

*М.М. Йолтухівський***ВПЛИВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ ТА ВІТАМІНІВ В₆, В₉, В₁₂ ЯК МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ НА ІНДУКОВАНІ ЦИСПЛАТИНОМ ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ЩУРІВ***Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Україна*

Реферат. Цитостатик цисплатин, що широко застосовується в онкології, має виражену нефротоксичну дію. Для дослідження токсичності препарату та можливих шляхів корекції в роботі була використана модель цисплатинової нефропатії на білих щурах. Для формування експериментальної гіпергомоцистеїнемії в одній з дослідних груп додатково вводили тіолактон D,L-гомоцистеїну. Для корекції порушень обміну сірковмісних амінокислот ще одна група тварин протягом експерименту отримувала вітаміни В₆, В₉, В₁₂. Нами показано, що пошкодження нирок цисплатином асоціюється з порушенням обміну сірковмісних амінокислот. Виявлено дисбаланс в процесах транссульфування та метилювання гомоцистеїну, метаболізму цистеїну та продукції газотрансмітера гідроген сульфід у нирках. При цьому виникає гіпергомоцистеїнемія, гіперцистеїнемія та зниження рівня H₂S у сироватці крові. Достовірні зміни основних біохімічних показників функцій нирок указали, що введення тіолактону D,L-гомоцистеїну потенціює нефротоксичну дію цисплатину, а комплекс вітамінів В₆, В₉, В₁₂ проявляє нефропротекторний вплив.

Ключові слова: цисплатин, нефротоксичність, гомоцистеїн, цистеїн, гідроген сульфід, вітаміни В₆, В₉, В₁₂

В останні роки у зв'язку з широким застосуванням медикаментів частота уражень нирок зростає й досягла 10-20% від усієї ниркової патології. При лікуванні злоякісних пухлин часто використовуються цитостатик цисплатин. До побічних ефектів препарату відносять ототоксичність, гастротоксичність, міелосупресію й алергічні реакції [23]. Але найбільш виразним із побічних ефектів цисплатину є його нефротоксичність [14].

Пошуки альтернативних достатньо активних та менш токсичних цитостатиків досі триває. Одним із напрямів у вдосконаленні цитостатичної терапії цисплатином є використання засобів, що зменшують нефротоксичність препарату. На сьогодні відомо, що пошкодження нирок цисплатином здійснюється через різноманітні молекулярні механізми: процеси метаболічної активності, ініціювання оксидативного стресу, розвиток імунних та запальних реакцій, пошкодження мітохондрій та індукцію апоптозу [14]. Але патогенез цисплатинової нефропатії до кінця не з'ясований, що перешкоджає пошуку оптимальних шляхів корекції цього ускладнення.

Нефротоксичність цисплатину, як й інших ксенобіотиків, може реалізовуватись також через порушення гемодинаміки. Токсиканти впливають як на утворення вазоконстрикторів і вазодилататорів, так і на чутливість ниркових судин до цих вазорегуляторних молекул. Відомо, що викликана цисплатином нефротоксичність супроводжується змінами чутливості адренорецепторів

[25]. Встановлено, що до регуляції ниркового кровотоку залучені сірковмісні амінокислоти гомоцистеїн (ГЦ), цистеїн та їх біологічно-активний метаболіт гідроген сульфід (H₂S) [8]. Нещодавно нами показано, що за умов цисплатинової нефропатії знижується чутливість ниркових артерій до релаксуючої дії H₂S і цистеїну та зростає чутливість до констрикторних ефектів ГЦ [3]. Високі концентрації ГЦ викликають виражені морфологічні зміни в нирках, зокрема, значні пошкодження гломерулярного апарату й судин [11, 12]. Також нами було показано, що нефротоксична дія цисплатину асоціюється з порушенням обміну сірковмісних амінокислот у нирках [4]. Відомо, що вітаміни В₆, В₉, В₁₂ є попередниками коферментів ензимів обміну сірковмісних амінокислот. Вказані вітаміни відіграють ключову роль в метаболізмі ГЦ, а вітамін В₆ задіяний ще й в обміні цистеїну та синтезі сірководню. Використання цих вітамінів часто розглядається як один із шляхів корекції як гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ), так й інших патологічних станів, асоційованих з порушенням обміну вказаних амінокислот.

Метою нашої роботи було оцінити вплив ГГЦ та введення вітамінів В₆, В₉, В₁₂ на індуковані цисплатином зміни функціонального стану нирок щурів.

М а т е р і а л т а м е т о д и

В експерименті використано 60 білих самців щурів масою 180-220 г, які знаходилися на стандартному раціоні збалансованому за всіма нутрієнтами виробництва НВП Ф.У.Д. (м.Київ). Тварини були розподілені на 4 групи (по 15 тварин у кожній). Цисплатинову нефропатію викликали в щурів дослідних груп (№2-4) шляхом одноразового інтраперитонеального введення препарату в дозі 7 мг/кг маси тіла за 72 години до виведення тварин з експерименту. Щурам контрольної групи (№1) замість препарату вводили фізіологічний розчин. Тварини групи 3 для розвитку ГГЦ протягом 10 діб до та 3 доби після введення цисплатину отримували тіолактон DL-гомоцистеїну в дозі 200 мг/кг маси тіла 1 раз на добу інтрагастрально. Щури групи 4 отримували суміш вітамінів В₆, В₉ і В₁₂ (співвідношення 10:2:0,2) 1 раз на добу інтрагастрально в дозі, що забезпечувала надходження 0,714 мг вітаміну В₆, 0,143 мг вітаміну В₉ та 0,0143 мг вітаміну В₁₂ на 1 кг маси тіла. Уведення вітамінів розпочинали за 10 діб до моделювання цисплатинової нефропатії та продовжували

Таблиця 1. Вплив гіпергомоцистеїнемії та вітамінів В₆, В₉, В₁₂ на індуковані цисплатином зміни вмісту метаболітів у сироватці крові, сечі та нирках, а також активність гамма-глутамілтрансферази в сечі (M±m, n=15)

Показники	Характеристика груп			
	1 Контроль	2 Цисплатин	3 Цисплатин + ГГЦ	4 Цисплатин + вітаміни
Сироватка крові				
Загальний цистеїн, мкмоль/л	127±3,64	161±6,70*	171±3,49*	138±4,02#
Непротеїновий цистеїн, мкмоль/л	43,8±1,64	63,5±3,31*	69,1±3,37*	48,1±1,31#
Протеїнзв'язаний цистеїн, мкмоль/л	83,1±2,59	97,5±8,14	102±3,90*	90,0±3,91
Загальний ГЦ, мкмоль/л	6,46±0,21	12,3±0,56*	17,9±0,65**	7,03±0,21#
Гідроген сульфід, мкмоль/л	78,5±2,59	64,0±4,28*	58,0±2,47*	75,8±3,39#
Протеїнзв'язані -SH групи, мкмоль/л	8,87±0,09	7,57±0,14*	7,00±0,16**	7,98±0,17*
NO ²⁻ +NO ³⁻ , мкмоль/л	43,8±1,13	35,8±0,93*	30,4±1,66**	38,6±1,34*
Сечовина, ммоль/л	4,70±0,22	28,2±1,14*	35,3±0,79**	11,4±1,00**
Креатинін, мкмоль/л	109±4,87	360±11,8*	457±15,7**	187±6,21**
Кліренс креатиніну, мл/хв	0,93±0,04	0,29±0,01*	0,20±0,01**	0,49±0,03**
Сеча				
Креатинін, ммоль/л	4,90±0,12	2,99±0,13*	2,59±0,09**	3,84±0,26**
Активність ГГТ, нмоль/хв×мл	0,88±0,05	2,84±0,08*	3,05±0,05**	1,25±0,04**
Постядерний гомогенат нирок				
Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	1,56±0,06	0,89±0,05*	0,74±0,04**	1,01±0,04*
ФЕА, мкг/мг протеїну	57,8±2,0	72,4±2,55*	80,1±2,05**	60,4±1,59#
ФХ, мкг/мг протеїну	68,1±1,6	49,9±1,71*	41,2±1,88**	64,3±2,09#
ФХ/ФЕА	1,19±0,04	0,70±0,04*	0,52±0,02**	1,08±0,04#

Примітка: ГГЦ - гіпергомоцистеїнемія; ГГТ - гама-глутамілтрансфераза; ФЕА - фосфоетаноламін; ФХ - фосфатидилхолін; (1) * - достовірні (p<0,05) зміни показників відносно групи №1 (контроль); (2) # - достовірні (p<0,05) зміни показників відносно групи 2 (введення цисплатину)

ли до кінця експерименту. Евтаназію тварин здійснювали під легким ефірним наркозом шляхом дислокації шийних хребців у відповідності до міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (м. Страсбург, 1986). При проведенні біохімічних досліджень користувались пост'ядерним гомогенатом нирок, сироваткою та сечею тварин.

Цистатіоназну активність ЦГЛ визначали за утворенням цистеїну в реакції розщеплення цистатіоніну [24], а цистатіонінсинтазну активність ЦБС за утворенням цистатіоніну в реакції конденсації гомоцистеїну з серином [22]. Рівень серину та цистатіоніну в гомогенаті нирок досліджували методом тонкошарової хроматографії на целюлозі [22]. S-аденозилгомоцистеїнгідролазну (АГГ) (КФ 3.3.1.1) активність визначали в реакції гідролізу S-аденозилгомоцистеїну за приростом

Таблиця 2. Вплив гіпергомоцистеїнемії та вітамінів В₆, В₉, В₁₂ на індуковані цисплатином зміни активності ензимів, що приймають участь в обміні сірковмісних амінокислот, продукції Н₂S і NO в нирках щурів (M±m, n=15)

Показники активності ферментів (нмоль/хв на 1 мг протеїну)	№ та характеристика груп			
	1 Контроль	2 Цисплатин	3 Цисплатин + ГГЦ	4 Цисплатин + вітаміни
Транссульфування ГЦ				
Цистатіонін-бета-синтаза (цистатіонінсинтазна активність)	15,7±0,47	11,2±0,65*	9,03±0,55**	15,0±0,45#
Цистатіонін-гама-ліаза (цистатіоназна активність)	15,8±0,50	11,9±0,37*	9,10±0,46**	14,5±0,64#
Метилування ГЦ				
Бетаїнгомоцистеїнметилтрансфераза	2,45±0,23	1,11±0,08*	0,91±0,05**	1,85±0,12**
Метіонінаденозилтрансфераза	3,19±0,09	2,16±0,09*	1,81±0,06**	2,79±0,22#
S-аденозилгомоцистеїнгідролаза	4,90±0,23	1,59±0,12*	0,88±0,05**	4,10±0,15#
Метаболізму цистеїну				
Сульфітоксидаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	7,40±0,37	5,48±0,33*	4,84±0,26*	6,39±0,22**
Гама-глутамілцистеїнсинтаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	3,48±0,19	2,91±0,20*	2,71±0,14*	3,31±0,13
Продукції Н ₂ S				
Цистатіонін-бета-синтаза	2,18±0,09	1,50±0,18*	1,26±0,10*	2,02±0,11#
Цистатіонін-гама-ліаза	1,61±0,07	1,17±0,12*	0,92±0,09*	1,49±0,07#
Цистеїнамінотрансфераза	2,54±0,09	1,77±0,22*	1,14±0,10**	2,39±0,11#
Інші				
Тіоредоксинредуктаза	5,49±0,34	4,30±0,35*	3,92±0,30*	4,24±0,24*
NO-синтаза [§]	10,7±0,66	7,95±0,58*	6,53±0,29**	8,64±0,24*

Примітка: ГГЦ - гіпергомоцистеїнемія; ГЦ - гомоцистеїн; (1) * - достовірні (p<0,05) зміни показників відносно групи 1 (контроль); (2) # - достовірні (p<0,05) зміни показників відносно групи 2 (введення цисплатину); (3) § - активність NO-синтази визначалась у пмоль/хв на 1 мг протеїну

сульфгідрильних груп [27]. Активність метіонінаденозилтрансферази (МАТ) (КФ 2.5.1.6) визначали за приростом неорганічного фосфату [15], а бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (БГМТ) (КФ 2.1.1.5) — за зниженням вмісту сульфгідрильних груп [18]. Активність сульфітоксидази (КФ 1.8.3.1), гамма-глутамілцистеїнсинтази (КФ 6.3.2.2) визначали за описаними методиками [16, 31]. Активність Н₂S-синтезуючих ензимів цистатіонін-гамма-ліази (ЦГЛ) (КФ 4.4.1.1), цистатіонін-бета-синтази (ЦБС) (КФ 4.2.1.22) та цистеїнамінотрансферази (ЦАТ) (КФ 2.6.1.3) у постядерному гомогенаті нирок оцінювали за приростом сульфід аніону [9]. Сумарну активність NO-

синтаз (eNOS та iNOS) у гомогенатах нирок встановлювали за кількістю утвореного нітританіону (NO²⁻) [26]. Вміст метаболітів оксиду азоту — нітритів та нітратів визначали за реакцією з реактивом Гріса [6]. Для оцінки процесів оксидативного стресу визначали активність тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9) у постядерному гомогенаті нирок, вміст SH- груп протеїнів та відновленого глутатіону в сироватці [13, 28].

Рівень загального цистеїну в сироватці крові (сума цистеїну та цистину) визначали за реакцією з нінгідриним реактивом [18]. Загальний рівень ГЦ у сироватці крові визначали імуоферментним методом з використанням набору фірми

“Axis-Shield”. Вміст протеїну в сироватці крові, гомогенаті нирок та сечі визначали мікробіуретовим методом [7]. Вміст H_2S у сироватці визначали за реакцією утворення тіоніну з використанням *p*-фенілендіаміну [1, 2]. Вміст креатиніну в сироватці крові та сечі визначали за методом Яффе набором фірми Філісіт-Діагностика. Кліренс креатиніну розраховували за відомими формулами [10]. Активність гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) (КФ 2.3.2.2) у сечі оцінювали за швидкістю вивільнення 4-нітроаніліну з гамма-глутамілнітроаніліду стандартним набором фірми Філісіт-Діагностика. Фосфоліпідний спектр визначали методом тонкошарової хроматографії на силікагелі Л5/40, використовуючи систему розчинників хлороформ:метанол:вода у співвідношенні за об'ємом 65:30:5. Ідентифікацію індивідуальних фосфоліпідів після їх хроматографічного розділення проводили методом свідків, за допомогою якісних реакцій на холін, етаноламін та за величинами R_f , відомими з літератури [5].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми «MS Excel XP». Вірогідність відмінностей показників оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента. У роботі були використані цисплатин (EBEWE, Австрія), тіолактон DL-гомоцистеїну, L-цистеїн, аденозин, S-аденозилгомоцистеїн, $Na_2S \cdot 9H_2O$, дитіотреїтол (Sigma, США), набір Homocysteine EIA (Axis-Shield, Великобританія). Інші реактиви були вітчизняного виробництва категорії хч.

Результати та обговорення

Через 3 доби після інтраперитонеального введення щурам цисплатину (група 2) була виявлена виражена нефротоксична дія цисплатину (табл. 1). Так, ознаками порушення екскреторної функції нирок були такі: підвищення вмісту креатиніну та сечовини в плазмі крові в 3,3 та 6,0 разів відповідно, зменшення екскреції креатиніну з сечею в 1,6 рази, а також зниження кліренсу креатиніну - у 3,2 рази. Окрім цього, відмічалось підвищення активності ГГТ у сечі в 3,2 рази, що вказувало на пошкодження клітин тубулярного апарату нирок. Експериментальна ГГЦ (введення тіолактону D,L-ГЦ, група 3) потенціювала вказану нефротоксичну дію цисплатину, про що свідчили достовірні зміни основних показників функції нирок порівняно з групою тварин, яким вводили лише цисплатин. Протилежна картина спостерігалась у групі тварин, що отримували комплекс вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} , який виявив нефропротекторну дію: функція нирок істотно покращилась, хоча повністю не відновились.

Крім того, за цисплатинової нефропатії в крові виявлялась гіпергомоцистеїнемія та гіперцистеїнемія (в останньому випадку - за рахунок непротеїнового цистеїну), зниження рівня -SH груп білків, гідроген сульфід та метаболітів NO (NO^2^- і NO^3^-). Вірогідно, що причиною високого рівня ГЦ в крові за цих умов є ниркова недостатність, яка вже є класичним прикладом причин виникнення ГГЦ [11]. Стосовно вмісту ГЦ, H_2S , -SH груп білків та метаболітів NO в сироватці крові виявлено, що експериментальна ГГЦ достовірно посилювала патогенетичну дію цисп-

латину. Вітамінний комплекс в цілому послаблював негативний вплив цисплатину, і нормалізація показників відмічалась щодо концентрації ГЦ, цистеїну та H_2S в сироватці крові. У постядерному гомогенаті нирок (табл. 1, група 2) відмічено зменшення концентрації відновленого глутатіону (G-SH) та продукту метилування фосфоеаноламіну (ФЕА) – фосфатидилхоліну (ФХ). Останні два показники обернено взаємопов'язані, внаслідок чого підвищення рівня ФЕА супроводжується зменшенням співвідношення ФХ/ФЕА, що є ознакою порушення процесів метилування (гіпометилування) за цисплатинової нефропатії. Уведення тіолактону D,L-ГЦ підсилювало негативну дію цисплатину щодо наведених показників, а вітамінний комплекс виявив протилежний вплив окрім відновленого глутатіону, рівень якого хоча і підвищився під впливом вітамінів, але не досяг контрольної величини. Гіпометилування вважають головним механізмом пошкоджуючої дії ГГЦ. Причиною зменшення інтенсивності процесів метилування біомолекул (ДНК, білків, ліпідів тощо) є зростання при цьому концентрації S-аденозилгомоцистеїну – потужного інгібітора метилтрансфераз [11].

Для вивчення можливих механізмів нефротоксичної дії цисплатину, а також моделюючих ефектів у цих умовах тіолактону DL-ГЦ та вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} нами проведені дослідження активності ферментів, діяльність яких має пряме відношення до формування рівнів показників (табл. 1, 2).

Цисплатинова нефропатія супроводжувалась достовірним зниженням активності ензимів, метаболізуючих ГЦ шляхом як транссульфування, так і метилування. Саме це могло бути однією з головних причин розвитку ГГЦ. Реєструвалось також зменшення ($p < 0,05$) активності ферментів утилізації цистеїну, що, на нашу думку, призвело до зростання його рівня в крові. Також відмічалось достовірне зниження активності одного з ферментів антиоксидантного захисту тіоредоксинредуктази, що могло викликати зниження рівня -SH груп білків. Подібні зміни відмічались стосовно H_2S -продукуючих ензимів та NO-синтази, що відобразилось відповідно зниженням рівня гідроген сульфід та метаболітів нітроген монооксиду в сироватці крові.

За умов експериментальної ГГЦ цисплатинова нефропатія супроводжується потенціюванням дисбалансу процесів транссульфування та метилування ГЦ, метаболізму цистеїну та продукції газотрансмітерів H_2S і NO в нирках. Так, відмічалось більш виражене порушення процесів транссульфування ГЦ у нирках порівняно з групою 2, а саме, достовірне зменшення цистатіонінсинтазної активності ЦБС та цистатіоназної активності ЦГЛ. Також спостерігалось істотне зменшення активності ензимів циклу метилування ГЦ. Щодо активності ензимів метаболізуючих цистеїн, то зниження виявилось недостовірним або лише близьким до достовірного. Порушення тіолсульфідного обміну та посилення оксидативного стресу проявлялись незначним зменшенням активності тіоредоксинредуктази. Також було вста-

новлено, що експериментальна ГЦ порушує здатність нирок до продукції H_2S в умовах цисплатинової нефропатії. Зокрема, спостерігалось достовірне зниження активності ЦАТ. За цих умов також прогресувало порушення продукції ще одного важливого біорегулятора – NO, оскільки активність NO-синтази також знижувалась ($p < 0,05$) (табл. 2).

За умов попереднього введення тваринам з цисплатиновою нефропатією вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} , (табл. 2, група 4) спостерігалось зменшення ступеня дисбалансу процесів транссульфування і метилування ГЦ, метаболізму цистеїну та продукції газотрансмітерів H_2S і NO в нирках. Відмічалось зростання активності ензимів шляху транссульфування ГЦ ($p < 0,05$). Також спостерігалось істотне збільшення активності ензимів циклу метилування ГЦ відносно групи тварин, які отримували лише цисплатин. Так, активність БГМТ, МАТ та АГГ зростала в 1,7, 1,3 та 2,6 рази відповідно. Достовірно не відрізнялись від контролю показники активності МАТ та АГГ. Такі зміни сприяли нормалізації рівня ГЦ в крові. Реєструвалось достовірне або близьке до такого зростання активності ензимів, метаболізуючих цистеїн. Це дозволило нормалізувати загальний рівень цистеїну в крові. За умов введення вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} спостерігалось достовірне відновлення десульфуразної активності ЦБС, ЦГЛ і ЦАТ – ензимів залучених до продукції H_2S у нирках. За рахунок вітамінів вдалось нівелювати негативний вплив цисплатину на рівень H_2S в сироватці крові. Таким чином, попереднє введення тваринам вітамінного комплексу сприяло зменшенню ступеня ураження нирок цисплатином, хоча повністю не попереджувало.

Отримані дані свідчать про те, що ушкодження нирок цисплатином асоціюється з порушенням обміну сірковмісних метаболітів. Ця закономірність може розглядатись як один з патогенетичних чинників у розвитку цисплатинової нефропатії, а можливо й інших токсичних пошкоджень нирок. В умовах експериментальної ГЦ викликана цисплатином нефропатія супроводжується більш вираженими змінами показників функції нирок. На нашу думку, це в першу чергу пов'язано з потенціюванням дисбалансу в обміні сірковмісних метаболітів. Також за умов ГЦ зростає ступінь оксидативного стресу індукованого цисплатином, посилюється пряма токсична дія ГЦ на білкові структури клітин, пригнічуються процеси метилування в нирках. Одним із механізмів нефротоксичної дії цисплатину в умовах ГЦ також може бути суттєве пригнічення продукції H_2S , як одного з регуляторів судинного тону та процесів фільтрації в нирках. На нашу думку, дефіцит гідроген сульфіді обумовлений тим, що надлишок ГЦ створює умови для ковалентної модифікації ензимів, які продукують H_2S , і прискореної деградації молекул H_2S . Останнім часом акцентується увага на ролі порушення продукції ендогенного H_2S у розвитку багатьох патологічних станів і в тому числі захворювань нирок. Показано, що інгібування ендогенного утворення H_2S супроводжується

втратою цілісності епітелію в різних органах і активацією в них запальних процесів [14]. Існують дані, що H_2S необхідний для захисту нирок в умовах ішемії/реперфузії [19].

Усе частіше з'являються повідомлення, що для зниження рівня ГЦ у ренальних хворих використовують вітаміни B_6 , B_9 , B_{12} [30]. Одержані нами результати вказують на те, що попереднє введення вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} (есенціальних чинників метаболізму гомоцистеїну та цистеїну) має нефропротекторну дію в умовах цисплатинового пошкодження нирок. Визначальним, на нашу думку, в цьому є зменшення токсичності надлишку ГЦ та попередження розладів продукції H_2S у нирках.

Таким чином, введення щурам цисплатину викликає збільшення рівня гомоцистеїну та цистеїну, а також зменшення вмісту гідроген сульфіді в сироватці крові. Вказані зміни зумовлені зменшенням активності ензимів циклу метилування, процесів транссульфування та утворення гідроген сульфіді в нирках. Гіпергомоцистеїнемія (індукована введенням D,L-гомоцистеїн тіолактону) потенціює дисбаланс метаболізму сірковмісних амінокислот та гідроген сульфіді в нирках, що асоціюється з посиленням нефротоксичності цисплатину. Використання комплексу вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} протидіє порушенню обміну сірковмісних метаболітів в умовах цисплатинового ураження нирок, проявляючи цим нефропротекторний вплив.

М.М. Yoltukhivsky

Effect of hyperhomocysteinemia and vitamin B_6 , B_9 , B_{12} as modulators of sulfur-containing amino acid metabolism on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats

Cytostatic agent cisplatin is widely used in oncology and thus has a pronounced nephrotoxic effect. To investigate the possible mechanisms and ways of correction was used the model of cisplatin-induced nephropathy in white rats. In order to form an experimental hyperhomocysteinemia one of additional experimental groups was injected DL-Homocysteine thiolactone. For the correction of the exchange of sulfur amino acids metabolism, another group of animals during the experiment received vitamins B_6 , B_9 , B_{12} . We have shown that cisplatin-induced kidney damage associated with violation of metabolism of sulfur-containing amino acids. An imbalance in the processes of methylation and transsulfuration of homocysteine, cysteine metabolism and production of hydrogen sulfide as a gasotransmitter in the kidney were revealed. This gives rise to hyperhomocysteinemia, hypercysteinemia and reduction of serum H_2S . Significant changes in the basic biochemical parameters of renal function indicate that the introduction of DL-Homocysteine thiolactone potentiates the nephrotoxic effects of cisplatin, but a complex of vitamins B_6 , B_9 , B_{12} shows nephroprotective effects (University clinic. — 2013. — Vol.9, №2. — P. 205-210).

Key words: cisplatin, nephrotoxicity, homocysteine, cysteine, hydrogen sulfide, vitamins B_6 , B_9 , B_{12} .

Н.М. Йолтуховский

Влияние гипергомоцистеинемии и витаминов В₆, В₉, В₁₂ как модуляторов обмена серосодержащих аминокислот на индуцированные цисплатином изменения функционального состояния почек крыс

Цитостатик цисплатин широко применяется в онкологии и при этом имеет выраженное нефротоксическое действие. Для исследования токсичности препарата и возможных путей коррекции в работе была использована модель цисплатиновой нефропатии на белых крысах. Для формирования экспериментальной гипергомоцистеинемии одной из подопытных групп дополнительно вводили тиолактон D,L-гомоцистеина. Для коррекции нарушений обмена серосодержащих аминокислот еще одна группа животных в течение эксперимента получала витамины В₆, В₉, В₁₂. Нами показано, что повреждение почек цисплатином ассоциируется с нарушением обмена серосодержащих аминокислот. Выявлен дисбаланс в процессах транссульфирования и метилирования гомоцистеина, метаболизма цистеина и продукции газотрансмиттера сероводорода в почках. При этом возникает гипергомоцистеинемия, гиперцистеинемия и снижение уровня H₂S в сыворотке крови. Достоверные изменения основных биохимических показателей функции почек указывают на то, что введение тиолактона D,L-гомоцистеина потенцирует нефротоксическое действие цисплатина, а комплекс витаминов В₆, В₉, В₁₂ проявляет нефропротекторное влияние (Университетская клиника. — 2013. — Т.9, №2. — С. 205-210) Ключевые слова: цисплатин, нефротоксичность, гомоцистеин, цистеин, сероводород, витамины В₆, В₉, В₁₂.

ЛІТЕРАТУРИ

1. Визначення вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові / Н.В. Заїчко, Н.О. Пентюк, Л.О. Пентюк [та ін.] // Вісн. наук. досліджень. — 2009. — № 1. — С. 29-32.
2. Заїчко Н.В. Вплив тиолактину гомоцистеїну, цистеїну та гідроген сульфїду на систему гемостазу кролів / Н.В. Заїчко // Мед. хімія. — 2009. — Т. 11, № 2. — С. 51-56.
3. Йолтухівський М.М. Вплив сірковмісних метаболітів на тонус ниркових артерій щурів за цисплатиної нефропатії та її поєднання з гіпергомоцистеїнемією / М.М. Йолтухівський // Вісник української стоматологічної академії. — 2011. — Т.11, №4 (36), Ч.2. — С. 85-89.
4. Йолтухівський М.М. Стан ензимних систем транссульфування сірковмісних амінокислот в нирках за умов цисплатиної нефропатії у щурів / М.М. Йолтухівський, Н.В. Заїчко, О.В. Тертишна // Матеріали Х Українського біохімічного з'їзду, 13-17 вересня 2010 р., Одеса. — Укр. біохім. журн. — 2010. — Т. 82, №4 (додаток 2). — С. 89-90.
5. Кейтс М. Техника липидології. Виведення, аналіз і ідентифікація ліпидів / М. Кейтс. — М.: Мир, 1975. — С. 322 с.
6. Коренман И.М. Фотометрический анализ: Методы определения органических соединений / И. М. Коренман. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Химия, 1975. — С. 359 с.
7. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов. — М.: Высш. шк., 1980. — С. 324 с.
8. Мельник А.В. Дослідження ролі гідроген сульфїду та сірковмісних амінокислот в регуляції тонусу ниркових артерій та фільтрації в нирках / А.В. Мельник // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії — 2009. — Т. 9, Вип. 4 (28), Ч. 3. — С. 98-102.
9. Мельник А.В. Активність ензимів синтезу гідроген сульфїду в нирках щурів / А.В. Мельник., О.О. Пентюк // Укр. біохім. журн.- 2009.- № 4.- С. 12-22.
10. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В.Меньшиков. — М.: Медицина, 1987. — С. 368 с.
11. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / О.О. Пентюк, Б.М. Луцюк, І.І. Андрушко [та ін.] // Український біохімічний журнал. — 2003. — Т. 75, № 1. — С. 5-17.
12. Морфологічні зміни в органах тварин з експериментальною гіпергомоцистеїнемією та можливість їх корекції дієтами, збагаченими вітамінами / К.П. Постовітенко, О.О. Пентюк, М.Б. Луцюк, О.В. [та ін.] // Вісник морфології. — 2005. — Т.11, №2. — С. 287-291.
13. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / В.Н. Орехович. — М.: Медицина, 1977. — С. 392 с.
14. Arany I. Cisplatin nephrotoxicity / I. Arany, R.L. Safirstein // Semin. Nephrol. — 2003. — Vol. 23. — P. 460-464.
15. 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.
16. Cohen H.J. Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties. / H.J. Cohen, I. Fridovich // J. Biol. Chem. — 1971. — Vol. 246, №2. — P. 359-366.
17. Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception / T. M. Cunha, D. Dal-Secco, W. A. Verri [et al.] // Eur. J. Pharmacol. — 2008. — Vol. 590. — P. 127-135.
18. Ericson L-E. Betaine-homocysteine methyltransferases: Distribution in nature / L-E. Ericson // Acta Chem. Scand. — 1960. — Vol. 14. — P. 2102-2112.
19. Gaitonde M.K. A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids / M.K. Gaitonde // Biochem J. — 1967. — Vol. 104, №. 2 — P. 627-33.
20. Garlick P.J. Toxicity of methionine in humans / P.J. Garlick // J. Nutr. — 2006. — Vol. 136(6). — P. 1722-1725.
21. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine gamma-lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction / P. Tripathi, N. S. Patel, M. Collino [et al.] // Lab. Invest. — 2008. — Vol. 88, № 10. — P. 1038-1048.
22. Goldstein J.L. Cystathionine synthase activity in human lymphocytes: induction by phytohemagglutinin / J.L. Goldstein, B.K. Campbell, S.M. Garter // J. Clin. Invest. — 1972. — Vol. 51, № 4. — P. 1034-1037.
23. Hartmann J.T. Toxicity of platinum compounds. / J.T. Hartmann, H.-P. Lipp // Expert Opin. Pharmacother. — 2003. - Vol. 4. — P. 889-901.
24. Heinonen K. Studies on cystathionase activity in rat liver and brain during development / Heinonen K. // Biochem. J. — 1973. — Vol.136(4). — P. 1011-1015
25. Hye Khan M.A. Cisplatin-induced nephrotoxicity causes altered renal hemodynamics in Wistar Kyoto and spontaneously hypertensive rats: role of augmented renal alpha-adrenergic responsiveness / M.A. Hye Khan, M. Abdul Sattar, N.A. Abdullah, E.J. Johns // Exp. Toxicol. Pathol. — 2007. - Vol. 59 (3-4). — P. 253-260.
26. Hula N.M. Effect of N-stearoyl ethanolamine on the level of stable NO metabolites in different pathological conditions which are accompanied by oxidative stress / N.M. Hula, H.V. Kosiakova, N.L. Kindruk, T.O. Khmel' // Ukr. Biokhim. Zh. — 2005. - Vol. 77, № 3. — P. 113-119.
27. 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.
28. Moore E.C. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleotides. V. Purification and properties of thioredoxin reductase from *Escherichia coli* B. / E.C. Moore, P. Reichard, L. Thelander // J. Biol. Chem. — 1964. — Vol.239. — P.3445-3452.
29. Saleh S. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide / S. Saleh, E. El-Demerdash // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. — 2005. — Vol. 97, № 2. — P. 91-97.
30. Treatment of hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in renal transplant recipients with B vitamins in the Chinese population / Xu T, Zhang XW, Qu XK [et al.] // J. Urol. — 2008. — Vol. 179, № 3. — P. 1190-1194.
31. Yan C.C. Fluorimetric determination of monobromobimane and o-phthalaldehyde adducts of L-glutamylcysteine and glutathione: application to assay of L-glutamylcysteinyl synthetase activity and glutathione concentration in liver / Yan C.C., Huxtable R. J. // J. Chromatogr. B Biomed. Appl. — 1995. — Vol. 672. — P. 217-224.

Надійшла до редакції: 16.02.2013