

19. Tronstad K.J., Berge K. Growth reduction in glioma cells after treatment with tetradecylthioacetic acid: changes in fatty acid metabolism and oxidative status, *Biochemical Pharmacology*, 61, Nr.6, 2001, pag 639-649.

20. Wrensch Margaret, Kelsey Karl, Mei Liu, Rei Miike, Glutathione-S-Transferase Variants and Adult Glioma, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* March 2004 13; 461.

PARTICULARITĂȚI DE INFLUENȚĂ A ETILISMULUI ÎN HIPERBILIRUBINEMIA GILBERT

Victor Juncu, Ala Ambros, Leonid Lîsîi, Silvia Stratulat

Catedra Biochimie și Biochimie Clinică USMF „Nicolae Testemițanu”

Motto: *Vom studia alcoolul care, după părerea mea provoacă mult mai multe neazuri decât bucurii, deși se folosește pentru veselie....*

I.P.Pavlov

Summary

The influence features of ethilism in Gilbert hyperbilirubinemia

Recent sources WHO define ethilism as a condition in which a subject consumes alcohol in the detriment of his health, personal activity and social career, losing control over drinking and being unable to abstain from consumption.

Gilbert's syndrome, often shortened to GS, also called Gilbert-Meulengracht syndrome, is the most common hereditary cause of increased bilirubin and is found in up to 5% of the population. It has an autosomal dominant pattern of inheritance with incomplete penetrance. The main symptom is otherwise harmless jaundice, which does not require treatment, caused by elevated levels of unconjugated bilirubin in the bloodstream (hyperbilirubinemia).

Influence of alcohol on the syndrome is negative. as it may affect several levels, so that, pathogenetically we distinguish:

- decreased activity transferase glucoronil hepatocytes;
- disorder capture process hepatocytes to bilirubin;
- 60% of cases are associated with discrete-moderate hemolysis caused by shortened red cell life.

Whese will ultimately lead to serious changes in metabolism.

Rezumat

Sursele recente ale OMS definesc etilismul ca *starea în care un subiect consumă alcool în detrimentul sănătății sale, a activității personale pe plan profesional-social, pierzând controlul față de băutura și incapabil de a se abține de la consum.* Sindromul Gilbert adesea numit și sindrom Gilbert-Meulengracht, este cauzat cel mai frecvent de o eroare ereditară exteriorizată prin nivelul crescut al bilirubinei și se găsește în până la 5% din populație. Boala are un model autosomal dominant de moștenire cu penetranță incompletă. Principalul simptom este icterul, de altfel inofensiv, care nu necesită tratament, cauzat de nivelul crescut de bilirubină neconjugată în sânge (hiperbilirubinemie).

Influența alcoolului în acest sindrom este negativă, rolul său înregistrându-se la mai multe nivele mai multe nivele, după cum urmează:

- Scăderea activității glucoroniltransferazei hepatice;
- Tulburarea procesului de captare a bilirubinei în hepatocit;
- În 60% din cazuri sunt asociate cu hemoliza discretă-moderată cauzată de durată scurtă a ciclului celular eritocitar;

Acest fapt va duce în cele din urmă la schimbări grave în metabolism.

Actualitatea temei

În lanțul problemelor globale ce încorsetează în mod ascendent societatea, un rol prioritar, merită să recunoaștem, îl ocupă alcoolul. Consumul de alcool, sau *etilismul*– termen introdus în 1851 de către Magnus Hus constituie o problemă cu implicații care depășesc sfera medicală și nu cunoaște bariere sociale sau religioase. Implicarea în diversele patologii poate fi demonstrată cu ușurință iar atrocitățile abuzului impun abordarea frecventă a acestei probleme. În această ordine de idei, nu reprezintă o excepție sindromul Gilbert-Meulengracht, care reușește deasemenea să se impună în șirul clauzelor OMS.

Pentru realizarea scopului scontat ne-am propus următoarele obiective:

- demonstrarea efectelor etilismului asupra stării generale a organismului cât și în patologia Gilbert;
- stabilirea mecanismului de acțiune a alcoolului în cazul patologiei date;
- determinarea corelației între abuzul de alcool și hiperbilirubemia familială Gilbert.

Rezultate și discuții

Sindromul Gilbert este probabil una dintre cele mai frecvente sindroame cunoscute, descris pentru prima dată de către gastroenterologul francez Augustin Nicolas Gilbert și colucrătorii săi în 1901. În literatura germană, acesta este frecvent asociat cu boala Meulengracht [22]. Este o hiperbilirubinemie intermitentă ereditară, congenitală, benignă, cronică. O afecțiune care prezintă cu fluctuanță icter, nemanifestând simptome specifice (valori ALAT, ASAT, marker hepatici negativi) dar caracterizată de un exces de bilirubină neconjugată prezentă în urină și fecale [3]. Pornind de la simpla idee că ficatul – motorul de descarcerare a organismului de surplusul de alcool este însăși distrus de acțiunea celui pe care el singur îl descompune propun să urmărim în continuare povara suplimentară a etanolului în acest sindrom.

Sindromul Gilbert- Meulengracht reprezintă o hiperbilirubinemie, a cărei sursă este reducerea activității glucuroniltransferazei: enzimă care conjugă bilirubina și câteva alte molecule lipofile cu acidul glucuronic [19]. Conjugarea face bilirubina solubilă, după care este excretată cu bilă în duoden. Sindromul Gilbert este cauzat în aproximativ 30% - 50% de activitate redusă a enzimei uridin-difosfat-glucuroniltransferază (în literatura de specialitate, enzima este menționată ca entitate aparte - izoenzima 1A1) [1]. Gena care codifica UGT1A1 are în mod normal în promotor boxa TATA, casetă care conține alela A (TA6) TAA. În sindrom A (TA6) TAA este înlocuit cu (TA7) TAA, polimorfismul alelei date fiind denumit în continuare UGT1A1* 285 [10] și care reduce transcrierea genei de tip sălbatic cu 30% [20]. De menționat că familia UGT de enzime reprezintă o cale critică metabolică pentru α -glucuronoconjugarea de endobiotici hidrofobi, cum ar fi bilirubina, acizii biliari, hormoni steroizi, precum și xenobioticele [21].

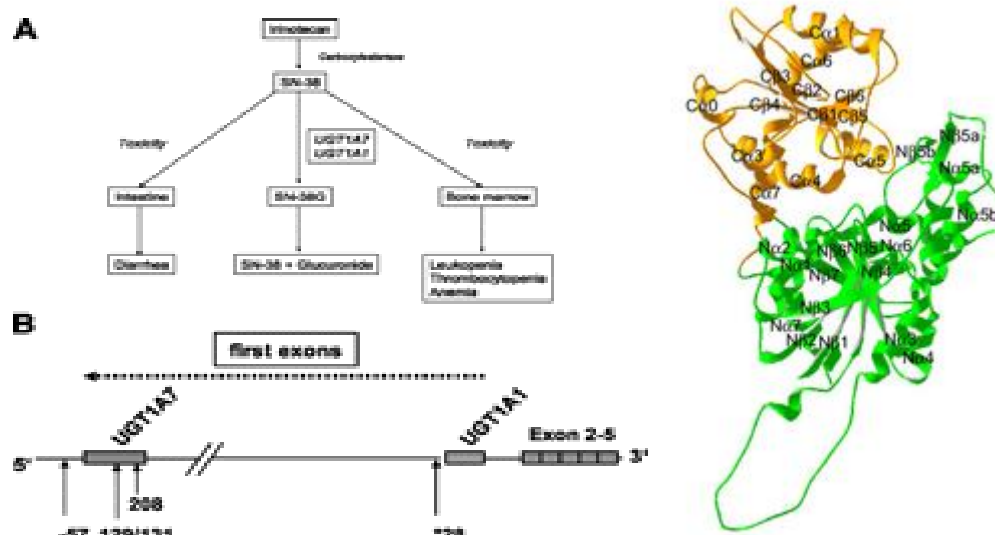


Fig 1 Gena responsabilă de mutația corespunzătoare sindromului Gilbert

Lanțul metabolic al genezei meaboliților respectivi poate fi afectat la nivelul mai multor verigi, astfel, patogenetic vom distinge:

- scăderea activității glucoronil-transferazei hepatocitare [11];
- tulburarea procesului de captare hepatocitară a bilirubinei [11];
- hemoliza discret-moderată cauzată de scurtarea de viață a hematiilor (în 60% din cazuri) [11];

Alcoolul ajunge rapid în țesuturile intens vascularizate: plămîn, encefal, ficat iar prin placentă va trece în componența lichidului amniotic [7]. Dacă la început leziunile celulelor hepatice a căror biomembrane sunt spălate în permanență de etanol vor fi reversibile, pe măsura consumului cronic alterările devin stabile, constituind infiltrația grasă a ficatului. Finalmente individul se alege cu un ficat sensibil, dureros și mărit în volum (hepatomegalic)- semne distincte ale etilismului. Retenția hepatică a albuminei și transferinei în hepatocite cu diminuarea ratei biosintezei proteinelor individuale reprezintă indicele direct al acestui proces. Gravitatea acțiunii alcoolului asupra ficatului e consecința anumitor particularități ale metabolismului acestuia (14,15):

- aport caloric important;
- oxidarea aproape în exclusivitate la nivelul hepatocitului;
- absența unui sistem de contrareglare a oxidării;
- eliminarea redusă (2-10 %) pe cale renală sau pulmonară;
- absența depozitării în organism;

În cadrul metabolizării alcoolului pe calea ADH (Alcooldehidrogenaza)

$(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{ADH}} \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{CHO})$ se obțin cantități considerabile de acetaldehidă, care determină leziuni mitocondriale. Diminuarea metabolizării acetaldehidei va implica o serie de leziuni patognomonice pentru Sindromul Gilbert [2]. Astfel atestabile rămîn a fi condensarea proteinelor intracelulare sub formă de compuși Mallory care, determinînd inhibiția de tubuline și distrucția structurilor microtubulare, balonează hepatocitele (deoarece creșterea masei de proteine intracelulare determină retenția hidrică). Modificarea polarității acestora, precum și diminuarea macrotransportului sunt posibila cauză a necrozei și inflamației hepatocitului. [23].

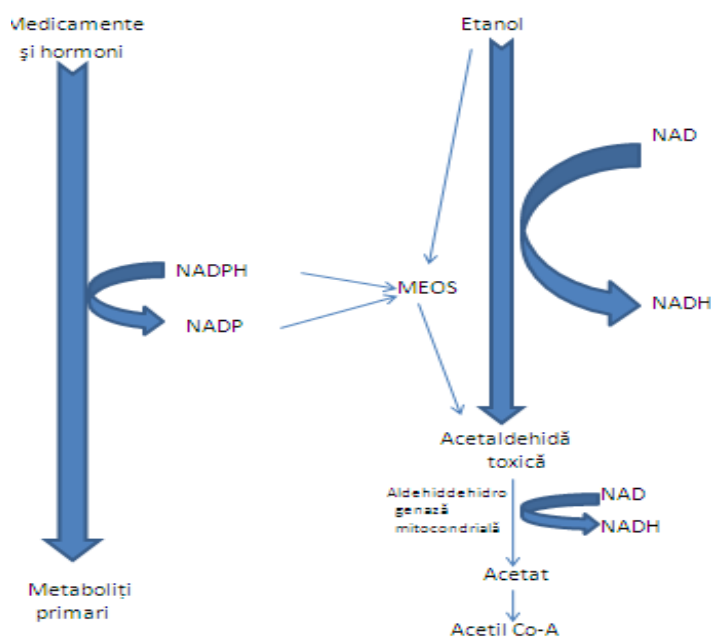


Fig 2 Schema metabolizării alcoolului în ficat (Sherlock S, 1999)

Se consideră că se dereglează procesului de captare hepatocitară a bilirubinei care implică mecanisme compensatorii de reglare a metabolismului celular. Distrucția treptată a hepatocitului

impusă de alcool îi limitează posibilitățile funcționale. Sunt atestabile histologic numeroasele incluziuni citoplasmice, în special cele lipidice, fapt ce predispune la marimea în volum a hepatocitului și inhibarea direct proporțională a macrofagelor KUPFER. Problematică rămîne depunerea tezurizoamelor ceea ce pune în pericol în special capacitatea hepatică de detoxifiere.

Date referitor la influența drogurilor, inclusiv și a alcoolului în activitatea UGT le confirmă sălbăticia genei, complimentînd direct capacitatea genetică a organismului acestor bolnavi de a transforma gena în una din izoforme [16]. De transportul bilirubinei de la hepatocite în bilă prin membrana canaliculară e responsabil un operator de transport, denumit cMOAT. Transportatorul este de fapt comun și pentru coloranți (BSP, ICG), glutation și conjugății glutationului, leucotriene și antibiotice, (rifamicină) utilizînd activ energie [5]. Acest receptor nu este unul simplu: constatat e faptul ca versantul extrinsic al acestuia s-a specializat și la rolul de recepție, fiind sensibil la variațiile chimismului intercelular. Luînd în considerație că alcoolul dezintegrează biomembranele, aceste canale se alterează finalmente deteriorînd transportul compușilor sus-numiți – dilemă în cadrul metabolizării bilirubinei [5,15].

Problema etilismului în acest sindrom mai poate fi referită și la aspectul de retenție intracelulară a albuminei și reducerea conjugării acesteia cu pigmentii biliari fapt ce accelerează icterul și poate da complicații cumulative în cadrul prezenței și a altor carențe în metabolism (fapt care însă necesită argumentare experimental) [8]. Specificitatea relativă a ficatului în oxidarea etanolului explică de ce degradarea acestuia antrenează un dezechilibru metabolic hepatic evident, în ciuda mecanismelor intracelulare responsabile de homeostazia redox. Acest dezechilibru este agravat de absența mecanismelor de contrareglare care să ajusteze nivelul oxidării alcoolului la starea metabolică a hepatocitelor, ca și imposibilitatea de a stoca alcoolul sau de al metaboliza la un grad semnificativ în țesuturile periferice [13].

Efectele alcoolului sunt cu siguranță determinate și de:

- formarea de NADH în ciclul ADH [5];
- interacțiunea între alte funcții ale microzomului, asociate metabolismului și sistemului microsomic de oxidare a alcoolului [5].

Etanolul diminuează degradarea glucozei ca urmare a inhibării ciclului Krebs prin acumularea de NADH și creșterea raportului NADH/NAD în mitocondrii. Creșterea de NADH/NAD generează creșterea de lactat/piruvat astfel în condițiile Sindromului Gilbert-Meullengreht se constată o creștere a glicemiei cu pînă la 18%, iar în stadiile avansate riscul de intoleranță la glucoză urmată de un diabet manifest crește pînă la 80% [6]. Se știe că sindromul este caracterizat și de posibile stări de crize nervoase. Astfel, ingestia de alcool duce la serotoninemie care reprezintă un neurotransmițător, și deci, dereglările neuropsihice nu se lasă așteptate. [9].

Actualmente este ferm demonstrat că toxicitatea alcoolului dereglează mecanismul peroxidării și delivrării de radicali liberi - inductori ai apoptozei hepatocitare este esențial [18]. Perturbînd echilibrul redox intracelular, etanolul deprimă apărarea naturală împotriva radicalilor liberi, apărarea realizată de SOD (superoxiddismutaza), glutation peroxidaza, catalaza, ceruloplasmina și alți AO. Leziunile hepatice prin abuzul acut sau cronic de etanol s-au dovedit a fi determinate de metabolismul său la nivelul citozolului, peroxizomilor și microzomilor. În microzomi s-a depistat radicalii liberi - hidroxietil, formați grație activității sistemului monooxigenazei dependent de citocromul P 450 [17]. Radicalul hidroxietil împreună cu radicalii liberi a căror formare endogenă în reticolul endoplasmatic este puternic influențată de izoenzima înrudită cu Cit. P 450, indusă de etanol, pot fi declanșatorii procesului distructiv în intoxicația cronică cu etanol. Deci încărcarea hepatică cu etanol are în consecință amplificarea speciilor reactive de O₂, în principal RL, cît și de micșorarea mecanismelor de apărare antioxidante – fapt tragic pentru nu numai pentru sindromul Gilbert-Meullengerth dar și pentru cei ce preferă etilismul [17].

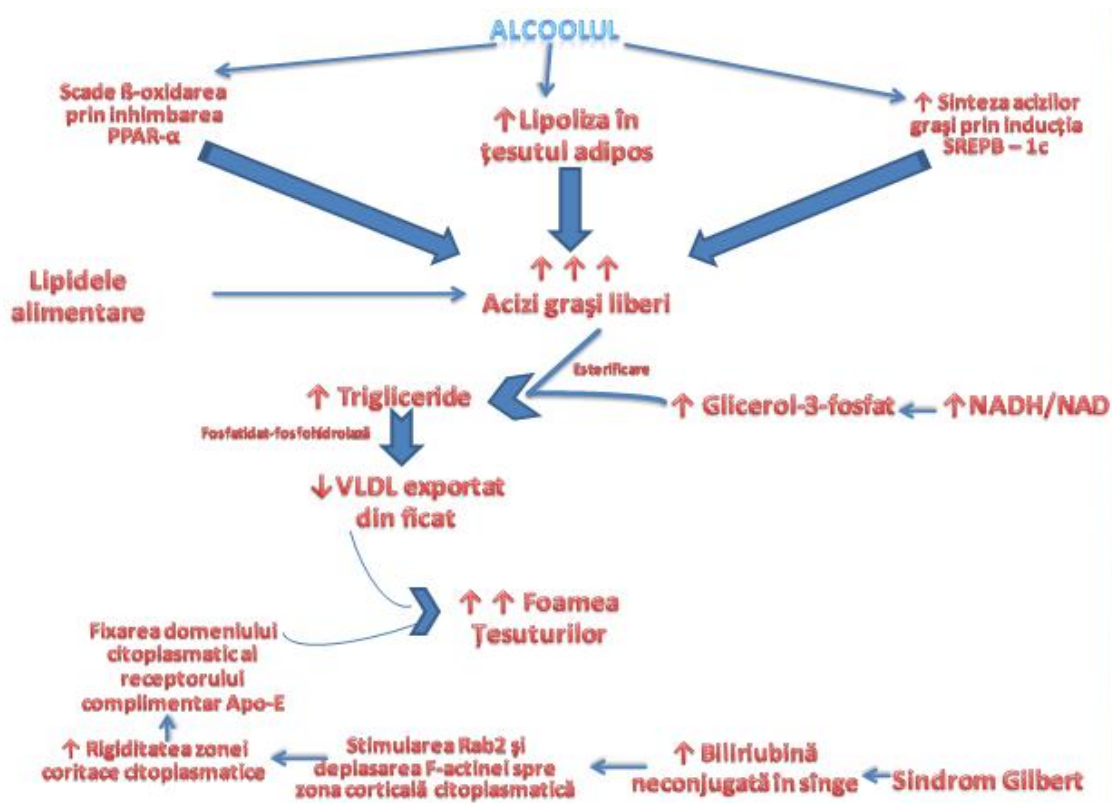


Fig 3 Schema acțiunii alcoolului asupra parenchimului hepatic (modificată, după Sherlock S, 1999)

Concluzii

Aportul chiar în cantități minore ale alcoolului înrăutățește evoluția sindromului Gilbert. Luând oricare din căi aspectele clinice ale sindromului Gilbert sunt în dependență de: creșterea sintezei de lipoproteine și diminuarea pre-β-lipoproteinelor, acumularea TAG în ficat, activarea peroxidării lipidelor, inhibarea sintezei proteice, dereglarea metabolismului glucidic, etc.

Etanolul se implică activ în diverse patogenii, direct sau complementar unde ficatul reușește să se autodistrugă de cel pe care el singur îl neutralizează.

Bibliografie

- 1) Aono S. Analysis of genes for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in Gilbert's syndrome. *Lancet*, 1995. 958-959.
- 2) Andrei Horia, Enciu Raluca, Sidenco Elena. Biotehnologii de vîrf aplicate în medicina modern. București: Editura Universitară Carol Davila, 2005.
- 3) Babiuc Constantin, Dumbrava Tatiana. Medicină internă, vol II. Chișinău: *Medicina*, 2008.
- 4) Bancroft J.D., Kreamer B., Gourley G.R.. Gilbert syndrome accelerates development of neonatal jaundice. *J Pediatr*, 1998. 656-660.
- 5) Bellobuno A, Belatti G. Effect of ethanol administration on bilirubin metabolism and on bile salt dependent and independent fraction of bile flow. N. Intern. Congress of Gastroenterol. Hamburg, 1980. 279 p.
- 6) Bosma P.J., et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med*, 1995. 1171-1175.
- 7) Dumbravă Vlada-Tatiana, Berliba Elena, Lupașco Iulianna. Ficatul și alcoolul. Chișinău: Primex Com, 2008. 35-79 p.
- 8) Galanello R., et al. Hyperbilirubinaemia in heterozygous beta-thalassaemia is related to co-inherited Gilbert's syndrome. *Br J Haematol*, 1997. 433-436.
- 9) Ghițescu Tiberiu. Progrese în medicina contemporană. București: *Universul*, 1992.

- 10) Iolascon A., Faienza M.F., Moretti A. UGT1 promoter polymorphism accounts for increased neonatal appearance of hereditary spherocytis. *Blood*, 1998. 1093.
- 11) Lee R.G., NASH: a study of 49 patients, 1990. 549- 598.
- 12) Lîsîi Leonid. Biochimie medicală. Chişinău : *Universul*, 2007.
- 13) Lupu Laura-Diana. Aspecte ale bolii hepatice alcoolice și ale steatohepatitei nealcoolice. Bucureşti : Editura Universitară *Carol Davila*, 2003. 11-29, 48-124 p.
- 14) Kaplan M., Renbaum P., Levy-Lahad E., Hammerman C., Lahad A., Beutler E. Gilbert syndrome and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency : a dose-dependent genetic interaction crucial to neonatal hyperbilirubinemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997. 128-132.
- 15) Maruo Y., Sato H., Yamano T., Doida Y., Shimada M. 1998. Gilbert syndrome caused by a homozygous missense mutation (Tyr486Asp) of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene. *J Pediatr*, 1045-1047.
- 16) Monaghan G., Ryan M., Seddon R., Hume R., Burchell B.. Genetic variation in bilirubin UPD-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet* , 1996. 578-581.
- 17) Olinerescu R. Radicalii liberi în fiziopatologia umană: Ed. Tehnică, 1994.
- 18) Ricci RI si coaut. The effect of ethanol on hepatic sodium plus potassium activated ATP activity in the rat. *Gastroenterology*, 1981. 1445-1450 p.
- 19) Saragea M. Tratat de fiziopatologie. Bucureşti : Editura Academiei Române.
- 20) Sampietro M., *et al.* The expression of uridine diphosphate glucuronosyltransferase gene is a major determinant of bilirubin level in heterozygous beta-thalassaemia and in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Br J Haematol*, 1997. 437-439.
- 21) Sato H., Adachi Y., Koiwai O. 1996. The genetic basis of Gilbert's syndrome. *Lancet*. 557-558.
- 22) Sherllok S, Dooley J. Diseases of liver and biliary system. 11 ed., 2002. 2-9 p.
- 23) Ţicmeanu F, Ardelean Mugur. Tumora Klatskin. Bucureşti: Editura didactică și pedagogică.

ROLUL CONTRAVERSAT AL H₂S ÎN STĂRILE CRITICE

Olga Botea, Sergiu Iacob, Ala Ambros, Leonid Lîsîi

Catedra Biochimie și Biochimie Clinica USMF „N. Testemițanu”

Summary

The role contraversale of h₂s in critical condition

Since the discovery of endogenously-produced hydrogen sulfide (H₂S) in various tissues, there has been an explosion of interest in H₂S as a biological mediator alongside other gaseous mediators such as, nitric oxide and carbon monoxide. The identification of enzyme regulated H₂S synthetic pathways in the cardiovascular system has led to a number of studies examining specific regulatory actions of H₂S. Several molecular mechanisms of action of H₂S have been described. These include interactions of H₂S with NO, redox regulation of multiple signaling proteins and regulation of KATP channel opening. H₂S holds promise as an endogenous mediator controlling a wide range of cardiovascular cell functions and integrated responses under both physiological and pathological conditions and may be amenable to therapeutic manipulation.

Rezumat

Din momentul descoperirii H₂S-ului, produs endogen în diverse țesuturi, s-a accentuat atenția spre H₂S ca un mediator biologic, în ambianță cu alți mediatori gazoși - CO și NO. Identificarea căilor de sinteză a H₂S, reglate de enzime în sistemul cardiovascular a dus la numeroase studii ce au examinat acțiunile reglatoare specifice ale H₂S. S-au descris câteva mecanisme moleculare de acțiune a H₂S. Acestea includ interacțiunea H₂S cu NO, reglarea redox