

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

**КРЕАТИН В МЕТАБОЛИЗМЕ КЛЕТКИ
И ЕГО ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ ИШЕМИИ МОЗГА**

© М. Э. Колпакова,^{1, 2,*} О. С. Веселкина,³ Т. Д. Власов^{1, 2}

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова Минздрава РФ,
Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8,
*e-mail: patho@yandex.ru;

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии
им. В. А. Алмазова Минздрава РФ,
Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2;

³ ЗАО «ВЕРТЕКС», Россия, 199106, Санкт-Петербург, 24 линия В. О., 27А

Целью данной обзорной статьи явилось обсуждение представлений об участии креатина в метаболизме клеток нервной ткани. Затрагиваются вопросы особенностей проникновения креатина через гематоэнцефалический барьер и экспрессии транспортера для креатина. Рассматриваются механизмы защитного действия креатина при экспериментальных моделях ишемии головного мозга. Показано, что действие креатина связано с энергетическим обменом (образование креатинфосфата), торможением эксайтотоксичности. Обсуждается антиоксидантное и антиапоптотическое действие креатина. Синтез соединений, способных проникать через гематоэнцефалический барьер без участия транспортера (CRT), является решением проблемы доставки креатина. Наиболее перспективными соединениями представляются амиды креатина, которые, по-видимому, способны проникать через мембрану клетки с помощью транспортеров аминокислот. Обсуждаются перспективы их применения.

Ключевые слова: креатин, амиды креатина, ишемия мозга, гематоэнцефалический барьер.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 99. № 8. С. 000—000. 2013

M. E. Kolpakova,^{1, 2,} O. S. Veselkina,³ T. D. Vlasov.^{1, 2} CREATINE IN A METABOLISM OF CELL AND ITS PROTECTIVE ACTION AT BRAIN ISCHEMIA.* ¹ I. P. Pavlov State Medical University of St-Peterburg, St-Petersburg, 197022, L. Tolstoy St., 6/8, Russia, *e-mail: patho@yandex.ru; ² Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Center, St-Petersburg, 197341, Akkuratova St., 2, Russia; ³ «VERTEX», St-Petersburg, 199106, 24th line VO, 27A, Russia.

The aim of this review was the discussion of creatine involvement in metabolism of nervous tissue cells. The questions of creatine penetration through the blood brain barrier and creatine transporter expression were raised. Also mechanisms of creatine protective effect were considered at experimental models of brain ischemia. It was shown that creatine was involved in energy metabolism (creatine phosphate synthesis), inhibition of excitotoxicity. Besides it had antioxidant and antiproliferative effects. The creatine delivery problem was also discussed Synthesis of sub-

stances capable to get through the blood brain barrier without CRT was the possible solution of the problem. The most perspective substances were creatine amides apparently capable to move through cell membranes without amino acid transporters. Prospects of their application were discussed.

Key words: creatine, creatine amides, brain ischemia, blood-brain barrier.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 99. N 8. P. 000—000. 2013

История исследования креатина как вещества с нейропротективными свойствами насчитывает не одно десятилетие. Нарушения метаболизма креатина, приводящие к снижению образования креатинфосфата и расстройствам энергетического обмена на уровне клеток, характерны для многих патологий, включая ишемические и дегенеративные поражения мозга [70]. В настоящее время описан целый ряд экспериментальных моделей неврологических заболеваний, при которых креатин проявляет защитное действие [26, 31, 49, 56]. Так, на модели хорей Гентингтона у мышей, индуцированной введением 3-нитропропионовой кислоты, добавление в пищу животным креатина значительно уменьшало объем поврежденной нервной ткани [35, 36]. На модели бокового амиотрофического склероза у трансгенных мышей с мутацией гена супероксиддисмутазы креатин также производил защитный эффект, замедляя процесс денервации мышц и улучшая двигательную функцию, тем самым достоверно увеличивая выживаемость животных [22]. В данном обзоре представлены данные о механизмах защитного действия креатина при ишемическом повреждении нервной ткани.

МЕТАБОЛИЗМ КРЕАТИНА И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ ОБМЕНЕ

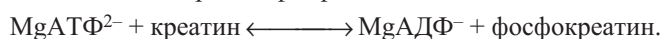
Креатин (α -метилгуанидинуксусная кислота) поступает в организм из желудочно-кишечного тракта как компонент пищи животного происхождения, а также синтезируется (рис. 1), главным образом, в почках и печени путем превращения глицина и L-аргинина в присутствии L-аргининглицинаминотрансферазы (AGAT) в гуанидиноацетат и превращения гуанидиноацетата в креатин с участием S-аденозилметионина и S-аденозил-L-метионин-N-гуанидиноацетатметилтрансферазы (GAMT) [11, 70].

Эндогенный синтез креатина *de novo* обеспечивает не менее 50 % общей потребности взрослого организма в креатине [41], а для детей и подростков 50—100 % потребности. Суточная потребность в креатине составляет 2—5 г для здорового взрослого человека [66].

Наиболее высокий уровень креатина и креатинфосфата выявлен в скелетной мышце, сердце, сперматозоидах и фоторецепторных клетках сетчатки [67]. Умеренный уровень креатина — в мозговой ткани, бурой жировой ткани, печени, семенной жидкости, эндотелиоцитах и макрофагах. В тканях легких, почек, селезенки, печени, в плазме крови определяются низкий уровень креатина [70].

Физиологическая роль креатина в первую очередь связана с его участием в обратимом внутриклеточном процессе фосфорилирования, катализируемом креатинфосфокиназой.

креатинфосфокиназа



Креатинфосфат в свою очередь выступает высокоэнергетическим резервом для образования АТФ. Равновесие сдвигается в сторону образования АТФ при высокой метаболической активности клетки. Таким образом, система креатин—

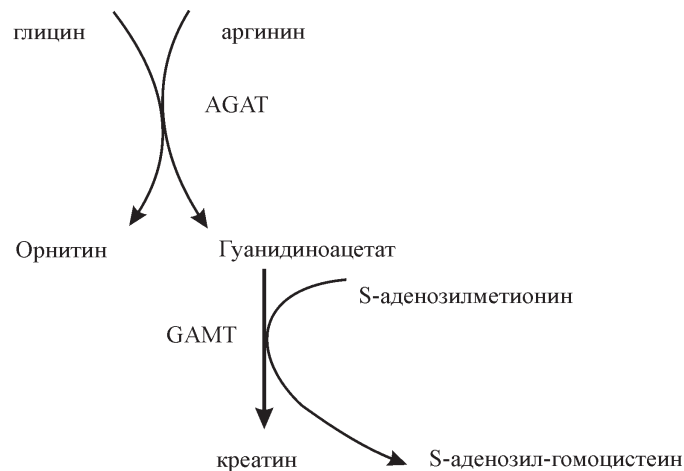


Рис. 1. Схема эндогенного синтеза креатина в нейроне.

AGAT — L-аргинин-глицинамидинотрансфераза; GAMT — S-аденозил-I-метионин-N-гуанидиноацетатметилтрансфераза.

креатинкиназа—креатинфосфат играет роль энергетического буфера и регулятора клеточной энергии.

В связи с высокой потребностью нервной ткани в креатинфосфате концентрация креатина в ней высока [11]. Проникновение креатина через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) происходит посредством его активного транспорта через мембраны клеток специфическим переносчиком креатина CRT ($\text{Na}^+/\text{Cl}^-/\text{creatinе transporter}$) или SLC6A8 (по названию гена транспортера креатина). Этот транспортер экспрессируется на мембране эндотелиоцитов микрососудов гематоэнцефалического барьера, но отсутствует на мембране астроцитов, которые также являются частью гематоэнцефалического барьера [10]. Поэтому проницаемость ГЭБ для креатина резко снижена, и для поступления экзогенного креатина в мозг требуется более продолжительное время по сравнению с мышечной тканью [23]. После прохождения креатина через барьер его дальнейшее поступление в клетки из экстрацеллюлярного матрикса осуществляется также с помощью CRT [11, 38]. Наибольшая плотность CRT отмечается на мембранах нейронов обонятельных луковиц, мозжечка, ствола мозга, а также гиппокампа и других областей лимбической системы, отвечающих за процесс обучения и память [7, 32, 51]. Менее выражена экспрессия транспортера креатина в нейронах области коры, бледного шара и проводящих путей белого вещества [11]. Снижение экспрессии транспортера креатина нейронами и, как следствие, недостаточное поступление креатина в ЦНС, некоторые авторы связывают с повышенной чувствительностью к ишемии [53] и болезни Альцгеймера [46].

Синтез креатина в нервной ткани осуществляется преимущественно глиальными клетками и лишь незначительная доля креатина синтезируется нейронами [47]. Проникновение гуанидиноацетата через гематоэнцефалический барьер с помощью транспортера CTR в клетки нервной ткани [12, 32] способствует ускорению этого синтеза.

В клинической практике описаны редкие случаи наследственной патологии, связанные с дефицитом AGAT или GAMT, что приводит к развитию заболеваний, называемых «синдромы дефицита креатина» [50]. В этих случаях магнитно-резонансная спектроскопия выявляет снижение уровня креатина в ЦНС на фоне выраженной задержки умственного развития и нарушения речевой функции у детей [58, 59]. При диагностике такого нарушения необходимо проводить ле-

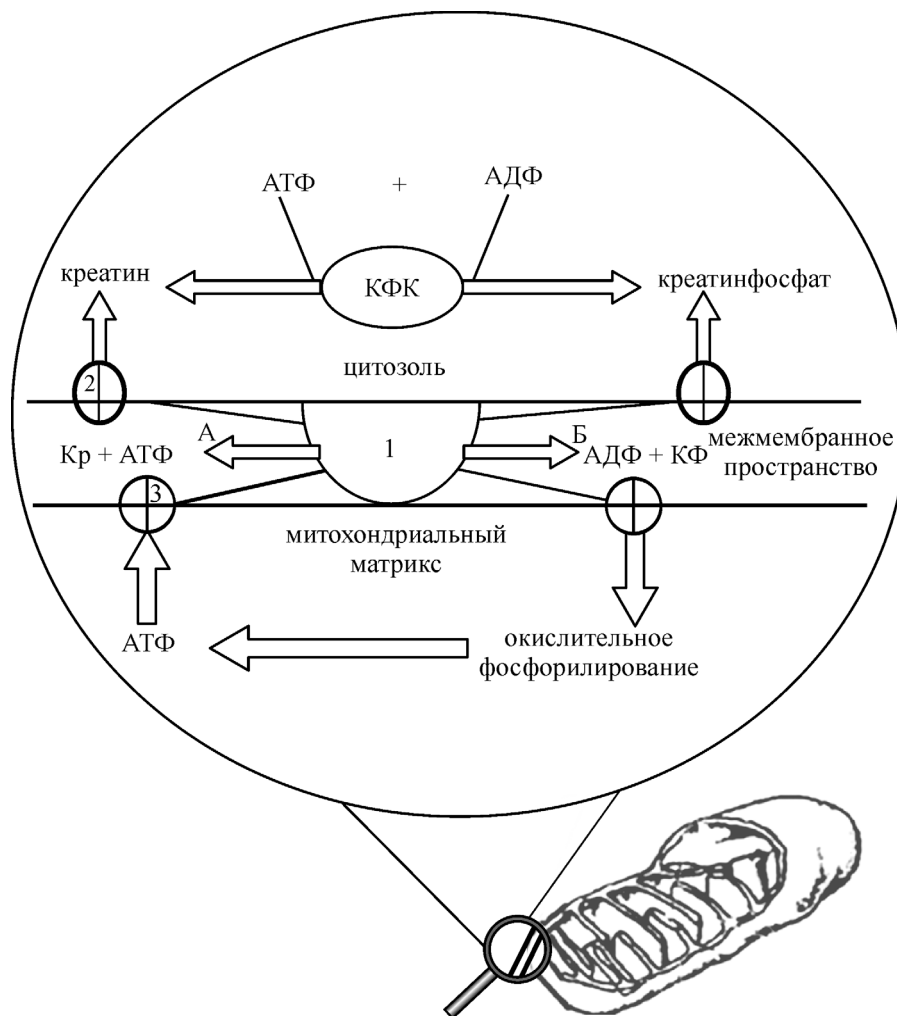


Рис. 2. Участие митохондриальной креатинфосфокиназы в энергетическом обмене.

Митохондриальная креатинфосфокиназа (1) находится между наружной и внутренней мембранами митохондрии и образует комплекс с мембранной порой—потенциал-зависимым каналом для анионов-(VDAC)-2 и транспортером нуклеотидов (ANT)-3. В физиологических условиях происходит накопление креатинфосфата (А). В случае энергетического дефицита креатинфосфокиназа катализирует превращение креатинфосфата в аденозинтрифосфат (Б) (АТФ). АДФ — аденозиндифосфат.

чение высокими дозами креатина для достижения нужных концентраций креатина в нейронах [71].

Еще более тяжелое состояние развивается в случае наследственного дефицита транспортера креатина CRT. При этом нейроны не только не получают креатин из других органов и тканей, но также имеют сниженное внутриклеточное поступление креатина, синтезируемого непосредственно в мозговой ткани, так как этот процесс связан с транспортером креатина CRT [10]. Такая патология приводит к тяжелым некурабельным неврологическим нарушениям.

Одна из важнейших функций креатина в ЦНС — участие в энергетическом обмене клетки за счет превращения в креатинфосфат (фосфокреатин), катализируемого креатинфосфокиназой (рис. 2).

Выделяют 4 изоформы креатинфосфокиназы, основываясь на ее экспрессии тканями, — мышечная (М-СК), мозговая (В-СК) и внутриклеточном распределении фермента — цитозольная и митохондриальная креатинфосфокиназа. Ряд исследователей выделяет также отдельно креатинфосфокиназу кардиомиоцитов [8]. Локализация креатинфосфокиназы зависит от изоформы. Так, митохондриальная креатинфосфокиназа (MtСК), подразделяемая в свою очередь на два подтипа: саркомерную мышечную (sMtСК) и мозговую, называемую в свою очередь убиквитарной митохондриальной креатинфосфокиназой (uMtСК), локализованы на наружной стороне мембраны митохондрий [4, 9].

Поступление креатина в нейрон сопровождается образованием запасов креатинфосфата, который используется для поддержания стабильного соотношения между АТФ и АДФ [65]. Это особенно важно именно для нервных и мышечных клеток, для которых характерна большая потребность в энергии [71]. В нормальных физиологических условиях нейрон использует преимущественно энергию креатинфосфата, в то время как концентрация АТФ в нем практически не меняется. В условиях энергетического дефицита, например, при интенсивной нагрузке или при гипоксии, креатинфосфокиназа катализирует образование АТФ из креатинфосфата, тем самым поддерживая клеточное содержание АТФ на постоянном уровне [8, 54, 68]. Функциональная значимость «буферной» функции креатинфосфокиназы также важна в случаях, когда возникает потребность в перемещении АТФ на большие расстояния, как, например, в аксонах нейронов [64].

Роль креатинфосфокиназы в головном мозге подтверждают исследования, проведенные на нокаутных мышах. У мышей, нокаутных по гену мозговой креатинфосфокиназы (В-СК —/—), данный дефект проявлялся в снижении реакции животных в тесте «открытое поле» и морфологическими признаками нарушения межнейронных связей в гиппокампе [24]. При отсутствии как мозговой (В-СК —/—), так и убиквитарной креатинфосфокиназы (uMt-СК —/—) у трансгенных мышей отмечались более выраженные поведенческие расстройства, снижение стволовых рефлексов (acoustic startle reflex) и даже уменьшение общей массы мозга [60].

ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ КРЕАТИНА ПРИ ИШЕМИИ И ГИПОКСИИ

Поддержание энергетического обмена клетки. Особо значимо проявляется роль креатинфосфокиназы в условиях ишемии/гипоксии. Так, при ишемии концентрация креатина в нервной ткани снижается в первую очередь за счет уменьшения синтеза эндогенного креатина. Поэтому основным источником для восстановления эндогенных энергетических запасов (образования креатинфосфата) становится преимущественно экзогенный креатин [25]. По мнению некоторых исследователей, креатин можно использовать как средство профилактики, так и лечения ишемического повреждения [71]. Так, в исследовании D. Holzman и соавт. [21] подкожное введение креатина в дозе 3 г/кг в течение 3 дней перед гипоксией (4 % O₂) повышало соотношение креатинфосфат/АТФ в ткани мозга у новорожденных кроликов, т. е. увеличивало энергетические резервы нервной ткани. Также был обнаружен нейропротективный эффект креатина на модели ишемического инсульта у мышей, который заключался в повышении толерантности нервной ткани к ишемическому повреждению [45]. Эти исследования подтверждаются и экспериментами на культурах клеток. Так, в работе H. Shen и соавт. [57] в эксперименте на аксонах кортикальных нейронов мышей (в отсутствие тел нейронов и глиальных клеток) подавление окислительного фосфорилирования воздействием 6 мМ азида натрия (ингибитора IV комплекса ферментов митохондрий) приводило к снижению содержания АТФ в аксонах на 65 % и повреждению 75 % аксонов. Добавление в инкубационную среду креатина в дозе 10 мМ за сутки до этого снижало повреждение аксонов на 50 %. По мнению авторов, добавление креа-

тина сопровождалось увеличением образования креатинфосфата, что приводило к восстановлению мембранного потенциала и защищало аксоны нейронов от повреждения [57].

При ишемическом повреждении на определенной стадии ишемии головного мозга возникает цитотоксический отек [18]. Ряд экспериментальных работ указывает на то, что на начальных стадиях развития отека мозга, в том числе и при отеке, развивающемся в результате окклюзии средней мозговой артерии [17, 20], отмечается повышенная экспрессия аквапорина-4 (AQP4), что является ключевым звеном в увеличении объема воды нервных клеток [40]. В одной из недавних работ [29] были получены данные о влиянии креатина на гистологические признаки отека головного мозга.

Нарушение энергетического обмена в нейронах при гипоксии или ишемии может быть лишь частично компенсировано экзогенным креатином [69]. Это связано с тем, что экзогенный креатин не может обеспечить потребности головного мозга из-за ограниченности его транспорта через гематоэнцефалический барьер [37]. Кроме участия креатина в создании энергетического буфера клетки, в литературе описаны и другие механизмы защиты нервной ткани с помощью креатина при ишемии, которые будут описаны дальше.

Эксайтотоксичность при ишемическом повреждении и защитный эффект креатина. Известно, что одним из важных механизмов повреждения нейронов при ишемии является эксайтотоксичность, вызванная высвобождением возбуждающих аминокислот, в первую очередь глутамата. В свою очередь активация глутаматом NMDA-рецепторов уменьшает резервы АТФ в нейронах, что утяжеляет течение ишемии [19]. В настоящее время одним из важных направлений защиты от ишемического повреждения мозга считается ослабление эффекта таких возбуждающих нейромедиаторов как аспартат и глутамат. В частности, в ряде работ высказывается предположение об уменьшении глутамат-индуцированной эксайтотоксичности под действием креатина [10, 48, 72]. Так, в экспериментах *in vitro*, проводимых на срезах гиппокампа крыс, защитный эффект креатина проявлялся в активации пресинаптического захвата глутамата [70], а также в восстановлении натриевого градиента путем активации $\alpha_{2/3}\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы [39, 47], что приводило к снижению воздействия глутамата на NMDA-рецепторы и уменьшению эксайтотоксичности. В работе J. T. Brosnan и M. E. Brosnan [13] предполагается, что креатин опосредованно воздействует на субъединицу NR2B NMDA-рецепторов и тормозит вход кальция и натрия в клетку, механизмы этого процесса до конца не изучены.

Известно, что проявления эксайтотоксичности могут лежать в основе судорожного синдрома. По данным D. V. Magni и соавт. [31], креатин оказывал тормозящий эффект на развитие судорог, индуцированных у крыс путем введения глутаровой кислоты. Кроме нарушения энергетического обмена в нейронах глутаровая кислота угнетает захват глутамата в синапсосамах, что приводит к увеличению содержания внеклеточного глутамата. По мнению авторов, одним из механизмов действия креатина было именно улучшение захвата глутамата в синапсосамах.

В работе L. Massieu и соавт. [33] было показано, что предварительный недельный курс потребления креатина в питьевой воде (1 %) уменьшал объем поврежденной нервной ткани в области гиппокампа на 32 % у крыс на модели повреждения мозга, вызванного введением L-транс-пирролидин-2,4-дикарбоксилата (PDC) — веществом, угнетающим захват глутамата и аспартата. Введение этого препарата сопровождается выраженной эксайтотоксичностью.

Таким образом, одним из механизмов действия креатина является подавление глутамат-индуцированной эксайтотоксичности, что может проявляться уменьшением степени ишемического повреждения нейронов.

Антиоксидантный эффект креатина. Одним из известных механизмов ишемического повреждения является образование активных форм кислорода — су-

пероксиданиона, гидроксил-радикала, пероксинитрита и т. д. Нервные клетки головного мозга в наибольшей мере подвержены оксидативному стрессу, поскольку их антиоксидантные системы относительно слабы и наиболее значимую функцию выполняет глутатионовая система астроцитов [34], которая утилизирует радикалы кислорода. Креатин обладает антиоксидантным действием, что наблюдается при его взаимодействии с активными формами кислорода. По данным J. M. Lawler и соавт. [27], креатин *in vitro* уменьшал концентрацию супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$) и пероксинитрита ($OONO^-$), а также оказывал антиоксидантный эффект в тест-системе с 2,2'-азино-бис-3-этилбензтазолин-6-сульфоновой кислотой (АБТС), не влияя на содержание перекиси водорода и липоперекиси.

Еще один из механизмов взаимодействия креатина с активными нерадикальными формами кислорода описывается в исследовании P. Sestili и соавт. [55]. В результате взаимодействия с перекисью водорода гуанидиновая группа креатина подвергается окислению, что было показано в исследованиях *in vitro* на промоноцитах и эндотелиоцитах человека.

Таким образом, креатин способен выступать как антиоксидант, в том числе и в условиях ишемического повреждения нервной ткани, что может являться одним из механизмов его защитного действия.

Антиапоптотический эффект креатина и его соединений. Известно, что при ишемии мозга одним из механизмов повреждения клеток является активация апоптоза клетки с последующим образованием апоптотических телец, которые подвергаются фагоцитозу. Активные формы кислорода при ишемическом повреждении стимулируют апоптоз, поэтому изменение их концентрации в ткани может влиять и на процессы апоптоза [63].

В одном из исследований на модели фокальной церебральной ишемии у мышей (2 ч ишемии и 24 ч реперфузии) было показано, что добавление в пищу 2 % креатина подавляло активность каспазы-3 и выход цитохрома С из митохондрий, что доказывает антиапоптотическое действие креатина [72]. Введение креатинфосфата до моделирования фокальной ишемии головного мозга у крыс уменьшало признаки апоптотической дегенерации ядра нейронов [29], что также подтверждает значимость энергетического обмена в активации апоптоза при ишемии.

Таким образом, креатин способен уменьшать активацию апоптоза при ишемии головного мозга, что можно рассматривать как один из механизмов его притивоишемического эффекта.

ВОЗМОЖНОСТИ ДОСТАВКИ КРЕАТИНА В НЕРВНУЮ ТКАНЬ

Известно, что применение креатина ограничено особенностью его транспорта через гематоэнцефалический барьер, особенно при его пероральном применении [15]. Однако не только проницаемость ГЭБ для креатина влияет на эффективность его применения. Биодоступность креатина при пероральном приеме зависит от кишечной микрофлоры, а также формы приема креатина [7]. Кроме того, в клинических и экспериментальных исследованиях при длительном приеме креатина описаны симптомы диспепсии, приводящие к снижению его биодоступности [14, 62].

Парентеральное введение креатина также не позволяет «насытить» нервную ткань необходимой концентрацией креатина. Так, в эксперименте на крысах пул креатина головного мозга увеличивался лишь на 1 % при интраперитонеальном его введении в дозе 160 мг/кг [43]. Для решения этой проблемы в некоторых экспериментах применяли введение креатина непосредственно в желудочки мозга [28].

Сложности доставки различных веществ, в том числе и креатина, через гематоэнцефалический барьер с целью повышения эффективности их лечебного

действия вынуждают создавать новые технологии транспорта. В 2009 г. J. López-Viota и соавт. [30] описали способ синтеза наночастиц из золота, покрытых креатином. По мнению авторов, синтез и дизайн наночастиц можно контролировать, определять их электрофоретические возможности и в эксперименте визуализировать их накопление с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, это могло бы стать одним из возможных решений проблемы доставки креатина через гематоэнцефалический барьер. Однако данная методика является дорогостоящей, кроме того, появляется дополнительная проблема биodeградации неорганических наночастиц [3].

В связи с этим весьма перспективным направлением является модификация молекулы креатина для повышения возможности его транспорта через ГЭБ. Так, в работе L. Perasso и соавт. [43] был показан выраженный нейропротективный эффект магниевого комплекса фосфокреатина (PCr-Mg-CPLX) при парентеральном введении за 30 мин до ишемии мозга на модели окклюзии средней мозговой артерии у мышей, это авторы связывают с хорошим проникновением соединений креатина через ГЭБ.

В эксперименте *in vitro* производные креатина — этиловый и бензиловый эфиры — накапливались в нервных клетках гиппокампа мышей, в особенности последний, и вследствие высокой липофильности (в отличие от самого креатина) проникали в нервные клетки даже при условии блокирования транспортера креатина [6].

Известно, что природные аминокислоты проходят через барьеры, включая клеточные мембраны, посредством специализированных транспортеров: фенилаланин и тирозин — с помощью общих транспортеров нейтральных аминокислот L-типа (LAT), а ГАМК и глицин — специфических транспортеров — GAT [52] и GlyT [16] соответственно. Показано, что транспортер креатина CRT имеет структурное сходство с транспортером аминокислоты таурина и ГАМК [10]. Не исключено, что производные креатина могут поступать в клетки за счет участия других транспортных систем, вероятнее всего, транспортеров аминокислот (таурин и ГАМК). Это предположение подтверждается высокой протективной активностью амидов креатина при экспериментальной ишемии. На модели фокальной ишемии головного мозга у крыс была показана эффективность креатинил-тирозинамида ацетата, креатинил-фенилаланинамида ацетата, креатинил-γ-аминомасляной кислоты этилового эфира ацетата, креатинилглицин этилового эфира фумарата при их внутривенном, интраперитонеальном [1:2] и внутригастральном [5] введении животным. Получены данные о быстром дозозависимом эффекте отдельных производных креатина, что предполагает их хороший транспорт в нервную ткань. Эти экспериментальные данные позволяют предположить, что производные креатина быстро поступают в головной мозг с высвобождением креатина, это подтверждается его усиленным клиренсом в первые часы после введения соединений. По-видимому, поступление креатина в нейроны способствует улучшению их энергетического обмена в условиях ишемии, что открывает перспективы использования именно производных креатина в клинической практике.

Креатинфосфат уже давно используется в клинической практике лечения сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца [44]. В то же время исследования его защитного действия при ишемии головного мозга единичны [29]. При этом адресная доставка креатинфосфата к нейронам при ишемии мозга сопряжена не только с проблемой транспорта через гематоэнцефалический барьер, но и с нестабильностью этого соединения. Возможно создание комплексных соединений креатинфосфата с медью и полиаминами [61], которые обладают большей стабильностью, чем сам креатинфосфат. Однако токсичность, биологический эффект и способность проникновения через ГЭБ у этих веществ не изучены.

Таким образом, аспект применения креатина у больных с ишемическим повреждением центральной нервной системы на сегодняшний день сводится к воз-

возможности минимизации того объема нарушений, которое было вызвано ишемией. Использование аналогов креатина должно быть основано на удобстве их применения, легкости доставки к поврежденным тканям и надежностью эффекта. Основным препятствием поступления креатина в нервную ткань является трудность прохождения через ГЭБ, что связано с ограничением экспрессии транспортера креатина CRT. Наиболее перспективными в клиническом плане представляются производные креатина, способные проникать через ГЭБ без участия специфического транспортера CRT. К ним можно отнести этиловый и бензиловый эфиры креатина из-за их высокой липофильности. Они могут поступать в клетку без участия транспортеров [6]. Другими перспективными производными креатина являются его амиды [1, 2, 5], которые, вероятно, способны поступать в нейроны с помощью транспортеров аминокислот.

Предстоит решить задачи методологического характера: каким образом улучшить доставку экзогенного креатина в нейроны как в эксперименте, так и в клинике, осуществляя модификацию химической структуры креатина, создание его аналогов, а также исследовать точки приложения его защитного эффекта на клеточном и системном уровнях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Веселкина О. С., Кратирова Н. В., Колпакова М. Э., Чефу С. Г., Власов Т. Д.* Цитопротективное действие препарата креамид при экспериментальной ишемии/реперфузии головного мозга у крыс. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 98 (9): 1094—1100. 2012.
- [2] *Власов Т. Д., Чефу С. Г., Байса А. Е., Леко М. В., Буров С. В., Веселкина О. С.* Амиды креатина: перспективы нейропротекции. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 97 (7): 708—716. 2011.
- [3] *Галагудза М. М., Королев Д. В., Евреинова Н. В., Федоров Д. В., Постнов В. Н., Кирпичева Е. Б., Байдюк Е. В.* Исследование биодegradуемости кремнеземных наночастиц для направленной доставки лекарственных препаратов *in vitro* и *in vivo*. *Нанотехника.* 1: 86—89. 2011.
- [4] *Ерлыкина Е. И., Хватова Е. М., Колчина Н. С.* Взаимодействие креатинкиназы с мембраной митохондрий мозга крыс. *НМЖ.* 4: 24—27. 2005.
- [5] *Кратирова Н. В., Веселкина О. С., Колпакова М. Э., Чефу С. Г., Коржевский Д. Э., Дайнеко А. С., Просвирнина М. С., Пискун А. В., Власов Т. Д.* Эффект внутригастрального введения креатинилглицин этилового эфира фумарата при окклюзионной ишемии мозга у крыс. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 98 (10): 1258—1264. 2012.
- [6] *Adriano E., Garbati P., Damonte G., Salis A., Armirotti A., Balestrino M.* Search for a therapy of creatine transporter deficiency: some effects of creatine ethylester in brain slices *in vitro*. *Neuroscience.* 199: 386—393. 2011.
- [7] *Allen P.* Creatine metabolism and psychiatry disorders: does creatine supplementation have therapeutic value? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36: 1442—1462. 2012.
- [8] *Andres R. H., Ducray A. D., Huber A. W., Perez-Bouza A., Krebs S. H., Schlattner U., Seiler R. W., Wallimann T., Widmer H. R.* Effects of creatine treatment on survival and differentiation of GABA-ergic neurons in cultured striatal tissue. *J. Neurochem.* (95): 33—45. 2005.
- [9] *Andres R. H., Ducray A. D., Schlattner U., Wallimann T., Widmer H. R.* Functions and effects of creatine in the central nervous system. *Brain Res. Bull.* 76: 329—343. 2008.
- [10] *Balestrino M., Gandolfo C., Perasso L.* Intracerebroventricular administration of creatine protects against damage by global cerebral ischemia in rat. *Curr. Enzyme Inhibition.* 5: 223—233. 2009.
- [11] *Braissant O., Henry H., Loup M., Eilers B., Bachmann C.* Endogenous synthesis and transport of creatine in the rat brain: an *in situ* hybridization study. *Brain Res.* 86: 193—201. 2001.
- [12] *Braissant O.* Creatine and guanidinoacetate transport at blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *J. Inher. Metab. Dis.* 35: 655—664. 2012.
- [13] *Brosnan J. T., Brosnan M. E.* Creatine: endogenous metabolite, dietary, and therapeutic supplement. *Annu. Rev. Nutr.* 27: 241—261. 2007.

- [14] *Brudnak M.* Creatine: are the benefits worth the risk? *Toxicol. Lett.* 150: 123—130: 2004.
- [15] *Dechent P. J., Pouwels B., Wilken F., Hanefeld J.* Increase of total creatine in human brain after oral supplementation of creatine-mono-hydrate. *Am. J. Physiol.* 277: R698—R704. 1999.
- [16] *Eulenburg V., Armsen W., Betz H., Gomeza J.* Glycine transporters: essential regulators of neurotransmission. *Trends Biochem. Sci.* 30(6): 325—333. 2005.
- [17] *Friedman B., Schachtrup C., Tsai P. S., Shih A. Y., Akassoglou K., Kleinfeld D., Lyden P. D.* Acute vascular disruption and aquaporin 4 loss after stroke. *Stroke.* 40 (6): 2182—2190. 2009.
- [18] *Frigeri A., Nicchia G. P., Svelto M.* Aquaporins as targets for drug discovery. *Curr. Pharm. Des.* 13: 2421—2427. 2007.
- [19] *Globus M. Y.-T., Busto R., Dietrich W. D., Martinez E., Valdes I., Ginsberg M. D.* Effect of ischemia on the release of striatal dopamine, glutamate, and Q-aminobutyric acid studied by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.* 51: 1455—1464. 1988.
- [20] *Hirt L., Ternon B., Price M., Mastour N., Brunet J.-F., Badaut J.* Protective role of early Aquaporin 4 induction against postischemic edema formation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 29 (2): 423—433. 2009.
- [21] *Holtzman D., Khait I., Mulkern R., Allred E., Rand T., Jensen F., Kraft R.* In vivo development of brain phosphocreatine in normal and creatine-treated rabbit pups. *J. Neurochem.* (73): 2477—2484. 1999.
- [22] *Ikeda K., Iwasaki Y., Kinoshita M.* Oral administration of creatine mono-hydrate retards progression of motor neuron disease in the wobbler mouse. *Amyotroph. Lateral Scler. Other Motor. Neuron Disord.* (1): 207—212. 2000.
- [23] *Ipsiroglu O. S., Stromberger C., Ilas J., Hoger H., Muhl A., Stockler-Ipsiroglu S.* Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-mono-hydrate in various animal species. *Life Sci.* 69: 1805—1815. 2001.
- [24] *Jost C. R., Van Der Zee C. E., In't Zandt H. J., Oerlemans F., Verheij M., Streijger F., Fransen J., Heerschap A., Cools A. R., Wieringa B.* Creatine kinase B-driven energy transfer in the brain is important for habituation and spatial learning behaviour, mossy fibre field size and determination of seizure susceptibility. *Eur. J. Neurosci.* 15: 1692—1706. 2002.
- [25] *Kim G. E., Lee J. H., Cho Y. P., Kim S. T.* Metabolic changes in the ischemic penumbra after carotid endarterectomy in stroke patients by localized in vivo proton magnetic resonance spectroscopy (H-MRS). *Cardiovasc. Surg.* 9: 345—355. 2001.
- [26] *Klein A. M., Ferrante R. J.* The neuroprotective role of creatine. *Subcell. Biochem.* 46: 205—243. 2007.
- [27] *Lawler J. M., Barners W. S., Wu G., Song W., Demaree S.* Direct antioxidant properties of creatine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 290: 47—52. 2002.
- [28] *Lensman M., Korzhhevskii D. E., Mourouvs V. O., Kostkin V. B., Izvarina N., Perasso L., Gandolfo C., Otellin V. A., Polenov S. A., Balestrino M.* Intracerebroventricular administration of creatine protect against damage by global cerebral ischemia in rat. *Brain Res.* 1114: 187—194. 2006.
- [29] *Li T., Wang N., Zhao M.* Neuroprotective effect of phosphocreatine on focal cerebral ischemia-reperfusion injury. *J. Biomed. Biotechnol* 2012. 2012:168756. doi: 10.1155/2012/168756. Epub 2012.
- [30] *López-Viota J., Mandal S., Delgado A. V., Toca-Herrera J. L., Moller M., Zanuttin F., Balestrino M., Krol S.* Electrophoretic characterization of gold nanoparticles functionalized with human serum albumin (HSA) and creatine. *J. Colloid Interf. Sci.* 332: 215—223. 2009.
- [31] *Magni D. V., Oliveira M. S., Furian A. F., Fiorenza N. G., Figuera M. R., Ferreira J.* Creatine decreases convulsions and neurochemical alterations induced by glutaric acid in rats. *Brain Res.* 1185: 336—345. 2007.
- [32] *Mak C. S. W., Waldvogel H. J., Dodd J. R., Gilbert R. T., Lowe M. T., Birch N. P., Faull R. L. M., Christie D. L.* Immunohistochemical localization of the creatine transporter in the rat brain. *Neuroscience.* 163: 571—585. 2009.
- [33] *Massieu L., Del R'ò P., Montiel T.* Neurotoxicity of glutamate uptake inhibition in vivo: correlation with succinate dehydrogenase activity and prevention by energy substrates. *Neuroscience.* 106: 669—677. 2001.
- [34] *Mates J. M.* Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* 153: 84—104. 2000.

- [35] Matthews R. T., Yang L., Jenkins B. G., Ferrante R. J., Rosen B. R., Kaddurah-Daouk R., et al. Neuroprotective effects of creatine and cyclocreatine in animal models of Huntington's disease. *J. Neurosci.* 18(1): 156—163. 1998.
- [36] Matthews R. T., Ferrante R. J., Klivenyi P., Yang L., Klein A. M., Mueller G., Kaddurah-Daouk R., Beal M. F. Creatine and cyclocreatine attenuate MPTP neurotoxicity. *Exp. Neurol.* 157:142—149. 1999.
- [37] Nääntö-Salonen K., Komu M., Lundbom N., Heinänen K., Alanen A., Sipilä I., Simell O. Reduced brain creatine in gyrate atrophy of the choroid and retina with hyperornithinemia. *Neurology.* 53: 303—307. 1999.
- [38] Ohtsuki S., Tachikawa M., Takanaga H., Shimizu H., Watanabe M., Hosoya K., Terasaki T. The blood—brain barrier creatine transporter is a major pathway for supplying creatine to the brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 22: 1327—1335. 2002.
- [39] Oliveira M. S., Furian A. F., Figuera M. R., Fiorenza N. G., Ferreira J., Rubin M. A. The involvement of the polyamines binding sites at the NMDA receptor in creatine-induced spatial learning enhancement. *Behav. Brain Res.* 187: 200—204. 2008.
- [40] Pasantes-Morales H., Cruz-Rangel S. Brain volume regulation: osmolytes and aquaporin perspectives. *Neuroscience.* 168 : 871—884. 2010.
- [41] Peral M. J., Garcia-Delgado M., Calonge M. L., Duran J. M., De La Horra M. C., Wallimann T., Speer O., Ilundain A. Human, rat and chicken small intestinal Na⁺-Cl⁻-creatine transporter: functional, molecular characterization and localization. *J. Physiol.* 545: 133—144. 2002.
- [42] Perasso L., Cupello A., Lundardi G. L., Principato C., Gandolfo C., Balestrino M. Kinetics of creatine in blood and brain after intraperitoneal injection in the rat. *Brain Res.* 974: 37—42. 2003.
- [43] Perasso L., Adriano E., Ruggeri P., Burov S. V., Gandolfo C., Balestrino M. In vivo neuroprotection by creatine-derived compound: phosphocreatinibic — Mg-complex acetate. *Brain Res.* 1285: 158—163. 2009.
- [44] Prabhakar G., Vona-Davis L., Murray D., Lakhani P., Murray G. Phosphocreatine restores high-energy phosphates in ischemic myocardium: Implication for off-pump cardiac revascularization. *JACS.* 197 (5): 786—791. 2003.
- [45] Prass K., Rojl G., Lindauer U., Freyer D., Megow D., Dirnagl U., Stockler-Ipsiroglu G., Wallimann T., Priller J. Improved reperfusion and neuroprotection by creatine in a mouse model of stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 27: 452—459. 2007.
- [46] Price J. L., Ko A. I., Wade M. J., Tsou S. K., McKeel D. W., Morris J. C. Neuron number in the entorhinal cortex and CA1 in preclinical Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 58:1395 —1402. 2001.
- [47] Rambo L. M., Ribeiro L. R., Schramm V. G., Berch A. M., Stamm D. N., Della-Pace I. D., Almeida Silva L. F., Furian A. F., Schneider Oliveira M. S., Figuera M. R., Royes L. F. Creatine increases hippocampal Na⁺, K⁺-ATPase activity via NMDA-calcineurin pathway. *Brain Res. Bull.* 88: 553—559. 2012.
- [48] Royes L. F., Figuera M. R., Furian A. F., Oliveira M. S., da Silva L. G., Malfatti C. R. Creatine protects against the convulsive behavior and lactate production elicited by the intrastriatal injection of methylmalonate. *Neuroscience.* 118(4): 1079—1090. 2003.
- [49] Royes L. F., Figuera M. R., Furian A. F., Oliveira M. S., Myskiw J. C., Fiorenza N. G. Effectiveness of creatine monohydrate on seizures and oxidative damage induced by methylmalonate. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 83: 136—144. 2006.
- [50] Salomons G. S., van Dooren S. J., Verhoeven N. M., Cecil K. M., Ball W. S., DeGrauw T. J., Jakobs C. X-linked creatine-transporter gene (SLC6A8) defect: a new creatine-deficiency syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 68 : 1497—1500. 2001.
- [51] Saltarelli M. D., Bauman A. L., Moore K. R., Bradley C. C., Blakely R. D. Expression of the rat brain creatine transporter in situ and in transfected HeLa cells. *Dev. Neurosci.* 18: 524—534. 1996.
- [52] Sarup A., Larsson O. M., Schousboe A. GABA transporters and GABA-transaminase as drug targets. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 2(4): 269—277. 2003.
- [53] Schmidt-Kastner R., Freund T. F. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. *Neuroscience.* 40: 599—636. 1991.
- [54] Schlattner U., Tokarska-Schlattner M., Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 1762: 164—180. 2006.

- [55] Sestili P., Martinelli C., Bravi G., Piccoli G., Curci R., Battistelli M., Falcieri E., Agostini D., Gioacchini A., Stocchi V. Creatine supplementation affords cytoprotection in oxidatively injured cultured mammalian cells via direct antioxidant activity. *Free Radic. Biol. Med.* 40 : 837—849. 2006.
- [56] Shear D. A., Haik K. L., Dunbar G. L. Creatine reduces 3—nitropropionic-acid-induced cognitive and motor abnormalities in rats. *NeuroReport*. 11(9): 1833—1837. 2000.
- [57] Shen H., Goldberg M. P. Creatine pretreatment protects cortical axons from energy depletion in vitro. *Neurobiol. Disease* 47: 184—193. 2012.
- [58] Schulze A., Battini R. Pre-symptomatic treatment of creatine biosynthesis defects. *Subcell. Biochem.* 46: 167—181. 2007.
- [59] Schulze A., Hess T., Wevers R., Mayatepek E., Bachert P., Marescau B., Knopp M. V., De Deyn P. P., Bremer H. J., Rating D. Creatine deficiency syndrome caused by guanidinoacetatemethyltransferase deficiency: diagnostic tools for a new inborn error of metabolism. *J. Pediatr.* 131: 626—631. 1997.
- [60] Streijger F., Oerlemans F., Ellenbroek B. A., Jost C. R., Wieringa B., Van der Zee C. E. Structural and behavioural consequences of double deficiency for creatine kinases BCK and UbC-Kmit. *Behav. Brain Res.* 157: 219—234. 2005.
- [61] Szysman N. W., Loureiro N. P., Tenorio T., Mercê A. L. R., Mangrich A. S., Rey N. A., Felcman J. Study of copper (II) ternary complexes with phosphocreatine and some polyamines in aqueous solution. *J. Inorg. Biochem.* 105: 1712—1719. 2011.
- [62] Tarnopolsky M. A. Potential benefits of creatine monohydrate supplementation in the elderly. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 3: 497—502. 2000.
- [63] Thompson C. B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment disease. *Science.* 267: 1456—1462. 1995.
- [64] Van Brussel E., Yang J. J., Seraydarian M. W. Isozymes of creatine kinase in mammalian cell cultures. *J. Cell Physiol.* 116(2): 221—226. 1983.
- [65] Ventura-Clapier R., Kuznetsov A., Veksler V., Boehm E., Anflous K. Functional coupling of creatine kinases in muscles: species and tissue specificity. *Mol. Cell. Biochem.* 184: 231—247. 1998.
- [66] Wallimann T., Tokarska-Schlattner M., Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids.* 40: 1271—1296. 2011.
- [67] Wallimann T., Wegmann G., Moser H., Huber R., Eppenberger H. M. High content of creatine kinase in chicken retina: compartmentalized localization of creatine kinase isoenzymes in photoreceptor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83 : 3816—3819. 1986.
- [68] Wells G. D., Selvadurai H., Tein I. Bioenergetic provision of energy for muscular activity. *Paediatr. Respir. Rev.* 10: 83—90. 2009.
- [69] Wilken B., Ramirez J. M., Probst I., Richter D. W., Hanefeld F. Anoxic ATP depletion in neonatal mice brainstem is prevented by creatine supplementation. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal. Edn.* 82: 224—227. 2000.
- [70] Wyss M., Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol. Rev.* 80: 1107—1213. 2000.
- [71] Wyss M., Schulze A. Health implication of creatine: can oral creatine supplementation protect against neurological and atherosclerotic disease? *Neuroscience.* 112 (2): 243—260. 2002.
- [72] Zhu S., Li M., Figueroa B. E., Liu A., Stavrovskaya I. G., Pasinelli P. Prophylactic creatine administration mediates neuroprotection in cerebral ischemia in mice. *J. Neurosci.* 24 (26): 5909—5912. 2004.

Поступила 15 IV 2013
После доработки 25 VI 2013