

Нарушения метионинового цикла в печени после длительного введения тиацетамида

Новгородская Я.И.

Научно-исследовательская лаборатория
Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь



Обмен метионина включает в себя образование и превращения гомоцистеина. Появилось много данных о гипергомоцистеинемии при ВИЧ-инфекции, интоксикациях, заболеваниях сердца и сосудов, поражениях печени и др. Гипергомоцистеинемия может быть обусловлена:

• дефицитом фолатов, витаминов В₁₂, В₆, В₂, снижением активности цистатионин-β-синтазы, заменой нуклеотида в генах 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы, редуктазы метионинсинтазы, метионинсинтазы. Серосодержащие аминокислоты (ССА): цистеин, гомоцистеин, цистеиновая, цистеинсульфиновая, гомоцистеиновая и гомоцистеинсульфиновая кислоты, таурин – предшественники ряда нейротропных и антиоксидантных соединений, нейромодуляторов, метаболических интермедиатов и даже потенциальные токсины. Гомоцистеин (Hcy) может метаболизироваться по 3 путям: **транссульфурирование, реметилирование, синтез тиолактона гомоцистеина**. В доступной литературе имеются лишь отрывочные сведения о содержании продуктов метаболизма метионина, в частности гомоцистеина, цистеина и других аминокислот, в печени при ее поражениях. Для моделирования последних используют ряд гепатотоксических веществ, включая тиацетамид (ТАА), вызывающий некроз, сопровождающийся интенсивной генерацией активных форм кислорода.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ - охарактеризовать нарушения обмена метионина и его метаболитов в печени после длительного введения тиацетамида.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Биохимические:

- концентрации цистеиновой кислоты (CA), цистеинсульфиновой кислоты (CSA), глутатиона (GSH), серина (Ser), глицина (Gly), гипотаурина (HrTau), таурина (Tau), метионина (Met), цистатионина (Ctn), гомоцистеиновой кислоты (HCA), гомоцистеина (Hcy), цистеина (Cys), цистеинилглицина (CysGly), g-глутамилцистеина (gGluCys), глутатиона (GSH) в гомогенатах печени осуществляли методом обращенно-фазной ВЭЖХ;
- активность ферментов транссульфурирования (цистатионин-β-синтазы и цистатионин-γ-лиазы), а также цистеинаминотрансферазы и тиосульфатдифитилсульфидтрансферазы определяли спектрофотометрически;
- общий белок в гомогенатах печени определяли по методу Петерсона.

2. Морфологические (для гистологического исследования кусочки печени фиксировали в 10% забуференном растворе формалина. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Г+Э) и по Маллори)

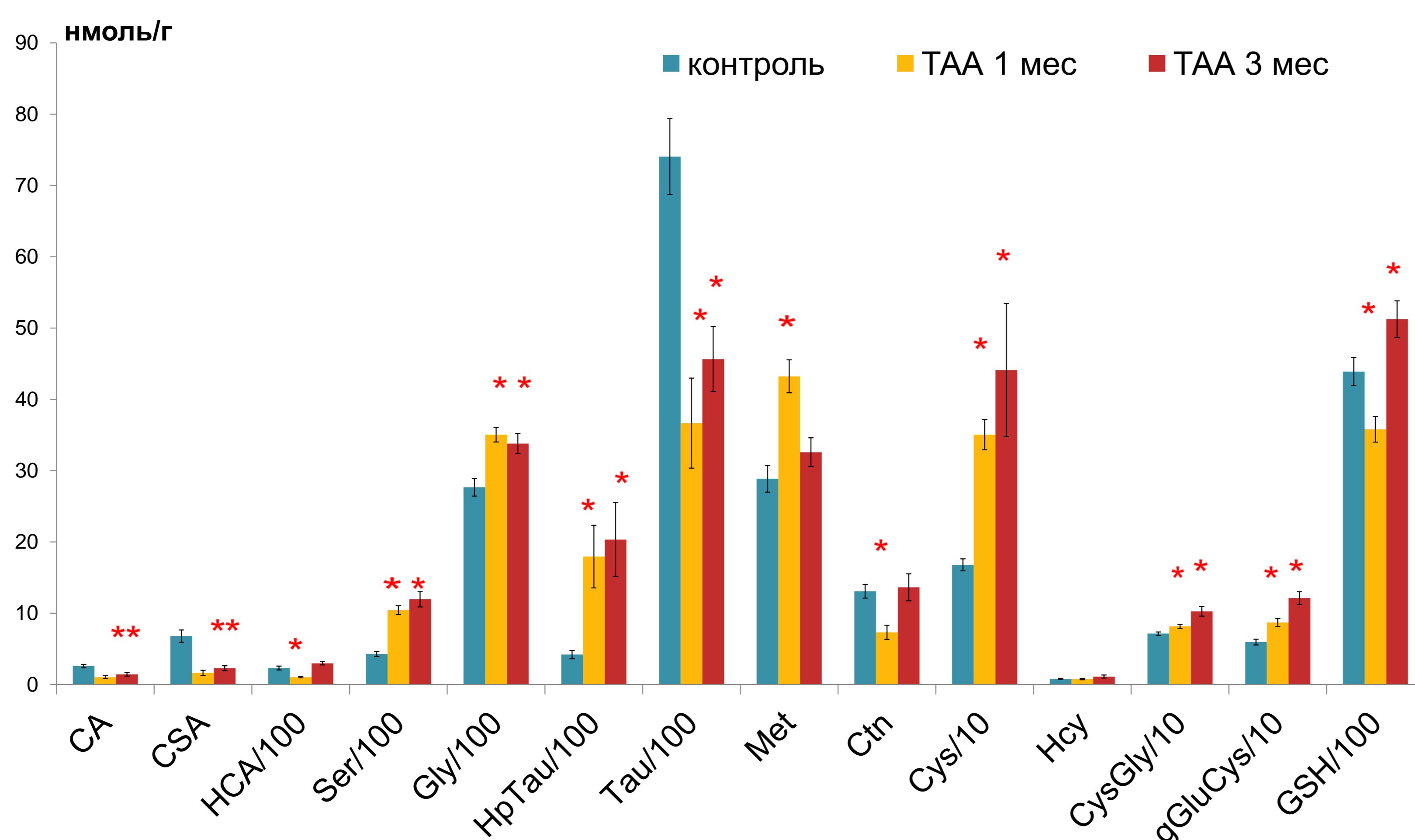
3. Математические (однофакторный дисперсионный анализ, тест Краскела-Уоллиса)

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

ЖИВОТНЫЕ	БЕЛЫЕ БЕСПОРОДНЫЕ КРЫСЫ		
	Группа	Контроль	Опыт (ТАА 1 мес)
Действующее вещество	0,9% NaCl	ТАА в дозе 200 мг/кг через день в течение 1 и 3 мес	



Уровни серосодержащих аминокислот и их дериватов в печени крыс (M±m)

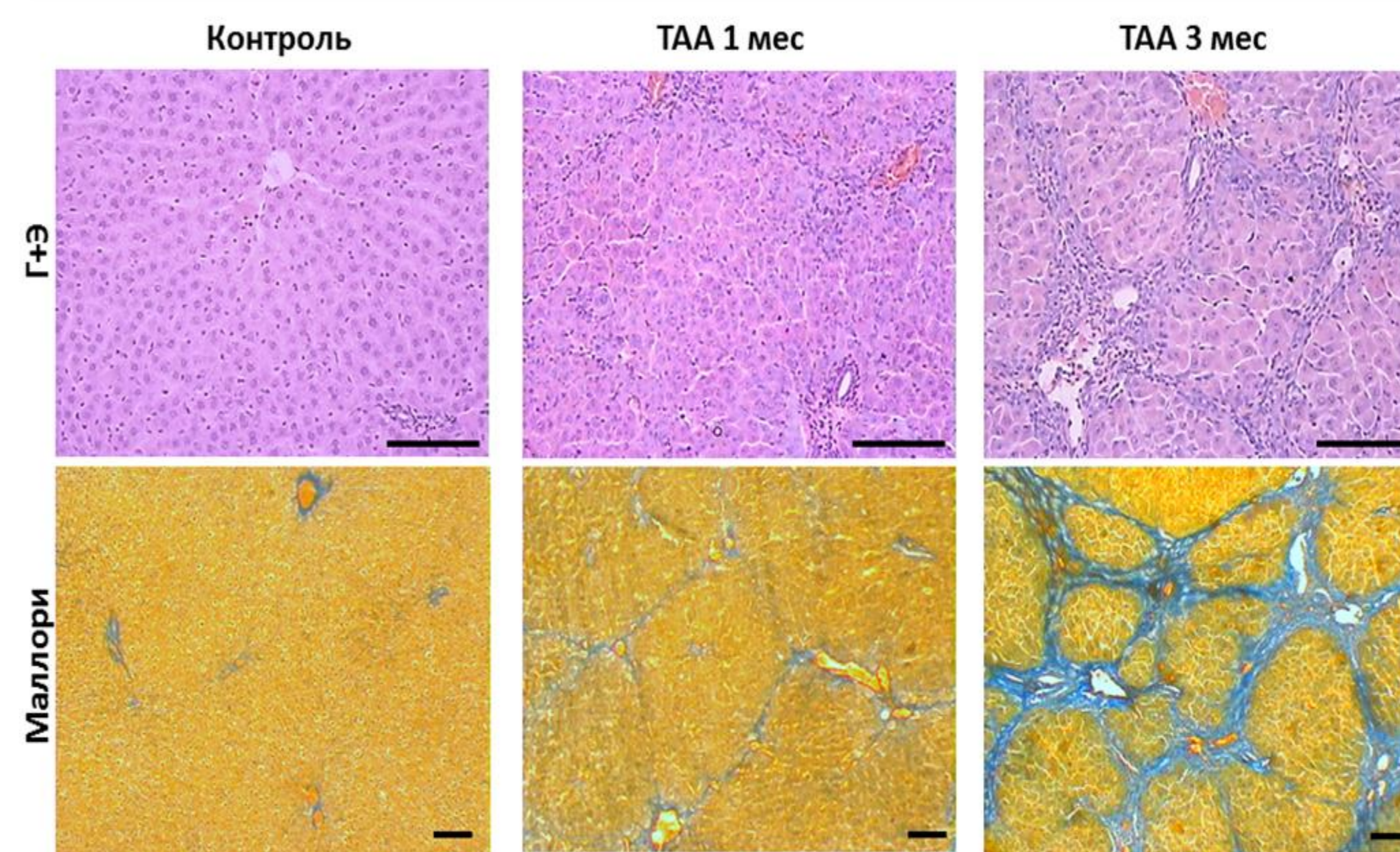


В печени крыс введение ТАА в течение 1 мес вызывало **снижение** уровней CA, CSA, HCA, Ctn, GSH, Tau и **повышение** уровней Ser, Gly, Met, Cys, CysGly, gGluCys и HrTau, а также активности цистатионин-γ-лиазы, цистатионин-β-синтазы, цистеинаминотрансферазы. Активность тиосульфатдифитилсульфидтрансферазы в этой группе соответствовала контрольным значениям. Схожие закономерности были выявлены и при введении ТАА в течение 3 мес, так **снижались** уровни CA, CSA, Tau и **повышались** уровни Ser, Gly, Cys, CysGly, gGluCys, GSH и HrTau. **Активность** всех исследуемых ферментов **значимо не изменялась**, кроме цистатионин-γ-лиазы, активность которого **повышалась** при сравнении с контролем.

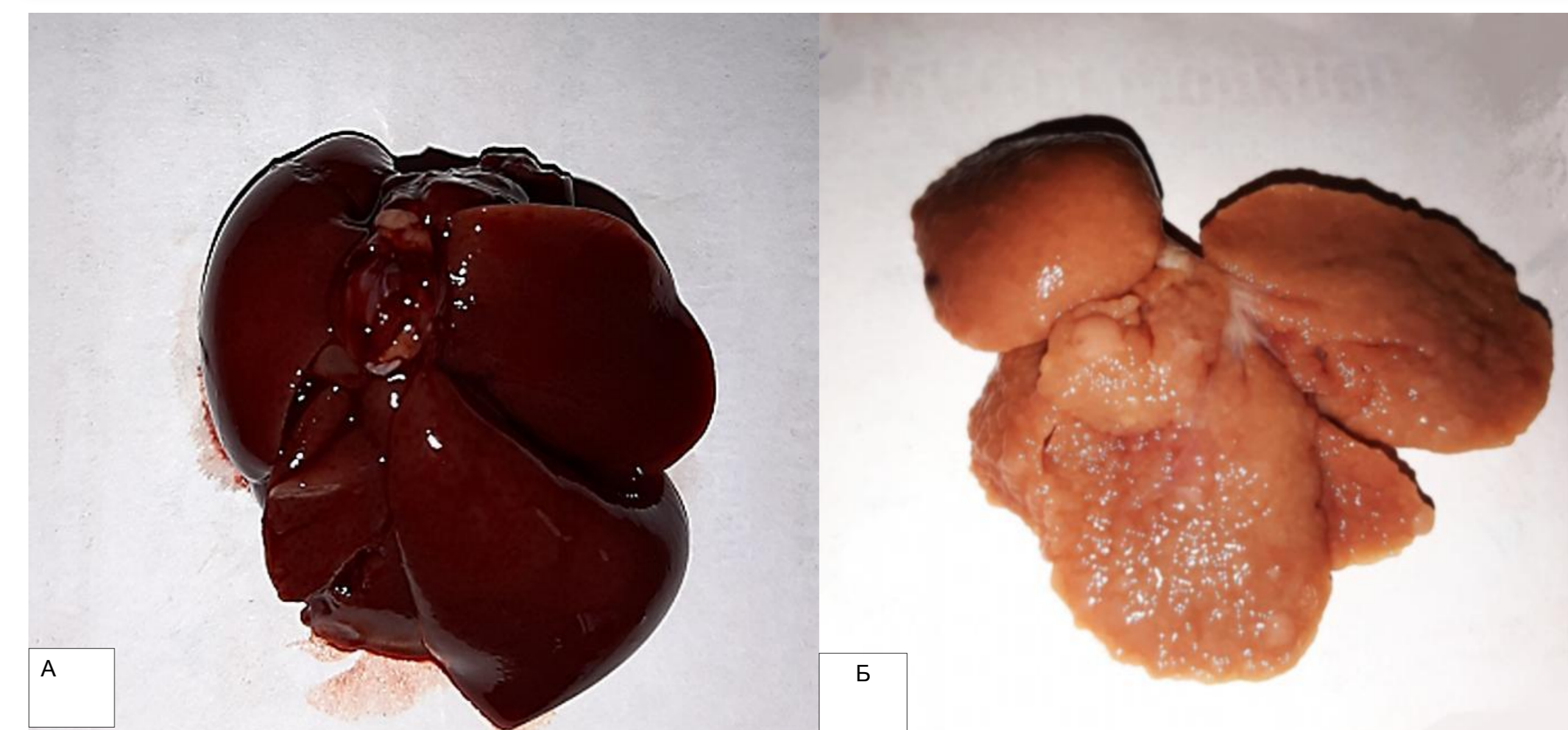
Повышение уровней Gly, Ser и Cys в обеих опытных группах, возможно, связано с перераспределением функциональной значимости реакций, катализируемых цистатионин-β-синтазой. Фермент катализирует множество реакций, в том числе реакцию конденсации Hcy и Ser с образованием Ctn, который активно расходовался на синтез Cys при введении ТАА в течение 1 мес, что дополнительно подтверждается **повышением активности ферментов транссульфурирования**.

Повышение концентрации Met в печени крыс через 3 мес указывает на нарушение трансметилирования, чем на реметилирования, т.к. уровень Hcy **значимо не изменялся**. Высокие уровни предшественников GSH в печени крыс обеих опытных группах могут быть связаны с нарушением ресинтеза GSH, синтез которого зависит от доступности Cys и активности ГГТП. Во всех экспериментальных группах **уровень Cys повышался**, а уровень Tau и его предшественников **снижались**. Этот факт, а также повышение активности цистеинаминотрансферазы через 1 мес введения ТАА подтверждает то, что на этом сроке происходят основные нарушения, касающиеся синтеза GSH, Tau и утилизации Cys. Часть Cys расходуется на синтез 3-меркаптопирувата. Через 3 мес введения ТАА уровни Met и Ctn, а также активность ферментов транссульфурирования, цистеинаминотрансферазы и тиосульфатдифитилсульфидтрансферазы соответствовали контрольным значениям, что указывает на **восстановление транссульфурирования в печени**. В пользу этого говорит **снижение активности ферментов транссульфурирования**, а также **цистеинаминотрансферазы** через 12 недель введения ТАА при сравнении опытных групп между собой. Снижение уровней CA и CSA, возможно, связано со снижением активности цистеиндиоксигеназы. Снижение уровня Tau и повышение уровня Gly в печени, возможно, связано с нарушением синтеза желчных кислот.

Гистологическая картина печени крыс контрольной и опытных групп



Внешний вид печени крыс



А) Печень крыс контрольной группы
Б) Цирроз печени у крыс экспериментальной группы (ТАА 3 мес)

Введение ТАА в дозе 200 мг/кг в течение 1 мес вызывает в печени воспалительные изменения, а в течение 3 мес - мелкоузловой цирроз печени, характеризующийся выраженным фиброзом с перестройкой дольковой структуры органа.

Вывод. Длительное введение ТАА в дозе 200 мг/кг в течение 1 мес **активирует путь транссульфурирования в печени**, что в значительно меньшей степени наблюдалось и на стадии цирроза печени у крыс. При этом метаболический ответ со стороны аминокислотного пула проявлялся однонаправленными изменениями и характеризовался торможением заключительных этапов синтеза таурина, снижением содержания глутатиона в печени крыс, сопровождающиеся повышением активности цистеинаминотрансферазы только на 4 неделе введения ТАА.