

© Коллектив авторов, 2018
УДК 577.125.8:615.217.4+616.12-008.331.1

Никифорова К.А., Александрин В.В., Булгакова П.О., Иванов А.В., Вирюс Э.Д., Кубатиев А.А.

Влияние карведилола на редокс-статус низкомолекулярных аминотиолов в плазме крови при острой ишемии головного мозга у крыс

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАН, 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Цель. Установить влияние неспецифического адrenoблокатора карведилола на редокс-статус низкомолекулярных аминотиолов (цистеин, гомоцистеин, глутатион) в плазме крови при моделировании глобальной ишемии головного мозга у крыс. **Методика.** Нами была использована модель глобальной ишемии (пережатие общих сонных артерий с геморрагией длительностью 15 мин). Препарат вводили за 1 ч до операции. Уровни аминотиолов измеряли через 40 мин после начала реперфузии. Анализ уровня аминотиолов проводили методом жидкостной хроматографии. **Результаты.** Установлено, что у крыс, не подвергавшихся ишемии, карведилол в дозе 10 мг/кг вызывает рост редокс-статуса цистеина и глутатиона (в 3 и 3,5 раза соответственно по сравнению с контролем, $p = 0,04$ и $p = 0,008$) за счет увеличения их восстановленных форм. При ишемии данного эффекта не наблюдалось. Редокс-статус у крыс с ишемией на фоне карведилола ($C_{ис} = 0,85 \pm 0,14\%$, $G_{лн} = 1,8 \pm 0,7\%$, $G_{цис} = 1,1 \pm 0,8\%$) оставался таким же низким, как и у крыс с ишемией без введения карведилола ($p > 0,8$). **Заключение.** Полученный результат демонстрирует, что в условиях ишемии головного мозга карведилол не оказывает эффекта на гомеостаз аминотиолов плазмы крови, несмотря на выраженный антиоксидантный эффект в нормальных условиях.

Ключевые слова: ишемия мозга, крысы, аминотиолы, карведилол, адrenoблокаторы, редокс-статус.

Сокращения: Цис — цистеин; Гцис — гомоцистеин; Глн — глутатион; НМАТ — низкомолекулярные аминотиолы; АР — адrenoрецепторы; ОИГМ — острая ишемия головного мозга; РС — редокс-статус; артериальное давление; ДМСО — диметилсульфоксид; ДТНБ — 5,5'-дитиобис(2-нитробензойная кислота); ДТТ — дитиотрейтол; ЙАА — йодацетамид; ПА — пеницилламин; ТНБ — 5-тио-2-нитробензойная кислота; NH_4Ac — ацетат аммония; NEM — N-этилмалемид; МК — мозговой кровоток; САД — среднее.

Для цитирования: Никифорова К.А., Александрин В.В., Булгакова П.О., Иванов А.В., Вирюс Э.Д., Кубатиев А.А. Влияние карведилола на редокс-статус низкомолекулярных аминотиолов в плазме крови при острой ишемии головного мозга у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(3): 12—18.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.12-18

Финансирование. Исследование поддержано грантом Российского Научного Фонда (проект № 16-15-10340).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Никифорова Ксения Александровна, аспирант, мл. науч. сотр. лаб. ангиопротеомики и метабомики, e-mail: nikiforovaksenya@gmail.com

Поступила 11.12.2017

Nikiforova K.A., Alexandrin V.V., Bulgakova P.O., Ivanov A.V., Virus E.D., Kubatiev A.A.

Effect of carvedilol on the redox-status of plasma low-molecular-weight aminothiols in rats with acute cerebral ischemia

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya Str. 8, 125315, Moscow, Russia

Aim. Effect of a nonspecific adrenergic antagonist carvedilol on the redox status of plasma low-molecular-weight aminothiols (cysteine, homocysteine, glutathione) was studied in rats with global cerebral ischemia (occlusion of common carotid arteries with hemorrhage). **Methods.** A model of global ischemia (occlusion of common carotid arteries with 15-min hemorrhage) was used. The drugs were administered one hour before the operation. Aminothiol levels were measured by HPLC with UV detection at 40 minutes after the onset of reperfusion. **Results.** Carvedilol 10 mg/kg increased the redox status of cysteine and glutathione in rats not exposed to ischemia (3 and 3.5 times, respectively, compared with the control, $p = 0.04$ and $p = 0.008$, respectively) but not of homocysteine, by increasing their reduced forms. However, this effect was not observed in ischemia. In rats with ischemia treated with carvedilol, the redox status ($C_{ys} = 0.85 \pm 0.14\%$, $GSH = 1.8 \pm 0.7\%$, $H_{cys} = 1.1 \pm 0.8\%$) remained low similar to that in rats with ischemia not treated with carvedilol ($p > 0.8, 0.8, \text{ and } 0.9$, respectively). **Conclusion.** Carvedilol did not affect the homeostasis of blood plasma thiols in cerebral ischemia despite the pronounced antioxidant effect under the normal conditions.

Keywords: cerebral ischemia, rats, aminothiols, carvedilol, adrenergic agonists, redox status.

For citation: Nikiforova K.A., Alexandrin V.V., Bulgakova P.O., Ivanov A.V., Virus E.D., Kubatiev A.A. Influence of carvedilol on the redox-status of low-molecular-weight aminothiols in blood plasma during acute cerebral ischemia in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(3): 12—18. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.12-18

For correspondence: Kseniya A. Nikiforova, PG, FSBSI «Institute of General Pathology and Pathophysiology», 8, Baltiyskaya str., 125315, Moscow, Russia, e-mail: nikiforovaksenya@gmail.com

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. This study was funded by the Russian Science Foundation [grant number 16-15-10340].

Information about authors:

Nikiforova K.A., <https://orcid.org/0000-0002-4119-7175>

Alexandrin V.V., <https://orcid.org/0000-0003-4625-6522>

Bulgakova P.O., <https://orcid.org/0000-0001-5438-1046>

Ivanov A.V., <http://orcid.org/0000-0002-2424-6115>

Virus E.D., <http://orcid.org/0000-0001-9371-6494>

Kubatiev A.A., <https://orcid.org/0000-0001-8077-2905>

Received 11.12.2017

Введение

Инсульт и инфаркт миокарда вызывают сильный стрессорный ответ, который значительно изменяет метаболизм как в мозговой ткани, так и в периферических органах [1]. Основным патофизиологическим механизмом повреждения нервной ткани в условиях ишемии/реперфузии головного мозга является окислительный стресс [2]. Но, кроме того, стресс также проявляется в виде генерализованной ответной реакции на ишемию мозга, которая развивается в периферических сосудах [3]. Полагают, что ключевая роль в этом процессе отводится активации симпатoadrenalовой системы [4]. Её эффекты реализуются через адренорецепторы (АР) различных типов. Выделяют два типа α -адренорецепторов (α_1 и α_2) и три типа β -адренорецепторов (β_1 , β_2 и β_3) [5]. Считается, что α_1 -АР, находящиеся в основном в периферических сосудах опосредуют их сокращение, в то время как β -АР главным образом участвуют в регуляции сердечных функций [6], хотя и в периферических сосудах они также присутствуют.

Карведилол является антагонистом α_1 , β_1 , β_2 -АР, при этом его селективность в отношении β_1 , β_2 -АР практически одинакова и в 10 раз превосходит селективность к α_1 -АР [7]. Кроме того, он обладает прямой антиоксидантной активностью [8] и, благодаря своей гидрофобной природе, эффективно препятствует перекисному окислению липидов (ПОЛ) [9]. Экспериментальные исследования показывают, что карведилол обладает нейропротективными свойствами при ишемии головного мозга, подавляя окислительный стресс [10—12]. Кроме того, он ослабляет повреждение миокарда, индуцируемое острой ишемией

головного мозга (ОИГМ) [13]. Вместе с тем, оценка влияния карведилола на развитие окислительного стресса в системном кровотоке при ишемии мозга ещё не проводилась.

Тиолсодержащие соединения крайне чувствительны к активным формам кислорода (АФК), причем низкомолекулярные аминотиолы (НМАТ) характеризуются большей чувствительностью к окислительному стрессу, нежели SH-группы альбумина, т.к. имеют более высокий рК (~8—9 против 5,5). Ранее было показано, что ОИГМ вызывает быстрое и значительное снижение основных НМАТ плазмы крови [13], что позволяет использовать их в качестве индикаторов окислительного стресса. Если генерализованный окислительный стресс обусловлен активацией симпатической нервной системы, то применение адреноблокаторов может его ингибировать и восстанавливать редокс-статус (РС: отношение восстановленной формы аминотиола к его общему содержанию) НМАТ. В данной работе исследовалось влияние карведилола на РС НМАТ (цистеина (Цис), гомоцистеина (Гцис) и глутатиона (Глн)) в плазме крови при моделировании глобальной ишемии головного мозга у крыс.

Методика

Реактивы и оборудование. Ацетат аммония — NH₄Ac (осч Русхим, Россия); ацетонитрил 99,9% (RCI Labscan, Польша); йодацетамид (ЙАА); 5,5'-дитиобис-2-нитробензойная кислота (ДТНБ); L-Цис 97%; NaCl; N-этилмалемид (NEM >98%, Sigma-Aldrich, США); Глн 99% (Sigma-Aldrich,

Япония); цитрат-Na-дигидрат (Sigma, США); $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 98—100,5%; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 98—101% (Panreac, Испания); NaOH (Диа-М, Россия); хлоралгидрат >99,5%; D-пеницилламин — ПА (Sigma, Германия); HCl 37% (Acros, Бельгия); DL-дитиотреитол — ДТТ >99,5% (Fluka, Индия); DL-Гцис >95% (Sigma, Великобритания); этанол 96% (Реахим, Россия); DEAE-целлюлоза 1.01 meq/г (Sigma, США); диметил сульфоксид — ДМСО >99,8% (Fluka, Великобритания); CHCl_3 >99,8% (Merck, Германия); карведилол >98% (Sigma, США).

Карведилол (25 г/л) растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) и затем разводили в 2 раза 0,9% NaCl. Готовый раствор хранили при -80°C . В качестве стандарта при определении НМАТ использовали раствор ПА-ТНБ, для приготовления которого смешивали 100 мкл 250 мкМ пеницилламина (ПА) с 100 мкл 2,5 мМ ДТНБ в 0.1 М Na-фосфатном буфере с pH 8.0, а затем разводили в 10 раз 5 мМ йодацетамидом. DEAE-целлюлозу (по 40 мг в картридже) активировали 1 М NaCl (1 мл), 50 мМ HCl (0,5 мл) и промывали водой (2 мл).

Для жидкостной хроматографии использовали систему Waters ACQUITY (Waters, Milford, MA, США) с ультрафиолетовым (УФ) детектором (330 нм, частота сканирования 5 Гц) и колонкой Agilent Poroshell 120 SB-C18 (2.8 мкм, 150 x 2 мм) (Agilent, Santa Clara, CA, США). Для определения общего уровня -SH-групп в плазме крови использовали УФ-спектрофотометр Lambda EZ 201 (Perkin Elmer, США) с кварцевой кюветой 1 см.

Мозговой кровоток регистрировали путем спектрального вейвлет-анализа с использованием LAKK-02 анализатора (2.2.0.507; LAZMA, Россия), как описано ранее [14].

Животные и операция. Для операций использовались взрослые (2—2,5 мес.) беспородные крысы-самцы массой 260—300 г. Протокол, использованный в проекте, одобрен Комитетом по этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт общей патологии и патофизиологии». При проведении экспериментов руководствовались статьей 11-й Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267).

Операцию проводили под общим наркозом (хлоралгидрат внутривенно 300 мг/кг), как описано ранее [14]. Карведилол (и NaCl/ДМСО) вводили подкожно за 1 ч до воспроизведения ОИГМ.

Измерение системного кровяного давления и отбор проб производились через бедренные артерии путем их катетеризации (гепарин вводился внутривенно, 500 Ед/кг). Для регистрации кровотока использовали цилиндрический датчик. Металлический каркас, окружающий область краниотомии, был прикреплен к черепу в качестве средства для жесткой фиксации головы животного, а теменная кость была трепанирована (5 x 3 мм) без нарушения целостности твердой мозговой оболочки (координаты: AP, 5 мм; L, 3 мм). Запись мозгового кровотока (МК) начиналась через 30 мин после завершения всех хирургических процедур при температуре окружающей среды $20\text{—}21^\circ\text{C}$.

Всех животных разделили на 4 группы (по 5 крыс в каждой): 2 контрольные, которым проводилась ложная операция с введением препарата или смеси ДМСО/NaCl, и 2 группы, у которых моделировали глобальную ишемию мозга на фоне карведилола и без него. Объем введения раствора составлял 800 мкл/кг, доза карведилола — 10 мг/кг.

Пробоподготовка. Образцы крови (1—1,3 мл) отбирали после 40 мин реперфузии в пробирки с цитратом натрия (9:1) и центрифугировали 3 мин при 3500 об./мин (плазма на определение общего содержания НМАТ отбиралась и замораживалась при -80°C до начала анализа).

Концентрация (восстановленных) тиольных групп. Общую концентрацию тиольных групп в плазме определяли, как описано ранее [15], с модификацией: 40 мкл плазмы добавляли к 320 мкл воды с 2,5 мМ NEM. Затем 40 мкл 15 мМ ДТНБ в 0,4 М Na-фосфатном буфере с pH 8.0 добавляли в каждую пробу и инкубировали 5 мин. Абсорбцию фиксировали при 412 нм против плазмы без NEM. Расчет концентрации вели с использованием калибровочного графика раствора Цис (0,08—5 мМ) в 0,9% NaCl.

Определение общего содержания НМАТ. 5 мкл 1 мМ ПА и 5 мкл 200 мМ ДТТ добавляли к 50 мкл плазмы. Смесь инкубировали 20 мин при 37°C , затем вносили по 180 мкл ацетонитрила. Пробы интенсивно перемешивали и центрифугировали 5 мин при 15 000 об./мин. К полученному супернатанту добавляли 25 мкл 400 мМ ДТНБ в ДМСО. После 5 мин инкубации добавляли 200 мкл CHCl_3 . Пробу интенсивно встряхивали и центрифугировали 2 мин при 3000 об./мин.

Нижнюю фазу убирали, а к надосадочной добавляли 5 мкл 1М HCl. Пробу снова встряхивали и центрифугировали 3 мин при 8000 об./мин. Полученный таким образом образец отделяли от осадка, добавляли в два раза водой и использовали для ВЭЖХ-анализа.

Определение восстановленных форм НМАТ. К 200 мкл плазмы добавляли 400 мкл 2.5 мМ ДТНБ в ацетонитриле, перемешивали, добавляли 20 мкл 100 мМ ИАА. Подготовленные таким образом пробы при необходимости сохранялись при -80°C . Образцы центрифугировали 5 мин при 15 000 об./мин. Если пробы были заморожены, то предварительно их размораживали и согревали (до 37°C). К полученному супернатанту (20 мкл) добавляли 25 мкМ ПА-ТНБ (внутренний стандарт) и разводили до 1,2 мл водой. Полученный раствор пропускали через предварительно активированную DEAE-целлюлозу. Картридж с нанесенным образцом двукратно отмывали водой (по 1 мл). Элюировали 400 мкл 50 мМ соляной кислоты.

Объем вводимой для хроматографического анализа пробы составлял 10 мкл. Разделение проводили при потоке 0,2 мл/мин. Элюент А — 0.1 М NH_4Ac с 0,15% HCOOH , элюент В — ацетонитрил. Хроматография выполнялась при линейном градиенте канала В 2,5—10% в течение 5 мин. Колонка регенерировалась смесью: ацетонитрил (70%) + вода (30%).

Обработка данных. Первичная обработка хроматограмм (детектирование и интегрирование пиков) осуществлялась в программе MassLynx 4.1 (Waters Milford, MA, США). Построение калибровочного графика и статистическая обработка результатов производилась в Microsoft Excel 2003. При необходимости данные представляются в виде среднего значения с изменением, выраженным как стандартное отклонение ($\pm \text{SD}$). Для сравнения результатов между группами использовали парный и непарный t-тест. Сравнение групповых дисперсий проводилось с использованием теста Фишера—Снедекора при значительном уровне $\alpha = 0,05$. Статистически значимым считалось двухстороннее значение $p < 0,05$.

Результаты

Изменения мозгового кровотока (МК) в неокортикальной области и среднего артериального давления (САД) показаны в табл.1. На фоне карведилола наблюдалось небольшое усиление МК и снижение САД. ОИГМ вызывает статистически значимое снижение МК (до 25—30%) и САД (около 50%), однако сам аденоблокатор не оказывал заметного влияния ни на МК, ни на САД во время ишемии.

В контрольной группе уровень тиольных групп был в 1,3 раза выше, чем у крыс, подвергшихся ОИГМ (табл. 2). Карведилол не оказывал заметного эффекта на данный показатель ни до, ни после ишемии.

ОИГМ вызвала снижение общего Цис и Глн в 1,2—1,5 раза ($p = 0,007$ и $0,01$ соответственно, табл. 3). Уровни общего Цис при ложной операции и ОИГМ на фоне карведилола существенно не различались. Однако общий Глн на фоне карведилола статистически значимо снижался ($p = 0,02$), при этом в условиях ОИГМ его уровень был выше, чем у крыс без введения препарата ($p = 0,04$). На уровень общего Гцис ни ОИГМ, ни карведилол не оказывали статистически значимого эффекта.

Восстановленная фракция НМАТ показала большую чувствительность к ОИГМ (табл. 4). Так, уровни восстановленных Цис, Глн и Гцис снижались в 8, 6,8 и 3 раза (соответственно для Цис, Глн и Гцис) на фоне ОИГМ ($p < 0,01$). На фоне ОИГМ с карведилолом также происходило статистически значимое снижение восстановленных форм НМАТ ($p < 0,02$) до уровня, наблюдаемого у крыс с ОИГМ без карведилола. При этом сам карведилол без ишемии вызывал значительное повышение уровней восстановленных форм НМАТ в 2—3 раза по сравнению с контрольной группой с ложной операцией ($p < 0,003$).

Таблица 1

Значения МК и САД у крыс с глобальной ишемией ГМ

Группа	МК (перфузионные единицы)		САД (мм рт.ст.)	
	Ложная операция	ОИГМ	Ложная операция	ОИГМ
Контроль	22,4 \pm 1,4	6,1 \pm 0,7	86,6 \pm 1,1	41,8 \pm 1,3
Карведилол	26,2 \pm 1,3*	6,8 \pm 0,4	74,6 \pm 0,8*	41,2 \pm 0,7

Примечание. Здесь и в табл. 2 — * $p < 0,05$ (контроль — карведилол).

Таблица 2

Влияние карведилола на уровень тиольных групп в плазме крови (мкМ)

Группа	Ложная операция	ОИГМ	p
Контроль	263 \pm 17	198 \pm 34	0,014
Карведилол	260 \pm 58	174 \pm 36	0,008

Результаты показали, что карведилол оказывает значительное влияние на гомеостаз НМАТ плазмы крови, в первую очередь, поднимая их РС за счет увеличения содержания восстановленных форм. По всей видимости, наблюдаемый эффект связан

с прямой антиоксидантной активностью карведилола [8, 9, 14], повышением активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы-1, Глн-пероксидазы, каталазы) в крови [16]. Интересно отметить, что при этом введение карведилола не повлияло на содержание тиольных групп в плазме крови в группе с ложной операцией, но вызвало снижение общего уровня Цис и Глн, что может объясняться увеличением потребления этих метаболитов клетками. Эти данные свидетельствуют, что карведилол оказывает специфичное влияние не только на окислительно-восстановительное равновесие НМАТ, но и на обмен в целом. Однако молекулярные механизмы действия карведилола изучены пока недостаточно.

Наши результаты показали, что в условиях ОИГМ карведилол не оказывает протективного эффекта как в отношении восстановленных форм НМАТ, так и в отношении общего уровня восстановленных аминотиолов плазмы крови. Хотя ранее в работе Акбас Н. и др. [17] было показано, что карведилол вызывал снижение уровня малонового диальдегида и повышение восстановленных аминотиолов в плазме крови на фоне ишемии/реперфузии нижних конечностей. Также на различных моделях показано, что карведилол способен подавлять окислительный стресс в тканях на моделях ишемии сердца [18], почек [19], яичников [20] и глобальной ишемии мозга [14]. Однако в этих работах не исследовали его действие на симпатическую нервную систему, и протективные эффекты карведилола были обусловлены, по всей видимости, локальными механизмами.

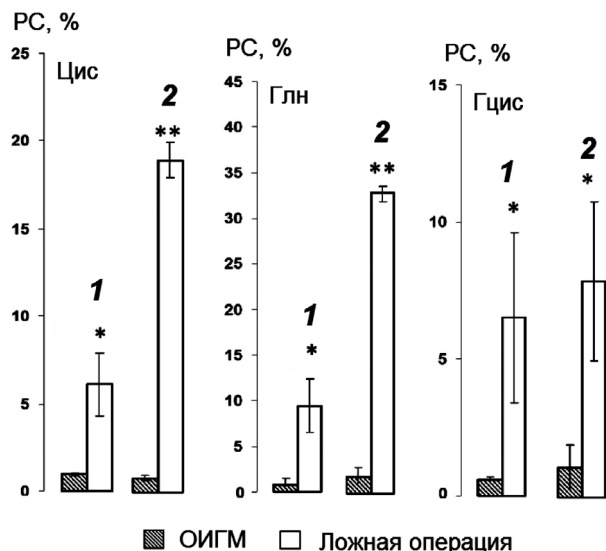


Рисунок. Влияние карведилола на редокс-статус цистеина, глутатиона, гомоцистеина в плазме крови крыс при острой глобальной ишемии головного мозга. Цифрами обозначены: 1 – без карведилола, 2 – с карведилолом. *0,001 ≤ p ≤ 0,05, **p < 0,001 (ОИГМ – контроль). РС НМАТ значительно снижался при ОИГМ и карведилол не оказывал на данный эффект заметного влияния (рисунок). В то же время в нормальных условиях карведилол вызывал рост РС Цис и Глн в 3 и 3,5 раз соответственно по сравнению с контролем, (p = 0,04 и p = 0,008) и оказывал значительное влияние на РС НМАТ через их восстановленные формы.

Таблица 3

Влияние карведилола на общее содержание аминотиолов плазмы крови крыс при острой глобальной ишемии головного мозга

Группа	Цис, мкМ	Глн, мкМ	Гцис, мкМ
Ложная операция	209 ± 30	33 ± 19	7,3 ± 2,4
ОИГМ	150 ± 22*	22 ± 3*	7,4 ± 0,9
Ложная операция + карведилол	172 ± 27	22 ± 2*,**	6,1 ± 0,8
ОИГМ + карведилол	178 ± 30	31 ± 5*,**	7 ± 3,8

Примечание. * p<0,05 (ложная операция – ОИГМ); ** p<0,05 (карведилол – контроль).

Таблица 4

Влияние карведилола на содержание восстановленных форм аминотиолов плазмы крови крыс при острой глобальной ишемии головного мозга

Группа	Цис, мкМ	Глн, мкМ	Гцис, мкМ
Ложная операция	12,4 ± 3,3	3,4 ± 1,6	0,18 ± 0,07
ОИГМ	1,5 ± 0,3*	0,5 ± 0,2*	0,06 ± 0,03*
Ложная операция + карведилол	27 ± 4**	6,7 ± 0,3**	0,52 ± 0,14**
ОИГМ + карведилол	1,56 ± 0,5*	0,56 ± 0,2*	0,05 ± 0,03*

Примечание. * p<0,05 (ложная операция – ОИГМ); ** p<0,01 (карведилол – контроль).

Недавно было показано, что важную роль в симпатическом возбуждении играют пресинаптические β_1 -АР постганглионарных волокон [21]. Их ингибирование антагонистами β_1 -АР (атенололом или метопрололом) и антагонистом β_1 , β_2 -АР надололом подавляло тирамин-индуцированное высвобождение норадреналина, не оказывая влияния на уровень адреналина в крови. Альтернативные же механизмы (ингибирование выброса ренина и подавление активности рецепторов к ангиотензину II, ганглионарная блокада) действия β_1 -АР антагонистов на активацию симпатической системы не давали значимого вклада. Карведилол, как было отмечено выше, обладает β_1, β_2 -адреноблолирующими свойствами, поэтому можно предположить, что его α_1 -адреноблолирующая активность может препятствовать нормализации уровня восстановленных аминотиолов при ОИГМ. Однако пока неизвестно каким образом блокада α_1 -АР может препятствовать его β -адреноблолирующему действию.

Ишемия головного мозга вызывает быстрое и значительное смещение гомеостаза НМАТ плазмы крови в сторону их окисленных форм. При этом падение уровня восстановленных НМАТ имеет значительно более выраженный характер, чем падение общего уровня тиольных групп в плазме крови. Это свидетельствует о том, что аминотиолы более чувствительны к окислительному стрессу, чем белки плазмы крови.

Несмотря на то, что карведилол обладает вазодилататорным и антиоксидантным эффектом в тканях [22], в условиях ОИГМ он не оказывал протективного эффекта на НМАТ в плазме крови. Хотя у ишемизированных крыс наблюдалось повышение их редокс статуса на фоне препарата. Следовательно, при ишемии мозга происходит активация путей регуляции РС НМАТ, которые не задействованы в норме и которые, по всей видимости, связаны с активацией симпатической системы. Существующие на данный момент концепции не позволяют объяснить, почему карведилол на фоне ишемии не влияет на уровень восстановленных форм НМАТ. Необходимо дальнейшее исследование механизмов, опосредующих системное окисление аминотиолов плазмы крови при ОИГМ.

References

1. Paltyn A.A. Matrix metalloproteinases in stroke. *Patologicheskaya Fiziolgiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61(3): 110-7.
2. Khoshnam S.E., Winlow W., Farzaneh M., Farbod Y., Moghaddam H.F. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurological Sciences*. 2017; 38 (7): 1167-86.

3. Martinez-Revelles S., Jimenez-Altayo F., Caracuel L. Endothelial dysfunction in rat mesenteric resistance artery after transient middle cerebral artery occlusion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2008; 325(2): 363-9.

4. Robbins N.M., Swanson R.A. Opposing effects of glucose on stroke and reperfusion injury: acidosis, oxidative stress, and energy metabolism. *Stroke*. 2014; 45(6): 1881-6.

5. Bylund D.B., Eikenberg D.C., Hieble J.P., Langer S.Z., Lefkowitz R.J., Minneman K.P., Molinoff P.B., Ruffolo R.R. Jr., Trendelenburg U. International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacological Reviews*. 1994; 46(2): 121-36.

6. Philipp M., Hein L. Adrenergic receptor knockout mice: distinct functions of 9 receptor subtypes. *Pharmacology & Therapeutics*. 2004; 101(1): 65-74.

7. Feuerstein G., Yue T., XinLiang M., et al. Carvedilol: a novel multiple action antihypertensive drug that provides major organ protection. *Cardiovascular Drug Reviews*. 1994; 12: 85-104.

8. Oettl K., Greilberger J., Zangger K., Haslinger E., Reibnegger G., Jurgens G.. Radical-scavenging and iron-chelating properties of carvedilol, an antihypertensive drug with antioxidative activity. *Biochemical Pharmacology*. 2001; 62: 241-8.

9. Suzuki Y., Tanaka M., Sohmiya M., Yoshida T., Okamoto K. Antioxidant properties of carvedilol: Inhibition of lipid peroxidation, protein oxidation and superoxide generation. *Neurological Research*. 2003; 25: 750-3.

10. Savitz S.I., Erhardt J.A., Anthony J.V., Gupta G., Li X., Barone F.C., Rosenbaum D.M. The novel beta-blocker, carvedilol, provides neuroprotection in transient focal stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2000; 20(8): 1197-204.

11. Goyagi T., Kimura T., Nishikawa T., Tobe Y., Masaki Y. β -Adrenoreceptor Antagonists Attenuate Brain Injury After Transient Focal Ischemia in Rats. *Anesthesia & Analgesia*. 2006; 103: 658-66.

12. Lysko P.G., Lysko K.A., Yue T.L., Webb C.L., Gu J.L., Feuerstein G. Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. *Stroke*. 1992; 23(11): 1630-5.

13. Harima M., Arumugam S., Wen J., Pitchaimani V., Karuppagounder V., Afrin M.R., Sreedhar R., Miyashita S., Nomoto M., Ueno K., Nakamura M., Watanabe K. Effect of carvedilol against myocardial injury due to ischemia-reperfusion of the brain in rats. *Experimental and Molecular Pathology*. 2015; 98(3): 558-62.

14. Ivanov A.V., Alexandrin V.V., Paltyn A.A., Nikiforova K.A., Virus E.D., Luzyanin B.P., Maksimova M.Y., Piradov M.A., Kubatiev A.A. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. *Redox Report*. 2017; 22(6): 460-6.

15. Katrusiak A.E., Paterson P.G., Kamencic H., Shoker A., Lyon A.W. Pre-column derivatization high-performance liquid chromatographic method for determination of cysteine, cysteinyl-glycine, homocysteine and glutathione in plasma and cell extracts. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001; 758(2): 207-12.

16. Kowalski J., Banach M., Barylski M., Irzanski R., Pawlicki L. Carvedilol modifies antioxidant status of patients with stable angina. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 2008; 13(2): 230-9.

17. Akbas H., Ozden M., Kanko M., Maral H., Bulbul S., Yavuz S., Ozker E., Berki T. Protective antioxidant effects of carvedilol in a rat model of ischaemia-reperfusion injury. *Journal of International Medical Research*. 2005; 33(5): 528-36.

18. Zhao Y., Xu Y., Zhang J., Ji T. Cardioprotective effect of carvedilol: inhibition of apoptosis in H9c2 cardiomyocytes via the TLR4/NF- κ B pathway following ischemia/reperfusion injury. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2014; 8(4): 1092-6.

19. Singh D., Chander V., Chopra K. Carvedilol attenuates ischemia-reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2004; 18(6): 627-34.

20. O Butun I., Uysal M., Irmak Sapmaz H., Kunt Isguder C, Tas U. Effects of carvedilol on an ischemia/reperfusion model: Biochemical, histopathological and immunohistochemical evaluation. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2016; 42(9): 1132-40.

21. Berg T. β 1-Blockers Lower Norepinephrine Release by Inhibiting Presynaptic, Facilitating β 1-Adrenoceptors in Normotensive and Hypertensive Rats. *Front Neurol*. 2014; 5(51). doi: 10.3389/fneur.2014.00051.

22. Rodrigo R., Gonzalez J., Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertension Research*. 2011; 34: 431-40.

Сведения об авторах:

Никифорова К.А., аспирант, мл. науч. сотр. лаб. функциональной ангиопротеомики и метаболомики ФГБНУ НИИОПП, e-mail: nikiforovaksenya@gmail.com

Александрин В.В., канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. агрегатного состояния крови ФГБНУ НИИОПП, e-mail: aleksandrin-54@mail.ru

Булгакова П.О., ст. науч. сотр. лаб. агрегатного состояния крови ФГБНУ НИИОПП, e-mail: polya.bulgakova@gmail.com

Иванов А.В., вед. науч. сотр. лаб. агрегатного состояния крови ФГБНУ НИИОПП, e-mail: ivanov_av82@mail.ru

Вирюс Э.Д., канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаб. функциональной ангиопротеомики и метаболомики ФГБНУ НИИОПП, e-mail: edwardvirus@yandex.ru

Кубатиев А.А., доктор мед. наук, проф., акад. РАН, науч. руководитель ФГБНУ НИИОПП