

© Беленичев И. Ф., Кучер Т. В.

УДК 576.32:616.831:616.89-008.441.13]:577.112.385]-092.9

Беленичев И. Ф., Кучер Т. В.

ДЕПРИВАЦИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ В ЦИТОЗОЛЕ И МИТОХОНДРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ: ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ТИОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

**Запорожский государственный медицинский университет
(г. Запорожье)**

kuchertv78@gmail.com

Данная работа выполнена в рамках НИР «Молекулярно-биохимические механизмы формирования митохондриальной дисфункции нейронов головного мозга в условиях острой церебральной ишемии: новые мишени для нейропротекции», № государственной регистрации 0113U000797; 2013-2015 гг.

Вступление. Распространенность хронического алкоголизма, обусловленные им негативные социальные и медицинские последствия являются серьезной проблемой здравоохранения [20].

Хроническая алкогольная интоксикация приводит к усилению образования в нейронах активных форм кислорода и развитию оксидативного стресса, который инициирует нейроапоптоз и является причиной изменений, связанных со способностью мембран проводить и воспроизводить нервный импульс, нарушения рецепторных, медиаторных и энергетических систем головного мозга [13, 14, 16]. Результаты исследований многих авторов свидетельствуют о том, что важным компонентом антиоксидантной системы является глутатионовое звено тиол-дисульфидной системы головного мозга, также участвующее в механизмах эндогенной нейропротекции [5, 11, 15]. Значение глутатиона в антиоксидантных механизмах эндогенной нейропротекции определяется его участием в регуляции клеточного редокс-зависимого сигналинга и активности транскрипционных факторов, а также тем фактом, что он является внутриклеточным антиоксидантом, играя роль «ловушки» свободных радикалов, ко-субстрата в реакциях детоксикации пероксидов, катализируемых глутатионпероксидазой и глутатионтрансферазой, и выступает в качестве агента, восстанавливающего окисленный глутаредоксин, необходимый для восстановления дисульфидов [4, 5, 10, 11].

Нашими исследованиями установлено, что глутатион модулирует SH-группы NMDA рецепторов, ограничивая гипервозбудимость последних, тем самым, уменьшая эксайтотоксичность в условиях ишемического и токсического повреждения головного мозга [2, 3, 17].

В этой связи фармакологическая модуляция глутатионовой системы рассматривается как перспективный подход к нейропротекции при алкогольной болезни, направленный на повышение уровня восстановленных эквивалентов тиол-дисульфидной

системы, экспрессии белков-шаперонов, торможению реакций оксидативного стресса и NO-зависимого запуска митохондриального апоптозотического сигналинга [2, 11, 15].

С этой целью проводились экспериментальные работы по изучению нейропротективного действия тиол-содержащих соединений — глутатиона, метионина, альфа-липоевой кислоты при ишемическом повреждении головного мозга, показавшие перспективность этого подхода. Нами проведены исследования, продемонстрировавшие перспективность применения в качестве нейропротекторов при алкогольном поражении головного мозга таких препаратов как ацетилцистеин, тиоцетам и гептрал [2, 3].

Показано, что эти препараты ингибируют реакции нитрозирующего стресса и нормализуют соотношение iNOS/nNOS в головном мозге животных после алкогольной интоксикации, снижают гибель нейронов [2, 3].

Однако, до настоящего времени не изучены возможные глутатион-зависимые механизмы их нейропротективного действия при алкогольном поражении головного мозга.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния тиоцетама, гептрала и ацетилцистеина на показатели системы глутатиона в цитозоле и митохондриях головного мозга крыс с хронической алкогольной интоксикацией.

Объект и методы исследования. В опытах использовали 60 белых беспородных крыс самцов с массой тела 180-220 г. и возрастом 4-5 месяцев, полученных из вивария ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины».

Все экспериментальные процедуры осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях», Общими принципами работы на животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

Хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) вызывали ежедневным внутрижелудочным введением первые 10 дней 15% раствора этанола в дозе

4 г/кг, следующие 10 дней – 15% раствора этанола в дозе 6 г/кг, и последующие 10 дней крысам вводили 25% раствор этанола в дозе 4 г/кг.

С 30 суток прекращали алкоголизацию и проводили экспериментальную терапию изучаемыми препаратами, продолжали наблюдение в течение 14 дней [6].

Все животные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой.

Исследуемые препараты вводили внутрижелудочно с помощью металлического зонда — Гептрал® (Abbott S.r.L., Италия) в дозе 100 мг/кг [6]; N-ацетилцистеин (АЦЦ®Hexal AG, Германия) — 100 мг/кг [6]; Пирацетам (Артериум) — 250 мг/кг [6]; Тиоцетам (Артериум) — 250 мг/кг [6]. Контрольная и интактная группы получали физиологический раствор. По окончании эксперимента животные выводились из эксперимента через 2-4 мин. после инъекции тиопентала натрия (40 мг/кг до потери рефлекса выпрямления) с целью минимализации нейрометаболических сдвигов.

Из головного мозга быстро удаляли кровь, отделяли от мозговой оболочки и исследуемые кусочки измельчали в жидком азоте до порошкообразного состояния и гомогенизировали в 10-кратном объеме среды при (2°C), содержащей (в ммольях): сахарозы — 250, трис-НСI-буфера — 20, ЭДТА — 1 (рН 7,4) [6]. При температуре (+4°C) методом дифференциального центрифугирования на рефрижераторной центрифуге Sigma 3-30k (Германия) выделяли митохондриальную и цитозольную фракции (20 минут при 17000 g).

Для оценки состояния глутатионовой системы определяли содержание восстановленного и окисленного глутатиона, активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, а для оценки интенсивности нитрозирующего стресса определяли уровень нитротирозина. Содержание восстановленного глутатиона (GSH) определяли по реакции по офталиевому ангидриду и флуорометрической регистрации флуоресцентного комплекса [1,6].

Окисленный глутатион (GSSG) определяли аналогично, предварительно восстановив его внесением в инкубационную среду НАДФН и глутатионредуктазы [1]. Для маскировки содержащегося в этих пробах восстановленного глутатиона вносили 1-метил-4-винил-пиридин.

Активность глутатионпероксидазы (ГПР) определяли по убыли восстановленного глутатиона в реакции разложения гидроперекиси третбутила [1]. Остаток восстановленного глутатиона определяли спектрофотометрически по реакции с 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислотой. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли спектрофотометрически по скоро-

сти окисления НАДФН в реакции восстановления окисленного глутатиона [1].

Нитротирозин определяли иммуноферментным методом при помощи ELISE-набора NITROTYROSINE (набор № HK501-02, серия 12825k1212-k).

Результаты исследования рассчитывали с применением стандартного статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Office Excell 2003». Нормальность распределения оценивали по критерию Shapiro-Wilk. Данные представлены в виде среднего значения.

Достоверность различий между средними значениями определяли по критерию Стьюдента при нормальном распределении. В случае распределения, отличного от нормального, или анализа порядковых переменных использовали критерий U Манн-Уитни. Для сравнения независимых переменных в более чем двух выборках применяли дисперсионный анализ (ANOVA) при нормальном распределении или критерий Kruskal-Wallis для распределения, отличного от нормального. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия $p < 0,05$ (95%).

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты проведенных нами исследований указывают на то, что 30-суточное введение животного этанола приводит на 45-сутки эксперимента к стойким нарушениям в системе глутатиона как цитозоля, так и митохондриях головного мозга в виде уменьшения пула ее восстановленных форм (табл. 2). Так, в данных условиях отмечалось выраженное на 60,0%, по сравнению с группой интакта, снижение значений восстановленного глутатиона, а также увеличение на 87,9% уровня окисленного глутатиона в цитозоле. В митохондриях также регистрировали снижение уровня восстановленного глутатиона на 62,0% и увеличение его окисленной формы на 91,7%. Снижение уровня восстановленного глутатиона в цитозоле и митохондриях головного мозга, обнаруженное нами у крыс с хронической алкогольной интоксикацией, возможно, может быть следствием нарушения его синтеза связанного с нарушением тканевого дыхания, обусловленного токсическим повреждением митохондрий [5,11,14]. Это в свою

Таблица 1.

Показатели системы глутатиона и содержание нитротирозина в цитозоле головного мозга животных с хронической алкогольной интоксикацией (ХАИ) на 45 сутки эксперимента (n=10)

Группы животных	ГПР мкмоль GSH / мг белка/мин	ГР мкмоль/мг белка/мин	GSH мкмоль/г ткани	GSSG мкмоль/г ткани	Нитротирозин, нмоль/г ткани
Интакт	62,3±3,8	21,2±2,1	4,3±0,33	0,033±0,005	21,4±1,74
Контроль (ХАИ)	28,3±1,7	10,2±1,2	1,72±0,06	0,062±0,004	105,1±3,67
ХАИ+тиоцетам	51,1±3,2*	28,3±1,8*	4,1±0,27*	0,040±0,003*	37,20±3,11*
ХАИ+АЦЦ	43,3±4,0*	23,5±2,1*	3,9±0,21*	0,044±0,002*	64,2±4,08*
ХАИ+гептрал	35,3±2,1*	21,4±1,2*	3,0±0,21*	0,044±0,003*	74,9±8,71*
ХАИ+пирацетам	27,4±3,2	9,6±1,1	1,88 ±0,10	0,061±0,007	98,5±8,33

Примечание: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю.

Таблица 2.

Показатели системы глутатиона и содержание нитротирозина в митохондриях головного мозга животных с хронической алкогольной интоксикацией (ХАИ) на 45 сутки эксперимента (n=10)

Группы животных	ГПР мкмоль GSH / мг белка/мин	ГР Мкмоль/мг белка/мин	GSH мкмоль/г ткани	GSSG мкмоль/г ткани	Нитротирозин, нмоль/г ткани
Интакт	21,2±1,8	9,7±0,51	1,5±0,07	0,012±0,0008	7,2±0,60
Контроль (ХАИ)	9,1±0,72	4,1±0,32	0,57±0,04	0,023±0,002	33,1±1,71
ХАИ+тиоцетам	18,2±1,2*	14,4±1,0*	1,0±0,08*	0,018±0,001*	12,8±1,40*
ХАИ+АЦЦ	15,8±1,1*	11,8±0,81*	1,1±0,1*	0,016±0,0012*	17,2±1,51*
ХАИ+гептрал	15,1±1,0*	7,8±0,45*	0,82±0,06*	0,018±0,001*	25,5±1,72*
ХАИ+пирацетам	9,2±0,97	4,0±0,57	0,51±0,04	0,022±0,004	31,5±2,12

Примечание: * — p<0,05 по отношению к контролю.

очередь приводит к уменьшению уровня АТФ, необходимого для синтеза глутатиона [11,16]. Другой причиной, уменьшения пула внутриклеточного глутатиона, может быть дефицит уровня цистеина, вследствие его активного использования в качестве антиоксиданта [10,16]. В функционировании глутатионзависимой ферментативной системы в головном мозге у крыс на 45-сутки после ХАИ, зарегистрировано сопоставимое снижение в цитозоле активности ГПР и ГР на 54,6% и 51,9% соответственно, по сравнению с группой интактных животных. В митохондриях головного мозга животных с ХАИ наблюдали снижение ГПР на 57,1%, а ГР на 57,7% (табл. 1-2).

На фоне депривации системы глутатиона в головном мозге животных с ХАИ было зарегистрировано значительное увеличение маркера нитрозирующего стресса — нитротирозина в митохондриях на 359,7% и в цитозоле на 391,1%.

Многие авторы относят нитрозилирование белков к наиболее важному звену патогенеза нейродегенерации, вследствие того, что подобная химическая модификация белковых макромолекул рецепторов, ионных каналов приводит к нарушению генерации, передачи и распознаванию нервного импульса, нарушению функциональной активности нейронов и в конечном итоге — к развитию неврологического и когнитивного дефицита [11,13]. Отрицательный эффект окислительно-модифицированных белков в клетке связан с тем, что окисленные белки способны выступать в качестве дополнительного источника свободных радикалов и истощать запасы внутриклеточного глутатиона [9,14].

Проведение экспериментальной терапии тиольными антиоксидантами, тиоцетамом, гептралом и АЦЦ, выявило следующие результаты влияния этих препаратов на показатели глутатионовой системы (табл. 1-2). На фоне курсового введения АЦЦ отмечены выраженные изменения, которые характеризовались увеличением восстановленного глутатиона в цитозоле и митохондриях на 126,7% и 92,9% на фоне снижения его окисленной формы на 29,1% и 31,4% соответственно по сравнению с контролем. Примечательно, что данные явления при введении АЦЦ, сопровождалось и активацией ферментативного звена антиоксидантной системы, которая выражалась в виде повышения активности ГПР на 53,0% и на 73,6% и ГР на 130,4% и на 187,8% в цитозоле и митохондриях головного мозга.

Подобные по направленности изменения были отмечены и при использовании гептрала, однако некоторые параметры зафиксированных значений в этой группе, по выраженности незначительно усту-

пали показателям группы животных с введением АЦЦ. Так, отмечалось по сравнению с контролем повышение активности ГР и ГПР на 109,8% и 24,7% соответственно в цитозоле и на 90,2% и 65,9% в митохондриях. В свою очередь, уровень окисленного глутатиона в этой группе снижался на 29,0% в цитозоле и на 21,7% в митохондриях, а содержание его восстановленной формы возрастало на 74,4% в цитозоле и на 43,9% в митохондриях.

Наиболее выраженное действие в отношении системы глутатиона в условиях ХАИ оказывал тиоцетам. Так, введение этого препарата приводило к увеличению уровня восстановленного глутатиона в цитозоле и митохондриях на 138,4% и 75,4% на фоне снижения его окисленной формы на 35,5% и на 21,7% соответственно по сравнению с контролем. Введение тиоцетама сопровождалось повышением активности ГПР на 80,6% и на 100% и ГР на 177,5% и на 251,2% в цитозоле и митохондриях головного мозга. Фармакологическая модуляция системы глутатиона в условиях ХАИ, направленная в сторону повышения активности ее ферментативного звена и повышения фонда восстановленного глутатиона, приводит к повышению устойчивости нейрона к нитрозирующему стрессу. Так в цитозоле и митохондриях головного мозга животных с ХАИ, получавших тиоцетам, уровень нитротирозина снизился на 64,6% и 61,3%, гептрала на 28,7% и 23,0%, АЦЦ на 38,9% и 48,0%.

Референс-препарат пирацетам не оказывал на показатели системы глутатиона достоверного влияния.

Антиоксидантные свойства АЦЦ обусловлены, как его свойствами скавенджера АФК и цитотоксических форм NO, образуя нитрозотиолы, так и свойствами предшественником глутатиона. N-ацетилцистеин легко, в отличие от других прекурсоров глутатиона, проникает в митохондрию, особенно на фоне ее дисфункции, и приводит к увеличению внутримитохондриального глутатиона [7,8,12,18,21]. Нами показано, что АЦЦ может повышать активность ГР, тем самым снижая уровень окисленной формы глутатиона, как проапоптотического фактора [7,18,21].

Гептрал, являясь предшественником синтеза глутатиона, а также путем активации цистатионина

бета-синтазы, приводит к увеличению синтеза глутатиона [19]. Антиоксидантный механизм гептрала также связан с позитивным влиянием этого препарата на активность ГПР и глутатион-S-трансферазы [19].

Защитное действие тиоцетама в отношении системы глутатиона обуславливается наличием в его структуре тиольной группы, которая образует стойкие комплексы с активными формами кислорода и пероксинитритом.

Кроме того, тиоцетам значительно повышает активность ГПР и особенно ГР, что приводит к нормализации соотношения восстановленной и окисленной форм глутатиона [2,3]. Кроме того, тиоцетам за счет нормализации тиол-дисульфидной системы восстанавливает redox-потенциал митохондриальной мембраны и тормозит нейроаптоз [2,3]. Ранее нами установлено, что модулируя уровень эндогенного восстановленного глутатиона тиоцетам и другие тиольные антиоксиданты повышают экспрессию белков теплового шока 70 кДа в клетке, которые активно участвуют в механизмах эндогенной нейропротекции [2,3].

Выводы

1. Экспериментальное моделирование хронической алкогольной интоксикации приводило к депривации глутатионовой системы и иницированию нитрозирующего стресса в мозге эксперименталь-

ных животных, о чем свидетельствовало угнетение активности ГПР и ГР, дефицит восстановленного глутатиона, повышение концентрации окисленного глутатиона и увеличение уровня нитротирозина.

2. Курсовое введение тиольных антиоксидантов тиоцетама, N-ацетилцистеина и гептрала животным с ХАИ приводило в разной степени выраженности к нормализации системы глутатиона и торможению нитро-зирующего стресса в головном мозге, что выразилось в повышении активности ГПР и ГР, повышении уровня восстановленного глутатиона и снижению содержания его окисленной формы, а также нитротирозина в цитозоле и митохондриях головного мозга.

3. Наибольшую активность в отношении восстановления глутатионовой системы головного мозга проявляет тиоцетам.

4. Экспериментальные данные являются обоснованием для применения тиольных антиоксидантов тиоцетама, N-ацетилцистеина и гептрала в качестве нейропротекторов в комплексной терапии при хронической алкогольной интоксикации.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в дальнейшем исследовании роли тиольных антиоксидантов в механизмах нейропротекции при хронической алкогольной интоксикации, что позволит проводить профилактику и лечение алкоголизма.

Литература

1. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. — М.: «Наука», 1969. — 739 с.
2. Беленичев И.Ф. Влияние тиольных антиоксидантов на состояние нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации / И.Ф. Беленичев, Т.В. Кучер // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2016. — № 2. — С. 24-29.
3. Боброва В.И. Тиоцетам в комплексной терапии хронической ишемии головного мозга / В.И. Боброва, Ю.М. Колесник [и др.] // Запорожский медицинский журнал. — 2010. — № 5, Т. 12. — С. 130-135.
4. Калинина Е.В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, М.Д. Новичкова // Успехи биол. наук. — 2014. — Т. 54. — С. 299-348.
5. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты / О.А. Толпыгина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2012. — № 2. — С. 178-180.
6. Чекман И.С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных лекарственных средств первичной и вторичной нейропротекции / И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев, Е.А. Нагорная, Н.В. Бухтиярова. — Методические рекомендации ГП «Государственный экспертный центр МЗ Украины», 2016. — 80 с.
7. Atkuria K.R. N-Acetylcysteine — a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency / K.R. Atkuria, J.J. Mantovana, L.A. Herzenberga // Curr Opin Pharmacol. — 2007. — № 7 (4). — P. 355-359.
8. Bavarsad S.R. N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities / S.R. Bavarsad, M.R. Harrigan, A.V. Alexandrov // Brain Behav. — 2014. — № 4 (2). — P. 108-122.
9. Circu M.L. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis / M.L. Circu, T.Y. Aw // Free Radic Biol Med. — 2010. — № 48. — P. 749-762.
10. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes / M. Deponte // Biochimica et Biophysica Acta. — 2013. — № 1830. — P. 3217-3266.
11. Franco R. Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant / R. Franco, J.A. Cidlowski // Cell Death and Differentiation. — 2009. — № 16. — P. 1303-1314.
12. Kerkick C. The Antioxidant Role of Glutathione and N-Acetyl-Cysteine Supplements and Exercise — Induced Oxidative Stress / C. Kerkick, D. Willoughby // J. Int. Soc. Sports Nutr. — 2005. — № 2 (2). — P. 38-44.
13. Kharchenko O. Long-term alcohol consumption provokes oxidative and nitrosative stress in albino rats brain / O. Kharchenko // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2015. — № 3. — С. 49-54.
14. Manzo-Avalos S. Cellular and Mitochondrial Effects of Alcohol Consumption / S. Manzo-Avalos, A. Saavedra-Molina // Int J. Environ Res. Public Health. — 2010. — № 7 (12). — P. 4281-4304.
15. Nagy P. Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation -mediated pathways / P. Nagy // Antioxidants & Redox Signaling. — 2013. — № 18. — P. 1623-1641.
16. Schieber M. ROS function in redox signaling and oxidative stress / M. Schieber, N.S. Chandel // Curr. Biol. — 2014. — № 24 (10). — P. 453-462.

17. Sun L. N-acetylcysteine protects against apoptosis through modulation of group I metabotropic glutamate receptor activity / L. Sun, L. Gu, S. Wang [et al.] // PLoS One. — 2012. — № 7 (3). — P. 32503.
18. Sun S.Y. N-acetylcysteine, reactive oxygen species and beyond / S.Y. Sun // Cancer Biol Ther. — 2010. — № 9 (2). — P. 109-110.
19. Wang S.C. S-adenosylmethionine as an oxidant: the radical SAM superfamily / S.C. Wang, P.A. Frey // Trends Biochem.Sci. — 2007. — № 32 (5). — P. 209-215.
20. Whiteford H.A. Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease. Study 2010 / H.A. Whiteford, L. Degenhardt, J. Rehm [et al.] // Lancet. — 2013. — № 382. — P. 1575-1586.
21. Zafarullah M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions / M. Zafarullah, W.Q. Li [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. — 2003. — Vol. 60. — P. 6-20.

УДК 576.32:616.831:616.89-008.441.13]:577.112.385]-092.9

ДЕПРИВАЦІЯ ГЛУТАТИОНОВОЇ СИСТЕМИ В ЦИТОЗОЛІ ТА МИТОХОНДРІЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З ХРОНІЧНОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ: ЗАХИСНІ ЕФЕКТИ ТІОЛЬНИХ АНТИОКСИДАНТІВ

Беленічев І. Ф., Кучер Т. В.

Резюме. У статті висвітлено проблему пошуку нових методів корекції депривації глутатионові системи головного мозку при хронічній алкогольній інтоксикації (ХАІ) шляхом застосування тиольних антиоксидантів гептралу, N-ацетилцистеїну і тиоцетаму. Однією із ланок пошкодження нейронів при ХАІ є дефіцит відновлених тиольних сполук. Експериментальне моделювання ХАІ призводило до депривації глутатионові системи і ініціюванню нітрозуючого стресу у мозку експериментальних тварин. Курсове введення досліджуваних тиольних антиоксидантів тваринам з ХАІ призводило до нормалізації системи глутатиону і гальмуванню нітрозуючого стресу в головному мозку.

Найбільшу активність продемонстрував тиоцетам, який перевершував дію не тільки референс-препарату пірацетама, але й гептрала і N-ацетилцистеїна. Експериментальні дані є обґрунтуванням для застосування тиольних антиоксидантів в якості нейропротекторів в комплексній терапії при хронічній алкогольній інтоксикації.

Ключові слова: хронічна алкогольна інтоксикація, система глутатиону, нітрозуючий стрес, N-ацетилцистеїн, гептрал, тиоцетам.

УДК 576.32:616.831:616.89-008.441.13]:577.112.385]-092.9

ДЕПРИВАЦИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ В ЦИТОЗОЛЕ И МИТОХОНДРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ: ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ТИОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

Беленічев І. Ф., Кучер Т. В.

Резюме. В статье освещена проблема поиска новых методов коррекции депривации глутатионовой системы головного мозга при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) путем применения тиольных антиоксидантов гептрала, N-ацетилцистеина и тиоцетама. Одним из звеньев повреждения нейронов при ХАИ является дефицит восстановленных тиольных соединений. Экспериментальное моделирование ХАИ приводило к депривации глутатионовой системы и иницированию нитрозирующего стресса в мозге экспериментальных животных. Курсовое введение изучаемых тиольных антиоксидантов животным с ХАИ приводило к нормализации системы глутатиона и торможению нитрозирующего стресса в головном мозге.

Наибольшую активность продемонстрировал тиоцетам, который превосходил действие не только референс-препарата пирацетама, но и гептрала и N-ацетилцистеина. Экспериментальные данные являются обоснованием для применения тиольных антиоксидантов в качестве нейропротекторов в комплексной терапии при хронической алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, система глутатиона, нитрозирующий стресс, N-ацетилцистеин, гептрал, тиоцетам.

UDC 576.32:616.831:616.89-008.441.13]:577.112.385]-092.9

THE DEPRIVATION OF GLUTATHIONE SYSTEM IN THE CYTOSOL AND MITOCHONDRIA OF RAT BRAIN WITH CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION: PROTECTIVE EFFECTS OF THIOL ANTIOXIDANTS

Беленічев І. Ф., Кучер Т. В.

Abstract. The article focuses on the problem of search of new methods of correction of the brain glutathione system deprivation and the associated with it initiation of the nitroxitive stress in chronic alcohol intoxication through the use of thiol antioxidants. Thiol antioxidants can be considered as effective NO scavengers and as positive modulators of the thiol-disulfide system. This conception is based on the fact that the main mechanisms of neuron injury in chronic ethanol consumption is the deficit of recovered thiol compounds. The violations in nitroxidergic system led to the decrease in the bioavailability of NO and to the initiation of nitroxitive stress. Thiol antioxidants — heptral, N-acetylcysteine, and thiocetam were studied as test products and pyracetam was chosen as a reference product. The aim of research was to study the influence of heptral, N-acetylcysteine and thiocetam on the indices of the glutathion system and of nitroxitive stress in the brain of rats exposed to chronic ethanol intoxication.

The research was provided on 60 outbred male rats with body mass 180-220 g in the age of 4-5 months. Chronic alcohol intoxication was caused by daily administration of ethanol into the stomach.

For the first 10 days 15% ethanol was given in the dose 4 g/kg, next 10 days 15% ethanol was given in the dose 6 g/kg, the last 10 days 25% ethanol was given in the dose 4 g/kg. After that alcoholisation was ended and experimental therapy with the named drugs started. The observation of animals was held for the next 14 days.

The researched drugs were administered into the stomach with the help of metallic tube in the following doses: heptral — 100 mg/kg; N-acetylcysteine — 100 mg/kg; pyracetam — 250 mg/kg; thiocetam — 250 mg/kg. The control and intact groups of animal were given physiological solution. The results of study demonstrate that experimental modeling of chronic alcohol intoxication led to deprivation of glutathione system and to initiation of nitrozitive stress in the experimental rats brain. The decrease of glutathione peroxidase and glutathione reductase activity, deficit of reduced glutathione, elevation of the oxidized glutathione concentration and increase of nitrotyrosine level evidenced about it.

The course administration of studying drugs to animals with chronic alcohol intoxication led to the normalization of glutathione system and braking of nitrozitive stress in the cytosol and mitochondria of the brain. It was manifested as increase of glutathione peroxidase and glutathione reductase activity, elevation of reduced glutathione level, decrease in the content of its oxidized form and nitrotyrosine level. Nitrotyrosine is the marker of nitrozitive stress. Thiocetam exceeded the influence of both reference product pyracetam and heptral and N-acetylcysteine in the degree of glutathione peroxidase and glutathione reductase activity increase, elevation of reduced glutathione and decrease of nitrotyrosine in cytosol and especially in mitochondria of the brain.

Experimental data form the basis for the use of thiol antioxidants thiocetam, N-acetylcysteine and heptral as the neuroprotectors in the complex therapy of chronic alcohol intoxication.

Keywords: chronic ethanol intoxication, glutathione system, nitrozitive stress, N-acetylcysteine, heptral, thiocetam.

Рецензент — проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 22.09.2016 року