ISSN 0233-7657. Биополимеры и клетка. 1997. Т. 13. № 6

Окислительный стресс и нейродегенеративные заболевания

И. С. Магура, О. М. Рожманова

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины
252024, Киев, ул. Богомольца, 4

Выяснение роли свободных радикалов в гибели нейронов, вызванной активацией рецепторов возбуждающих аминокислот, представляет значительный интерес в связи с изучением патогенеза острых и хронических неврологических заболеваний. Окислительно-восстановительные реакции, связанные с переносом электронов, сопряжены с возникновением свободных радикалов — атомов или молекул, содержащих орбиталь с неспаренным электроном. Некоторые свободные радикалы высокореактивны и способны захватывать электроны соседних молекул для заполнения вакансии в орбитали. Эти реакции могут повреждать различные биологические молекулы, включая ДНК, клеточные белки и мембранные липиды, вызывая окислительный стресс. Получены доказательства того, что избыточное образование свободных радикалов вовлекается в патологические процессы при болезнях Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона, амиотрофическом боковом склерозе. Предполагают, что накопление повреждений, связанных с окислением биологических молекул, обусловливает постепенное начало и прогрессирующее течение нейродегенеративных заболеваний. Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе таких острых патологических состояний, как нарушения мозгового кровообращения и черепно-мозговые травмы.

Окислительные повреждения нейронов связаны с цитотоксичностью кислородных радикалов: супероксидных радикалов ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильных радикалов ($OH^{\cdot}$) (точка обозначает один неспаренный электрон), а также перекиси водорода (H_2O_2). Все они являются продуктами нормальных и отклоняющихся от нормы метаболических процессов, при которых используется молекулярный кислород (O_2) [3].

Кислородные радикалы и нейротоксичность. В настоящее время получены доказательства связи эксаитотоксичности с образованием свободных радикалов [1—5]. Важная роль в патогенезе нейродегенеративных заболеваний принадлежит нарушениям метаболизма в митохондриях [1]. Митохондрии являются потенциальными источниками свободных радикалов. После экспозиции в растворе, содержащем 2,5 мкМ Ca^{2+}, в них усиливается образование свободных радикалов. Подобная концентрация Ca^{2+} имеется в цитозоле нейронов после воздействия эксаитотоксинов [4]. Ряд природных антиоксидантов предупреждает или ограничивает образование свободных радикалов и повреждение клеток. Так, α-токоферол (витамин Е) и аскорбиновая кислота непосредственно взаимодействуют со свободными радикалами и защищают жизненно важные биологические молекулы. Супероксиддисмутаза катализирует дисмутацию $O_2^{\cdot-}$ в H_2O_2. Каталаза и глутатионпероксидаза удаляют H_2O_2, восстанавливая ее до H_2O и O_2. Высокая проницаемость мембраны для H_2O_2 приводит к тому, что образовавшаяся внутри клетки H_2O_2 оказывает повреждающее действие не только на данную клетку, но и на соседние [6]. Нейроны высокочувствительны к этому относительно слабому окисляющему агенту [7, 8]. Благодаря высокой пероксидазной активности астроциты защищают нейроны от токсического действия H_2O_2 [9].

Одной из причин появления свободных радикалов является Ca^{2+}-зависимая активация фосфолипазы A_2, что приводит к высвобождению арахидоновой кислоты. При последующих ее превращениях, катализируемых липоксигеназой и циклооксигеназой, образуются эйкозаноиды и выделяется $O_2^{\cdot-}$ [1]. Увеличение концентрации свободной арахидоновой кислоты угнетает Na^+-зависи-

© И. С. МАГУРА, О. М. РОЖМАНОВА, 1997

мый захват глутамата синаптосомами и астроцитами [10, 11]. Арахидоновая кислота потенциирует токи через активированный NMDA рецептор-канальный комплекс, увеличивая вероятность открытого состояния канала [12]. Активация фосфолипазы A_2 приводит и к появлению фактора активации тромбоцитов (PAF). PAF увеличивает $[Ca^{2+}]_i$, стимулируя высвобождение глутамата [13].

Ингибиторы фосфолипазы A_2 частично защищают нейроны от глутаматной эксаитотоксичности [10—12]. При повышении $[Ca^{2+}]_i$ Ca^{2+}-активируемая протеаза обусловливает превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу, которая катализирует окисление гипоксантина или ксантина до мочевой кислоты с образованием O_2^- [1].

Радикал OH^- наиболее токсичен. Его образование не происходит непосредственно при известных ферментативных реакциях. Оно связано с медленным расщеплением H_2O_2 на OH^- и OH^-. Этот процесс значительно ускоряется в присутствии Fe^{2+} [14].

Повышение $[Ca^{2+}]_i$ активирует синтазу NO, катализирующую образование NO. Нейротоксичность NO связана со взаимодействием с O_2^- и образованием пероксинитрита ($ONOO^-$). Пероксинитрит — это деструктивный радикал, являющийся источником образования OH^- [15]. Доусон и соавт. [16, 17] связывают дегенерацию нейронов, вызванную активностью рецепторов NMDA, с активацией NO синтазы ионами Ca^{2+} и последующим образованием NO. На клеточной культуре было продемонстрировано, что подавление активности NO синтазы защищает нейроны от нейротоксического действия, вызванного избыточной активацией NMDA рецепторов [16, 17].

В некоторых случаях NO обладает нейрозащитным действием. Оно проявляется в том, что в форме нитрозония (NO^+) окись азота взаимодействует с тиоловой группой NMDA рецептора и блокирует его активность [15].

Кислородные радикалы дестабилизируют кальциевый гомеостаз клетки вследствие повреждения системы митохондриального транспорта электронов, что вызывает истощение внутриклеточного запаса ATP и приводит к подавлению активного транспорта ионов, осуществляемого транспортными ATPазами [18]. Кислородные радикалы могут также непосредственно повреждать ионные насосы и каналы мембраны [19, 20].

При экспозиции культуры нейронов гиппокампа крысы в среде, содержащей глутамат, наблюдали накопление в нейронах перекисей и увеличение $[Ca^{2+}]_i$. Накопления можно было избежать, воздействуя антагонистами NMDA рецепторов или же удаляя внеклеточный Ca^{2+}. Нейротрофные факторы (bFGF, NGF и BDNF) подавляют накопление перекисей и защищают нейроны от эксаитотоксического повреждения. Учитывая структуру рецепторов нейротрофных факторов, способность последних подавлять токсичность глутамата и глутамат-индуцированное накопление перекисей связывали с вовлечением фосфорилирования тирозина в антиоксидантные защитные системы нейронов [21].

Токсические факторы, выделяемые активированной микроглией (макрофагами) при патологических процессах в ЦНС. В процессы, вызывающие гибель нейронов мозга, вовлекаются моноциты крови и микроглия (макрофаги). Механизмы нейротоксичности, обусловленной макрофагами, точно не определены. Активация микроглии вызывает выход реактивных промежуточных кислородных продуктов и глутамата. Они оказывают токсическое действие на нейроны. Клетки микроглии также выделяют фактор некроза опухолей α, который может приводить к демиелинизации аксонов и гибели олигодендроцитов. Гибель нейронов, обусловленная выходом цитотоксических молекул из макрофагов, присходит при острых повреждениях мозга, вызванных травмой и ишемией [22, 23].

Два механизма нейродегенерации, опосредованные избыточной активацией рецепторов возбуждающих аминокислот. Исследования на тканевых культурах показали, что дегенерацию нейронов, вызванную активацией рецепторов возбуждающих аминокислот, можно разделить на две формы, отличающиеся временными характеристиками и механизмами развития: острую и задержанную [1]. Острая форма характеризуется набуханием нейронов, происходящим во время действия агониста, что приводит к осмотическому лизису нейронов. Лизис можно предотвратить, удаляя из культуральной среды Na^+ или Cl^--ионы, ответственные за приток в клетку воды, когда открыты катионные каналы. Задержанная дегенерация нейронов зависит от Ca^{2+} и обнаруживается спустя несколько часов после короткой экспозиции высокой концентрации агониста или длительной экспозиции его низкой концентрации. Даже непродолжительное повышение $[Ca^{2+}]_i$ вызывает повреждение нейронов. Задержанная дегенерация нейронов *in vitro* подобна таковой, вызванной активацией рецепторов возбуждающих аминокислот *in vivo* [1]. Клеточные механизмы, ответственные за гибель нейронов, связанную с активацией рецепторов возбуждающих аминокислот, остаются малоизученными. Они могут зависеть от функционального состояния митохондрий [24].

І. С. Магура, О. М. Рожманова

Окислювальний стрес і нейродегенеративні захворювання

Резюме

Отримано докази того, що надмірне утворення вільних радикалів відіграє важливу роль у патологічних процесах при хворобах Альцгеймера, Паркінсона, Хантінгтона, аміотрофічному латеральному склерозі. Припускають, що накопичення пошкоджень, пов'язаних з окисленням біологічних молекул, обумовлює поступовий початок і прогресуючий розвиток хронічних нейродегенеративних захворювань. Окислювальний стрес також відіграє важливу роль у патогенезі гострих патологічних станів при порушеннях мозкового кровообігу і черепно-мозкових травмах.

I. S. Magura, O. M. Rozhmanova

Oxidative stress and neurodegenerative disorders

Summary

The reduction of molecular oxigen to water during the course of oxidative-phosphorylation involves the formation of superoxide radical ($O_2^{\cdot -}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), and hydroxil radical ($HO^{\cdot}$), known collectively as reactive oxidant species (ROS). Neurons are particularly vulnerable to H_2O_2. Transition metals such as iron interact with H_2O_2 to form the highly destructive $OH^{\cdot}$ radical. The hydroxil radical is a particularly reactive oxidizing agent and is thought to be the prime mediator of oxigen toxicity. ROS can destabilize cellular calcium homeostasis by damaging mitochondrial electron transport, resulting in ATP depletion, which, in turn, compromises ion-motive ATPases. The maintenance of mitochondrial function may be a decisive factor in determining the degree and progression of neuronal injury caused by excitotoxins. ROS can also directly damage membrane ion pumps and channels. ROS contribute to the pathogenesis of some neurodegenerative disorders. The glutamate toxicity involves peroxide production, which contributes to loss of Ca^{2+} homeostasis. Neurotrophic factors attenuate glutamate-induced accumulation of peroxides, elevation of intracellular Ca^{2+} concentration, neurotoxicity and increase antioxidant enzyme activities in neurons. Accumulating evidence indicates that excessive formation of free radicals may be involved in the pathophysiology of many neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease and amyotrophic lateral sclerosis. Oxidative stress is also implicated in acute brain disorders such as ischemia and traumatic damage.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Coyle J. T., Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders // Science.—1993.—**162**.—P. 689—695.
2. *Schulz J. B., Henshaw D. R., Siwek D. et al.* Involvement of free radicals in excitotoxicity *in vivo* // J. Neurochem.—1995.—**64**.— P. 2239—2247.
3. *Olanov C. W.* A radical hypothesis for neurodegeneration // Trends Neurosci.—1993.—**16**.—P. 439—444.
4. *Dykens J. A.* Isolated cerebral and cerebellar mitochondria produce free radicals when exposed to elevated Ca^{2+} and Na^{+}: implications for neurodegeneration // J. Neurchem.—1994.—**63**.—P. 484—591.
5. *Lafon-Cazal M., Pietri S., Culcasi M., Bockaert J.* NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity // Nature.—1993.—**364**.—P. 535—537.
6. *Halliwell B.* Reactive oxigen species and the central nervous system // J. Neurochem.—1992.—**59**.—P. 1609—1623.
7. *Thery C., Chamak B., Mallat M.* Cytotoxic effect of brain macrophages on developing neurons // Eur. J. Neurosci.—1991.—**3**.—P. 1155—1164.
8. *Buckman T. D., Sutphin M. S., Mitovic B.* Oxidative stress in a clonal cell line of neuronal origin: effecte of antioxidant enzyme modulation // J. Neurochem.—1993.—**60**.—P. 2046—2058.
9. *Desagher S., Glowsinski J., Premont J.* Astrocytes protect neurons from hydrogen peroxide toxicity // J. Neurosci.—1996.—**16**.—P. 2553—2562.
10. *Verity M. A.* Mechanisms of phospholipase A2 activation and neuronal injury // Ann. NY Acad. Sci.—1993.—**679**.—P. 110—120.
11. *Chan P. H., Kerlan R., Fishman R. A.* Reduction of gamma-aminobutiric acid and glutamate uptake and (Na^{+}—K^{+})-ATPase activity in brain slices and synaptosomes by arachidonic acid // J. Neurochem.—1983.—**40**.—P. 309—316.
12. *Miller B., Sarantis M., Traynelis S. F., Attwell D.* Potentiation of NMDA receptors by arachidonic acid // Nature.—1992.—**355**.—P. 722—725.
13. *Bito H., Nakamura M., Honda Z. et al.* Platelet-activating factor (PAF) receptor in rat brain: PAF mobilizes intracellular Ca^{2+} in hippocampal neurons // Neuron.—1992.—**9**.—P. 285—294.
14. *Gerlach M., Ben-Shachar D., Riederer P., Youdim M. B. H.* Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases? // J. Neurochem.—1994.—**63**.—P. 793—807.
15. *Lipton S. A., Choi Y. B., Pan Z-H. et al.* A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compound // Nature.—1993.—**364**.—P. 626—632.
16. *Dawson V. L., Dawson T. M., Bartley D. A. et al.* Mechanisms of nitric oxide-mediated neurotoxicity in primary brain cultures // J. Neurosci.—1993.—**13**.—P. 2651—2661.
17. *Dawson T. M., Snyder S. H.* Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain // Ibid.—1994.—**14**.—P. 5147—5159.
18. *Nicotera P., Bellomo G., Orrenius S.* Calcium-mediated mechanisms in chemically induced cell death // Annu. Rev. Pharmacol. and Toxicol.—1992.—**32**.—P. 449—470.
19. *Reeves J. P., Bailey C. A., Hale C.* Redox modification of sodium-calcium exchange activity in cardiac sarcolemmal vesicles // J. Biol. Chem.—1986.—**261**.—P. 4948—4955.
20. *Rohn T. T., Hinds T. R., Vincenzi F. F.* Ion transport ATPases as targets for free radical damage // Chem. Pharmacol.—1993.—**46**.—P. 525—534.
21. *Mattson M. P., Lovell M. A., Furukawa K., Markesbery W. R.* Neurotrophic factors attenuate glutamate-induced accumulation of peroxides, elevation of intracellular Ca^{2+} concentration, and neurotoxicity and increase antioxidant enzyme activities in hippocampal neurons // J. Neurochem.—1995.—**65**.—P. 1740—1751.
22. *Piani D., Constam D. B., Frei K., Fontana A.* Macrophages in the brain: friends or enemies? // NIPS.—1994.—**9**.—P. 80—84.
23. *Kreutzberg G. V.* Microglia: a sensor for pathological events in the CNS // Trends Neurosci.—1996.—**19**.—P. 312—318.
24. *Ankarcrona M., Dyptbukt J. M., Bonfoco E. et al.* Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function // Neuron.—1995.—**15**.—P. 961—973.

Поступила в редакцию 19.12.97