

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІНСТИТУТ ПІДВИЩЕННЯ КВАЛІФІКАЦІЇ СПЕЦІАЛІСТІВ ФАРМАЦІЇ
КАФЕДРА ЗАГАЛЬНОЇ ФАРМАЦІЇ ТА БЕЗПЕКИ ЛІКІВ

**ФАРМАЦЕВТИЧНА НАУКА ТА ПРАКТИКА:
ПРОБЛЕМИ, ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ**

**PHARMACEUTICAL SCIENCE AND PRACTICE:
PROBLEMS, ACHIEVEMENTS, PROSPECTS**

Матеріали ІІ науково-практичної інтернет-конференції
з міжнародною участю

27 квітня 2018 року
м. Харків

Реєстраційне посвідчення УкрІНТЕІ

№ 606 від 11.10.2017 р.

Харків
НФаУ
2018

УДК 615:001:378

Ф 24

Редакційна колегія: проф. О. Ф. Пімінов, проф. Л. І. Шульга, проф. Н. А. Цубанова, доц. С. В. Огарь, доц. К. О. Бур'ян, проф. Е. В. Супрун, доц. С. М. Ролік-Аттіа, доц. В. А. Якущенко, доц. О. В. Файзуллін, ст. викл. Н. А. Домар

Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку = Pharmaceutical science and practice: problems, achievements, prospects : матер. II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 27 квітня 2018 р. / ред. кол. : О. Ф. Пімінов та ін. – Х. : НФаУ, 2018. – 464 с.

Збірник містить матеріали II науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку», де розглянуто теоретичні та практичні питання за науковими напрямками: синтез, аналіз, стандартизація біологічно активних сполук і лікарських засобів; фітохімічні дослідження; фармацевтична технологія, біотехнологія та гомеопатія; менеджмент та маркетинг у фармації, фармакоекономічні дослідження; експериментальна та клінічна фармакологія і фармацевтична опіка; сучасна освіта та підготовка спеціалістів фармації та медицини у закладах вищої освіти.

Видання призначено для широкого кола наукових, науково-педагогічних і практичних працівників, викладачів закладів вищої освіти.

Матеріали подаються мовою оригіналу. За достовірність матеріалів відповідальність несуть автори.

The collection contains the materials of the IInd scientific-practical Internet conference with international participation «Pharmaceutical science and practice: problems, achievements, development prospects». The publication considers theoretical and practical issues in the scientific areas: synthesis, analysis, standardization of biologically active compounds and drugs; phytochemical studies; pharmaceutical technology, biotechnology and homeopathy; management and marketing in pharmacy, pharmacoeconomic research; experimental and clinical pharmacology and pharmaceutical care; modern education and training of specialists in pharmacy and medicine in institutions of higher education.

The publication is intended for a wide range of scientific, scientific and pedagogical and practical workers, teachers of institutions of higher education. Materials are provided in the original language. The authors are responsible for the reliability of the materials.

УДК 615:001:378

© Пімінов О. Ф., Шульга Л. І.,
Цубанова Н. А., Огарь С. В.,
Бур'ян К. О, Супрун Е. В.,
Ролік-Аттіа С. М., Якущенко В. А.,
Файзуллін О. В., Домар Н. А., 2018

Динамика показателей тиол-дисульфидной системы в тканях головного мозга крыс с экспериментальным сахарным диабетом

Супрун Э.В., Терещенко С.В., Тронько С.Л., Качалова Е.А.

Кафедра общей фармации и безопасности лекарств,

Национальный фармацевтический университет,

г. Харьков, Украина

farmtex-ipksf@nuph.edu.ua

Сахарный диабет (СД) входит в число 7 главных причин смертности населения в большинстве стран мира и занимает третье место среди непосредственных причин смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [1]. В Украине также отмечают неуклонный рост распространенности СД – за последние 10 лет количество больных сахарным диабетом увеличилось более чем в 1,5 раза и составляет около 1 млн. человек, поэтому решение проблем терапии СД является актуальной медико-социальной проблемой [2]. В настоящее время во всем мире накоплены доказательства того, что эффективный контроль СД определяет продолжительность жизни больного и его работоспособность, а также может свести к минимуму развитие многих связанных с ним осложнений.

Высокая частота осложнений СД обусловлена нарушениями тканевого метаболизма с повреждением микрокапиллярного русла органов, что приводит к формированию мультиорганной патологии [3]. При этом сосудистые изменения вызывают ишемически/гипоксические тканевые расстройства, а метаболические нарушения приводят к непосредственно повреждению и гибели клеточных структур ЦНС и периферической нервной системы [4]. Поэтому главной задачей эффективной терапии СД является блокирование взаимообусловленных механизмов прогрессирования СД – сосудистых, метаболических и феномена оксидативного стресса, в связи с чем все большее внимание уделяется препаратам с антиоксидантным действием.

Доказано, что для антиоксидантной системы наиболее важную в биологическом плане роль играет обратимая тиол-дисульфидная система (ТДС), интермедиаты которой обладают транспортными свойствами в отношении оксида азота (NO), тем самым повышая его биодоступность, кроме того многие тиолы – глутатион, цистенин, метионин способны значительно ограничивать цитотоксичность NO и его дериватов, увеличивая шанс нейрона выжить при ишемии [5].

По современным представлениям, характер иммунного ответа и особенности развития патофизиологических изменений при ишемически/гипоксических тканевых расстройствах зависит от преимущественной активации субпопуляций Т-лимфоцитов, синтеза ими цитокинов различных типов и формирования «цитокинового каскада», а именно соотношения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Следовательно, эффективным перспективным звеном в комплексной терапии постишемических неврологических осложнений при СД может стать

применение цитокиновых препаратов. Цель исследования – изучение динамику показателей ТДС и ОМБ в тканях головного мозга крыс с экспериментальным СД при применении церебропротекторов метаболического действия пирацетама и тиоцетама и цитокинового препарата – рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1ra).

Материалы и методы. Рецепторный антагонист интерлейкина-1 (РАИЛ-1) получен в Санкт-Петербургском НИИ особо чистых биопрепаратов путем генной трансформации бактерий *E.coli*. Исследования проводились на 50 белых крысах линии Вистар массой 250-300г, содержащихся в стандартных условиях вивария и распределенных на 5 групп по десять животных в каждой. Первая группа – интактные животные, вторая – животные с экспериментальным сахарным диабетом (СД, контроль), третья – животные с СД, которым вводили пирацетам в дозе 500 мг/кг внутримышечно внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+Пирацетам); четвертая – животные с СД, которым вводили тиоцетам в дозе 500 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+Тиоцетам); пятая – животные с СД, которым вводили РАИЛ-1 в дозе 7,5 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+РАИЛ-1). Животным первой и второй групп на протяжении исследования в соответствующем объеме внутримышечно вводили стерильный физиологический раствор. Экспериментальный диабет моделировали с помощью однократного подкожного введения водного раствора аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг в виде 5% раствора в ацетатном буфере, pH 4,5. Введение данного вещества осуществляли после предварительной 24-часовой депривации пищи, при сохраненном доступе к воде. С целью формирования полного и стабильного диабета, животных содержали на протяжении 11 суток на стандартной диете. Уровень глюкозы крови определялся на 11 сутки после введения аллоксана с помощью глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для последующих исследований использованы только животные с повышенным уровнем глюкозы (>11 ммоль/л).

Материалом для биохимических исследований явились фрагменты ткани головного мозга, находящиеся в области средне-мозговой артерии и гомогенизированные в жидком азоте. Для изучения активности тиол-дисульфидной системы в гомогенате головного мозга крыс определяли уровни восстановленных и окисленных тиолов и глутатиона, активность глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР). Содержание суммарных SH-групп определяли спектрофотометрически. Концентрацию глутатиона окисленного и восстановленного определяли флюорометрически. Активность ферментов ТДС – ГП и ГР – определяли спектрофотометрически. Содержание метионина и цистеина в гомогенате определяли хроматографически. Также в гомогенате мозга биохимическими методами определяли содержание продуктов окислительной модификации белка по уровню альдегидных (АФГ) и карбоксильных (КФГ) продуктов. Статистическую обработку данных производили с помощью пакета программы «Statistica 6.0», сравнительный анализ в группах проводили с помощью

однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с использованием критерия Ньюмена-Кейсла для множественных сравнений. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных нами исследований было установлено нарушение тиол-дисульфидного равновесия при формировании аллоксанового диабета.

У животных с СД отмечена выраженная диспропорция – повышение относительно показателей интактных животных уровней окисленных тиолов в 5,7 раза ($p < 0,001$) и уровней окисленных форм глутатиона в 2,7 раза ($p < 0,001$) на фоне резкого снижения восстановленных форм тиолов и глутатиона, что подтверждает формирование выраженных нарушений внутриклеточного пула глутатиона. В гомогенате мозга экспериментальных животных развитие СД сопровождалось стабильным снижением активности энзимов тиол-дисульфидной системы – ГР на 79% ($p < 0,001$) и ГП на 76% ($p < 0,001$) по сравнению с группой интактных животных. Развитие у крыс СД сопровождалось также снижением относительно интакта уровней цистеина и метионина соответственно на 64% ($p < 0,001$) и 60% ($p < 0,001$) на фоне резкого подъема уровней потенциальных нейротоксических веществ – гомоцистеина (в 5,1 раза, $p < 0,001$) и нитротирозина (в 6 раз, $p < 0,001$), что подтверждает развитие оксидативного и нитрозирующего стресса в тканях головного мозга крыс с экспериментальным СД.

В условиях экспериментальной терапии были получены следующие результаты влияния пирацетама, тиоцетама и РАИЛ-1 на тиол-дисульфидное равновесие. На фоне введения Пирацетама в тканях мозга крыс с СД отмечена определенная стабилизация изученных показателей активности ТДС относительно контрольных животных – уровни окисленных тиолов и глутатиона были снижены соответственно на 22% и 27% ($p < 0,001$), динамика остальных показателей выражена в меньшей степени. На фоне введения Тиоцетама у экспериментальных животных отмечено блокирование образования окисленных форм глутатиона на 25% ($p < 0,01$) и тиолов на 39% ($p < 0,001$) на фоне повышения уровней их восстановленных форм – соответственно на 27% и 43% ($p < 0,01$) и повышения активности ГР и ГП на 32-37% относительно контрольных показателей.

Введение РАИЛ-1 животным с СД оказало наиболее выраженное влияние на состояние ТДС – уровни окисленных форм глутатиона и тиолов снизились соответственно на 55% ($p < 0,001$) и 78% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными. При этом активно повышаются уровни восстановленных форм глутатиона и тиолов (до 70% от показателей интакта) и восстанавливается состояние энзимов ТДС – в остром периоде сахарного диабета активность ГР и ГП повышается почти в 4 раза ($p < 0,001$). Применение РАИЛ-1 также привело к практически равнозначному снижению в тканях мозга уровней нейротоксичных гомоцистеина и нитротирозина соответственно на 75% ($p < 0,001$) и 78% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными, при этом уровни цистеина и метионина восстановились практически до показателей интактных животных.

У животных группы Тиоцетама отмечена подобная динамика этих показателей, но менее выраженная.

Ишемическое поражение ткани головного мозга экспериментальных животных с экспериментальным СД сопровождалось также увеличением в гомогенате мозга маркеров ОМБ – альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетонфенилгидразонов (КФГ), которые образуются в условиях оксидативного и нитрозирующего стресса. В нашем исследовании развитие аллоксанового диабета сопровождалось выраженным повышением уровней АФГ и КФГ – на 131% ($p < 0,001$) и 124% ($p < 0,001$) соответственно. Применение пирацетама и тиоцетама привело к достоверному снижению маркеров ОМБ, более выраженному в группе тиоцетама (снижение КФГ на 36% ($p < 0,001$)). Курсовое введение РАИЛ-1 способствовало наиболее значимой стабилизации окислительной модификации белков и снижению их маркеров в ткани головного мозга более чем в 2 раза ($p < 0,001$), при этом показатель КФГ практически достиг показателей интактных животных.

Таким образом, при ишемическом поражении ткани мозга на модели СД сдвиг равновесия ТДС происходит за счет снижения ее восстановленных интермедиатов на фоне роста окисленных форм, при этом значительно снижается уровень восстановленного глутатиона и активность ГР и ГП. Курсовое применение пирацетама, тиоцетама и РАИЛ-1 способствовало стабилизации тиол-дисульфидного равновесия и снижению активности реакций свободно-радикального окисления в тканях головного мозга крыс с СД. Активность РАИЛ-1 в отношении нормализации тиол-дисульфидной системы и ингибирования проявлений оксидативного и нитрозирующего стресса превышает таковые у пирацетама и тиоцетама.

Литература

1. Скворцова В. И. Эпидемиология инсульта в Российской Федерации / В. И. Скворцова, Л. В. Стаховская, Н. Ю. Айриян // Системные гипертензии: прил. к журн. Consilium medicum. – 2005. – 7, № 1. – С. 3-10.
2. Дедов И. И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (пленарная лекция) / И. И. Дедов // Сахарный диабет. - 2010. – № 3 (48). – С. 6-13.
3. Аметов А. С. Сахарный диабет. Проблемы и решения. Руководство. – М., 2011. – 680 с.
4. Манухина Е. Б. Защищающие и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота / Е. Б. Манухина, Х. Ф. Дауни, Р. Т. Маллет [и др.] // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 27-33.
5. Колесник Ю. М. Тиол-дисульфидное равновесие – определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга (обзор литературы) / Ю. М. Колесник, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и др. // Журнал НАМН України. – 2013. – Т. 19, № 1. – С. 3-11.