УДК 615.361.018.54.013.8.014.41:618.14–089.87–092.9.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ НАТИВНОЇ І КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ СИРОВАТКИ КОРДОВОЇ КРОВІ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ПОСТГІСТЕРЕКТОМІЧНОГО СИНДРОМУ

Грищенко В. І., Нардід Е. О., Прокопюк В. Ю.

Резюме. Показано, що видалення матки зі збереженням яєчників у статевозрілих самок щурів лінії Wistar приводить до виникнення естрогендефицитного стану, що супроводжується зниженням вмісту естрадіолу в периферичній крові і підвищенням вмісту фолікулостимулюючого та лютеінизуючого гормонів. Встановлено, що застосування сироватки кордової крові (СКК) при даному стані відновлює гормональну рівновагу, не приводячи, на відміну від замісної гормональної терапії, до наступного пригнічення яєчникового стероідогенезу. Показано, що заморожування СКК із високими швидкостями не приводить до достовірного зниження її ефективності при застосуванні в експериментальній моделі постгістеректомічного синдрому.

Ключові слова: видалення матки, сироватка кордової крові, заморожування-відігрівання, естрадіол.

UDC 615.361.018.54.013.8.014.41:618.14–089.87–092.9.

ANALYSIS of EFFICIENCY USE of NATIVE and CRYOPRESERVED CORD BLOOD SERUM IN EXPERIMENTAL MODEL of POSTHYSTERECTOMIC SYNDROME

Grischenko V. I., Nardid E. O., Prokopyuk V. Yu.

Summary. It was shown that hysterectomy with preservation of ovaries of pubescent Wistar female rats led to appearance of oestrogen deficient state. It is accompanied by the lowering of estradiol content in peripheral blood and increasing of content of follicle stimulating and luteinizing hormones. It was established that the using of cord blood serum (CBS) during such a state led to recovering of hormone balance and did not cause a consecutive suppression of ovarian steroidogenesis as in the case of substitutive hormonal therapy. It was revealed that rapid rate freezing of CBS did not lead to significant lowering of its efficiency when using in the experimental model of posthysterectomic syndrome.

Key words: hysterectomy, cord blood serum, freeze-thawing, estradiol.

Стаття надійшла 27.04.2010 р.

УДК 577.16–02:591.85:547.425.5

Н.В. Заічко

ПРОЦЕСИ МЕТИЛУВАННЯ, ТРАНССУЛЬФУВАННЯ, МЕТАБОЛІЗМУ ЦИСТЕЇНУ ТА АДЕНОЗИНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОЇ МЕТІОНІНОВОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ ВІТАМІНІВ B_6, B_9, B_{12}

НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова (м. Вінниця)

Робота виконана в рамках планової НДР “Обмін гомоцистеїну в умовах дії нутрієнтних чинників та при різних патологічних станах”, № держреєстрації 0106V005134.

Вступ. З кожним роком накопичується все більше даних про причетність гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) до розвитку чисельних патологічних станів: захворювань серцево-судинної системи, тромбофілій, вроджених вад, неврологічних розладів тощо. Головними причинами ГГЦ вважають аліментарний дефіцит вітамінів B_6, B_9, B_{12}, поліморфізм по ензимам обміну ГЦ та надлишок метіоніну в організмі, який блокує цикл метилування і зумовлює накопичення ГЦ [3]. До механізмів токсичної дії високих рівнів ГЦ відносять

розвиток оксидативного стресу, гіпометилування, хімічну модифікацію протеїнів шляхом S- чи N-гомоцистеїнування [3]. В той же час, роль порушень обміну цистеїну, аденозину та інших біологічно-активних речовин, які утворюються в процесі метаболізму ГЦ **(рис.)**, у формуванні ГГЦ-асоційованої патології практично не вивчалась.

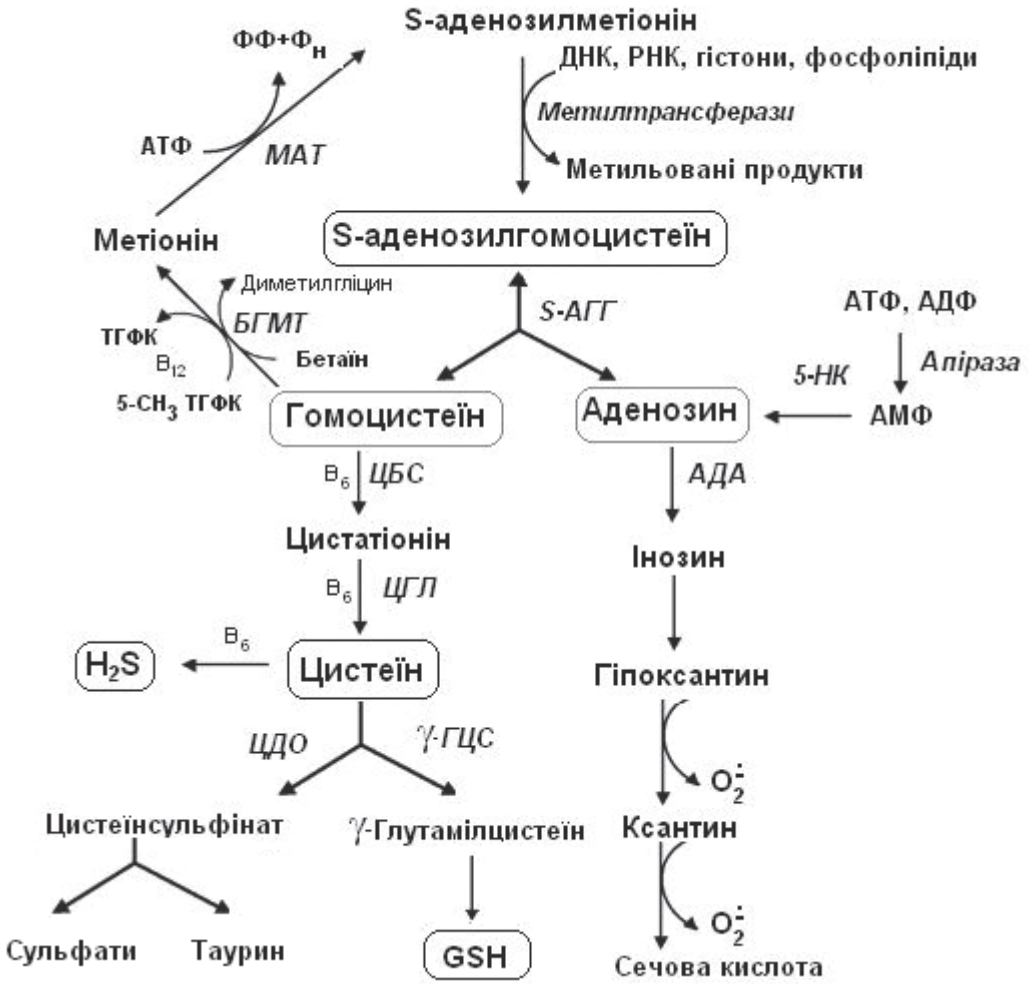

Рис.1. Шляхи обміну сірковмісних амінокислот та їх зв'язок з обміном аденозину.

Примітка: МАТ - метіонінаденозилтрансфераза; S-АГГ - S-аденозилгомоцистеїнгідролаза; БГМТ - бетаїнгомоцистеїнметилтрансфераза; ЦБС - цистатіонін-β-синтаза; ЦГЛ - цистатіонін-γ-ліаза; ЦДО - цистеїндіоксигеназа; γ-ГЦС - γ-глутамілцистеїнсинтетаза; АДА – аденозиндезаміназа; 5-НК - 5´-нуклеотидаза.

Основним напрямком корекції ГГЦ є застосування високих доз вітамінів B_6, B_9, B_{12} [1, 3, 4]. Гіпогомоцистеїнемічний ефект вказаних вітамінів є доведеним [1, 4], але молекулярні механізми їхньої дії за ГГЦ остаточно не з'ясовані. Раніше нами було показано, що насичення організму тварин вітамінами B_6, B_9, B_{12} не лише зменшувало ступінь ГГЦ, а й нормалізувало активність ензимів, що забезпечують синтез гідроген сульфіду (вазоактивного метаболіту ГЦ та цистеїну) в органах щурів [2].

Метою даної роботи було вивчення стану процесів метилування, транссульфування, метаболізму цистеїну та аденозину в печінці щурів за гострої метіонінової ГГЦ та її корекції комплексом вітамінів B_6, B_9, B_{12}.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведені на 37 білих безпородних щурах-самцях масою 250-270 г, яких утримували на стандартному крохмально-казеїновому раціоні, що містив всі незамінні харчові фактори [4]. Гостру ГГЦ викликали у 22 тварин шляхом одноразового інтрагастрального введення 5% водного розчину L-метіоніну в дозі 500 мг/кг маси тіла. З них 7 тваринам протягом 7 днів до моделювання ГГЦ 1 раз на добу інтрагастрально вводили суміш вітамінів B_6,

B_9, B_{12} в дозі, що забезпечувала надходження 714 мкг вітаміну B_6, 143 мкг вітаміну B_9, 14,3 мкг вітаміну B_{12} на 1 кг маси тіла щура. Обрані дози вітамінів перевищують мінімальну добову потребу в них у щурів в 7-15 разів, при цьому є нетоксичними та забезпечують максимальний гіпогомоцистеїнемічний ефект [1, 4]. Контрольну групу склали 15 інтактних щурів, яким в день експерименту замість 5% розчину L-метіоніну інтрагастрально вводили аналогічну кількість питної води. Відомо, що через 2 години після навантаження метіоніном рівень ГЦ в крові сягає максимуму [2, 4]. На цей строк тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Досліди виконували згідно правил гуманного відношення до експериментальних тварин, затверджених комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І.Пирогова.

Активність ензимів обміну сірковмісних амінокислот визначали в гомогентах печінки. Печінку гомогенізували при 3000 об/хв. в середовищі 1,15% калію хлориду у співвідношенні 1:4, постядерну фракцію отримували центрифугуванням гомогенатів при 600 g упродовж 30 хв. Вміст протеїну в препаратах визначали за Лоурі [18].

Активність цистатіонін-β-синтази (КФ 4.2.1.22) визначали за утворенням цистатіоніну в реакції конденсації ГЦ з серином. Вміст цистатіоніну визначали методом тонкошарової хроматографії на целюлозі [13]. Активність цистатіонін-γ-ліази (КФ 4.4.1.1) визначали за утворенням цистеїну в реакції розщеплення цистатіоніну [15].

Активність цистеїндіоксигенази (КФ 1.13.11.20) визначали за зменшенням вмісту цистеїну: до 1 мл інкубаційного середовища, що містило в кінцевих концентраціях L-цистеїн 0,5 мМ, дітіотреітол 40 мкМ, Трісбуфер 0,47 мМ (pH 7,4), додавали 0,1 мл постядерного гомогенату печінки, інкубували 30 хвилин при 37°С, реакцію зупиняли додаванням 10% трихлороцтової кислоти, проби центрифугували 20 хв при 1500 g, в надосаді визначали вміст цистеїну [12].

Гідролітичну активність S-аденозилгомоцистеїнгідролази – (КФ 3.3.1.1) визначали за швидкістю вивільнення ГЦ з S-аденозилгомоцистеїну, а синтетичну активність – за зниженням вмісту ГЦ в реакції конденсації з аденозином [16]. Активність сульфітоксидази (КФ 1.8.3.1) визначали за швидкістю окислення сульфіт-аніону в присутності гексоціаноферрату калію [9]. Активність бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (КФ 2.1.1.5), метіонінаденозилтрансферази – МАТ (КФ 2.5.1.6), γ-глутамілцистеїнсинтетази (КФ 6.3.2.2) визначали як описано [8, 11, 19].

Активність 5´-нуклеотидази (КФ 3.1.3.5) та апірази (КФ 3.6.1.5) визначали за кількістю неорганічного фосфату, який утворився при гідролізі АМФ чи АДФ, відповідно [5, 7]. Активність аденозиндезамінази (КФ 3.5.4.4) оцінювали за кількістю аміаку, що утворився при гідролітичному дезамінуванні аденозину [6].

Активність НАДФН-оксидази (КФ 1.6.3.1) вимірювали по падінню поглинання НАДФН при 340 нм [20], а активність тіоредоксинредуктази (КФ 1.6.4.5) - за швидкістю НАДФН-залежного відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату) [10].

Вміст ГЦ, цистеїну, метіоніну, малонового діальдегіду, карбонільних груп протеїнів в плазмі крові визначали як указано в роботах [1, 2]. Фосфоліпідні фракції плазми крові визначали методом тонкошарової хроматографії на силікагелі Л5/40, кількісну оцінку проводили після хроматографії за реакцією з фосфорнованіліновим реактивом.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних статистичних програм "MS Exel XP". Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

В роботі використані D,L-гомоцистеїн, L-цистеїн, L-метіонін, L-цистатіонін, бетаїн, АТФ, АДФ, АМФ, реактив Елмана фірми Sigma (США), L-серин, α-кетоглутарат, дітіотреітол, піридоксальфосфат фірми Fluka (Німеччина). Інші реактиви були вітчизняного виробництва.

Результати досліджень та їх обговорення. Введення L-метіоніну в дозі 500 мг/кг маси тіла через 2 години викликало підвищення вмісту метіоніну в плазмі крові в 18,0 разів (до 450,8±35,7 проти 27,2±2,87 мкмоль/л в контролі, $p<0,0001$) та збільшення вмісту ГЦ в 4,8 рази (до 31,1±1,30 проти 6,49±0,27 мкмоль/л, $p<0,0001$). За цих умов виявлялось також незначне підвищення (на 12,8%) вмісту цистеїну в плазмі крові переважно за рахунок непротеїнової фракції: загальний рівень цієї амінокислоти збільшився до 136,5±3,17 проти 121,0±2,84 мкмоль/л в контролі ($p<0,05$), а рівень непротеїнової фракції - до 51,1±2,02 проти 40,2±1,46 мкмоль/л в контролі ($p<0,05$).

Як показав аналіз активності ензимів обміну сірковмісних амінокислот в печінці щурів **(табл.)**, на пікові рівня ГЦ в плазмі крові виявлялось підвищення активності МАТ (на 22,3%) та зменшення активності бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (на 50,5%).

Таблиця 1

Активність ензимів обміну сірковмісних амінокислот та аденозину в печінці щурів за гострої метіонінової ГГЦ та її корекції комплексом вітамінів B_6, B_9, B_{12} (M±m)

Показник	Групи щурів		
	Контрольна група, n=15	ГГЦ, n=15	ГГЦ + Вітаміни B_6, B_9, B_{12}, n=7
Метіонінаденозилтрансфераза	2,82±0,12	3,45±0,15*	3,22±0,24
Бетаїнгомоцистеїн-метилтрансфераза	3,62±0,08	1,79±0,11*	2,94±0,23*#
S-Аденозилгомоцистеїн-гідролаза, гідролітична активність	3,66±0,14	2,82±0,19*	3,75±0,31#
S-Аденозилгомоцистеїн-гідролаза, синтетична активність	19,5±0,91	23,2±1,15*	19,1±1,30#
Цистатіонін-β-синтаза	15,5±0,88	22,7±1,47*	17,4±1,44*#
Цистатіонін-γ-ліаза	16,1±0,34	19,7±0,77*	16,8±1,31
Цистеїндіоксигеназа [1]	2,20±0,09	2,51±0,05*	2,09±0,18
γ-Глутамілцистеїнсинтетаза	3,51±0,24	1,77±0,12*	3,90±0,45#
Сульфітоксидаза	11,1±0,52	13,2±0,76*	12,1±0,49
Тіоредоксинредуктаза	5,60±0,14	4,82±0,32*	5,75±0,40
НАДФН-оксидаза	1,74±0,05	5,07±0,29*	3,13±0,14*#
Апіраза	6,45±0,29	5,10±0,16*	6,07±0,31#
5´-Нуклеотидаза	7,33±0,30	6,30±0,34*	7,49±0,48#
Аденозиндезаміназа	192,0±11,3	224,7±10,5*	202,6±10,8

Примітка: 1. Активність цистеїндіоксигенази наведена в мкмоль/хв на 1 мг протеїну, інших ензимів – в нмоль/хв на 1 мг протеїну; 2. * - $p<0,05$ – відносно групи контролю; 3. # - $p<0,05$ – відносно групи «ГГЦ».

Як відомо, МАТ каталізує утворення S-аденозилметіоніну з метіоніну та АТФ. Наслідком підвищення активності МАТ, індукованого високим вмістом метіоніну в плазмі крові, є зростання концентрації S-аденозилметіоніну в клітинах [22]. S-аденозилметіонін є алостеричним інгібітором ключових ензимів реметилювання ГЦ - метилентетрагідрофолатредуктази та бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази [3]. Тому, надлишок цього метаболіту блокує цикл метилування і зумовлює підвищення вмісту ГЦ в плазмі крові [3], що підтверджують і результати наших досліджень. Існують дані, що зі збільшенням каталітичної активності у МАТ підвищується чутливість до інгібуючої дії активних форм кисню та азоту [22]. Ймовірно, за більш тривалої ГГЦ на тлі оксидативного стресу слід очікувати зниження активності МАТ.

Головним патерном патогенезу ГГЦ є порушення процесів метилування внаслідок накопичення в клітинах S-аденозилгомоцистеїну - потужного інгібітору метилтрансфераз [3, 16]. В клітинах печінки S-аденозилгомоцистеїн піддається деградації до ГЦ та аденозину за участі S-аденозилгомоцистеїнгідролази. Ця реакція є оборотною і ензим каталізує як гідроліз S-аденозилгомоцистеїну, так і його синтез з ГЦ та аденозину [3, 16]. Виявилось, що вже через 2 години після введення метіоніну в клітинах створювались умови для накопичення S-аденозилгомоцистеїну і розвитку гіпометилування: зменшувалась (на 23,0%) гідролітична активність та підвищувалась (на 18,9%) синтетична активність S-аденозилгомоцистеїнгідролази. Підтвердити розвиток гіпометилування за гострої ГГЦ дозволив аналіз фосфоліпідного спектру плазми крові: виявлялась тенденція до зниження вмісту фосфатидилхоліну та збільшення вмісту фосфатидилетаноламіну, достовірно зменшився коефіцієнт фосфатидилхолін /фосфатидилетаноламін з 2,12±0,16 (контроль) до 1,74±0,04, $p < 0,05$.

Через 2 години після введення метіоніну виявлялось підвищення активності ензимів транссульфування - цистатіонін-β-синтази (на 46,5%) і цистатіон-γ-ліази (на 22,4%). Як відомо, шлях транссульфування забезпечує деградацію ГЦ до цистеїну, а його швидкість регулюється рівнем S-аденозилметіоніну, що виступає алостеричним активатором цистатіонін-β-синтази [3]. Виявлене нами збільшення вмісту цистеїну в плазмі крові за гострої метіонінової ГГЦ узгоджується

з підвищенням активності ензимів трансульфування в печінці.

Привертає увагу той факт, що за гострої ГГЦ рівень цистеїну в плазмі крові зростав значно менше, ніж вміст ГЦ чи метіоніну. Можливо, це пояснюється прискореною утилізацією надлишку цистеїну. Адже відомо, що при підвищенні вмісту цієї амінокислоти в клітинах швидко зростає активність цистеїндіоксигенази, збільшується утворення таурину та сульфатів [23]. Дійсно, введення метіоніну індукувало підвищення активності ензимів катаболізму цистеїну: активність цистеїндіоксигенази та сульфітоксидази збільшилась на 14,1 та 18,9%, відповідно.

В той же час, активність іншого ключового ензиму обміну цистеїну - γ-глутамілцистеїнсинтетази за умов гострої метіонінової ГГЦ, навпаки, знизилась на 49,6%. Існують дані, що високі рівні метіоніну зменшують активність та гальмують експресію γ-глутамілцистеїнсинтетази в культурі гепатоцитів *in vitro* [17]. γ-Глутамілцистеїнсинтетаза започатковує синтез глутатіону з цистеїну, тому зниження її активності автоматично веде до зменшення кількості цього трипептиду в клітинах [17, 21]. Цілком очевидно, що за умов ГГЦ зниження вмісту глутатіону в клітинах буде промотувати розвиток оксидативного стресу і поглиблювати процеси пероксидації ліпідів та протеїнів. Дійсно, розвиток гострої ГГЦ супроводжувався зростанням вмісту в плазмі крові малонового діальдегіду (до 14,8±0,91 проти 10,1±0,48 мкмоль/л в контролі, $p < 0,001$), карбонільних груп білків (до 1,36±0,09 проти 0,80±0,09 мкмоль/л в контролі, $p < 0,001$) та лізофосфатидилхоліну (до 73,7±5,83 проти 52,3±3,54 мкмоль/л в контролі, $p < 0,005$).

Надлишок метіоніну також викликав підвищення (майже в 3 рази) активності НАДФН-оксидази, головного продуцента супероксид-аніону, та зменшення (на 13,9%) активності тіоредоксинредуктази - ключового ензиму системи тіоредоксину. Як відомо, система тіоредоксину бере участь в регуляції активності редокс-чутливих протеїнів та утворенні дезоксирибонуклеотидів. Ймовірно, що індуковане ГГЦ зниження активності тіоредоксинредуктази буде негативно відображатись на функціональному стані редокс-чутливих протеїнів та процесі реплікації. Отримані нами дані узгоджуються з результатами іншого дослідження, в якому виявлено здатність високих рівнів метіоніну та ГЦ посилювати експресію НАДФН-оксидази і пригінчувати експресію тіоредоксинредуктази в культурі ендотеліальних клітин *in vitro* [14].

Дослідження активності ензимів метаболізму аденозину показало, що за умов гострої ГГЦ сповільнюється катаболізм аденілових нуклеотидів (АДФ та АМФ) і прискорюється деградація аденозину. На це вказує достовірне зниження (на 20,9 та 14,1%) активності апірази та 5′-нуклеотидази і зростання (на 17,0%) активності аденозиндезамінази. Можливо, що за умов перевантаження клітин метіоніном це є адаптивною реакцією, спрямованою на усунення аденозину, що вивільняється при гідролізі S-аденозилгомоцистеїну. З одного боку, підвищення активності аденозиндезамінази буде обмежувати внесок реакції конденсації ГЦ з аденозином у поповнення пулу S-аденозилгомоцистеїну. З іншого боку, зменшення рівня аденозину (вазодилятатора та антиагреганта) та накопичення продуктів його деградації (прооксидантів гіпоксантину та ксантину) може посилювати протромбогенну та вазотоксичну дію високих рівнів ГЦ.

Попереднє 7-денне введення тваринам вітамінів B_6, B_9, B_{12} зменшувало гіпергомоцистеїнемічний ефект надлишку метіоніну та стримувало розвиток порушень процесів метилування, транссульфування, обміну цистеїну та аденозину. Про це свідчать достовірно менші рівні ГЦ та метіоніну (на 35,0 та 29,7% , $p<0,001$) у тварин в групі «ГГЦ+вітаміни B_6, B_9, B_{12}» порівняно з тваринами в групі «ГГЦ». Крім того, в цій групі не спостерігалось значних змін активності МАТ, S-аденозилгомоцистеїнгідролази, бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази, цистатіонін-β-синтази та цистатіонін-γ-ліази. Насичення організму тварин вітамінами B_6, B_9, B_{12} запобігало зниженню активності γ-глутамілцистеїнсинтетази та тіоредоксинредуктази, стримувало формування порушень метаболізму аденозину, обмежувало зростання активності НАДФН-оксидази. При цьому в плазмі крові щурів в групі «ГГЦ+вітаміни B_6, B_9, B_{12}» не виявлялось вірогідних змін фосфоліпідного спектру чи зростання вмісту маркерів пероксидації ліпідів та протеїнів.

Отримані нами дані дозволяють стверджувати, що висока профілактична ефективність вітамінів B_6, B_9, B_{12} за ГГЦ грунтується на їхній здатності підтримувати динамічну рівновагу між процесами утворення і утилізації ГЦ шляхами метилування та транссульфування, нормалізувати обмін аденозину та цистеїну, а також зменшувати вплив високих рівнів метіоніну і ГЦ на активність НАДФН-оксидази та тіоредоксинредуктази.

Висновки.

1. За гострої метіонінової ГГЦ в печінці щурів реєструються наступні зміни процесів метилування та транссульфування: зростає активність МАТ (на 22,3%), зменшується активність бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (на 50,5%) та гідролітична активність S-аденозилгомоцистеїнгідролази (на 23,0%), підвищується активність цистатіонін-β-синтази (на 46,5%) і цистатіон-γ-ліази (на 22,4%).

2. Гостра метіонінова ГГЦ викликає зміни активності ензимів метаболізму цистеїну (підвищення активності цистеїндіоксигенази та сульфітоксидази, зниження активності γ-глутамілцистеїнсинтетази) та аденозину (зниження активності апірази та 5′-нуклеотидази, підвищення активності аденозиндезамінази), а також зростання активності НАДФН-оксидази та зниження активності тіоредоксинредуктази.

3. Попереднє насичення організму щурів вітамінами B_6, B_9, B_{12} достовірно зменшує негативний вплив надлишку метіоніну на ензими метаболізму сірковмісних амінокислот і аденозину, що стримує розвиток ГГЦ та асоційованих з нею порушень.

Перспективи подальших досліджень полягають у розкритті ролі біологічно-активних метаболітів сірковмісних амінокислот у формуванні ГГЦ-асоційованих патологічних станів та оптимізації підходів до їх корекції модуляторами процесів метилування, транссульфування та нуклеотидного обміну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Артемчук М.А. Профілактично-лікувальна дія вітамінних та вітамінно-мікроелементних препаратів за гострої та хронічної метіонінової гіпергомоцистеїнемії / М.А. Артемчук // Biomedical and Biosocial Anthopology. - 2006. - №7. - С.17-20.
2. Заічко Н. В. Вплив гострої метіонінової гіпергомоцистеїнемії на утворення гідроген сульфіду в органах щурів та його корекція комплексом вітамінів B_6, B_9, B_{12} / Н.В. Заічко, І.І. Андрушко, А.В. Мельник, О.І. Штатько // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. - 2009.- №4.- С.29-36.
3. Пентюк О.О. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / О.О. Пентюк, М.Б. Луцюк, І.І. Андрушко, К.П. Постовітенко // Укр. біохім. журн. - 2003. - 75, №1. - С.5-17.
4. Пентюк О.О. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті / О.О. Пентюк, М. Б. Луцюк, К. П. Постовітенко // Досягнення біології та медицини. - 2004. - №1 (3). - С.35-38.
5. Рыбальченко В. К. Структура и функции мембран: Практикум / В. К. Рыбальченко, М. М Коганов. - К.: Выща шк., 1988. – 312 [239-241] с.
6. Современные методы в биохимии / под ред. Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1968.- 372 [121-123] с.
7. Brain ischemia alters platelet ATP diphosphohydrolase and 5'-nucleotidase activities in naive and preconditioned rats / Frassetto S.S., Schetinger M.R., Schierholt R. et al. // Braz. J. Med. Biol. Res.- 2000.- Vol.33, №11.- P.1369-1377.
8. Chiang P. K. Activation of methionine for transmethylation. Purification of the S-adenosylmethionine synthetase of bakers' yeast and its separation into two forms / P. K. Chiang, G. L. Cantoni // J Biol Chem. - 1977. - Vol.252, №13. - P.4506-4513.
9. Cohen H. J. Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties / H. J. Cohen, I. Fridovich // J. Biol. Chem. - 1971. - Vol.246, №2. - P.359-366.
10. Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines / H. I. Jung, H. W. Lim, B. C. Kim [et al.] // Yonsei Medical Journal. - 2004. - Vol.45, №2. - P.263-272.
11. Ericson L. E. Betaine-homocysteine methyltransferases. III. The methyl donor specificity of the transferase isolated from pig liver / L. E. Ericson // Acta Chem. Scand. - 1960. - Vol.14. - P.2127-2134.
12. Gaitonde M.K. A spectrophotometric method for direct determination of cysteine in the presence of other naturally occuring amino acid / M. K. Gaitonde // Biochem. J.- 1967. - Vol.104, №2. - P.627-633.
13. Goldstein J. L. Cystathionine synthase activity in human lymphocytes: induction by phytohemagglutinin / J. L. Goldstein, B. K. Campbell, S. M. Gartler // J Clin Invest. - 1972. - Vol 51, №4. - P.1034-1037.
14. H_2S protects against methionine–induced oxidative stress in brain endothelial cells / N. Tyagi, K.S. Moshal, U. Sen [et al.] // Antioxid. Redox. Signal. - 2009. - Vol.11, №1. - P. 25-33.
15. Heinonen K. Studies on cystathionase activity in rat liver and brain during development effects of hormones and amino acids in vivo / K. Heinonen // Biochem. J. – 1973. - Vol.136. - P.1011-1015.
16. Isa Y. Effect of vitamin B6 deficiency on S-adenosylhomocysteine hydrolase activity as a target point for methionine metabolic regulation / Y. Isa, H. Tsuge, T. Hayakawa // J. Nutr. Sci. Vitaminol. - 2006. - Vol.52, №5. - P.302-306.
17. Kwon Y .H. Cysteine regulates expression of cysteine dioxygenase and gamma-glutamylcysteine synthetase in cultured rat hepatocytes / Kwon Y .H. , Stipanuk M. H. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. - 2001.- Vol. 280, №5. - P.804-815.
18. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. - 1951. - V. 193.- P. 265 - 276.
19. Orlowski M. Partial reactions catalyzed by γ-glutamylcysteine synthetase and evidence for an activated glutamate intermediate / M. Orlowski, A. Meister // J. Biol. Chem. - 1971. - Vol.246, №23. - P.7095-7105.
20. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats / T. Fukui, N. Ishizaka, S. Rajagopalan [et al.] // Circ. Res. - 1997. - №80(1). - P.45-51.
21. Regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase expression in response to oxidative stress / T. Kondo, Y. Higashiyama, S. Goto [et al.] // Free Radic. Res. - 1999. - Vol. 31, №4.- P. 325-334.
22. Regulation of mammalian liver methionine adenosyltransferase / F.J. Corrales, I. Pérez-Mato, M.M. Sánchez del Pino [et al.] // J. Nutr. - 2002.- Vol.132, suppl. - P.2377-2381.
23. Stipanuk M. H. Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism / M. H. Stipanuk, J. E. Dominy, J.I. Lee, R. M. Coloso // J. Nutr. - 2006. - Vol.136, №6. - P.1652-1659.

УДК 577.16–02:591.85:547.425.5

ПРОЦЕССЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ, ТРАНССУЛЬФУРИРОВАНИЯ, МЕТАБОЛИЗМА ЦИСТЕИНА И АДЕНОЗИНА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ МЕТИОНИНОВОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ И ЕЁ КОРРЕКЦИИ КОМПЛЕКСОМ ВИТАМИНОВ B_6, B_9, B_{12}

Заичко Н.В.

Резюме. Исследовано влияние введения L-метионина (500 мг/кг массы тела) на метаболизм серосодержащих аминокислот и аденозина в печени крыс. Установлено, что при острой метиониновой гипергомоцистеинемии (ОМ ГГЦ) в печени крыс повышается активность метионинаденозилтрансферазы, цистатионин-β-синтазы и цистатионин-γ-лиазы, но снижается активность бетаингомоцистеинметилтрансферазы и S-аденозилгомоцистеингидролазы. При ОМ ГГЦ усиливается катаболизм цистеина, ингибируется синтез глутатиона, усиливается деградация аденозина. Предварительное введение витаминов B_6, B_9, B_{12} уменьшает формирование нарушений обмена серосодержащих аминокислот и аденозина в печени крыс при ОМ ГГЦ.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, витамины, цистеин, аденозин, метилирование, транссульфурирование.

UDC 577.16–02:591.85:547.425.5

PROCESSES of METHYLATION, TRANSSULFURATION, CYSTEINE and ADENOSINE METABOLISM in RAT LIVER at ACUTE METHIONINE HYPERHOMOCYSTEINEMIA and its CORRECTION by COMPLEX of VITAMINS B_6, B_9, B_{12}

Zaichko N.V.

Summary. The influence of L-methionine loading (500 mg/kg on body weight) on sulfur amino acids and adenosine metabolism in rat liver was investigated. It was established that methionine adenosyltransferase, cystathionine β-synthase and cystathionine γ-lyase activity was increased, but betaine-homocysteine methyltransferase and S-adenosylhomocysteine hydrolase activity was decreased in rat liver at acute methionine hyperhomocysteinemia (AM HHC). At AM HCC cysteine catabolism was increased, glutathione synthesis was inhibited, and adenosine degradation was intensified. Preliminary administration of vitamins B_6, B_9, B_{12} reduced disturbance of sulfur amino acids and adenosine metabolism in rat liver at AM HCC.

Key words: hyperhomocysteinemia, vitamins, cysteine, adenosine, methylation, transsulfuration.

Стаття надійшла 31.03.2010 р.

УДК 577.158–001.6:612.014.47

*І. А. Кленіна, Н.І. Штеменко**

ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНА АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА ТА ЇЇ КОМПОНЕНТІВ

ДУ «Інститут гастроентерології АМН України» (м. Дніпропетровськ)

*** Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара (м. Дніпропетровськ)**

Робота виходить із науково-дослідних тем кафедри біофізики та біохімії Дніпропетровського національного університету: держбюджетних тем: «Дослідження біологічної активності кластрених сполук ренію з органічними лігандами» (номер державної реєстрації 0100V005660); «Дослідження механізмів взаємодії сполук ренію з біомолекулами при діагностиці і корекції патологічних станів» (номер державної реєстрації 0104V000960).

Вступ. Нещодавно нами було представлено нову протипухлинну систему реній-платина (Re-Pt), яка полягає у введенні одноразово розчину цис-платину (cisPt) та кластерної сполуки ренію за схемою антиоксидантної