

УДК: 546.221.1:613.25:611.12:611.61

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 вазодилітаторів. 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 десульфуровування 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 відношення сумарної маси вісцерального, епідідимального та ретроперітонеального 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 H₂S визначали за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності FeCl₃. 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±0,06 до 3,43±0,08 г/ 100 г маси тіла, p<0,05), що супроводжувалось порушенням ендогенної продукції H₂S. У інтактних щурів вміст H₂S в міокарді та нирках становив 2,85±0,08 та 4,23±0,08 нмоль/мг протеїну, у щурів дослідної групи був достовірно нижчим - відповідно 1,98±0,07 та 3,30±0,06 нмоль/мг протеїну (p<0,05). Вміст H₂S 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 H₂S/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 H₂S 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 H₂S / 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 міокарді в прямих координатах праворуч (в обернених – ліворуч) відносно кривої інтактних щурів при дослідженні. В міокарді інтактних щурів K_m 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 K_m 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 K_m 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 K_m 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.