

## ВПЛИВ ЦИНК СУЛЬФАТУ, ТІОСУЛЬФАТУ НАТРІЮ, ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ І ТАУРИНУ НА ОБМІН ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В НИРКАХ ЩУРІВ З ДІЄТІНДУКОВАНИМ ОЖИРІННЯМ

**Вступ.** Проблема профілактики та корекції нефропатії ожиріння набуває все більшої актуальності. У нирках синтезується багатофункціональний регулятор – гідроген сульфід ( $H_2S$ ), порушення обміну якого при ожирінні можуть прискорювати розвиток хронічної хвороби нирок. Питання щодо пошуку метаболічних коректорів, які б нормалізували обмін  $H_2S$  у нирках при ожирінні та не проявляли ліпогенного ефекту, залишається актуальним. Такий ефект можуть мати кофактори і косубстрати тіосульфатозалежного обміну  $H_2S$ .

**Мета дослідження** – встановити вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти і таурину на обмін гідроген сульфідом в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням.

**Методи дослідження.** Досліди проведено на 60 білих лабораторних щурах-самцях з дотриманням принципів біоетики (Страсбург, 1986; Київ, 2001). Дієтіндуковане ожиріння викликали у 50 тварин шляхом застосування впродовж 10 тижнів висококалорійної високожирової дієти (енергетична цінність – 4,33 ккал/г). Тварини контрольної групи (10 щурів) отримували стандартну дієту (енергетична цінність – 2,71 ккал/г). Коректори обміну  $H_2S$  (цинк сульфат, тіосульфат натрію, ліпоєву кислоту, таурин) вводили протягом останніх 2 тижнів. У гомогенатах нирок визначали активність ензимів обміну  $H_2S$ . Статистичну обробку проводили в пакеті IBM Statistics SPSS 26, відмінності оцінювали в тесті Краскела – Уолліса при рівні значущості  $p < 0,05$ .

**Результати й обговорення.** У тварин з дієтіндукованим ожирінням виявили порушення обміну  $H_2S$  у нирках: зниження активності ПАЛФ-залежних ензимів транссульфування (цистатіонін-γ-ліази, цистатіонін-β-синтази, цистеїнамінотрансферази), активності тіосульфатозалежних шляхів обміну  $H_2S$  (тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітоксидази) та рівня  $H_2S$  (в 1,3–1,4 раза,  $p < 0,001$ ), що корелювало зі зростанням індексу маси тіла й індексу Лі. Препарати цинку сульфату, ліпоєвої кислоти, тіосульфату натрію і таурину підвищували рівень  $H_2S$  та активність  $H_2S$ -синтезувальних ензимів транссульфування і тіосульфатозалежних шляхів у нирках (в 1,4–1,5 раза,  $p < 0,01$ ), при цьому не спричиняли ліпогенного ефекту в щурів з дієтіндукованим ожирінням.

**Висновок.** Препарати цинку сульфату, ліпоєвої кислоти, тіосульфату натрію зменшують порушення обміну  $H_2S$  у нирках та стримують розвиток ожиріння у щурів за умов висококалорійної високожирової дієти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гідроген сульфід; метаболізм; ожиріння; хронічна хвороба нирок; висококалорійна високожирова дієта; щури.

ВСТУП. Проблема профілактики та корекції нефропатії ожиріння набуває все більшої актуальності. Це зумовлено низкою факторів [1, 2]: неухильним зростанням поширеності аліментарного ожиріння та пов'язаних з ним метаболічних розладів (інсулінорезистентності, цукрового діабету 2 типу, дисліпідемії тощо); тривалим латентним періодом розвитку асоційованої з ожирінням хронічної хвороби нирок; складністю молекулярних механізмів уражень гломерулярного і тубулярного апарату, інтерстицію та ниркових судин; переважно симптоматичною корекцією нефропатії ожиріння. Нирки є продуцентами біологічно активних речовин, обмін яких при ожирінні може суттєво змінюватись. У нирках активно синтезується багатофункціональний регулятор – гідроген сульфід ( $H_2S$ ) [3, 4]. Забезпечують цей процес реакції транссульфування цистеїну та гомоцистеїну з участю ПАЛФ-залежних ензимів – цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ), цистатіонін-β-синтази (ЦБС), цистеїнамінотрансферази (ЦАТ) разом із 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (3-МСТ) [3, 4]. Альтернативним джерелом  $H_2S$  може бути тіосульфат-аніон, який спонтанно і при дії ензимів родини тіосульфат-

цією нефропатії ожиріння. Нирки є продуцентами біологічно активних речовин, обмін яких при ожирінні може суттєво змінюватись. У нирках активно синтезується багатофункціональний регулятор – гідроген сульфід ( $H_2S$ ) [3, 4]. Забезпечують цей процес реакції транссульфування цистеїну та гомоцистеїну з участю ПАЛФ-залежних ензимів – цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ), цистатіонін-β-синтази (ЦБС), цистеїнамінотрансферази (ЦАТ) разом із 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (3-МСТ) [3, 4]. Альтернативним джерелом  $H_2S$  може бути тіосульфат-аніон, який спонтанно і при дії ензимів родини тіосульфат-

(тіол)сульфуртрансфераз (ТСТ) за присутності тіолів відновлюється до сульфід-аніона [3, 5]. Кінцеві етапи обміну  $H_2S$  пов'язані з утворенням полісульфідів (з участю тіоредоксинредуктази (ТРР), ліпоевої кислоти (ЛК)), сульфідів та сульфатів (з участю мітохондріальних оксидоредуктаз і сульфітоксидази (СО)) [5].

Ендогенне продукування  $H_2S$  знижується при хронічній хворобі нирок, а його донори проявляють чіткий нефропротекторний ефект [4, 6]. Проте питання стосовно ролі  $H_2S$  у патогенезі ожиріння та асоційованої з ним хронічної хвороби нирок залишається дискусійним. Система ЦГЛ/ $H_2S$  залучена до регуляції проліферації та диференціації адипоцитів *in vitro* й акумуляції жиру в жировій тканині *in vivo* [7]. У пацієнтів з морбідним ожирінням зростає рівень  $H_2S$  у плазмі крові за відсутності змін експресії  $H_2S$ -синтезуювальних ензимів [8]. Тому питання щодо пошуку метаболічних коректорів, які б нормалізували обмін  $H_2S$  у нирках при ожирінні й водночас не проявляли ліпогенного ефекту, залишається актуальним. Гіпотетично таку дію можуть мати препарати цинку, ліпоевої кислоти, тіосульфату натрію ( $Na_2S_2O_3$ ) і таурину, які слугують кофакторами та косубстратами різних шляхів обміну  $H_2S$ .

Мета дослідження – встановити вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти і таурину на обмін гідроген сульфідів в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проведені на 60 білих статевозрілих лабораторних щурах-самцях з початковою масою тіла 150–190 г. Усі етапи експерименту виконано з дотриманням загальних біоетичних принципів, ухвалених на Першому національному конгресі України з біоетики (Київ, 2001), положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Закону України від 21.02.2006 р. № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”.

Лабораторних тварин утримували в стандартних умовах віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова з 12-годинним режимом освітлення (день/ніч) при температурі  $(22\pm 2)$  °С, відносній вологості повітря  $(55\pm 5)$  %, з вільним доступом до води та корму *ad libitum*. Щурів поділили на 6 груп, репрезентативних за початковими масо-ростовими параметрами. Тварини контрольної групи отримували стандартну дієту – повнораціонний гранульований корм (енергетична цінність – 2,71 ккал/г; 22,1 % білків, 10,8 % жирів, 67,1 %

вуглеводів за калоражем). Дієтіндуковане ожиріння (ДІО) викликали у щурів 5 груп шляхом застосування висококалорійної високожирової дієти (ВКД) [9]. Вона складалась із 60 % стандартної дієти, 10 % яйця, 10 % свинячого лядру (з додаванням жирного м'ясного фаршу у співвідношенні 3:1 для посилення потягу до їжі), 9 % цукру, 5 % очищеного арахісу, 5 % сухого молока, 1 % кунжутної олії (енергетична цінність – 4,33 ккал/г; 15,7 % білків, 39,5 % жирів, 44,8 % вуглеводів за калоражем). Висококалорійну високожирову дієту застосовували впродовж 10 тижнів, з 9-го до 10-го тижня тваринам 4 дослідних груп вводили потенційні модулятори обміну  $H_2S$ : цинк сульфат ( $ZnSO_4$ ) – 124 мг/кг (“Teva”, Польща), тіосульфат натрію – 300 мг/кг (“Фармстандарт-Біолік”, Україна),  $\alpha$ -ліпоеву (тіоктову) кислоту – 100 мг/кг (“Berlin-Chemie”, Німеччина), таурин – 100 мг/кг (“Еліт-фарм”, Україна). Препарати вводили на 0,1 % крохмальному гелі внутрішньошлунково 1 раз на добу. Контрольна група тварин та одна група щурів з ДІО отримували еквівалентну кількість 0,1 % крохмального гелю. Знеживлювали тварин шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом (100 мг/кг внутрішньочеревно).

Розвиток ДІО контролювали за зміною індексу маси тіла (відношення маси тіла до квадрата довжини тіла, ІМТ ( $г/см^2$ )) та індексу Лі (відношення кореня кубічного маси тіла (г) до довжини тіла (см)) [10]. Стан ожиріння вважали досягнутим при значеннях індексу Лі  $\geq 0,310$ , і за цієї умови включали тварин у заключний етап експерименту. Після евтаназії у щурів швидко вилучали нирки, промивали їх охолодженим 1,15 % розчином КСІ, відбирали наважку тканини для визначення вмісту  $H_2S$ , решту тканини гомогенізували впродовж 2 хв в охолоджену середовищі 1,15 % КСІ у співвідношенні маса/об'єм 1:4 при 3000 об./хв (тефлон-скло). Центрифугували протягом 30 хв при 600 g за температури 4 °С, відбирали аліквоти пост'ядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали їх при температурі -20 °С.

Вміст  $H_2S$  у нирках визначали за В. Wiliński [11]. Активність ЦГЛ (КФ 4.4.1.1), ЦБС (КФ 4.2.1.22), ЦАТ (КФ 2.6.1.3) разом із 3-МСТ (КФ 2.8.1.2) в реакціях десульфування L-цистеїну визначали за М. Н. Stipanuk [12] у модифікації [13]. Активність синтезу  $H_2S$  із тіосульфат-аніона з участю ТСТ визначали, як описано [3]. Активність СО (КФ 1.8.3.1) визначали за швидкістю відновлення гексоціаноферату калію за присутності сульфід-аніона [14], активність ТРР (КФ 1.8.1.9) – за швидкістю NADPH-залежного відновлення 5,5'-дитіобіс(2-нітробензоату) [15]. Вміст протеїну в пробах визначали за О. Н. Lowry [16].

Статистичний аналіз проводили в пакеті IBM Statistics SPSS 26 for Windows. Достовірність відмінностей оцінювали в тесті Краскела – Уолліса, кореляцію показників визначали за Спірманом. Статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ . Результати наведено як  $M \pm \sigma$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Застосування стандартної дієти впродовж 10 тижнів не викликало суттєвих змін ІМТ та індексу Лі у тварин контрольної групи (табл. 1), що узгоджується з даними літератури стосовно сталості цих показників в онтогенезі дорослих щурів [10]. У всіх тварин, які отримували ВКД, спостерігали статистично значуще збільшення ІМТ та індексу Лі ( $p < 0,001$ ), що підтвердило розвиток ожиріння. Двотижневе використання потенційних коректорів обміну  $H_2S$  не посилювало зміни масо-ростових параметрів у щурів з ДІО і навіть стримувало їх зростання під впливом ВКД. Так, у групі “ДІО” фінальні значення ІМТ та індексу Лі були вищими на 65 і 13 % ( $p < 0,001$ ), ніж початкові, й на 52,4 та 16,4 % більшими, ніж у контрольній групі ( $p < 0,001$ ). У групі “ДІО+ЛК” фінальні значення ІМТ та індексу Лі були вищими на 51,4 і 9,0 % ( $p < 0,001$ ), ніж початкові, й лише на 37,4 та 11,3 % більшими, ніж у контрольній групі

( $p < 0,001$ ). Подібні зміни ІМТ та індексу Лі виявляли при дії інших коректорів.

Розвиток ожиріння у щурів супроводжувався зниженням рівня  $H_2S$  та активності ПАЛФ-залежної продукції  $H_2S$  у нирках (табл. 2). Так, у групі “ДІО” рівень  $H_2S$  був меншим на 47,4 %, активність ЦГЛ, ЦБС, ЦАТ/3-МСТ була нижчою на 53,5; 48,6; 51,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно контролю. Рівень  $H_2S$  у нирках обернено корелював з ІМТ та індексом Лі ( $r_s = -0,43$  і  $-0,38$ ,  $p < 0,01$ ). Застосування всіх коректорів запобігало зниженню рівня  $H_2S$  та підвищувало його продукування в нирках тварин з ДІО. Найефективніше ПАЛФ-залежна продукція  $H_2S$  збільшувалась при застосуванні  $ZnSO_4$  та ЛК, дещо менший ефект проявляли таурин і  $Na_2S_2O_3$ . У групі “ДІО+ $ZnSO_4$ ” активність ЦГЛ, ЦБС, ЦАТ/3-МСТ була вищою на 69,4; 49,1; 61,4 % ( $p < 0,01$ ), у групі “ДІО+ЛК” – на 54,2; 39,8; 46,4 % ( $p < 0,01$ ), а в групі “ДІО+ $Na_2S_2O_3$ ” – на 41,6; 29,6; 39,5 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з групою “ДІО”.

Розвиток ожиріння викликав зниження активності тиосульфатозалежних шляхів обміну  $H_2S$  у нирках щурів (табл. 3). У групі “ДІО” активність ТСТ, ТРР та СО була нижчою на 49,7; 40,5 і 39,2 % порівняно з контролем. Застосування всіх метаболічних коректорів стримувало

Таблиця 1 – Індекс маси тіла та індекс Лі у щурів з дієтіндукованим ожирінням за умов метаболічної корекції обміну гідроген сульфідом ( $M \pm \sigma$ ,  $n=10$ )

Група щурів	ІМТ, г/см <sup>2</sup>		Індекс Лі	
	початковий	фінальний	початковий	фінальний
Контрольна	0,512±0,060	0,553±0,032	0,299±0,018	0,293±0,006
ДІО	0,511±0,037	0,843±0,037***	0,302±0,010	0,341±0,006***
ДІО+ $ZnSO_4$	0,495±0,020	0,787±0,034**	0,297±0,009	0,331±0,004**
ДІО+ $Na_2S_2O_3$	0,507±0,028	0,810±0,037**	0,300±0,009	0,334±0,008**
ДІО+ЛК	0,502±0,020	0,760±0,043***	0,299±0,007	0,326±0,008***
ДІО+таурин	0,495±0,027	0,797±0,034***	0,297±0,011	0,332±0,008**

Примітки:

- \* – статистично значущі відмінності відносно контрольної групи (\*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).
- # – статистично значущі відмінності відносно групи “ДІО” (# –  $p < 0,05$ ).

Таблиця 2 – Вплив метаболічних коректорів на рівень гідроген сульфідом й активність ПАЛФ-залежних шляхів обміну гідроген сульфідом в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням ( $M \pm \sigma$ ,  $n=10$ )

Група щурів	Рівень $H_2S$ , нмоль/мг протеїну	Активність ПАЛФ-залежних ферментів, нмоль $H_2S$ /хв·мг протеїну		
		ЦГЛ	ЦБС	ЦАТ/3-МСТ
Контрольна	3,14±0,43	1,55±0,34	2,10±0,39	2,37±0,42
ДІО	1,65±0,39***	0,72±0,21***	1,08±0,29***	1,14±0,27***
ДІО+ $ZnSO_4$	2,41±0,37***#	1,22±0,29***#	1,61±0,38***#	1,84±0,37***#
ДІО+ $Na_2S_2O_3$	2,20±0,36***#	1,03±0,28***#	1,40±0,26***#	1,59±0,32***#
ДІО+ЛК	2,48±0,38***#	1,11±0,26***#	1,51±0,29***#	1,67±0,37***#
ДІО+таурин	2,30±0,38***#	1,04±0,27***#	1,36±0,27***#	1,65±0,31***#

Примітки:

- \* – статистично значущі відмінності відносно контрольної групи (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).
- # – статистично значущі відмінності відносно групи “ДІО” (# –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$ ).

Таблиця 3 – Вплив метаболічних коректорів на активність ензимів тіосульфатозалежних шляхів обміну гідроген сульфіді в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням (M±σ, n=10)

Група щурів	TCT, нмоль H <sub>2</sub> S/хв·мг протеїну	TPP, нмоль DTNB/хв·мг протеїну	CO, нмоль K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]/хв·мг протеїну
Контрольна	3,76±0,50	5,73±0,81	7,35±0,26
ДІО	1,89±0,39***	3,34±0,68***	4,47±0,61***
ДІО+ZnSO <sub>4</sub>	2,46±0,39###	4,83±0,78###	5,74±0,67***###
ДІО+Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	3,19±0,51###	4,29±0,82***	6,29±0,79###
ДІО+ЛК	2,95±0,57***	4,65±0,75###	5,92±0,66***
ДІО+таурин	2,57±0,32***	4,12±0,58***	5,13±0,63***

Примітки:

- \* – статистично значущі відмінності відносно контрольної групи (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001).
- # – статистично значущі відмінності відносно групи “ДІО” (# – p<0,05; ### – p<0,01).

прогресування цих розладів із певними відмінностями: активність TCT та CO найефективніше коригував Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, активність TPP – ЛК і ZnSO<sub>4</sub>, таурин спричиняв помірне підвищення активності всіх вказаних ензимів. Так, у групах “ДІО+ZnSO<sub>4</sub>”, “ДІО+Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>” “ДІО+ЛК”, “ДІО+таурин” активність TCT була більшою на 30,1; 68,8; 56,1; 35,9 %, активність TPP – на 44,6; 28,4; 39,2; 23,3 %, активність CO – на 28,4; 40,7; 32,4; 14,7 %, ніж у групі “ДІО”, яка не отримувала коректорів.

Таким чином, за умов ожиріння, індуковано-го ВКД, у нирках щурів зменшується рівень H<sub>2</sub>S, пригнічується його продукування в реакціях транссульфування, знижується активність тіосульфатозалежних шляхів обміну H<sub>2</sub>S. Препарати цинку сульфату, ліпоєвої кислоти, тіосульфату натрію зменшували порушення обміну H<sub>2</sub>S у нирках, але при цьому не посилювали ліпогенного ефекту ВКД. Здатність вказаних препаратів нормалізувати обмін H<sub>2</sub>S у нирках при ожирінні може реалізуватись через різні механізми. Для ожиріння характерними є розвиток оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції, зменшення пулу відновлених тіолів, формування дефіциту цинку [17–19]. За цих умов активність редокс-чутливих ензимів обміну H<sub>2</sub>S у нирках може суттєво знижуватись, що підтвердилось у нашому дослідженні. Тіосульфат-аніон є потужним відновником і субстратом для мітохондріального синтезу H<sub>2</sub>S у тіосульфат(тіол)сульфуртрансферазних реакціях [5]. Введення тіосульфату натрію (400 мг/кг перорально 28 діб) зменшувало прояви ренальної дисфункції та ішемічно-гіпоксичного ушкодження нирок у щурів [20], а введення тіосульфату натрію з питною водою (2 г/кг) підвищувало рівень H<sub>2</sub>S і тіосульфат-аніона в плазмі крові та зменшувало гіпертензію у щурів з аденініндукованою хронічною хворо-

бою нирок [21]. Існують докази, що ліпоєва кислота підвищує експресію гена тіоредоксинредуктази [22], забезпечує вивільнення H<sub>2</sub>S із полісульфідів [23]. Цинк підвищує стабільність тіоредоксину та збільшує його відновні властивості [24], регулює вуглеводний та ліпідний обмін, зменшує оксидативний стрес, підвищує активність антиоксидантних ензимів [25, 26]. Таурин підвищує судинну експресію ЦГЛ та ЦБС у спонтанно гіпертензивних щурів [27], інгібує адипогенез у білій жировій тканині мишей з ожирінням [28]. Клінічно підтверджено, що препарати цинку та ліпоєвої кислоти сприяють зменшенню маси тіла в осіб з ожирінням [17, 29]. Встановлення молекулярних механізмів впливу кофакторів та субстратів різних шляхів обміну H<sub>2</sub>S на перебіг нефропатії ожиріння є перспективним напрямком подальших досліджень.

**ВИСНОВКИ.** 1. У щурів з ожирінням, індукованим висококалорійною високожировою дієтою, реєструють порушення обміну гідроген сульфіді в нирках: знижується активність ПЛФ-залежних ензимів транссульфування (цистатіонін-γ-ліази, цистатіонін-β-синтази, цистеїнамінотрансферази), а також ензимів тіосульфатозалежного обміну гідроген сульфіді (тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітоксидази). Зменшення рівня гідроген сульфіді в нирках асоціюється зі зростанням індексу маси тіла та індексу Лі.

2. Препарати цинку сульфату, ліпоєвої кислоти, тіосульфату натрію і таурину ефективно коригують рівень гідроген сульфіді в нирках, запобігають зниженню активності H<sub>2</sub>S-синтезувальних ензимів шляху транссульфування та тіосульфатозалежних шляхів обміну гідроген сульфіді і не спричиняють ліпогенного ефекту в щурів з дієтіндукованим ожирінням.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. New pandemic: obesity and associated nephropathy / I. Sharma, Y. Liao, X. Zheng, Y. S. Kanwar // *Frontiers in Medicine*. – 2021. – **8**. – P. 673556. DOI: 10.3389/fmed.2021.673556
2. Obesity-related glomerulopathy: a latent change in obesity requiring more attention / S. Yang, C. Cao, T. Deng, Z. Zhou // *Kidney Blood Press. Res.* – 2020. – **45**, No. 4. – P. 510–522. DOI: 10.1159/000507784
3. Мельник А. В. Активність ензимів синтезу гідрогенсульфіду в нирках щурів / А. В. Мельник, О. О. Пентюк // *Укр. біохім. журн.* – 2009. – **81**, № 4. – С. 12–23.
4. Cao X. The role of hydrogen sulfide in renal system / X. Cao, J. S. Bian // *Frontiers in pharmacology*. – 2016. – **7**. – P. 385. DOI:10.3389/fphar.2016.00385
5. Thiosulfate sulfurtransferase-like domain-containing 1 protein interacts with thioredoxin / M. Libiad, N. Motl, D. L. Akey [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2018. – **293**, Issue 8. – P. 2675–2686. DOI: 10.1074/jbc.RA117.000826
6. Roles of hydrogen sulfide donors in common kidney diseases / E. E. Ngowi, M. Sarfraz, A. Afzal [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2020. – **11**. – P. 564281. DOI: 10.3389/fphar.2020.564281
7. Cystathionine gamma-lyase/hydrogen sulfide system is essential for adipogenesis and fat mass accumulation in mice / G. Yang, Y. Ju, M. Fu [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids*. – 2018. – **1863**, Issue 2. – P. 165–176. DOI: 10.1016/j.bbalip.2017.11.008
8. Morbidly obese subjects show increased serum sulfide in proportion to fat mass / F. Comas, J. Latorre, F. Ortega [et al.] // *Int. J. Obes. (Lond)*. – 2021. – **45**, Issue 2. – P. 415–426. DOI: 10.1038/s41366-020-00696-z
9. Deuterium-depleted water as adjuvant therapeutic agent for treatment of diet-induced obesity in rats / T. Halenova, I. Zlatskiy, A. Syroeshkin [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2019. – **25**, Issue 1. – P. 23. DOI: 10.3390/molecules25010023
10. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats / E. L. Novelli, Y. S. Diniz, C. M. Galhardi [et al.] // *Lab. Anim.* – 2007. – **41**, Issue 1. – P. 111–119. DOI: 10.1258/00236770779399518
11. Atorvastatin affects the tissue concentration of hydrogen sulfide in mouse kidneys and other organs / B. Wiliński, J. Wiliński, E. Somogyi [et al.] // *Pharmacol Rep.* – 2011. – **63**, Issue 1. – P. 184–188. DOI: 10.1016/s1734-1140(11)70414-5
12. Stipanuk M. H. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat / M. H. Stipanuk, P. W. Beck // *Biochem. J.* – 1982. – **206**, Issue 2. – P. 267–277. DOI: 10.1042/bj2060267
13. Утворення гідроген сульфїду в органах щурів / Н. В. Заїчко, Н. О. Пентюк, А. В. Мельник [та ін.] // *Мед. хімія*. – 2009. – **11**, № 4. – С. 7–13.
14. Cohen H. J. Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties / H. J. Cohen, I. Fridovich // *J. Biol. Chem.* – 1971. – **246**, Issue 2. – P. 359–366.
15. Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines / H. I. Jung, H. W. Lim, B. C. Kim [et al.] // *Yonsei. Med. J.* – 2004. – **45**, Issue 2. – P. 263–272. DOI: 10.3349/yjmj.2004.45.2.263
16. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**. – P. 265–276.
17. Zinc supplementation improves body weight management, inflammatory biomarkers and insulin resistance in individuals with obesity: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial / H. Khorsandi, O. Nikpayam, R. Yousefi [et al.] // *Diabetol. Metab. Syndr.* – 2019. – **11**. – P. 101. DOI: 10.1186/s13098-019-0497-8
18. Association of serum zinc levels in overweight and obesity / M. J. Rios-Lugo, C. Madrigal-Arellano, D. Gaytán-Hernández [et al.] // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2020. – **198**, Issue 1. – P. 51–57. DOI: 10.1007/s12011-020-02060-8.
19. Comas F. The impact of H<sub>2</sub>S on obesity-associated metabolic disturbances / F. Comas, J. M. Moreno-Navarrete // *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. – 2021. – **10**, Issue 5. – P. 633. DOI: 10.3390/antiox10050633
20. Renal mitochondria can withstand hypoxic/ischemic injury secondary to renal failure in uremic rats pretreated with sodium thiosulfate / D. Mohan, E. D. Balasubramanian, S. Ravindran, G. A. Kurian // *Indian. J. Pharmacol.* – 2017. – **49**, Issue 4. – P. 317–321. DOI: 10.4103/ijp.IJP\_751\_16
21. Sodium thiosulfate improves hypertension in rats with adenine-induced chronic kidney disease / C. N. Hsu, C. Y. Hou, G. P. Chang-Chien [et al.] // *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. – 2022. – **11**, Issue 1. – P. 147. DOI: 10.3390/antiox11010147
22. Biological assays and genomic analysis reveal lipoic acid modulation of endothelial cell behavior and gene expression / P. Larghero, R. Venè, S. Minghelli [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2007. – **28**, Issue 5. – P. 1008–1020. DOI: 10.1093/carcin/bgl233
23. Lipoic acid as a possible pharmacological source of hydrogen sulfide/sulfane sulfur / A. Bilska-Wilkosz, M. Iciek, D. Kowalczyk-Pachel [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2017. – **22**, Issue 3. – P. 388. DOI: 10.3390/molecules220303
24. The zinc center influences the redox and thermodynamic properties of Escherichia coli thioredoxin 2 / H. El Hajjaji, M. Dumoulin, A. Matagne [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2009. – **386**, Issue 1. – P. 60–71. DOI: 10.1016/j.jmb.2008.11.046
25. Lee S. R. Critical role of zinc as either an antioxidant or a prooxidant in cellular systems / S. R. Lee // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2018. – **2018**. – P. 9156285. DOI: 10.1155/2018/9156285
26. Effects of zinc supplementation on oxidant / antioxidant and lipids status of pesticides sprayers / A. Saad-Hussein, K. Ibrahim, M. Abdalla [et al.] // *J. Complement. Integr. Med.* – 2020. – **17**, Issue 1. – P. 20190001. DOI: 10.1515/jcim-2019-0001
27. DiNicolantonio J. J. Boosting endogenous production of vasoprotective hydrogen sulfide via supplementation with taurine and N-acetylcysteine: a novel way to promote cardiovascular health / J. J. DiNicolantonio, J. H. O'Keefe, M. F. McCarty // *Open Heart*. – 2017. – **4**, Issue 1. – e000600. DOI: 10.1136/openhrt-2017-000600
28. Anti-obesity effect of taurine through inhibition of adipogenesis in white fat tissue but not in brown fat tissue in a high-fat diet-induced obese mouse model / K. S. Kim, M. J. Jang, S. Fang [et al.] // *Amino Acids*. –

#### REFERENCES

1. Sharma, I., Liao, Y., Zheng, X., & Kanwar, Y.S. (2021). New pandemic: obesity and associated nephropathy. *Frontiers in Medicine*, 8, 673556. doi:10.3389/fmed.2021.673556
2. Yang, S., Cao, C., Deng, T., & Zhou, Z. (2020). Obesity-related glomerulopathy: a latent change in obesity requiring more attention. *Kidney Blood Press Res.*, 45 (4), 510-522. DOI: 10.1159/000507784
3. Melnik A.V., Pentiuk, O.O. (2009). Activity of hydrogen sulfide production enzymes in kidneys of rats. *Ukrainian Biochemical Journal*, 81 (4), 12-23 [in Ukrainian].
4. Cao, X., & Bian, J.S. (2016). The role of hydrogen sulfide in renal system. *Front. Pharmacol.*, 7, 385. DOI: 10.3389/fphar.2016.00385.
5. Libiad, M., Motl, N., Akey, D.L., Sakamoto, N., Fearon, E.R., Smith, J.L., & Banerjee, R. (2018). Thiosulfate sulfurtransferase-like domain-containing 1 protein interacts with thioredoxin. *J. Biol. Chem.*, 293 (8), 2675-2686. DOI:10.1074/jbc.RA117.000826.
6. Ngowi, E.E., Sarfraz, M., Afzal, A., Khan, N.H., Khattak, S., Zhang, X. ... & Wu, D.D. (2020). Roles of hydrogen sulfide donors in common kidney diseases. *Front. Pharmacol.*, 11, 564281. DOI:10.3389/fphar.2020.564281.
7. Yang, G., Ju, Y., Fu, M., Zhang, Y., Pei, Y., Racine, M., ... & Wu, L. (2018). Cystathionine gamma-lyase/hydrogen sulfide system is essential for adipogenesis and fat mass accumulation in mice. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids*, 1863 (2), 165-176. DOI: 10.1016/j.bbalip.2017.11.008.
8. Comas, F., Latorre, J., Ortega, F., Arnoriaga Rodríguez, M., Lluch, A., Sabater, M., ... & Moreno-Navarrete, J.M. (2021). Morbidly obese subjects show increased serum sulfide in proportion to fat mass. *Int. J. Obes. (Lond)*, 45 (2), 415-426. DOI: 10.1038/s41366-020-00696-z.
9. Halenova, T., Zlatskiy, I., Syroeshkin, A., Maximova, T., & Pleteneva, T. (2019). Deuterium-depleted water as adjuvant therapeutic agent for treatment of diet-induced obesity in rats. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25 (1), 23. doi:10.3390/molecules25010023.
10. Novelli, E.L., Diniz, Y.S., Galhardi, C.M., Ebaid, G.M., Rodrigues, H.G., Mani, F., ... & Novelli Filho, J.L. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab. Anim.*, 41 (1), 111-119. DOI: 10.1258/00236770779399518.
11. Wiliński, B., Wiliński, J., Somogyi, E., Piotrowska, J., & Góralaska, M. (2011). Atorvastatin affects the tissue concentration of hydrogen sulfide in mouse kidneys and other organs. *Pharmacol. Rep.*, 63 (1), 184-188. DOI: 10.1016/s1734-1140(11)70414-5.
12. Stipanuk, M.H., & Beck, P.W. (1982). Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem. J.*, 206 (2), 267-277. DOI:10.1042/bj2060267
13. Zaichko, N.V., Pentiuk, N.O., Melnik, A.V., & Shtatko, O.I. (2009). Formation of hydrogen sulfide in the organs of rats. *Medical Chemistry*, 11 (4), 7-13 [in Ukrainian].
14. Cohen, H.J., & Fridovich, I. (1971). Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties. *J. Biol. Chem.*, 246 (2), 359-366.
15. Jung, H.I., Lim, H.W., Kim, B.C., Park, E.H., & Lim, C.J. (2004). Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines. *Yonsei Med. J.*, 45 (2), 263-272. DOI: 10.3349/ymj.2004.45.2.263.
16. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 (1), 265-275.
17. Khorsandi, H., Nikpayam, O., Yousefi, R., Parandoosh, M., Hosseinzadeh, N., Saidpour, A., & Ghorbani, A. (2019). Zinc supplementation improves body weight management, inflammatory biomarkers and insulin resistance in individuals with obesity: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 11, 101. DOI: 10.1186/s13098-019-0497-8.
18. Rios-Lugo, M.J., Madrigal-Arellano, C., Gaytán-Hernández, D., Hernández-Mendoza, H., & Romero-Guzmán, E.T. (2020). Association of serum zinc levels in overweight and obesity. *Biol. Trace Elem. Res.*, 198 (1), 51-57. DOI: 10.1007/s12011-020-02060-8.
19. Comas, F., & Moreno-Navarrete, J.M. (2021). The impact of H<sub>2</sub>S on obesity-associated metabolic disturbances. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10 (5), 633. DOI: 10.3390/antiox10050633.
20. Mohan, D., Balasubramanian, E.D., Ravindran, S., & Kurian, G.A. (2017). Renal mitochondria can withstand hypoxic/ischemic injury secondary to renal failure in uremic rats pretreated with sodium thiosulfate. *Indian J. Pharmacol.*, 49 (4), 317-321. DOI:10.4103/ijp.IJP\_751\_16.
21. Hsu, C.N., Hou, C.Y., Chang-Chien, G.P., Lin, S., Yang, H.W., & Tain, Y.L. (2022). Sodium thiosulfate improves hypertension in rats with adenine-induced chronic kidney disease. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11 (1), 147. doi:10.3390/antiox11010147.
22. Larghero P., Venè, R., Minghelli, S., Travaini, G., Morini, M., Ferrari, N., ... & Benelli, R. (2007). Biological assays and genomic analysis reveal lipoic acid modulation of endothelial cell behavior and gene expression. *Carcinogenesis*, 28(5), 1008-1020. DOI: 10.1093/carcin/bgl233.
23. Bilska-Wilkosz, A., Iciek, M., Kowalczyk-Pachel, D., Górný, M., Sokołowska-Jeżewicz, M., & Włodek, L. (2017). Lipoic acid as a possible pharma-

cological source of hydrogen sulfide/sulfane sulfur. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22 (3), 388. DOI:10.3390/molecules22030388

24. El Hajjaji, H., Dumoulin, M., Matagne, A., Colau, D., Roos, G., Messens, J., Collet, J.F. (2009). The zinc center influences the redox and thermodynamic properties of Escherichia coli thioredoxin 2. *J. Mol. Biol.*, 386 (1), 60-71. DOI:10.1016/j.jmb.2008.11.046.

25. Lee, S.R. (2018). Critical role of zinc as either an antioxidant or a prooxidant in cellular systems. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2018, 9156285. doi:10.1155/2018/9156285.

26. Saad-Hussein, A., Ibrahim, K., Abdalla, M., El-Mezayen, H. & Osman, N. (2020). Effects of zinc supplementation on oxidant/antioxidant and lipids status of pesticides sprayers. *J. Complement. Integr. Med.*, 17 (1), 20190001. doi:10.1515/jcim-2019-0001

27. DiNicolantonio, J.J., O'Keefe, J.H., & McCarty, M.F. (2017). Boosting endogenous production of vasoprotective hydrogen sulfide via supplementation with taurine and N-acetylcysteine: a novel way to promote cardiovascular health. *Open Heart*, 4 (1), e000600. DOI: 10.1136/openhrt-2017-000600.

28. Kim, K.S., Jang, M.J., Fang, S., Yoon, S.G., Kim, I.Y., Seong, J.K., ... & Hahm, D.H. (2019). Anti-obesity effect of taurine through inhibition of adipogenesis in white fat tissue but not in brown fat tissue in a high-fat diet-induced obese mouse model. *Amino Acids*, 51 (2), 245-254. DOI: 10.1007/s00726-018-2659-7.

29. Namazi, N., Larijani, B., & Azadbakht, L. (2018). Alpha-lipoic acid supplement in obesity treatment: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Clin. Nutr*, 37 (2), 419-428. DOI: 10.1016/j.clnu.2017.06.002.

V. V. Blazhchenko, N. V. Zaichko

M. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## THE EFFECT OF ZINC SULFATE, SODIUM THIOSULFATE, LIPOIC ACID, AND TAURINE ON HYDROGEN SULFIDE METABOLISM IN KIDNEYS OF RATS WITH DIET-INDUCED OBESITY

### Summary

**Introduction.** The problem of prevention and correction of nephropathy in obesity is becoming increasingly important. The kidneys synthesize a multifunctional regulator of hydrogen sulfide ( $H_2S$ ), the metabolism of which in obesity can accelerate the formation of chronic kidney disease. The search for metabolic correctors that could normalize  $H_2S$  metabolism in the kidneys in obesity and would not show a lipogenic effect remains relevant. This effect can be seen in cofactors and co-substrates of thiosulfate-dependent  $H_2S$  metabolism.

**The aim of the study** – to establish the effect of zinc sulfate, sodium thiosulfate, lipoic acid, and taurine on hydrogen sulfide metabolism in kidneys of rats with diet-induced obesity (DIO).

**Research Methods.** Experiments were performed on 60 white laboratory male rats in accordance with the principles of bioethics (Strasbourg, 1986; Kyiv, 2001). DIO was induced in 50 rats by dieting on a high-calorie high-fat diet (energy value 4.33 kcal/g) for 10 weeks. The control group (10 rats) received a standard diet (energy value 2.71 kcal/g). Correctors of  $H_2S$  metabolism (zinc sulfate, sodium thiosulfate, lipoic acid, taurine) were administered during the last 2 weeks. The activity of the enzymes of  $H_2S$  metabolism was determined in kidney homogenates. Statistical processing was performed in the package IBM Statistics SPSS 26, differences were assessed in the Kruskal – Wallis test at a significance level of  $p < 0.05$ .

**Results.** The following  $H_2S$  metabolism disorders in the kidneys were detected in DIO rats: decreased activity of PLP-dependent transsulfuration enzymes (cystathionine- $\gamma$ -lyase, cystathionine- $\beta$ -synthase, cysteine aminotransferase), decreased activity of thiosulfate-dependent pathways of  $H_2S$  metabolism (thiosulfate (thiol) sulfurtransferase, thioredoxin reductase, sulfite oxidase) and low  $H_2S$  level, which correlated with an increase in body mass index and index Lee. Zinc sulfate, lipoic acid, sodium thiosulfate and taurine increased the level of  $H_2S$  and the activity of  $H_2S$ -synthesizing enzymes of transsulfuration and thiosulfate-dependent pathways in the kidneys (1.4–1.5 times,  $p < 0.01$ ), without causing lipogenic effect in rats with DIO.

**Conclusions.** Zinc sulfate, lipoic acid, sodium thiosulfate effectively reduce  $H_2S$  metabolism disorders in the kidneys which were induced by high-calorie high-fat diet and inhibit the development of obesity in rats.

KEY WORDS: hydrogen sulfide; metabolism; obesity; chronic kidney disease; high-calorie high-fat diet; rats.

Отримано 03.02.22

Адреса для листування: В. В. Блаженко, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна, e-mail: vitwik@gmail.com.