

Таким образом, «пассивное» курение самок в течение гестационного периода – это фактор с выразительным отрицательным влиянием на репродуктивные возможности их половозрелых потомков женского пола.

Ключевые слова: «пассивное» курение беременных, потомки женского пола, репродуктивная система.

FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM OF RAT'S OFFSPRING, BORN BY FEMALES WITH A PREGNANCY COMPLICATED BY «PASSIVE» TOBACCO SMOKING

Sergienko L. Yu., Selyukova N. Yu., Gevorkyan A. R., Perets O. V.

Abstract. In different parts of the world, till 60 % of women use tobacco during pregnancy. However, an even higher percentage (till 80 %) of pregnant women is exposed to so-called «passive» smoking. This term refers to the inhalation of smoke of the burning cigarettes, as well as cigarette toxic products exhaled by the «active» smoker and his clothes, hair and things, by non-smoking persons at home or in open public spaces. It is considered that the «passive» smoking, when a woman is often unable to protect herself, is the cause of many health risks for both pregnant woman and her child. The given consensus requires further comprehensive research. The present work is devoted to the experimental study of histofunctional features of the reproductive system of female offspring born from mothers, exposed to «passive» smoking during pregnancy. The study was conducted on the 6-month-old female Wistar rats – the first-generation offspring derived from control (intact) rats and from females who were exposed to tobacco smoke in a model of «passive» smoking. The histological changes of the reproductive system organs and the hormonal status of 6-month-old female offspring of mothers who received the products of cigarette combustion through the respiratory tract were studied. Significant degenerative changes in the ovaries and uterus of experimental offspring with a simultaneous decreased levels of female sex hormones and increased level of testosterone in blood plasma were found. The nature of changes in the reproductive system and the levels of sex hormones indicated a premature decrease of fertility in female offspring, that was negatively affected during embryonic development with tobacco products, received by its pregnant mothers passively.

Thus, «passive» smoking of females during the gestation period is a factor with a clear negative impact on the reproductive capabilities of their mature female offspring.

Key words: «passive» smoking of pregnant women, female offspring, reproductive system.

Рецензент – проф. Тарасенко К. В.

Стаття надійшла 05.11.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-4-158-193-199

УДК 615.214.31:616.89–008

*Соколик О. П., *Прозорова Г. О.*

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ ЩУРІВ НА ПАРАМЕТРИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ПОШУК НОВИХ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНИХ СХЕМ КОРЕКЦІЇ ДИСБАЛАНСУ

Одеський національний медичний університет (м. Одеса)

*Приватний заклад вищої освіти

«Міжнародний класичний університет ім. Пилипа Орлика» (м. Миколаїв)

sokolikep@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР МОЗ України за темою «Комплексне фармакологічне вивчення нових біологічно активних сполук природного та синтетичного походження», № державної реєстрації 0115U006648, 2016–2020 рр.

Вступ. Механізми ураження нейрональних клітин при різних захворюваннях головного мозку є важливою проблемою неврології та фармакології для розуміння шляхів фармакологічної корекції порушень, які зараз інтенсивно вивчаються у всьому світі [1]. Актуальність цієї проблеми не зменшується, незважаючи на активність досліджень у цій галузі та певні успіхи, оскільки нейродеструктивні патології центральної нервової системи займають провідне місце в структурі інвалідності та смертності серед населення розвинених країн. Виникає нова хвиля збільшення зловживання алкоголем. Активація вільнорадикальних процесів була виявлена при гострій та хронічній алкогільній інтоксикації [2]. За цих умов незадовільна інактивація сполук вільнорадикальної природи, яка здійснюється антиоксидантною системою, визначає можливість розвитку оксидативного стресу. У пошко-

дженні нейронів мозку на тлі хронічної алкогільної інтоксикації важливу роль відіграє система оксиду азоту (NO). NO – це молекула, яка є дуже токсичною у великих концентраціях і має широкий спектр біорегуляторних ефектів. Різке збільшення вироблення активних форм кисню (АФК) в умовах дефіциту антиоксидантів призводить до розвитку оксидативного стресу, який є основним універсальним механізмом ураження головного мозку. В умовах оксидативного стресу реактивні форми кисню атакують макромолекули клітинної мембрани нейронів, що призводить до їх окисної модифікації та руйнування [3].

Однією з найважливіших складових антиоксидантної системи є антипероксидна система глутатіону, що зумовлено особливостями будови та функціонування її головного компонента – глутатіону. Глутатіон – це низькомолекулярний тіол, який переважає у багатьох рослинних, мікробних та всіх тваринних клітинах, у яких його мольна концентрація вища за концентрацію більшості органічних речовин [4]. Біосинтез і катаболізм глутатіону, який є трипептидом (L-гамма-глутаміл-L-цистеїніл-глїцин, GSH), здійснюється в так званому гамма-глутаміловому

циклі. Функції глутатіону різноманітні: відновлення та ізомеризація дисульфідних зв'язків, вплив на активність ферментів та інших білків, підтримка мембранних функцій, активності коферментів, участь в обміні ейкозаноїдів, резервування цистеїну, вплив на біосинтез нуклеїнових кислот та білків, проліферація, але найважливішою функцією цього трипептиду є забезпечення антиоксидантного захисту [5].

Мета дослідження. Дослідити молекулярно-біохімічні механізми загибелі нейронів на фоні розвитку дисбалансу тіол-дисульфідної системи в умовах хронічної алкогольної інтоксикації та розробити нові методи фармакологічної корекції.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проводили на 50 білих щурах чоловічої статі лінії Wistar масою 250-300 грамів. За тваринами доглядали до і на всіх етапах експерименту, дотримуючись чинних вказівок та положень Комітету з біоетики України. Всі експериментальні процедури проводились згідно «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» [6].

Хронічну алкогольну інтоксикацію формували щоденним інтрагастральним введенням протягом перших 10 днів – 15% розчину етанолу в дозі 4 г/кг, наступні 10 днів – 15% розчину етанолу в дозі 6 г/кг та останні 10 днів щури отримували 25%-вий розчин етанолу в дозі 3 г/кг. На 30-й день припиняли алкоголізацію та проводили експериментальну медикаментозну терапію, а також продовжували спостереження за тваринами протягом 14 днів.

50 щурів були випадковим чином розділені на п'ять груп (n = 10) (чотири експериментальні групи та одна контрольна група):

- Група 1 отримувала етанол протягом 30 днів, а після цього цереброкурин з 31 по 44 день у дозі 0,06 мг/кг.

- Група 2 отримувала етанол протягом 30 днів, а після цього церебролізин з 31 по 44 день у дозі 4 мг/кг.

- Група 3 отримувала етанол протягом 30 днів, а після цього кортексин з 31 по 44 день у дозі 0,5 мг/кг.

- Група 4 отримувала етанол протягом 30 днів (контроль).

- Група 5 – інтакт (замість етанолу отримували ізотонічний розчин).

Тварин виводили з експерименту під наркозом натрію тіопенталу (40 мг/кг) внутрішньочеревно. Виділення мітохондріальної та цитоплазматичної фракцій мозку проводили шляхом диференціального центрифугування з використанням буфера Мак-Ільвейна та методу Роднайта. Були вивчені такі показники: активність ферментів циклу глутатіону – глутатіонредуктази (GR), глутатіонпероксидази (GPx). Стан глутатіонного ланцюга тіол-дисульфідної системи вивчали за концентрацією відновленого (GSH) та окисненого (GSOG) глутатіону; відновлені (SH) групи та окиснені тіоли. Крім того, визначали концентрацію маркерів окиснювального пошкодження білків – альдегідфенілгідрозони (АФГ), кетонфенілгідрозони (КФГ) та маркер нітрозативного стресу – нітротирозин. Функціональну активність мітохондрій вивчали шляхом дослідження відкриття пори мітохондрій при 540 нм (A540) та збереження заряду мітохондрій, виділених з мозку експериментальних тварин різних груп. Активність синтази оксиду азоту

(NO-синтази) та L-аргініну визначали флуориметричним методом. Рівні каталази визначали спектрофотометрично. Також були визначені параметри супероксиддисмутази (СОД). Вільні метаболіти NO визначали за методом Гріса з використанням 12,5% оцтової кислоти.

Статистична обробка результатів проводилася за допомогою стандартного програмного пакету для аналізу статистичної обробки результатів, версія Microsoft Office Excell 2016. Дані представлені у вигляді вибіркового середнього значення \pm стандартна похибка середнього значення. Значимість відмінностей між експериментальними групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента та U-критерію Уїтні-Манна комп'ютерної програми STATISTICA для Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5).

Результати дослідження. Актуальність вивчення різних видів церебральної патології та розробка методів їх лікування не вимагає детального обґрунтування. За поширеністю та смертністю хвороби головного мозку займають третє місце серед захворювань населення промислово розвинених країн, призводять не тільки до зменшення тривалості життя населення, але й обмежують соціальну активність людини через розвиток когнітивного дефіциту, зниження здатності людини адекватно мислити, вчитися, сприймати інформацію та приймати рішення. При захворюваннях головного мозку деструктивного та дегенеративного генезу відбувається порушення мітохондріального дихального ланцюга, енергетичного обміну, іонного гомеостазу клітин з високим вмістом іонів кальцію, розвиток ексайтотоксичності глутамату та згубний вплив нітрозативного та оксидативного стресів, ініціювання нейроапоптозу та загибелі клітин [7].

Під час формування хронічної алкогольної інтоксикації у щурів відзначалося підвищення рівня нітротирозину, стабільних метаболітів оксиду азоту та активності NO-синтази з паралельним зниженням вмісту L-аргініну та активності каталази і супероксиду дисмутази порівняно з інтактною групою.

NO⁺ є потужним агентом нітрозилування, його мішенями можуть бути нуклеофільні групи активних тіолів, амінів, карбоксилів, гідроксилів та ароматичних кілець. NO⁺ утворюється із надлишку NO за участю двовалентного заліза та ксидну. NO має відновлювальні властивості, надає позитивний інотропний, хронотропний ефект на міокард та знижує поріг судомної готовності. При хронічній алкогольній інтоксикації в умовах розвитку лактоацидозу NO має прооксидантні властивості щодо тіолів та амінів [8]. Це говорить про те, що в умовах хронічної алкогольної інтоксикації в нервовій тканині формується несприятливий метаболічний фон, що призводить до розвитку нітрозативного стресу.

Нітрозативний стрес призводить до гіперпродукції цитотоксичних похідних оксиду азоту – іону нітрозонію, пероксинітриту, які атакують молекули білка з утворенням о-тирозину, 6-нітротриптофану, 3-нітротирозину, 3-хлоротирозину, 2-оксогістидину та різних похідних карбонілу. N-, S-нітразування білкових фрагментів нейрональних мембран впливає на чутливість та специфічність рецепторів, генерацію, формування та проведення нервового імпульсу і порушує синаптичну передачу [9]. Ці зміни призводять до порушення секреторної, інкреторної, транспорт-

ної функції нейронів і до зниження когнітивної функції та функції пам'яті.

Курсове введення досліджуваних нейропептидів призводило до зниження рівня вільних метаболітів NO і NO-синтази в групі церебралізіну на 29,97 і 29,08% ($p < 0,05$), кортексину на 41,9 і 40,04% ($p < 0,05$), цереброкуруину на 54,62 та 59,56% статистично достовірно відносно контрольної групи ($p < 0,05$). Рівень нітротирозину в мозку щурів у групі церебралізіну був на 23,37% нижчим порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$), у групі кортексину – на 39,20% ($p < 0,05$), а в групі цереброкуруину – на 82,49% суттєво нижче порівняно з контролем ($p < 0,05$). Зниження рівня маркерів нітрозативного стресу спостерігалось на тлі підвищення рівня L-аргініну, каталази та активності СОД у групі тварин, що отримували церебралізін на 134,72, 106,8 та 90,19% ($p < 0,05$); кортексин на 195,83, 152,91 і 146,43% ($p < 0,05$); цереброкуруин на 326,39, 248,1 і 194,72% порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Отримані результати свідчать про виражену позитивну динаміку біохімічних показників у мозку тварин, які отримували нейротрофічну терапію на тлі алкогольної інтоксикації (рис. 1).

Ми виявили, що хронічна алкогольна інтоксикація призводить до значних змін в глутатіоновому ланцюзі тіол-дисульфідної системи через зменшення її відновленого проміжного продукту (рівень цитозольного та мітохондріального глутатіону, тіолових груп значно падає) та зростання окисненого глутатіону і загальної кількості окиснених тіолів як у цитозольній, так і у мітохондріальній фракціях мозку щурів. Глутатіон відіграє важливу роль у забезпеченні антиоксидантного захисту нейронів, бере участь у елімінації дегенеруючих клітин та інактивації цитотоксичних похідних карбонілу. Крім того, глутатіон має антиапоптотичні ефекти та ефекти нейромедіаторів, модулює активність NMDA-рецепторів та обмежує їх гіперполяризацію завдяки захисту SH-груп. Ми виявили значне зниження активності СОД у цитозольній та мітохондріальній фракціях гомогенату мозку алкоголізованих щурів. Зниження активності ферментів глутатіонового ланцюга в цитозольній фракції мозку алкоголізованих щурів та компенсаторна активація ферментів цього ланцюга в мітохондріальній фракції на фоні дефіциту глутатіону та інших маркерів тіол-дисульфідної системи також були відзначені в ході експериментальних досліджень. Інтенсивність цих процесів досить висока, оскільки в ці періоди в контрольній групі реєструється елевація маркерів оксидативного стресу: АФГ – на 107%, КФГ – на 84,2%, нітротирозину – на 87% в мітохондріях, і на 108, 211 та 44% відповідно у цитозолі.

Збільшення рівня окисненого глутатіону в тканинах мозку експериментальних тварин призводить до посилення оксидативного та нітрозативного стресу, посилення метилювання нуклеїнових кислот, зниження трансляційної активності мітохондрій, посилення апоптозу та модифікації рецепторів глутаміну. Таким чином, хронічна алкогольна інтоксикація призводить до інактивації глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи мозку, що, в свою чергу, спричиняє неконтрольоване вироблення активних форм кисню та азоту, та розвиток оксидативного (підви-

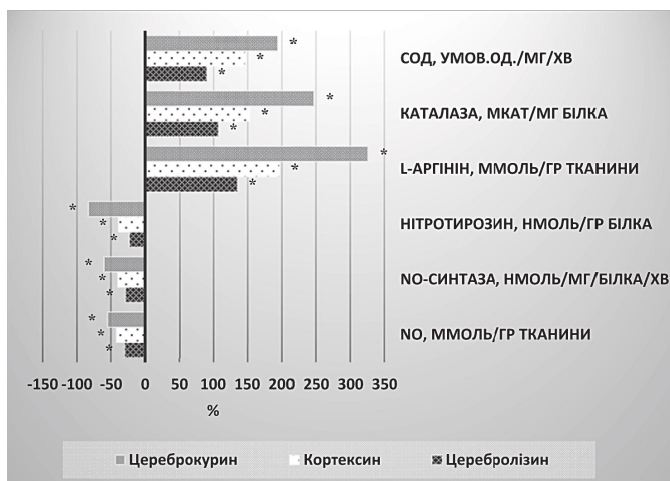


Рисунок 1 – Показники антиоксидантного захисту та системи оксиду азоту в мозку щурів після хронічної алкогольної інтоксикації та подальшого лікування нейротрофічними препаратами.

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

щений рівень АФГ та КФГ) та нітрозативного (підвищений нітротирозин) стресів, а також пригнічує активність ферменту, що регулює рівень АФК – СОД. Ми виявили значне зниження активності СОД у цитозольній (54,3%) та мітохондріальній (53,6%) фракціях гомогенату мозку алкоголізованих щурів.

У тварин із хронічною алкогольною інтоксикацією спостерігається відкриття пор мітохондрій та зменшення мітохондріального заряду. Ці дані свідчать про розвиток так званого «мітоптозу», який ініціює апоптотичну загибель нейрональної клітини. Крім того, зменшення заряду мітохондрій блокує імпорт білків-попередників мітохондрій, які синтезуються в цитозолі, оскільки цей процес є електрофоретичним рухом позитивно зарядженої послідовності білка від цитозолу до матриксу, який заряджений негативно. Депривація глутатіонової системи цитозолу та мітохондрій в умовах хронічної алкогольної інтоксикації призводить до зниження ефективності антиоксидантних систем, а також формується дисфункція мітохондрій. Очевидно, що дефіцит відновленого глутатіону в мітохондріях призводить до збільшення утворення активних форм кисню та азоту, до окиснення цистеїнозалежних частин білків, що утворюють пори мітохондрій. Надлишок активних форм азоту (пероксинітрит, іон нітрозонію), що утворюються під час дефіциту глутатіону в мітохондріях, призводить до окиснювальної модифікації СОД і зниження її активності. Зменшення активності Mn-SOD сприяє вторинній активації вільнорадикальних реакцій та збільшенню окиснювального руйнування чутливих до Red-Oxi ділянок мітохондріальної мембрани та формуванню стійкої мітохондріальної дисфункції [10].

Позитивний ефект цереброкуруину, кортексину та церебралізіну також був відмічений у відношенні компонентів глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи, що виявлялось у збільшенні кількості відновленого глутатіону, зменшенні SH-груп, збільшенні в активності GR та GPx на тлі зниження окисненого глутатіону, окиснених тіолів та маркерів оксидативного стресу – АФГ, КФГ у цитозольній та мітохондріальній фракціях гомогенату мозку тварин із хронічною алкоголізацією. Ефект усіх досліджуваних

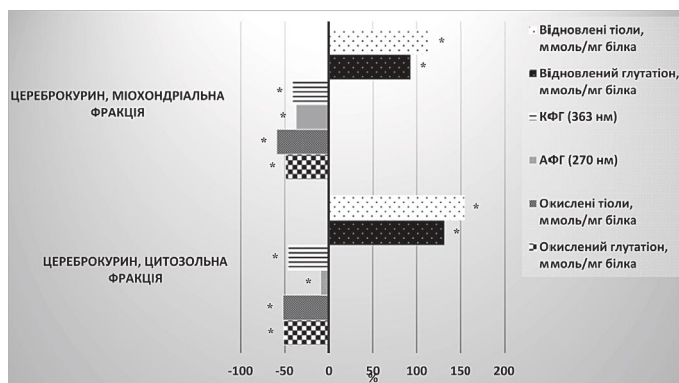


Рисунок 2 – Показники тіол-дисульфідної системи в цитозольній та мітохондріальній фракціях гомогенату мозку щурів після хронічної алкогольної інтоксикації та подальшого лікування цереброкурином.

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

препаратів був односпрямованим, але активність цереброкуруну була найбільшою. Так, у тварин, які отримували цереброкурин після алкоголізації, спостерігалось зменшення окисненого глутатіону на 51 і 49%, АФГ на 9 і 37%, КФГ на 46 і 41%, окиснених тіолів на 52 і 59%, відповідно, у цитозольній та мітохондріальній фракціях гомогенату мозку ($p < 0,05$). Паралельно в мозку цієї серії тварин спостерігається збільшення відновленого глутатіону на 131 та 93% та зменшення тіолів відповідно на 154 та 114% у цитозольній та мітохондріальній фракціях ($p < 0,05$) та збільшення у активності GR і GPx у відповідних фракціях гомогенату мозку (рис. 2).

Кортексин демонстрував подібну спрямованість, але з менш вираженим ефектом. Церебролізин суттєво не впливав на досліджувані параметри тіол-дисульфідної системи та оксидативного стресу. Подібний вплив досліджуваних препаратів на індекси глутатіонового ланцюга цитозольної та мітохондріальної фракцій алкоголізованого мозку пояснює їх мітопротекторну дію. Отже, цереброкурин та кортексин зменшували розкриття пор мітохондрій, а також допомагали зберегти заряд мітохондрій. Церебролізин показав менш виражений мітопротекторний ефект. Механізм дії цереброкуруну, на наш погляд, пов'язаний з його здатністю впливати на геном нейронів в екстремальному стані: він збільшує експресію глобального фактора транскрипції AP-1, посилює синтез ключових антиоксидантних ферментів – каталази і СОД, а також експресія глутатіонзалежних ферментів. Крім того, цереброкурин модулює активність мітохондріальної NO-синтази, обмежує нітрозативний стрес і зменшує прояви мітохондріальної дисфункції.

Наші попередні дослідження та роботи інших авторів довели, що цереброкурин пригнічує перекисне окиснення мембранних фосfolіпідів, пригнічує активність ліпоксигенази в каскаді арахідонової кислоти, блокує продукцію лейкоцитів, що активуються O_2 , та $OSCl$, інгібує індуковану NO-синтазу та захищає від ОНОО. Цереброкурин пригнічує експресію прозапальних цитокінів, зменшує ступінь цитотоксичного набряку. Було встановлено, що препарат опосередковано, через зниження рівня АФК, пригнічує утворення факторів транскрипції та додатково знижує експресію генів, відповідальних за синтез індукуючої NO-синтази [11]. Отримані результати є ек-

периментальним обґрунтуванням використання цереброкуруну та інших нейропептидів у комплексному лікуванні нейродеструктивних процесів алкогольного генезу з метою корекції молекулярно-біохімічних порушень та поліпшення мозкових функцій.

Обговорення результатів дослідження. В умовах гіперпродукції АФК нейрохімічною та біоенергетичною системами мозку ряд нейродеструктивних патологічних процесів активізує експресію окисно-відновних генів, багато з яких необхідні для захисту клітин від токсичного впливу оксидативного стресу. При нормальній концентрації кисню в навколишньому середовищі клітини (нормоксія) АФК в основному активує JunB, ATF-2, фактори транскрипції, а в умовах оксидативного стресу, головним чином фактори c-Jun та c-fos. Активація саме цих факторів транскрипції в умовах перевиробництва АФК пояснюється тим фактом, що JunB та c-fos містять залишки цистеїну, високочутливі до АФК, у своїх ДНК-зв'язуючих доменах – Cys252, Cys54, Cys61. Окиснення їх SH-груп призводить до зворотної інактивації AP-1 та NF-κB. Крім того, білок c-fos бере безпосередню участь у процесі фрагментації мітохондріальної ДНК та ініціюванні апоптотичної смерті нейрональної клітини. C-fos відповідає за перевиробництво NO при нейродеструктивних захворюваннях через активацію індукуючої NO-синтази. C-fos є однією з головних ядерних мішеней для сигналізації регуляції росту та трансформації клітин; він бере участь у багатьох клітинних функціях, включаючи процеси проліферації та диференціації клітин [12].

Все вищесказане є обґрунтуванням пошуку високоєфективних церебропротекторних препаратів, які можуть запобігти негативним процесам мітохондріальної дисфункції в клітині, надаючи тим самим церебропротекторну дію. В даний час з метою корекції мітохондріальної дисфункції робляться спроби використовувати наступні препарати – кофермент Q10, карнітин, вітаміни групи B, похідні бурштинової кислоти тощо. Однак раціональна основа для їх використання розроблена слабо, препарати застосовуються випадково, без достатнього вивчення можливостей та особливостей, без планування стратегії лікування з точки зору доцільності. Крім того, при вже сформованій мітохондріальній дисфункції та активації апоптотичних процесів більшість препаратів не ефективні, оскільки вони не здатні брати участь у регуляції тонких ланок енергетичного обміну, проміжними сполуками яких вони є [13]. Також розглядається ще один напрямок корекції дисфункції мітохондрій – використання тіолових антиоксидантів, які конкурують із SH-групами цистеїнозалежної частини білка внутрішньої мембрани мітохондрій (антипортер АТФ/АДФ) для АФК та пероксинітриду. Це запобігає розкриттю пор мітохондрій в умовах оксидативного та нітрозативного стресів. Цікавим і перспективним напрямком є вивчення лігандів нейропептидних рецепторів, здатних регулювати апоптоз, експресію факторів транскрипції, синтез ферментів, що відновлюють ДНК мітохондрій, та ферментів, що каталізують енергетичні реакції [14].

Новим напрямком у вивченні нейропептидів було визначення їх ролі в регуляції апоптозу та їх

вплив на експресію генів ранньої відповіді. Поряд із даними, що вказують на участь вазоактивного пептиду ендотеліну-1 та його рецепторів (ETA) в ішемічній патології мозку, була отримана інформація про антиапоптотичну активність цього пептиду. Захисні ефекти нейропептиду кальцитоніну (CGRP) та фрагменту пептиду ангіотензину IV також були продемонстровані на ряді моделей нейроапоптозу [15]. У той же час було встановлено, що сам ангіотензин II, як і кальцієво-невриноний пептид, навпаки, сприяє індукції проапоптотичного каскаду. Ці факти, демонструючи важливість нейропептидів та факторів росту в нормальній та патологічній діяльності мозку, відображають організацію багатовимірної системи хімічної регуляції, яка забезпечує як життєздатність, так і захист нейронів від несприятливих впливів, а також програмовану смерть певної частини популяції клітин у разі пошкодження мозку. На цій основі розроблено ряд препаратів, які успішно застосовуються при лікуванні широкого спектру неврологічних розладів [16].

Нейропептиди вільно проникають через гематоенцефалічний бар'єр і мають багатосторонній вплив на центральну нервову систему, що супроводжується високою ефективністю та вираженим напрямком дії за умови, що їх концентрація в організмі дуже низька. Тісний взаємозв'язок всіх довгострокових наслідків цитотоксичного пошкодження мозку та загальності їх тригерних механізмів дозволяє, поряд з місцевими ефектами, використовувати модулюючі ефекти за допомогою систем регуляторів, які контролюють експресію вторинних клітинних месенджерів, цитокінів та інших сигнальних молекул і запуск генетичних програм апоптозу, антиапоптотичного захисту, посилення нейротрофічної підтримки. Такі регулюючі впливи усувають загальну деградацію у взаємодії складних і часто різноспрямованих молекулярно-біохімічних механізмів, відновлюючи їх нормальний баланс. Особливо важливу роль відіграють ендогенні регулятори функцій центральної нервової системи – нейропептиди [17]. Їх молекули, які є короткими амінокислотними ланцюгами, формуються із більших молекул попередника білка ферментами протеолізу залежно від потреб організму. Ендогенне утворення нейропептиду у відповідь на будь-які зміни у внутрішньому середовищі призводить до вивільнення ряду інших пептидів, для яких перший є індуктором. Якщо їх комбінована дія буде односпрямованою, ефект буде сукупним і тривалим. Вихід пептиду можна регулювати кількома регуляторними пептидами попереднього каскаду. Таким чином, ефекторна послідовність набору пептидів утворює так званий пептидний регулятивний комплекс, кожен з регуляторних пептидів здатний індукувати або інгібувати вихід ряду інших пептидів. В результаті первинні ефекти певного пептиду можуть розвиватися з часом у вигляді ланцюгових та каскадних процесів [18].

Специфічною особливістю будови нейропептидів є наявність декількох зв'язуючих груп лігандів, призначених для різних клітинних рецепторів. Це одне з молекулярних пояснень властивості їм багатофункціональності. Фізіологічна активність нейропептидів у багато разів перевищує подібний ефект непептидних сполук. Залежно від місця їх вивільнення нейро-

пептиди можуть виконувати медіаторну функцію, модулювати реактивність певних груп нейронів, стимулювати або пригнічувати вивільнення гормонів, регулювати метаболізм тканин або виконувати функцію фізіологічно активних ефекторних агентів. Нейропептиди здатні регулювати активність про- та протизапальних цитокінів за допомогою модуляції активності їх рецепторів. Відновлення нормального балансу цитокінів відбувається ефективніше, ніж під впливом окремих цитокінових систем. Цитокінові ефекти нейропептидів супроводжуються їх впливом на утворення оксиду азоту та інші окиснювальні процеси. Багато нейропептидів проявляють виражені нейротрофічні властивості росту, а також здатні регулювати експресію ранніх генів. Враховуючи той факт, що нейропептиди легко проникають через гематоенцефалічний бар'єр, важко переоцінити їх потенційну терапевтичну цінність для лікування наслідків хронічної алкогольної інтоксикації [19].

Висновки. Співвідношення оксиду азоту та тіолдисульфідної системи є факторами, що визначають подальшу долю нейрона в стані хронічної алкогольної інтоксикації та тип його загибелі. В умовах токсичного ураження головного мозку на ранніх стадіях розвивається нітрозативний стрес, що призводить до нітрузування тіолів, змінюючи тіол-дисульфідний баланс білків пор мітохондрій. На цій стадії мітохондріальна NO-синтаза відіграє захисну роль, регулюючи загибель клітин, перемикаючи її на більш сприятливий тип – апоптоз. Далі розвивається оксидативний та нітрозативний стреси, що суттєво порушує тіолдисульфідний баланс у бік окиснених тіолів, розвивається стабільна дисфункція мітохондрій з дефіцитом запасів енергії клітин, в результаті цього складного каскаду процесів нейрональна клітина гине на шляху некрозу.

Нейропептидні препарати – цереброкурин, кортексин та церебролізин мають виражену нейропротекторну дію щодо нормалізації балансу тіолдисульфідної системи та зниження активності оксидативного і нітрозативного стресів, а також дисфункції мітохондрій. Найактивнішим препаратом у цьому відношенні є цереброкурин, який рекомендується після більш детального дослідження включати до стандартної схеми лікування хронічного алкоголізму як ефективний нейропротектор.

Перспективи подальших досліджень. Вивчити вплив хронічної алкогольної інтоксикації на експресію генів раннього реагування, білків теплового шоку, динаміку процесів апоптозу та некрозу у мозку щурів, а також вплив нейротрофічних церебропротекторів (цереброкурин, кортексин та церебролізин) на неврологічний статус та когнітивно-містичні функції тварин в умовах даної патології.

Література

1. Belenichev I, Burlaka B, Puzyrenko A, Ryzhenko O, Kurochkin M, Yusuf J. Management of amnestic and behavioral disorders after ketamine anesthesia. Georgian Med News. 2019 Sep;294:141-5.
2. Sayd A, Vargas-Caraveo A, Perea-Romero I. Depletion of brain perivascular macrophages regulates acute restraint stress-induced neuroinflammation and oxidative/nitrosative stress in rat frontal cortex. Eur Neuropsychopharmacol. 2020;34:50-64. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2020.03.004
3. Mazur I, Belenichev I, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Puzyrenko A, Khromylova O, et al. Antihypertensive and cardioprotective effects of new compound 1-(β-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide (Hypertril). Eur J Pharmacol. 2019 Jun 15;853:336-44. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.04.013
4. Belenichev I, Gorchakova N, Puzyrenko A, Kovalenko S, Bukhtiyarova N. Synthesis of the new 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2h-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) acetic acid derivatives and analysis of their antioxidant activity in nitrosative stress models. Georgian Med News. 2018 Jul-Aug;280-281:173-8.
5. Gritsyna YV, Salmov NN, Bobylev AG, Fadeeva IS, Fesenko NI, Sadikova DG, et al. Chronic Alcohol Intoxication Is Not Accompanied by an Increase in Calpain Proteolytic Activity in Cardiac Muscle of Rats. Biochemistry. 2017 Feb;82(2):168-75. DOI: 10.1134/S0006297917020080
6. Stefanov OV, redaktor. Doklinichni doslidzhennya likars'kykh zasobiv: metodychni rekomendatsiyi. K.: «Avitsena»; 2001. 528 s. [in Ukrainian].
7. Gushcha VK, Lelevich SV, Sheibak VM. Neïromediatornyie narusheniia v nekotorykh otdelakh golovnoho mozga krysi i ikh korrektsiia pri khronicheskoi i preryvistoï alkogol'noi. Biomed Khim. 2019 Jan;65(1):21-7. DOI: 10.18097/PBMC20196501021 [in Russian].
8. Shayakhmetova GM, Bondarenko LB, Kovalenko VM. Multiparameter rodent chronic model for complex evaluation of alcoholism-mediated metabolic violations. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2015 Jan;26(1):43-51. DOI: 10.1515/jbcpp-2013-0163
9. Nkpaa KW, Amadi BA, Wegwu MO, Farombi EO. Ethanol increases manganese-Induced spatial learning and memory deficits via oxidative/nitrosative stress induced p53 dependent/independent hippocampal apoptosis. Toxicology. 2019 Apr 15;418:51-61. DOI: 10.1016/j.tox.2019.03.001
10. Abdallah MA, Singal AK. Mitochondrial dysfunction and alcohol-associated liver disease: a novel pathway and therapeutic target. Signal Transduct Target Ther. 2020 Mar 3;5:26. DOI: 10.1038/s41392-020-0128-8
11. Buján GE, Serra HA, Molina SJ, Guelman LR. Oxidative Stress-Induced Brain Damage Triggered by Voluntary Ethanol Consumption during Adolescence: A Potential Target for Neuroprotection? Curr Pharm Des. 2019;25(45):4782-90. DOI: 10.2174/1381612825666191209121735
12. Abdelmegeed M, Mukhopadhyay P. Understanding the roles and mechanisms of oxidative stress in diseases, tissue injury, and cell death in vivo and in vitro: Therapeutic possibilities of antioxidants. Food Chem Toxicol. 2019 May;127:70-1. DOI: 10.1016/j.fct.2019.02.040
13. Shamakina IY, Proskuryakova TV, Shokhonova VA, Ulyanova EV, Anokhin PK, Tapabarko IE, Anokhina IP. Vliyanie kabergolina na potreblenie alkogolya i ekspresiyu gena DRD2 v mozge krysi s khronicheskoi alkogol'noi intoksikatsiei. Zh nevroi psikhiatr im SS Korsakova. 2016;116(11.2):74-80. DOI: 10.17116/jnevro201611611274-80 [in Russian].
14. Fontes-Júnior EA, Maia CS, Fernandes LM, Gomes-Leal W, Costa-Malaquias A, Lima RR, et al. Chronic Alcohol Intoxication and Cortical Ischemia: Study of Their Comorbidity and the Protective Effects of Minocycline. Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:1341453. DOI: 10.1155/2016/1341453
15. Hsieh YJ, Wu LC, Ke CC, Chang CW, Kuo JW, Huang WS, et al. Effects of the Acute and Chronic Ethanol Intoxication on Acetate Metabolism and Kinetics in the Rat Brain. Alcohol Clin Exp Res. 2018 Feb;42(2):329-37. DOI: 10.1111/acer.13573
16. Liew HK, Cheng HY, Huang LC, Li KW, Peng HF, Yang HI, et al. Acute Alcohol Intoxication Aggravates Brain Injury Caused by Intracerebral Hemorrhage in Rats. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2016 Jan;25(1):15-25. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.08.027
17. Pavlov AL, Savin AA, Bogomolov DV, Pavlova AZ, Larev ZV. Klinicheskaiia patomorfologiya i tanatogenez razlichnykh form alkogol'noi intoksikatsii. Sud Med Ekspert. 2018;61(3):11-4. DOI: 10.17116/sudmed2018613-14 [in Russian].
18. Erickson EK, Grantham EK, Warden AS, Harris RA. Neuroimmune signaling in alcohol use disorder. Pharmacol Biochem Behav. 2019 Feb;177:34-60. DOI: 10.1016/j.pbb.2018.12.007
19. Cook JE, Chandler C, Rüedi-Bettschen D, Taylor I, Patterson S, Platt DM. Changes in the elimination and resurgence of alcohol-maintained behavior in rats and the effects of naltrexone. Psychol Addict Behav. 2020 Feb;34(1):10-22. DOI: 10.1037/adb0000525

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ ЩУРІВ НА ПАРАМЕТРИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ПОШУК НОВИХ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНИХ СХЕМ КОРЕКЦІЇ ДИСБАЛАНСУ

Соколик О. П., Прозорова Г. О.

Резюме. Механізми ураження нейрональних клітин при різних захворюваннях головного мозку є важливою проблемою неврології та фармакології для розуміння шляхів фармакологічної корекції порушень, які зараз інтенсивно вивчаються у всьому світі.

Мета дослідження: дослідити молекулярно-біохімічні механізми загибелі нейронів на фоні розвитку дисбалансу тіол-дисульфідної системи в умовах хронічної алкогольної інтоксикації та розробити нові методи фармакологічної корекції.

Об'єкт і методи дослідження: експеримент проводили на 50 білих щурах лінії Wistar чоловічої статі вагою 250-300 грамів. Хронічну алкогольну інтоксикацію формували шляхом щоденного інтрагастрального введення протягом перших 10 днів – 15% розчину етанолу в дозі 4 г/кг, наступні 10 днів – 15% розчин етанолу в дозі 6 г/кг та останні 10 днів щури отримували 25%-ий розчин етанолу в дозі 3 г/кг. На 30-й день ми припиняли алкоголізацію та проводили експериментальну медикаментозну терапію (цереброкурин, кортексин та церебролізин) і продовжували спостереження за тваринами протягом 14 днів.

Результати. В умовах хронічної алкогольної інтоксикації та токсичного пошкодження мозку на ранніх стадіях розвивається нітрозативний стрес, що призводить до нітрузування тіолів, зміни тіол-дисульфідного балансу білків, котрі формують мітохондріальні пори. Розвивається оксидативний та нітрозативний стрес, які суттєво зміщують тіол-дисульфідний баланс у бік окиснених тіолів, розвивається стабільна дисфункція мітохондрій з дефіцитом запасів енергії клітин, аутокоїдоз, змінюється реакція геному, і нейрональна клітина гине шляхом некрозу.

Висновки. Нейропептидні препарати – цереброкурин, кортексин та церебролізин мають виражену нейропротекторну дію щодо нормалізації балансу тіол-дисульфідної системи, зниження активності оксидативного та нітрозативного стресів і дисфункції мітохондрій.

Ключові слова: система глутатіону, оксидативний стрес, нітрозативний стрес, хронічна алкогольна інтоксикація, нейропротекція.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ КРЫС НА ПАРАМЕТРЫ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПОИСК НОВЫХ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СХЕМ КОРРЕКЦИИ ДИСБАЛАНСА

Соколик Е. П., Прозорова Г. А.

Резюме. Механизмы поражения нейрональных клеток при различных заболеваниях головного мозга являются важной проблемой неврологии и фармакологии для понимания путей фармакологической коррекции нарушений, которые сейчас интенсивно изучаются во всем мире.

Цель исследования: исследовать молекулярно-биохимические механизмы гибели нейронов на фоне развития дисбаланса тиол-дисульфидной системы в условиях хронической алкогольной интоксикации и разработать новые методы фармакологической коррекции.

Объект и методы исследования: эксперимент проводили на 50 белых крысах линии Wistar мужского пола весом 250-300 грамм. Хроническую алкогольную интоксикацию формировали путем ежедневного интрагастрального введения в течение первых 10 дней – 15% раствора этанола в дозе 4 г/кг, последующие 10 дней – 15% раствор этанола в дозе 6 г / кг и последние 10 дней крысы получали 25%-ный раствор этанола в дозе 3 г/кг. На 30-й день мы прекращали алкоголизацию и проводили экспериментальную медикаментозную терапию (цереброкурин, кортексин и церебролизин), а также продолжали наблюдение за животными в течение 14 дней.

Результаты. В условиях хронической алкогольной интоксикации и токсического повреждения мозга на ранних стадиях развивается нитрозативный стресс, что приводит к нитрозированию тиолов, изменению тиол-дисульфидного баланса белков, которые формируют митохондриальные поры. Развивающиеся оксидативный и нитрозативного стресс существенно смещают тиол-дисульфидный баланс в сторону окисленных тиолов, развивается стабильная дисфункция митохондрий с дефицитом запасов энергии клеток, аутокоидоз, меняется реакция генома, и нейрональная клетка погибает путем некроза.

Выводы. Нейропептидные препараты – цереброкурин, кортексин и церебролизин имеют выраженное нейропротекторное действие в отношении нормализации баланса тиол-дисульфидной системы, снижения активности оксидативного и нитрозативного стрессов и дисфункции митохондрий.

Ключевые слова: система глутатиона, оксидативный стресс, нитрозативный стресс, хроническая алкогольная интоксикация, нейропротекция.

INFLUENCE OF CHRONIC ALCOHOLIZATION OF RATS ON THE PARAMETERS OF THE THIOL-DISULPHIDE SYSTEM OF THE BRAIN AND SEARCH FOR NEW PHARMACOTHERAPEUTIC CORRECTION SCHEMES FOR IMBALANCE

Sokolik O. P., Prozorova G. O.

Abstract. Mechanisms of damage of neuronal cells in different diseases of the brain are important problem of neurology and pharmacology for understanding the ways of pharmacological correction of violations, which are being intensively studied now throughout the world.

Purpose of the study: to study the molecular and biochemical mechanisms of neuronal death against the background of the development of imbalance of the thiol-disulfide system in conditions of chronic alcohol intoxication and to develop new methods of pharmacological correction.

Object and research methods: the experiment was performed on 50 white male Wistar rats, 250-300 gr. Chronic alcohol intoxication was achieved by daily intragastric introduction during the first 10 days – 15% solution of ethanol in doses of 4 g/kg, next 10 days – 15% solution of ethanol in doses of 6 g/kg and in another 10 days rats get 25% ethanol solution in doses of 3 g/kg. On the 30-th day we stopped alcoholization and conducted experimental drug therapy (cerebrocurin, cortexin and cerebrolysin) and continued surveillance within 14 days.

Results. Under conditions of chronic alcohol intoxication and toxic brain damage, nitrosative stress develops in the early stages, leading to nitrosation of thiols, changing the thiol-disulfide balance of mitochondrial pore proteins. Oxidative and carbonyl stress develops, which significantly displace the thiol-disulfide balance in the direction of oxidized thiols, develops stable mitochondrial dysfunction with a deficiency of cell energy reserves, the development of autocooidosis, a change in the genome response, and the cell dies on the way of necrosis.

Conclusions. Neuropeptide preparations – cerebrocurin, cortexin and cerebrolysin have a pronounced neuroprotective effect in relation to normalizing the balance of the thiol-disulfide system and reducing the activity of oxidative and nitrosative stress and mitochondrial dysfunction.

Key words: glutathione system, oxidative stress, nitrosative stress, chronic alcohol intoxication, neuroprotection.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Статья надійшла 08.10.2020 року