

ВПЛИВ ДОНОРІВ МЕТИЛЬНИХ ГРУП БЕТАЇНУ ТА S-АДЕНОЗИЛМЕТІОНІНУ НА ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

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

Дослідження є фрагментом НДР ВНМУ ім. М. І. Пирогова «Обмін гомоцистеїну в умовах дії нутрієнтних чинників та при різних патологічних станах», № держ. реєстрації 0106U005134.

Вступ. Стеатоз печінки є вагомим профіброгенним фактором і лежить в основі неалкогольної жирової хвороби печінки та неалкогольного стеатогепатиту, а останній, як нещодавно було визнано, є однією з основних причин формування цирозу [6]. Ожиріння печінки є також кофактором інших захворювань: хронічного гепатиту С, алкогольної хвороби печінки, гемохроматозу, токсичних (медикаментозних) уражень [5]. Патогенетичний зв'язок між прогресуванням фіброзу печінки і стеатозом реалізується через продукцію прозапальних медіаторів, адипоцитокінів та формування інсулінорезистентності [9]. Не виключено, що до формування фіброзу печінки за умов стеатозу причетне і порушення обміну гомоцистеїну. Нещодавно було показано, що у мишей з дефектом цистатіон-β-синтази, який супроводжується ГГЦ, виникає дисрегуляція генів, залучених в обмін ліпідів в печінці, стеатоз та фіброз печінки [11, 19]. Патогенну дію надлишку гомоцистеїну пов'язують з гальмуванням процесів метилювання, гомоцистеїнуванням білків, ініціюванням оксидативного стресу, непрямою вазоконстрикторною дією [24], і саме ці чинники в тій чи іншій мірі залучені в процес формування фіброзу печінки. Тому не виключено, що речовини, які впливають на вказані патогенетичні механізми, зокрема донори метильних груп, потенційно можуть гальмувати розвиток стеатозу та фіброзу печінки.

Мета дослідження – вивчити протистеатогенну, антистеатогенну та антифіброзну активність донорів метильних груп бетаїну та S-аденозилметіоніну на моделі цирозу печінки у щурів, індукованого введенням CCl_4 та високожировою дієтою.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 36 білих самцях щурів. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Група інтактного контролю перебувала на фізіологічній дієті, яка містила жири, вуглеводи (відповідно, 16 % та 60 % від загального калоражу), казеїн,

целюлозу, суміш вітамінів і солей. У тварин 2, 3 та 4 груп була створена модель фіброзу печінки [2] на тлі стеатозу шляхом шеститижневого введення CCl_4 (40 % розчин на соняшниковій олії, інтрагастрально, 0,3 мл/100 г маси тіла двічі на тиждень) та утриманням на високожировій дієті (ВЖД). ВЖД передбачала збільшення квоти жирів до 50 % загального калоражу при зменшенні квоти вуглеводів до 26 %, і по відношенню до фізіологічної дієти була ізокалорійною, містила однакову кількість білку, вітамінів, солей [12]. Тварини 3 та 4 груп, відповідно, отримували бетаїн 250 мг/кг та S-аденозилметіонін 50 мг/кг 5 днів на тиждень протягом 6 тижнів [10, 14]. Дослід виконаний згідно правил гуманного відношення до експериментальних тварин.

В якості маркерів печінкового фіброгенезу визначали вміст трансформуючого фактора росту – бета-1 (ТФР-бета-1) в сироватці крові щурів імуноферментним методом (набір Alpco Diagnostics, США), вміст гідроксипроліну в печінці, гіалуронату в сироватці крові [20]. В якості маркерів стеатозу визначали вміст тригліцеридів, холестерину в печінці уніфікованими методами, загальний вміст фосфоліпідів та їх фракцій в ліпідному екстракті печінки [1]. В сироватці крові визначали вміст загального гомоцистеїну імуноферментним методом (набір Axis-Shield, Англія). Вміст аденозину в сечі визначали методом тонкошарової хроматографії [18]. В постмітохондріальній фракції гомогенату печінки визначали активність ферментів метилювання – бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (КФ 2.1.15), S-аденозилметіонінсинтази (КФ 2.5.1.6) [4], активність ферментів нуклеотидного обміну – S-аденозилгомоцистеїнгідролази (КФ 3.3.1.1), апірази (КФ 3.6.1.5), 5'-нуклеотидази (КФ 3.1.3.5), аденозиндезамінази (КФ 3.5.4.4) [7, 13], а також активність маркерних ферментів оксидативного стресу – NADPH-оксидази та тіоредоксинредуктази [8, 15]. Статистичну обробку результатів проводили в «MS Excel XP».

Результати досліджень та їх обговорення. Шеститижнєве введення CCl_4 щурам, які перебували на ВЖД, привело до розвитку виразного стеатозу та фіброзу печінки (табл. 1). Вміст тригліцеридів та холестерину в печінці зріс, відповідно, в 2,0 та 2,1 рази, порівняно з групою інтактних тварин, а вміст загальних фосфоліпідів знизився на 17 %. Вдвічі знизився рівень фосфатидилхоліну в печінці, який, як відомо, забезпечує транспорт ліпідів, при

Таблиця 1

Вплив бетаїну та S-аденозилметіоніну на показники стеатозу і фіброзу печінки у щурів (M ± m)

Показники	Інтактний контроль, n=8	ВЖД+ CCl ₄ , n=10	ВЖД+ CCl ₄ + бетаїн, n=9	ВЖД+ CCl ₄ + S-AM, n=9
	1	2	3	4
Тригліцериди печінки, мкмоль/г	16,3±0,67	32,6±1,44*	26,3±1,20*#	21,1±1,54*#
Холестерин печінки, мкмоль/г	6,72±0,38	14,1±0,80*	10,5±0,54*#	11,8±0,61*#
Загальні фосфоліпіди, мкмоль/г печінки	26,5±0,83	21,9±0,68*	23,5±0,74*	24,1±0,82*
Фосфатидилхолін печінки, мкг/мг білка	14,8±0,32	6,54±0,30*	10,9±1,03*#	12,4±1,03*#
Лізофосфатидилхолін печінки, мкг/мг білка	0,35±0,021	1,14±0,088*	0,77±0,029*#	0,85±0,024*#
ТФР-бета-1 сироватки крові, мкг/л	1,76±0,32	11,9±0,90*	6,51±0,68*#	6,27±0,61*#
Гіалуронат сироватки крові, нг/мл	69,7±5,14	162±8,59*	117±6,18*#	136±6,17*#
Гідроксипролін печінки, мкг/г	396±29,9	1223±55,0*	897±56,0*#	1021±58,3*
Маса селезінки/ маса тварини *100	0,38±0,02	0,71±0,03*	0,56±0,02*#	0,61±0,02*#

Примітка: * – вірогідна різниця стосовно групи 1; # – вірогідна різниця щодо групи 2.

одночасному триразовому зростанні рівня окисленого фосфоліпиду лізофосфатидилхоліну. Свідченням інтенсивного фіброгенезу у тварин цієї групи є зростання вмісту ТФР-бета-1 та гіалуронату в сироватці крові (в 6,8 та 2,3 рази) та збільшення вмісту гідроксипроліну в печінці (в 3,1 рази). Вірогідне, порівняно з контрольної групою, збільшення селезінкового індексу свідчить про формування не лише фіброзу, але і цирозу печінки.

Бетаїн в значній мірі попереджав надмірне накопичення тригліцеридів і холестерину, падіння вмісту фосфатидилхоліну та накопичення лізофосфатидилхоліну в печінці дослідних тварин, що вказує на його здатність інгібувати стеатогенез. Бетаїн також

суттєво гальмував розвиток фіброзу печінки. Зокрема, вміст ТФР-бета-1 в сироватці крові та гідроксипроліну в печінці був майже вдвічі меншим, ніж у тварин 2 групи, на чверть зменшились рівні гіалуронату в сироватці крові та гідроксипроліну в печінці. Антистеатогенна активність S-аденозилметіоніну (S-AM) виявилась співставною з такою у бетаїну, однак антифіброзна дія була суттєво меншою: не дивлячись на помітне зниження рівня ТФР-бета-1, вміст гіалуронату знизився на 16%, а вміст гідроксипроліну виявляв лише тенденцію до зниження.

Формування цирозу печінки у щурів, які перебували на ВЖД супроводжувалось порушенням обміну гомоцистеїну (табл. 2) та виразним гальмуванням процесів метилювання в печінці, про що свідчать

Таблиця 2

Вплив бетаїну та S-аденозилметіоніну на вміст продуктів та активність ферментів метилювання, нуклеотидного обміну та оксидативного стресу у щурів (M ± m)

Показники	Інтактний контроль, n=8	ВЖД+ CCl ₄ , n=10	ВЖД+ CCl ₄ + бетаїн, n=9	ВЖД+ CCl ₄ + S-AM, n=9
	1	2	3	4
Гомоцистеїн сироватки крові, мкмоль/л	4,13±0,36	10,8±0,56*#	6,95±0,46*#	7,04±0,45*#
Бетаїнгомоцистеїнметил-трансфераза печінки	7,48±0,35	4,46±0,31*#	5,46±0,30*#	3,69±0,32*
S-аденозилметіонінсинтаза печінки	3,16±0,14	1,51±0,13*#	2,20±0,13*#	1,69±0,13*
Фосфатидилхолін печінки, мкг/мг білка	14,8±0,32	6,54±0,30*	10,9±1,03*#	12,4±1,03*#
Фосфатидилетаноламін печінки, мкг/мг білка	5,80±0,32	9,26±0,52*	7,47±0,34*#	7,83±0,62*
Фосфатидилетаноламін / фосфатидилхолін	0,39±0,019	1,47±0,15*	0,76±0,09*#	0,70±0,05*#
Аденозин сечі, мкмоль/ ммоль креатиніну	5,01±0,38	18,8±0,76*#	12,0±0,60*#	14,4±0,78*#
S-аденозилгомоцистеїн-гідролаза печінки	2,74±0,22	5,79±0,26*#	4,33±0,21*#	5,01±0,21*#
Апіраза печінки	4,28±0,24	5,10±0,31	4,77±0,28	4,88±0,29
5'-нуклеотидаза печінки	4,12±0,23	6,83±0,35*	5,60±0,24*#	5,93±0,41*
Аденозиндезаміназа печінки	250±11,3	143±10,1*	177±7,58*#	172±7,08*#
NADPH-оксидаза печінки	1,32±0,06	3,98±0,17*	2,98±0,17*#	2,45±0,19*#
Тіоредоксинредуктаза печінки	5,60±0,23	3,11±0,21*	3,81±0,14*#	4,66±0,26*#

Примітка: Активність ферментів подана в нмоль/хв на 1 мг білка. * – вірогідна різниця стосовно групи 1;

– вірогідна різниця стосовно групи 2.

збільшення рівня цієї амінокислоти в сироватці крові більше, ніж вдвічі, а також вірогідне зниження активності бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази, S-аденозилметіонсинтази, збільшення коефіцієнту фосфатидилетаноламін / фосфатидилхолін (останній, як відомо, є продуктом метилування фосфатидилетаноламіну). У тварин з експериментальним цирозом реєструвалось також порушення обміну аденозину. Так, екскреція аденозину з сечею збільшилась майже в 4 рази, активність ензимів синтезу аденозину в печінці (S-аденозилгомоцистеїнгідролази, 5'-нуклеотидази) зросла майже вдвічі, тоді як активність ферменту деградації (аденозиндезамінази) зменшилась на 40%.

З'ясувалось, що бетаїн суттєво попереджував розвиток гіпергомоцистеїнемії, гіпометилування в печінці та надмірне накопичення аденозину у щурів. В групі «S-аденозилметіонін» також реєструвалось вірогідне зниження рівня гомоцистеїну в сироватці крові, проте його вплив на процеси метилування виявився мінімальним. Крім того, S-аденозилметіонін в меншій мірі, ніж та бетаїн, попереджав порушення обміну аденозину.

У тварин з цирозом печінки закономірно посилювались явища оксидативного стресу, на що вказує збільшення втричі активності основного продуценту вільних радикалів кисню – NADPH-оксидази, та зниження майже вдвічі активності антиоксидантного ензиму – тіоредоксинредуктази в печінці. Необхідно зазначити, що у групах тварин, які отримували бетаїн чи S-аденозилметіонін активність NADPH-оксидази вірогідно знижувалась, а активність тіоредоксинредуктази в печінці вірогідно зростала, порівняно з групою тварин із моделлю цирозу, що вказує на протизапальну дію цих засобів.

Отримані нами дані засвідчили, що шеститижневе введення CCl_4 щурам, які утримувались на ВЖД, спричинило розвиток стеатозу та важкого фіброзу печінки. Так, зростання вмісту тригліцеридів, холестерину при зниженні вмісту загальних фосфоліпідів є типовими ознаками ожиріння печінки, а суттєве збільшення сироваткових рівнів ТФР-бета-1 та гіалуронату, зростання вмісту гідроксипроліну в печінці свідчать про інтенсивний печінковий фіброгенез.

З'ясувалось, що формування фіброзу печінки на тлі стеатозу супроводжується розвитком гіпергомоцистеїнемії. Цілком імовірно, що гіпергомоцистеїнемія, яка виникає в результаті порушення обміну гомоцистеїну при ураженні печінки, в наступному стає самостійним профіброгенним чинником, адже раніше ми показали, що хронічне навантаження тіолактоном гомоцистеїну індукує фіброз печінки у інтактних щурів [2]. Наші дані свідчать, що при цирозі печінки гальмуються процеси метилування, на що вказують накопичення неметильованого фосфоліпиду фосфатидилетаноламіну при зниженні рівня фосфатидилхоліну, падіння активності S-аденозилметіонсинтази та бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази в печінці. Як відомо, реакції метилування необхідні для синтезу фосфоліпідів, креатину, обміну катехоламінів і є ключовим елементом

епігенетичної регуляції активності генів та білків, включаючи і ті, що причетні до стеатогенезу та фіброгенезу [21]. Ми показали, що при цирозі має місце накопичення аденозину в результаті зростання активності S-аденозилгомоцистеїнгідролази (каталізує гідроліз аденозилгомоцистеїну до гомоцистеїну і аденозину), 5'-нуклеотидази (здійснює дефосфорилювання АМФ до аденозину) та зниження активності ферменту деградації аденозину – аденозиндезамінази в печінці. Як відомо, надлишок аденозину здатний стимулювати фіброгенну трансформацію зірчастих клітин печінки в колаген-продукуючі фібробласти [3].

Наші дані підтверджують той факт, що розвиток експериментального фіброзу і стеатозу печінки супроводжується активацією оксидативного стресу, ознакою чого є падіння активності тіоредоксинредуктази та зростання активності NADPH-оксидази в печінці. Виявлялись також ознаки посилення процесів мембранної ліпопероксидації: вміст лізофосфатидилхоліну в печінці зростав, тоді як вміст його попередника фосфатидилхоліну знижувався. Відомо, що лізофосфоліпіди є відомими регуляторами клітинних реакцій, і, зокрема, посилюють продукцію фіброгенних цитокінів, стимулюють проліферацію печінкових фібробластів [22]. Не виключено, що активації оксидативного стресу сприяє і гіпергомоцистеїнемія, оскільки гомоцистеїн підтримує іони перехідних металів у відновленому стані, необхідному для утворення активних форм кисню [24], а останні є головними транскрипційними активаторами фіброгенної трансформації зірчастих клітин та продукції фіброгенних медіаторів [16].

Ми показали, що бетаїн суттєво попереджає розвиток стеатозу печінки, що проявляється зниженням вмісту тригліцеридів і холестерину, зростанням кількості загальних фосфоліпідів та фосфатидилхоліну в печінці. Бетаїн виявляв також істотну антифіброзну активність, що супроводжується суттєвим зниженням вмісту ТФР-бета-1 та гіалуронату в сироватці крові, гідроксипроліну в печінці. Виявлена нами антистеатогенна і антифіброгенна активність донора метильних груп бетаїну, очевидно, обумовлена як його гіпогомоцистеїнемічною дією завдяки відновленню активності ферменту метилування та нуклеотидного обміну, так і антиоксидантними властивостями. Здатність бетаїну зменшувати прояви оксидативного стресу була продемонстрована і в низці нещодавніх досліджень [17, 23].

Наші дані свідчать, що S-аденозилметионін досить ефективно протидіє накопиченню ліпідів в печінці та нормалізував вміст фосфатидилхоліну. В той же час вплив S-аденозилметионіну на процеси фіброгенезу був помітно меншим, ніж у бетаїну. Певною мірою це може бути обумовлено тим, що донор метильних груп S-аденозилметионін не усував гіпометилування в печінці, хоча і мав гіпогомоцистеїнемічну дію. Крім того, надлишок S-аденозилметионіну може виявитись додатковим джерелом аденозину в печінці, який чинить профіброгенну дію.

Висновки.

1. Перебування щурів на високожировій дієті та введення CCl_4 протягом шести тижнів веде до розвитку важкого стеатозу та фіброзу печінки і супроводжується порушенням обміну гомоцистеїну та аденозину в печінці, гальмуванням процесів метилювання та активацією оксидативного стресу і ліпопероксидації.

2. Донори метильних груп бетаїн та S-аденозилметіонін в значній мірі попереджали розвиток стеатозу печінки, однак лише бетаїн виявляв виразну антифіброзну активність.

3. Антистеатогенна та антифіброзна активність бетаїну асоціювалась із зниженням рівня гомоцистеїну в сироватці крові, відновленням активності ферментів метилювання та нормалізацією обміну аденозину в печінці.

Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення клінічної ефективності донорів метильних груп як антистеатогенних та антифіброзних препаратів у пацієнтів з хронічними захворюваннями печінки, які перебігають на тлі стеатозу та гіпергомоцистеїнемії.

Література

1. Определение фосфолипидов в биологическом материале по образованию гидрофобного комплекса с ферритионатом аммония / А. А. Пентюк, В. И. Гуцол, О. А. Яковлева [и др.] // Лаб. дело. – 1987. – № 6. – С. 457–460.
2. Пентюк Н. О. Вплив гіпергомоцистеїнемії на формування CCl_4 -індукованого фіброзу печінки у щурів / Н. О. Пентюк // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – №5 (49). – С. 33 – 37.
3. Adenosine A(2A) receptors play a role in the pathogenesis of hepatic cirrhosis / E. S. Chan, M. C. Montesinos, P. Fernandez [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2009. – №148(8). – P. 1144 – 1155.
4. 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.
5. Clouston A. D. Steatosis as a cofactor in other liver diseases: hepatitis C virus, alcohol, hemochromatosis, and others / A. D. Clouston, J. R. Jonsson, E. E. Powell // Clin. Liver Dis. – 2009. – Vol. 11 (1). – P. 173 – 189.
6. Effect of repeated stress on body weight and body composition of rats fed low- and high-fat diets / R. B. Harris, J. Zhou, B. D. Youngblood [et al.] // Am. J. Physiol. – 2008. – №275. – P. 1928 – 1938.
7. El-Zayadi A. -R. Hepatic steatosis: a benign disease or a silent killer // A. -R. El-Zayadi // World J. Gastroenterol. – 2008. – № 14 (26). – P. 4120–4126.
8. Frassetto S. S. Characterization of an ATP diphosphohydrolase activity (APYRASE, EC 3. 6. 1. 5) in rat blood platelets / S. S. Frassetto, R. D. Dias, J. J. Sarkis // Mol. Cell Biochem. – 1993. – Vol. 129. – P. 47 – 55.
9. Hamelet J. Hyperhomocysteinemia due to cystathionine beta synthase deficiency induces dysregulation of genes involved in hepatic lipid homeostasis in mice / J. Hamelet, K. Demuth, J. L. Paul [et al.] // J. Hepatol. – 2007. – Vol. 46 (1). – P. 151 – 159.
10. Inhibition of Mammalian thioredoxin reductase by some flavonoids: implications for myricetin and quercetin anticancer activity / J. Lu, L. V. Papp, J. Fang [et al.] // Cancer Res. – 2006. – № 66 (8). – P. 4410–4418.
11. 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.
12. Lysophosphatidic acid induces alphavbeta6 integrin-mediated TGF-beta activation via the LPA2 receptor and the small G protein G alpha(q) / M. Y. Xu, J. Porte, A. J. Knox [et al.] // Am. J. Pathol. – 2009. – № 174 (4). – P. 1264–1279.
13. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease / M. Gaggini, M. Morelli, E. Buzzigoli [et al.] // Nutrients. – 2013. – №10;5(5). – P. 1544 – 1560.
14. Novo E. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis / E. Novo, M. Parola // Fibrogenesis Tissue Repair. – 2008. – № 1 (1). – P. 5.
15. 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.
16. Powell C. L. Mechanism for prevention of alcohol-induced liver injury by dietary methyl donors / C. L. Powell, B. U. Bradford, C. P. Craig [et al.] // Toxicol. Sci. – 2010. – Vol 115 (1). – P. 131–139.
17. Protective Effect of Betaine on Changes in the Levels of Membrane-bound ATPase activity and Mineral Status in Experimentally Induced Myocardial Infarction in Wistar Rats / B. Ganesan, S. Buddhan, R. Jeyakumar [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2009. – №8. – P. 543 – 557.
18. Protective effect of S-adenosyl-methionine against galactosamine-induced injury of rat hepatocytes in primary culture / O. Kucera, Z. Cervinková, H. Lotková [et al.] // Physiol. Res. – 2006. – №55 (5). – P. 551–560.
19. Pull I. Metabolism of (14C)adenine by cerebral tissues, superfused and electrically stimulated / I. Pull, H. McIlwain // Biochem. J. – 1972. – № 126. – P. 965–973.
20. Robert K. Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis, and steatosis in mice liver / K. Robert, J. Nehme, E. Bourdon [et al.] // Gastroenterology. – 2005. – № 128 (5). – P. 1405 – 1415.
21. Siddiqi N. J. Investigation into the distribution of total, free, peptide-bound, protein-bound, soluble- and insoluble-collagen hydroxyproline in various bovine tissues / N. J. Siddiqi, A. S. Alhomida // J. Biochem. Mol. Biol. – 2003. – № 36 (2). – P. 154–158.
22. Weber L. W. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model / L. W. Weber, M. Boll, A. Stampfl // Crit. Rev. Toxicol. – 2006. – № 33 (2). – P. 105–136.
23. Ykwon do Y. Impaired sulfur-amino acid metabolism and oxidative stress in nonalcoholic fatty liver are alleviated by betaine supplementation in rats / Y. Ykwon do, Y. S. Jung, S. J. Kim [et al.] // J Nutr. – 2009. – Vol. 139 (1). – P. 63–68.
24. Zhou J. Contributions of hyperhomocysteinemia to atherosclerosis: Causal relationship and potential mechanisms / J. Zhou, R. C. Austin // Biofactors. – 2009. – №35(2). – P. 120 – 129.

УДК 616. 83-005:577. 1:542. 231. 2:616. 36-004

ВПЛИВ ДОНОРІВ МЕТИЛЬНИХ ГРУП БЕТАЇНУ ТА S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНІНУ НА ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

Пентюк Н. О.

Резюме. Перебування щурів на високожировій дієті та введення CCl_4 протягом шести тижнів веде до розвитку важкого стеатозу та фіброзу печінки і супроводжується порушенням обміну гомоцистеїну та аденозину в печінці, гальмуванням процесів метилювання та активацією оксидативного стресу і ліпопероксидації. Донори метильних груп бетаїн та S-аденозилметіонін в значній мірі попереджали розвиток стеатозу печінки, однак лише бетаїн виявляв виразну антифіброзну активність. Антистеатогенна та антифіброзна активність бетаїну асоціювалась із зниженням рівня гомоцистеїну в сироватці крові, відновленням активності ферментів метилювання та нормалізацією обміну аденозину в печінці.

Ключові слова: цирроз печінки, гомоцистеїн, бетаїн, S-аденозилметіонін.

УДК 616. 83-005:577. 1:542. 231. 2:616. 36-004

ВЛИЯНИЕ ДОНОРОВ МЕТИЛЬНЫХ ГРУПП БЕТАИНА И S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У КРЫС

Пентюк Н. А.

Резюме. Пребывание крыс на высокожировой диете и введение CCl_4 на протяжении 6 недель привело к развитию стеатоза и фиброза печени, что сопровождалось нарушением обмена гомоцистеина и аденозина в печени, угнетением процессов метилирования, активацией оксидативного стресса и липопероксидации. Доноры метильных групп бетаин и S-аденозилметионин существенно предупреждали развитие стеатоза печени, но только бетаин имел значительную антифиброзную активность. Антистеатогенная и антифиброзная активность бетаина ассоциировалась со снижением уровня гомоцистеина в сыворотке крови, восстановлением активности ферментов метилирования и нормализацией обмена аденозина в печени.

Ключевые слова: цирроз печени, гомоцистеин, бетаин, S-аденозилметионин.

UDC 616. 83-005:577. 1:542. 231. 2:616. 36-004

Effect of betaine and S-adenosylmethionine on the formation of experimental liver cirrhosis

Pentiuk N. O.

Summary. Background and objectives. Hepatic steatosis is a profibrogenic factor. Impact of steatosis on the liver fibrosis development is realized through proinflammatory mediators, adipokines, insulin resistance and possibly disorders of homocysteine metabolism. It is probably that agents that modulate homocysteine metabolism may prevent of liver steatosis and fibrosis. Objective: to study the impact of donors of methyl groups such as betaine and S-adenosylmethionine on the development of liver cirrhosis in rats induced by CCl_4 administration and high-fat diet.

Methods. The rats of control group stayed on the physiological diet containing fats, carbohydrates (respectively, 16% and 60% of the total calorie content), casein, cellulose, a mixture of vitamins and salts. In animals of 2, 3 and 4 groups was established model of liver cirrhosis by administration CCl_4 (40% solution in vegetable oil, intragastric, 0.3 ml/100 g body weight twice a week) and high-fat diet (HFD) for 6 weeks. In HFD fat quota was increased to 50% of the total calorie content and reduced carbohydrate quota to 26%. HFD compared with physiological diet was contained the same of calories, protein, vitamins and salts. Animals 3 and 4, respectively, treated with betaine 250 mg/kg and S-adenosylmethionine 50 mg/kg 5 days per week for 6 weeks. We determined the contents of TGF- β 1, hyaluronate and homocysteine in serum, lipids and phospholipids in the liver, adenosine in urine. In postmitochondrial fraction of liver homogenate was determined enzymes activity of methylation and nucleotide metabolism.

Results. Administration of CCl_4 and HFD during 6 weeks caused a severe liver steatosis and fibrosis. The content of triglycerides and cholesterol in the liver increased, respectively, 2.0 and 2.1 times, total phospholipid content decreased by 17%. The level of liver phosphatidylcholine decreased 2-fold, and the level of lysophosphatidylcholine increased by 3 times. Serum levels of TGF- β 1 and hyaluronate increased to 6.8 and 2.3 times, the liver level of hydroxyproline – in 3.1 times. Liver fibrogenesis and steatogenesis was associated with homocysteine and adenosine metabolism disturbances. Serum homocysteine level of in animals with cirrhosis was increased by 2.6 times, activity of betaine homocysteine transferase, S-adenosylmethionine synthase in liver was significantly decreased, the phosphatidylethanolamine / phosphatidylcholine ratio was increased. Urinary excretion of adenosine increased by 3.7 times, activity of S-adenosylhomocysteine hydrolase, 5'-nucleotidase in liver was significantly increased, activity of adenosinedesaminase was decreased. Betaine significantly prevented excessive accumulation of lipids in the liver and inhibited of fibrosis. In particular, the serum levels of TGF- β 1 and liver hydroxyproline was almost twice lower than in animals of the experimental group. Betaine prevented of hyperhomocysteinemia and restoring methylation reactions and adenosine metabolism in liver. S-adenosylmethionine prevented liver fat accumulation such as betaine, but its antifibrotic activity was significantly lower. S-adenosylmethionine reduced homocysteine levels in serum, but its influence on methylation and adenosine metabolism was minimal.

Conclusion. Betaine and S-adenosylmethionine substantially prevented hepatic steatosis development, but only betaine showed a marked antifibrotic activity. Protective activity of betaine was associated with hypohomocysteinemic effect and normalization of methylation and adenosine metabolism in liver.

Key words: liver cirrhosis, homocysteine, betaine, S-adenosylmethionine.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 7.08.2013 р.