

## НОВЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ КАК НЕЙРОПРОТЕКТОРЫ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

М. А. Белоусова, Е. А. Корсакова, Е. А. Городецкая,  
Е. И. Каленикова, О. С. Медведев<sup>1</sup>

Заболевания центральной нервной системы занимают лидирующее место в структуре смертности. К сожалению, в настоящее время возможности их патогенетической терапии ограничены, и актуальным является поиск новых лекарственных средств с нейропротекторным механизмом действия. Одной из перспективных групп препаратов являются антиоксиданты — вещества, способные нейтрализовывать свободные радикалы и уменьшать оксидативный стресс. Данный обзор посвящен доклиническим и клиническим исследованиям новых антиоксидантов.

**Ключевые слова:** антиоксиданты; нейропротекторы; ишемический инсульт; нейродегенеративные заболевания.

В настоящее время заболевания центральной нервной системы занимают лидирующее место в структуре смертности и в причинах инвалидизации трудоспособного населения. Ежегодно более 450000 человек в России переносят мозговой инсульт, а заболеваемость такими нейродегенеративными заболеваниями, как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз и другие, продолжает неуклонно расти [69]. Несмотря на успехи современной фармакологии возможности терапии этих заболеваний остаются крайне ограниченными и актуальным является поиск новых средств для патогенетической терапии.

По имеющимся современным данным окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе ишемического инсульта и многих нейродегенеративных заболеваний [28]. Окислительный стресс — это резкое усиление окислительных процессов в организме при недостаточности системы антиоксидантной защиты. Образующиеся в процессе перекисного окисления липидов гидроперекиси представляют собой высокотоксичные соединения, которые действуют разрушающе на мембрану и структуру клетки. Разрушение липидной основы мембраны и выход большого количества жирных кислот активируют образование эйкозаноидов, способствующих агрегации форменных элементов крови, образованию фактора активации тромбоцитов и вазоконстрикции, что создает дополнительные нарушения микроциркуляции и усугубляет ишемический процесс [1]. Особо опасны свободные радикалы для митохондрий, в частности митохондриальной ДНК. Поскольку митохондрии используют большую часть всего кислорода, потребляемого клетками, максимальное количество супероксид анион радикала

(O<sup>2-</sup>) образуется именно в них. Исключительно важны упомянутые процессы именно для головного мозга, принимая во внимание последствия повреждения ДНК в нейронах мозга [8]. Активные формы кислорода (АФК) открыты более 40 лет назад, затем были синтезированы вещества, направленные на их элиминацию. Однако только в последнее десятилетие стали понятны пути, приводящие к избыточному накоплению АФК в клетке. Вещества, прерывающие каскады образования свободных радикалов или связывающие их, были названы антиоксидантами. Именно антиоксидантная фармакотерапия является одним из оптимальных направлений развития стратегии нейропротекции, поскольку позволяет обеспечить защиту нейронов от действия универсальных повреждающих факторов, лежащих в основе большинства клинических форм патологии центральной нервной системы.

По механизму действия все препараты с антиоксидантными свойствами делятся на первичные, препятствующие образованию новых свободных радикалов (преимущественно средства ферментной природы), и вторичные, способные захватывать уже образовавшиеся радикалы, то есть работающие по принципу “ловушки” (scavengers). Выделяют 2 группы антиоксидантов — ферментной и неферментной природы [46]. Первичные антиоксиданты являются ферментами и принимают непосредственное участие в нейтрализации свободных радикалов, к ним относятся: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза. Супероксиддисмутаза обеспечивает первую линию защиты организма от свободных радикалов, катализируя реакцию восстановления супероксид анион радикала в перекись водорода, которая затем под действием каталазы или глутатионпероксидазы восстанавливается с образованием воды и кислорода. Селенсодержащий фермент глутатионпероксидаза утилизирует перекись водорода, используя ее для окисления восстановленного глутатиона. Глутатионре-

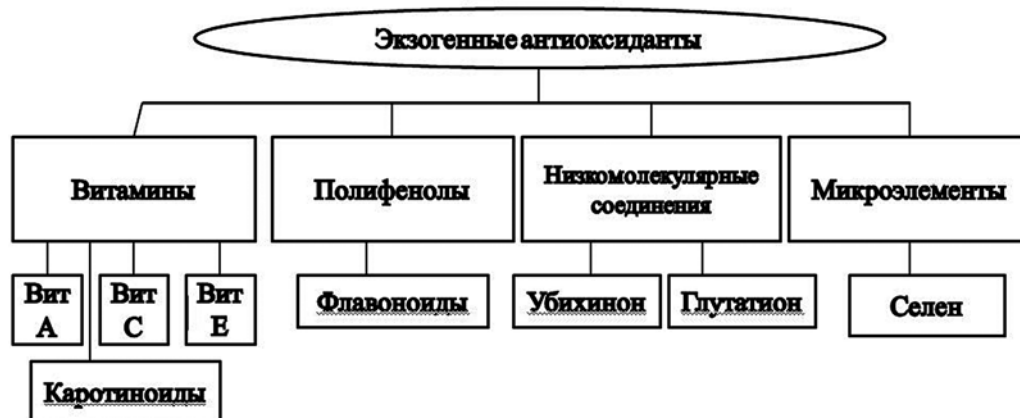
<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО “Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова”, факультет фундаментальной медицины, 119192, Москва, Ломоносовский пр., д. 31, корп. 5.

дуктаза восстанавливает глутатион, используя НАДФН в качестве донора электронов. Кроме этого, глутатионпероксидаза уменьшает образование продуктов окисления липидов путем окисления глутатиона [46]. В настоящее время, несмотря на свою перспективность, прямые антиоксиданты редко применяются в клинической практике из-за их быстрой инактивации, большой молекулярной массы и неспособности проникать через гематоэнцефалический барьер [1].

Антиоксиданты неферментной природы, в свою очередь, могут быть разделены на вещества эндогенного и экзогенного происхождения и их синтетические аналоги. Эндогенные антиоксиданты вырабатываются клетками организма, к ним относятся альфа-липоевая кислота, коэнзим Q<sub>10</sub>, глутатион, мелатонин и т.д. Экзогенные антиоксиданты не синтезируются в организме и поступают с пищей или в качестве пищевых добавок и чаще всего являются веществами растительного происхождения. Среди них выделяют 4 основные группы [14]: витамины (витамины E, C, каротиноиды), полифенолы (флавоноиды), низкомолекулярные соединения, являющиеся синтетическими аналогами эндогенных антиоксидантов (глутатион, убихинон) и микроэлементы (селен) (рисунок). Данная статья посвящена обзору доклинических и клинических исследований антиоксидантов неферментной природы.

Одним из перспективных направлений в разработке препаратов для лечения заболеваний нервной системы является исследование синтетических аналогов эндогенных антиоксидантов в качестве нейропротекторов. Эти вещества являются потенциально безопасными, их терапевтический диапазон достаточно широк, риск развития побочных эффектов сведен к минимуму. Такой эндогенный антиоксидант как коэнзим Q<sub>10</sub> был обнаружен более 60 лет назад, а за открытие его роли в цепи переноса электронов и процессах окислительного фосфорилирования в 1978 г. Питер Митчелл был удостоен Нобелевской премии. Коэнзим Q<sub>10</sub> (убихинон, убидекаренол) является жирорастворимым коферментом. Он располагается на внутренней мембране митохондрий в цепи переноса электронов и участвует в переносе электронов с НАДФ-дегидрогеназного комплекса (комплекс I) и сукцинатдегидрогеназного комплекса II на комплекс III, участвуя, таким образом, в синтезе молекул аденозинтрифосфата (АТФ). В качестве терапевтического агента с антиоксидантным механизмом действия коэнзим Q<sub>10</sub> изучается уже более 20 лет, и в последнее время интерес к нему сильно возрос. Проведено множество исследований, показывающих терапевтический эффект длительного перорального приема коэнзима Q<sub>10</sub> как в экспериментальных исследованиях на модели болезни Паркинсона у животных, так и в клинических исследованиях. Показан выраженный терапевтический эффект от длительного перорального приема коэнзима Q<sub>10</sub> в высоких дозах (до 1200 мг/сут на протяжении 16 мес), при этом препарат хорошо переносился больными и отмечалось за-

медление прогрессирования заболевания [57]. В исследовании [37] на модели паркинсонизма у мышей показана эффективность перорального приема коэнзима Q<sub>10</sub>, выражающаяся в уменьшении гибели дофаминергических нейронов, а также описан возможный механизм нейропротекции — ингибирование высвобождения митохондриального цитохрома C [37]. В январе 2014 г. канадские и американские ученые опубликовали результаты исследования коэнзима Q<sub>10</sub> как нейропротектора при болезни Паркинсона. Опыты проводились на модели с прогрессирующей нигростриальной дегенерацией, вызванной внутрибрюшинными инъекциями параквата крысам. В результате исследования установлено, что коэнзим Q<sub>10</sub>, примененный перорально (в дозе 6 мг/кг), остановил прогрессирование нейродегенерации и оказал защитное действие на поврежденные нейроны [38]. Также длительный пероральный прием коэнзима Q<sub>10</sub> в высоких дозах показал свою эффективность при таких нейродегенеративных заболеваниях как болезнь Альцгеймера, хорея Хантингтона, атаксия Френдриха и боковой амиотрофической склероз. В исследовании [21] на модели болезни Альцгеймера (Tg19959) у мышей коэнзим Q<sub>10</sub> снижал окислительный стресс и образование амилоида, улучшал поведенческие характеристики животных. У мышей, получавших перорально 0,4 % раствор коэнзима Q<sub>10</sub>, уровни белковых карбониллов и бета-амилоида, маркеров окислительного стресса, в головном мозге были достоверно ниже, чем в группе контрольных животных. Важно отметить, что мыши, получавшие препарат, показывали улучшение познавательной активности в тесте водного лабиринта [21]. В исследовании [62] на трансгенных мышях длительный пероральный прием коэнзима Q<sub>10</sub> в дозе 1200 мг в день в течение 60 дней приводил к снижению уровня малонового диальдегида и предотвращению избыточного накопления бета-амилоида [62]. В исследовании [58] на модели болезни Хантингтона у мышей был показан дозозависимый эффект от перорального приема коэнзима Q<sub>10</sub> в дозах от 1000 до 20000 мг/кг в день. У животных, получавших препарат, увеличивалась продолжительность жизни, улучшалась двигательная активность, а также снижалась степень мозговой и стриатумной нейрональной дегенерации и накопление патологического Htt-белка [58]. Необходимо отметить, что на сегодняшний день патогенез данных заболеваний остается мало изученным, и возможности патогенетической терапии крайне ограничены. Помимо изучения эффективности при нейродегенеративных заболеваниях, коэнзим Q<sub>10</sub> также изучается как потенциальный нейропротектор при ишемических повреждениях головного мозга. В исследовании [66] на модели ишемии-реперфузии мозга (пережатие сонной артерии на 15 мин) показано, что пероральный превентивный прием коэнзима Q<sub>10</sub> в дозе 450 мг/кг в течение 7 дней приводил к уменьшению выраженности воспаления и ограничению зоны повреждения головного мозга. Ав-



Классификация экзогенных антиоксидантов.

торами был предложен возможный механизм нейропротекторного действия коэнзима  $Q_{10}$  — ингибирование экспрессии гена проапоптотического белка Вах и увеличения антиапоптотического белка Bcl-2 [66]. Полученные данные подтверждаются результатами ученых из Кореи, показавших антиапоптотическую активность коэнзима  $Q_{10}$  *in vitro* на модели гипоксии на культурах нейрональных стволовых клеток [44]. Применение коэнзима  $Q_{10}$  в urgentных ситуациях, таких как ишемический инсульт или травматическое повреждение головного мозга, ограничено отсутствием его лекарственных форм для парентерального введения. При этом существуют экспериментальные лекарственные формы солюбилизованного коэнзима  $Q_{10}$ , которые подходят для парентерального введения в условиях эксперимента. В исследовании [6] показано, что интраперитонеальное введение солюбилизованного коэнзима  $Q_{10}$  в дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 6 недель крысам, подвергшимся облучению, приводило к уменьшению пострадиационного повреждения головного мозга, что выражалось в уменьшении высвобождения  $Ca^{2+}$  и малонового диальдегида, а также в повышении активности эндогенных антиоксидантных систем — лактатдегидрагеназы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы [6].

Еще одним эндогенным антиоксидантом является альфа-липовая (тикоевая) кислота. Это тиоловое соединение — внутримолекулярный дисульфид, который является природным компонентом клеток и тканей растений и животных, синтезируется эндогенно, а также поступает в организм человека с пищей. Тиоловые соединения способны накапливаться в мозге и обладают выраженным защитным антиоксидантным действием в условиях гипоксии и ишемии. Альфа-липовая кислота является коферментом, входящим в состав энзимов группы кокарбоксилаз [4]. В организме она образует динамичную окислительно-восстановительную систему, которая участвует в переносе ацильных групп в составе многокомпонентных ферментных

систем. Основное физиологическое значение имеет ее участие в качестве кофактора в окислительном декарбоксилировании альфа-кетокислот в цикле Кребса, что определяет важную роль альфа-липоевой кислоты в процессах энергообеспечения организма. Мощные антиоксидантные свойства альфа-липоевой кислоты обусловлены наличием 2 тиоловых групп в ее молекуле, а также способностью связывать молекулы радикалов и свободное тканевое железо, предотвращая его участие в процессах перекисного окисления липидов. Таким образом альфа-липовая кислота действует как ингибитор образования и как ловушка для свободных радикалов [12]. Получены также убедительные доказательства того, что альфа-липовая кислота не только обладает самостоятельным антиоксидантным потенциалом, но и потенцирует работу других антиоксидантных систем организма [51]. В исследовании [61] на модели субарахноидального кровоизлияния у крыс показано, что трехдневный пероральный прием альфа-липоевой кислоты приводил к достоверному уменьшению отека мозга, улучшению неврологических показателей путем угнетения апоптотического каскада и снижения окислительного стресса. В исследовании [18] на модели ишемического инсульта у крыс показано, что превентивное внутривенное введение альфа-липоевой кислоты приводило к достоверному уменьшению размера очага поражения мозга, при этом эффект был дозозависимым. Однако введение препарата непосредственно перед реперфузией (через 30 мин после начала окклюзии) не приводило к уменьшению очага поражения и изменению каких-либо других биохимических параметров. Таким образом, исследователи предполагают возможную терапевтическую роль альфа-липоевой кислоты при ее превентивном приеме пациентами, находящимися в группе риска по ишемическим повреждениям головного мозга [18]. В исследовании [50] на экспериментальной модели травматического повреждения головного мозга у крыс показано, что применение альфа-липоевой ки-

слоты приводит к улучшению ангиогенеза, увеличению синтеза глутатиона и задержке формирования постинфарктного глиального рубца в головном мозге [50]. Полученные данные послужили основанием для внедрения альфа-липоевой кислоты в клинику в качестве адьювантной терапии при ишемических повреждениях головного мозга. Так, в остром периоде ишемического инсульта введение альфа-липоевой кислоты в дозе 1200 мг/сут внутривенно капельно в течение 5 сут способствовало уже на 1 – 2 сут уменьшению общемозговых симптомов, восстановлению двигательных функций и уменьшению чувствительных расстройств при оценке по шкале NIHSS [67]. При долговременном наблюдении, в соответствии с оценкой функциональных исходов инсульта по шкале Ренкина, на 60 день выявились достоверные отличия между основной и контрольной группами в пользу пациентов, получавших альфа-липоевую кислоту. При хронических нарушениях мозгового кровообращения II – III стадии (в том числе и постинсультной природы) курс терапии альфа-липоевой кислотой (14 недель в дозе 300 мг/сут внутривенно капельно) способствовал уменьшению выраженности психоэмоциональных расстройств, улучшению когнитивных функций, уменьшению проявлений цефалгического, вестибуло-мозжечкового и астенического синдромов при оценке по различным шкалам. Особенно важным представляется корреляция уменьшения неврологической и психоэмоциональной симптоматики с биохимическими параметрами снижения активности процессов свободнорадикального окисления, что убедительно свидетельствует о непосредственном антиоксидантном механизме действия альфа-липоевой кислоты. Так, после завершения курса лечения альфа-липоевой кислотой у пациентов выявилось достоверное повышение окислительной устойчивости плазмы, увеличение количества восстановленных SH-групп, повышение связывающей способности альбумина, в то время как в группе сравнения подобной динамики практически не наблюдалось. Важно подчеркнуть, что на втором этапе данного исследования при продолжении лечения альфа-липоевой кислотой в течение 4 недель в той же дозе, но перорально, отмечалась дальнейшая нормализация биохимических параметров плазмы, что доказывает целесообразность долговременной терапии ишемического инсульта альфа-липоевой кислотой [3]. Таким образом, проведенные исследования убедительно свидетельствуют о непосредственной роли антиоксидантных механизмов действия альфа-липоевой кислоты в реализации ее клинических эффектов.

Альфа-липоевая кислота активно изучается как нейропротекторный агент не только при ишемических повреждениях мозга, но и при нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Паркинсона, диабетическая нейропатия, рассеянный склероз и др. Так, в исследовании [27] на крысах было показано, что превентивная терапия альфа-липоевой кислотой приводит

к уменьшению гибели нейронов в черной субстанции, к усилению активности супероксиддисмутазы, тогда как уровень токсичного малонового диальдегида достоверно снижался [27]. Эти результаты согласуются с данными, полученными в [65]. В эксперименте на ротеноновой модели паркинсонизма показано, что пероральный прием альфа-липоевой кислоты приводит к уменьшению мышечной ригидности крыс и усилению их активности, а также к уменьшению окислительного стресса в головном мозге за счет снижения уровня липоперекисей [65].

В последнее время все больше исследований направлено на изучение эффективности растительных антиоксидантов, таких как леонурин, кверцетин и ресвератрол, в качестве потенциальных нейропротекторов. Леонурин является алкалоидом, выделенным из травы пустырника (*herba Leonurus*), обладает антиоксидантной, антиагрегантной и антиапоптотической активностью. Леонурин так же проявляет утеротоническое, кардиопротекторное действие и снижает тонус гладких мышц сосудов, вероятно, путем ингибирования входа ионов  $Ca^{2+}$  в клетки [48]. Группа ученых из Китая и Сингапура в 2010 г. провела исследование, показавшее нейропротекторную активность леонурина на модели окклюзии среднемозговой артерии у крыс. В экспериментах было показано, что превентивное лечение леонурином (в дозе 60 мг/кг в день в течение 7 дней) уменьшает объем пораженной зоны головного мозга, снижает неврологический дефицит, увеличивает активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы) и угнетает перекисное окисление липидов (ПОЛ). Установлено, что леонурин восстанавливает функции митохондрий, ингибируя выработку активных форм кислорода митохондриями и увеличивая биосинтез АТФ [33]. Терапевтический эффект леонурина подтверждают и результаты исследования других китайских ученых [32]. Эксперимент был проведен на той же модели (окклюзия среднемозговой артерии у крыс), но препарат вводили внутрибрюшинно спустя 2 ч после операции (в дозе 15 мг/кг) и на следующий день после нее. Показано, что леонурин существенно снижает неврологический дефицит, уменьшает отек мозга и уменьшает размер очага поражения головного мозга после перенесенного ишемического инсульта. Механизм нейропротекторного действия препарата авторы связывают с увеличением активности эндогенных антиоксидантных систем (супероксиддисмутазы и каталазы), увеличением экспрессии гена белка UCP4 и гена белка-регулятора апоптоза Bcl-2, с уменьшением экспрессии гена проапоптотического белка Вах, снижением уровня малонового диальдегида и улучшением ультраструктуры митохондрий [32]. Изучено нейропротекторное действие леонурина на фоне дисфункции митохондрий коры головного мозга, вызванной церебральной ишемией-реперфузией [48]. Результаты применения леонурина (в дозе 60 мг/кг) в течение 1 нед перед

окклюзией среднемозговой артерии показали, что препарат значительно улучшает неврологический статус, снижает уровень активных форм кислорода в митохондриях и экспрессию гена проапоптотического белка Вах, увеличивает экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2, тем самым проявляя антиапоптотическую активность [48]. Нейропротекторное действие очищенного экстракта травы *Leonurus*, содержащего леонурина, было исследовано на модели окклюзии среднемозговой артерии у крыс [34]. Результаты показали, что лечение препаратом значительно уменьшает объем пораженной области головного мозга, увеличивает концентрацию эндогенных антиоксидантов в плазме крови, уменьшает оксидативный стресс, снижает уровень апоптотических и проапоптотических белков, увеличивая уровень антиапоптотических белков [34]. Полученные данные служат доказательной базой для проведения дальнейших исследований леонурина с целью возможного внедрения его в клиническую практику в качестве дополнительной терапии при ишемическом повреждении головного мозга.

В последнее время появилось много исследований другого природного антиоксиданта и нейропротектора кверцетина — биологически активного вещества из группы флавоноидов, обладающего антиоксидантным, противоопухолевым, иммуномоделирующим эффектами. Кверцетин улучшает клеточный метаболизм, укрепляет сосудистую стенку и снижает ее проницаемость, проявляет антигистаминное действие [67]. Среди других биофлавоноидов кверцетин отличается выраженной антиоксидантной активностью, он проявляет свойства модулятора активности ферментов, принимающих участие в деградации фосфолипидов (фосфолипаз, фосфогеназ, циклооксигеназ), влияющих на свободно-радикальные процессы и отвечающих за биосинтез оксида азота, протеиназ и др. Кверцетин дозозависимо повышает уровень оксида азота в эндотелиальных клетках, что объясняет его кардиопротекторное действие при ишемическом и реперфузионном поражении миокарда [15]. Он проявляет также антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства, снижает выработку цитотоксического супероксид-анион-радикала. Снижая продукцию провоспалительных цитокинов интерлейкинов-1 $\beta$  и -8, кверцетин способствует уменьшению объема некротизированного миокарда и усиливает репаративные процессы в тканях. Нейропротекторное действие кверцетина исследовано учеными из Тайваня на модели окклюзии среднемозговой артерии у крыс. Результаты показали, что кверцетин совместно с определенными физическими упражнениями значительно снижает окислительный стресс, уменьшает объем поражения головного мозга, увеличивает антиоксидантную и антиапоптотическую активность клеток организма и увеличивает двигательную активность животных. Физические упражнения в сочетании с лечением кверцетином показали лучшие результаты, чем без его использования. Авто-

рами предложен возможный механизм действия препарата: кверцетин улучшает опосредованное физическими упражнениями функциональное восстановление после ишемии головного мозга путем регуляции активности киназ PI3K/Akt, стимулирующих антиоксидантную и антиапоптотическую активность клеток [16]. Проведенные эксперименты показали, что апоптоз играет важную роль в патогенезе ишемии головного мозга и, следовательно, может представлять собой мишень для лечения этого состояния. Выявлено, что кверцетин ингибирует апоптоз клеток на модели фокальной церебральной ишемии головного мозга у крыс, и механизм его действия может быть связан с активацией антиапоптотического BDNF-TrkB-PI3K/Akt сигнального пути [63]. Доказано, что кверцетин замедляет прогрессирование ишемического повреждения ткани головного мозга и нейродегенеративных заболеваний путем защиты клеток от окислительного стресса. Проведено исследование, направленное на изучение влияния кверцетина на окислительный стресс и отек головного мозга на модели субарахноидального кровоизлияния у крыс. Полученные данные свидетельствуют о том, что кверцетин в высокой дозе (50 мг/кг) не только значительно усиливает деятельность эндогенных антиоксидантов — супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, но и снижает уровень свободных радикалов и уровень малонового диальдегида, уменьшает отек мозга и улучшает неврологический статус крыс [20].

Выраженной нейропротекторной активностью обладает другой представитель природных антиоксидантов — ресвератрол, который содержится в кожце и семенах винограда, в арахисе, красном вине. Кроме прямой антиоксидантной активности ресвератрол, как показывают недавние исследования, усиливает активность эндогенных антиоксидантных систем организма, которые запускают каскад параллельных нейропротекторных путей [45]. Все больше экспериментов *in vitro* и *in vivo* показывают, что ресвератрол посредством множества сигнальных путей уменьшает ишемическое повреждение в жизненно-важных органах, таких как сердце и мозг. Эффективность препарата связана с его антиоксидантной, противовоспалительной и антиапоптотической активностью [42]. Ресвератрол уменьшает оксидативный стресс, нейтрализует свободные радикалы и косвенно увеличивает эндогенную клеточную антиоксидантную защиту организма через активацию пути Keap1-Nrf2 [26]. Транскрипционный фактор Nrf2 играет ключевую роль в защите клеток от оксидативного стресса путем регуляции экспрессии маркеров воспаления и антиоксидантных ферментов. В норме в ядре клетки Nrf2 связан с репрессорным белком Keap1, который подавляет активность Nrf2. В условиях окислительного стресса комплекс Keap1-Nrf2 диссоциирует, что позволяет Nrf2 накапливаться в ядре и индуцировать ARE-опосредованную экспрессию генов эндогенных антиоксидант-

ных ферментов, таких как глутатионпероксидаза и супероксиддисмутаза [60]. Ресвератрол увеличивает транскрипционную активность Nrf2, а также регулирует активность других Nrf2-зависимых генов, участвующих в метаболизме свободных радикалов. Установлено, что ресвератрол нейтрализует супероксид- и металл-индуцированные радикалы, а также проявляет антиоксидантную активность в культуре клеток, продуцирующих активные формы кислорода, защищает мембраны клеток от ПОЛ. Исследования показали, что длительный прием пищи, богатой ресвератролом (виноград, арахис, красное вино) препятствует старению организма и задерживает возрастное снижение когнитивных функций. Механизм такого действия может быть связан с активацией нескольких путей: через увеличение уровня цАМФ, увеличение активности PGC-1 $\alpha$  и SIRT1 [10]. Результаты исследования [49] на модели фокальной церебральной ишемии-реперфузии у крыс показали, что превентивное лечение крыс ресвератролом (в дозе 30 мг/кг) в течение 7 дней до окклюзии среднетазовой артерии и через 30 мин после операции значительно снижает неврологический дефицит, уменьшает отек и объем пораженной зоны головного мозга. Кроме того, уменьшается окислительный стресс за счет регуляции экспрессии фактора транскрипции Nrf2 и гемоксигеназы HO1, восстанавливается активность супероксиддисмутазы и снижается уровень малонового диальдегида [49]. Показано, что ресвератрол ослабляет митохондриальный и клеточный окислительный стресс, индуцированный гипергликемией в культурах эндотелиальных клеток [59]. По результатам недавнего исследования на модели окклюзии среднетазовой артерии у крыс ресвератрол значительно ограничивает индуцированное ишемией снижение уровня пероксиредоксина-5 (антиоксидантного фермента, угнетающего апоптоз), увеличивает экспрессию НАД<sup>+</sup>-зависимой изоцитрат дегидрогеназы, аполипопротеина А-I и ингибирует ПОЛ [53 – 55]. Таким образом, изучение растительных антиоксидантов в качестве нейропротекторов является важным и перспективным направлением в клинической нейрофармакологии.

Одним из потенциальных нейропротекторов, активно изучаемых в последнее время, является эбселен — селенсодержащее органическое соединение, которое является аналогом глутатионпероксидазы. Эбселен обладает множеством биологических эффектов, включая противовоспалительный эффект, мощную антиоксидантную активность, выражающуюся в способности предотвращать образование свободных радикалов, например, пероксинитрит-радикал проявляет антиапоптотическую активность. В последнее время были открыты новые механизмы его действия — эбселен работает как “ловушка” свободных радикалов, возникающих при активации NMDA-рецепторов и уменьшает количество липоперексидов, возникающих из-за глутамат-индуцированной эксайтотоксичности.

Открытые механизмы являются крайне важными, так как именно эти звенья играют ключевую роль в патогенезе повреждения мозга при ишемическом инсульте [30]. На модели коркового инсульта у крыс показано, что применение эбселена приводило к достоверному уменьшению повреждения нейронов, уменьшало оксидативный стресс и замедляло отсроченную гибель нейронов в очаге поражения [24]. На модели тромбоэмболического инсульта американские исследователи показали, что эбселен оказывает время- и дозозависимый эффект, выражающийся в улучшении неврологического статуса животных и уменьшении очага поражения, однако имеет очень узкое терапевтическое окно. Таким образом, по мнению ученых, наилучшим терапевтическим эффектом эбселен будет обладать при одновременном введении с тромболитическими препаратами, например, с тканевым активатором плазминогена [30]. Полученные данные подтверждаются учеными из Токийского университета, показавшими на модели глобальной ишемии мозга нейропротекторный эффект эбселена, выражающийся в уменьшении количества глутамата и аспартата, уменьшении размеров очага поражения головного мозга, а также в уменьшении уровней внеклеточного нитрита и нитрата [29]. В настоящее время проходит третья фаза клинических исследований эбселена на пациентах с ишемическим инсультом, и уже имеются данные о его клинической эффективности у некоторых пациентов [68]. Другой органический антиоксидант — эдаравон, фенольное соединение, сходное с NXY-059 по структуре и механизму действия, также показал способность захватывать свободные гидроксильные радикалы, уменьшать оксидативный стресс и оказывать антиапоптотический эффект [25, 64]. В доклинических исследованиях он оказался менее эффективным, чем эбселен [17], однако продемонстрировал определенную терапевтическую эффективность в клинических исследованиях пациентов с лакунарным инсультом [41].

Одним из самых перспективных нейропротекторов-антиоксидантов за последние 10 лет был препарат NXY-059 (2,4-дисульфобензил-N-бутилнитрон). Это нитронное соединение работает как “ловушка” свободных радикалов и потенциально способно препятствовать гибели нейронов при ишемических повреждениях головного мозга. Множество доклинических исследований на грызунах показало эффективность NXY-059, выражающуюся как в улучшении неврологического статуса животных, в уменьшении размеров очага поражения головного мозга, так и в улучшении биохимических параметров, в том числе уменьшении окислительного стресса, увеличении количества антиоксидантных и уменьшении количества прооксидантных систем [9]. Проведенный мета-анализ данных показал, что зона поражения головного мозга у животных, получавших препарат была в среднем на 43 % меньше, чем у контрольных животных [35]. Для того,

чтобы максимально приблизить экспериментальную модель к клинической практике исследование проводилось на приматах, на которых также была показана его высокая терапевтическая активность [36]. По результатам проведенных исследований NXY-059 соответствовал всем рекомендациям STAIR (Stroke Therapy Academic Industry Roundtable) и представлялся крайне многообещающим в терапии ишемического инсульта у пациентов. В первом клиническом исследовании SAINT I препарат NXY-059 показал впечатляющие результаты: у пациентов, получавших препарат, неврологический дефицит был гораздо менее выражен, а процент инвалидности был ниже, по сравнению с пациентами, не получавшими препарат. Также у пациентов, получавших препарат в сочетании с тромболитической терапией, процент геморрагических осложнений был достоверно ниже [31]. Однако полученные данные не удалось воспроизвести во втором более масштабном исследовании SAINT II [56], и мета-анализ данных не показал достоверных различий в применении NXY-059 и плацебо [19]. Отсутствие терапевтического эффекта в клинических исследованиях многие ученые связывают с ненадлежащим качеством проведения доклинических исследований [36], так только 9 % исследований на модели окклюзии средней мозговой артерии у крыс сочетались с измерением степени снижения кровотока в бассейне данной артерии [47]. В большинстве исследований отсутствовал слепой метод и рандомизация животных, что также может сказываться на достоверности полученных данных. Наиболее вероятной причиной отсутствия терапевтической эффективности NXY-059 в клинике является несоответствие терапевтического окна введения препарата в эксперименте и в клинической практике. Самый отдаленный срок введения препарата в доклинических исследованиях составлял 4 ч после начала ишемии, при этом критерий включения пациентов в исследование SAINT II — 6 ч [52].

Еще одним перспективным препаратом, работающим по принципу “ловушки” свободных радикалов, является природный нейропептид карнозин (бета-аланил-L-гистидин). Он обладает широким спектром биологического действия: способностью выполнять функции рН-буфера, связывать ионы тяжелых металлов, а также проявлять прямое антиоксидантное действие, как в экспериментальных, так и клинических исследованиях. Ученые начали активно изучать карнозин более 10 лет назад, тогда появились первые доказательства его антиоксидантной, антитоксической и нейропротекторной активности [13]. Несмотря на то, что карнозин активно исследуется в качестве терапевтического агента при многих патологиях, среди которых глаукома, сахарный диабет, метаболический синдром и даже онкологические заболевания, наибольшее количество исследований посвящено изучению его нейропротекторной роли при ишемических повреждениях мозга и нейродегенеративных заболеваниях [7]. В исследова-

нии [43] был показан дозозависимый эффект при интраперитонеальном введении карнозина на модели фокальной ишемии у крыс. Было показано, что введение карнозина приводило к достоверному ограничению зоны некроза головного мозга и зоны пенумбры, а также к увеличению активности эндогенной супероксиддисмутазы [43]. В России изучением карнозина занимаются ученые из лаборатории нейрхимии научного центра неврологии РАМН. В их исследованиях *in vitro* и *in vivo* показана высокая антиоксидантная и нейропротекторная активность карнозина, выявлено влияние карнозина на экспрессию генов, участвующих в регуляции апоптоза (Bcl-2, Bax, NF-k-B), и генов антиоксидантных ферментов (Mn-SOD) на клеточной культуре РС-12 и культуре гранулярных клеток мозжечка. Показано, что антиапоптотическое влияние карнозина в условиях окислительного стресса сопровождается увеличением соотношения Bcl-2/Bax на уровне мРНК и белка. Учеными показано, что карнозин уменьшает эксайтотоксичность NMDA-рецепторов, предотвращает индукцию гибели нейронов при действии неблагоприятных факторов, смягчает неврологическую симптоматику и уменьшает смертность животных после экспериментальной ишемии головного мозга [5]. Также показано защитное действие карнозина на культуру клеток при действии акролеина — наиболее токсичного продукта ПОЛ, входящего в число патогенетически значимых биомаркеров ишемического инсульта и нейродегенеративных заболеваний [2].

Одним из интересных направлений исследований в фармакологической нейропротекции является разработка ученых из Японии — использование воды, обогащенной молекулярным водородом (H<sub>2</sub>). Учеными показано, что вдыхание газовой смеси с повышенным содержанием водорода (до 4 %), а также использование H<sub>2</sub>-обогащенной воды приводило к уменьшению ишемических реперфузионных поражений мозга, а также уменьшало окислительный стресс [23]. Исследователями доказана способность молекулярного водорода селективно нейтрализовывать гидроксильный и пероксинитрильный радикалы, наиболее активные формы кислорода [39]. Проведено множество исследований безопасности и эффективности применения молекулярного водорода *in vitro* на культурах клеток и на моделях различных заболеваний у животных. Так, на модели болезни Паркинсона у мышей показано, что кормление мышей питьевой водой, обогащенной водородом, вместо обычной воды, приводило к снижению окислительного стресса в головном мозге и, в результате, к уменьшению гибели дофаминергических нейронов [22]. Полученные в экспериментах на животных данные послужили основой для проведения клинических исследований молекулярного водорода. Так, в 2013 г. проведено исследование на 38 пациентах, перенесших острый ишемический инсульт. Пациентам вводили внутривенно физиологический раствор, обогащенный молекулярным водородом, при этом не от-

мечалось возникновения побочных эффектов и, таким образом, была подтверждена безопасность применения молекулярного водорода [40]. Исследования эффективности молекулярного водорода при различных патологиях центральной нервной системы продолжают.

Помимо терапевтической эффективности антиоксидантов при нейродегенеративных заболеваниях и ишемических поражениях головного мозга их протекторный эффект может быть использован для снижения побочных эффектов лекарственных препаратов. Так, в 2013 г. индийскими учеными была проведена оценка возможной эффективности применения антиоксидантов при лечении побочных эффектов, вызванных химиотерапией больных раком. Исследовали нейропротекторный эффект комбинации глутамата натрия с 3 отдельными антиоксидантами, а именно, с ресвератролом, альфа-липоевой кислотой и коэнзимом Q<sub>10</sub> в цисплатин-индуцированной модели периферической нейропатии у крыс. Цисплатин, препарат платины, является эффективным противоопухолевым средством, но его использование ограничивается из-за серьезных побочных эффектов, таких как периферическая нейропатия и нефротоксичность. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при лечении крыс комбинацией глутамата натрия с антиоксидантами обеспечивается нейропротекторный эффект. Максимальная нейропротекция наблюдалась при сочетании глутамата натрия с ресвератролом. Нейропротекторный эффект ресвератрола, вероятно, связан с его антиоксидантной активностью, улучшением кровоснабжения нерва и восстановлением скорости передачи нервного сигнала. Исследование показало, что альфа-липоевая кислота повышает уровни эндогенных антиоксидантов и предотвращает ПОЛ. Этими данными можно объяснить нейропротекторную роль альфа-липоевой кислоты. Показано, что коэнзим Q<sub>10</sub> смог остановить цисплатин-индуцированное окислительное повреждение путем увеличения экспрессии эндогенных антиоксидантов, предотвращая ПОЛ и проявляя, таким образом, нейропротекторную активность. Таким образом, сочетание глутамата с ресвератролом, альфа-липоевой кислотой или с коэнзимом Q<sub>10</sub> оказывало нейропротекторный эффект против цисплатин-индуцированной нейротоксичности путем увеличения уровней эндогенных антиоксидантов, предотвращения ПОЛ и улучшения скорости передачи нервного сигнала. Результаты исследования направлены на проведение будущих клинических испытаний этих препаратов у больных раком, которым совместное применение нейропротекторов требуется для предотвращения нейротоксичности [11].

Таким образом, стратегия фармакологической нейропротекции сегодня занимает ведущее место в перечне подходов к лечению острых и хронических нарушений мозгового кровообращения, нейродегенеративной патологии и энцефалопатий различного генеза. При

этом, как показывают результаты исследований последних лет, использование препаратов преимущественно антиоксидантного типа действия является крайне перспективным. Данные препараты безопасны, имеют большую терапевтическую широту, а также представляют собой потенциально патогенетический вид терапии, направленной не на снижение симптомов заболевания, а на прямое устранение повреждающих факторов. Многообещающие результаты изучения антиоксидантов в доклинических исследованиях, безусловно, требуют подтверждения в клинических испытаниях, однако позволяют надеяться на расширение арсенала средств в терапии заболеваний центральной нервной системы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00126).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия головного мозга*, Медицина, Москва (2001).
2. Е. В. Коновалов, Т. Н. Федорова, М. Г. Маклецова, Т. Т. Березов, *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, **6**, 43 – 48 (2013).
3. М. М. Одинак, И. А. Вознюк, Е. В. Мельникова и др., *Consilium Medicum*, **7**(8), 179 – 183 (2007).
4. Э. Ю. Соловьева, О. П. Миронова, О. А. Баранова и др., *Ж. неврол. психиатр.*, **108**(6), 37 – 42 (2008).
5. Т. Н. Федорова, С. Л. Стволинский, Д. Доброта, А. А. Болдырев, *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, **1**, 41 – 44 (2002).
6. А. А. Abd-El-Fattah, М. М. El-Sawalhi, Е. R. Rashed, М. А. El-Ghazaly, *Int. J. Radiat Biol.*, **86**(12), 1070 – 1078 (2010).
7. I. Ansurudeen, V. G. Sunkari, J. Grünler, et al., *Amino Acids*, **43**, 127 – 134 (2012).
8. G. Barja, *Trends Neurosci*, **27**, 595 – 600 (2004).
9. P. Bath, L. Gray, A. Bath, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **157**, 1157 – 1171 (2009).
10. J. A. Baur, K. J. Pearson, N. L. Price, *Nature*, **444**, 337 – 342 (2006).
11. N. Bhadri, T. Sanji, H. M. Guggilla, R. Razdan, *Sci. World J.*, **30**, 1 – 8 (2013).
12. A. Bilska, L. Wlodek, *Pharmacol. Rep.*, **57**, 570 – 577 (2005).
13. S. Budzeń, J. Rymaszewska, *Adv. Clin. Exp. Med.*, **22**(5), 739 – 744 (2013).
14. P. Chabert, C. Anger, J. Pincemail, V. B. Schini-Kerth, *Systems biology of free radicals and antioxidants*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (2014).
15. K. Chan, X. D. Han, Y. W. Kan, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 4611 – 4616 (2001).
16. H. C. Chang, Y. R. Yang, P. S. Wang, R. Y. Wang, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **46**(10), 1908 – 1916 (2014).
17. V. E. Collins, M. R. Macleod, G. A. Donnan, *An. Neurol.*, **59**, 67 – 477 (2006).
18. B. J. Connell, M. Saleh, B. V. Khan, T. M. Saleh, *Brain Res.*, **23**, 128 – 136 (2011).
19. H.-C. Diener, K. R. Lees, P. Lyden, et al., *Stroke*, **39**, 1751 – 1758 (2008).
20. Y. S. Dong, J. L. Wang, D. Y. Feng, et al., *Int. J. Med. Sci.*, **11**(3), 282 – 290 (2014).
21. M. Dumont, K. Kipiani, F. Yu, et al., *J. Alzheimers Dis.*, **27**(1), 211 – 223 (2011).
22. K. Fujita, T. Seike, N. Yutsudo, et al., *PLoS One.*, **4**(9), 7247 (2009).
23. K. Hayashida, M. Sano, N. Kamimura, et al., *J. Am. Heart Assoc.*, **1**(5) (2012).



24. M. He, S. Xing, B. Yang, et al., *Brain Res.*, **1181**, 83 – 92 (2007).
25. Y. Higashi, D. Jitsuiki, K. Chayama, M. Yoshizumi, *Recent Pat. Cardiovasc. Drug Discov.*, **1**, 85 – 93 (2006).
26. N. G. Innamorato, A. I. Rojo, A. J. Garcia-Yague, et al., *J. Immunol.*, **181**, 680 – 689 (2008).
27. M. Jalali-Nadoushan, M. Roghani, *Brain Res.*, **10**, 68 – 74 (2013).
28. N. A. Kelsey, H. M. Wilkins, D. A. Linseman, *Molecules*, **15**(11), 7792 – 7814 (2010).
29. H. Koizumi, H. Fujisawa, E. Suehiro, et al., *Neurol. Med. Chir.*, **51**, 337 – 343 (2011).
30. P. A. Lapchak, J. A. Zivin, *Stroke.*, **8**, 2013 – 2018 (2003).
31. K. R. Lees, J. A. Zivin, T. Ashwood, et al., *N. Engl. J. Med.*, **354**, 588 – 600 (2006).
32. H. Liu, X. Zhang, Y. Du, et al., *Brain Res.*, **20**, 73 – 81 (2012).
33. K. P. Loh, J. Qi, B. K. Tan, et al., *Stroke.*, **41**(11), 2661 – 2668 (2010).
34. K. P. Loh, S. H. Huang, B. K. Tan, Y. Z. Zhu, *J. Ethnopharmacol.*, **125**(2), 337 – 343 (2009).
35. M. R. Macleod, H. B. van der Worp, E. S. Sena, et al., *Stroke*, **39**, 2824 – 2829 (2008).
36. J. W. B. Marshall, R. M. Cummings, L. J. Bowes, *Stroke*, **34**, 2228 – 2233 (2003).
37. A. Muroyama, *Yakugaku Zasshi.*, **133**(8), 849 – 856 (2013).
38. K. Muthukumar, S. Leahy, K. Harrison, et al., *BMC Neurosci.*, **31**(15), 21 (2014).
39. K. Nagata, N. Nakashima-Kamimura, T. Mikami, et al., *Neuropsychopharmacology*, **34**, 501 – 508 (2009).
40. K. Nagatani, H. Nawashiro, S. Takeuchi, et al., *Med Gas Res.*, **3**, 13 (2013).
41. T. Nakase, S. Yoshioka, A. Suzuki, *BMC Neurol.*, **11**, 39 (2011).
42. S. Nilendra, A. Megha, D. Sylvain, *ACS Chem Neurosci.*, **4**(8), 1151 – 1162 (2013).
43. H. S. Park, K. H. Han, J. A. Shin, et al., *J. Korean Neurosurg Soc.*, **55**(3), 125 – 130 (2014).
44. J. Park, H. H. Park, H. Choi, et al., *Brain Res.*, **10**, 64 – 73 (2012).
45. S. J. Park, F. Ahmad, A. Philp, et al., *Cel.*, **148**, 421 – 433 (2012).
46. L. A. Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy, *Int. J. Biomed Sci.*, **4**(2), 89 – 96 (2008).
47. M. Philip, M. Benatar, M. Fisher, S. I. Savitz, *Stroke*, **40**, 577 – 581 (2009).
48. J. Qi, Z. Y. Hong, H. Xin, Y. Z. Zhu, *Biol. Pharm. Bul.*, **33**(12), 1958 – 1964 (2010).
49. J. Ren, C. Fan, N. Chen, et al., *Neurochem Res.*, **6**(12), 2352 – 2362 (2011).
50. B. Rocamonde, S. Paradells, J. M. Barcia, et al., *Neuroscience*, **8**, 102 – 115 (2012).
51. L. Rochette, S. Ghibu, C. Richard, et al., *Mol. Nutr. Food Res.*, **57**(1), 114 – 125 (2013).
52. S. I. Savitz, *Exp. Neurol.*, **205**, 20 – 25 (2007).
53. F. A. Shah, S. A. Gim, M. O. Kim, P. O. Koh, *J. Vet. Med. Sci.*, **7**, (2014).
54. Z. A. Shah, R. C. Li, R. K. Thimmulappa, et al., *Neuroscience*, **147**, 53 – 59 (2007).
55. J. A. Shin, K. E. Lee, H. S. Kim, E. M. Park, *Neurochem. Res.*, **37**, 2686 – 2696 (2012).
56. A. Shuaib, K. R. Lees, P. Lyden, et al., *N. Engl. J. Med.*, **357**, 562 – 571 (2007).
57. C. W. Shults, D. Oakes, K. Kiebertz, et al., *Arch. Neurol.*, **59**(10), 1541 – 1550 (2002).
58. K. Smith, S. Matson, W. R. Matsonet, et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1762**(6), 616 – 626 (2006).
59. Z. Ungvari, Z. Bagi, A. Feher, et al., *Am. J. Physiol.*, **299**, H18 – 24 (2010).
60. B. Wang, W. Cao, S. Biswal, S. Dore, *Stroke*, **42**, 2605 – 2610 (2011).
61. Y. Wang, A. Gao, X. Xu, et al., *Mol. Neurobiol.*, **12** (2014).
62. X. Yang, Y. Yang, G. Li, et al., *J. Mol. Neurosci.*, **34**(2), 165 – 171 (2008).
63. R. Q. Yao, D. S. Qi, H. L. Yu, et al., *Neurochem. Res.*, **37**(12), 2777 – 2786 (2012).
64. H. Yoshida, H. Yanai, Y. Namiki, et al., *CNS Drug. Rev.*, **12**(1), 9 – 20 (2006).
65. S. A. Zaitone, D. M. Abo-Elmatty, A. A. Shaalan, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **100**(3), 347 – 360 (2012).
66. M. Zamani, M. Katebi, M. Mehdizadeh, et al., *Basic & Clin. Neurosci.*, **3**(5), 5 (2012).
67. <http://heart-sos.ru/articles/qwercetin/>
68. <http://www.strokecenter.org/trials/>
69. <http://www.who.int/en/>

Поступила 21.10.14

## NEW ANTIOXIDANTS AS NEUROPROTECTIVE AGENTS FOR THE TREATMENT OF ISCHEMIC BRAIN INJURY AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

M. A. Belousova, E. A. Korsakova, E. A. Gorodetskaya, E. I. Kalenikova, and O. S. Medvedev

Department of Fundamental Medicine, Moscow State University, Lomonosovskii prosp. 31/5, Moscow, 119192 Russia

Central nervous system disorders are the leading cause of mortality and disability in the world. Unfortunately, the possibility of pathogenetic therapy is limited and it is important to search for new drugs with neuroprotective mechanism of action. One of the most promising groups of drugs are antioxidants – substances that can neutralize free radicals and reduce oxidative stress. This review focuses on preclinical and clinical studies of new antioxidants.

**Keywords:** antioxidant; neuroprotection; ischemic stroke; neurodegenerative disorders