

Ю.И. Губский *, член-кор. АМН Украины,
И.Ф. Беленичев, д. б. н., Е.Л. Левицкий *, д. б. н.,
С.В. Павлов, А.Г. Горюшко*, к. х. н.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ КОГНИТИВНОГО ДЕФИЦИТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КИСЛОРОДНЫХ РАДИКАЛОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Запорожский государственный медицинский университет,
г. Запорожье

*Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины,
г. Киев

Уменьшение длительности и качества жизни связано с увеличением числа нейродеструктивных заболеваний, в этиогенезе которых лежит стресс. Поэтому актуальной проблемой современной медицины и фармакологии является противостояние негативным последствиям психоэмоционального напряжения и стресса. Для ее решения необходимо дальнейшее развитие учения о стрессе, его пусковых механизмах, а также роли в развитии когнитивного дефицита.

Известно, что в основе возникновения и развития стресса лежит гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) биоэнергетическими и нейрохимическими системами головного мозга [1, 2]. По ряду причин мозг высоко чувствителен к окислительному стрессу. Головной мозг занимает первое место среди других тканей по количеству потребляемого кислорода на единицу веса. Этот уровень так велик, что превращение в супероксидный анион-радикал только 0,1 % метаболизируемого нейронами кислорода может оказаться токсичным для этой ткани [3, 4]. АФК в условиях антиоксидантной недостаточности окислительно модифицируют белки, липиды, ДНК, мембраны и другие органеллы нейрона [5, 6].

Мембраны нейронов характеризуются высоким содержанием ара-

хидоновой, декозогексаеновой и других полиненасыщенных кислот, легко окисляемых АФК. АФК, взаимодействуя с арахидоновой кислотой (АК), превращают ее в модифицированный фрагмент фосфолипидов — структуру, похожую на простагландин. Затем образуются этерифицированные F₂-изопростаны, высвобождаемые фосфолипазой А из фосфолипидной матрицы в виде четырех реизомеров. Данные продукты по химической структуре напоминают простагландины, однако они не обладают их пространственной изомерией и не способны при связывании с рецепторами вызывать нормальную трансдукцию внутриклеточного сигнала [7-9].

Изопростаны, в свою очередь, также являются цитотоксическими соединениями и способны вызывать повреждения нейрональной клетки при стрессе. Наибольшим повреждающим действием обладают 8-эпиизопростаны, которые образуются при участии циклооксигеназы-1 (COX-1), могут запускать синтез IL-1 β , TNF- α и вызывать активацию АФК (NO и ONOO-) с образованием n-алкеналей, 2-алкеналей, 2,4 — алкандиенов, алкантриенов, гидропероксиалкенов, малонового диальдегида-продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7]. Данные продукты являются генотоксичными и цитотоксичными. Так, гид-

ропероксиды липидов нарушают регулярную упаковку мембранного бислоя и вызывают образование в мембране дефектных зон, гидроксиноненила обладают способностью образовывать аддукты с фосфолипидами, белками и нуклеиновыми кислотами, приводя к их повреждению. Малоновый диальдегид, взаимодействуя с белками и нуклеиновыми кислотами, способен вызывать образование внутри- и межмолекулярных сшивок [10].

Процессы повреждения белков и нуклеиновых кислот при окислительном стрессе происходят параллельно с окислительным повреждением мембранных липидов [11, 12]. АФК при взаимодействии с нуклеиновыми кислотами (НК) способны модифицировать основания, дезоксирибозы, а также образовывать новые ковалентные связи. Наибольшее значение в нейродеструктивных процессах в условиях стресса имеет место модификация оснований. Так, АФК атакуют основания НК по различным фрагментам их молекул: пиримидины подвергаются окислению в положении C5-C6. При взаимодействии АФК с тиминами образуются изомеры 5,6-дигидротимина, которые распадаются в щелочной среде. Цитозин при взаимодействии с АФК и гидроперекисями образует цитозин, гидроксигидроксилированный в положении C5-C6, а также может раскрывать двойные связи. Атака АФК на пурины приводит к разрыву имидазольного кольца фрагмента молекулы с образованием формид-пиридиновых остатков [7, 13].

Среди продуктов окислительной модификации пуринов наибольшее внимание заслуживает 8-оксогуанин (8-ОГ) и его таутомер — 8-гидроксигуанин. Образование 8-ОГ происходит постоянно, однако значительно возрастает при различных патологических состояниях и может рассматриваться как маркер окислительного стресса [14]. Так, при экспериментальном хроническом иммобилизационном стрессе было отмечено существенное повышение концентрации данного маркера в моче. Определение 8-ОГ может рассматриваться как неинвазивный метод оценки уровня окислительного стресса, поскольку разработан способ его определения в моче [15].

Под действием АФК может происходить дезаминирование гуанина

и аденина, что приводит к появлению ксантина и гипоксантина в составе ДНК, обладающих мутагенным действием. Чувствительность оснований к АФК зависит от окружения. Так, в составе ДНК наиболее чувствительным является тимин. Последствия разного рода окислительных повреждений неодинаковы. Тиминовые гликоли и формид-пиридины блокируют репликацию, а также цитотоксичны. Однако, их мутагенный потенциал ограничен. Наиболее мутагенным является 8-ОГ, и если он присутствует в матрице ДНК, то все репликативные ДНК-полимеразы встраивают против него d-АМР и осуществляют замену: "цистеин — гуанин" на "тимин-аденин". Помимо этого, АФК могут осуществлять непосредственно разрыв ДНК по сахаро- фосфатной связи. Усилить окислительное повреждение ДНК под действием АФК могут хелатированные ДНК, железо и медь. Более того, ионы железа, хелатированные НК, способны восстанавливаться мембранными редокси- цепями и вызывать дальнейшее окислительное повреждение НК [16-20].

Кроме того, АФК способны вызывать и не прямое повреждение НК. Так, они вызывают высвобождение Ca^{2+} из митохондрий, что впоследствии приводит к повышению активности нуклеаз. Особое место в повреждении ДНК занимает NO, который через дезаминирование НК активирует НАД-зависимую поли -(АДР-рибозо)полимеразу (ПАРП), которая катализирует присоединение АДР-рибозы к белкам-гистонам и ДНК. Аберрация ДНК вызывает усиление стрессорной реакции в клетке и прикрепление ПАРП к месту разрыва цепи, после чего связанный фермент увеличивает синтез короткоживущих полимеров, что может активировать апоптоз [20-24].

Окисление белков может приводить к нарушению или модификации их функций. Окислению подвергаются сульфо- и аминокислотные группы аминокислот. Особая роль в окислительной деструкции белков принадлежит NO-радикалу, пероксинитриду. В результате "атаки" АФК белковых молекул образуются орто-тирозин, 6-нитротриптофан, 3- нитротирозин, 3-хлортирозин, 2- оксогистидин, а также раз-

нообразные карбонильные производные [5, 7, 25]. Взаимодействие белка с малоновым диальдегидом, образующимся при перекисном окислении липидов, приводит к образованию поперечных сшивок между белками или между белком и другой молекулой, содержащей NH_2 группу. Аналогично происходит взаимодействие белков с кетоальдегидами, образующимися при окислении сахаров. Помимо этого, альдегидная группа сахара способна непосредственно взаимодействовать с аминокислотной группой белковой молекулы, что в дальнейшем приводит к накоплению гликированных продуктов. Важно отметить, что гликирование белков обычно осуществляется в результате прямого взаимодействия сахаров с аминокислотными группами лизина, причем гликируются те радикалы лизина, соседней группой которых является пролин. В результате образуются Шиффовы основания, которые при перегруппировке превращаются в стабильные соединения — продукты Амадори. Вместе с продуктами перекисного окисления липидов они накапливаются в липофусциновых гранулах нейрональной клетки, в дальнейшем приводя к ее токсической гибели [25].

Продукты окислительной модификации белков, по сведениям ряда авторов, способны усиливать экспрессию каспаз, которые относятся к семейству IL-1-3 — конвертирующих протеаз, причастных к разветвлению цепи апоптазы [26, 27]. В условиях стресса избыток АФК усиливает экспрессию провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , HIF-1) и факторов, приводящих к транскрипции (NF-Карра В, AP-1, JNK), которые опосредованно, в частности, через активацию индуцибельной NO-синтазы и COX-1, еще больше усиливают образование АФК [28]. Кроме того, длительная генерация NO-радикала усиливает синтез белка p53 и активирует каспазы, которые относятся к семейству IL-1 β -конвертирующих протеаз, причастных к разветвлению цепи апоптазы [26].

Таким образом, накопление в нейрональной клетке продуктов окислительной модификации липидов, белков, нуклеиновых кислот приводит к токсической и апоптической гибели определенной популяции нервных клеток и, как след-

ствие — развитию когнитивного дефицита в условиях эмоционального стресса (рис. 1). Помимо апоптической гибели части нейронов, в условиях генерации АФК происходит и метаболические изменения в нейрональной клетке. Так, окислительная атака SH-групп NMDA-рецепторов приводит к подавлению их функции [29]. Снижение функции белков в цепи переносчиков электронов, активности АТФ-азы, избирательности действия транспортных пор происходит также в результате окислительной модификации белковых молекул. Изменение Red/Ox- потенциала митохондриальной мембраны может отражаться на дисфункции каскада дыхательной цепи нейрональной клетки. Окислительная деструкция белковых и липидных фрагментов мембран нейроцитов ухудшает чувствительность и специфичность рецепторов, генерацию, образование и проводимость нервного импульса, нарушает синаптическую передачу. Данные изменения, в конечном итоге, приводят к нарушению секреторной, инкреторной, транспортной функции нейрона, приводя к ослаблению когнитивно- мнестических функций организма [30, 31] (рис. 2).

Перечисленные выше изменения, происходящие в нейрональной клетке при окислительном стрессе, по нашему мнению, являются обоснованием применения церебропротекторов с антиоксидантным механизмом действия для профилактики и лечения негативных последствий эмоционального стресса.

В настоящее время поиск высокоэффективных антиоксидантов- церебропротекторов ведется по нескольким направлениям:

- в ряду замещенных хиназолина,
- имитацией специфических агонист-связывающих сайтов нейрональных рецепторов (дипептидные и полипептидные препараты- семакс, дилепт) [32, 33].

Исходя из этого, перспективным направлением в создании высокоэффективных стресспротекторов с антиоксидантным механизмом действия является модификация молекулы хиназолина за счет введения дипептидных фрагментов, имитирующих агонист- связывающие сайты рецепторов. Нашими предыдущими исследованиями (виртуальный скрининг, опыты *in vitro*, *in vivo*) установлено,

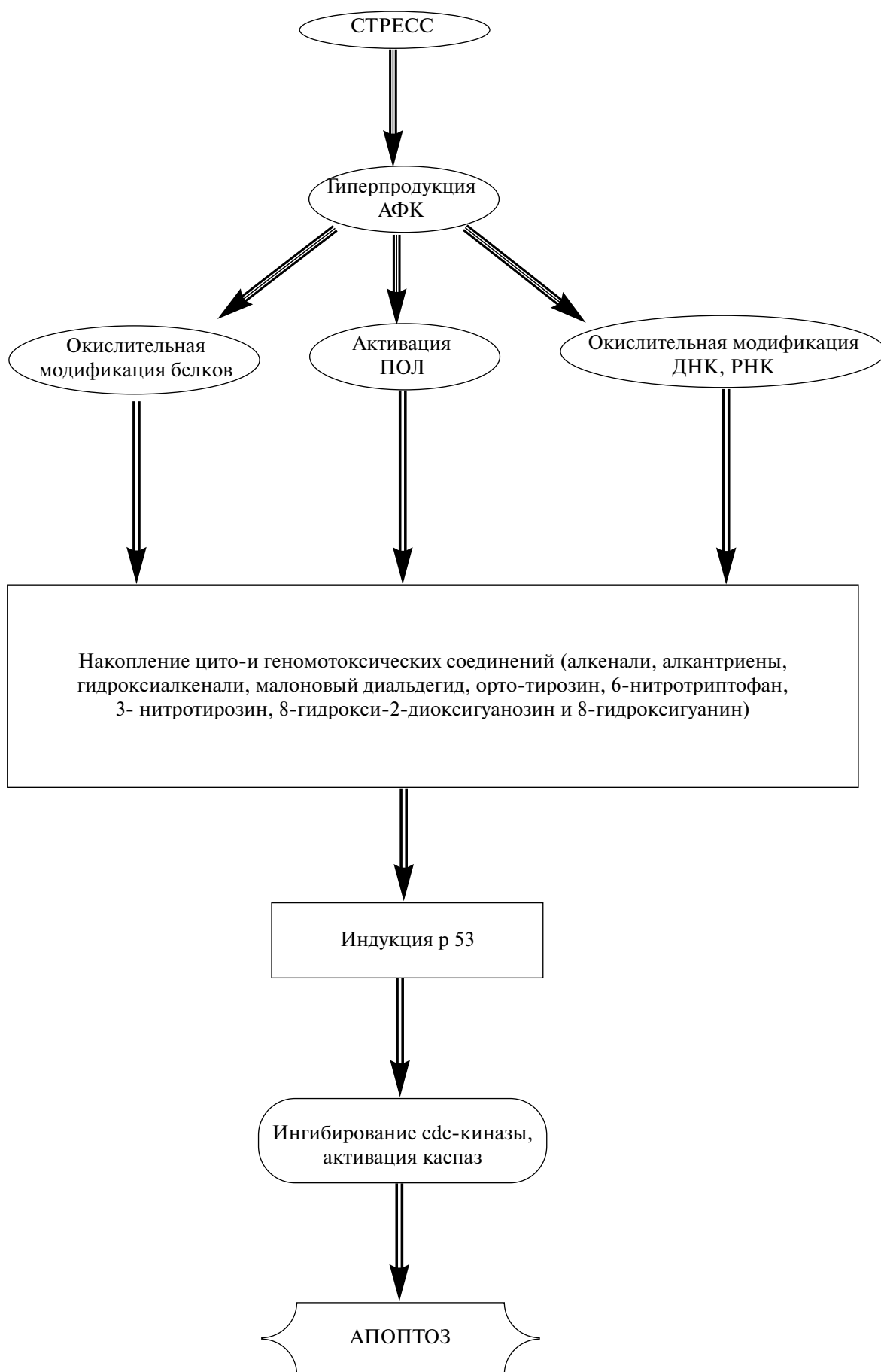


Рисунок 1

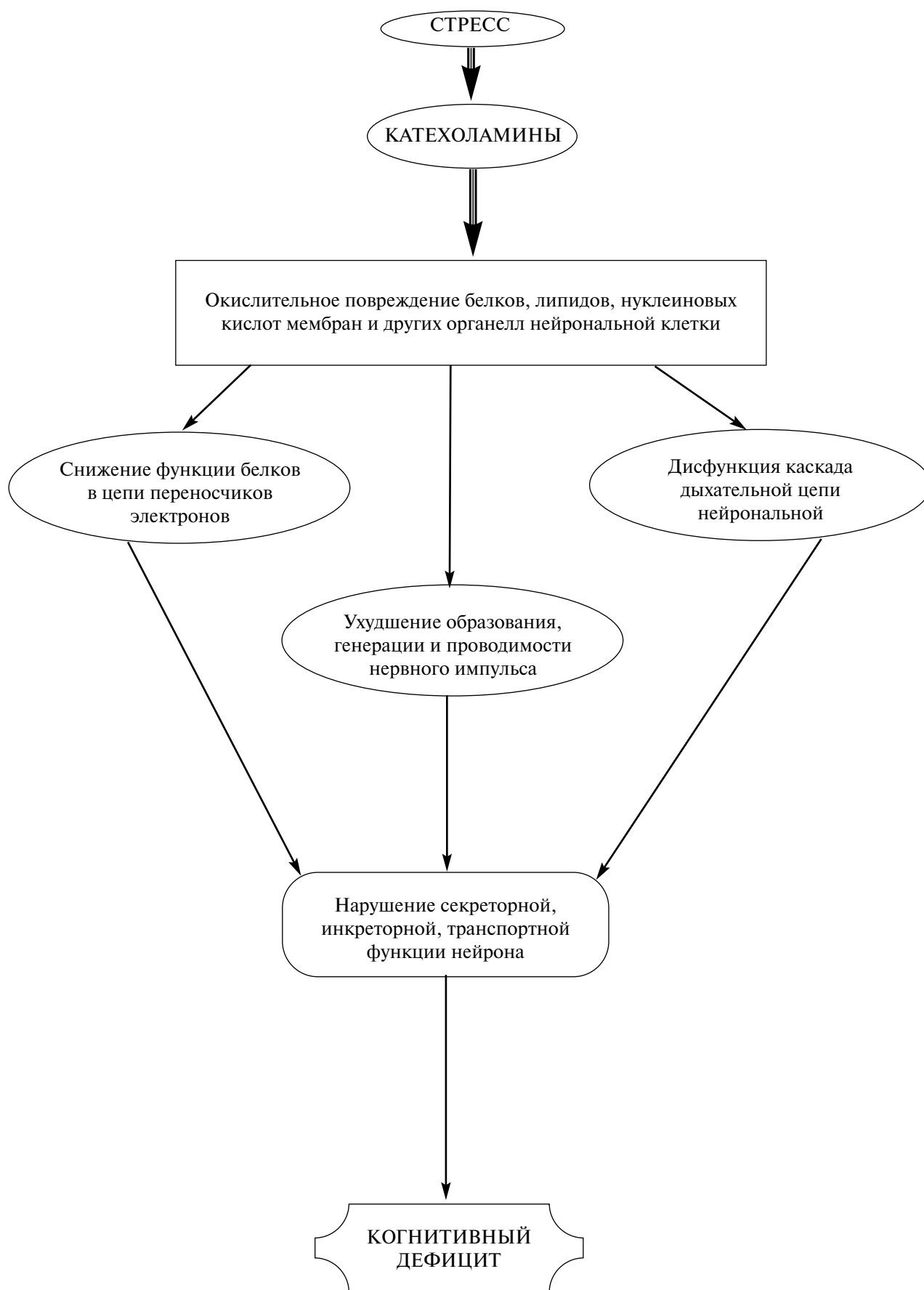


Рисунок 2

что данный ряд соединений влияет практически на все деструктивные процессы в нейроне: ингибирует образование АФК; интенсивность процес-

сов окислительной модификации белков; увеличивает активность ряда антиоксидантных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпе-

роксидаса), а также непосредственно влияет на метаболические процессы в нейроне, обеспечивая тем самым церебропротективное действие [34- 36].

ЛИТЕРАТУРА

1. Вьюшина А.В., Герасимова И.А., Флеров М.А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины — 2002. — Т. 133, №3. — С. 286-288.
2. Нестеров Ю.В. // Вестник ОГУ. — 2003. — №6. — С.152-155.
3. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Free Radicals in biology and medicine. — Oxford Press, 1999. — 468 p.
4. Aruoma O., Halliwell B. // Molecular biology of Free Radicals in Human Diseases. St Lucia. London: OICA Int., 1999. — 524 p.
5. Губський Ю.И., Беленичев И.Ф., Левицкий Е.Л., Павлов С.В. // Совр. пробл. токсикологии — 2005. — №3. — С.20-26.
6. Дубина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. // Вопр. мед. химии — 1995. — Т.41, №1. — С. 24-26.
7. Дунаев В.В., Губський Ю.И., Беленичев И.Ф. и др. // Совр. пробл. токсикологии — 2004. — №2. — С. 8-15.
8. Dizdaroglu M. // Free Radic. Biol. Med. — 1991. — Vol. 10, №3. — P. 225-242.
9. Heinecke J., Li W., Daehnke h.L. et. al. // J. Biol. Chem. — 1993. — Vol 25, №3. — P. 8752-8759.
10. Левицкий Е.Л. // Фармакол. вісник — 1998. — №2. — С. 68-71.
11. Болдырев А.А. // Биохимия — 1995. — Т.60. — С. 1536-1542.
12. Болдырев А.А., Куклей М.Л. // Нейрохимия — 1996. — Т.13. — С. 271-278.
13. Barga G., Herrero A. // FASEB J. — 2000. — Vol.14, №2. — P. 132.
14. Синицкая Н.С., Хавинсон В.Х. // Усп. совр. биологии — 2002. — Т.122, №6. — С. 557-568.
15. Sarsunova M., Schwarz V., Michaelc C. / Chromatografia na tenrych vrsstvach vo farmácii a v klinicreg biochemii. — Praga: Vydavatelstvo Osveta, 1980. — 621p.
16. De Sousa-Pinto N.C., Eide L., Hogue B.A., et. al. // Cancer Res. — 2001. — Vol.15, №14. — P. 5378.
17. Sastre J., Pallardo F.V., Garcia de la Asuncion J., Vina J. // Free Radic Res — 2000 — Vol.39, №24 — P. 7229.
18. Butterfield D.A. // Chem. Res. Toxicol. — 1997. — Vol.10, №3. — P. 495-506.
19. Mejia R., Ona V.O., Li M. Et al. // Neurosurgery. — 2001. — Vol.48, №6. — P. 1393-1399.
20. Shingenaga M.K., Ames B.N. // Free Radic Biol. Med. — 1999. — Vol.10, №4. — P. 211-220.
21. Губський Ю.И. // Лікування та діагностика — 2001. — №4. — С. 8-13.
22. Владимирская Е.Б. // Гематол. трансфузиол. — 2002. — Т.47, №2. — С. 35-40.
23. Noshita N., Sagawara T., Hayashi T. et al. // J. Neurosci. — 2002. — Vol.22, №18. — P. 7923-7930.
24. Коваленко Л.П., Мирamedова М.Г., Алексеева С.В. и др. // Экспер. и клин. фармакол. — 2002. — Т.65, №2. — С. 52-55.
25. Болдырев А.А. // Успехи физиол. наук — 2003. — Т.34, №3. — С. 21-34.
26. Беленичев И.Ф., Павлов С.В. // Запорож. мед. журн. — 2005. — №3. — С.125.
27. Левицкий Е.Л., Марченко А.Н., Павлов С.В., Беленичев И.Ф. / Тез. доп. VI міжнарод. науково — прак. конф. "Актуальні проблеми токсикології. Безпека життєдіяльності людини." Київ, — 2005. — С.17-18.
28. Lynch G., Granger R., Ambros Ingerson J., Davis C.M. // Exp. Neurology. — 1997. — Vol.145, №3. — P. 89-92.
29. Aizenman E. // Neurosci. Lett. — 1995. — №189. — P. 57-59.
30. Dubal S., Wilson M.E., Wise P.M. // Alzheimer s Disease Reviews. — 1999. — Vol.4, №11. — P.1-9.
31. Пескин А.В. // Биохимия. — 1997. — Т.62. — С. 1571-1578.
32. Гусев Е.И., Скворцов В.И. Ишемия головного мозга. — М.: Медицина, 2001. — 420с.
33. Коваленко С.И., Беленичев И.Ф., Бухтиярова Н.В. // Запорож. мед. журн. — 2004. — Т.2, №1. — С.9-15.
34. Шабельник К.П., Павлов С.В., Беленичев И.Ф., Коваленко С.И. / Мат. VI Нац. з ізду фармац. України. — Харків, 2005. — С.124.
35. Павлов С.В., Шабельник К.П. / Мат. 66 студентськ. наук. конф. — Львів, 2005. — С. 93.
36. Павлов С.В. / Тез. II науково- прак. конф. молодих вчених та спеціалістів. "Актуальні проблеми фармакології та токсикології". — Київ, 2005. — С.45.

Ю.І.Губський, І.Ф.Беленичев, Є.Л.Левицький,
С.В. Павлов, А.Г. Горюшко

МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ КОГНІТИВНОГО ДЕФІЦИТУ ПІД ВПЛИВОМ ВІЛЬНИХ РАДИКАЛІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ

В огляді авторами описані механізми розвитку когнітивного дефіциту, що розвивається під впливом вільних радикалів за умов стресу. Показана роль окисної модифікації білків, ліпідів, нуклеїнових кислот у порушенні секреторної, інкреторної та транспортної функції нейрона. Обґрунтовано застосування церебропротекторів з антиоксидантним механізмом дії у якості ефективних стреспротекторів.

U.Gubskiy, I.Belenichev, E. Levitsky,
S.Pavlov, A.Gorushko

MECHANISMS OF DEVELOPMENT COGNITIVE DEFICIENCY UNDER ACTION OXYGEN RADICALS IN CONDITIONS OF STRESS

In overview authors described mechanisms of development cognitive deficiency in conditions of stress. The role oxidizing modification of proteins, lipids nucleic acids in deterioration secretory, incretory and transport functions of neuron is shown. It is proved usage cerebroprotectors with antioxidative mechanism of action as effective stressprotectors.