, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, С. В. Горбачева, Н. А. Горчакова, Н. В. Бухтиярова, 2013.

ишемии мозга свободнорадикального соединения оксида азота (нитроксила NO^\cdot), являющегося полифункциональным физиологическим регулятором. Молекула нитроксила синтезируется в ответ на физиологическую потребность ферментом NO-синтазой (NOS) из его метаболического предшественника — аминокислоты L-аргинин. Свойство NO^\cdot вызывать биологический эффект в большой степени определяется малой величиной его молекулы, ее высокой реактивностью и способностью к диффузии в тканях, в том числе в нервной. Конститутивная NOS обуславливает усиление синтеза NO^\cdot при нарастании уровня внутриклеточных ионов кальция. Поэтому любые процессы, ведущие к накоплению ионов кальция в клетке (энергетический дефицит, изменения активного ионного транспорта, глутаматная “эксайтотоксичность”, оксидативный стресс), сопровождаются повышением уровня NO^\cdot [1, 25, 28, 48].

Как межклеточный и внутриклеточный мессенджер NO участвует в регуляции различных метаболических реакций, обеспечивающих жизнеспособность и функциональную активность клеток и всего организма в целом, но при определенных условиях он участвует в протекании патологических процессов. Такая “двуликость” NO определяется химическими свойствами молекулы и реализуется тем или иным способом в зависимости от его концентрации, времени воздействия и условий обмена в различных типах клеток и тканях организма. NO представляет собой нейтральный радикал с неспаренным электроном, имея наиболее высокий по сравнению с другими молекулами организма коэффициент диффузии (даже больше, чем у O_2 и CO_2), и беспрепятственно проникает через клеточные мембраны [14, 16, 26, 37].

Влияние NO на различные биохимические и физиологические процессы условно подразделяют на прямое и непрямое. Прямое влияние осуществляется при непосредственном взаимодействии NO с биомолекулами. Основной мишенью при этом служит гемовое железо гемоглобина, миоглобина, гуанилатциклазы, цитохрома P-450, NO-синтазы и других гемсодержащих белков. NO взаимодействует также с негемовым железом, входящим в состав железосерных белков и нуклеиновых кислот, и свободным железом (Fe^{3+}). Оксид азота ингибирует опосредуемые Fe^{3+} оксидативные реакции и тем самым проявляет антиоксидантное действие. Кроме того, NO тормозит процессы перекисного окисления липидов, препятствуя, очевидно, их распространению. Мишенями прямого действия NO являются атомы меди и цинка, входящие в состав ферментов, и высокоэнергетические свободные радикалы (радикалы с углеродным центром, липидные, диоксида азота). Прямые эффекты

NO доминируют в организме при физиологических условиях, когда эта молекула синтезируется преимущественно конститутивными формами NOS в низких количествах. При этом концентрация NO в тканях составляет 0,1-1 мкмоль, в то время как O_2^\cdot в силу высокой супероксиддисмутазной активности — меньше на три порядка. Благодаря прямому действию NO осуществляются главным образом его регуляторные и сигнальные функции [30, 34, 42].

Непрямое действие оксида азота опосредуется через его реактивные формы (RNOS), являющиеся продуктом реакции NO с O_2 , O_2^\cdot или H_2O_2 . В образовании RNOS могут принимать участие и переходные металлы. Непрямое влияние NO проявляется при увеличении его синтеза, связанного с индукцией индуцибельной NOS (iNOS), которая наблюдается при воспалительных процессах различной этиологии (при активировании фагоцитарных клеток концентрация NO возле них может достигать 10 мкмоль), и сочетается с усилением образования активных форм кислорода (АФК) [4, 10, 21]. Непрямое действие NO реализуется через S-, N- и O-нитрозирование, при котором катион нитрозония (NO^+) присоединяется к аминам, тиолам или гидроксильным группам ароматических соединений, через нитрование, осуществляемое путем присоединения нитрогруппы (NO_2) к биомолекулам (наиболее чувствительны к нитрованию ароматические кольца, в частности тирозина), а также через окисление или гидроксилирование биомолекул. Вследствие указанных реакций происходят посттрансляционные модификации белков, которые играют существенную роль в патогенезе острых и хронических заболеваний. Соотношение между перечисленными типами модификаций биосубстратов и их выраженность зависит от условий метаболизма, прежде всего окислительно-восстановительного потенциала, pH и баланса между образованием NO и АФК в клеточных компартментах [43, 53]. Эти условия обозначаются как состояние нитрозативного и оксидативного стресса. Основными реактивными формами оксида азота, которые при их избыточном синтезе *in vivo* приводят организм в состояние нитрозативного и оксидативного стресса, являются, соответственно, диазоттриоксид (N_2O_3) и пероксинитрит (ONOO^\cdot). Но между указанными состояниями нет четких границ, так как N_2O_3 , легко вступая в реакции S- и N-нитрозирования, способен при определенных условиях участвовать в окислительных реакциях, а ONOO^\cdot как сильный окислитель может осуществлять нитрование и нитрозирование биомолекул. Прямое и непрямое действие NO в клеточных компартментах происходит одно-

временно, но выражено неодинаково из-за различий в синтезе NO и O_2^- , а также потому что O_2^- в силу наличия заряда плохо диффундирует сквозь мембраны [7, 52].

Проведенные исследования показали, что при остром нарушении мозгового кровообращения (ОНМК) NO улучшает кровоснабжение мозга за счет вазодилатации, снижения агрегации тромбоцитов и пристеночной адгезии нейтрофилов, подавляет активность NMDA-рецепторов и снижает "эксайтотоксический" эффект глутамата. Однако при реперфузии преобладает повреждающий эффект NO, усугубляющий процессы разрушения умирающих нервных клеток [33].

NO обладает свойством запускать программу гибели нейрона благодаря уникальной химической природе и большому количеству мишеней в клетке, его физиологически активные окислительно-восстановительные формы запускают повреждающее действие на нейрон в условиях ишемии. Установлено непосредственное участие NO в деструкции нейрона при назначении животным с ОНМК селективных ингибиторов нейрональной и индуцибельной изоформ NOS и в опытах на животных с дефицитом гена, кодирующего синтез iNOS [1, 6]. Есть данные о росте концентрации NO в мозге животных с фокусной и глобальной ишемией [17, 35]. Она увеличивается с первых минут ишемии, достигая максимума на 1-3-и сутки. Активность NOS резко увеличивается в зоне ишемии и пенумбры, но однозначно говорить об определенном типе фермента нельзя [40].

Вместе с тем, есть сведения, что именно нейрональная NOS образует NO, который вызывает и усложняет повреждения нейронов, в то время как эндотелиальная NOS улучшает кровоснабжение в зоне ишемической полутени. Это подтверждает роль NO в повреждении и гибели нейрона и свидетельствует о специфике изоформ NOS. Кроме того, следует учитывать вид и стадию инсульта. При начальных этапах ишемии превалирует экспрессия конституционной кальцийзависимой NOS [25, 28, 44].

Гибель нервной клетки в условиях гиперпродукции NO начинается с механизмов активации фосфолипаз, гиперпродукции гидроксил-радикала, модуляции работы NMDA-рецепторов. Но в отсроченном постишемическом периоде с 7-14 сут при глобальной ишемии и с 1-3 сут при фокальной ишемии регистрируется гиперпродукция NO как результат активности индуцибельной NOS активированной глии, макрофагов и нейтрофилов [10, 13, 46]. Независимость iNOS от кальция обуславливает возможность поддержания высокой активности этого фермента длительное время. Экспрессия

данной формы при гипоксии в отличие от конституционной кальцийзависимой NOS наступает через 6 часов, что связано с более поздними сроками появления активированной астроглии, макроглии, клеток воспаления. При фокальной форме ишемии данные клетки-продуценты NO находятся в пенумбре, а при глобальной ишемии — в структурах, которые наиболее нуждаются в кислороде. В связи с этим изучение механизмов регуляции активности NOS является перспективным для разработки стратегии лечения острых нарушений мозгового кровообращения. Есть сведения о положительных результатах по ограничению гиперактивности NOS введением ингибиторов и указывается, что при этом уменьшается прогрессирование ишемии мозга [17, 25, 44].

Кроме NOS источником NO в организме тепловых являются нитритредуктазы, способные восстанавливать нитраты и нитриты. В работе В. П. Реутова и соавт. указывается о наличии в организме млекопитающих цикла оксида азота, который состоит из двух частей. Первая NO-синтазная часть осуществляется через окисление NO с образованием нитрит- и нитрат-ионов, вторая часть (нитритредуктазная) — восстановление нитрит-ионов до оксида азота [34].

Гипоксия является фактором, при котором клетки переходят на нитратно-нитритное дыхание с образованием NO. Но роль данной системы в нейропатологии изучена недостаточно: вызывают ли интерес мишени оксида азота, является ли сам NO достаточно цитотоксическим или это более характерно для его производных? [8, 26, 48].

Мало известно о том факте, почему большие дозы оксида азота не повреждают клетки, в которых образуются. Предполагается, что это обеспечивается работой фермента супероксиддисмутазы (СОД), которая инактивирует супероксид. Эти малоизученные факты свидетельствуют о необходимости расширения знаний о физиологических и биохимических свойствах NO. Установлено, что NO в нервной ткани образует активные дериваты: NO^+ , NO^- и $ONOO^-$. Установлено, что NO и продукты его превращения ($ONOO^-$, NO^+ , NO^- и N_2O_3) являются главными факторами нитрозирующего стресса. Избыток NO в постишемический период взаимодействует с гемовым железом и парными тиольными группами с образованием динитрозольного комплекса железа (DNIC). DNIC является более сильным нитрозирующим агентом в отличие от NO и взаимодействует с тиолами белков, гистидином, аспаратом, глутамином, метионином, цистеином, глутатионом. В результате образуются N- и S-нитрозотиолы. Патологическая роль DNIC в условиях ишемии также определяется тем,

что он подвергает необратимому нитрозилованию железосульфурные кластеры митохондриальных белков (НАДН-убихинооксиредуктазу, сукцинат-убихинооксиредуктазу, цис-аконитазу) [7, 14, 16]. Есть данные о способности *DNIC* значительно снижать активность СОД и ферментов, отвечающих за регуляцию тиол-дисульфидного равновесия в клетке: глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы в суспензии нейронов [49, 52].

Ион нитрозония (NO^+) повреждает нуклеофильные группы активных тиолов, амины, карбоксилазы, гидроксилы и ароматические кольца. Он образуется при неблагоприятных условиях гиперпродукции оксида азота с участием двухвалентного железа и кислорода. Известно, что NO^+ имеет восстановительные свойства, ионо- и лизитропное действие на миокард, снижает порог судорожной готовности, но при лактат-ацидозе проявляет прооксидантные свойства к тиолсодержащим белкам и аминокислотам. Внесение в суспензию нейронов донаторов NO^- снижает содержание глутатиона [40].

NO нарушает электрическую активность нейронов и угнетает активность натриевых каналов. Такая разнонаправленность NO^- может быть объяснена его различной концентрацией внутри нервной клетки. При ее повышении образуется токсичный нитрит-анион. N_2O_3 как источник NO^+ обладает свойствами нитрозилирующего агента — с алифатическими и ароматическими аминами образует N-нитроамины. Продукты их превращения являются факторами алкилирования нуклеиновых кислот и дезаминирования пуринов. При взаимодействии N_2O_3 с цистеином образуется S-нитрозоцистеин, с глутатионом — S-нитроглутатион (транспортная молекула переноса NO) [5, 7, 14, 22].

В нейронах существует механизм высвобождения NO с S-нитрозоглутатиона с участием глутамилтранспептидазы и образованием S-нитрозоцистеинилглицина как продуцента NO . В транспорте S-нитрозоглутатиона участвует цистин, который восстанавливается до цистеина. Цистеин реагирует на S-нитрозоглутатион и образует S-цистеин, участвующий в быстрой передаче информации, что обуславливает формирование адаптаций нейрона. Данные реакции контролируются глутатионредуктазой и глутатионтрансферазой. При их ингибировании происходит окислительная модификация низкомолекулярных тиолов, образование гомоцистеина, нарушение транспорта NO и его цитотоксических дериватов, которые усиливают окисление тиолов [14, 22].

Антиоксидантная система нейрона способна регулировать транспорт NO , обеспечивая устойчивость нервной ткани к нитрозирующему стрессу. В

первые минуты ишемии макрофагальный или экзогенный NO ингибирует окислительное фосфорилирование в митохондриях нейронов за счет обратного связывания с цитохром-S-оксидазой митохондрий. Угнетение электронного транспорта митохондрий приводит к накоплению супероксида и образованию пероксинитрита. Синтез пероксинитрита характерен для клеток с высокой активностью NOS и ферментов-продуцентов АФК (ксантинооксидазы, НАДН-оксиредуктазы, циклооксигеназы, липооксигеназы, ферментов электронно-транспортной цепи) [32, 40, 42].

На начальных стадиях ишемии головного мозга митохондриальная нитроредуктаза снижает уровень пероксинитрита его восстановлением с помощью НАДФН и НАДН в NO . Пероксинитрит в первую очередь повреждает ткани, содержащие тиолы, металлопротеиды, нуклеиновые кислоты, метаболитотропные трансмиттеры и липиды [16, 47].

При смещении рН в кислую сторону пероксинитрит как относительно устойчивое соединение быстро протонируется с образованием нитратаниона, гидроксилрадикала и диоксида азота. Смещение тиол-дисульфидной системы в сторону окисленных тиольных соединений, снижение восстановительного потенциала клетки и нарушение экспрессии генов обуславливают возникновение нейродеструкции. Пероксинитрит тормозит активность метаболических циклов метионина и цистеина путем угнетения главных антиоксидантных ферментов. При этом увеличивается образование гомоцистеина. Пероксинитрит взаимодействует и с метаболитотропным трансмиттером CO_2 , образуя нитрозилирующий продукт — нитрозопероксикарбонат. Пероксинитрит также вступает в реакцию с тирозином, образуя нитротирозин, подавляет активность Cu-Zn-супероксиддисмутазы в ходе нитрования ее 34-го тирозинового остатка, а связываясь с медью, изменяет ее валентность и подавляет митохондриальное дыхание [4, 14, 21].

При угнетении митохондриального дыхания происходит снижение заряда митохондрий, что инициирует апоптоз, а отсутствие глюкозы приводит к некрозу [32, 40]. Известно о прямом пути активации открытия гигантской поры оксидом азота и выхода цитохрома C, что приводит к запуску каспазного каскада. Под действием цитотоксических дериватов NO происходит экспрессия и выход в цитозоль проапоптотических белков, открытие митохондриальных пор за счет окисления или нитрозилирования тиольных групп цистеинзависимого участка белка внутренней мембраны митохондрий (АТФ/АДФ-антипортере), который после этого становится проницаемым неспецифическим каналом-порой. Это процессы нарушают главную

функцию митохондрий — образование АТФ, и вместо этого они становятся объектом непродуктивного сжигания субстратов окисления [44].

Нарушение кислородного режима, транзиттерный аутокоидоз, нарушение аккумуляции Ca^{2+} митохондриями, повреждение мембраны митохондрий АФК и NO активируют открытие пор и высвобождение апоптогенных белков из митохондрий. Пероксинитрит нитрозирует белки по остаткам тирозина и определяет функциональные последствия, подавляя фосфорилирование тирозина, нарушение передачи сигнала в клетке. Пероксинитрит нитрозирует цитохром С в митохондриях с последующим изменением его функций поддержания переноса электронов в дыхательной цепи и не способен восстанавливаться аскорбатом. Выход цитохрома С в цитоплазму дает возможность предусмотреть участие такого нитрозирования и в сигнальных процессах, кроме того это вызывает нитрозирование гуанина и разрыв цепей ДНК [6, 14].

Оксид азота и его производные оказывают выраженное влияние на экспрессию белка теплового шока *p53*. Белок *p53* подавляет рост опухолей, поддерживает целостность генома, может вызвать остановку клеточного цикла или апоптоз, индуцирует экспрессию *Bax*, *Fas*, *p53*, *AIP* и других апоптогенных белков. Это может быть одной из причин выделения активных форм кислорода и падения заряда митохондрий [18, 20, 45].

В экспериментах на культуре грушевидных нейронов мозжечка крыс получены данные о накоплении *p53* при гибели нервных клеток из-за избытка нитропруссида натрия. Предполагается, что *Bcl-2* подавляет NO-индуцированное повышение экспрессии белка *Bax*. При действии оксида азота на клетку снижается уровень внутриклеточного *Bcl-2* белка. Возможно, это происходит через каспазиндуцированное расщепление или *p53*-зависимое угнетение экспрессии этого белка [16, 27].

Проапоптотический эффект оксида азота определяется и индуцированным повышением экспрессии апоптогенных белков *шBax*. Митохондрии способны не только воспринимать апоптотический сигнал от NO, но и синтезировать его за счет наличия в них конститутивной NOS, которая локализована в митохондриальной мембране (*mNOS*). Она схожа с макрофагальной *iNOS*, но экспрессируется конститутивно. Не установлено, можно ли считать *mNOS* отдельным изоферментом, или это *iNOS*, содержащая посттрансляционные модификации. Предполагается ее участие в регуляции апоптоза за счет влияния на тиол-дисульфидное равновесие белков митохондриальной поры в реакции нитрозирования или окисления

[23, 43]. Все вышесказанное является обоснованием поиска эффективных нейропротекторных препаратов, способных предупреждать негативные процессы в нервной ткани, ингибируя цитотоксические дериваты NO, уменьшая последствия патобиохимического каскада и “нитрозирующего” стресса.

Существуют весомые доказательства того, что необратимые изменения в зоне ишемического повреждения можно затормозить с помощью нейропротекторных препаратов, которые способны снизить фокальную ишемию на молекулярном и клеточном уровнях и корректировать ее последствия [2, 11, 12, 15, 19, 31]. Перспективным направлением в создании новых препаратов являются вещества с двойным механизмом действия. Предполагается, что наилучшими из них являются вещества, которые сочетают свойства “саквендже-ра” свободных радикалов и блокатора натриевых каналов [17, 38, 39, 51]. Обобщая данные литературы, можно констатировать, что препараты с антиоксидантной природой действия имеют подтверждения своей эффективности, но чаще гипотетически. Данное направление является самым молодым и, возможно, перспективным в области нейропротекции [2, 35].

Следующим направлением нейропротекции является корректировка равновесия возбуждающей и тормозной систем в нервной ткани. Глутамат как возбуждающий нейротрансмиттер активирует постсинаптические комплексы нейронов, что способствует притоку ионов Na^+ , деполяризации ионных каналов и интенсивному поступлению Ca^{2+} в нервную клетку. Перенасыщение нейрона ионами кальция приводит к активации ферментов — фосфолипаз, протеаз и нуклеаз. Нарушается целостность мембран, фосфорилирование и синтез белков, наблюдается лизис структурных белков [29, 50, 53].

Анализируя патогенез ишемического инсульта, необходимо рассмотреть состояние глиальных клеток в условиях ишемии. Клетки глии способны синтезировать активные формы кислорода (супероксид, радикал гидроксила, перекись водорода) и фактор некроза опухолей- α . В зависимости от активности клеток глии и характера пускового стимула в области ишемического повреждения ответ глиальных клеток может выражаться как в защите нейронов, так и в усугублении повреждающих процессов. Предполагают, что именно глиа начинает каскад реакций, ведущих к вторичному повреждению клеток ЦНС [16, 27, 48]. Нарушения гомеостаза ЦНС обуславливают активацию микроглии [16]. Соседние здоровые или незначительно поврежденные клетки могут повреждаться вы-

сокоактивными молекулами — анионами супероксида, нитрозония, пероксинитрита, нитроксила и гидроксильными радикалами. Такие факты имеют место при ишемии и других типах нейродегенерации [2, 19]. Все функции глии (трофическая, регенераторная, секреторная) определяются веществами, которые она синтезирует, — цитокинами, провоспалительными субстанциями, нейротрансмиттерами, токсинами [16].

Многие исследователи при изучении необходимости вторичной нейропротекции особое внимание уделяют апоптозу. Процесс апоптоза регулируется каспазами — цистеиновыми аспартил-протеазами, которые обладают различной субстратной и ингибирующей специфичностью. Показано, что именно каспазы участвуют в разрушении белков цитоскелета, митохондрий, ферментов репарации ДНК. Роль каспаз в механизме апоптоза подтверждена экспериментальными исследованиями, требуя дальнейшего более углубленного изучения и анализа [6, 27, 42, 43].

В патогенетической терапии ишемического инсульта выделяют два основных направления: реперфузия и нейропротективная терапия. По сравнению с реперфузией нейропротективная терапия более сложна, отражая разнообразие механизмов ишемического повреждения ткани мозга. Выделяют первичную нейропротекцию, направленную на прерывание быстрых реакций глутамат-кальциевого каскада и свободно-радикальных механизмов, и вторичную — направленную на уменьшение выраженности отдаленных последствий ишемии: на блокаду провоспалительных цитокинов, молекул клеточной адгезии, усиление трофического обеспечения. К препаратам первичной нейропротекции относят антагонистов потенциалзависимых каналов (нимодипин, дародипин, флунаризин), антагонистов глутаматных рецепторов (церестат, ремацемид, селфотел, элипролил), ингибиторов синтеза и пресинаптического высвобождения глутамата (фенитоин, лубелузол, пропентофиллин). Перечисленные лекарственные препараты обладают побочными свойствами и эффективность их не доказана [11, 3, 16, 31, 35, 39].

Основными направлениями вторичной нейропротекции являются антиоксидантная терапия, торможение местной воспалительной реакции, улучшение трофического обеспечения мозга, нейроиммунотерапия. При проведении антиоксидантной терапии используются “ловушки” свободных радикалов (тирилазад, фенил-*t*-бутил-нитроны), блокаторы NOS (нитроиндазол, аминоксипин), производные 3-гидроксипиридина (эмоксипин, мексидол). Указанные препараты проявляли антиоксидантную активность в опытах *in vitro* и на жи-

вотных, но были неэффективными при клинических исследованиях. Поэтому вопрос разработки новых препаратов нейропротекторного профиля актуален и сегодня. Ведущим направлением считается применение антиоксидантов. Данное положение подтверждено многими исследованиями и имеет логическое объяснение. К потенциальным нейропротекторам в последнее время относят такие ферменты, как СОД, каталаза, а также глутатион, лазароиды и хелаты железа [2, 22].

Нейропротекторные свойства этих препаратов объясняются способностью связывать свободные радикалы. В литературе описаны результаты исследований селективных блокаторов нейрональной NOS, их способность уменьшать размер инфарктной зоны после фокальной и глобальной церебральной ишемии у животных. Селективная блокада *i*NOS также показала нейропротекторное действие в условиях экспериментального инсульта [28, 44].

По мнению многих исследователей, особое место в нейропротекции будущего должно занимать направление, которое предусматривает регуляцию системы оксида азота. Это утверждение доказывается способностью NO играть патогенетическую роль в нейродеструкции. Поэтому некоторые ингибиторы NOS (7-нитроиндазол, аминоксипин) стали объектом изучения как потенциальные нейропротекторы. При их применении снижается интенсивность ишемического повреждения, сужается участок повреждения нервной ткани. Заинтересованность фармакологов, патофизиологов и клиницистов вызывают производные тиольных антиоксидантов: N-ацетилцистеин (N-АЦЦ), тиотриазолин (3-метил-1,2,4-триазолин-5-тиоацетат-морфолин), метионин. N-АЦЦ является “ловушкой” ONOO⁻ и NO, а также снижает экспрессию генов, отвечающих за синтез NOS. Тиотриазолин тормозит продукцию АФК и активирует антиоксидантную систему организма. В 2003 г. в Украине получен комбинированный препарат Тиоцетам, положительно действующий при вторичной нейропротекции в восстановительный период [2, 16, 24].

Обобщая принципы, используемые при терапии ишемического инсульта, исследования необходимо проводить в двух главных направлениях. Первое направление состоит в изучении механизмов первичной и вторичной нейропротекции, второе — в повышении терапевтической эффективности препаратов церебропротекции и устранении их побочных действий на организм. Арсенал существующих препаратов не удовлетворяет запрос современной медицины. Это предполагает дальнейший поиск оптимальных соединений.

Список использованной литературы

1. Арзамасцев А. П., Северина И. С., Григорьев Н. Б., Граник В. Г. Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы NO-синтаз // Вестник РАМН. — 2003. — № 12. — С. 88-95.
2. Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И., Мазур И. А. и др. Влияние тиоцетама на экспрессию генов раннего реагирования, интенсивность свободнорадикальных процессов, апоптоз в головном мозге крыс и выраженность когнитивных нарушений при хроническом иммобилизационном стрессе // Эксперим. та клін. фізіол. і біохім. — 2007. — № 1. — С. 43-51.
3. Беридзе М. З., Урушадзе И. Т., Шакаришвили Р. Р. Механизмы отсроченной гибели нейронов при острой церебральной ишемии в эксперименте // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу). — 2001. — Вып. 3. — С. 35-40.
4. Болдырев А. А. Двойственная роль свободнорадикальных форм кислорода в ишемическом мозге // Нейрохимия. — 1995. — 12, вып. 3. — С. 313-317.
5. Болдырев А. А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона // Успехи физиол. наук. — 2003. — 4, № 3. — С. 21-34.
6. Брюне Б., Сандау К., Кнетен А. Апоптотическая гибель клеток и оксид азота: механизмы активации и антагонистические сигнальные пути: обзор // Биохимия. — 1998. — 63, вып. 7. — С. 966-975.
7. Ванин А. Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы — две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах // Биохимия. — 1998. — № 63. — С. 24-38.
8. Ванин А. Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 3-5.
9. Варакин Ю. Я. Эпидемиология сосудистых заболеваний головного мозга // Очерки ангионеврологии. — М.: Атмосфера, 2005. — С. 66-81.
10. Виноградов Н. А. Антимикробные свойства окиси азота и регуляция ее биосинтеза в макроорганизме // Антибиотики и химиотерапия. — 1998. — 43, № 2. — С. 24-29.
11. Воронина Т. А., Середенин С. Б. Ноотропные и нейропротекторные средства // Эксперим. и клин. фармакол. — 2007. — 70, № 4. — С. 44-58.
12. Головаченко Ю. И., Трещинская М. А. Основные принципы базисной терапии у пациентов с ишемическим инсультом в острейшем периоде // Медицина неотложных состояний. — 2006. — № 4. — С. 23-27.
13. Григорова И. А., Жуков В. И., Короленко О. М. Клинико-иммунологические и метаболические особенности ишемического инсульта // Аллергология и иммунология. — 2006. — 7, № 1. — С. 94-97.
14. Губський Ю. І., Беленічев І. Ф., Коваленко С. І. Основні шляхи утворення активних форм кисню в нормі та при ішемічних патологіях // Соврем. пробл. токсикологии. — 2004. — № 2. — С. 8-16.
15. Гусев Е. И., Гехт А. Б., Белоусов Ю. Б. и др. Клинические и фармакоэкономические особенности применения церебролизина в восстановительном лечении ишемического инсульта // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу). — 2007. — Вып. 10. — С. 26-33.
16. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. — М.: Медицина, 2003. — 328 с.
17. Дмитренко Н. П., Шандренко С. Г., Кузьминский С. Н. и др. Биологическая активность нового препарата — акцептора оксида азота // Журн. АМН України. — 1996. — 2, № 4. — С. 722-731.
18. Камчатнов П. Р., Рулева Н. Ю., Дугин С. Ф. и др. Содержание нейроспецифических белков и аутоантител к ним в сыворотке крови больных с острым ишемическим инсультом // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу). — 2009. — Вып. 2. — С. 69-72.
19. Кандыба Д. В., Скоромец А. А., Трофимова Т. Н. и др. Алгоритм диагностики и оценки эффективности медикаментозного и хирургического лечения больных с ишемическими нарушениями мозгового кровообращения при патологии экстракраниальных артерий // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу). — 2007. — Вып. 20. — С. 58-65.
20. Кобылина О. В., Гехт А. Б., Фаворова О. О. и др. Генетические аспекты ишемического инсульта // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу). — 2008. — Вып. 23. — С. 49-57.
21. Колесник Ю. М., Беленичев И. Ф., Ганчева О. В. Сигнальная роль активных форм кислорода в регуляции физиологических функций // Патология. — 2005. — 2, № 1. — С. 4-10.
22. Коржов В. И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // Журн. НАМН України. — 2007. — 13, № 1. — С. 3-19.
23. Лимборская С. А., Сломинский П. А., Скворцова В. И. и др. Ассоциация полиморфизмов генов рецепторного (FADD, Fas) и митохондриального (PARP-1, p53) путей индукции апоптоза с объемом инфаркта мозга у пациентов с атеротромботическим ишемическим инсультом // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу). — 2007. — Вып. 19. — С. 48-55.
24. Мазур И. А., Волошин Н. А., Чекман И. С. и др. Тиотриазолин. Фармакологические аспекты и клиническое применение. — Львов, Запорожье: НАУТИЛС, 2005. — 156 с.
25. Малахов В. А., Завгородняя А. Н. Система оксида азота при церебральном ишемическом инсульте: некоторые патогенетические аспекты // Укр. мед. часопис. — 2007. — № 2. — С. 97-100.
26. Малышев И. Ю., Монастырская Е. А., Смирин Б. В., Манухина Е. Б. Гипоксия и оксид азота // Вестник РАМН. — 2000. — № 9. — С. 44-48.
27. Матвеева Н. Ю. Апоптоз: морфологические особенности и молекулярные механизмы // Тихоокеан. мед. журн. — 2003. — № 4. — С. 12-16.
28. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Реутов В. П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. — 2000. — 65, вып. 4. — С. 485-503.
29. Моисеев С. В. Антагонисты кальция и инсульт // Клин. фармакол. и терапия. — 2004. — 13, № 5. — С. 44-49.
30. Осипов А. Н. Изучение реакций активных форм кислорода (супероксидных и гидроксильных радикалов, перекиси водорода, гипохлорита) и окиси азота с биологически важными соединениями: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1999. — 48 с.

31. *Парфенов В. А.* Метаболическая терапия ишемического инсульта // Рус. мед. журн. — 2002. — **10**, № 25. — С. 21-30.
32. *Постнов Ю. В.* О роли кальциевой перегрузки митохондрий и энергетического дефицита в патогенезе первичной артериальной гипертензии // Архив патологии. — 2001. — № 3. — С. 3-10.
33. *Раевский К. С., Башкатова В. Г., Вицкова Г. Ю.* и др. Судороги, вызываемые введением N-метил-D, L-аспартата, сопровождающиеся усилением генерации оксида азота и процессов перекисного окисления липидов в мозге крыс // Эксперим. и клин. фармакол. — 1998. — **61**, № 1. — С. 13-16.
34. *Реутов В. П., Сорочкина Е. Г., Охотин В. Е., Косицын Н. С.* Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. — М.: Наука, 1998. — 159 с.
35. *Середенин С. Б., Поваров О. В., Медведев О. С.* Доказательства нейропротективных свойств афобазола на экспериментальной модели фокальной ишемии головного мозга // Эксперим. и клин. фармакол. — 2006. — **69**, № 4. — С. 3-5.
36. *Скворцова В. И., Стаховская Л. В., Айриян Н. Ю.* Эпидемиология инсульта в Российской Федерации // Системные гипертензии: прил. к журн. Consilium medicum. — 2005. — **7**, № 1. — С. 3-10.
37. *Смирин Б. В., Покидышев Д. А., Малышев И. Ю.* и др. Депонирование оксида азота как фактор адаптационной защиты // Рос. физиол. журн. им. И. Сеченова. — 2000. — **86**, № 4. — С. 447-454.
38. *Соловьев А. И., Прудников И. М., Цивкин В. Н.* и др. Терапевтический потенциал мезенхимальных стволовых клеток человека для восстановления нормальной функции эндотелия и кальцийзависимых калиевых каналов большой проводимости в гладкомышечных клетках аорты облученных крыс // Журн. АМН Украины. — 2009. — **15**, № 3. — С. 460-475.
39. *Шемеровский К., Барышникова Н., Успенский Ю., Суворов А.* Многофакторная нейропротекция при ишемическом инсульте (клинико-экспериментальное исследование) // Врач. — 2009. — № 2. — С. 26-30.
40. *Brown G., Borutaite C. V.* Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death // Free Radic. Biol. Med. — 2002. — **33**, № 11. — P. 1440-1450.
41. *Chapman C. A., Olanov C. W.* Neuroprotective approaches to the treatment of neurodegenerative disorders. — London: Academic Press Limited, 2002. — 360 p.
42. *Estevez A., Spear G. N., Mannuel S. M.* Nitric oxide and superoxide contribute to motor neuron apoptosis induced by trophic factor deprivation // J. Neurosci. — 1998. — **18**. — P. 923-931.
43. *Eu J. P., Liu L., Zeng M., Stamler J. S.* An apoptotic model for nitrosative stress // Biochemistry. — 2000. — **39**, № 5. — P. 1040-1047.
44. *Giulivi C.* Characterization and function of mitochondrial nitric-oxide synthase // Free Radic. Biol. Med. — 2003. — **34**. — P. 397-408.
45. *Holmstrom T. H., Mialon A., Kallio M., Nymalm Y.* C-jun supports ribosomal RNA processing and nucleolar localization of RNA helicase DDX21 // J. Biol. Chem. — 2008. — **283**. — P. 7046-7052.
46. *Liu M., Dilger J.* 1325-pos strychnine inhibition of human $\alpha 1$ glycine receptors // Biophys. J. — 2008. — **94**. — P. 1325-1326.
47. *Monteith G. R., Blaustein M. P.* Heterogeneity of mitochondrial matrix free Ca^{2+} : resolution of Ca^{2+} dynamics in individual mitochondria in situ // Am. J. Physiol. Cell Physiol. — 1999. — **276**. — P. C1193-C1204.
48. *Murphy M. P.* Nitric oxide and cell death // Biochem. Biophys. Acta. — 1999. — **1411**, № 2-3. — P. 401-414.
49. *Paul V. N., Chopra K., Kulkarni S. K.* Prooxidant role of histidine in hypoxic stressed mice and Fe^{3+} -induced lipid peroxidation // Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. — 2000. — **22**, № 7. — P. 551-554.
50. *Rothwell P. M., Eliasziw M., Gutnikov S. A.* et al. Carotid endarterectomy trialists collaboration. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery // Lancet. — 2004. — **363**. — P. 915-924.
51. *Strong M. J., Rosenfeld J.* Amyotrophic lateral sclerosis: a review of current concepts // Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. — 2003. — **4**, № 3. — P. 136-143.
52. *Vanin A. F., Muller B., Alencar J. L.* et al. Evidence that intrinsic iron but not intrinsic copper determines S-nitrosocysteine decomposition in buffer solution // Nitric Oxide. — 2002. — **7**, № 3. — P. 194-209.
53. *Witko-Sarsat V., Friedlander M.* Advanced oxidation protein products as a novel markers of oxidative stress in ischemia // J. Neurochem. — 2000. — **22**, № 6. — P. 342-350.

Получено 17.11.2012

ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНА РІВНОВАГА — ВИРІШАЛЬНИЙ ФАКТОР РЕЗИСТЕНТНОСТІ НЕЙРОНІВ ДО НІТРОЗУЮЧОГО СТРЕСУ В УМОВАХ ІШЕМІЇ МОЗКУ (огляд літератури)

Ю. М. Колесник, І. С. Чекман*, І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова,
Н. А. Горчакова*, Н. В. Бухтіярова

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, 69035 Запоріжжя
*Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України, 01601 Київ

Проаналізовано дані літератури про механізми пошкодження нейронів при гострому порушенні мозкового кровообігу та основні принципи нейропротекції. Особлива увага приділяється оксиду азоту та його активним метаболітам — нітрозонію, нітроксил-іону, пероксинітриду. Оксид азоту

здатен запускати каскад патобіохімічних реакцій і програму загибелі нейрона завдяки унікальній хімічній природі та великій кількості мішеней у клітині. Його фізіологічно активні окислювально-відновні форми також чинять пошкодуючу дію на нейрон в умовах ішемії. Надлишок NO у постішемичний період взаємодіє з гемовим залізом і парними тіольними групами з утворенням динітрозольного комплексу заліза. В результаті утворюються N- і S-нітросотіоли, відбувається зміщення тіол-дисульфідної рівноваги і розвиток нітрозуючого стресу. Виходячи з вищевикладеного, перспективним напрямом є пошук лікарських препаратів, які здатні регулювати систему оксиду азота в умовах ішемічного ураження.

THIOL-DISULFIDE BALANCE — A DETERMINING FACTOR OF NEURONS' RESISTANCE TO NITROSIFYING STRESS IN CONDITIONS OF CEREBRAL ISCHEMIA (review of literature)

**Yu. M. Kolesnik, I. S. Chekman*, I. F. Belenichev, S. V. Gorbachyova,
N. A. Gorchakova*, N. V. Bukhtiyarova**

Zaporozhye State Medical University Ministry of Health Ukraine, 69035 Zaporozhye

*A. A. Bogomolets National Medical University Ministry of Health Ukraine, 01601 Kyiv

Analyzed are the literature data about the mechanisms of neurons' damage in conditions of acute disturbance of cerebral circulation and main principles of neuroprotection. A particular role is given to nitric oxide and its active metabolites, such as nitrosonium, nitroxyl-ion and peroxynitrite. Nitric oxide is capable of initiating a cascade of pathobiochemical reactions and a program of neuron death owing to the unique chemical origin and a large number of targets in a cell. Its physiologically active redox forms also have destructive action on a neuron in conditions of ischemia. Excess of NO during postischemia period interacts with hemo iron and binate thiol groups with a formation of dinitroso iron combination. As a result, N- and S-nitrosothiols are formed and a displacement of thiol-disulfide balance and development of nitrosifying stress take place. Based on the above, a search of drugs capable of regulating the system of nitric oxide in conditions of ischemic damage seems to be a perspective trend.