

Губский Ю.И.³, Беленичев И.Ф.¹, Левицкий Е.Л.², Павлов С.В.¹,
Моргунцова С.А.¹, Бухтиярова Н.В.¹, Коваленко С.И.¹,
Бабенко Л.П.³

ВЛИЯНИЕ S-ЗАМЕЩЕННОГО ХИНАЗОЛИНА (NC-224) НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА, ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ И АПОПТОЗА НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ НИТРОЗИРУЮЩЕГО СТРЕССА *IN VITRO*

¹Запорожский государственный медицинский университет

²Институт биохимии им. А.В.Палладина НАН Украины

³ГУ "Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины"

Эпидемиологические данные свидетельствуют, что по распространенности инсульт занимает третье место после болезней сердца и новообразований, являясь ведущей причиной смертности. В последние годы достигнут значительный прогресс в изучении патогенетических механизмов сосудистых заболеваний мозга. Следствие ишемии головного мозга — последовательное развитие патобиохимических реакций глутамат-кальциевого каскада, сопровождаемых активацией свободно-радикальных процессов [1]. Гиперпродукция активных форм кислорода и азота на фоне дефицита антиоксидантной защиты приводит к развитию оксидативного стресса и его разновидности — нитрозирующего стресса [2, 3]. Токсичность NO на клеточном уровне связывают с образованием нитрозольных комплексов с железом гемовых белков или их S-нитрозилированием. Следствием таких модификаций является ингибирование ферментов дыхательной цепи, цикла Кребса, снижение заряда митохондрий, трансляционной и транскрипционной активности клеток [3, 4]. Установлена роль цитотоксических дериватов NO в индук-

ции апоптоза и в формировании очагов поражения нервной ткани [5]. Определена роль тиол-дисульфидной системы и, в частности ее глутатионового звена, в защите нейронов от повреждений [6]. Показано, что соотношения оксида азота и системы глутатиона являются факторами, определяющими дальнейшую судьбу нейрона в условиях ишемии. В условиях ишемических повреждений головного мозга в ранние сроки развивается нитрозирующий стресс, приводя к нитрозированию тиолов, изменяя тиол-дисульфидное равновесие белков митохондриальной поры. В случае неспособности антиоксидантных систем нейрона утилизировать избыток NO происходит развитие реакций оксидативного и карбонильного стресса, которые существенно смещают тиол-дисульфидное равновесие в сторону окисленных тиолов, формирование стойкой митохондриальной дисфункции с дефицитом энергетических запасов клетки, развитие транзитерного аутооксидоза, изменение ответа генома, приводящих к гибели клетки [5, 6]. Анализ литературных данных показывает, что перспективным направлением нейροпротекции является модуля-

ция синтеза NO и утилизация его агрессивных дериватов. С этой целью проходят испытания как ингибиторы NO-синтазы, так и скавенджеры NO. Результаты проведенных исследований показали преимущество скавенджеров NO в качестве потенциальных нейропротекторов [7, 8]. Интерес представляют тиосодержащие препараты (тиотриазолин, α -липоевая кислота, цистеин), которые способны связывать цитотоксические дериваты NO и оказывать нейропротективное действие. Проводится поиск тиолсодержащих скавенджеров NO и среди новых азогетероциклов. В предыдущих работах нами было сообщено о выделении соединения NC-224 в ряду S-замещенных хиназолина, которое обладает выраженными антиоксидантными свойствами *in vitro* в системах образующих NO.

Целью настоящего исследования является доказательство наличия нейропротекторной активности соединения NC-224 в опытах *in vitro* и участие в механизме его действия NO и глутатионовой системы.

Материалы и методы

Для исследований *in vitro* нейроны выделяли из коры головного мозга 10-дневных крыс линии Вистар. Метод основан на дезинтеграции мозговой ткани путем последовательного фильтрования через нейлоновые сита в среде, содержащей поливинилпираллидон (ПВП), бычий сывороточный альбумин и хлористый кальций, с последующим ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы и фиколла. Использование для выделения нейронов 10-дневных крыс позволяет получить из коры головного мозга значительное количество нейрональных и нейроглиальных клеток высокой степени белкового обогащения (до 79%) [9]. Нитрозирующий стресс моделировали внесением в инкубационную среду токсической концентрации (500 мкМ) DNIC — динитрозольный комплекс железа. DNIC в отличие от NO является более сильным нитрозилирующим агентом, взаимодействует с тиолами белков, гистидином, аспаргатом, глутамином, метионином, цистеином, глутатионом и образуя N- и S-нитрозотиолы. [6].

Для выделения митохондрий суспензию нейроцитов центрифугировали 7 мин. при 700 г, (4°C). Затем

супернатант центрифугировали повторно 15 мин. при 11000 g (4°C). Митохондрии суспендировали в небольшом объеме среды выделения, не содержащей ЭДТА, и хранили на льду [9].

Интенсивность оксидативного стресса оценивали по концентрации маркеров окислительного повреждения белков — альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетонфенилгидразонов (КФГ), нитротирозина [10].

Состояние тиол-дисульфидной системы изучали по концентрации в митохондриях и суспензии нейронов глутатиона окисленного и восстановленного, которые определяли флуорометрически по реакции офталевым ангидридом. Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности ферментов тиол-дисульфидной системы: глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионредуктазы (ГР) в суспензии нейронов, а также по активности Mn-SOD в суспензии митохондрий [9].

Для определения количества апоптирующих клеток суспензию нейронов окрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33342 (апоптоз), селективно окрашивающий апоптирующие нейроны в зеленый цвет [11].

Степень митохондриальной дисфункции оценивали по скорости открытия митохондриальной поры в суспензии митохондрий, выделенных из головного мозга крыс линии Вистар, массой 100-120 гр. [12]. Суспензию митохондрий предварительно инкубировали с 500 мкМ DNIC в течении 60 мин. при $t^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$.

Статистическую обработку результатов проводили методами математической статистики с применением пакетов прикладных программ "Биостатистика для Windows, версия 4.03" и "Microsoft Excel 2002". Для каждого исследуемого признака определяли показатели среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего арифметического (m). Нормальность распределения проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При условии соответствия нормальности распределения достоверность полученных различий сопоставляемых величин оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверность отличий относительных величин оценивалась с применением

критерия χ^2 . Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты и их обсуждения

Введение в инкубационную среду DNIC в концентрации 500 мкМ приводило к повышению маркеров окислительного повреждения белков — АФГ — на 53% и КФГ — на 61%, а также увеличение содержания нитротирозина (более чем на 68%).

Кроме того, инкубирование нейронов с DNIC приводило к смещению тиол-дисульфидного равновесия в сторону окисленных тиолов, о чем свидетельствовало снижение уровня глутатиона, восстановленного (на 85%), и увеличение на 85% его окисленной формы, на фоне снижения активности ключевых ферментов тиол-дисульфидной системы — GST — на 77% и ГР — на 57% по отношению к интактным пробам (табл. 1).

ние нитротирозина) стрессов.

Важно отметить, что выше описанные патобиохимические изменения приводили к усилению процессов клеточной гибели в суспензии нейронов, о чем свидетельствовало статистически достоверное ($p \leq 0,05$) повышение количества апоптотически измененных нейронов, окрашенных Hoechst 33342 (табл. 1).

Согласно нашими исследованиями, а также работами других авторов митохондрии могут играть важную роль в инициации нейроапоптоза [5,12].

Для более детального выяснения роли митохондрий в механизмах NO-опосредованной нейродеградации нами была проведена серия экспериментов на суспензии выделенных из головного мозга митохондрий и преинкубированных с 500 мкМ DNIC. В результате эксперимента было установлено, что внесение в суспензию митохондрий

Таблица 1
Показатели системы глутатиона, продукты ОМБ, нитротирозин в суспензии нейронов и количество апоптотически измененных клеток при инкубации с DNIC

Показатели	Интакт (суспензия нейронов без инкубации с DNIC)	Контроль (суспензия нейронов с инкубацией DNIC)
АФГ, у.е./мг/белка	5,3±0,18	10,8±1,1*
КФГ, у.е./мг/белка	2,0±0,11	6,23±0,15*
Нитротирозин, у.е./мг/белка	11,7±0,64	36,2±1,45*
Количество Hoechst-позитивных клеток в видимом поле ($M \pm m$)	12,7±2,67	90,3±4,6*
Глутатион, восст. мкм/гр/ткани	3,6±0,21	0,5±0,12*
Глутатин окисл. мкм/гр/ткани	0,13±0,026	0,5±0,037*
GST, у.е./мг/белка	31,6±1,22	7,11±0,62*
ГР, у.е./мг/белка	12,2±0,73	4,9±0,5*

Примечание: * — $p \leq 0,05$ по отношению к интакту

Таким образом, внесение в инкубационную среду нейронов DNIC (500 мкМ) приводило к депривации глутатионового звена тиол-дисульфидной системы (дефицит восстановленных форм глутатиона при торможении активности ГР и GST), что в свою очередь, вызывает неконтролируемую продукцию активных форм кислорода и азота и развитие оксидативного (повышение АФГ и КФГ) и нитрозирующего (повыше-

ние нитротирозина) стрессов. DNIC приводит к снижению количества восстановленного глутатиона на 62% и угнетению активности Mn-SOD более чем на 47%. Также было выявлено снижение мембранного потенциала митохондрий и увеличение светопоглощения при 540 нм, свидетельствующее об открытии митохондриальной поры (табл. 2).

По всей видимости, внесение DNIC в суспензию митохондрий головного мозга вызывает необрати-

Таблица 2

Показатели функционального состояния митохондрий, активность Mn-SOD и уровень восстановленного глутатиона в митохондриях при инкубации с DNIC

Показатели	Интакт (суспензия митохондрий без добавления 500 мкМ DNIC)	Контроль (суспензия митохондрий с добавлением 500 мкМ DNIC)
Открытие митохондриальной поры (поглощение, 540 нм)	119,8±2,7	63,8±1,3*
Изменение мембранного потенциала заряда митохондрий (ψ)	68,7±1,28	31,8±2,0*
Глутатион, восст.(митохондрия) мкм/гр/ткани	5,7±0,44	1,89±0,10*
Mn-SOD, у.е/мг/белка/мин	121,1±0,31	70,8±0,76*

Примечание: * — $p \leq 0,05$ по отношению к интакту

мое нитрозилирование железосерных кластеров митохондриальных белков, что в свою очередь, приводит к снижению и других антиоксидантных систем, а также формирует развитие митохондриальной дисфункции [13, 14]. Выявленный нами дефицит восстановленного глутатиона в митохондриях, в условиях нитрозирующего стресса, приводит к усилению NO-опосредованной окислительной модификации цистеин зависимых участков белков, образующих митохондриальную пору. Токсические концентрации дериватов NO (пероксинитрит, ион нитрозония), образующихся при участии DNIC (500 мкМ) в митохондриях, подвергают окислительной модификации Mn-SOD, снижению ее активности [17]. Снижение активности Mn-SOD способствует вторичному "всплеску" свободно-радикальных реакций и усилению окислительной деструкции Red-Oxi — чувствительных участков митохондриальной мембраны и формированию стойкой митохондриальной дисфункции [18-20].

Полученные нами результаты не противоречат данным других исследователей, свидетельствующих о роли нарушений оксидантного гомеостаза в гибели нейронов. Было установлено, что нитрозирующий стресс формирует стойкий дефицит восстановленного глутатиона, в результате чего происходит повыше-

ние цитотоксичности дериватов NO и их взаимодействие с алифатическими и ароматическими аминами с образованием N- нитроаминов, о чем свидетельствует увеличение уровня нитротирозина на 67% в суспензии нейронов. Развитие дефицита восстановленных форм глутатиона в условиях нитрозирующего стресса снижает и биологическую доступность NO и приводит к образованию N_2O_3 , который нитрозилирует тиолы, еще более истощая запасы глутатиона и смещая тиол-дисульфидное равновесие [21, 22, 24, 25].

Кроме того, неконтролируемый рост активных дериватов NO приводит к окислению белков дыхательной цепи митохондрий и инактивацией SOD, что еще более истощает

антиоксидантную систему нейрона. Далее с нарастанием концентрации активных форм NO происходит окисление SH-групп ATP/ADP- антипортера — белке внутренней мембраны митохондрий, приводя к превращению этого переносчика адениннуклеотидов в неспецифический канал, проницаемый для любых низкомолекулярных веществ [12, 15-17]. Открытие пор превращает митохондрии из "электростанций" в "топку" субстратов окисления без образования АТФ. В связи с открытием поры, митохондрия становится проницаемой для ионов K^+ и Cl^- , и только белки обуславливают ее осмотическое давление. Поскольку в матриксе белков гораздо больше, чем в межмембранном пространстве, вода начинает поступать в матрикс, стремясь разбавить находящийся там белковый раствор. В результате матрикс набухает, гребни внутренней мембраны "расправляются", а внешняя мембрана, площадь которой меньше площади внутренней мембраны, разрывается, в цитозоль выходят белки апоптоза, развивается так называемый "митоптоз", инициирующий апоптотическую гибель всей нейрональной клетки [12].

Для оценки нейропротективного действия нового S-производного хиназолина при NO-индуцированной нейротоксичности были определены его эффективные концентрации. С этой целью в суспензию нейронов вносили NC 224 в концентрациях 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} М. Препарат сравнения — Тиотриазолин, вносили в концентрации 10^{-5} М [6]. Из таблицы 3 видно, что наиболее эффективной концентрацией соедине-

Таблица 3

Влияние NC-224 в различных концентрациях на процессы клеточной гибели в суспензии нейронов, преинкубированных с DNIC)

Серии	Кол-во Hoechst 3342 — позитивных клеток в видимом поле
Интакт	10,7±3,24
Контроль	95,6±8,4
Тиотриазолин, 10^{-5}	49,7±5,21*
NC (10^{-7})	57,3±5,43*
NC (10^{-5})	34,3±6,56**
NC (10^{-3})	68,6±5,6*

Примечание:

* — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю;

** — $p \leq 0,05$ по отношению к Тиотриазолину

Таблица 4

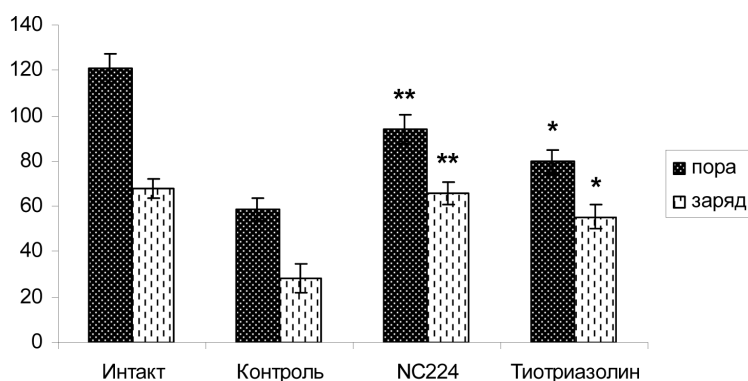
Влияние NC-224 и Тиотриазолина на показатели антиоксидантной и тиол-дисульфидной систем в суспензии нейронов и митохондрий, преинкубированных с DNIC

Показатели	Контроль (суспензия нейронов с добавлением 500 мкМ DNIC)	NC-224 10 ⁻⁵	Тиотриазолин, 10 ⁻⁵
АФГ, у.е./мг/белка	11,8±1,16	8,7±0,43*	8,96 ±0,35*
КФГ, у.е./мг/белка	5,2±0,24	3,6±0,19**	4,3±0,2*
Нитротирозин, у.е./мг/белка	38,5±1,62	28,33±0,64**	32,43±0,31*
Mn-SOD, у.е./мг/белка/мин	73,4±0,74	93,5±0,27**	87,6±0,22*
Глутатион восст, мкм/гр/ткани	0,54±0,18	1,3±0,063*	1,0±0,074*
Глутатион окисл. мкм/гр/ткани	0,47±0,042	0,28±0,017*	0,3±0,03*
Г-S-T, у.е./мг/белка	7,15±0,74	16,3±0,1*	15,9±0,18*
ГР, у.е./мг/белка	5,2±0,47	8,6±0,35**	7,6±0,37*
Глутатион, восст.(митохонд.) мкм/гр/ткани	2,11±0,10	3,42±0,11**	2,89±0,37*

Примечание:

* — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю;

** — $p \leq 0,05$ по отношению к Тиотриазолину



Влияние NC-224 на показатели митохондриальной дисфункции в суспензии нейронов, преинкубированных с DNIC (500 мкМ)).

Примечание: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю;

** — $p \leq 0,05$ по отношению к Тиотриазолину

ния NC-224 является 10^{-5} М. NC-224 (10^{-5} М), снижает количество апоптотически измененных нейронов более чем на 77% по отношению к контролю, при этом статистически достоверно ($p \leq 0,05$), превышая таковые показатели Тиотриазолина.

С целью исследования механизмов нейропротективного действия NC-224 было изучено его влияние на показатели антиоксидантной, тиол-дисульфидной систем, митохондриальной дисфункции в суспензии нейронов и митохондрий при моделировании нитрозирующего стресса.

Биохимическими исследованиями установлено, что введение в ин-

кубационную среду NC-224 (10^{-5} М) приводило к уменьшению выраженности ОМБ (снижение в среднем АФГ (на 20%), КФГ (на 37%), нитрозирующего стресса (уменьшение концентрации нитротирозина на 42%), повышение активности Mn-SOD на 28% по отношению к контрольным пробам); а также повышение концентрации восстановленного глутатиона (76%) и снижении его окисленной формы в среднем (60%). При этом в пробах, содержащих NC-224 (10^{-5} М), повышается активность ферментов тиол-дисульфидной системы — Г-S-T и ГР на 60% и 43% соответственно (табл. 4).

Внесение NC-224 в суспензию митохондрий в условиях нитрозирующего стресса приводило к повышению количества митохондриального глутатиона (38 %), а также повышению активности Mn-SOD (21 %) (табл. 4). Как видно из таблицы 4, по всем показателям соединение NC-224 достоверно превышало показатели контрольных проб, а по таким показателям как снижение уровня КФГ, нитротирозина, повышение активности Mn-SOD, глутатионредуктазы и содержания митохондриального глутатиона — тиотриазолин.

Способность NC-224 ограничивать NO-опосредованную модификацию белковых макромолекул, в особенности за счет S-превращений, обуславливает его способность более выражено, чем Тиотриазолин, снижать явления митохондриальной дисфункции. Из диаграммы 1 видно, что NC-224 ограничивало развитие митохондриальной дисфункции, тормозя открытие митохондриальной поры и сохраняя заряд митохондрий.

Таким образом, проведенными экспериментальными исследованиями была установлена высокая нейропротекторная эффективность соединения NC-224 в условиях моделирования нитрозирующего стресса.

1. Зозуля І.С. Гострі порушення мозкового кровообігу як критичні стани в невропатології / І.С. Зозуля, В.І. Боброва // Укр. неврологічний журнал. — 2006. — №1. — С. 5 — 8.
2. Соловьев А.И. Фармакология и токсикология оксида азота: два лица одной и той же молекулы / А.И. Соловьев, А.В. Стефанов // Соврем. проблемы токсикологии. 1998. № 1. С. 35 — 38.
3. Беленічев І.Ф. Антиоксидантна система захисту організму (огляд літератури) / І.Ф. Беленічев, Ю.І. Губський, Є.Л. Левицький [та інш.] // Совр. пробл. токсикол. — 2002. — №3. — С.24 — 31.
4. Dimatteo M.A. Superoxide, nitric oxide, peroxynitrite and cytokine combinations all cause functional impairment and morphological changes in rat islets of Langerhans and insulin secreting cell lines, but dictate cell death by different mechanisms / M.A. Dimatteo, A.C. Loweth, S. Thomas // Apoptosis. — 1997. — №2. — P. 164 — 169.
5. Carmody R.J. Signalling apoptosis a radical approach / R.J. Carmody, T.G. Cotter // Redox Rep. — 2001. — 6. — P. 77 — 90.
6. Губський Ю.І. Влияние производного хиначолина (ПК 66) на экспрессию генов раннего реагирования, процессы свободно — радикального окисления в тканях головного мозга при хроническом им-
7. Калинина Е.В. Участие тино — , перокси — и глутаредоксинов в клеточных редокс — зависимых процессах / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, А.Н. Саприн // Успехи биологич. химии. — 2008. — Т. 48. — С. 319 — 358.
8. Беленічев І. Ф. Фармакокоррекция патобиохимических нарушений мозговой ткани в период моделирования острой ишемии и реперфузии мозговой ткани некоторыми производными 1,2,4 — триазола / И.Ф. Беленічев // Акт. питання фармац. та мед. науки і практ. — Запоріжжя. — 1998. — Вип. 2. — Т.ІІ. — С. 10 — 16.
9. Прохорова М.И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / М.И. Прохорова — Л.: Изд — во Ленинградского университета. — 1982. — 272с.
10. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge — Oxford Press, 1999. — 248p.
11. Скромец А.А. Новые возможности нейропротекции в лечении ишемического инсульта / А.А. Скромец, Л.В. Стаховская, А.А. Белкин // Журн. неврол. и психиатрии. — 2008. — Т.22. — С. 32 — 38.
12. Беленічев І.Ф. Митохондриальная дисфункция при церебральной патологии. Нейропротекция Церебрурином / И.Ф. Беленічев, Ю.М. Колесник, С.В. Павлов [и др.] // Международный неврологический журнал. — 2008. — №4 (20). — С. 23 — 29.
13. Vanin A.F. Evidence that intrinsic iron but not intrinsic copper determines S — nitrosocysteine decomposition in buffer solution / A.F. Vanin, B. Muller, J.L. Alencar [et al.] // Nitric Oxide. — 2002. — Vol. 7 (3). — P. 194 — 209.
14. Gopalakrishna R. Protein kinase C signaling and oxidative stress / R. Gopalakrishna, S. Jaken // Free Radic. Biol. Med. — 2000. — 28. — P. 1349 — 1361.
15. Leza J.C. The effect of stress on homeostasis in JCR — LA — cprats: the role of nitric oxide / J.C. Leza, E. Salas, G. Sawicki // Pharmacol. Exp. Ther. — 1998. — №286. — P.1397 — 1403.
16. Strick A.T. Nitric oxide donor compounds inhibit the toxicity of oxidized low — density lipoprotein to endothelial cells / A.T. Strick, N., J.P. Thomas / Strick A.T., Hogg N., Thomas J.P. // FEBS Lett. — 1995. — 361. — P. 291 — 294.
17. Atlante A. Glutamate neurotoxicity in rat cerebellar granule cells: a major role for xanthine oxidase in oxygen radical formation / A. Atlante // J. Neurochem. — 1997. — Vol.68, №4. — P.2038 — 2045.

Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Павлов С.В., Моргунова С.А., Бухтиярова Н.В., Коваленко С.І., Бабенко Л.П.

ВПЛИВ S-ЗАМІЩЕНОГО ХІНАЗОЛІНУ (NC-224) НА ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ГЛУТАТІОНУ, ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МІТОХОНДРІЙ ТА АПОПТОЗУ НЕЙРОНІВ В УМОВАХ НІТРОЗУЮЧОГО СТРЕСУ IN VITRO

У статті авторами було досліджено вплив нітрозуючого стресу на стан тіол-дисульфідної системи, активності антиоксидантних ферментів, показники мітохондріальної дисфункції та типу клітинної загибелі нейронів. Показано, що внесення до інкубаційного середовища DNIC у концентрації 500 мкМ призводило до значного зміщення тіол-дисульфідної рівноваги у бік окислених тіолів, зменшення активності супероксиддисмутази, падіння заряду мітохондрій, відкриттю мітохондріальної пори та посиленню апоптозу у суспензії нейронів. Введення до інкубаційного середовища похідного хиначоліну з робочою назвою NC-224 та Тіотриазоліну у концентрації 10-5 призводило до встановлення тіол-дисульфідної рівноваги, підвищенню активності антиоксидантних ферментів та покращенню функціональних характеристик мітохондрій. За рахунок позитивної дії досліджуваних сполук на тіол-дисульфідну систему, вони були здатні деякою мірою запобігати апоптичній загибелі нейронів. За силою дії сполука NC-224 статистично вірогідно перевищувала подібну активність референт-препарату — Тіотриазоліну.

Ключові слова: нейрони, нітрозуючий стрес, тіол-дисульфіді, антиоксиданти, ферменти, мітохондрії, похідне хиначоліну, NC- 224, тіотриазолін, апоптоз.

Gubsky Y.I., Belenichev I.F., Levitsky E.L., Pavlov S.V., Morhuntsova S.A., Buhtiyarova N.V., Kovalenko S.I., Babenko L.P.

INFLUENCE OF S-SUBSTITUTION HINAZOLIN (NC-224) ON THE PARAMETERS OF THE SYSTEM OF GLUTATHION, THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MITOCHONDRIA AND APOPTOS OF NEURONS IN A NITROZ STRESS IN VITRO.

In this article the authors have investigated the impact of nitroz stress on the state of tiol-disulfide system, the activity of antioxidant enzymes, indicators of mitochondrial dysfunction and type of cells neurons death. It was shown that brining DNIC to the incubation environment in concentrations of 500 microns resulted in a significant shift tiol-disulfide balance in the direction tiol oxidized, reduced activity of superoxidisedismutase, drop charge of mitochondria, mitochondrial pore opening and increase apoptosis in suspension of neurons. Introduction to the incubation environment hinazolin with original working title of NC-224 and Tiotryazolin in concentration led to a 10.5 installation tiol-disulfide balance, increased activity of antioxidant enzymes and improve the functional characteristics of mitochondria. Due to the positive action of the investigated compounds tiol-disulfide system, they were able to partly prevent apoptotic death of neurons. By force action compound NC-224 statistical exceeded such activity of assistant-drug — Tiotryazolin.

Keywords: neuron, nitroz stress, tiol-disulfides, antioxidants, enzymes, mitochondria, derivation hinazolin, NC-224, tiotryazolin apoptos.