

ОБМЕН ГОМОЦИСТЕИНА, ЦИСТЕИНА И ОБРАЗОВАНИЕ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА ПРИ ГИПЕР- И ГИПОТИРЕОЗЕ

В.М. НЕЧИПОРУК¹, М.М. КОРДА²

1 - Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова, Украина, г. Винница;

2 - Тернопольский Государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского, Украина, г. Тернополь

ГИПЕР- ВА ГИПОТИРЕОЗДА ГОМОЦИСТЕИН, ЦИСТЕИН АЛМАШИНУВИ ВА ГИДРОГЕН СУЛЬФИДНИНГ ПАЙДО БЎЛИШИ

В.М. НЕЧИПОРУК¹, М.М. КОРДА²

1 – М.И. Пирогов номидаги Винница миллий медицина университети, Украина, Винница;

2 – И.Я. Горбачевский номидаги Тернополь Давлат медицина университети, Украина, Тернополь

METABOLISM OF HOMOCYSTEINE, CYSTEINE AND HYDROGEN SULPHIDE FORMATION IN HYPER- AND HYPOTHYROIDISM

V.M. NECHIPORUK¹, M.M. KORDA²

1 - Vinnitsa National Medical University named after M.I. Pirogov, Ukraine, Vinnitsa;

2 - Ternopil State Medical University named after I.Ya. Gorbachevsky, Ukraine, Ternopol

Каламушларда гипертиреоз ёки гипотиреозни келтириб чиқариш учун ҳар куни меъда ичак тракти орқали L-тироксин (200 мкг/сутка 1 кг тана вазнига) ёки мерказолил (10 мг/сутка 1 кг тана вазнига) 14 ва 21 кун давомида берилди. Ҳайвонларга L-тироксин юборгандан сўнг қон зардобиди тироксин миқдори 83 ва 136% га ошди, тиреотропгармон (ТТГ) миқдори эса камайди (56 ва 76%). Мерказолил юборилган каламушлар қон зардобиди эркин тироксин миқдори 38 ва 62 % га камайди ва ТТГ миқдори 59 ва 550% га ошди, бунда эркин трийодтиронин миқдори 66 ва 74% га камайди. Экспериментал гипотиреоз қонда цистеин миқдорининг ошиши билан кечди (14 кунда 24% га ва 21 кунда 39% га). Мерказолил қўллагандан сўнг гомоцистеин миқдори ошди (98 ва 160%) ва гидроген сульфид миқдори камайди (17 ва 24%). Шундай қилиб, олтингугурт сақловчи аминокислоталар алмашинувининг бузилиши гипотиреоз билан оғриган беморларда кардиоваскуляр асоратлар ривожланишида маълум патогенетик роль уйнаши мумкин.

Калит сўзлар: *гипертиреоз, гипотиреоз, гомоцистеин, цистеин, гидроген сульфид.*

For hyperthyroidism and hypothyroidism modeling L-thyroxine (200 g/day per 1 kg of body weight) or merkazolil (10 mg/day per 1 kg of body weight) were administered to rats intraperitoneally daily for 14 and 21 days. Administration of L-thyroxine resulted in the increase of serum free thyroxine concentration by 83 and 136%, at the same time the thyroid-stimulating hormone level was significantly decreased (by 56 and 76%). Merkazolil caused the decrease of serum free thyroxine level by 38 and 62% and increase of thyroid-stimulating hormone by 59 and 550%, while the level of free triiodothyronine was decreased by 66 and 74%. Experimental hypothyroidism was accompanied with the increase of cysteine level in blood (by 24% on 14-th day and 39% on 21-st day). Merkazolil resulted also in the increase of homocysteine concentration (by 98 and 160%) and decrease of hydrogen sulphide level (by 17 and 24%). It has been concluded that disorders of sulfur amino acids metabolism could play a pathogenic role in the development of cardiovascular complications in patients with hypothyroidism.

Keywords: *hyperthyroidism, hypothyroidism, homocysteine, cysteine, hydrogen sulfide.*

Актуальность проблемы. Широкая биологическая роль серосодержащих аминокислот объясняет тот факт, что генетические или приобретенные дефекты ферментов, которые регулируют их обмен, ассоциируются с развитием различных патологий, включая болезнь Альцгеймера, злокачественные опухоли, болезни почек и др. [10, 13]. Особое внимание уделяется в последние годы обмену аминокислоты гомоцистеина. Повышение в крови концентрации гомоцистеина является серьезным фактором риска развития ряда тяжелых заболеваний сердечно-сосудистой системы [2]. Регуляция метаболизма серосодержащих аминокислот осуществляется

на разных уровнях, в том числе и эндокринной системой. Одними из самых важных гормонов, регулирующих все виды метаболизма в организме, являются тиреоидные гормоны. Очевидно, что гипер- или гипопродукция этих гормонов приведет и к нарушениям обмена серосодержащих аминокислот. На сегодня неисследованным является вопрос влияния тиреоидных гормонов на метаболизм цистеина и гомоцистеина, а также на образование гидроген сульфида в организме.

Материалы и методы. Для исследований использованы 58 беспородных крыс-самцов массой 150-180 г. Всех животных разделили на 5

групп: 1-я – контроль (интактные крысы). Этой группе животных энтерально вводили раствор 1% крахмала; 2-я – животные, у которых вызывали гипертиреоз (ежедневно в течение 14 дней вводили энтерально L-тироксин на 1% растворе крахмала по 200 мкг/сутки на 1 кг массы); 3-я – животные с гипертиреозом, которым L-тироксин вводили в течение 21 дня по вышеуказанной схеме; 4-я – животные, у которых вызывали гипотиреоз (ежедневно в течение 14 дней вводили энтерально мерказолил на 1% растворе крахмала по 10 мг/сутки на 1 кг массы); 5-я – животные с гипотиреозом, которым вводили мерказолил в течение 21 дня по вышеуказанной схеме. На 14-й и 21-й день крыс декапитировали под легким эфирным наркозом. Для исследований использовали сыворотку крови. Для подтверждения состояний гипер- и гипотиреоза в сыворотке крови определяли содержание свободного тироксина, свободного трийодтиронина и тиреотропного гормона (ТТГ) иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы «Диагностические системы» (Россия), в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. В сыворотке крови определяли общее содержание гомоцистеина иммуноферментным методом с использованием набора фирмы «Axis-Shield» (Великобритания), а также цистеина – по реакции с нингидриновым реактивом в кислой среде [6]. Содержание гидроген сульфида в сыворотке крови определяли по реакции образования тионина с использованием N,N-диметил-*n*-фенилендиамина [1,3]. Опыты выполняли согласно правилам гуманного отношения к экспериментальным животным, утвержденных комитетом по биоэтике Винницкого национального медицинского университета им. М.И. Пирогова.

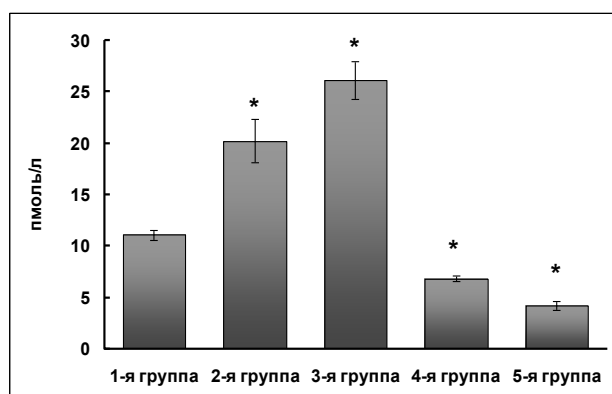


Рис. 1. Содержание свободного тироксина (пмоль/л) в сыворотке крови крыс с гипер- и гипотиреозом. * – здесь и в следующих рисунках изменения достоверны по сравнению с контрольной группой (первая группа) животных.

Результаты выражали как среднее ± SEM с 10 экспериментов. Изменения $P < 0,05$ рассматривались как статистически достоверны. Статистический анализ выполняли, используя стандартные статистические программы и критерий t Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Ежедневное введение животным по 200 мкг/кг L-тироксина в течение 14-ти и 21-го дней вызывало состояние постоянного гипертиреоза, что подтверждалось увеличением в крови крыс 2-й и 3-й групп концентрации свободного тироксина (на 14-й день – на 83% (с $11,07 \pm 0,47$ до $20,23 \pm 2,10$ пмоль/л), на 21-й день – на 136% (с $11,07 \pm 0,47$ до $26,12 \pm 1,85$ пмоль/л)) (рис. 1). При этом концентрация ТТГ достоверно уменьшалась (на 14-й день – на 56% (с $0,34 \pm 0,03$ до $0,15 \pm 0,02$ мМЕ/л), на 21-й день – на 76% (с $0,34 \pm 0,03$ до $0,08 \pm 0,01$ мМЕ/л)) (рис. 2).

Концентрация свободного трийодтиронина при введении L-тироксина имела только тенденцию к увеличению в оба термина эксперимента, но при статистическом анализе изменения оказались недостоверными (рис. 3). Для подавления продукции тиреоидных гормонов использовали препарат мерказолил (1-метил-2-меркаптоимидазола), который блокирует фермент пероксидазу, участвующей в йодировании тиронина в щитовидной железе в трийодтиронин и тетраiodтиронин. Как видно из рисунка 1, введение животным мерказолила в течение 14-ти дней вызвало уменьшение содержания свободного тироксина в сыворотке крови на 38% (с $11,07 \pm 0,47$ до $6,84 \pm 0,27$ пмоль/л), дальнейшее введение препарата в течение 21-го дня привело к уменьшению свободного тироксина на 62% (с $11,07 \pm 0,47$ до $4,25 \pm 0,42$ пмоль/л).

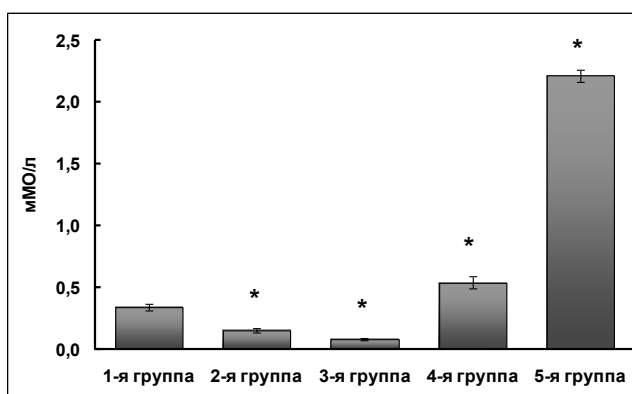


Рис. 2. Содержание тиреотропного гормона (мМЕ/л) в сыворотке крови крыс с гипер- и гипотиреозом.

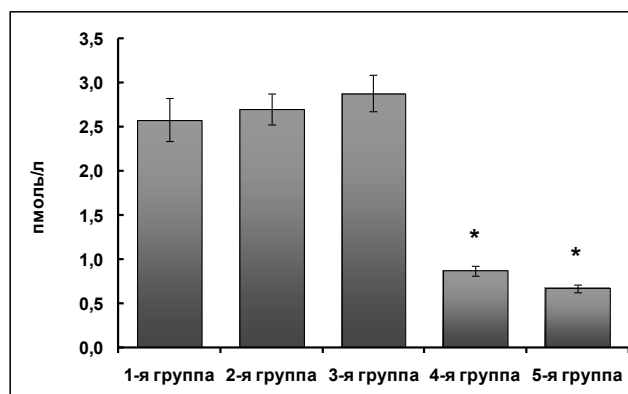


Рис. 3. Содержание свободного трийодтиронина (пмоль/л) в сыворотке крови крыс с гипер- и гипотиреозом.

Ежедневное введение мерказола животным в течение 14-ти и 21-го дня привело к достоверному увеличению уровня тиреотропного гормона (на 59% (с $0,34 \pm 0,03$ до $0,54 \pm 0,05$ мМЕ/л) и на 550% (с $0,34 \pm 0,03$ до $2,21 \pm 0,16$ мМЕ/л)) (рис. 2), в то же время уровень свободного трийодтиронина уменьшился – на 14-й день на 66% (с $2,58 \pm 0,24$ до $0,87 \pm 0,06$ пмоль/л), а на 21-й день – на 74% (с $2,58 \pm 0,24$ до $0,67 \pm 0,04$ пмоль/л) (рис. 3). Известно, что гомоцистеин метаболизируется одним из двух путей – путем реметилирования или транссульфурирования. Путь транссульфурирования гомоцистеина ведет к образованию цистеина. Нами установлено, что при гипотиреозе содержание цистеина увеличивалось на 24% (с $111,5 \pm 6,61$ до $138,49 \pm 7,55$ мкмоль/л)

на 14-й день и на 39% (с $111,5 \pm 6,61$ до $155,54 \pm 8,30$ мкмоль/л) на 21-й день эксперимента. В то же время, введение L-тироксина в течение 14-и и 21-го дня достоверного эффекта на уровень цистеина в крови не произвел (рис. 4). Подобные результаты были получены также М. Wróbel и др. [4], которые показали, что введение мышам тироксина в дозе 100 мкг на 100 г массы в течение 6 дней сопровождается незначительным усилением окислительного метаболизма цистеина и активацией его путей утилизации.

По принципу обратной связи нагромождение цистеина при гипотиреозе, возможно, приводит к зафиксированному нами увеличению содержания в крови гомоцистеина, который в норме превращается в цистеин в двух реакциях.

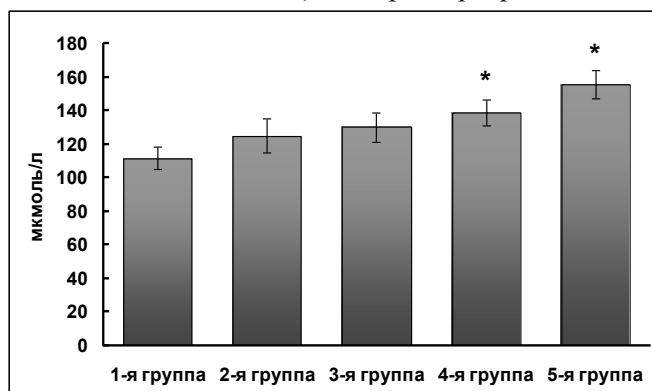


Рис. 4. Содержание цистеина (мкмоль/л) в сыворотке крови крыс с гипер- и гипотиреозом.

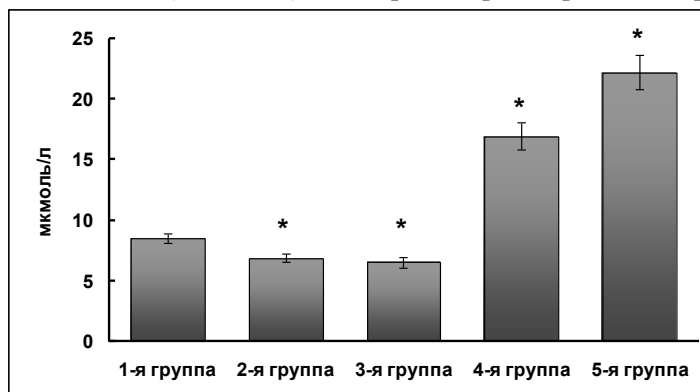


Рис. 5. Содержание гомоцистеина (мкмоль/л) в сыворотке крови крыс с гипер- и гипотиреозом.

Данные, представленные на рисунке 5, свидетельствуют, что введение мерказолила в течение 14-и дней достоверно (на 98%) увеличивало содержание гомоцистеина (с $8,53 \pm 0,39$ до $16,91 \pm 1,12$ мкмоль/л), а в течение 21-го дня – на 160% (с $8,53 \pm 0,39$ до $22,20 \pm 1,39$ мкмоль/л). Повышение содержания гомоцистеина в сыворотке крови при гипотиреозе было также показано А. Orzechowska-Pawilojc и др., 2009 [7]. Авторами установлено увеличение уровня фолиевой кислоты с одновременным снижением концентрации цианокобаламина в крови женщин больных гипотиреозом. Было показано, что концентрация B_{12} отрицательно коррелирует с уровнем гомоцистеина при гипотиреозе до и после заместительной терапии тироксином. W. Ibrahim и др. 2011 [5] также показали, что моделирование гипотиреоза у крыс самцов, которое сопровождалось снижением концентрации трийодтиронина в крови, характеризуется достоверным повышением концентрации гомоцистеина и развитием оксидативного стресса. Авторы сделали выводы, что гипотиреоз у крыс-самцов может быть связан с развитием гипергомоцистеинемии, а введение фолиевой кислоты может предотвращать развитие данных осложнений у животных. Как на 14-й, так и на 21-й день после введения L-тироксина уровень общего гомоцистеина в сыворотке крови достоверно снизился (на 19% (с $8,53 \pm 0,39$ до $6,88 \pm 0,37$ мкмоль/л) и 23% (с $8,53 \pm 0,39$ до $6,53 \pm 0,45$ мкмоль/л)) (рис. 5). Подобные данные были получены также В. Demirbas, M. Ozkaya, 2004, которые показали, что у пациентов с гипертиреозом наблюдалась низкая концентрация общего гомоцистеина в плазме крови, в тоже время уровни фолиевой кислоты, рибофлавина и кобаламина были повышенные и коррелировали с уровнем креатинина сыворотки крови [11]. Десульфуризация цистеина ассоциируется с продукцией очень важной регуляторной газовой молекулы – гидроген сульфида [12].

Гидроген сульфид способен вступать в многочисленные преобразования, в частности, связываться с SH-группами белков и низкомолекулярных тиолов, модифицируя их активность, может взаимодействовать с сульфит-анионом, образуя тиосульфат, или может быть подвергнут метилированию с образованием метантиола под действием фермента тиолметилтрансферазы [14]. На сегодня известно, что гидроген сульфид играет весьма значительную роль в регуляции сосудистого тонуса и агрегации тромбоцитов, сократимости миокарда, нейротрансмиссии, в воспалительных процессах, секреции инсулина [8, 9, 15]. Вопрос влияния тиреоидных гормонов на продукцию гидроген сульфида в организме на сегодня является неисследованными.

В наших экспериментах при введении L-тироксина крысам уровень гидроген сульфида в сыворотке практически не изменялся в оба строка эксперимента (рис. 6).

При применении мерказолила в течение 14-и дней содержание гидроген сульфида снижалось на 17% (с $88,02 \pm 4,01$ до $72,9 \pm 3,04$ мкмоль/л), а в течение 21-го дня - на 24% (с $88,02 \pm 4,01$ до $66,9 \pm 4,39$ мкмоль/л) (рис. 6). Поскольку гидроген сульфид имеет ряд важных физиологических функций, то такое уменьшение его содержания при гипофункции щитовидной железы может играть определенную роль в развитии осложнений при гипотиреозе.

Выводы. Угнетение функции щитовидной железы сопровождается достоверным увеличением содержания гомоцистеина и цистеина в крови с одновременным снижением уровня гидроген сульфида. Учитывая важную биологическую роль серосодержащих аминокислот и их производных, такие изменения могут быть весомым фактором риска возникновения кардиоваскулярных и других осложнений у пациентов с гипотиреозом.

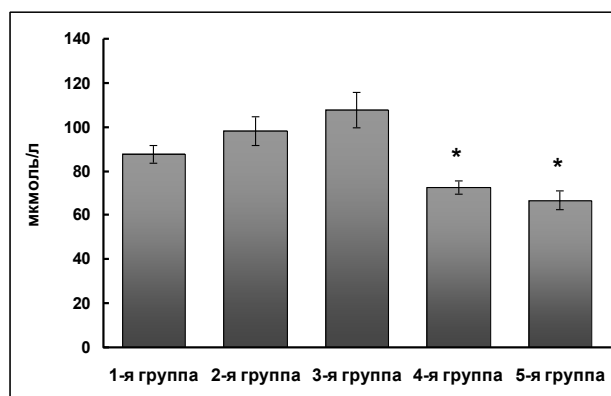


Рис. 6. Концентрация гидроген сульфида (мкмоль/л) в сыворотке крови крыс с гипер- и гипотиреозом.

На сегодня практически неизвестно, какие конкретно биохимические пути метаболизма гомоцистеина и цистеина нарушаются при патологии щитовидной железы, поэтому данный вопрос требует дальнейших исследований.

Литература:

1. Определение содержания гидроген сульфида в сыворотке крови / В. Заичко, Н. А. Пентюк, Л. А. Пентюк, А. В. Мельник // Вестник научных исследований. – 2009. – № 1. – С. 29–32.
2. Contributions of hyperhomocysteinemia to atherosclerosis: Causal relationship and potential mechanisms / J. Zhou, R. C. Austin. // Biofactors. – 2009. – Vol. 35, № 2. – P. 120–129.
3. Dombkowski R. A. Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout / R. A. Dombkowski, M. J. Russell, K. R. Olson // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2004. – Vol. 286, № 4. – P. 678–685.
4. Effects of thyroxine on L-cysteine desulfuration in mouse liver / M. Wróbel, T. Ubuka, W. B. Yao [et al.] // Acta Med Okayama. – 2000. – Vol. 54, № 1. – P. 9–14.
5. Folic acid alleviates oxidative stress and hyperhomocysteinemia involved in testicular dysfunction of hypothyroid rats / W. Ibrahim, E. Tousson, E. M. Ali [et al.] // Gen Comp Endocrinol. – 2011. – Vol. 174, № 2. – P. 143–149.
6. 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. 627–633.
7. Homocysteine, folate, and cobalamin levels in hyperthyroid women before and after treatment / A. Orzechowska-Pawilojc, M. Siekierska-Hellmann, A. Syrenicz [et al.] // Endokrynol Pol. – 2009. – Vol. 60, № 6. – P. 443–448.
8. Hydrogen sulfide and vascular relaxation / Y. Sun, C. S. Tang, J. B. DU [et al.] Chin Med J (Engl). – 2011. – Vol. 124, №22. – P.3816–3819.
9. Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H₂S gas biology / M. Kajimura, R. Fukuda, R. M. Bateman [et al.] // Antioxid Redox Signal. 2010 – Vol. 13, № 2. – P. – P. 157–192.
10. Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism / A. K. Shoveller, B. Stoll, R. O. Ball [et al.] // J. Nutr. – 2005. – Vol. 135, №7. – P.1609–1612.
11. Plasma homocysteine levels in hyperthyroid patients / B. Demirbas, M. Ozkaya, E. Cakal [et al.] // Endocr J. – 2004. – Vol. 51, № 1. – P. 121–125.
12. Role of hydrogen sulfide in secondary neuronal injury / J. F. Wang, Y. Li, J. N. Song [et al.] // Neurochem. Int. – 2014. – Vol. 64. – P. 37–47.
13. Sulfur containing amino acids and human disease / D.M. Townsend, K. D. Tew, H. Tapiero // Biomed. Pharmacother. – 2004 – Vol. 58, №1. – P. 47–55.
14. The role of endogenous H₂S in cardiovascular physiology / N. Skovgaard, A. Gouliaev, M. Aalling [et al.] // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2011. – Vol. 12, № 9. –P. 1385–1393.
15. Y. K. Gupta Gaso-transmitter hydrogen sulphide: potential new target in pharmacotherapy // Y. K. Gupta, A. K. Dahiya, K. H. Reeta // Indian J Exp Biol. 2010 – Vol. 48, № 11. – P.1069–1077.

ОБМЕН ГОМОЦИСТЕИНА, ЦИСТЕИНА И ОБРАЗОВАНИЕ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА ПРИ ГИПЕР- И ГИПОТИРЕОЗЕ

В.М. НЕЧИПОРУК, М.М. КОРДА

Для моделирования гипертиреоза и гипотиреоза крысам ежедневно гастроэнтерально вводили раствор L-тироксина или мерказолила в течение 14-ти и 21-го дней. Введение животным L-тироксина приводило к росту в сыворотке концентрации свободного тироксина, при этом уровень ТТГ достоверно уменьшался. Мерказолил вызывал уменьшение содержания свободного тироксина в сыворотке крови на 38 и 62% и уровень свободного трийодтиронина уменьшался на 66 и 74%. Экспериментальный гипотиреоз сопровождался увеличением уровня цистеина в крови. Применение мерказолила приводило также к увеличению концентрации гомоцистеина и снижению уровня гидроген сульфида. Сделан вывод, что нарушения обмена серосодержащих аминокислот может играть определенную патогенетическую роль в развитии кардиоваскулярных осложнений у пациентов с гипотиреозом.

Ключевые слова: гипертиреоз, гипотиреоз, гомоцистеин, цистеин, гидроген сульфид.