

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В НИРКАХ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ З ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ

Гіпергомоцистеїнемія у дітей може розвиватися внаслідок генетичних дефектів, ендокринних аномалій або за впливу харчових чинників. Підвищений рівень гомоцистеїну вважається фактором ризику прогресування хронічної хвороби нирок. Метою роботи було дослідити показники оксидативного стресу в гомогенаті нирок статевонезрілих щурів у контролі та за гіпергомоцистеїнемії. Було визначено концентрацію відновленого та окисненого глутатіонів, активність супероксиддисмутази, каталази та синтази оксиду азоту. Модель гіпергомоцистеїнемії відтворювали на одномісячних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Дослідній групі внутрішньошлунково вводили D,L-тіолактон гомоцистеїну гідрохлориду на 1 %-му розчині крохмалю в дозі 200 мг/кг маси тіла один раз на добу упродовж восьми тижнів. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм 1 %-го розчину крохмалю. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорд. Активність супероксиддисмутази, каталази та синтази оксиду азоту визначали спектрофотометрично, концентрацію відновленого та окисненого глутатіону – флуориметричним методом. Установлено, що за гіпергомоцистеїнемії відбувалось зниження концентрації відновленого глутатіону, активності супероксиддисмутази, каталази та синтази оксиду азоту на тлі підвищення концентрації окисненого глутатіону в гомогенаті нирок статевонезрілих щурів. Отримані результати свідчать про те, що розвиток оксидативного стресу в нирках статевонезрілих щурів має подібну тенденцію із процесом у статевозрілих тваринах, описаним у літературі. Зниження концентрації відновленого глутатіону й активності ферментів антиоксидантного захисту можуть указувати на розвиток патологічних процесів у нирках.

Ключові слова: гіпергомоцистеїнемія, глутатіон, супероксиддисмутаза, каталаза, нирки.

Вступ. Хвороби нирок різного походження характеризуються тяжким перебігом і високою летальністю. За останні роки частота ниркових патологій, а особливо останньої стадії – хронічної ниркової недостатності, значно зросла [1]. Важливе місце у розвитку патологій нирок займає гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ), яка виникає в результаті порушень метаболізму сірковмісної амінокислоти гомоцистеїну (ГЦ), що є проміжним продуктом перетворення метіоніну на цистеїн [2].

Поширеність ГГЦ у пацієнтів із хронічною хворобою нирок (ХХН) у рази перевищує загальнопопуляційну, навіть при початковій дисфункції нирок, а концентрація гомоцистеїну може досягати дуже високого рівня у осіб з вираженими порушеннями функціонального стану органа, особливо у хворих, які отримують замісну ниркову терапію [3]. Механізми, які лежать в основі токсичності гомоцистеїну, включають оксидативний стрес, пошкодження ДНК, тіолування та гомоцистеїнілування білків, що запускають апоптоз та екайотоксичність [4].

Найважче в літературних джерелах інформація свідчить про те, що нирки відіграють основну роль у кліренсі гомоцистеїну [5]. Також деякі автори зазначають, що концентрація вказаної амінокислоти підвищується в міру порушення функції нирок, при цьому в пацієнтів спостерігається резистентність до звичайних засобів для зниження рівня гомоцистеїну [5, 6].

Рівень гомоцистеїну в крові і в сечі може різко зростати при гомоцистеїнурії – рідкісній хворобі, що передається у спадок. Вона є причиною змін в одному або кількох генах. У страждаючої від гомоцистеїнурії людини формується дефектний фермент, який не дозволяє здійснювати розщеплення метіоніну. Через це в організмі накопичуються гомоцистеїн та метіонін [7]. Діти, які народжуються з гомоцистеїнурією, через кілька років можуть мати фізичні вади та ризик виникнення тромбозу й атеросклерозу, що може призвести до ранніх серцево-судинних захворювань. Подальший розвиток хвороби загрожує затримкою розумового розвитку, відхиленнями в поведінці та епілепсією [8].

На сьогоднішній день відомо, що підвищений рівень гомоцистеїну може сприяти розвитку оксидативного стресу, знижуючи активність антиоксидантної системи [9]. Окисні ефекти гіпергомоцистеїнемії опосередковують утворення аніонного радикала супероксиду в реакціях із ксантинооксидазою або незв'язаною ендотеліальною синтазою оксиду азоту, сприяють зниженню регуляції антиоксидантних ферментів і виснаженню пулу внутрішньоклітинного глутатіону [10, 11].

Оксидативний стрес є одним із механізмів, який викликає ендотеліальне пошкодження та ендотеліальну дисфункцію. При окисненні сульфгідрильної групи ГЦ утворюються активні форми кисню, включаючи аніонний радикал супероксиду ($O_2^{\cdot-}$) та перекис водню (H_2O_2), які, як вважають, і відповідають за ендотеліальну токсичність ГЦ [12], а також активізують процеси перекисного окиснення ліпідів і запальну відповідь [13]. У присутності оксиду азоту (NO) аніон супероксиду може формувати потужний оксидант пероксинітрил ($OONO^{\cdot-}$) [14].

Хоча на сьогодні існують дані щодо роботи системи глутатіону й антиоксидантних ферментів при гіпергомоцистеїнемії, проте вони мають суперечливий характер, а показники оксидативного стресу на відтворених моделях переважно досліджені у крові статевозрілих тварин.

Отже, **метою** нашої роботи було дослідити показники оксидативного стресу в гомогенаті нирок статевонезрілих щурів у контролі та за гіпергомоцистеїнемії.

Матеріали і методи. Дослідження проводили за загальними правилами та міжнародними біоетичними принципами Європейської конвенції про охорону хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1986), загальноетичними принципами, затвердженими Першим національним конгресом України з питань біоетики (вересень 2001 р.). Одномісячних щурів-самців розподіляли на дві групи: контроль і дослід. Модель хронічної гіпергомоцистеїнемії створювали шляхом внутрішньошлункового введення D,L-тіолактон гомоцистеїну гідрохлориду (Acros Organics, Італія) на 1 %-му розчині крохмалю в

дозі 200 мг/кг маси тіла один раз на добу впродовж восьми тижнів [15]. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм 1 %-го розчину крохмалю. Тварин виводили з експерименту методом дислокації шийних хребців. Гомогенат нирок отримували загальноприйнятим методом [16]. Концентрацію білка у зразках визначали за методом Бредфорд [17].

Вміст відновленого глутатіону (GSH) та окисненого глутатіону (GSSG) визначали флуориметрично, з використанням ортофталевого альдегіду [8]. Концентрацію глутатіонів визначали за калібрувальними графіками. Активність каталази визначали за кількістю утвореного стійкого забарвленого комплексу солей молібдену з незруйнованим перекисом водню у пробі [18]. Супероксиддисмутазу (СОД) активність оцінювали методом з використанням нітросинього тетразолію [19]. Визначення активності синтази оксиду азоту проводили методом, адаптованим для спектрофотометричного вимірювання, за накопиченням L-цитруліну [20, 21]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel. Підраховували показники середньої ариф-

метичної (M), середньої квадратичної помилки (m). Перевірку гіпотези нормального розподілу вибірки проводили за допомогою критерію Шапіро – Вілка. За відповідності вибірки критеріям нормального розподілу достовірність відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Стюдента (t). За невідповідності вибірки критеріям нормального розподілу достовірність відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Манна – Уїтні (U). Достовірними вважали показники при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Важливим фактором, від якого залежить концентрація вільних радикалів в організмі, є кооперативна робота антиоксидантних систем, які регулюють рівень активних форм кисню. Антиоксидантна система глутатіону складається із глутатіону, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Система глутатіону зв'язує вільні радикали, відновлює пероксиди, що запобігає розвитку вільнорадикальних процесів.

Нами було досліджено вміст відновленого й окисненого глутатіону в гомогенаті нирок одномосячних щурів як у контролі, так і за гіпергомоцистеїнемії (рис. 1).

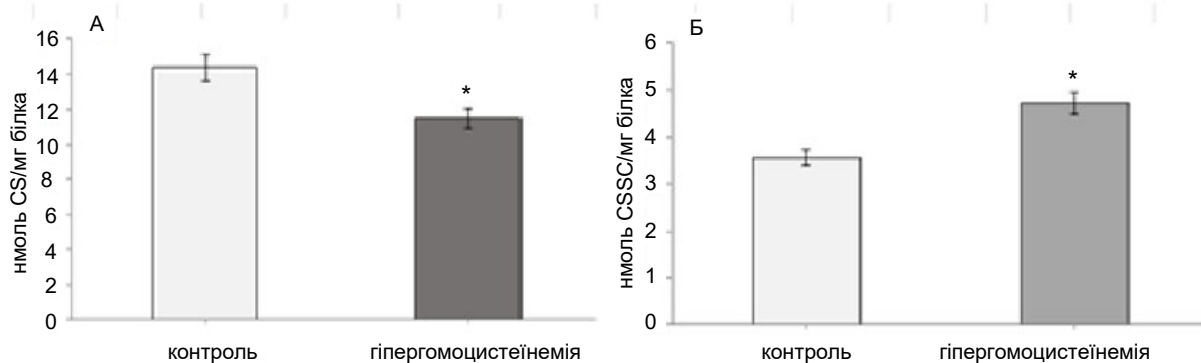


Рис. 1. Концентрація відновленого (А) та окисненого (Б) глутатіону в гомогенаті нирок щурів із гіпергомоцистеїнемією ($n = 8$)

Примітка* – $p < 0,05$ щодо контролю.

Встановлено, що концентрація відновленого глутатіону за гіпергомоцистеїнемії знижувалась на 20 %, а окисненого глутатіону – підвищувалась на 33 % порівняно з контрольними значеннями.

Клітинний пул глутатіону формується в результаті динамічної рівноваги процесів біосинтезу, деградації, міжорганного перерозподілу і транспорту, окисно-відновних перетворень і реакцій кон'югації з електрофільними сполуками. Зниження вмісту відновленого глутатіону нижче показників норми може бути індикатором порушення клітинного редокс-статусу [22].

Інактивація глутатіонової антиоксидантної системи захисту є одним із механізмів впливу гоомоцистеїну на ендотелій [23]. Крім зниження активності внутрішньоклітинної глутатіонпероксидази, гоомоцистеїн значно знижує і окисно-відновну рівновагу тіолів судинних клітин. У такий спосіб розвивається відносна недостатність косубстрату для ендотеліального захисту від продуктів вільнорадикального метаболізму ГЦ [14].

При дослідженні концентрації GSH у печінці статевозрілих щурів із гіпергомоцистеїнемією, яка викликана дефіцитом вітаміну В6, показано зниження показника. При цьому спостерігалось підвищення рівня малонового діальдегіду й активності глутатіонредуктази, а також зниження активності глутатіонпероксидази [24]. Під час

інших досліджень встановлено, що за гіпергомоцистеїнемії відбувалось підвищення вмісту гоомоцистеїну та цистеїну і зниження рівня гідроген сульфід у сироватці крові самців і самок щурів [25]. Фермент цистатіонін-γ-ліаза відіграє ключову роль у десульфурзації L-цистеїну, тому зниження експресії цистатіонін-γ-ліази може спричинити зниження рівня цистеїну, глутатіону, таурину та сірководню у клітинах [26]. Любош та співавтори, аналізуючи літературні дані відтворених моделей ендотеліальної дисфункції з гіпергомоцистеїнемією *in vivo* та *in vitro*, дійшли висновку, що глутатіонпероксидаза може бути ключовою мішенню шкідливого впливу гоомоцистеїну [27].

Отже, зниження вмісту відновленого глутатіону у статевозрілих щурів із гіпергомоцистеїнемією може бути обумовлене порушенням роботи як ферментів глутатіонової системи, так і ферментів десульфурзації цистеїну.

Крім порушення роботи антиоксидантної системи глутатіону, оксидативний стрес, спричинений гоомоцистеїном, може викликати зміни активності клітинних антиоксидантних ферментів, зокрема супероксиддисмутази та каталази [28].

Нами було досліджено активність СОД і каталази в гомогенаті нирок одномосячних щурів як у контролі, так і за гіпергомоцистеїнемії (табл. 1).

Таблиця 1. Активність супероксиддисмутази та каталази у гомогенаті нирок щурів із гіпергомоцистеїнемією (n=8)

Показник	Контроль	Гіпергомоцистеїнемія
Супероксиддисмутаза, ум. од./хв*мг білка	4,34±0,217	2,52±0,126*
Каталаза, мкмоль/хв*мг білка	0,07±0,004	0,05±0,003*

Примітка * – $p < 0,05$ щодо контролю.

У ході досліджень було встановлено, що активність супероксиддисмутази та каталази за гіпергомоцистеїнемії знижувалась на 42 та 30 %, відповідно, порівняно з контрольними значеннями.

Зниження активності СОД може бути пов'язане з підвищенням концентрації перексиду водню та інактивацією ферменту. Утворення надлишку окиснених метаболітів викликає інгібування СОД акцепторами електронів [29]. Зниження активності каталази, як вважає Мілтон [30], може бути пов'язане з тим, що гомоцистеїн безпосередньо пригнічує розпад H_2O_2 каталазою шляхом перетворення ферменту на неактивну форму. Існує гіпотеза, що гомоцистеїн легко аутоокиснюється з утворенням гомоцистеїн-змішаних дисульфідів і тіолактону гомоцистеїну. При окисненні сульфгідрильних груп генеруються супероксид аніон (O^-) або пероксид водню (H_2O_2), які, власне, і

визначають цитотоксичність гомоцистеїну [31]. Зниження обміну гомоцистеїну, низький вміст антиоксидантів змінюють баланс між продукцією вільних радикалів та їх нейтралізацією, що призводить до зниження рівня NO, збільшуючи пошкодження судинного ендотелію.

Гіпергомоцистеїнемія може спричинити активне утворення супероксиду за рахунок посилення гломерулярної фільтрації, модуляції транспорту рідини й електролітів, корекції функції нирок у відповідь на дію ушкоджувального фактора [32]. За умов патології саме оксиду азоту належить провідна роль у розвитку і прогресуванні нефросклерозу [33].

Ми досліджували активність синтази оксиду азоту в гомогенаті нирок одномісячних щурів як у контролі, так і за гіпергомоцистеїнемії (рис. 2).

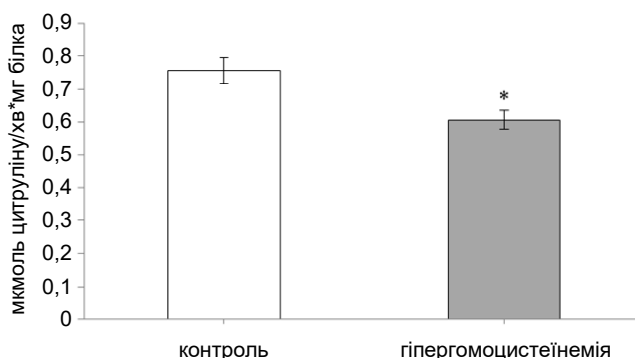


Рис. 2. Активність загальної синтази оксиду азоту в гомогенаті нирок щурів із гіпергомоцистеїнемією (n = 8)

Примітка * – $p < 0,05$ щодо контролю.

Встановлено, що активність ферменту знижувалась за гіпергомоцистеїнемії на 20 % порівняно з контрольними показниками.

Потенційні механізми, за допомогою яких підвищений рівень гомоцистеїну в плазмі крові викликає зниження біодоступності оксиду азоту, включають роз'єднання активності синтази оксиду азоту та інгібування оксиду азоту оксидативним стресом і розвиток хронічного запалення.

Розвиток гострої та хронічної ендотеліальної дисфункції за ГГЦ виявлено як в експерименті на тваринах, так і в людини [14]. Великого значення серед механізмів розвитку ендотеліальної дисфункції надають впливу ГЦ на метаболізм оксиду азоту (NO). NO є сильним вазодилататором і, ураховуючи, що ниркові судини більш чутливі до змін ендотеліальної функції, ніж судини інших органів [34], він відіграє ключову роль у нирковому гомеостазі, регулюючи гломерулярну і канальцеву функції [35]. Інактивація NO за рахунок аніонного радикала супероксиду і пероксинітриду, що утворюється при цьому, може впливати на медулярний нирковий кровотік, сприяючи розвитку гострої ниркової недостатності [36].

Чен та співавтори вважають, що гіпергомоцистеїнемія, активація оксидативного стресу і знижені функції антиоксидантного захисту пов'язані з ризиком розвитку хронічної хвороби нирок [37]. Дослідження рівня гомоцистеїну у клінічній практиці при захворюваннях нирок особливо необхідне на ранніх стадіях розвитку хвороби. Це важливо як для діагностики та лікування, так і для своєчасного попередження виникнення тяжких ускладнень і несприятливих наслідків захворювання.

Висновки. Отже, на відтвореній моделі гіпергомоцистеїнемії у одномісячних щурів спостерігався розвиток оксидативного стресу, за якого відбувалось зниження вмісту відновленого глутатіону та підвищення вмісту його окисненої форми у гомогенаті нирок щурів. Дисбаланс антиоксидантної системи, а саме зниження активності супероксиддисмутази та каталази, призводить до її виснаження. Зниження активності синтази оксиду азоту може вказувати на розвиток патологічних процесів у нирках. Розвиток оксидативного стресу в нирках статевозрілих щурів мав подібну тенденцію із процесом у статевозрілих тварин.

Список використаних джерел

- Acute kidney injury / J. Kellum, P. Romagnani, G. Ashuntantang et al. // *Nature reviews disease primer*. – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 52. – doi:10.1038/s41572-021-00284-z
- Poddar R. Hyperhomocysteinemia is an emerging comorbidity in ischemic stroke / R. Poddar // *Experimental neurology*. – 2020. – Vol. 336. – doi:10.1016/j.expneurol.2020.113541
- Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients / F. Mallamaci, C. Zoccali, G. Tripepi et al. // *Kidney international*. – 2002. – Vol. 61, № 2. – P. 609–614. – doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00144.x
- Homocysteine induces inflammation in retina and brain / N. Elsherbiny, I. Sharma, D. Kira et al. // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 393. – doi:10.3390/biom10030393
- Kozat S. Homocystein: A new biochemical marker in livestock sector / S. Kozat, E. Okman // *Journal of advanced veterinary and animal research*. – 2017. – Vol. 4, № 4. – P. 319–332. – doi:10.5455/javar.2017.d230
- Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study / A. Bostom, I. Rosenberg, H. Silbershatz et al. // *Annals of internal medicine*. – 1999. – Vol. 131, № 5. – P. 352–355. – doi:10.7326/0003-4819-131-5-199909070-00006
- Sacharow S. Homocystinuria caused by cystathionine beta-synthase deficiency / S. Sacharow, J. Picker, H. Levy // *Gene Reviews: University of Washington* / ed. by M. Adam, D. Everman, G. Mirzaa et al. – Seattle, 2004–2017. – Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1524/
- Three main causes of homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR deficiency. What do they have in common? / G. Weber, S. Poloni, H. Blom et al. // *Journal of inborn errors of metabolism and screening*. – 2019. – Vol. 7. – P. e20190007. – doi:10.1590/2326-4594-JIEMS-2019-0007
- Zhuo J. Is hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor, an AD marker, or neither? / J. Zhuo, H. Wang, D. Praticò // *Trends in pharmacological sciences*. – 2011. – Vol. 32, № 9. – P. 562–571. – doi:10.1016/j.tips.2011.05.003
- Ighodaro O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid / O. Ighodaro, O. Akinloye // *Alexandria journal of medicine*. – 2018. – Vol. 54, № 4. – P. 287–293. – doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001
- Ganguly P. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease / P. Ganguly, S. Alam // *Nutrition journal*. – 2015. – Vol. 14, № 6. – doi:10.1186/1475-2891-14-6
- Reduction of molecular oxygen by redox active thiols: comparison of glutathione, N-acetylcysteine, cysteine, and homocysteine / M. Nyui, Y. Shoji, M. Ueno et al. // *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. – 2019. – Vol. 65, № 3. – P. 185–192. – doi:10.3164/jcbrn.19-25
- Possible mechanisms of homocysteine toxicity / A. Perna, D. Ingrosso, C. Lombardi et al. // *Kidney international*. – 2003. – Vol. 63, № 84. – P. S137–S140. – doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s84.33.x
- Lai W. Homocysteine-induced endothelial dysfunction / W. Lai, M. Kan // *Annals of nutrition and metabolism*. – 2015. – Vol. 67. – P. 1–12. – doi:10.1159/000437098
- Дослідження протеолітичної активності в нирках та печінці щурів за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації / А. Сербін, Ю. Комар, Т. Коваль та ін. // *Вісник Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія*. – 2021. – Т. 85, № 2. – С. 42–46. – doi:10.17721/1728_2748.2021.85.42-46
- Raksha N. Proteolytic activity in the heart of rats with hyperhomocysteinemia / N. Raksha, O. Maievskiy, I. Dzevulska // *Wiadomości lekarskie*. – 2022. – Vol. 75, № 4. – P. 831–835. – doi:10.36740/WLek202204115
- Bradford M. A rapid and sensitive method for quantities of utilizing the principle of protein binding / M. Bradford // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – Vol. 86. – P. 193–200. – doi:10.1006/abio.1976.9999
- Ruch R. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea / R. Ruch, S. Cheng, J. Klauig // *Carcinogen*. – 1989. – Vol. 10, № 6. – P. 1003–1008. – doi:10.1093/carcin/10.6.1003
- Chakraborty G. Free radicals scavenging activity of Aesculus indicaleaves / G. Chakraborty // *International Journal of PharmTech Research*. – 2009. – Vol. 1. – P. 524–526.
- Salter M. Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases / M. Salter, R. Knowles, S. Moncada // *FEBS Letters*. – 1991. – Vol. 291, № 1. – P. 145–149. – doi:10.1016/0014-5793(91)81123-p
- Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats / S. Chin, K. Pandey, S. Shi et al. // *The American journal of physiology*. – 1999. – Vol. 277, № 5/2. – P. F797–F804. – doi:10.1152/ajprenal.1999.277.5.F797
- Демченко А. Стан системи глутатіону у гемолізаті еритроцитів хворих на хронічну ішемію мозку / А. Демченко // *Східноєвропейський неврологічний журнал*. – 2016. – № 4. – С. 30–36.
- Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis / X. Wu, L. Zhang, Y. Miao et al. // *Redox biology*. – 2019. – Vol. 20, № 1. – P. 46–59. – doi:10.1016/j.redox.2018.09.021
- Taysi S. Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B₆ deficient rats / S. Taysi // *Clinical Nutrition*. – 2005. – Vol. 24. – P. 9–35. – doi:10.1016/j.clnu.2004.12.001
- Мельник А. Гендерні особливості впливу гіпергомоцистемії на метаболізм сірковмісних амінокислот та гідроген сульфід в печінці / А. Мельник, Н. Заїчко // *Медична та клінічна хімія*. – 2017. – № 1. – С. 95–101. – doi:10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7352
- γ-Liaza cystationinowa [Cystathionine γ-lyase] / H. Jurkowska, M. Kaczor-Kamińska, P. Bronowicka-Adamska et al. // *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej*. – 2014. – Vol. 68. – P. 1–9. – doi:10.5604/17322693.1085372
- Lubos E. Homocysteine and glutathione peroxidase-1 / E. Lubos, J. Loscalzo, D. Handy // *Antioxidants and redox signaling*. – 2007. – Vol. 9, № 11. – doi:10.1089/ars.2007.1771.
- Implication of hyperhomocysteinemia in blood retinal barrier (BRB) dysfunction / A. Tawfik, Y. Samra, N. Elsherbiny et al. // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 8. – P. 1119. – doi:10.3390/biom10081119
- Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species / L. He, T. He, S. Farrar et al. // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2017. – Vol. 44, № 2. – P. 532–53. – doi:10.1159/000485089
- Milton N. Homocysteine inhibits hydrogen peroxide breakdown by catalase / N. Milton // *The open enzyme inhibition journal*. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 34–41. – doi:10.2174/1874940200801010034
- Long Y. Homocysteine in Renal Injury / Y. Long, J. Nie // *Kidney diseases (Basel)*. – 2016. – Vol. 2, № 2. – P. 80–87. – doi:10.1159/000444900
- Pereira B. The role of nitric oxide in renovascular hypertension: from the pathophysiology to the treatment / B. Pereira, G. Vale, C. Ceron // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology*. – 2022. – Vol. 395, № 2. – P. 121–131. – doi:10.1007/s00210-021-02186-z
- Renoprotective effects of melatonin in young spontaneously hypertensive rats with L-NAME / M. Cheng, T. Wu, L. Huang et al. // *Pediatrics and Neonatology*. – 2014. – Vol. 55, № 3. – P. 189–95. – doi:10.1016/j.pedneo.2013.09.005
- Norvaline reduces blood pressure and induces diuresis in rats with inherited stress-induced arterial hypertension / M. Gilinsky, Y. Polityko, A. Markel et al. // *BioMed Research International*. – 2020. – Vol. 12, № 2. – P. 4935386. – doi:10.1155/2020/4935386
- Oliveira F. The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury / F. Oliveira, J. Assreuy, R. Sordi // *Bioscience reports*. – 2022. – Vol. 42, № 7. – P. BSR20220093. – doi:10.1042/BSR20220093
- Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney / Y. Ishimoto, T. Tanaka, Y. Yoshida et al. // *Clinical and experimental pharmacology and physiology*. – 2018. – Vol. 45, № 11. – P. 1097–1105. – doi:10.1111/1440-1681.13018
- High homocysteine, low vitamin B-6, and increased oxidative stress are independently associated with the risk of chronic kidney disease / C. Chen, W. Yang, Y. Hsiao et al. // *Nutrition*. – 2016. – Vol. 32, № 2. – P. 236–241. – doi:10.1016/j.nut.2015.08.016

References

- Kellum J, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders H. Acute kidney injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):52. doi:10.1038/s41572-021-00284-z
- Poddar R. Hyperhomocysteinemia is an emerging comorbidity in ischemic stroke. *Exp Neurol*. 2021;336:113541. doi:10.1016/j.expneurol.2020.113541
- Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Fermo I, Benedetto F, Cataliotti A, et al. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002;61(2):609-14. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00144.x
- Elsherbiny N, Sharma I, Kira D, Alhusban S, Samra Y, Jadeja R, et al. Homocysteine Induces inflammation in retina and brain. *Biomolecules*. 2020;10(3):393. doi:10.3390/biom10030393
- Kozat S., Okman E. Homocystein: A new biochemical marker in livestock sector. *J Adv Vet Anim Res*. 2017; 4(4):319-32. doi:10.5455/javar.2017.d230
- Bostom A, Rosenberg I, Silbershatz H, Jacques P, Selhub J, D'Agostino R, et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1999;131(5):352-5. doi:10.7326/0003-4819-131-5-199909070-00006
- Sacharow S, Picker J, Levy H. Homocystinuria caused by cystathionine beta-synthase deficiency. In: Adam M, Everman D, Mirzaa G, et al., eds. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2004-2017. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1524/
- Weber G, Poloni S, Blom H, Schwartz I. Three Main Causes of Homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR Deficiency. What do they Have in Common? *J. inborn errors metab. screen*. 2019;7:e20190007. doi:10.1590/2326-4594-JIEMS-2019-0007
- Zhuo J, Wang H, Praticò D. Is hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor, an AD marker, or neither? *Trends Pharmacol Sci*. 2011;32(9):562-71. doi:10.1016/j.tips.2011.05.003
- Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their

fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria journal of medicine. 2018;54(4):287-93. doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001

11. Ganguly P, Alam S. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. Nutr J. 2015;14:6. doi:10.1186/1475-2891-14-6

12. Nyui M, Shoji Y, Ueno M, Nakanishi I, Matsumoto K. Reduction of molecular oxygen by redox active thiols: comparison of glutathione, N-acetylcysteine, cysteine, and homocysteine. J Clin Biochem Nutr. 2019;65(3):185-92. doi:10.3164/jcbn.19-25

13. Perna A, Ingrosso D, Lombardi C, Acanfora F, Satta E, Cesare C, et al. Possible mechanisms of homocysteine toxicity. Kidney Int Suppl. 2003;(84):S137-40. doi:10.1046/j.1523-1755.63.s84.33.x

14. Lai W, Kan M. Homocysteine-induced endothelial dysfunction. Ann Nutr Metab. 2015;67(1):1-12. doi:10.1159/000437098

15. Serbin A, Komar Y, Koval T, Kharchenko O, Andriychuk T. Study of proteolytic activity in rats kidney and liver during the development of chronic alcoholic intoxication. Visnyk Taras Shevchenko national university of Kyiv. Biology. 2021;85(2):42-6. doi:10.17721/1728_2748.2021.85.42-46

16. Raksha N, Maievskyi O, Dzevulska I, Kaminsky R, Samborska I, Savchuk O, et al. Proteolytic activity in the heart of rats with hyperhomocysteinemia. Wiad Lek. 2022;75(4):831-5. doi:10.36740/WLek202204115

17. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72:248-54. doi:10.1006/abio.1976.9999

18. Ruch R, Cheng S, Klaunig J. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis. 1989;10(6):1003-8. doi:10.1093/carcin/10.6.1003

19. Chakraborty G. Free radical scavenging activity of Aesculus indica leaves. Inter J PharmTech Research 2009;1:524-6.

20. Salter M, Knowles R, Moncada S. Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases. FEBS Lett. 1991;291(1):145-9. doi:10.1016/0014-5793(91)81123-p

21. Chin S, Pandey K, Shi S, Kobori H, Moreno C, Navar L. Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats. Am J Physiol. 1999;277(5):F797-804. doi:10.1152/ajprenal.1999.277.5.F797

22. Demchenko A. Glutathione system state in a hemolysate of erythrocytes among the patients with chronic cerebral ischemia. East european journal of neurology. 2016;4:30-6.

23. Wu X, Zhang L, Miao Y, Yang J, Wang X, Wang C, et al. Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis. Redox Biol. 2019;20:46-59. doi:10.1016/j.redox.2018.09.021

24. Taysi S. Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. Clin Nutr. 2005;24(3):385-9. doi:10.1016/j.clnu.2004.12.001

25. Melnik A, Zaichko N. Gender characteristics of hyperhomocysteinemia effect on metabolism of sulfur-containing amino acids

and hydrogen sulfide in liver. Medical and Clinical Chemistry. 2017;1:95-101. doi:10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7352

26. Jurkowska H, Kaczor-Kamińska M, Bronowicka-Adamska P, Wróbel M. γ-Liaza cystationinowa [Cystathionine γ-lyase]. Postepy Hig Med Dosw. 2014;68:1-9. doi:10.5604/17322693.1085372

27. Lubos E, Loscalzo J, Handy D. Homocysteine and glutathione peroxidase-1. Antioxid Redox Signal. 2007;9(11):1923-40. doi:10.1089/ars.2007.1771

28. Tawfik A, Samra Y, Elsherbiny N, Shabraway M. Implication of hyperhomocysteinemia in blood retinal barrier (BRB) dysfunction. Biomolecules. 2020;10(8):1119. doi:10.3390/biom10081119

29. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. Cell Physiol Biochem. 2017;44(2):532-53. doi:10.1159/000485089

30. Milton N. Homocysteine inhibits hydrogen peroxide breakdown by catalase. The open enzyme inhibition journal. 2008;1(1):34-41. doi:10.2174/1874940200801010034

31. Long Y, Nie J. Homocysteine in renal injury. Kidney diseases (Basel). 2016;2(2):80-7. doi:10.1159/000444900

32. Pereira B, Vale G, Ceron C. The role of nitric oxide in renovascular hypertension: from the pathophysiology to the treatment. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol. 2022;395(2):121-31. doi:10.1007/s00210-021-02186-z M

33. Cheng M, Wu T, Huang L, Tain Y. Renoprotective effects of melatonin in young spontaneously hypertensive rats with L-NAME. Pediatr Neonatol. 2014;55(3):189-95. doi:10.1016/j.pedneo.2013.09.005

34. Gilinsky M, Polityko Y, Markel A, Latysheva T, Samson A, Polis B, et al. Norvaline reduces blood pressure and induces diuresis in rats with inherited stress-induced arterial hypertension. Biomed Res Int. 2020;2020:4935386. doi:10.1155/2020/4935386

35. Oliveira F, Assreuy J, Sordi R. The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury. Biosci Rep. 2022;42(7):BSR20220093. doi:10.1042/BSR20220093

36. Ishimoto Y, Tanaka T, Yoshida Y, Inagi R. Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2018;45(11):1097-105. doi:10.1111/1440-1681.13018

37. Chen C, Yang W, Hsiao Y, Huang S, Huang Y. High homocysteine, low vitamin B-6, and increased oxidative stress are independently associated with the risk of chronic kidney disease. Nutrition. 2016;32(2):236-41. doi:10.1016/j.nut.2015.08.016

Надійшла до редколегії 18.10.2022

Отримано виправлений варіант 21.11.2022

Підписано до друку 21.11.2022

Received in the editorial 18.10.2022

Received version on 21.11.2022

Signed in the press on 21.11.2022

A. Serbin, PhD Stud.,

K. Strelkova, Stud.,

T. Koval, PhD,

O. Kharchenko, PhD,

T. Andriychuk, Dr. Sci.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

RESEARCH OF INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN THE KIDNEYS OF IMMATURE RATS WITH HYPERHOMOCYSTEINEMIA

Purpose: Hyperhomocysteinemia in children can develop as a result of genetic defects, endocrine abnormalities or under the influence of dietary factors. An elevated level of homocysteine is considered a risk factor for the progression of chronic kidney disease. The aim of the work was to investigate the indicators of oxidative stress in the homogenate of the kidneys of immature rats in control and with hyperhomocysteinemia.

Methods: The concentration of reduced and oxidized glutathione, the activity of superoxide dismutase, catalase and nitric oxide synthase were determined. The model of hyperhomocysteinemia was reproduced on one-month-old male rats, which were kept on a standard vivarium diet. The experimental group was intragastrically administered by D,L-thiolactone homocysteine hydrochloride in a 1 % starch solution at a dose of 200 mg/kg of body weight 1 per day for 8 weeks. The corresponding volume of 1 % starch solution was injected into the control group of animals. The activity of superoxide dismutase, catalase and nitric oxide synthase were determined spectrophotometrically. Concentration of reduced and oxidized glutathione by fluorometric method.

Results: It was established that upon hyperhomocysteinemia the concentration of reduced glutathione, the activity of superoxide dismutase, catalase, and nitric oxide synthase was decreased against the background of an increase in the concentration of oxidized glutathione in the homogenate of the kidneys of immature rats.

Conclusions: The obtained results indicate that the development of oxidative stress in the kidneys of immature rats had a similar trend to the process in adult animals described in the literature. A decrease in the concentration of reduced glutathione and the activity of antioxidant defense enzymes may indicate the development of pathological processes in the kidneys.

Keywords: hyperhomocysteinemia, glutathione, superoxide dismutase, catalase, kidneys.