

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ВИСОКОЖИРОВОЇ ДІЄТИ НА КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ СИНТЕЗУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

Заїчко Н.В., Остренюк В.В., Блажченко В.В.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Аліментарне перевантаження організму вуглеводами та жирами, надлишкова маса тіла і ожиріння є чинниками розвитку артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, цереброваскулярної патології, хронічної хвороби нирок. Біохімічні механізми органної дисфункції при ожирінні здебільшого пов'язують з інсулінорезистентністю, порушенням адипокінового сигналіngu, оксидативним стресом, субклінічним запаленням, дисбалансом в системі вазоконстрикторів та вазодилататорів. Встановлено, що одним із ключових регуляторів судинного тонуусу, скоротливості міокарду та ниркового кровообігу є ендогенний метаболіт гідроген сульфід (H_2S). В більшості тканин H_2S утворюється в реакції десульфурування цистеїну за участі ПАЛФ-залежного ензиму цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ). Роль системи H_2S / ЦГЛ в патогенезі ожиріння залишається невизначеною.

Мета роботи: вивчити вплив високожирової дієти на кінетичні параметри синтезу H_2S в міокарді та нирках щурів.

Матеріали та методи: Досліди проведені на 20 білих лабораторних щурах-самцях з початковою масою 210-270 г. Всі етапи досліджень виконані згідно «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Контрольна група щурів ($n=10$) отримувала збалансовану за всіма макро– та мікронутрієнтами стандартну дієту (17% ккал за рахунок протеїнів, 62% ккал за рахунок вуглеводів, 21% ккал за рахунок жирів). Дослідна група щурів ($n=10$) упродовж 60 діб отримувала високожирову дієту (ВЖД), що постачала 17% ккал за рахунок протеїнів, 29% ккал за рахунок вуглеводів та 54% ккал за рахунок жирів. На 61 добу тварин піддавали евтаназії під тіопенталовим наркозом (тіопентал натрію 100 мг/кг в/оч). Вилучали вісцеральну, епідідімальну та ретроперітонеальну жирову тканину, висушували та зважували. Індекс ожиріння розраховували як відно-

шення сумарної маси вісцерального, епідідимального та ретроперитонеального жиру (г) до маси тіла (г) *100 %.

Кінетичні параметри ЦГЛ (КФ 4.4.1.1) в постядерному супернатанті гомогенатів міокарду та нирок вивчали з використанням інкубаційних середовищ, які містили L-цистеїн (в концентраціях від 0,12 до 30 мМ), ПАЛФ 1,34 мМ, Трис-НСІ буфер 0,08 М (рН 8,5) при 37°C. Вміст H_2S визначали за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності $FeCl_3$. Будували кінетичні криві в прямих та обернених координатах Лайнуівера-Берка, розраховували константу Міхаеліса (K_m) та максимальну швидкість (V_{max}) реакції. Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики у пакеті MS Excel та SPSS22.

Результати: Встановлено, що 60-добове застосування ВЖД викликало у щурів підвищення сумарної маси внутрішнього жиру та індексу ожиріння (з $2,36 \pm 0,06$ до $3,43 \pm 0,08$ г/ 100 г маси тіла, $p < 0,05$), що супроводжувалось порушенням ендогенної продукції H_2S . У інтактних щурів вміст H_2S в міокарді та нирках становив $2,85 \pm 0,08$ та $4,23 \pm 0,08$ нмоль/мг протеїну, у щурів дослідної групи був достовірно нижчим – відповідно $1,98 \pm 0,07$ та $3,30 \pm 0,06$ нмоль/мг протеїну ($p < 0,05$). Вміст H_2S в міокарді та нирках обернено корелював з індексом ожиріння ($r = -0,46$ - $-0,52$, $p < 0,05$). Оцінка кінетичних параметрів ЦГЛ в міокарді засвідчила, що в діапазоні концентрацій цистеїну 0,12-0,48 мМ реєструвалась пряма залежність між концентрацією субстрату та швидкістю ензиматичної реакції (0,012-0,045 нмоль H_2S /хв·мг протеїну). За подальшого збільшення концентрації цистеїну темпи приросту швидкості реакції зменшувались і при концентрації цистеїну 7,5 мМ крива виходила на плато. В обернених координатах відмічалось повне спрямлення кінетичної кривої, що підтверджує участь одного ензиму в реакції десульфурування цистеїну з утворенням H_2S в міокарді. У дослідних щурів швидкість десульфурування цистеїну у діапазоні високих концентрацій субстрату суттєво не відрізнялась від такої у інтактних щурів. В діапазоні низьких концентрацій цистеїну у інтактних щурів швидкість реакції була вищою (0,015-0,087 нмоль H_2S / хв·мг протеїну), ніж у дослідних щурів (0,008-0,030 нмоль H_2S / хв·мг протеїну). У дослідних щурів реєструвалось зміщення кінетичної кривої активності ЦГЛ в міокар-

ді в прямих координатах праворуч (в обернених – ліворуч) відносно кривої інтактних щурів при дослідженні. В міокарді інтактних щурів Km ЦГЛ по цистеїну становила $2,91 \pm 0,06$ мМ, а V_{\max} – $0,542 \pm 0,008$ нмоль H_2S /хв·мг протеїну. В міокарді дослідних щурів Km була достовірно вищою (на 15,1%, $p < 0,05$), а V_{\max} – нижчою (на 21,4%, $p < 0,05$). Аналіз кінетичних параметрів ЦГЛ в нирках виявив аналогічні закономірності: у інтактних тварин Km становила $4,59 \pm 0,07$ мМ, а V_{\max} – $1,63 \pm 0,05$ нмоль H_2S / хв·мг протеїну, у дослідних щурів реєструвались вищі значення Km та нижчі значення V_{\max} (на 24,0 та 30,1%, $p < 0,05$), відповідно.

Висновки: Таким чином, довготривала високожирова дієта індукує розвиток вісцерального ожиріння та формування дефіциту H_2S в міокарді та нирках щурів. Зниження вмісту ендogenous H_2S може бути зумовлено зміною кінетичних параметрів цистатіонін- γ -ліази. Встановлення молекулярних механізмів впливу аліментарного надлишку жирів на органну продукцію H_2S дозволить з'ясувати нові патогенетичні аспекти дисфункції серця та нирок при ожирінні.

УДК 615.252.349.4:546.221.1:577.15:616.43

**ВПЛИВ АНТИДІАБЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА ВМІСТ
ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ТА АКТИВНІСТЬ H_2S -
СИНТЕЗУЮЧИХ ЕНЗИМІВ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ІЗ
СТРЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ**

Заїчко Н.В., Струтинська О.Б., Паламарчук І.В.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Висока розповсюдженість цукрового діабету 2 типу та інших патологічних станів, асоційованих з інсулінорезистентністю (ожиріння, метаболічного синдрому), зумовлює постійне зростання вживаності пероральних антидіабетичних засобів. Ефективність та безпека цих препаратів визначається не лише гіпоглікемічною дією, а й здатністю профілакувати ураження органів та систем в умовах інсулінорезистентності. За останні роки накопичились чисельні дані щодо ролі біологічно-активної молекули гідроген сульфїду в пато-