

defect in the immune response and is marked by myelin defeat. Lecithin is a major component in the formation of myelin and is an important component of cellular membranes. It feeds fat shells, which cover nerve fibers. There is evidence that the use of lecithin leads to remission of multiple sclerosis.

Study of changes in levels of cytokines at different stages of development of MS in the use of patients with lecithin is an interesting and relevant research. The aim of the study was to investigate the changes in levels of cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-33, IL-2, TNF- $\alpha$ ) in serum of patients with various forms of multiple sclerosis before and after administration of lecithin. 135 patients with a verified diagnosis of MS were examined based on MacDonald criteria from 19 to 65 years old (59 women, 76 men). Primary progressive type of flow is established in 45 patients, secondary progressive – 45, remitting-recurrent type of course – in 45 patients. The control group consisted of 80 virtually healthy male volunteers aged 25-45 years.

The determination of interleukins (IL-1 $\beta$ , IL-2, TNF- $\alpha$ ) was carried out using a set of reagents from Vector-Best Company, Ukraine. The level of IL-33 was determined using a set of Human IL-33 ELISA Kit reagents (Bender Medsystems, Austria). Part of patients (60 people with different clinical forms of MS) besides standard therapy, it is suggested to take capsules of lecithin for three months. They took biologically active additive Lecithin (1 capsule – 560 mg lecithin) from Natures Sunshine (USA) 1 capsule twice daily with food. In patients with a primary progressive form of MS, the level of IL-1 $\beta$  remained higher than normal (2.7 times), but decreased 1.4 times compared to a similar group of patients who did not use lecithin. Patients with secondary progressive MS after treatment with lecithin also showed a decrease in the level of IL-1 $\beta$  (1.5 times compared with the group that did not use lecithin). In the group of recurrent-progressive MS after administration of lecithin, the level of IL-1 $\beta$  virtually reached the norm of norm.

The content of IL-2 in patients with an initially progressive form of MS after a course of lecithin decreased 1.5 times compared with a similar group of patients without lecithin, but remained higher than normal 3.5 times. In patients with a secondary progressive form of MS after administration of lecithin, the level of IL-2 remained twice as high as control, but decreased 1.4 times than in the non-use group of lecithin.

The dynamics of changes in the concentration of IL-33 in the examined groups of patients after the course of lecithin was as follows: in the group of patients with the primary progressive form of MS remained 4 times lower, but increased in comparison with the group of patients who did not use lecithin 1.3 times; in the group of patients with a secondary progressive form of MS was three times lower than normal, but increased in comparison with the similar group without lecithin 1.2 times; in patients with recurrent-progressive MS was lower in the 2.4 times, but increased in relation to the group of patients who did not use lecithin 1.14 times.

The level of TNF- $\alpha$  in subjects with both primary and secondary progressive MS after administration of lecithin was lower (1.15 times and 1.4 times in accordance less). In the group, the remitting-recurring flow of PCs, the TNF- $\alpha$  content was virtually normal. Investigation of the content of cytokines in patients with MS, depending on the activity of the process, makes it possible to predict the course of the disease.

As can be seen from the above data, the use of lecithin in patients of all the examined groups contributed to a more pronounced decrease in the levels of proinflammatory cytokines and an increase in the synthesis of IL-33, which is definitely a positive trend.

**Key words:** multiple sclerosis, cytokines, lecithin.

*Рецензент – проф. Литвиненко Н. В.  
Стаття надійшла 10.09.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-4-1-146-60-65

УДК 615.015:616.9:616.633.972:599.823.4

*Волощук Н. І., Мельник А. В., Данченко О. П.*

### **ОЦІНКА ВПЛИВУ ТРИМЕТАЗИДИНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ НА СТАН СИСТЕМИ ЦИСТАТІОНІН- $\gamma$ -ЛІАЗИ / $H_2S$ В ПЕЧІНЦІ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ СИМВАСТАТИНУ**

**Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (м. Вінниця)**

**anderneting@gmail.com**

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконано у рамках НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова за темою: "Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфїду та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології", № державної реєстрації 0113U006461.

**Вступ.** Серцево-судинні захворювання (ССЗ) наразі залишаються основною причиною смертності та інвалідності у світі, і подальші прогнози залишаються невтішними [1]. Одним із напрямків профілактики коронарних захворювань і їх наслідків є корекція дисліпідемічних станів як провідної причини розвитку ССЗ. Основним класом ліпідознижуючих препаратів,

що використовуються в лікуванні ішемічної хвороби серця (ІХС), є інгібітори 3-гідрокси-3-метилглутарил-коферментА-редуктази (статири) [2,3,4]. Статини приймають більше 20 млн. людей у всьому світі, вони належать до груп препаратів, що найчастіше реалізуються. На світовому фармацевтичному ринку представлені статини чотирьох поколінь. Одним з найбільш відомих та широко вживаних препаратів цієї групи є симвастатин, який поряд із аторвастатином і правастатином, відносять до трійки лідерів [5]. Цей препарат володіє достатньою ефективністю та привабливими фармакоекономічними характеристиками, є відносно нетоксичним препаратом, входить до Національного переліку основних лікарських

засобів в Україні [1,6]. Існуючі на сьогоднішній день дані мета-аналізу тривалого лікування статинами показав, що загальна кількість зустрічаємості побічних ефектів препаратів цієї групи співставляється з ефектом плацебо і становить біля 1-3%, однак монотерапія статинами зустрічається нечасто, і зазвичай ризик розвитку побічних ефектів значно зростає за наявності супутньої патології – цукрового діабету, хронічної ниркової недостатності, при хірургічних втручаннях у хворих похилого віку, недостатньому харчуванні, печінковій недостатності, вживанні алкоголю, соку грейпфрута тощо [7]. Крім того, ризик розвитку токсичності препаратів цієї групи збільшується внаслідок фармацевтичної інтерференції з деякими препаратами наприклад, фібратами (ризик рабдоміолізу і гепатотоксичності), нікотиновою кислотою та її похідними (гепатотоксичність), антибіотики-макролідами (еритроміцин, кларитроміцин), циклоспорином, противогрибковими засобами, верапамілом, аміодароном, інгібіторами протеаз ВІЛ. Одним з шляхів підвищення безпечності терапії статинами є призначення препаратів-коректорів, які володіли б політропною органопротективною дією. До таких препаратів належать триметазидин і тіотриазолін, які мають цитопротективну, антиоксидантну та протишемічну дію [8,9]. В попередніх дослідженнях нами було виявлено, що застосування тіотриазоліну та в меншій мірі триметазидину супроводжується зменшенням гепато- та мітоксичних ефектів симвастатину на тлі гіперхолестеринемії, що доводять як біохімічні, так і морфологічні зміни органів-мішеней [10,11,12,13]. Однак залишається відкритим питання щодо молекулярних механізмів впливу цих препаратів-коректорів на основні фармакологічні ефекти та токсичність симвастатину. Наші попередні дослідження дозволили отримати часткову відповідь на це питання. Зокрема, було показано, що гіперхолестеринемічна дієта супроводжується посиленням синтезу жовчних кислот в печінці та їх елімінацією з калом, формуванням дефіциту убихінону та зменшенням активності цитохрому P4503A в печінці, зниженням продукції гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S) в печінці та скелетних м'язів, що асоціюється з пошкодженням гепатоцитів та скелетних м'язів. Застосування симвастатину пригнічує перетворення холестерину в жовчні кислоти та їх виведення з калом, потенціює депримуєчий вплив гіперхолестеринемічної на рівень убихінону та активність цитохрому P4503A в печінці і супроводжується поглибленням уражень гепатоцитів та скелетних м'язів. Використання препаратів-коректорів за умов корекції гіперхолестеринемії симвастатину виявляє різний вплив на метаболізм холестерину та симвастатину. Встановлено, що застосування триметазидину не впливає на процеси синтезу убихінону, перетворення холестерину в жовчні кислоти та елімінацію останніх з калом, проте посилює активність цитохрому P4503A. В той же час, введення тіотриазоліну стимулює біотрансформацію холестерину в жовчні кислоти, їх виведення з калом, не змінює синтез убихінону, а також посилює метаболізм симвастатину через систему цитохрома P4503A, причому в більшій мірі, ніж триметазидин, що асоціюється з його вираженою гепатопротекторною та міотропною діями.

Проведені дослідження засвідчили, що гіперхолестеринемічна дієта супроводжується зниженням продукції та вмісту ще однієї важливої метаболічної мішені – H<sub>2</sub>S в печінці й скелетних м'язях [14]. Відомо, що H<sub>2</sub>S є важливим цитопротектором, потужним антиоксидантом та регулятором судинного тону-су [15,16,17]. Застосування симвастатину збільшує масштабність порушень в системі цистатіонін-γ-ліази / H<sub>2</sub>S, індукованих гіперхолестеринемією. Тому, формування його дефіциту на тлі прийому симвастатину, ймовірно, є ще одним молекулярним механізмом реалізації гепато- та мітоксичної дії цього статину.

**Метою** нашої роботи стало визначення впливу тіотриазоліну та триметазидину на індуковані симвастатином зміни стану системи цистатіонін-γ-ліази / H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язях щурів з гіперхолестеринемією.

**Об'єкт і методи дослідження.** Досліди виконано на 121 щурах-самцях лінії Вістар, отриманих з віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», масою 180–220 г. Під час проведення дослідів тварини утримувались у віварії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова. Після 2-х тижневого карантину тварин рандомізували методом кольорових міток, ділили на групи по 6 особин відповідно до маси тіла (±10%). Щури перебували в стандартних умовах з 12-годинним освітленням і доступом до води *ad libitum*. Усі втручання здійснювали з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах згідно Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, 2001) та «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі.

Відповідно до мети дослідження, 1 група (інтактні щури) утримувались на сухому кормі, до якого додавали соняшникову олію в кількості 5% від маси корму. Тварини всіх інших груп знаходились протягом 4 тижнів на гіперхолестеринемічній дієті [18], яка складалась із сухого корму, що містив 3% холестерину, 0,12% метилтіоурацилу. Холестерин та метилтіоурацил попередньо розчиняли в соняшниковій олії, додавали до сухого корму і ретельно перемішували (вміст олії складав 5% від маси сухого корму). Тварини 2-ї групи отримували з кормом лише гіперхолестеринемічну дієту (нелікований контроль). Тварини 3-ї групи на фоні гіперхолестеринемічної дієти перорально отримували симвастатин в дозі 60 мг/кг, який вводили протягом 28 днів перорально у вигляді водної суспензії на 1% розчині крохмалю за допомогою зонда.

Після евтаназії тварин шляхом дислокації шийних хребців, для біохімічних досліджень отримували сироватку крові, гомогенати та постядерні супернатанти печінки та скелетних м'язів. Сироватку отримували центрифугуванням крові при 1500 об/хв. протягом 20 хв. Аліквоти сироватки відбирали в мікропробірки Ерпендорф і до проведення аналізу зберігали при -20°C. Для визначення активності цистатіонін-γ-ліази печінку та скелетні м'язи перфузували холодним 1,15% розчином калію хлориду, подрібнювали ножицями, гомогенізували в середовищі 1,15% калію хлориду у співвідношенні 1:3 (маса/ об'єм) при 3000

об/хв (тефлон-скло), проціджували через 2 шари марлі для видалення грубих частин. Пост'ядерну фракцію отримували центрифугуванням гомогенатів упродовж 30 хв. при 1500 г та +4°C. Супернатант відбирали в мікропробірки Eppendorf і до проведення аналізу зберігали при -20°C.

Для визначення вмісту H<sub>2</sub>S печінку та скелетні м'язи промивали холодним 1,15% розчином KCl, подрібнювали ножицями, гомогенізували в середовищі 0,01 M NaOH у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло). До 1 мл гомогенату додавали 250 мкл 50% три хлороцтової кислоти (ТХО), центрифугували при 1200 г 15 хв. і отримували супернатант, який зразу ж використовували для досліджень. Вміст H<sub>2</sub>S визначали спектрофотометричним методом за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності FeCl<sub>3</sub> [19]. До 1 мл гомогенату додавали 250 мкл 50% ТХО, центрифугували при 1200 г 15 хв., в супернатанті визначали вміст H<sub>2</sub>S спектрофотометричним методом за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності FeCl<sub>3</sub>. Всі маніпуляції проводили у стерильних герметизованих пластикових пробірках (для попередження втрат H<sub>2</sub>S). Вміст сульфід-аніону в пробі розраховували за калібрувальним графіком. Стандартом слугували водні розчини Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O з концентрацією 31,2-3120 мкМ. Активність цистатіонін-γ-ліази («ЦГЛ», КФ 4.4.1.1) визначали в пост'ядерному супернатанті за природом сульфід-аніону, який визначали за реакцією утворення метиленового синього як описано [20]. Інкубаційне середовище містило піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, трис-буфер 0,083 M (pH 8,5) в кінцевих концентраціях. В пробірки вносили 0,5 мл інкубаційного середовища та додавали по 0,1 мл проб, що містили 1-2 мг протеїну пост'ядерного супернатанту. Для попередження втрат H<sub>2</sub>S пробірки закривали плівкою «Parafilm» та інкубували при 37°C. Контрольні проби інкубували без гомогенату, який додавали лише після зупинки реакції. Зупиняли реакцію охолодженням пробірок на льоду, після чого додавали 1% розчин ацетату цинку для зв'язування сульфід-аніону, 20 мМ розчин N,N-диметил-пара-фенілендіаміну в 7,2M HCl, 30 мМ розчин FeCl<sub>3</sub> на 1,2M HCl. Пробірки витримували 20 хв. при 18-25°C, потім додавали 20% трихлороцтову кислоту, центрифугували 10 хв. при 1500 г. Вимірювали оптичну щільність надосадової рідини на фото-

електрокалориметрі при довжині хвилі 670 нм проти контрольної проби, яку обробляли як дослідні проби за винятком того, що супернатант вносили в середовище після інкубації та охолодження.

В сироватці крові щурів визначали активність аланінамінотрансферази («АЛТ», КФ 2.6.1.2), креатинфосфокінази («КФК», КФ 2.7.3.2) та лактатдегідрогенази («ЛДГ», КФ 1.1.1.27) використовуючи стандартні набори ТОВ Філісіт-Діагностика, СпайнЛаб (Україна).

Обробку первинного матеріалу проводили за допомогою універсальних статистичних програм MS Excel, SPSS22 for Windows, «STATISTICA 6,0» (ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № АХХR910A374605FA). Визначали середнє значення (M), стандартні помилки (m). Нормальність розподілу показників визначали за критерієм Шапіро-Уїлка. Достовірність різниці між показниками оцінювали за параметричним t-критерієм Стюдента за умов нормального розподілу та непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні за його відсутності. Зв'язок між показниками визначали за допомогою кореляційного аналізу за Пірсоном (при нормальному розподілі, r<sub>xy</sub>) та Спірманом (при невідповідності нормальному розподілу, r<sub>sp</sub>). Статистично значущими вважали відмінності при p<0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Застосування препаратів-коректорів на тлі високохолестеринової дієти, лікованої симвастатином, мало різний вплив на продукцію H<sub>2</sub>S в органах щурів. З'ясувалось, що триметазидин не викликав вірогідних змін активності ЦГЛ, порівняно з показниками в групі тварин, що отримували лише симвастатин. Натомість, використання тіотриазоліну попереджувало падіння продукції H<sub>2</sub>S, індуковане симвастатином та гіперхолестеринемією. За цих умов активність ЦГЛ в печінці та скелетних м'язах була більшою відповідно на 24,0 та 21,1 % (p<0,05), відносно показників у тварин, лікованих виключно симвастатином.

Оцінюючи динаміку вмісту H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах (див. табл. 1), виявилось, що високохолестерінова дієта створює дефіцит H<sub>2</sub>S в органах щурів. Рівень H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах в групі тварин з гіперхолестеринемією був меншим відповідно на 25,3 та 23,0 % (p<0,05), відносно показників у контрольній групі. Призначення симвастатину збільшує масштабність змін вмісту H<sub>2</sub>S в органах щурів. Застосування статину супроводжується зменшенням рівня H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах відповідно на 23,9 та 20,3 % (p<0,05), порівняно з показниками нелікованих тварин. Виникає питання щодо причин зниження рівня H<sub>2</sub>S в органах щурів за цих умов. Одним із можливих чинників цього є розвиток оксидативного стресу на тлі гіперхолестеринемії [19], адже активні форми кисню забезпечують окиснювальну деградацію H<sub>2</sub>S та його елімінацію з організму [6,11,20].

Введення коректорів на тлі гіперхолестеринемії, лікованої симвастатином, суттєво відрізнялось за впливом на рівень H<sub>2</sub>S в органах щурів. Встановлено, що застосування три-

### Вплив симвастатину та його комбінації з триметазидином і тіотриазоліном на активність цистатіонін-γ-ліази та вміст H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах щурів за умов гіперхолестеринемії (M±m)

Групи тварин	ЦГЛ, нмоль H <sub>2</sub> S / хв·мг протеїну		H <sub>2</sub> S, нмоль / мг протеїну	
	Печінка	Скелетні м'язи	Печінка	Скелетні м'язи
Контроль, n= 17	3,10±0,14	0,225±0,009	3,92±0,22	1,35±0,06
Гіперхолестеринемія				
Неліковані, n= 17	2,54±0,10#	0,183±0,011#	2,93±0,16#	1,04±0,04#
Симвастатин, n= 17	2,07±0,16#	0,152±0,010#	2,23±0,17#	0,829±0,042#
Симвастатин + триметазидин, n=9	2,20±0,11#	0,159±0,007#	2,37±0,12#	0,869±0,051#
Симвастатин + тіотриазолін, n= 9	2,58±0,15*#	0,184±0,008*	3,01±0,19*#	1,09±0,05*#

**Примітки:** 1. \* – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи симвастатин; 2. # – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи контролю.

**Вплив пропаргілгліцину на індуковані симвастином та його комбінації з тіотриазоліном зміни активності цистатіонін-γ-ліази та вміст H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах щурів (M±m)**

Групи тварин	ЦГЛ, нмоль H <sub>2</sub> S / хв·мг протеїну		H <sub>2</sub> S, нмоль / мг протеїну	
	Печінка	Скелетні м'язи	Печінка	Скелетні м'язи
Контроль, n= 17	3,07±0,15	0,228±0,012	3,96±0,19	1,39±0,08
Симвастатин, n= 17	2,27±0,17#	0,176±0,012#	2,53±0,17#	0,902±0,044#
Симвастатин + пропаргілгліцин, n= 9	1,04±0,08*#	0,085±0,006#	0,905±0,023*#	0,405±0,023*#
Симвастатин + пропаргілгліцин + тіотриазолін, n=9	1,54±0,09#&	0,120±0,007#&	1,56±0,11*#&	0,625±0,037*#&

**Примітки:** 1. \* – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи симвастатин; 2. # – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи контролю; 3. & – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи симвастатин+пропаргілгліцин.

метазидину не супроводжувалось достовірними змінами рівня H<sub>2</sub>S в органах щурів, порівняно з показниками у тварин, що отримували лише симвастатин. В той же час, тіотриазолін до певної міри попереджував формування симвастатин-ініційованого дефіциту H<sub>2</sub>S на тлі гіперхолестеринемії. За цих умов рівень H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах був більшим відповідно на 35,0 та 31,5 % (p<0,05), відносно показників щурів, які отримували лише симвастатин. Тобто, лише тіотриазолін виявляв модулюючу здатність на систему H<sub>2</sub>S в організмі тварин з експериментальною гіперхолестеринемією. Не виключено, що негативний вплив симвастатину на ферментативну продукцію H<sub>2</sub>S асоціюється з накопиченням проміжних метаболітів синтезу холестерину. Останні забезпечують ізопренілування білків, що є одним із шляхів регуляції активності ферментів [12,13].

В подальшому ми оцінили вплив інгібітора ЦГЛ пропаргілгліцину на ініційовані симвастином та його комбінації з тіотриазоліном зміни активності ЦГЛ в органах щурів (табл. 2). Виявилось, що пропаргілгліцин значно поглиблював депримуєчу дію великих доз симвастатину на продукцію H<sub>2</sub>S в органах щурів. Так, в групі тварин, які отримували симвастатин активність ЦГЛ в печінці та скелетних м'язах була меншою відповідно на 26,1 та 22,8 % (p<0,05), порівняно з контрольною групою тварин. Натомість, за умов комбінації симвастатину з пропаргілгліцином активність ЦГЛ в органах щурів була меншою на 66,1 та 62,7 % (p<0,05), відносно контролю.

Використання тіотриазоліну до певної міри попереджувало негативний вплив симвастатину та його комбінації з пропаргілгліцином на продукцію H<sub>2</sub>S у реакції гідролізу цистеїну за участі ЦГЛ в печінці та скелетних м'язах щурів. З'ясувалось, що введення тіотриазоліну супроводжувалось збільшенням активності ЦГЛ в органах відповідно на 48,1 та 41,2 % (p<0,05), порівняно з показниками в групі тварин, які отримували комбінацію симвастатину та пропаргілгліцину. Однак, за цих умов активність ЦГЛ була все ще меншою відповідно на 32,2 та 31,8 % (p<0,05), відносно такої у щурів, яким вводили лише симвастатин.

Застосування пропаргілгліцину значно поглиблює формування дефіциту H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах щурів, індукованого введенням симвастатину (див. табл. 2). Так, в групі тварин, яким вводили симвастатин рівень H<sub>2</sub>S в печінці та скелетних м'язах

був меншим відповідно на 36,1 та 35,1 % (p<0,05), порівняно з контрольною групою тварин. Натомість, за умов поєднаного застосування симвастатину з пропаргілгліцином рівень H<sub>2</sub>S в органах щурів був меншим на 77,1 та 70,9 % (p<0,05), відносно контролю.

Призначення тіотриазоліну до деякої міри профілактує формування глибокого дефіциту H<sub>2</sub>S, ініційованого застосуванням симвастатину та його поєднання з пропаргілгліцином в печінці та скелетних м'язах щурів. Показано, що використання тіотриазоліну викликало вірогідне збільшення рівня H<sub>2</sub>S в органах відповідно на 69,1 та 54,3 % (p<0,05), порівняно з показниками у тварин, яким застосовували комбінацію симвастатину та пропаргілгліцину. Зауважимо, що за цих умов рівень H<sub>2</sub>S був все ще меншим відповідно на 38,3 та 30,7 % (p<0,05), відносно такого у щурів, які отримували тільки симвастатин.

В подальшому ми оцінили вплив пропаргілгліцину на індуковані симвастином зміни активності маркерних ферментів ураження печінки та скелетних м'язів (табл. 3).

Виявилось, що застосування пропаргілгліцину супроводжувалось різким зростанням токсичної дії

**Таблиця 3. Вплив пропаргілгліцину на індуковані симвастином та його комбінації з тіотриазоліном зміни активності в сироватці крові маркерних ферментів ураження печінки та м'язів щурів (M±m)**

Групи тварин	Сироватка крові, мкмоль / хв·л		
	КФК	ЛДГ	АЛТ
Контроль, n= 17	205±12	1217±101	34,9±2,91
Симвастатин, n= 17	666±43#	3619±191#	97,9±5,92#
Симвастатин + пропаргілгліцин, n= 9	1280±42*#	6500±250*#	156±4,59*#
Симвастатин + пропаргілгліцин + тіотриазолін, n=9	468±37*#&	2650±196*#&	75,5±4,83*#&

**Примітки:** 1. \* – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи симвастатин; 2. # – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи контролю; 3. & – статистично вірогідна відмінність (p<0,05) відносно групи симвастатин+пропаргілгліцин.

симвастатину щодо м'язової тканини та печінки. Так, якщо застосування одного симвастатину викликало зростання активності КФК, ЛДГ, АЛТ в 3,2; 3,0 та 2,8 рази (p<0,05), то на тлі застосування пропаргілгліцину підвищення активності цих ферментів становило 6,2; 5,3 та 4,5 рази (p<0,05). Введення тіотриазоліну суттєво зменшувало токсичний вплив симвастатину. За цих умов активність вказаних ферментів була в 2,7; 2,5 та 2,1 рази меншою, ніж в групі тварин, що отримували симвастатин та пропаргілгліцин. Ймові-

но така дія тіотриазоліну пов'язана з його виразною антиоксидантною активністю [8,12,13].

### Висновки

1. Гіперхолестеринемічна дієта супроводжується зниженням продукції  $H_2S$  в печінці та скелетних м'язів, що асоціюється з пошкодженням гепатоцитів та скелетних м'язів.

2. Застосування симвастатину потенціє депримуєчий вплив гіперхолестеринемії на синтез  $H_2S$  за участі ЦГЛ і супроводжується поглибленням уражень гепатоцитів та скелетних м'язів.

3. Використання препаратів-коректорів за умов гіперхолестеринемії, лікованої симвастатином, виявляє різний вплив на продукцію  $H_2S$ . Встановлено, що

застосування триметазидину не впливає на продукцію та рівень  $H_2S$  в печінці та скелетних м'язях. В той же час, введення тіотриазоліну стимулює синтез  $H_2S$  в гепатоцитах та міоцитах, що асоціюється з його виразною гепатопротекторною та міотропною діями.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять розробити нові підходи щодо оптимізації фармакотерапії симвастатином та іншими препаратами цього класу шляхом застосування препаратів з поліфункціональними фармакологічними властивостями.

### Література

1. Yakovleva LV. Farmakoekonomika v Ukraini: sostoyaniye y perspektivy razvitiya. Apteka. 2011;45(816). [in Russian].
2. Bezditko NV, Mischenko OY, Chinush IV, Adonkina VY, Bondarchuk IS. Farmakoepidemiologichne doslidzheniya dynamiky spozhyvanya gypolipidemichnykh preparativ v Ukraini. V: Chernyh VP, redaktor. Materialy VI nauk.-prakt. konf. Farmakoekonomika v Ukraini: stan ta perspektivy rozvytku; 2013 Lyst 22; Harkiv. Harkiv: NFAU. 2013; 278 s. 22-8. [in Ukrainian].
3. Dreeva ZV, Ageev FT. Ystoriya rozgdeniya statinov: novyye perspektivy. Medytsynskyy sovet. 2017;11:202-7. [in Russian].
4. Malay LN. Statyny v lechenyyi i profilaktike serdechno-sosudistykh zabolevaniy: povtoreniye proydenogo i optimism na buduzchee. Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii. 2014;10(5):514-21. [in Russian].
5. Kornatskiy VM, Dorogoy AP, Adaricheva ZgG. Klinichnyy farmakoekonomichnyy analiz u kardiologichniy praktytysi. Ukrayinskiy kardiologichnyy zurnal. 2016;3:65-72. [in Ukrainian].
6. Kitzmiller JP, Mikulik EB, Dauki AM, Murkherjee C, Luzum JA. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. Pharmgenomics Pers Med. 2016;9:97-106.
7. Ol'binskaya LI, redaktor. Farmakoterapiya hronicheskikh serdechno-sosudistykh zabolevaniy. Rukovodstvo dlya vrachey. Moskva: Medytsina; 2006. 381 s. [in Russian].
8. Belenichev IF, Mazur IA, Voloshin MA, Gorchakova NO, Chekman IS. Mehanizm protyishemichnoy ta antyoksydantnoy diyi tiotryazolinu. Novosti medytsyny i farmatsiyi. 2007;2(206). [in Ukrainian].
9. Stanley WC, Marzilli M. Metabolic therapy in the treatment of ischaemic heart disease: the pharmacology of trimetazidine. Fundam Clin Pharmacol. 2003 Apr;17(2):133-45.
10. Danchenko OP. Vplyv simvastatinu ta yogo poyednannya z trimetazidinom, tiotryazolinom, taurinom ta ubihinonom na vmist lipidiv, ATF ta protsesy peroksydatsiyi v sertsii schuriv z giperholesternemiyeyu. Visnik VNMU. 2008;12(2):325-9. [in Ukrainian].
11. Danchenko OP, Pentyk OO. Vplyv trimetazidinu, tiotryazolinu, taurinu ta ubihinonu na hipoholesternemichnu diyu simvastatinu u schuriv z eksperymental'noyyu giperholesternemiyeyu. Farmakologiya ta likars'ka toksukologiya. 2008;5-6(6-7):63-7. [in Ukrainian].
12. Danchenko OP, Pentyk OO. Otsinka protekturnoy diyi trimetazidu, tiotryazolinu, taurinu ta ubihinonu na indukovanu simvastatinom mio- ta hepatotoksychnist' u schuriv z hiperholesternemiyeyu. Suchasni problemy toksukologiyi. 2008;3:61-7. [in Ukrainian].
13. Danchenko OP, Pushkar MS, Pentyk OO. Struktura pechinky, sertsya ta skeletnyh myaziv schuriv za umov korektsiyi giperholesternemiyi simvastatinom ta yogo poyednannya z trimetazidinom або tiotryazolinom. Visnyk morfologiyi VNMU. 2008;14(2):280-4. [in Ukrainian].
14. Voloshchuk N, Melnik A, Danchenko O, Nechiporuk V, Kosechenko N. The state of cystathionine gamma-lyase /  $H_2S$  system in the liver and skeletal muscles of rats with hypercholesterolemia under simvastatin administration. Georgian medical news. 2018;6(279):150-5.
15. Beltowski J, Jamroz-Wisniewska A. Modulation of h(2)s metabolism by statins: a new aspect of cardiovascular pharmacology. Antioxid Redox Signal. 2012;17(1):81-94.
16. Gemici B, Elsheikh W, Feitosa KB, Costa SK, Muscara MN, Wallace JL.  $H_2S$ -releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential. Nitric Oxide. 2015;46:25-31.
17. Rose P, Moore PK, Zhu YZ.  $H_2S$  biosynthesis and catabolism: new insights from molecular studies. Cell Mol Life Sci. 2017;74(8):1391-412.
18. Stefanov OV, redaktor. Doklinichni doslidzheniya likars'kyh zasobiv. Kyiv: Avitsenna; 2001. 527 s. [in Ukrainian].
19. Wiliński B, Wiliński J, Somogyi E, Piotrowska J, Góralska M. Atorvastatin affects the tissue concentration of hydrogen sulfide in mouse kidneys and other organs. Pharmacol Rep. 2011;63(1):184-8.
20. Dombkowski R, Russell M, Olson K. Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2004;286:678-85.

### ОЦІНКА ВПЛИВУ ТРИМЕТАЗИДИНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ НА СТАН СИСТЕМИ ЦИСТАТІОНІН- $\gamma$ -ЛІАЗИ / $H_2S$ В ПЕЧІНЦІ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ СИМВАСТАТИНУ

Волощук Н. І., Мельник А. В., Данченко О. П.

**Резюме.** В дослідгах на 121 щурах-самцях лінії Вістар оцінювали вплив тіотриазоліну та триметазидину на індуковані симвастатином зміни стану системи ЦГЛ /  $H_2S$  в печінці та скелетних м'язях щурів з гіперхолестеринемією, а також вплив пропаргілгліціна на гепато- і міотоксичність симвастатину в поєднанні з тіотриазоліном. Виявлено, що симвастатин потенціє депримуєчий вплив гіперхолестеринемії на синтез  $H_2S$  за участі ЦГЛ і супроводжується поглибленням уражень гепатоцитів та скелетних м'язів. Триметазидин не впливає на продукцію та рівень  $H_2S$  в печінці та скелетних м'язях, в той же час тіотриазолін стимулює синтез  $H_2S$  в гепатоцитах та міоцитах, що асоціюється з його гепатопротекторною та міотропною діями. Ймовірно, така дія тіотриазоліну пов'язана з його виразною антиоксидантною активністю.

**Ключові слова:** гіперхолестеринемія, симвастатин, триметазидин, тіотриазолін, сірководень, гепатотоксичність, міотоксичність.

### ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТРИМЕТАЗИДИНА И ТИОТРИАЗОЛИНА НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЦИСТАТИОНИН- $\gamma$ -ЛИАЗЫ / $H_2S$ В ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС С ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ СИМВАСТАТИНА

Волощук Н. И., Мельник А. В., Данченко О. П.

**Резюме.** В опытах на 121 крысах-самцах линии Вистар оценивали влияние тиотриазолина и триметазида на индуцированные симвастатином изменения состояния системы цистатион- $\gamma$ -лиаза (ЦГЛ) / сероводород ( $H_2S$ ) в печени и скелетных мышцах крыс с гиперхолестеринемией, а также влияние пропаргилглицина на гепато- и миотоксичность симвастатида в сочетании с тиотриазолином. Выявлено, что симвастатин потенцирует депримирующее влияние гиперхолестеринемии на синтез  $H_2S$  с участием ЦГЛ и сопровождается углублением поражений гепатоцитов и скелетных мышц. Триметазидин не влияет на продукцию и уровень  $H_2S$  в печени и скелетных мышцах, в то же время тиотриазолин стимулирует синтез  $H_2S$  в гепатоцитах и миоцитах, что ассоциируется с его гепатопротекторным и миотропным действиями. Вероятно, такое действие тиотриазолина связано с его отчетливой антиоксидантной активностью.

**Ключевые слова:** гиперхолестеринемия, симвастатин, триметазидин, тиотриазолин, сероводород, гепатотоксичность, миотоксичность.

### ASSESSMENT OF TRIMETHAZIDINE AND THIOTRIAZOLINE INFLUENCE ON THE STATE OF THE CYSTATHIONINE- $\gamma$ -LYASE / $H_2S$ SYSTEM IN THE LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA UNDER SIMVASTATIN USING

Voloshchuk N. I., Melnik A. V., Danchenko O. P.

**Abstract.** Currently cardiovascular diseases remain the major cause of mortality and disability in the world. Among the drugs for treatment, primary and secondary prevention of cardiovascular events inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (statins) represent one of the most powerful agents because in addition to beneficial lipid-lowering action, statins seem to have wide spectrum of non-lipid-mediated pleiotropic effects. Myotoxicity and hepatotoxicity are the most common side effects associated with the use of statins. Consequently, it remains relevant to conduct significant studies to determine statin toxicity mechanisms for searching ways to reduce the adverse reactions of their using.

*The aim of our studies* was to evaluate the effect of thiotriazoline or trimetazidine on simvastatin-induced changes in the state of the cystathionine- $\gamma$ -lyase (CSE) / hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) system in the liver and skeletal muscles hypercholesterolemic rats.

*Object and methods.* 121 Wistar male rats were fed with control (normal) or a high cholesterol diet (rat chow supplemented with 3% cholesterol) for 4 weeks). Hypercholesterolemic rats were divided into groups and were treated with either simvastatin (60 mg/kg body weight/day), simvastatin plus thiotriazoline (50 mg/kg body weight/day) or simvastatin plus trimetazidine (10 mg/kg body weight/day). Two series of studies were carried out. The activity of cytolytic markers enzymes in the serum, the content of  $H_2S$  and CSE in the homogenates and post-nuclear supernatants of the liver and skeletal muscles as well as the effect of propargylglycine (PAG) which is an inhibitor of CSE on hepato- and myotoxicity of simvastatin were determined.

*Results.* It has been found that hypercholesterolemic diet is accompanied by a decreasing in  $H_2S$  production in the liver and skeletal muscles, which is associated with hepatocytes and skeletal muscle damage. Simvastatin using to intensifies the inhibitory effect of hypercholesterolemia on the  $H_2S$  production via CSE-mediated synthesis and exacerbate the scale of abnormalities accompanied by hepatocytes and skeletal muscles damages. The use of PAG significantly inhibits the  $H_2S$  deficiency induced by simvastatin, and also is accompanied by increasing in the activity of cytolytic markers in the serum, which significantly and inversely correlated with the activity of CSE and  $H_2S$  in the organs.

Trimetazidine using has had no affect on neither production nor content of  $H_2S$  in the liver and skeletal muscles. While thiotriazoline using prevents the inhibition of  $H_2S$  synthesis induced by simvastatin and hypercholesterolemia.

*Conclusion.* Thus, it has been shown thiotriazoline using prevents simvastatin-induced changes in the state of the CSE /  $H_2S$  system in the liver and skeletal muscles of hypercholesterolemic rats, this effect is associated with its hepatoprotective and myotropic action. Probably, thiotriazoline action is connected with its distinct antioxidant activity.

**Key words:** hypercholesterolemia, simvastatin, trimetazidine, thiotriazoline, hydrogen sulphide, hepatotoxicity, myotoxicity.

Рецензент – проф. Костенко В. О.  
Стаття надійшла 25.09.2018 року