

Стан тиол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом протитуберкульозних препаратів

А. В. Левіч^{*А,В,С,Д}, Н. О. Скороходова^{А,С,Е}, Д. Г. Живиця^{А,Е}, Ю. В. Просветов^{А,Е}

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; Д – написання статті; Е – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

резистентний туберкульоз, протитуберкульозні препарати, побічні реакції, нейротоксичність, глутатіон.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 328–333

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188799

*E-mail: zmapo_38@gmail.com

Мета роботи – в експериментальному дослідженні визначити характер змін стану тиол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом комплексу протитуберкульозних препаратів для лікування хіміорезистентного туберкульозу, та можливості їхньої медикаментозної корекції, застосовуючи адеметіонін 1,4-бутандисульфат.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 30 щурах лінії Wistar, яких поділили на 3 групи: 10 – інтактна, 10 – контрольна (отримували протитуберкульозні препарати), 10 – основна (отримували протитуберкульозні препарати та адеметіонін як засіб корекції токсичної дії). Дослідили стан системи глутатіону та вміст гомоцистеїну, нітратіразину.

Результати. Експериментальна терапія адеметіоніном у щурів, які отримували протитуберкульозні препарати, сприяє зниженню інтенсивності хронічного оксидативного стресу в нервовій тканині. Під час введення гептралу встановили оптимальне співвідношення між рівнями відновлених та окислених тиольних груп, а також глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тиол-дисульфідної системи та нейтралізацію продуктів вільнорадикального окислення. В умовах нітрозувального й оксидативного стресу вивчені засоби збільшують стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації. Отже, однією з ланок нейропротективного ефекту адеметіоніну стала його здатність стабілізувати тиол-дисульфідну рівновагу.

Висновки. У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи у тканинах мозку щурів, що отримували протитуберкульозні препарати, зареєстровано зниження активності глутатіон S-трансферази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази вдвічі, в 1,7 і 2,4 раза відповідно. В умовах терапії адеметіоніном визначили збільшення відновлених інтермедіатів тиол-дисульфідної системи – SH-групи в 1,7 раза, підвищення рівня відновленого глутатіону в 1,9 раза на тлі вірогідного зменшення вмісту його окисленої форми в 1,4 раза. Застосування адеметіоніну призводило й до зниження вмісту у тканинах мозку потенційно нейротоксичних сполук – нітротірозинову та гомоцистеїну в 1,4 та 1,5 раза, що збільшує стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації.

Ключевые слова:

резистентный туберкулез, противотуберкулезные препараты, побочные реакции, нейротоксичность, глутатион.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 328–333

Состояние тиол-дисульфидной системы у крыс с энцефалопатией, обусловленной влиянием противотуберкулезных препаратов

А. В. Левич, Н. О. Скороходова, Д. Г. Живица, Ю. В. Просветов

Цель работы – в экспериментальном исследовании определить характер изменений состояния тиол-дисульфидной системы крыс с энцефалопатией, обусловленной влиянием комплекса противотуберкулезных препаратов для лечения химиорезистентного туберкулеза, и возможности их медикаментозной коррекции с применением адеметионина 1,4-бутандисульфата.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 крысах линии Wistar которых поделили на 3 группы: 10 – интактная, 10 – контрольная (получавшие противотуберкулезные препараты), 10 – основная (которые получали противотуберкулезные препараты и адеметионин как средство коррекции токсического действия). Исследовано состояние системы глутатиона и содержание гомоцистеина и нитратіразину.

Результаты. Экспериментальная терапия адеметионином у крыс, получавших противотуберкулезные препараты, способствует снижению интенсивности хронического оксидативного стресса в нервной ткани. При введении адеметионина установлено оптимальное соотношение между уровнями восстановленных и окисленных тиольных групп, а также глутатиона, что свидетельствует об активной мобилизации тиолов-дисульфидных системы и нейтраллизации продуктов свободнорадикального окисления. В условиях нитрозирующего и оксидативного стресса изученные средства увеличивают устойчивость нервной ткани к явлениям интоксикации. Таким образом, одним из звеньев нейропротективного эффекта адеметионина стала его способность стабилизировать тиолов-дисульфидное равновесие.

Выводы. В функционировании глутатионзависимой ферментативной системы в тканях мозга крыс, получавших противотуберкулезные препараты, зарегистрировано снижение активности глутатіон S-трансферазы, глутатіонпероксидазы и глутатіонредуктазы в 2,0, 1,7 и 2,4 раза соответственно. В условиях терапии адеметионином отмечено увеличение восстановленных промежуточных тиолов-дисульфидных системы – SH-группы в 1,7 раза, повышение уровня восстановленного глутатиона в 1,9 раза на фоне достоверного снижения содержания его окисленной формы в 1,4 раза. Применение адеметионина приводило к снижению содержания в тканях мозга потенциально нейротоксических соединений – нитротірозина и гомоцистеина в 1,4 и 1,5 раза, что увеличивает устойчивость нервной ткани к явлениям интоксикации.

Investigation of the thiol-disulfide system state of rats with encephalopathy caused by the effect of antituberculous drugs

A. V. Levich, N. O. Skorokhodova, D. H. Zhyvytsia, Yu. V. Prosvietov

Objective. To determine in an experimental study the nature of changes in the status of the thiol-disulfide system of rats with encephalopathy, due to the influence of complex of anti-tuberculosis drugs for the treatment of chemoresistant tuberculosis and the possibility of their drug correction with the use of ademetionine 1,4-butanedisulfonate.

Materials and methods. The study was conducted on 30 Wistar rats, which were divided into 3 groups: 10 – intact group, 10 – control group (treated with antituberculosis drugs) and 10 – main group (treated with antituberculosis drugs and ademetionine as means of correcting toxic effects). The state of the glutathione system and the content of homocysteine and nitrotyrosine were investigated.

Results. Experimental therapy with ademetionine in rats treated with antituberculosis drugs helps to reduce the intensity of chronic oxidative stress in nerve tissue. The introduction of ademetionine establishes the most optimal ratio between the levels of reduced and oxidized thiol groups, as well as glutathione, which indicates the active mobilization of the thiol-disulfide system and the neutralization of products of free-radical oxidation. Under the conditions of nitrosative and oxidative stress, the studied agents increase the resistance of nervous tissue to the manifestations of intoxication. Thus, one of the links of the neuroprotective effect of ademetionin was its ability to stabilize the thiol-disulfide equilibrium.

Conclusions. In the functioning of the glutathione-dependent enzymatic system in the tissues of the brain of rats treated with anti-tuberculosis drugs, there was decreased activity of glutathione s-transferase, glutathione peroxidase and glutathione reductase by 2.0, 1.7 and 2.4 times, respectively. Under the conditions of ademetionin therapy, there was increase by 1.7 times in the reduced intermediates of the thiol-disulfide system – SH-group, and an increase of the level of reduced glutathione by 1.9 times, against the background of a significant decrease in the content of its oxidized form – 1.4 times. The use of ademetionin also led to a decrease of the content of potentially neurotoxic compounds – nitrotyrosine and homocysteine by 1.4 and 1.5 times, respectively in the brain tissues, which increases the resistance of nervous tissue to the effects of intoxication.

Key words:
resistance
tuberculosis,
anti-tuberculosis
drugs, adverse
drug reactions,
neurotoxicity,
glutathione.

Pathologia
2019; 16 (3), 328–333

Однією з причин, що перешкоджає зниженню захворюваності на туберкульоз (ТБ) і досягненню цільових показників, передбачених глобальною стратегією ліквідації туберкульозу, є лікарська стійкість і мультирезистентний туберкульоз (МРТБ) [8,9]. Етіотропна терапія МРТБ пов'язана з необхідністю застосування багатьох протитуберкульозних препаратів (ПТП) у схемі (5–8 препаратів), кожен із них окремо має різну токсичність [4,9,16]. Однак комбіноване призначення такої кількості ПТП може суттєво збільшити частоту та тяжкість токсичних побічних реакцій (ПР) антимікобактеріальної терапії, взаємно потенціюючи токсичність кожного окремого препарату [4,13,16]. Побічні реакції хіміотерапії є одним із предикторів неефективного лікування, чинниками, які знижують якість життя пацієнтів, формують негативний імідж терапії і, як наслідок, призводять до некомпласнтності хворих [3,4,9,13]. Серед ПР особливої уваги заслуговує дослідження гепатотоксичної, нейротоксичної дії ПТП, структура та механізми виникнення, а також можливості корекції якої залишаються недостатньо вивченими [3,4,10,14,16–18]. Відомо, що глутатіонова ланка тіол-дисульфідної системи головного мозку – вкрай важливий компонент антиоксидантного захисту та відіграє важливу роль у механізмах ендогенної нейропротекції [1,2,11,12,15].

Перспективним засобом корекції нейротоксичної дії можна вважати адеметіонін 1,4-бутандисульфонат (адеметіонін), який відіграє провідну роль у проміжному метаболізмі таких важливих сполук, як холін, цистеїн, таурин, глутатіон, коензим-А тощо, виявляючи в такий спосіб антиоксидантні властивості з універсальними протективними можливостями [1,2,7,10,11,15]. Такі цитопротекторні, антихолестатичні, детоксикаційні властивості препарату адеметіонін можуть бути використані в терапії лікарськоіндукованих захворювань

печінки і для поліпшення функцій центральної нервової системи (ЦНС) в умовах енцефалопатії різного генезу [1,2,8,9,15,19,20]. Застосування адеметіоніну як універсального засобу корекції токсичних побічних реакцій ПТП раніше не вивчали.

Мета роботи

В експериментальному дослідженні визначити характер змін стану тіол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом комплексу протитуберкульозних препаратів для лікування хіміорезистентного туберкульозу, та можливості їхньої медикаментозної корекції, застосовуючи адеметіонін 1,4-бутандисульфонат.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту та Ради ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, що використовуються для наукових цілей, а також до національних «Спільних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) і вказівок, що викладені в «Основні засади вивчення токсичності потенційних фармакологічних препаратів» (ДФЦ України, К., 2000). Експеримент схвалений комісією з біоетики ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Дослідження виконали на 30 щурах лінії Wistar віком 6 місяців масою 220–290 г. Тварини перебували у стандартних умовах віварію (12-годинний світловий цикл, температура 22 °С).

Тварин поділили на 3 групи:

1) 10 тварин, яким здійснювали внутрішньошлункове зондове введення 1 % крохмального слизу

(розчинник) в об'ємі 5 мл і внутрішньом'язове введення ізотонічного розчину хлориду натрію, – інтактна група (ІГ);

2) 10 тварин, яким виконували внутрішньошлункове зондове введення ПТП – піразинамід, 300 мг/кг; етіонамід, 150 мг/кг; циклосерин, 150 мг/кг; левофлоксацин, 200 мг/кг; і канаміцин, 200 мг/кг – внутрішньом'язово (контрольна група – КР).

3) 10 тварин, які на тлі введення ПТП в аналогічних дозах отримували паралельним курсом адеметіонін у дозі 250 мг/кг внутрішньошлунково (основна група – ОГ).

Пероральні препарати вводили на 1 % крохмальному слизі в об'ємі 5 мл. Введення здійснювали 1 раз на добу о 10:00 в умовах віварію протягом 90 днів.

Після завершення експерименту тварин виводили з експерименту через 2–4 хв після ін'єкції тіопенталу натрію (40 мг/кг) (до втрати рефлексу випрямлення) для мінімізації нейрометаболічних зрушень. З головного мозку швидко видаляли кров, досліджувані шматочки відокремлювали від мозкової оболонки та поміщали в рідкий азот. Потім подрібнювали в рідкому азоті до порошкоподібного стану та гомогенізували в 10-разовому об'ємі середовища при 2 °С, що містило (у ммоль): сахарози – 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА – 1 (рН 7,4) [17]. При температурі +4 °С методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (ФРН) виділяли мітохондріальну фракцію. Для очищення мітохондріальної фракції від великих клітинних фрагментів попередньо здійснювали центрифугування протягом 7 хв при 1000 g, а потім супернатант повторно центрифугували протягом 20 хв при 17000 g. Супернатант зливали і зберігали при -80 °С. Осад мітохондрій ресуспендували в середовищі виділення, що містить бичачий сироватковий альбумін (0,5 мг/мл), і знову осаджували протягом 10 хвилин при 17000 g. Мітохондрії суспендували в середовищі виділення, суспензія містила 40–60 мг білка/мл. Для оцінювання стану глутатіонової системи визначали вміст відновленого й окисленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, а для визначення інтенсивності нітروزувального стресу визначали рівень нітритрозину. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за реакцією з о-фталевим ангідридом і флуорометричною реєстрацією флуоресцентного комплексу [1,12]. Окислений глутатіон (GSSG) визначали аналогічно, попередньо відновивши його внесенням в інкубаційне середовище НАДФН і глутатіонредуктази [1,12]. Для маскуванню відновленого глутатіону, що містився в цих пробах, вносили 1-метил-4-вініл-піридин. Активність глутатіонпероксидази (ГПП) визначали за зменшенням відновленого глутатіону в реакції розкладу гідропероксиду третбутилу [1,2,12]. Залишок відновленого глутатіону визначали спектрофотометрично за реакцією з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойної кислотою. Активність глутатіонредуктази (ГР) визначали спектрофотометрично за швидкістю окиснення НАДФН у реакції відновлення окисленого глутатіону [1,2]. Гомоцистеїн визначали ензиматичним методом, принцип якого полягав у тому, що зв'язаний або деміризований гомоцистеїн відновлюють до віль-

ного гомоцистеїну, який реагує з серином, у результаті чого утворюється L-цистатіонін. Реакція каталізується цистіонін-β-синтазою (Ц-β-С). L-цистатіонін розщеплюється з утворенням гомоцистеїну, пірувату та аміаку. Реакція каталізується цистатіонін-β-ліазою. Надалі піруват під дією лактатдегідрогенази перетворюється в лактат, коферментом у цій реакції є NADH. Відношення NADH до NAD⁺ прямо пропорційне концентрації гомоцистеїну. Розрахунок за калібрувальною кривою (нкмоль/л). Вміст цистеїну та метіоніну встановлювали методом хроматографії на тонкому шарі сорбенту, з наступною елюацією та спектрофотометрією [1,2,12].

Нітритрозин визначали в цитозольних фракціях гомогенату серця твердофазним імуносорбентним сендвідж-методом ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Hycult Biotech і наводили у нм/г тканини [1,2,12].

Результати дослідження розраховували з застосуванням стандартного статистичного пакета ліцензійної програми Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також SPSS 16.0, Microsoft Office Excel 2003. Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Шапіро–Уїлка. Вірогідність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стюдента при нормальному розподілі. У випадку розподілу, що відрізнявся від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U-критерій Манна–Уїтні. Для порівняння незалежних змінних у більш ніж 2 вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Краскела–Уоліса для розподілу, що відрізняється від нормального. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$ (95 %).

Результати

Результати досліджень вказують, що внутрішньошлункове зондове введення ПТП протягом 90 днів призводить до зміщення тіол-дисульфідної системи, – зменшення пулу її відновлених форм (табл. 1). Так, у КГ за цих умов визначили вірогідне зниження рівнів SH-груп і відновленого глутатіону в понад 2 рази порівняно з групою інтактних тварин, а також збільшення втричі SS-груп, в 1,9 раза – рівня окисленого глутатіону ($p < 0,05$). В ОГ на тлі використання адеметіоніну 1,4-бутандисульфенату (адеметіоніну) ці показники вірогідно не відрізнялися від результатів, які отримали в інтактній групі, але мали вірогідні відмінності з групою контролю (SH-групи в 1,7 раза та глутатіон відновлений в 1,9 раза більше, а SS-групи в 1,6 раза і глутатіон окислений в 1,4 раза менше, ніж у КГ).

У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи у тканинах мозку щурів, які отримували ПТП, зареєстровано зниження активності Г-S-T, ГПП і ГР у 2,0, 1,7 і 2,4 раза відповідно порівняно з групою інтактних тварин (табл. 2).

Показники ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у тварин ОГ вірогідно перевищували аналогічні показники у групі контролю (рівні ГР – у 1,9 раза, ГПП – в 1,5 раза, Г-ST – в 1,8 раза), але вірогідно не відрізнялися від таких в ІГ.

Таблиця 1. Стан тіол-дисульфідної системи в головному мозку тварин на 91 добу експерименту

Групи тварин	SH-групи, мкмоль/г тканини	SS-групи, мкмоль/г тканини	Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	Глутатіон оксид, мкмоль/г тканини
ІГ (n = 10)	55,7 ± 4,1	3,8 ± 0,3	4,7 ± 0,34	0,031 ± 0,007
КГ (n = 10)	24,4 ± 1,8*	11,4 ± 1,2*	2,22 ± 0,11*	0,058 ± 0,003*
ОГ (n = 10)	42,1 ± 2,1	7,1 ± 0,31	4,14 ± 0,21	0,041 ± 0,002

*: p < 0,05 щодо інтактної групи.

Таблиця 2. Стан ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи в головному мозку тварин на 91 добу експерименту

Групи тварин	ГР, мкмоль/мг білка/хв	ГПР, мкмоль/мг білка/хв	Г-S-T, мкмоль/мг білка/хв
ІГ (n = 10)	18,50 ± 1,54	63,2 ± 4,5	16,40 ± 1,55
КГ (n = 10)	7,80 ± 0,57*	37,2 ± 3,5*	8,10 ± 0,63*
ОГ (n = 10)	14,5 ± 0,8	55,5 ± 3,7	14,5 ± 1,2

*: p < 0,05 щодо інтактної групи.

Таблиця 3. Маркери оксидативного та нітрозувального стресу в головному мозку тварин на 91 добу експерименту

Групи тварин	Гомоцистеїн, мкмоль/г тканини	Цистеїн, мкмоль/г тканини	Метіонін, мкмоль/г тканини	Нітритрозин, нмоль/г тканини
ІГ (n = 10)	2,20 ± 0,15	3,22 ± 0,11	2,87 ± 0,12	10,7 ± 0,6
КГ (n = 10)	9,85 ± 0,70*	1,65 ± 0,08*	1,45 ± 0,09*	44,3 ± 3,2*
ОГ (n = 10)	6,80 ± 0,32	2,30 ± 0,11	2,73 ± 0,11	31,2 ± 1,4

*: p < 0,05 щодо інтактної групи.

У КГ виявили вірогідне підвищення рівня гомоцистеїну в 4,5 рази, нітритрозину в 4,1 рази (табл. 3).

В умовах експериментальної терапії адеметіоніну 1,4-бутандисульфидом визначили виражені зміни, які характеризувалися значущим збільшенням відновлених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи порівняно з КГ. Паралельно виявили підвищення рівня відновленого глутатіону на тлі вірогідного зниження вмісту його окисленої форми (p < 0,05). Застосування адеметіоніну призводило також до зниження вмісту у тканинах мозку потенційних нейротоксичних сполук – нітритрозину та гомоцистеїну в 1,4 і 1,5 рази відповідно (табл. 3).

Адеметіонін також підвищував активність ферментів тіол-дисульфідної системи щодо показників тварин КГ на 91 добу експерименту.

Відомо, що саме зміни з боку тіольної неферментативної та ферментативної ланки антиоксидантної системи, що виявляються у зниженні відновленої та підвищенні окисленої форми, є однією з ранніх ознак порушення захисту клітин при нейроінтоксикації ендегенного й екзогенного генезу [1,2,5,6,11,12,15,20].

Зниження рівня відновленого глутатіону у тканинах мозку, виявлене в щурів після застосування ПТП, може бути наслідком порушення його синтезу, що пов'язаний з порушенням тканинного дихання, зумовленого мітохондріальною активацією АФК. Це призводить до зменшення рівня АТФ, необхідного для синтезу глутатіону. Іншою причиною зменшення пулу внутрішньоклітинного глутатіону може бути дефіцит рівня цистеїну внаслідок його активного використання як антиоксиданту, що також показано в дослідженні (табл. 3).

Збільшення функціонування системи глутатіону, а також пов'язаних із його обміном антиоксидантних ферментів ГПР і ГР захищає мозок від АФК і цитотоксичних дериватів монооксиду азоту, певним чином дає змогу відновити рівновагу та поліпшити редокс-регуляцію.

Експериментальна терапія адеметіоніном у щурів, які отримували ПТП, сприяє зниженню інтенсивності хронічного оксидативного стресу в нервовій тканині. Вводячи гептрал, встановили оптимальне співвідношення між рівнями відновлених та окислених тіольних груп, а також глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тіол-дисульфідної системи та нейтралізацію продуктів вільнорадикального окислення. Ймовірно, що в умовах нітрозувального й оксидативного стресу завдяки цим механізмам названі засоби збільшують стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації. Отже, однією з ланок нейропротективного ефекту адеметіоніну стала його здатність стабілізувати тіол-дисульфідну рівновагу. Так, найважливішим ефектом цього препарату в умовах хронічного введення ПТП стала нормалізація активності антиоксидантних ферментів, а отже гальмування окисної модифікації білка.

Обговорення

Негативний ефект окислювально-модифікованих білків у клітині пов'язаний із тим, що окислені білки можуть бути додатковим джерелом вільних радикалів і виснажувати запаси внутрішньоклітинних антиоксидантів – аскорбінової кислоти, глутатіону. Продукти вільнорадикального окиснення білків також опосередковують окислювальні пошкодження ДНК, призводять до зниження функції білків у ланцюгу переносників електронів, активності АТФази, вибірковості дії транспортних пор. Зміна редокс-потенціалу мітохондріальної мембрани може позначатися на дисфункції каскаду дихального ланцюга, порушуючи метаболізм у нейрональній клітині [1,2,6,12]. Адеметіонін, як попередник синтезу глутатіону, а також шляхом активації цистатіонін бета-синтази призводить до збільшення синтезу глутатіону [2,6,7,11,15,19]. Антиоксидантний механізм дії адеметіоніну також пов'язаний із позитивним впливом цього препарату на активність ГПР і глутатіон-S-трансферази [1,6,10,12,15,20]. Нещодавно

виявлено, що S-аденозилметіонін є ефекторною молекулою рибоперемікачів (елементів РНК, що контролюють експресію генів завдяки змінам вторинної структури, що індуковані метаболітами). Зв'язуючись із S-аденозилметіоніном, рибоперемікачі утворюють термінаційну структуру, що зупиняє транскрипцію, пригнічує синтез мРНК [11,12,15,19,20].

Оцінюючи результати, можна припустити: зниження вмісту нітритрозину зумовлене здатністю гептралу інактивувати цитотоксичні форми NO, можливо, утворюючи нітрозотіоли, а також унаслідок зниження експресії iNOS [1,2,12]. Встановили, що адеметіонін сприяє підвищенню відновлених сульфгідрильних груп у білках, що утворюють циклоспорин А-залежну мітохондріальну пору, тим самим зменшуючи формування мітохондріальної дисфункції [10,15].

Висновки

1. Внутрішньошлункове зондове введення протитуберкульозних препаратів протягом 90 діб призводило до зменшення пулу відновлених форм тіол-дисульфідної системи, відбувалося вірогідне зниження рівнів SH-груп і відновленого глутатіону більш ніж удвічі порівняно з групою інтактних тварин, а також збільшення у 3 рази SS-груп і в 1,9 раза рівня окисленого глутатіону ($p < 0,05$). У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи у тканинах мозку щурів, які отримували ПТП, зареєстровано зниження активності Г-S-T, ГПР і ГР у 2,0, в 1,7 і 2,4 раза відповідно порівняно з групою інтактних тварин.

2. В умовах експериментальної терапії адеметіонін 1,4-бутандисульфонатом виявили зміни, що характеризуються значущим збільшенням відновлених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи порівняно з контрольною групою (SH-групи в 1,7 раза вище, а SS-групи в 1,6 раза нижче, ніж у КГ) ($p < 0,05$). Паралельно встановили підвищення рівня відновленого глутатіону на тлі вірогідного зниження вмісту його окисленої форми (глутатіон відновлений в 1,9 раза вище, а глутатіон окислений в 1,4 раза нижче, ніж у КГ) ($p < 0,05$).

3. На тлі застосування ПТП у тварин КГ встановили вірогідне підвищення рівня гомоцистеїну в 4,5 раза та нітритрозину в 4,1 раза. Однак застосування адеметіоніну призводило також до зниження вмісту у тканинах мозку потенційно нейротоксичних сполук – нітритрозину та гомоцистеїну в 1,4 і 1,5 раза відповідно, що в умовах нітрозуючого й оксидативного стресу збільшує стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації.

Перспективи подальших досліджень. Токсичні ускладнення антимікобактеріальної терапії – важлива проблема на шляху подолання епідемії хіміорезистентного туберкульозу. Результати є експериментальним обґрунтуванням застосування адеметіоніну як нейропротективного засобу в п'ятикомпонентній терапії хіміорезистентного туберкульозу, що відкриває нові можливості оптимізації та підвищення ефективності лікування таких хворих і потребує продовження вивчення.

Фінансування

Робота виконана в рамках НДР ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» «Особливості лікування хворих на туберкульоз легень при виникненні токсичних побічних реакцій антимікобактеріальної терапії» (№ держреєстрації 0116U003803).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 26.09.2019

Після доопрацювання / Revised: 12.11.2019

Прийнято до друку / Accepted: 22.11.2019

Відомості про авторів:

Левіч А. В., асистент каф. фізіатрії і пульмонології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Скороходова Н. О., д-р мед. наук, доцент каф. фізіатрії і пульмонології, декан терапевтичного факультету, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Живиця Д. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

ORCID ID: 0000-0003-0248-0995.

Просветов Ю. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф.

фізіатрії і пульмонології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Сведения об авторах:

Левич А. В., ассистент каф. физиотриии и пульмонологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Скороходова Н. О., д-р мед. наук, доцент каф. физиотриии и пульмонологии, декан терапевтического факультета, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Живица Д. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Просветов Ю. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. физиотриии и пульмонологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Information about authors:

Levich A. V., MD, Assistant Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Skorokhodova N. O., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Dean of the Therapeutic Faculty, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Zhyvitsia D. H., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Prosvietov Yu. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Phthysiology and Pulmonology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Список літератури

- [1] Беленичев И. Ф., Кучер Т. В. Депривация глутатионовой системы в цитозоле и митохондриях головного мозга крыс с хронической алкогольной интоксикацией: защитные эффекты тиольных антиоксидантов. Вісник проблем біології і медицини. 2016. Вип. 4, т. 1. С. 111-116.
- [2] Беленичев И. Ф., Горбачева С. В. Антиоксидантная модуляция нейрораптоза в условиях дисбаланса тиол-дисульфидной системы и накопления окисленных промежуточных соединений in vitro. Вісник проблем біології і медицини. 2015. Вип. 3, т. 1. С. 124-128.

- [3] Гепатотоксические реакции при лечении впервые выявленных больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя / П. Ю. Абдуллаев, О. В. Комиссарова, Е. С. Чумакова и др. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2019. Т. 97, № 7. С. 21-27.
- [4] Иванова Д. А., Борисов С. Е. Спектр и факторы риска нежелательных побочных реакций при лечении впервые выявленных больных туберкулезом. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2017. Т. 95, № 6. С. 22-29. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-6-22-29>
- [5] Место тиаприазолина в галерее современных метаболитотропных лекарственных средств / И. Ф. Беленичев, В. А. Визир, В. И. Мамчур, А. В. Курята. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 1. С. 118-128. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [6] Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная и др. Киев : Логос, 2015. 512 с.
- [7] «Роковая цепочка» и адеметионин / Н. Б. Губергриц, П. Г. Фоменко, О. А. Голубова и др. *Сучасна гастроентерологія*. 2014. № 4. С. 106-120.
- [8] Тодоріко Л. Д., Петренко В. І., Шевченко О. С. Перспективи подолання туберкульозу в Україні. *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ інфекція*. 2016. № 1. С. 72-78.
- [9] Факторы неэффективного лечения у больных с мультирезистентным туберкулезом и туберкулезом с широкой лекарственной резистентностью / Н. А. Литвиненко, А. А. Варичкая, Н. В. Гранкина и др. *The Scientific Heritage*. 2017. № 10. С. 24-32.
- [10] Экспериментальное обоснование терапии сопровождения с применением адеметионина для снижения гепатотоксических реакций противотуберкулезных препаратов / К. И. Усов, Т. А. Гуськова, Г. Г. Юшков и др. *Токсикологический вестник*. 2018. № 6. С. 12-21.
- [11] Aquilano K., Baldelli S., Ciriolo M. R. Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*. 2014. Vol. 5, Article 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- [12] The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: The therapeutic effects of nootropic drugs / I. F. Belenichev, S. V. Gorbacheva, A. V. Demchenko, N. V. Bukhtiyarova. *Neurochemical Journal*. 2014. Vol. 8, Iss. 1. P. 24-27. <https://doi.org/10.1134/s181971241401005x>
- [13] Adverse drug reactions and treatment outcome analysis of DOTS-plus therapy of MDR-TB patients at district tuberculosis centre: A four year retrospective study / A. I. Dela, N. K. D. Tank, A. P. Singh et al. *Lung India*. 2017. Vol. 34, Iss. 6. P. 522-526. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.217569>
- [14] Reversible neurotoxicity of kanamycin on dorsal cochlear nucleus / G.-R. Fan, Z.-D. Yin, Y. Sun et al. *Brain Research*. 2013. Vol. 1502. P. 30-46. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.12.049>
- [15] Therapeutic benefits of the methyl donor S-adenosylmethionine on nerve injury-induced mechanical hypersensitivity and cognitive impairment in mice / S. Gregoire, M. Millemcamps, L. Naso et al. *Pain*. 2017. Vol. 158, Iss. 5. P. 802-810. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000811>
- [16] Kass J. S., Shandera W. X. Nervous System Effects of Antituberculosis Therapy. *Cns Drugs*, 2010. Vol. 24, Iss. 8. P. 655-667. <https://doi.org/10.2165/11534340-000000000-00000>
- [17] Levofloxacin neurotoxicity and non-convulsive status epilepticus (NCSE): A case report / D. Mazzei, J. Accardo, A. Ferrari, A. Primavera. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2012. Vol. 114, Iss. 10. P. 1371-1373. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.03.029>
- [18] Neuroleptic malignant syndrome in cycloserine-induced psychosis / N. S. Sawant, N. S. Kate, S. S. Bhatankar, P. S. Kulkarni. *Indian Journal of Pharmacology*. 2015. Vol. 47, Iss. 3. P. 328-329. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157134>
- [19] Shea T. B. Effects of dietary supplementation with N-acetyl cysteine, acetyl-L-carnitine and S-adenosyl methionine on cognitive performance and aggression in normal mice and mice expressing human ApoE4. *Neuromolecular Medicine*. 2007. Vol. 9, Iss. 3. P. 264-269. <https://doi.org/10.1007/s12017-007-8005-y>
- [20] Zhang F., Lau S. S., Monks T. J. The Cytoprotective Effect of N-acetyl-L-cysteine against ROS-Induced Cytotoxicity Is Independent of Its Ability to Enhance Glutathione Synthesis. *Toxicological Sciences*. 2011. Vol. 120, Iss. 1. P. 87-97. <https://doi.org/10.1093/toxsci/ikf364>
- [3] Abdullaev, R. Y., Komissarova, O. G., Chumakova, E. S., Odinets, V. S., & Ergeshov, A. E. (2019). Gepatotoksicheskie reaktzii pri lechenii vpervye vyavlennykh bol'nykh tuberkulezom legkikh s mnozhestvennoi lekarstvennoi ustoiichivost'yu vozбудitelya [Hepatotoxic reactions during treatment of newly diagnosed patients with pulmonary multiple drug resistant tuberculosis]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, 97(7), 21-27. [in Russian]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-7-21-27>
- [4] Ivanova, D. A., & Borisov, S. E. (2017). Spekr i faktory riska nezhe-latel'nykh pobochnykh reaktzii pri lechenii vpervye vyavlennykh bol'nykh tuberkulezom [Profile and risk factors of adverse reactions in new tuberculosis cases receiving treatment]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, 95(6), 22-29. [in Russian]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-6-22-29>
- [5] Bielenichev, I. F., Vizir, V. A., Mamchur, V. Y., & Kuriata, O. V. (2019). Mesto tiotriazolina v galeree sovremennykh metabolitotropnykh lekarstvennykh sredstv [Place of tiotriazoline in the gallery of modern metabolitotropic medicines]. *Zaporozhye Medical Journal*, 21(1), 118-128. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [6] Belenichev, I. F., Chernii, V. I., Nagornaya, E. A., Pavlov, S. V., Buhtiyarova, N. V., Chernii, T. V., & Gorchakova, N. A. (2014). *Neiroprotektsiya i neiroplastichnost' [Neuroprotection and neuroplasticity]*. Kiev: Logos [in Russian].
- [7] Gubergric, N. B., Fomenko, P. G., Golubova, O. A., Lukashevich, G. M., Belyaeva, N. V., & Agibalov, A. N. (2014). «Rokovaja cepochka» i ademetonin [«Fatal chain» and ademetonine]. *Suchasna gastroenterolohiya*, 4, 106-120. [in Russian].
- [8] Todoriko L. D., Petrenko V. I., & Shevchenko O. S. (2016). Perspektivy podolannia tuberkulozu v Ukraini. [Prospects for overcoming tuberculosis in Ukraine]. *Tuberkulioz, lehenevi khvoroby, VIL-infektsiya*, 1, 72-78. [in Ukrainian].
- [9] Lytvynenko, N. A., Varytska, H. A., Grankina, N. V., Chobotar, O. P., & Senko, Yu. O. (2017). Faktory neeffektivnogo lecheniya u bol'nykh s mul'tirezistentnym tuberkulezom i tuberkulezom s shirokoi lekarstvennoi rezistentnost'yu [Factors of unfavorable treatment outcomes in patients with multidrug resistant tuberculosis and extensively drug resistant tuberculosis]. *The scientific heritage*, 10, 24-32. [in Russian].
- [10] Usov, K. I., Gus'kova, T. A., Jushkov, G. G., Grishina, L. P., & Gushchin, A. S. (2018). Eksperimental'noe obosnovanie terapii soprovozhdeniya s primeneniem ademetonina dlya snizheniya gepatotoksicheskikh reaktzii protivotuberkuleznykh preparatov [Experimental justification of supportive therapy with ademetonine for the reduction of hepatotoxic reactions to antituberculosis drugs]. *Toksikologicheskii vestnik*, 6, 12-21. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2018-6-12-21>
- [11] Aquilano, K., Baldelli, S., & Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*, 5, Article 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- [12] Belenichev, I. F., Gorbacheva, S. V., Demchenko, A. V., & Bukhtiyarova, N. V. (2014). The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: The therapeutic effects of nootropic drugs. *Neurochemical Journal*, 8(1), 24-27. <https://doi.org/10.1134/s181971241401005x>
- [13] Dela, A. I., Tank, N. K. D., Singh, A. P., & Piparva, K. G. (2017). Adverse drug reactions and treatment outcome analysis of DOTS-plus therapy of MDR-TB patients at district tuberculosis centre: A four year retrospective study. *Lung India*, 34(6), 522-526. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.217569>
- [14] Fan, G.-R., Yin, Z.-D., Sun, Y., Chen, S., Zhang, W.-J., Huang, X., Kong, W.-J., & Zhang, H.-L. (2013). Reversible neurotoxicity of kanamycin on dorsal cochlear nucleus. *Brain Research*, 1502, 30-46. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.12.049>
- [15] Gregoire, S., Millemcamps, M., Naso, L., Do Carmo, S., Cuello, A. C., Szyf, M., & Stone, L. S. (2017). Therapeutic benefits of the methyl donor S-adenosylmethionine on nerve injury-induced mechanical hypersensitivity and cognitive impairment in mice. *Pain*, 158(5), 802-810. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000811>
- [16] Kass, J. S., & Shandera, W. X. (2010). Nervous System Effects of Antituberculosis Therapy. *Cns Drugs*, 24(8), 655-667. <https://doi.org/10.2165/11534340-000000000-00000>
- [17] Mazzei, D., Accardo, J., Ferrari, A., & Primavera, A. (2012). Levofloxacin neurotoxicity and non-convulsive status epilepticus (NCSE): A case report. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 114(10), 1371-1373. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.03.029>
- [18] Sawant, N. S., Kate, N. S., Bhatankar, S. S., & Kulkarni, P. S. (2015). Neuroleptic malignant syndrome in cycloserine-induced psychosis. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(3), 328-329. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157134>
- [19] Shea, T. B. (2007). Effects of dietary supplementation with N-acetyl cysteine, acetyl-L-carnitine and S-adenosyl methionine on cognitive performance and aggression in normal mice and mice expressing human ApoE4. *Neuromolecular Medicine*, 9(3), 264-269. <https://doi.org/10.1007/s12017-007-8005-y>
- [20] Zhang, F., Lau, S. S., & Monks, T. J. (2011). The Cytoprotective Effect of N-acetyl-L-cysteine against ROS-Induced Cytotoxicity Is Independent of Its Ability to Enhance Glutathione Synthesis. *Toxicological Sciences*, 120(1), 87-97. <https://doi.org/10.1093/toxsci/ikf364>

References

- [1] Belenichev, I. F., & Kucher, T. V. (2016). Deprivatsiya glutationovoi sistemy v tsitozole i mitokhondriyakh golovnogo mozga kryz s khronicheskoi alkogol'noi intoksikatsiei: zashchitnye efekty tiol'nykh antioksidantov [The deprivation of glutathione system in the cytosol and mitochondria of rat brain with chronic alcohol intoxications: protective effects of thiol antioxidants]. *Visnyk problem biolohii i medytyny*, 4(1), 111-116. [in Russian].
- [2] Belenichev, I. F., & Gorbacheva, S. V. (2015). Antioksidantnaya modulatsiya neuroapoptoza v usloviyakh disbalansa tiol-disulfidnoi sistemy i nakopleniya oksilennykh promezhutochnykh soedinenii in vitro [Antioxidant Neuroapoptosis Modulation Unbalance in a Thiol-Disulfide System and the Accumulation of Oxidized Intermediates in vitro]. *Visnyk problem biolohii i medytyny*, 3(1), 24-28. [in Russian].