

*А.Р. Ахмадеев, С.С. Байгильдин,
Д.О. Каримов, Э.Р. Кудояров, Д.А. Смолянкин*
**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ
ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНОМ**

*ФБУН Уфимский НИИ Медицины труда и экологии человека,
отдел токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных*

Резюме. При тетрахлорметановом повреждении эффективно блокирование различных воспалительных путей и ингибирование окислительного стресса. В печени S-аденозилметионин регулирует уровень содержания глутатиона, тем самым влияя на антиоксидантный статус печени. Цель работы – проведение полуколичественной оценки влияния на морфологическую структуру печени корректирующего действия S-аденозилметионина на экспериментальной модели токсического гепатита. Коррекцию токсического поражения печени, проводили S-аденозилметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом. Изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Для полуколичественной оценки использовали шкалу, основанную на тяжести некротических поражений в паренхиме. В группе крыс после введения CCl_4 последующей коррекции гепатопротекторами патоморфологические изменения выражались в виде гидропической и жировой дистрофии центрлобулярных и интермедиарных гепатоцитов, и баллонной дегенерации центрлобулярных гепатоцитов. При полуколичественной оценке через 24 часа в группах с коррекцией не обнаруживаются изменения по сравнению с группой положительного контроля, а уже через 72 часа - различия выявляются. При коррекции S-аденозилметионином через 24 часа обнаруживались также и поля зрения без изменений, а при коррекции препаратом сравнения таких полей не было. Через 72 часа более заметные изменения обнаруживались при коррекции S-аденозилметионином, чем препаратом сравнения.

Ключевые слова: адеметионин; S-аденозилметионин; адеметионин; токсический гепатит; печень.

Актуальность. S-аденозилметионин является важным кофактором, используемым в качестве универсального донора метильной группы в реакциях метилирования, катализируемых рядом S-аденозилметионин-зависимых метилтрансфераз. Фактически, большая часть пула метионина в клетке используется для производства S-аденозилметионина, который является вторым наиболее широко используемым кофактором после АТФ [3, 9]. Метильная группа S-аденозилметионина может быть перенесена на различные молекулы, включая гормоны, нейротрансмиттеры, липиды, белки и нуклеиновые кислоты. Скорость метилирования регулирует экспрессию генов и передачу сигналов, поддерживает текучесть клеточных мембран и регулирует подвижность мембранных рецепторов. S-аденозилметионин также важен для транссульфирования или биосинтеза этилена и полиаминов [7, 9]. S-аденозилметионин как предшественник этилена (индуктор старения) и полиаминов (молекул антистарения) принимает участие в регуляции старения растений. Дополнительная роль S-аденозилметионин у растений заключается в регуляции активности тронинсинтазы как ее аллостерического активатора [3, 9]. S-аденозилметионин содержится в больших количествах в таких растениях, как *Arabidopsis thaliana*, *Pisum sativum* и *Trypanosoma brucei*.

Однако появились данные о катаболизме излишнего количества S-аденозилметионина в метилтиоаденозин и аденин, которые являются токсичными ингибиторами метилирования [3]. Проводятся также исследования S-аденозилметионина в качестве противоопухолевого средства [5] и регулятора аутофагии [7]. В связи с вышеизложенным могло бы быть интересным дальнейшее изучение свойств этого вещества.

Цель работы – проведение полуколичественной оценки влияния на морфологическую структуру печени корректирующего действия S-аденозилметионина на экспериментальной модели токсического гепатита на крысах.

Материал и методы исследования. Опыты проводили на 80 аутбредных белых крысах-самцах массой 180-220 г в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU. Крысы содержались в виварии при освещении 12/12 ч. на стандартном рационе. Животные были разделены на 4 группы по 5 животных. Опытным группам однократно подкожно вводили масляный раствор тетрахлорметана в дозе 2 г/кг, контрольной группе вводили растительное масло. Коррекцию токсического поражения печени, вызванного тетрахлорметаном, проводили в 2 группах животных препаратами в терапевтической дозе по следующей методике. Одна группа животных через час после введения тетрахлорметана получала внутривенно S-аденозилметионин («Гептор») в дозе 72 мг на кг массы тела, вторая группа животных – этилметилгидроксипиридина сукцинат («Мексидол») подкожно в дозе 50 мг на кг массы тела. Введение гепатопротекторов повторяли через 24, 48 и 72 часа. Через час после последнего введения гепатопротектора животных выводили из эксперимента, забирали ткань печени.

Фрагменты ткани печени фиксировали в 10% нейтральном формалине и подвергали стандартной процедуре гистологической проводки (через изопропанол) для заливки в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение и микрофотографирование гистологических препаратов проводили с помощью микроскопов ЛОМО Микмед-2 и Zeiss AXIO Imager D2.

Для полуколичественной оценки степени некроза после острого повреждения печени мы использовали шкалу, основанную на тяжести некротических поражений в паренхиме [10] и оценивали на 10 полях зрения следующим образом: нормальная гистология - 0 баллов; наличие дегенерирующих гепатоцитов только с редкими очагами некроза – 1 балл; умеренный центролобулярный некроз вокруг центральной вены, занимающий только часть зоны III ацинуса Раппапорта – 2 балла; некроз, ограниченный зоной III – 3 балла; обширный сливной центролобулярный некроз с вовлечением зон III и II – 4 балла. Различия выявлялись с помощью критерия хи-квадрат с использованием программы IBM SPSS Statistics 21, статистическая значимость принята на уровне 95% вероятности различий ($p < 0,05$) [1].

Полученные результаты и их обсуждение. При проведении морфологических исследований было установлено, что в группах отрицательного контроля структура печени соответствовала норме. Через 24 часа после введения CCl_4 баллонная и

гидропическая дегенерация гепатоцитов распространялась до интермедиарных зон, при этом гибель клеток не всегда сопровождалась воспалительным инфильтратом. Через 24 часа после введения CCl_4 и последующей коррекции гепатопротекторными препаратами баллонная дегенерация гепатоцитов была центролобулярной, гидропическая дистрофия также охватывала центролобулярные и интермедиарные гепатоциты. У большинства крыс через 72 часа после введения CCl_4 в печени обнаруживалась баллонная дегенерация центролобулярных гепатоцитов, переходящая в мостовидный некроз, перекидывающийся с дольки на дольку, а также выраженная гидропическая и жировая дистрофия печеночных клеток с вовлечением перипортальной зоны. В группе крыс через 72 часа после введения CCl_4 и последующей коррекции гепатопротекторами патоморфологические изменения выражались в виде гидропической и жировой дистрофии центролобулярных и интермедиарных гепатоцитов, и баллонной дегенерации центролобулярных гепатоцитов, однако при коррекции этилметилгидроксипиридина сукцинатом повреждения по сравнению с коррекцией S-аденозилметионином были менее выраженными.

При полуколичественной оценке степени гибели клеток через 24 часа после введения CCl_4 наиболее значительные повреждения обнаруживались в группе положительного контроля (Рис.1.). Статистически значимые различия в группах с коррекцией по сравнению с группой положительного контроля не обнаруживались. Через 72 часа после введения CCl_4 , по сравнению с группой, получившей исключительно CCl_4 , группы с коррекцией показывали статистически значимые различия в полуколичественной оценке степени повреждения паренхимы печени (Рис.2.). При этом при коррекции S-аденозилметионином через 24 часа обнаруживались также и поля зрения без изменений (0 баллов), а при коррекции препаратом сравнения таких полей не было. Однако, через 72 часа чуть более заметные изменения (до 4 баллов) обнаруживались при коррекции S-аденозилметионином, чем при этилметилгидроксипиридина сукцинатом.

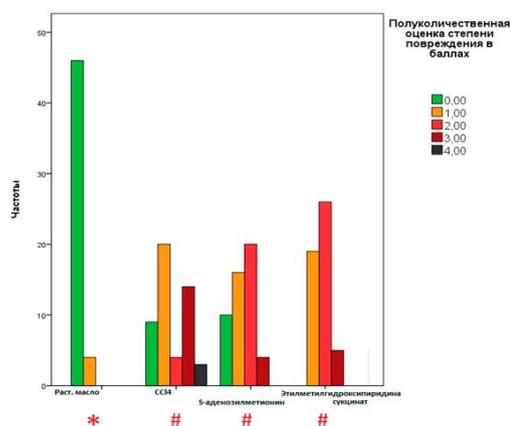


Рис. 1. Через 24 часа после интоксикации тетрахлорметаном и коррекции S-аденозилметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом.
- статистически значимые различия к данным животных группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; * - к данным животных группы положительного контроля $p < 0,05$.

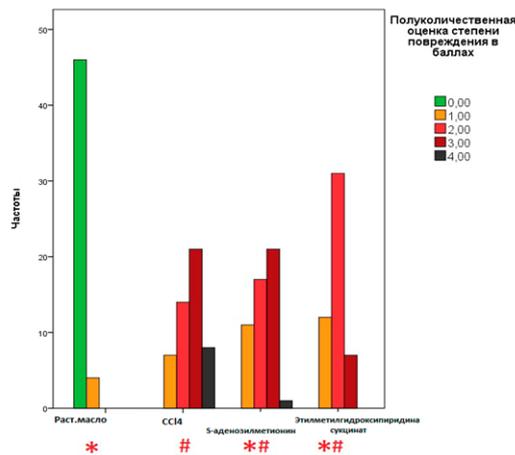


Рис. 2. Через 72 часа после интоксикации тетрахлорметаном и коррекции S-аденозилметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом.
- статистически значимые различия к данным животных группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; * - к данным животных группы положительного контроля $p < 0,05$.

Установлено, что однократное введение CCl_4 вызывало тяжелые изменения в печени крыс. Центролобулярная зона дольки печени наиболее чувствительна к ишемии, гипоксии и токсическому повреждению [2]. При тетрахлорметановом повреждении эффективно блокирование различных воспалительных путей и ингибирование окислительного стресса [4]. В печени S-аденозилметионин регулирует уровень содержания глутатиона, тем самым влияя на антиоксидантный статус печени и устойчивость к болезням печени [5]. Снижение S-аденозилметионина обнаруживается и при гепатокарциноме у людей [8]. Также было обнаружено, что S-аденозилметионин нормализует нарушение транспорта глутатиона в митохондрии, опосредованное снижением текучести внутренней мембраны митохондрий из-за этанольной интоксикации. При перечисленных достоинствах исследуемого вещества, возможно, менее эффективное корректирующее действие S-аденозилметионина в морфологическом исследовании печени также связано с токсичностью его производных [3]. На наш взгляд, представляется актуальным продолжение исследований по изучению протекторных свойств данных гепатопротекторов и их производных.

Выводы. При полуколичественной оценке коррекции тетрахлорметановой интоксикации через 24 часа в группах с коррекцией S-аденозилметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом не обнаруживаются изменения по сравнению с группой положительного контроля, а уже через 72 часа - различия имеют статистическую значимость.

Литература.

1. Гржибовский А. М., Иванов С. В., Горбатова М. А. Анализ номинальных и ранговых переменных данных с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS // Наука и здравоохранение. – 2016. – №. 6. – С. 5-39.
2. Blondet N.M., Messner D.J., Kowdley K.V., Murray K.F. Mechanisms of hepatocyte detoxification. In: Physiology of the Gastrointestinal Tract. Columbus: 2018: 981-1001.

3.Fukumoto K. et al. Excess S-adenosylmethionine inhibits methylation via catabolism to adenine //Communications Biology. – 2022. – Т. 5. – №. 1. – С. 1-15.

4.Miyakawa K. et al. Platelets and protease-activated receptor-4 contribute to acetaminophen-induced liver injury in mice //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2015. – Т. 126. – №. 15. – С. 1835-1843.

5.Mosca L. et al. Therapeutic potential of the natural compound S-adenosylmethionine as a chemoprotective synergistic agent in breast, and head and neck cancer treatment: Current status of research //International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Т. 21. – №. 22. – С. 8547.

6.Munakarmi S., Chand L., Shin H.B., Jang K.Y., Jeong, Y.J. Indole-3-carbinol derivative DIM mitigates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice by inhibiting inflammatory response, apoptosis and regulating oxidative stress. International journal of molecular sciences. 2020; 21(6): 2048.

7.Ouyang Y. et al. S-adenosylmethionine: a metabolite critical to the regulation of autophagy //Cell proliferation. – 2020. – Т. 53. – №. 11. – С. e12891.

8.Pascale R. M. et al. Alterations of methionine metabolism as potential targets for the prevention and therapy of hepatocellular carcinoma //Medicina. – 2019. – Т. 55. – №. 6. – С. 296.

9.Sekula B., Ruzskowski M., Dauter Z. S-adenosylmethionine synthases in plants: Structural characterization of type I and II isoenzymes from Arabidopsis thaliana and Medicago truncatula //International journal of biological macromolecules. – 2020. – Т. 151. – С. 554-565.

10.Zhu R. Z. et al. Protective effect of recombinant human IL-1Ra on CCl4-induced acute liver injury in mice //World journal of gastroenterology: WJG. – 2010. – Т. 16. – №. 22. – С. 2771.

Abstract.

A.R. Akhmadeev, S.S. Baygildin, D.O. Karimov, E.R. Kudoyarov, D.A. Smolyankin
MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE CORRECTION
OF EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS WITH S-ADENOSYLMETHIONINE

Ufa research institute of occupational health and human ecology

In carbon tetrachloride damage, blocking various inflammatory pathways and inhibiting oxidative stress are effective. In the liver, S-adenosylmethionine regulates the level of glutathione, thereby affecting the antioxidant status of the liver. The aim of the study is to conduct a semi-quantitative assessment of the effect of the corrective action of S-adenosylmethionine on the morphological structure of the liver on an experimental model of toxic hepatitis. Correction of toxic liver damage was performed with S-adenosylmethionine and ethylmethylhydroxypyridine succinate. Histological preparations were made according to the standard method. For semi-quantitative assessment, a scale based on the severity of necrotic lesions in the parenchyma was used. In the group of rats after the injection of CCl4 and subsequent correction with hepatoprotectors, pathomorphological changes were found in the form of hydropic and fatty degeneration of centrilobular and intermediate hepatocytes, and ballooning degeneration of centrilobular hepatocytes. When semi-quantitatively assessed after 24 hours, the corrected groups show no change compared to the positive control group, and after 72 hours, differences are detected. When corrected with S-adenosylmethionine after 24 hours, visual fields were also found without changes, and when corrected with the second hepatoprotector, there were no such fields. After 72 hours, more noticeable changes were found with S-adenosylmethionin.

Keywords: ademetionine; S-adenosylmethionine; ademetionine; toxic hepatitis; liver.

References.

1.Grjibovski A. M., Ivanov S. V., Gorbatova M. A. Analysis of nominal and ordinal data using Statistica and SPSS software //Nauka i Zdravookhranenie [Science & Healthcare]. – 2016. – Т. 6. – С. 5-39.

2. Blondet N.M., Messner D.J., Kowdley K.V., Murray K.F. Mechanisms of hepatocyte detoxification. In: Physiology of the Gastrointestinal Tract. Columbus: 2018: 981-1001.
3. Fukumoto K. et al. Excess S-adenosylmethionine inhibits methylation via catabolism to adenine // Communications Biology. – 2022. – Т. 5. – №. 1. – С. 1-15.
4. Miyakawa K. et al. Platelets and protease-activated receptor-4 contribute to acetaminophen-induced liver injury in mice // Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2015. – Т. 126. – №. 15. – С. 1835-1843.
5. Mosca L. et al. Therapeutic potential of the natural compound S-adenosylmethionine as a chemoprotective synergistic agent in breast, and head and neck cancer treatment: Current status of research // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Т. 21. – №. 22. – С. 8547.
6. Munakarmi S., Chand L., Shin H.B., Jang K.Y., Jeong, Y.J. Indole-3-carbinol derivative DIM mitigates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice by inhibiting inflammatory response, apoptosis and regulating oxidative stress. International journal of molecular sciences. 2020; 21(6): 2048.
7. Ouyang Y. et al. S-adenosylmethionine: a metabolite critical to the regulation of autophagy // Cell proliferation. – 2020. – Т. 53. – №. 11. – С. e12891.
8. Pascale R. M. et al. Alterations of methionine metabolism as potential targets for the prevention and therapy of hepatocellular carcinoma // Medicina. – 2019. – Т. 55. – №. 6. – С. 296.
9. Sekula B., Ruszkowski M., Dauter Z. S-adenosylmethionine synthases in plants: Structural characterization of type I and II isoenzymes from Arabidopsis thaliana and Medicago truncatula // International journal of biological macromolecules. – 2020. – Т. 151. – С. 554-565.
10. Zhu R. Z. et al. Protective effect of recombinant human IL-1Ra on CCl4-induced acute liver injury in mice // World journal of gastroenterology: WJG. – 2010. – Т. 16. – №. 22. – С. 2771.

Сведения об авторах: Ахмадеев Айдар Ринатович – м.н.с. отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», dgaar87@gmail.com; Байгильдин Самат Сагадатович – м.н.с. отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, baigildin.samat@yandex.ru; Кудояров Эльдар Ренатович – м.н.с. отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.kudoyarov@yandex.ru; Смолянкин Денис Анатольевич - м.н.с. отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», smolyankin.denis@yandex.ru; Каримов Денис Олегович - к.м.н., зав. отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Karimovdo@gmail.com.