

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БЛАЖЧЕНКО ВІТАЛІЙ ВІКТОРОВИЧ

УДК: 546.221:616.61:616-056.52:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**УЧАСТЬ СИСТЕМИ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В МЕХАНІЗМАХ
РОЗВИТКУ РЕНАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ЗА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ**

091 «Біологія»

09 «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
___(підписано ЕП)___ В.В. Блажченко

Науковий керівник: Заїчко Наталія Валентинівна, доктор медичних наук,
професор

Вінниця – 2022

АНОТАЦІЯ

Блажченко В.В. Участь системи гідроген сульфїду в механїзмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння. – Квалїфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія». – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2022.

Дисертація присвячена вирішенню актуального наукового завдання – встановленню участі системи гідроген сульфїду (H_2S) в механїзмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння і обґрунтуванні шляхів корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну H_2S .

Досліди проведені на 156 білих нелїнійних статевозрілих щурах-самцях. Всі етапи дослідження виконували згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директив Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), що засвідчено комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №9 від 02.11.2017, №5 від 01.09.2022).

Модель дієт-індукованого ожиріння (ДІО) викликали шляхом застосування висококалорійної високожирової дієти (ВКД, 4,33 ккал/г, 39,5 % жирів) упродовж 10 тижнів. Стан ДІО вважали досягнутим за наявності соматометричного маркера ожиріння – індексу Лі $\geq 0,310$ на 8-ому тижні дослідження. Метаболічні коректори (потенційні модулятори обміну H_2S) – цинк сульфат ($ZnSO_4$, 124 мг/кг), натрій тіосульфат ($Na_2S_2O_3$, 300 мг/кг), ліпоеву кислоту (ЛК, 100 мг/кг) і таурин (100 мг/кг) вводили внутрішньошлунково з 9-го по 10-й тиждень дослідження. Контрольна група отримувала стандартну дієту

(енергетична цінність 2,71 ккал/г, 10,8 % жирів). Через 10 тижнів тварин піддавали евтаназії шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом.

Через 8 тижнів застосування ВКД у щурів реєструвалось підвищення маси тіла, індексу маси тіла (ІМТ) та індексу Лі (на 36,6; 40,9 та 12,8 % $p < 0,001$ порівняно з контролем), що свідчило про наявність ДІО. У щурів з ДІО, які не отримували метаболічну корекцію, через 2 тижні ознаки ожиріння виявились ще більш виразними: маса тіла, ІМТ та індекс Лі були вищими на 42,1; 52,4 та 16,4 % ($p < 0,001$), а відносний приріст маси тіла за останні 2 тижні був вдвічі вищим ($13,7 \pm 2,34$ % проти $6,69 \pm 0,26$ %, $p < 0,001$) порівняно з контролем.

Введення потенційних модуляторів обміну H_2S стримувало прогресування ожиріння – відносний приріст маси тіла в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ЛК був нижчим на 46,7 % та 54,2 % ($p < 0,05$), а в групах ДІО+ $Na_2S_2O_3$ та ДІО+таурин – на 20,4 % та 21,2 % ($p < 0,05$), ніж в групі ДІО без корекції. ВКД викликала накопичення вісцерального жиру у щурів зі збільшенням індексу ожиріння на 43,0 % ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Цинк сульфат, ліпоєва кислота та таурин зменшили приріст вісцерального жиру: індекс ожиріння в цих групах був нижчим на 11,2; 13,1 ($p < 0,01$) та 8,7 % ($p < 0,05$), ніж в групі ДІО без корекції.

Розвиток ДІО асоціювався зі зниженням рівня H_2S в нирках на 47,4 % відносно контролю ($p < 0,001$). Між рівнем H_2S в нирках та ІМТ, індексом Лі та індексом ожиріння виявлялись обернені зв'язки ($r_s = -0,435$; $-0,381$; $-0,449$, $p < 0,01$). Вперше встановлено особливості впливу метаболічних коректорів на рівень H_2S в нирках за ДІО. Цинк сульфат та ліпоєва кислота ефективно підвищували рівень H_2S в нирках (на 46,1 та 50,3 %, $p < 0,01$), помірний ефект викликали тіосульфат і таурин (33,3 % та 39,3 %, $p < 0,05$).

Вперше проведена комплексна оцінка впливу метаболічних коректорів на різні шляхи обміну H_2S у нирках за умов ДІО. Встановлено, що у щурів з ДІО зміни обміну H_2S в нирках характеризувались зниженням H_2S -продукуючої активності ензимів транссульфування – цистатіонін- γ -ліази, цистатіонін- β -синтази (на 53,5; 48,6 %, $p < 0,001$); зниженням активності шляху

цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (на 51,9 %, $p < 0,001$) та тіосульфатзалежного обміну H_2S за участі тіосульфат(тіол)-сульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітооксидази (на 49,7; 40,5; 39,2 %, $p < 0,001$). Усі застосовані метаболічні коректори зменшували розлади обміну H_2S в нирках щурів з ДІО, при цьому цинк сульфат та ліпоєва кислота найбільш ефективно підвищували активність ензимів транссульфування (в 1,40-1,69 рази, $p < 0,01$) та тіоредоксинредуктази (в 1,45 та 1,39 рази, $p < 0,01$), натрій тіосульфат більш суттєво підвищував активність тіосульфат(тіол)-сульфуртрансферази та сульфітооксидази (в 1,69 та 1,41 рази, $p < 0,01$), а таурин справляв помірний вплив на продукцію H_2S .

За умов ДІО в нирках щурів знижувалась експресія генів ензимів транссульфування (відносні рівні мРНК *CSE* / β -актин та мРНК *CBS* / β -актин були нижчими на 59,7 % та 54,2 % ($p < 0,001$), ніж в контролі. Серед метаболічних коректорів лише цинк сульфат та ліпоєва кислота викликали підвищення експресії генів *CSE* (на 51,8 та 40,7 %, $p < 0,01$) та *CBS* (на 68,4 та 50,0 %, $p < 0,01$) в нирках за умов ДІО.

ДІО-асоційовані порушення обміну H_2S асоціювались з підвищенням ниркових рівнів медіаторів запалення, ліпогенезу та фіброгенезу інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) та фактору некрозу пухлини альфа ($TNF\alpha$) в 2,56 та 2,29 рази ($p < 0,001$). Рівні IGF-1 та $TNF\alpha$ обернено корелювали з рівнем експресії *CSE* ($r_s = -0,595, -0,518, p < 0,01$) та *CBS* ($r_s = -0,528, -0,357, p < 0,01$), рівнем H_2S ($r_s = -0,649; -0,757, p < 0,001$). Вперше проведена порівняльна оцінка впливу цинк сульфату, тіосульфату, ліпоєвої кислоти і таурину на рівень нирковий рівень IGF-1 та $TNF\alpha$ за умов ДІО. Встановлено, що усі модулятори обміну H_2S забезпечували зниження рівнів IGF-1 та $TNF\alpha$ (в 1,4-1,9 рази, $p < 0,01$), при цьому більш виразний ефект справляли цинк сульфат та ліпоєва кислота.

За умов ДІО виявлялись біохімічні ознаки ренальної дисфункції – підвищення сироваткових рівнів креатиніну (в 1,27 рази, $p < 0,01$) та цистатину С (в 2,9 рази, $p < 0,001$), зниження кліренсу креатиніну (в 1,29 рази, $p < 0,001$),

підвищення екскреції γ -глутамілтрансферази (в 2,59 рази, $p < 0,001$). Модулятори обміну H_2S зменшували ознаки ренальної дисфункції за умов ДІО, при цьому найбільш виразний ефект викликали цинк сульфат та ліпоєва кислота: рівні цистатину С знизились на 41,8 та 36,3 % ($p < 0,01$), креатиніну – на 13,6 та 14,7 % ($p < 0,05$), ензимурії – на 33,0 та 26,4 % ($p < 0,01$), кліренс креатиніну збільшився на 16,0 та 20,9 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих щурів. Між нирковим рівнем H_2S та рівнями креатиніну, цистатину С, ензимурії виявлені обернені зв'язки ($r_s = -0,684; -0,793$ та $-0,791$, $p < 0,001$).

У щурів з ДІО реєструвались характерні зміни морфології нирок, із ушкодженням клубочкового і каналцевого апарату, вираженою запальною реакцією паренхіми органу, пошкодженням структури судин, які свідчили про формування нефропатії. Модулятори обміну H_2S викликали позитивні зміни морфології нирок у щурів з ДІО, за цих умов найбільший нефропротекторний ефект справляли цинк сульфат і ліпоєва кислота, менш виразний – натрій тіосульфат і таурин. За збільшенням нефропротекторного ефекту за умов ДІО метаболічні коректори можна розташувати наступним чином: цинк сульфат \geq ліпоєва кислота $>$ натрій тіосульфат \geq таурин.

Таким чином, поглиблені теоретичні уявлення про участь системи H_2S в механізмах ренальної дисфункції за умов аліментарного ожиріння, встановлені особливості впливу метаболічних коректорів (цинк сульфату, ліпоєвої кислоти, тіосульфату і таурину) на обмін H_2S в нирках та асоційовані з ним процеси, засвідчено більш ефективно підвищення адаптивного потенціалу нирок в умовах ожиріння за дії цинку сульфату та ліпоєвої кислоти.

Ключові слова: гідроген сульфід, ренальна дисфункція, ожиріння, висококалорійна високожирова дієта, нирки, метаболізм, запалення, фіброз, хронічна хвороба нирок, нефропротекція, щури.

ANNOTATION

Blazhchenko Vitaliy. Participation of the hydrogen sulfide system in the mechanisms of development of renal dysfunction in experimental obesity. – Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the Doctor of Philosophy Degree (PhD) in the Field of study 09 Biology, Program Subject Area 091 Biology. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine, 2022.

The dissertation is devoted to the solution of the relevant problem – to establish the participation of the hydrogen sulfide (H₂S) system in the mechanisms of renal dysfunction development during experimental diet-induced obesity and to substantiate the ways of correction of detected violations with possible modulators of H₂S metabolism.

Experiments were conducted on 156 white non-linear mature male rats. All stages of the research were carried out in accordance with the provisions of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, 1986), Council of Europe Directive 86/609/EEC (1986), the Law of Ukraine «On the Protection of Animals from Cruelty» (No. 3447-IV dated 21.02.2006, Section 26), «General Ethical Principles of Animal Experiments», adopted by the First National Congress of Bioethics of Ukraine (Kyiv, 2001), certified by the Bioethics Committee of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya (protocol No. 9 dated November 2, 2017, No 5. dated September 1, 2022).

A diet-induced obesity (DIO) model was simulated by feeding a high-calorie high-fat diet (HCD, 4,33 kcal/g, 39,5 % fat) for 10 weeks. The state of DIO was considered to be achieved in the presence of a somatometric marker of obesity – the Lee index ≥ 0.310 in the 8th week of the experiment. Metabolic correctors (potential modulators of H₂S metabolism) – zinc sulfate (ZnSO₄, 124 mg/kg), sodium thiosulfate (Na₂S₂O₃, 300 mg/kg), lipoic acid (LA, 100 mg/kg) and taurine (100 mg/kg) were administered intragastrically from the 9th to the 10th week of the experiment. The control group received a standard diet (energy value 2,71 kcal/g,

10,8 % fat). After 10 weeks, the animals were euthanized by decapitation under thiopental anesthesia.

After 8 weeks of HCD application in rats, an increase in body weight, body mass index (BMI) and Lee's index (by 36,6 40,9 and 12,8 %, $p < 0,001$ compared to control group) were recorded, which indicated about the presence of DIO. In DIO rats that did not receive metabolic correction, after 2 weeks, the signs of obesity were even more pronounced: body weight, BMI and Lee's index were higher by 42,1; 52,4 and 16,4 % ($p < 0,001$), and the relative increase in body weight over the last 2 weeks was twice as high ($13,7 \pm 2,34$ % vs. $6,69 \pm 0,26$ %, $p < 0,001$) compared with control group. The introduction of potential modulators of H_2S metabolism restrained the progression of obesity – the relative increase in body weight in the DIO+ $ZnSO_4$, DIO+LA groups was lower by 46,7 % and 54,2 % ($p < 0,05$), and in the DIO+ $Na_2S_2O_3$ and DIO+taurine groups – by 20,4 % and 21,2 % ($p < 0,05$) than in the DIO group. HCD induced accumulation of visceral fat in rats with an increase in obesity index by 43,0 % ($p < 0,001$) compared to control. Zinc sulfate and lipoic acid reduced the accumulation of visceral fat: the obesity index in these groups was lower by 11,2; 13,1 ($p < 0,01$) and 8,7% ($p < 0,05$) than in the DIO group without correction.

The development of DIO was associated with a decrease in the level of H_2S in the kidneys by 47,4 % compared to control ($p < 0,001$). Inverse relationships were found between the level of H_2S in the kidneys and BMI, Lee's index, and obesity index ($r_s = -0,435, 0,381, -0,449, p < 0,01$). For the first time, the peculiarities of the influence of metabolic correctors on the level of H_2S in the kidneys under the conditions of DIO were established. Zinc sulfate and lipoic acid effectively increased the level of H_2S in the kidneys (by 46,1 and 50,3 %, $p < 0,01$), thiosulfate and taurine had a moderate effect (33,3 % and 39,3 %, $p < 0,05$).

For the first time, a comprehensive assessment of the influence of metabolic correctors on various pathways of H_2S metabolism in the kidneys under conditions of DIO was carried out. It was established that in rats with DIO, changes in H_2S metabolism in the kidneys were characterized by a decrease in the H_2S -producing activity of transsulfuration enzymes – cystathionine γ -lyase, cystathionine β -

synthase (by 53,5; 48,6 %, $p < 0,001$); a decrease in the activity of the cysteine aminotransferase / 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase pathway (by 51,9 %, $p < 0,001$) and thiosulfate-dependent H_2S metabolism with the participation of thiosulfate (thiol)sulfurtransferase, thioredoxin reductase, sulfite oxidase (by 49,7; 40,5; 39,2 %, $p < 0,001$). All applied metabolic correctors reduced disorders of H_2S metabolism in the kidneys of rats with DIO, while zinc sulfate and lipoic acid most effectively increased the activity of transsulfuration enzymes (by 1,40-1,69 times, $p < 0,01$) and thioredoxin reductase (in 1,45 and 1,39 times, $p < 0,01$), sodium thiosulfate more significantly increased the activity of thiosulfate thiol-sulfurtransferase and sulfite oxidase (by 1,69 and 1,41 times, $p < 0,01$), and taurine had a moderate effect on H_2S production. Under DIO conditions, the expression of genes of transsulfuration enzymes decreased in the kidneys of rats (the relative levels of *CSE* / β -actin mRNA and *CBS* / β -actin mRNA were lower by 59,7 and 54,2 % ($p < 0,001$) than in the control. Among metabolic correctors, only zinc sulfate and lipoic acid caused an increase in the expression of *CSE* (by 51,8 and 40,7 %, $p < 0,01$) and *CBS* (by 68,4 and 50,0 %, $p < 0,01$) in the kidneys of DIO rats.

DIO disorders of H_2S metabolism were associated with increased renal levels of inflammatory mediators, lipogenesis and fibrogenesis – insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and tumor necrosis factor alpha ($TNF\alpha$) in 2,56 and 2,29 times ($p < 0,001$). The levels of IGF-1 and $TNF\alpha$ were inversely correlated with the expression level of *CSE* ($r_s = -0,595, -0,518, p < 0,01$) and *CBS* ($r_s = -0,528, -0,357, p < 0,01$), the level of H_2S ($r_s = -0,649; -0,757, p < 0,001$). For the first time, a comparative assessment of the influence of zinc sulfate, thiosulfate, lipoic acid and taurine on the level of renal IGF-1 and $TNF\alpha$ under conditions of DIO was carried out. It was established that all modulators of H_2S metabolism provided a decrease in the levels of IGF-1 and $TNF\alpha$ (in 1,4-1,9 times, $p < 0,01$), while zinc sulfate and lipoic acid had a more pronounced effect.

Under the conditions of DIO, biochemical signs of renal dysfunction were revealed – an increase in the serum levels of creatinine (in 1,27 times, $p < 0,05$) and cystatin C (in 2,9 times, $p < 0,001$), a decrease in creatinine clearance (in 1,29 times,

$p < 0,001$), increased excretion of γ -glutamyltransferase (in 2,59 times, $p < 0,001$). All modulators of H_2S metabolism reduced signs of glomerular and tubular apparatus dysfunction under DIO conditions, while zinc sulfate and lipoic acid caused the most pronounced effect: cystatin C levels decreased by 41,8 and 36,3 % ($p < 0,01$), creatinine – by 13,6 and 14,7 % ($p < 0,05$), enzymuria – by 33,0 and 26,4% ($p < 0,01$), creatinine clearance increased by 16,0 and 20,9 % ($p < 0,05$), respectively, compared to untreated rats. Strong inverse relationships were found between the renal level of H_2S and the levels of creatinine, cystatin C, γ -glutamyltransferase enzymuria ($r_s = -0,684, -0,793$ and $-0,791, p < 0,001$).

In rats with DIO, characteristic changes in the morphology of the kidneys with damage of the glomerular and tubular apparatus, a pronounced inflammatory reaction of the kidney parenchyma, vascular structure violations, which indicated the formation of nephropathy were registered. Modulators of H_2S metabolism caused positive changes in kidney morphology in rats with DIO, under these conditions zinc sulfate and lipoic acid had the greatest nephroprotective effect, sodium thiosulfate and taurine had a less pronounced effect. According to the increase in the nephroprotective effect under DIO conditions, metabolic correctors can be arranged as follows: zinc sulfate \geq lipoic acid $>$ sodium thiosulfate \geq taurine.

Thus, the theoretical understanding of the participation of the H_2S system in the mechanisms of renal dysfunction under conditions of dietary obesity has been deepened, the features of the influence of metabolic correctors (zinc sulfate, lipoic acid, thiosulfate, and taurine) on the metabolism of H_2S in the kidneys and associated processes have been established, and a more effective increase of kidney adaptive potential in conditions of obesity under the influence of zinc sulfate and lipoic acid has been demonstrated.

Key words: hydrogen sulfide, renal dysfunction, obesity, high-calorie high-fat diet, kidney, metabolism, inflammation, fibrosis, chronic kidney disease, nephroprotection, rats.

Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти та таурину на обмін гідроген сульфід у нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Медична та клінічна хімія*, 24(1), 46–52. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i1.13036>

2. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти, таурину на експресію ензимів синтезу гідроген сульфід, медіатори запалення, фіброгенезу в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Вісник проблем біології і медицини*, 1(2), 114–125. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-114-125>

3. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на морфологічні зміни в нирках щурів з ожирінням, індукованим висококалорійною дієтою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 26(2), 184–190. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(2\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(2)-03)

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

4. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., Штатко, О. І., & Остренюк, Р. С. (2020). *Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід за аліментарного ожиріння в експеримент* (Патент України № 143133). Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269727>

5. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Штатко, О. І., (2020). *Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід за аліментарного ожиріння в експерименті* (Патент України № 143134). Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269728>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Остренюк, Р. С., Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2017). Вплив високожирової дієти на вміст гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2017: матеріали XIV міжнародної конференції студентів та молодих вчених*, м. Вінниця, 26-28 квітня, 2017 (с. 220–221). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/2063>

7. Заїчко, Н. В., Остренюк, Р. С., & Блажченко, В. В. (2017). Аналіз впливу високожирової дієти на кінетичні параметри синтезу гідроген сульфїду в органах щурів. У І. М. Кліщ, & О. О. Шевчук (Відп.), *Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ): матеріали LX науково-практичної конференції*, м. Тернопіль, 14 червня, 2017 (с. 288–290). ТДМУ «Укрмедкнига». <https://repository.tdmu.edu.ua/handle/1/8519>

8. Blazhchenko, V. V., Ostrenyuk, R. S., & Zaichko, N. V. (2017). The activity of enzymes of transsulfuration in kidneys and myocardium of rats with experimental obesity. In A. Bogucka-Kocka (Ed.), *VIII Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, 18-20 September 2017, Lublin, Poland: Programme and Book of Abstract* (p. 52). Polihymnia.

9. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2018). Вплив висококалорійної дієти на активність H₂S-синтезуючих ензимів в жировій тканині. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2018: матеріали XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених*, м. Вінниця, 18-20 квітня, 2018 (с. 205–206). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/2648>

10. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2019). Вплив висококалорійної дієти на вміст гідроген сульфїду та показники оксидативного стресу в нирках щурів. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2019: матеріали XVI міжнародної конференції студентів та молодих вчених*, м. Вінниця, 18-19 квітня, 2019 (с. 426–427). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/4436>

11. Zaichko, N. V., Blazhchenko, V. V., Bobetska, O. P., & Filchukov, D.O. (2019). Effects of zinc sulfate, sodium thiosulfate and alpha ketoglutarate on hydrogen sulfide production in the kidney of obese rats. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу, м. Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р.* (с. 186). *Медична та клінічна хімія*, 21(3, додаток). ТДМУ «Укрмедкнига». <http://www.biochemistry.org.ua/index.php/uk/ubs-society-newsua/5590-11-10-2019-30-04-2019>

12. Zaichko, N. V., Palamarchuk, I. V., Blazhchenko, V. V., Ostrenyuk, R. S., & Bobetska O. P. (2019). Age related changes in hydrogen sulfide metabolism in rats organs: connection with mediators of angiogenesis. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу, м. Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р.* (с. 187–188). *Медична та клінічна хімія*, 21(3, додаток). ТДМУ «Укрмедкнига». <http://www.biochemistry.org.ua/index.php/uk/ubs-society-newsua/5590-11-10-2019-30-04-2019>

13. Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Заїчко, Н. В. (2019). Вплив тіосульфату натрію на рівень гідроген сульфїду та показники тіолдисульфїдного обміну в нирках та міокарді щурів за експериментального ожиріння. У М. М. Рожко, & Л. М. Шафран (Гол.), *Бабенківські читання: матеріали науково-практична конференція з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2019* (с. 26). ІФНМУ

14. Заїчко, Н. В., Бобецька, О. П., & Блажченко, В. В. (2019). Вплив ліпоєвої кислоти на продукцію гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У В. М. Мороз, & О. О. Яковлева (Ред.), *Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позиції доказової медицини: матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції за участі міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології, м. Вінниця, 7-8 листопада, 2019* (с. 77–78). Нілан-ЛТД

15. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., & Бобецька, О. П. (2020). Вплив таурину на продукцію гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У А. А. Котвіцька, В. А. Капустник, Г. Б.

Кравченко, О. А. Наконечна, & Т. О. Брюханова (Ред.), *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 2 жовтня 2020 р.* (с. 11). НФаУ. <https://biochem.nuph.edu.ua/naukovo-praktichna-konferencija-z-mizhn/>

16. Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Заїчко, Н. В. (2020). Вплив таурину на рівень гідроген сульфідів та маркери оксидативного стресу в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2020: матеріали XVII міжнародної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Вінниця, 8-10 квітня, 2020* (с. 482–483). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/5537>

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	17
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ОБМІН ТА БІОЛОГІЧНУ РОЛЬ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В НИРКАХ У ФІЗІОЛОГІЧНИХ УМОВАХ ТА ПРИ ОЖИРІННІ (огляд літератури).....	26
1.1 Сучасні погляди на метаболізм гідроген сульфід у нирках.....	26
1.2 Роль системи гідроген сульфід у регуляції ниркових функцій.....	35
1.3 Основні аспекти біохімії нефропатії ожиріння, зв'язок з системою гідроген сульфід.....	43
1.4 Нефропротекторні ефекти кофакторів обміну гідроген сульфід.....	48
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ, МОДЕЛІ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	52
2.1 Характеристика експериментальних тварин, дієт та моделей	52
2.2 Методи оцінки соматометричних показників ожиріння у щурів.....	56
2.3 Отримання біологічного матеріалу.....	58
2.4 Біохімічні методи дослідження показників обміну гідроген сульфід	59
2.5 Методи лабораторної оцінки функціонального стану нирок	61
2.6 Дослідження рівня експресії генів ензимів транссульфування	64

2.7	Методи морфологічних досліджень	65
2.8	Методи статистичної обробки цифрового матеріалу ...	66
РОЗДІЛ 3	ЗМІНИ СОМАТОМЕТРИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ТА НИРКОВОГО РІВНЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ У ЩУРІВ ЗА ДІЇ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ДІЄТИ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ КОРЕКТОРІВ.....	67
3.1	Зміни соматометричних параметрів у щурів за умов висококалорійної високожирової дієти.....	68
3.2	Вплив метаболічних коректорів (цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти) на соматометричні параметри у щурів дієт-індукованим ожирінням.....	72
3.3	Зміни ниркового рівня H_2S у щурів за дії висококалорійної високожирової дієти та метаболічних коректорів (цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти)	78
РОЗДІЛ 4	ВПЛИВ МЕТАБОЛІЧНИХ КОРЕКТОРІВ НА ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ, РІВНІ МЕДІАТОРІВ ЗАПАЛЕННЯ І ФІБРОГЕНЕЗУ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ	82
4.1	Вплив цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α - ліпоєвої кислоти на показники обміну H_2S в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням	82
4.2	Вплив цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α - ліпоєвої кислоти на рівень фактору некрозу пухлин альфа та інсуліноподібного фактору росту 1 в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням	92

РОЗДІЛ 5	ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ.....	96
5.1	Показники функціонального стану нирок у щурів з дієт-індукованим ожирінням та за введення модуляторів обміну H ₂ S	96
5.2	Морфологічні зміни в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням та за дії модуляторів обміну гідроген сульфіду	101
РОЗДІЛ 6	АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	112
ВИСНОВКИ	125
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	127
ДОДАТОК А	172
ДОДАТОК Б	177

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

3-MCT	– 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза
AMPK	– АМФ-активована протеїнкіназа
AQP-2	– аквапорин-2
CBS	– ген цистатіонін- β -синтази
CCl ₄	– тетрахлорметан
CSE	– ген цистатіонін- γ -ліази
DTNB	– 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоат)
FeCl ₃	– ферум (III) хлорид
GSH	– глутатіон відновлений
GSSG	– глутатіон окиснений
H ₂ S	– гідроген сульфід (сірководень)
HCl	– хлоридна (соляна) кислота
IGF-1	– інсуліноподібний фактор росту 1
IL (ІЛ)	– інтерлейкіни
K ₃ [Fe(CN) ₆]	– калій гексаціаноферат (III)
KCl	– калій хлорид
MMP	– матриксні металопротеїнази
Na ₂ S	– натрій сульфід
Na ₂ S ₂ O ₃	– натрій тіосульфат
Na ₂ SO ₃	– натрій сульфит
NADPH	– нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений
NaHS	– натрій гідрогенсульфід
NF- κ B	– нуклеарний фактор каппа В
NO	– нітроген монооксид (оксид азоту)
RNS	– активні форми азоту
ROS	– активні форми кисню
S ⁰	– сульфонова сірка
SAM	– S-аденозил-L-метіонін
TNF α	– фактор некрозу пухлини альфа
ZnSO ₄	– цинк сульфат

α-ЛК	– α-ліпоєва кислота
АТ	– артеріальний тиск
в/оч	– внутрішньоочеревинно
в/шл	– внутрішньошлунково
ВЖД	– високожирова дієта
ВКД	– вискокалорійна (високожирова) дієта
ВООЗ	– всесвітня організація охорони здоров'я
ГГТ	– γ-глутамілтрансфераза
ДГЛК	– дигідроліпоєва кислота
ДІО	– дієт-індуковане ожиріння
ЕДТА	– етилендіамінотетраоцтова кислота
ІМТ	– індекс маси тіла
ІО	– індекс ожиріння
МДА	– малоновий діальдегід
ПАЛФ	– піридоксальфосфат
РААС	– ренін-ангіотензин-альдостеронова система
СД	– стандартна дієта
СО	– сульфітоксидаза
ТСТ	– тіосульфат(тіол)сульфуртрансфераза
ХХН	– хронічна хвороба нирок
цАМФ	– циклічний аденозинмонофосфат
ЦАТ	– цистеїнамінотрансфераза
ЦБС	– цистатіонін-β-синтаза
ЦГЛ	– цистатіонін-γ-ліаза
цГМФ	– циклічний гуанозинмонофосфат
ШКФ	– швидкість клубочкової фільтрації

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Нирки є одним із ключових органів-мішеней, метаболізм та фізіологічні функції яких страждають при ожирінні [290; 306]. Неухильне зростання поширеності аліментарного ожиріння та пов'язаних метаболічних розладів (інсулінорезистентності, цукрового діабету 2 типу, дисліпідемії); тривалий латентний період розвитку асоційованої з ожирінням хронічної хвороби нирок (ХХН); складність молекулярних механізмів уражень нефрону є ключовими чинниками, що визначають актуальність проблеми збереження адаптаційних резервів нирок [236; 259; 298; 306]. Ожиріння викликає широкий спектр системних метаболічних змін у нирках, що ведуть до утворення жирових відкладень у паренхімі нирок, погіршення ниркової гемодинаміки, нефролітіазу [233; 236]. За ожиріння формується особлива гломерулопатія (obesity-related glomerulopathy) з гіперплазією клубочкового апарату, вогнищевим гломерулосклерозом, мікропротеїнурією, ушкодженням каналцевого апарату нирок [298; 306].

Слід зауважити, що нирки є продуцентами біологічно-активних речовин, обмін яких при ожирінні може суттєво змінюватись. Зокрема, у нирках синтезується багатофункціональний медіатор – гідроген сульфід (H_2S), який бере участь в регуляції усіх ниркових функцій [57; 216; 315]. H_2S впливає на ниркову гемодинаміку, процеси фільтрації та реабсорбції, проявляє протизапальні, протифібротичні та протиапотичні властивості [9; 10; 157; 216]. Забезпечують продукцію H_2S в нирках ензими транссульфування – цистатіонін- γ -ліаза (ЦГЛ), цистатіонін- β -синтаза (ЦБС), а також цистеїнамінотрансфераза разом з 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (ЦАТ/3-МСТ) [57]. Потенційним джерелом ендогенного H_2S може виступати тіосульфат-аніон, який в присутності тіолів спонтанно та за дії мітохондріальних тіосульфатсульфуртрансфераз (ТСТ) відновлюється до сульфід-аніону [180; 224]. Кінцеві етапи обміну H_2S пов'язані з утворенням

полісульфідів (за участі тіоредоксинредуктази, ліпоєвої кислоти), сульфідів і сульфатів (за участі мітохондріальних оксидоредуктаз та сульфітоксидази) [180].

Встановлено, що розвиток ренальної дисфункції та ХХН асоціюється зі зниженням ендогенної продукції H_2S , а донори H_2S забезпечують нефропротекторний ефект [57; 157; 216]. У той же час, роль H_2S у патогенезі нефропатії ожиріння залишається дискутабельною. Виявилось, що система ЦГЛ/ H_2S залучена до регуляції проліферації та диференціації адипоцитів і акумуляції жиру в жировій тканині [301], при цьому за ожиріння зміни ендогенної продукції H_2S у різних органах і тканинах можуть суттєво відрізнитись [75].

Таким чином, пошук коректорів обміну H_2S при ожирінні, які б забезпечували нефропротекцію, не активували ліпогенез та адипогенез, коригували продукцію цитокінів та ростових факторів, залишається актуальним. Потенційними модуляторами рівня H_2S в нирках можуть виступати тіосульфат-аніон, ліпоєва кислота, таурин та цинк, які залучені до обміну сірковмісних амінокислот, володіють антиоксидантними та цитопротекторними властивостями [47; 83; 224; 321]. Крім того, у цинку, ліпоєвої кислоти, таурину виявлений коригувальний вплив на обмін ліпідів та масу тіла при ожирінні [146; 147; 214], а у натрій тіосульфату – антигіпертензивний та нефропротекторний ефекти [125]. З'ясування впливу вказаних речовин на продукцію H_2S в нирках та асоційовані процеси в умовах ожиріння вбачається доцільним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках планових НДР кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфїду та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології» (№ держреєстрації 0113U006461, 2014-2018 рр.), «Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження

внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів» (№ держреєстрації 0119U001142, 2019-2023 рр.). Автор є співвиконавцем вказаних тем.

Мета дослідження

З'ясувати участь системи гідроген сульфїду в механїзмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння та обґрунтувати шляхи корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну H_2S .

Завдання дослідження

1. Дослідити зміни соматометричних параметрів (маси тіла, ІМТ, індексу Лі, індексу ожиріння) у щурів за висококалорійної високожирової дієти та за введення потенційних модуляторів обміну H_2S – цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти; оцінити зв'язок соматометричних параметрів з рівнем H_2S у нирках.

2. Встановити вплив потенційних модуляторів обміну H_2S – цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти на показники обміну H_2S (активність H_2S -синтезуючих ензимів, ензимів шляхів депонування та утилізації H_2S – тіоредоксинредуктази, сульфїтоксидази) в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням.

3. Вивчити вплив модуляторів обміну H_2S на експресію генів *CSE* та *CBS*, рівні медіаторів імунозапальних та фібротичних процесів (інсуліноподібного фактору росту-1, фактору некрозу пухлини альфа) в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням.

4. Дослідити зміни біохімічних маркерів ураження клубочкового та каналцевого апарату нирок (сироваткових рівнів цистатину С, креатиніну, кліренсу креатиніну, ензимурії γ -глутамілтрансферази) у щурів з дієт-індукованим ожирінням за умов введення модуляторів обміну H_2S .

5. Дослідити вплив модуляторів обміну H_2S (натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти, цинк сульфату) на морфологічні зміни в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням.

Об'єкт дослідження: біохімічні механізми розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

Предмет дослідження: показники обміну H_2S та їх зв'язок з біохімічними та морфофункціональними змінами в нирках за дієт-індукованого ожиріння та при застосуванні метаболічних коректорів (цинк сульфату, натрій тіосульфату, ліпоєвої кислоти, таурину).

Методи дослідження: біохімічні (рівень H_2S , активність H_2S -синтезуючих ензимів транссульфування та тіосульфатсульфуртрансферазного шляху), імуноферментні (рівні цистатину С, IGF-1, TNF α), молекулярно-генетичні (рівень експресії генів ензимів шляху транссульфування *CSE*, *CBS*), соматометричні (ІМТ, індекс Лі, індекс ожиріння), морфологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів

Поглиблені наукові уявлення про участь системи H_2S в механізмах ренальної дисфункції за умов аліментарного ожиріння, встановлені особливості впливу метаболічних коректорів (кофакторів та метаболітів сірковмісних амінокислот) на обмін H_2S в нирках та асоційовані з ним процеси, засвідчено більш ефективне підвищення адаптивного потенціалу нирок в умовах ожиріння за дії цинк сульфату та ліпоєвої кислоти.

Засвідчено, що тривале застосування висококалорійної високожирової дієти ініціює зниження рівня H_2S в нирках, що асоціюється з підвищенням індексу маси тіла, індексу Лі, індексу ожиріння. Вперше встановлено особливості впливу метаболічних коректорів – цинк сульфату, ліпоєвої кислоти, тіосульфату і таурину на рівень H_2S в нирках за умов ДІО. Показано, що цинк сульфат та ліпоєва кислота найбільш ефективно коригують рівень H_2S в нирках, у той час як тіосульфат і таурин справляють помірний ефект.

Вперше проведена комплексна оцінка впливу метаболічних коректорів на обмін H_2S у нирках за умов ДІО. Встановлено, що ДІО-асоційовані зміни обміну H_2S в нирках характеризуються зниженням H_2S -продукуючої активності ензимів транссульфування – цистатіонін- γ -ліази, цистатіонін- β -синтази; пригніченням активності шляхів цистеїнамінотрансферази / 3-

меркаптопіруватсульфуртрансфери та тіосульфатзалежного обміну H_2S (за участі тіосульфат(тіол)сульфуртрансфери, тіоредоксинредуктази, сульфітооксидази). Засвідчено, що усі метаболічні коректори зменшують розлади обміну H_2S в нирках щурів з ДІО, при цьому цинк сульфат та ліпоєва кислота більш ефективно коригують активність ензимів транссульфування та тіоредоксинредуктази, підвищують ниркову експресію генів *CSE*, *CBS*, натрій тіосульфат більш ефективно підвищує активність тіосульфат(тіол)-сульфуртрансфери та сульфітооксидази, а таурин справляє помірний вплив на продукцію H_2S .

Вперше проведена порівняльна оцінка впливу модуляторів обміну H_2S на нирковий рівень медіаторів запалення, ліпогенезу та фіброгенезу – інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) та фактору некрозу пухлини альфа ($TNF\alpha$). Засвідчено, що за умов ДІО найбільш суттєве зниження рівнів IGF-1 та $TNF\alpha$ в нирках забезпечували цинк сульфат та ліпоєва кислота, у той час як тіосульфат та таурин справляли помірний ефект.

Практичне значення одержаних результатів

За результатами оцінки біохімічних маркерів запалення та фіброгенезу, морфологічного стану нирок та функціональних маркерів ренальної дисфункції показано, що за умов аліментарного ожиріння серед модуляторів обміну H_2S (кофакторів та метаболітів сірковмісних амінокислот) найбільш виразний нефропротекторний потенціал демонструють цинк сульфат та ліпоєва кислота, у той час як натрій тіосульфат і таурин справляють помірний нефропротекторний ефект. Експериментально обґрунтовані нові шляхи підвищення адаптивних резервів нирок за умов ожиріння на основі модуляції транссульфуразних та тіосульфатсульфуртрансферазних шляхів обміну H_2S . Практичне значення результатів дослідження підтверджується 2 патентами України на корисні моделі (№143133; №143134).

Результати дослідження використовуються в науковій роботі та навчальному процесі кафедр біологічної та загальної хімії, медичної біології, фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І.

Пирогова; кафедри медичної біології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету, кафедри клінічної медицини навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною науковою працею автора. Дисертантом особисто визначено тему, мету та завдання роботи, зроблено патентно-інформаційний пошук та аналіз наукової літератури, статистично оброблені результати дослідження, оформлено дисертацію. Основні положення роботи та висновки обговорені з науковим керівником – д.мед.н., професором Заїчко Н.В. і сформульовані автором самостійно. Всі етапи дослідження виконані автором особисто або за безпосередньої участі, самостійно проведено моделювання дієт-індукованого ожиріння, виконані усі біохімічні дослідження на базі сертифікованих лабораторій ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Оформлення наукових публікацій, патентів, впроваджень виконано дисертантом особисто. Автор не запозичував ідеї та розробки співавторів публікацій.

Апробація результатів дослідження. Основні положення роботи оприлюднені на: VIII Lviv-Lublin conference of Experimental and Clinical Biochemistry (Lublin, 2017); LX науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ)» (Тернопіль, 2017); XIV, XV, XVI, XVII міжнародних науково-практичних конференціях студентів і молодих вчених «Перший крок в науку» (Вінниця, 2017, 2018, 2019, 2020); XII Українському біохімічному конгресі (Тернопіль, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (Івано-Франківськ, 2019); X Всеукраїнській науково-практичній конференції за участі міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапія та профілактиці захворювань з позиції доказової медицини» (Вінниця, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання

експериментальної та клінічної біохімії» (Харків, 2020), засіданнях кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (2016-2022 рр.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 16 наукових праць: 3 статті у наукових фахових виданнях МОН України (категорія Б), 11 тез – в матеріалах конгресів та конференцій, 2 патенти України.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 182 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 325 найменувань (з них 301 латиницею), додатків. Робота ілюстрована 16 таблицями та 36 рисунками.

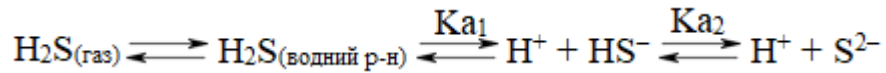
РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ОБМІН ТА БІОЛОГІЧНУ РОЛЬ ГІДРОГЕН
СУЛЬФІДУ В НИРКАХ У ФІЗІОЛОГІЧНИХ УМОВАХ ТА ПРИ ОЖИРІННІ
(огляд літератури)

Роль біологічно-активних сірковмісних метаболітів, зокрема газотрансміттеру гідроген сульфід (H_2S), у патохімії ожиріння та його ускладнень є предметом активних наукових досліджень сучасної біології та медицини. H_2S залучений до регуляції ліпідного обміну та акумуляції жирів в організмі [73], при цьому він демонструє різноспрямовані біологічні ефекти залежно від умов експерименту [74]. У численних роботах показано, що H_2S відіграє важливу роль в регуляції функціонального стану нирок, а порушення його ендогенної продукції асоціюються із розвитком ренальної дисфункції за різних патологічних станів [9; 21; 57; 58; 93; 124; 125; 145; 156; 216]. У даному огляді узагальнена інформація щодо особливостей обміну H_2S в нирках та зв'язок системи H_2S з ХХН, розглянуті аспекти біохімії нефропатії ожиріння та можливості корекції метаболічних процесів у нирках модуляторами обміну H_2S , висвітлені невирішені та дискусійні питання.

1.1 Сучасні погляди на метаболізм гідроген сульфід у нирках

Фізико-хімічні властивості ендогенного H_2S . Екзогенний H_2S (сірководень) – це безбарвний, горючий і токсичний газ із запахом гнилих яєць або каналізації, що утворюється в процесі гниття білків; з молекулярною масою – 34,08, температурою кипіння $-60,3$ °С, температурою плавлення $-82,3$ °С і температурою замерзання -86 °С; важчий за повітря [144; 234; 286; 312]. При 20 °С 1 г H_2S розчиняється у 242 мл води, але він легко випаровується з періодом напіввиведення в кілька хвилин [234; 286]. В організмі H_2S існує як водний розчин – слабка двоосновна кислота, що дисоціює ступінчасто, зі значеннями pK_{a1} та pK_{a2} $6,9$ та > 12 [233; 286]:



H_2S за фізіологічних умов ($t=37\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,4$) відповідно до рівняння Хендерсона-Хассельбаха по-різному розподіляється в організмі: у рідинах 80% складає HS^- (80%), але у тканинах – 50% H_2S існує в недисоційованій формі (рис. 1.1) [151; 234; 286; 312].

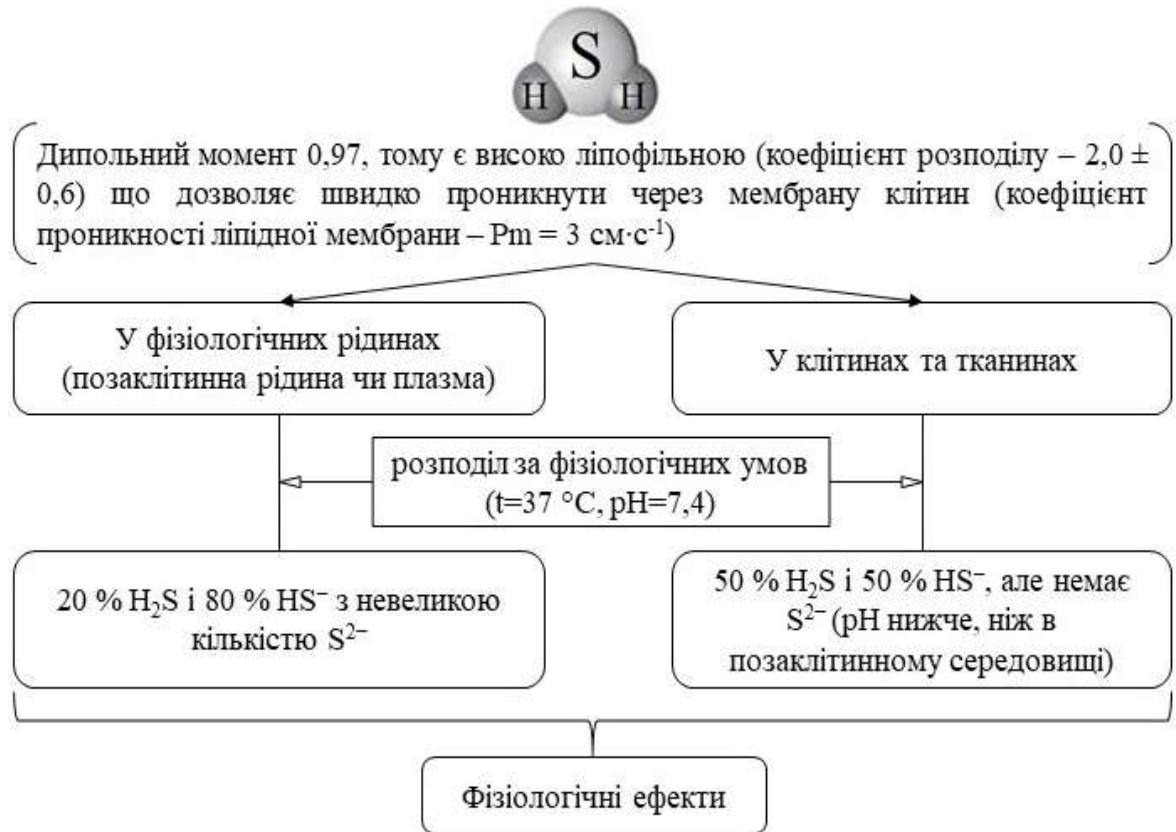


Рис. 1.1 Розподіл H_2S в організмі.

Біосинтез H_2S в нирках. Клітини нирок конститутивно синтезують H_2S , концентрація якого визначається співвідношенням трьох чинників: 1) швидкістю продукції; 2) швидкістю утилізації; 3) балансом між депонуванням / вивільненням із складу зв'язаної сульфенової сірки (S^0) [9; 21; 57; 58; 93; 124; 125; 145; 150; 156; 216].

Утворення H_2S в нирках може відбуватись у ферментативних та неферментативних реакціях, кофакторами яких залежно від умов виступають – піридоксаль-5-фосфат (ПАЛФ), гемове та негемове залізо, глутатіон (GSH), дигідроліпоева кислота (ДГЛК), тіоредоксин, тіосульфат-аніон, ФАД, а субстратами слугують: L- і D-цистеїн, L-гомоцистеїн, L-цистин, L-тіоцистеїн,

3-меркаптопіруват, тіосульфат-аніон [29; 41; 93; 124; 125; 140; 151; 155; 180; 201; 203; 216; 224; 286; 299; 302; 312].

Синтез H_2S в нирках реалізується у ферментативних шляхах: 1) транссульфування з L-цистеїну, L-гомоцистеїну, L-цистину, що забезпечують ПАЛФ-залежні ензими цистатіонін- γ -ліаза (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1) та цистатіонін- β -синтаза (ЦБС, КФ 4.2.1.22) [9; 41; 58; 93; 124; 140; 151; 201; 216; 286; 312]; 2) трансамінування L-цистеїну з десульфуруванням 3-меркаптопірувату за участі цистеїнамінотрансфери (ЦАТ, КФ 2.6.1.3) та 3-меркаптопіруватсульфуртрансфери (3-МСТ, 2.8.1.2), відповідно [9; 41; 140; 201; 203; 216; 299; 312]; 3-МСТ також забезпечує вивільнення H_2S з полісульфідів [111; 322]; 3) окиснювального десульфурування D-цистеїну за участі ФАД-залежної D-амінооксидази (ДАО, КФ 1.4.3.3) [65; 125; 216; 262; 312]; 4) у відновлювальних (тіосульфат-залежних) реакціях – з тіосульфат-аніону ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) за участі сульфуртрансфери – окремого тіосульфатсульфуртрансфери (КФ 2.8.1.1), тіосульфаттіолсульфуртрансфери (КФ 2.8.1.3), тіосульфатдитіолсульфуртрансфери (КФ 2.8.1.5) та 3-МСТ [21; 151; 155; 180; 201; 224]; 5) з L-цистеїну за участі цистеїніл-тРНК-синтетази (КФ 6.1.1.16) в присутності ПАЛФ [29; 201]. Менший внесок в ниркову продукцію H_2S забезпечує неферментативне відновлення L-цистеїну, L-тіоцистеїну (нестабільного інтермедіату L-цистеїну) та тіосульфат-аніону за участі ПАЛФ, Fe^{3+} , GSH, ДГЛК та тіоредоксину [125; 201; 216; 224; 304]. Модулювання активності кожного із зазначених шляхів може по-різному впливати на загальний нирковий пул H_2S , найбільший внесок у формування якого належить реакціям транссульфування L-цистеїну та L-гомоцистеїну. Значну увагу привертає біологічне значення тіосульфат-залежних шляхів метаболізму H_2S , що зумовлено відкриттям H_2S -синтезуючого домену / ізоформи (КФ 2.8.1.3) у роданези – добре відомої мітохондріальної тіосульфатсульфуртрансфери (КФ 2.8.1.1), залученої до обміну тіосульфату та детоксикації ціанідів [180; 201; 224].

Встановлено, що 75% клітин нирок експресують ЦГЛ, ЦБС та 3-МСТ [216]. ЦГЛ локалізується в клубочках та тубулоінтерстиціальній тканині [51; 300], ЦБС – в клітинах проксимальних канальців нефрону [309], 3-МСТ – в епітелії проксимальних канальців [92; 216]. Внутрішньоклітинна локалізація ензимів є наступною – у цитозолі містяться ЦГЛ, ЦБС [41; 216]; у мітохондріях – ТСТ [155]; цитозолі та мітохондріях – ЦАТ, 3-МСТ [41; 216], цистеїніл-тРНК-синтаза [29]; в пероксисомах – ДАО [41; 262].

Реакції синтезу H_2S з сірковмісних амінокислот та тіосульфат-аніону у різних шляхах наведені в табл. 1.1 (узагальнено і доповнено за [29; 41; 124; 125; 140; 151; 155; 180; 201; 203; 216; 224; 299; 304; 312]).

Катаболізм H_2S в нирках. Нирки переважно перетворюють H_2S в суміш $S_2O_3^{2-}$ та SO_4^{2-} [116]. В клітинах нирок катаболізм H_2S відбувається в окисно-відновних реакціях (ферментативно та спонтанно) у мітохондріях, меншою мірою, у цитозольних метилтрансферазних реакціях [30; 106; 154; 270; 286; 312].

Окиснення H_2S забезпечує спеціалізована сульфідна окиснювальна одиниця (*SQU – sulfide oxidation unite*), яка складається з 4 ферментів: сульфідхіноноксидоредуктази (КФ 1.8.5.4), персульфіддіоксигенази (КФ 1.13.11.18), роданези (КФ 2.8.1.1) та сульфітоксидази (СО, КФ 1.8.3.1), які послідовно забезпечують перетворення H_2S на $S_2O_3^{2-}$, SO_4^{2-} та S^{2-} у складі полісульфідів, персульфідів, залізосірчаних кластерів комплексів дихального ланцюга [30; 106; 181; 201; 223; 312].

Кофакторами мітохондріальної утилізації H_2S виступають гемове та негемове залізо, GSH, ДГЛК, тіоредоксин, тіосульфат-аніон, ФАД, убіхінон (коензим Q), Mo^{2+} [35; 41; 106; 131; 132; 140; 181; 201; 204]. При окисненні 1 молекули H_2S до $S_2O_3^{2-}$ і SO_4^{2-} з перенесенням електронів на КоQ поглинається 0,79 молекули O_2 [106], тому швидкість процесу лімітується концентрацією O_2 в клітинах [26; 202].

Приклади реакцій синтезу H₂S з сірковмісних амінокислот та тіосульфату в нирках

Шлях	Схема реакції
Ферментативний синтез H₂S з сірковмісних амінокислот	
ЦГЛ-залежний синтез H ₂ S	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{S}]{+\text{H}_2\text{O}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \\ \text{L-серин} \end{array} \xrightarrow{-\text{NH}_3} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \text{піруват} \end{array} $
ЦБС-залежний синтез H ₂ S	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-гомоцистеїн} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{S}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2 \\ \text{L-цистатіонін} \end{array} $
ЦАТ/3-МСТ - залежний синтез H ₂ S	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- L-глутамат}]{+\text{ПАЛФ} + \alpha\text{-кетоглутарат}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{3-меркапто-піруват} \end{array} \xrightarrow[\text{- піруват}]{+\text{3-МСТ-Цис-SH}} \text{3-МСТ-Цис-S-SH} \text{ зв'язаний тіоцистеїн} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{S}]{+\text{R}^* \begin{array}{l} \text{SH} \\ \text{SH} \end{array}} \text{3-МСТ-Цис-SH} $ <p style="text-align: center;">R* – залишок тіоредоксину або дигідроліпоєвої кислоти</p>
Синтез H ₂ S за участі цистеїніл-ТРНК-синтетази	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} \xrightarrow{+\text{ПАЛФ}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{S}-\text{SH} \\ \text{L-тіоцистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- R}^* \begin{array}{l} \text{S} \\ \text{S} \end{array}]{+\text{R}^* \begin{array}{l} \text{SH} \\ \text{SH} \end{array}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} $ <p style="text-align: center;">R* – залишок тіоредоксину або дигідроліпоєвої кислоти</p>

Шлях	Схема реакції	
ДАО/3-МСТ-залежний синтез H_2S	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{D-цистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{O}_2 \text{- NH}_3]{\text{+ H}_2\text{O} + \text{O}_2} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{3-меркапто-} \\ \text{піруват} \end{array} \xrightarrow[\text{- піруват}]{\text{+ 3-МСТ-Цис-SH}} \begin{array}{c} \text{3-МСТ-Цис-S-SH} \\ \text{зв'язаний тіоцистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{S}]{\text{+ R}^* \begin{array}{l} \text{SH} \\ \text{SH} \end{array}} \begin{array}{c} \text{3-МСТ-Цис-SH} \\ \text{R}^* \begin{array}{l} \text{S} \\ \\ \text{S} \end{array} \end{array} $ <p>R^* – залишок тіоредоксину або дигідроліпоєвої кислоти</p>	
Ферментативний синтез H_2S з тіосульфат-аніону		
3-МСТ-залежний синтез H_2S	$ \begin{array}{c} \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \\ \text{+ 3-МСТ-Цис-SH} \\ \text{- SO}_3^{2-} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{3-МСТ-Цис-S-SH} \\ \text{зв'язаний тіоцистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{S}]{\text{+ ЛК}^* \begin{array}{l} \text{SH} \\ \text{SH} \end{array}} \begin{array}{c} \text{3-МСТ-Цис-SH} \\ \text{- ЛК}^* \begin{array}{l} \text{S} \\ \\ \text{S} \end{array} \end{array} $ <p>$ЛК^*$ – залишок ліпоєвої кислоти</p>	
ГСТ-залежний синтез H_2S	$ \begin{array}{c} \text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 2\text{G-SH} \\ \text{глутатіон} \\ \text{відновлений} \end{array} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{S}]{\hspace{1cm}} \begin{array}{c} \text{SO}_3^{2-} + \text{G-S-S-G} \\ \text{глутатіон} \\ \text{окиснений} \end{array} $	
Неферментативне утворення H_2S		
з L-цистеїну (за участі ПАЛФ, Fe^{3+}) та тіосульфату (за участі тіолів)	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} \xrightarrow[\text{- H}_2\text{S}]{\text{Fe}^{3+}, \text{ПАЛФ}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \text{піруват} \end{array} $ <p>- NH_3</p>	$ \text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{ЛК}^* \begin{array}{l} \text{SH} \\ \text{SH} \end{array} \longrightarrow \text{SO}_3^{2-} + \text{ЛК}^* \begin{array}{l} \text{S} \\ \\ \text{S} \end{array} + \text{H}_2\text{S} $ <p>$ЛК^*$ – залишок ліпоєвої кислоти</p>

Сульфідхіноноксидоредуктаза – це ФАД-залежний мембранозв'язаний фермент, що локалізований у внутрішній мембрані мітохондрій, і у фізіологічних умовах забезпечує включення H_2S у склад персульфідів, здебільшого персульфиду глутатіону (GSSH) [116; 157; 177; 180]. Сульфідхіноноксидоредуктаза також каталізує двоелектронне окиснення H_2S з перенесенням атома S^0 до іншого акцептора – сульфїт-аніону (SO_3^{2-}) з утворенням тіосульфату ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) [35; 106; 131; 132; 181].

Персульфіддіоксигеназа є розчинною негемовою залізовмісною діоксигеназою [140], що локалізована у матриксі і забезпечує окиснення персульфідів з утворення сульфїт-аніону (SO_3^{2-}) [41; 106]. Роданеза міститься у мітохондріальному матриксі і за фізіологічних умов каталізує перенесення атома S^0 від GSSH до SO_3^{2-} з утворенням тіосульфат-аніону ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) [41; 106; 181].

Сульфїтоксидаза є багатодоменим цитохромом b_5 , до складу активного центру якого входять Mo^{2+} і гем [106], міститься в міжмембранному просторі, забезпечує внутрішньо-молекулярне перенесення електронів від SO_3^{2-} до цитохрому c , споживаючи при цьому 1 молекулу H_2O , і збезпечуючи утворення сульфатів (SO_4^{2-}) [41; 106; 201]. Роль сульфїтоксидази у розвитку метаболічних розладів у різних органах і тканинах, у тому числі за дії модуляторів обміну H_2S , за умов аліментарного ожиріння залишається не визначеною.

У мітохондріях H_2S також може спонтанно реагувати з мітохондріальними гемопротеїнами – цитохромоксидазою та цитохромом c [106; 270; 312], включатись до складу нітрозотіолів (RSNO) [106; 154]. Утилізація H_2S пов'язана з утворенням нестабільних низькомолекулярні персульфідів – тіотаурину та тіоцистеїну, персульфідів мітохондріальних протеїнів (R-S-SH), які містять активні атоми S^0 і є умовним депо H_2S [111; 270; 322].

Приклади реакцій катаболізму H_2S у мітохондріях нирок наведені в табл. 1.2 (узагальнено за [35; 41; 98; 106; 131; 132; 140; 181; 201; 270; 312]).

Мітохондріальні реакції катаболізму H₂S в нирках

Фермент	Схема реакції
Сульфідхінон-оксидоредуктаза	$\text{H}_2\text{S} + \text{SO}_3^{2-} + \text{ФАД} \longrightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{ФАДН}_2$ $\text{H}_2\text{S} + \text{G-SH} + \text{ФАД} \longrightarrow \text{G-S-SH} + \text{ФАДН}_2$ <p style="text-align: center;">персульфід глутатіону</p>
Персульфід-діоксигеназа	$\text{G-S-SH} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{G-SH} + \text{SO}_3^{2-} + 2\text{H}^+$
Роданеза	$\text{SO}_3^{2-} + \text{G-S-SH} \longrightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{G-SH}$
Сульфітоксидаза	$\text{SO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{Fe}^{3+} (\text{цитохром c}) \longrightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ + 2\text{Fe}^{2+} (\text{цитохром c})$
Спонтанне утворення нітрозотіолів	$2\text{H}_2\text{S} + \text{Fe}^{3+} (\text{цитохром c}) \longrightarrow \text{S}^0 + \text{HS}\cdot + \text{HS}^- + \text{Fe}^{2+} (\text{цитохром c}) + 2\text{H}^+$ $\begin{array}{l} \text{HS}\cdot + \text{NO}\cdot \\ \text{HS}^- + \text{ONOO}^- \end{array} \xrightarrow{-\text{O}_2} \text{HSNO} \xrightleftharpoons{+\text{RSH}} \text{RSNO} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{S}} \text{RSNO}$ <p style="text-align: center;">нітрузо-тіол-тіоціонатна кислота нітрузо-тіоли</p>

Регуляція обміну H₂S в нирках. Головними ферментами, які забезпечують конститутивний синтез H₂S в нирках, є ензими транссульфування – ЦБС та ЦГЛ, і сульфуртрансфераза – 3-МСТ.

ЦБС людини та тварин є гомотетрамером і складається з 4 однакових субодиниць з молекулярною масою 63 кДа, кожна з яких містить ПАЛФ та гем [100; 255]. Регулюється фермент алостерично і його активатором виступає S-аденозил-L-метіонін (SAM) [90]. Також ЦБС регулюється шляхом ковалентної модифікації: 1) відщеплення C-кінцевого пептиду в положенні R⁴¹³ веде до утворенням мономеру молекулярною масою 45 кДа, який вдвічі активніший, ніж повнорозмірна форма, та рефрактерний до SAM-опосередкованої активації [196]; 2) глутатіонування цистеїну³⁴⁶, як і фосфорилювання серину²²⁷, багаторазово збільшує активність ЦБС [82; 219]; 3) сумоїлювання лізину²¹¹ веде до зниження активності ЦБС [255]; 4) інгібіторами ЦБС виступають карбон монооксид і нітроген монооксид (у високих концентраціях) через утворення карбонілу або нітрозилу гемового заліза у складі ферменту [40]. Гем

у ЦБС відіграє ключову роль у перемиканні шляху транссульфування з утворення L-цистеїну на синтез H_2S в умовах гіпоксії [40; 141; 208].

ЦГЛ є гомотетрамером з молекулярною масою кожної субодиниці ~ 45 кДа, що містить ПАЛФ [255]. Активність ЦГЛ регулюється шляхом фосфорилювання [245], сумоїлування [255], нітрозилування цистеїнових залишків [286]. Екзогенними інгібіторами ЦБС і ЦГЛ є амінооксиоцтова кислота, тріфлуороаланін і гідроксиламін, необоротними інгібіторами ЦГЛ є D,L-пропаргілгліцин, β -ціаноаланін [33].

3-МСТ містить 297 амінокислотних залишків і збирається у вигляді мономеру ~ 33 кДа, що містить з N-кінцевий (залишки 1–138) і C-кінцевий (залишки 165–285) домени з'єднані лінкером із 26 амінокислот [106; 299]. Кофактором 3-МСТ є іони цинку (Zn^{2+}), а інгібування викликає підвищення концентрації Ca^{2+} [153; 262]. Активність 3-МСТ підвищується в присутності ендогенних відновлюючих кофакторів тіоредоксину та ДГЛК [203]. Неспецифічними інгібіторами шляху ЦАТ/3-МСТ можуть виступати аспартат та α -кетокислоти (α -кетобутират, α -кетоглутарат, піруват), а екзогенними інгібіторами 3-МСТ є 3- та 2- меркаптопропіонової кислоти [153; 286].

Регуляція експресії генів ензимів транссульфування в нирках. Важливу роль в регуляції ендогенної продукції H_2S відграють чинники, які впливають на експресію генів ензимів транссульфування. Активність промотору гена *CSE*, що контролює синтез ЦГЛ, регулюється метилуванням ДНК, при якому цитозин модифікується у 5-метилцитозин [105]. Транскрипційний контроль рівня ензимів транссульфування ЦБС та ЦГЛ в нирках здійснюється через фактори транскрипції SP-1 [295; 302; 318], NF- κ B, Nrf2 [108; 117; 258], ATF4 [255]. В експериментальних умовах показано, що експресія *CBS* та *CSE* в нирках може по-різному регулюватись статевими гормонами, зокрема експресія *CBS* у мишей стимулюється тестостероном і гальмується естрогенами [283]. Експресія *CBS* та *CSE* в нирках тварин знижується за умов цукрового діабету [300], ожиріння [185], пухлинного росту [54], ішемії-реперфузії та запальної відповіді [285], фіброзі нирок, індукованому

обструкцією сечовивідних шляхів [139]. Експресія ЦГЛ індукується оксидативним стресом, стресом ендоплазматичного ретикулуму, мітохондріальним стресом, запаленням та голодуванням [253; 254; 255].

1.2 Роль системи гідроген сульфід у регуляції ниркових функцій

Молекулярні ефекти H_2S в нирках. H_2S впливає на ниркову гемодинаміку, проявляє протизапальні, протифібротичні та протиапотичні властивості [58; 125; 216]. Плейотропний ефект H_2S в нирках може реалізуватись через наступні молекулярні механізми:

1. Оборотну S-сульфгідратацію (S-персульфідацію) протеїнів – це основний механізм H_2S -сигналіngu, у якому тіол-групи (-SH) залишків цистеїну перетворюється на пертіол-групи (-SSH) [93; 225; 235], здійснюється додаванням атомів S до залишків цистеїну, таким чином утворюючи зв'язану S^0 , що викликає конформаційні зміни в протеїнах і модифікує їх діяльність (рис 1.2) [152; 227]. S-сульфгідратація модулює біологічну активність протеїнів за рахунок зниження pKa і підвищення нуклеофільності пертіолів по відношенню до тіолів [225; 235].

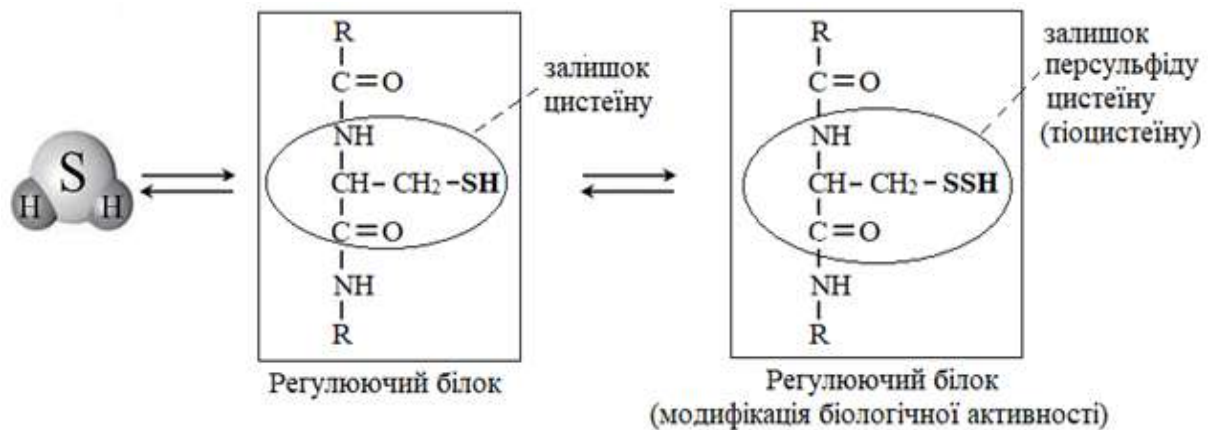


Рис. 1.2 Механізм H_2S -сигналізації шляхом S-сульфгідратації.

2. Прямий антиоксидантний ефект – поглинання активних форм кисню (ROS) та азоту (RNS) [93; 225; 235]. H_2S діє як прямий поглинач, що зменшує надмірну кількість ROS чи RNS: пероксиду водню (H_2O_2), супероксид-аніон

радикалу ($O_2^{\cdot-}$), пероксинітриту ($ONOO^-$), перетворює NO на нітрозотіолові сполуки та відновлює рівень GSH [297].

3. Взаємодія з гемопротейнами – взаємодія H_2S з таким протеїном значною мірою залежить від стану лігування гемового заліза, середовища в гемовій кишені, стану протонування зв'язаного сульфїду, а також від концентрації O_2 або відновників у розчині. Гем- Fe^{3+} може зв'язувати H_2S або HS^- з утворенням аддукт-радикалу гем- Fe^{2+} - HS^{\cdot} , який може далі реагувати з надлишком HS^-/HS^{\cdot} або O_2/H_2O , що призводить, відповідно, до утворення полісульфїдів або тіосульфатів. H_2S може також сприяти ковалентній модифікації гему, утворюючи похідне сульфгему з атомом S, включеним до одного з порфіринових пірольних кілець [45; 106].

4. H_2S разом з NO бере участь у S-нітрозилуванні протеїнів та низькомолекулярних тіолів, що на відміну від S-сульфгїдратації знижує реакційну здатність цистеїну і призводить до зниження активності протеїнів-мішеней [98; 154; 312].

5. H_2S впливає на регуляцію активності метилювання ДНК [110], гістондеацетилази [177] та експресію мікроРНК [289], і на епігенетичному рівні може впливати на нирковий протеосинтез.

Молекулярними мішенями для дії H_2S в нирках виступають:

- рецептори епідермального фактора росту (EGFR) епітелію ниркових каналців [102];
- аденілатциклаза та фосфодіестераза юкстагломерулярних клітин [193];
- НАДФН-оксидаза 4, АМФ-активована протеїнкіназа та індучибельна NO-синтаза (iNOS) епітеліальних клітин проксимальних ниркових каналців [171];
- АТФ-залежні K^+ -канали гладеньких міоцитів ниркових судин [238];
- рецептори фактору 2 (Nrf2), пов'язаного з еритроїдним ядерним фактором 2 (NFE2), мезенгіальних клітинах клубочків нирок [324].

Роль H_2S в регуляції ниркових функцій. H_2S відіграє важливу і складну роль у фізіології нирок, впливає практично на всі аспекти її функціонування.

1. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ). Клубочки є основними функціональними одиницями нирки. Це крихітні фільтри, які відіграють вирішальну роль у видаленні відходів і утворенні сечі [228]. Рівень H_2S у плазмі позитивно корелює зі ШКФ у пацієнтів з ХХН [162]. Інгібітори ензимів транссульфування (амінооксіацетат та пропаргілгліцин) погіршують ШКФ за рахунок зменшення вазодилатації прегломерулярних артеріол, а низькі дози $NaHS$, що швидко вивільняє H_2S в організмі, викликає протилежний ефект [191; 216]. В умовах гіпергомоцистеїнемії зменшення ниркового кровотоку та ШКФ супроводжується зниженням рівня H_2S у плазмі крові [238].

2. Реабсорбція Na^+ . Є однією з основних функцій нирок. Нездатність нирки видаляти надлишок Na^+ має згубні патологічні наслідки через її участь у регуляції об'єму крові, артеріального тиску (АТ) і балансу рідини. Накопичення Na^+ посилює фіброз і окислювальний стрес у нирках [239]. H_2S може збільшувати екскрецію Na^+ та K^+ з сечею внаслідок інгібування ко-транспортерів $Na^+-K^+-2Cl^-$ та Na^+-K^+-AT Фази. Експерименти *in vivo* показали, що інфузія $NaHS$ у ниркову артерію може збільшити нирковий кровотік, ШКФ і виведення Na^+ та K^+ з сечею з сечею [315]. Введення $NaHS$ може блокувати ROS-індуковане відкриття фосфатидилінозитол-3,4,5-трифосфат-залежних дистальних натрієвих каналів ниркового епітелію, зменшувати реабсорбцію Na^+ та збільшувати екскрецію Na^+ з сечею [317]. H_2S може безпосередньо взаємодіяти з H_2S -чутливими дисульфідними ділянками рецепторів епідермального фактора росту (EGFR), індукувати ендоцитоз та інгібувати Na^+-K^+-AT Фазу в епітеліальних клітинах ниркових каналців шляхом регулювання шляху EGFR/GAB1/PI3K/Akt, таким чином зменшуючи обмін Na^+ та K^+ та сприяючи виведенню Na^+ [102].

3. Регуляція артеріального тиску (АТ). Нирки разом із ренін-ангіотензин-альдостероновою системою (РААС) регулюють АТ і підтримують електролітний баланс [77]. Донор H_2S на основі фосфоротіоату JK-1 пригнічував активацію РААС, знижував АТ і покращував функцію нирок [149]. Введення Na_2S щурам знижувало АТ і мезентеріальний опір, а інгібітори

ЦГЛ (β -ціаноаланін, пропаргілгліцин) підвищували АТ та резистентність у мезентеріальному та нирковому кровообігу [207]. NaHS сприяє вивільненню NO, запобігає розпаду цГМФ і підтримує активацію шляху NO-цГМФ через інактивацію фосфодіестерази типу 5 [72], у той час як інгібітори ЦГЛ викликають протилежний ефект [56]. Також H_2S впливає на цГМФ-незалежну активацію протеїнкінази G через антиоксидантні механізми [272].

4. Водний баланс та утворення сечі. Нирки активно регулюють обмін води і забезпечують утворення сечі. У ниркових каналцях експресуються специфічні протеїни – аквапорини, які залучені до регуляції реабсорбції води і концентрування сечі [273]. Інгібування ЦГЛ та ЦБС викликає збільшення об'єму сечі та зниження осмотичного тиску сечі у мишей, що пов'язано зі зниженням експресії аквапорину-2 (AQP-2) в мозковій речовині нирок [194]. Донори H_2S (NaHS та GYY4137 – з пролонгованою дією) викликали збільшення концентрації сечі та підвищення експресії AQP-2, можливо, через цАМФ-залежний сигнальний шлях [194].

5. Зондування O_2 . Нирка у фізіологічних умовах, через внутрішньонирковий артеріовенозний кисневий шунт, знаходиться у стані низького парціального тиску кисню порівняно з іншими органами, а парціальний тиск кисню мозкової речовини нирки нижчий, ніж у ниркової паренхіми [91; 122]. H_2S розглядається як датчик рівня O_2 в нирках, особливо у мозковій речовині [156]. У мозковому шарі нирок H_2S в умовах гіпоксії сприяє відновленню кисневого балансу за рахунок збільшення медулярного кровотоку, зменшення потреби в енергії для транспорту Na^+ та гальмування мітохондріального дихання [57].

Окремі аспекти участі H_2S у регуляції фізіологічних функцій нирок узагальнені на рис. 1.3.

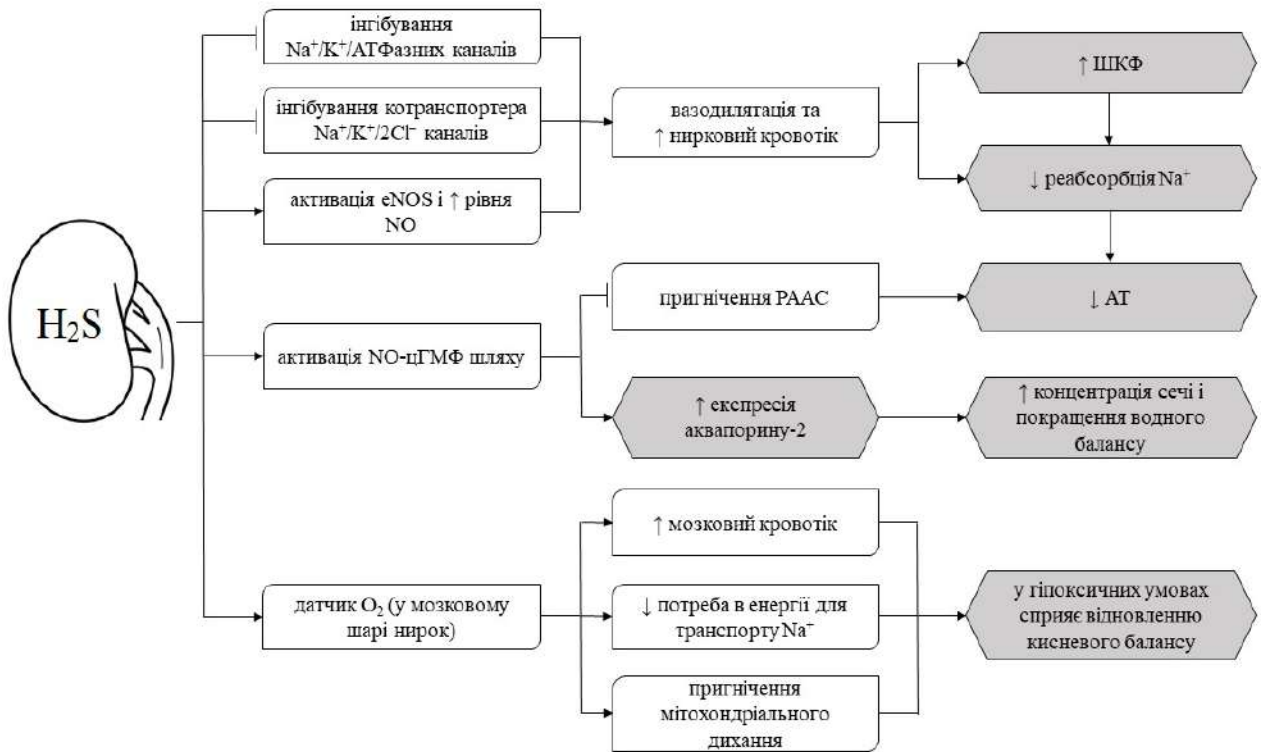


Рис.1.3 Участь H_2S в регуляції функції нирок. Примітки: eNOS – ендотеліальна NO-синтаза; NO – нітроген монооксид (оксид азоту); цГМФ – циклічний гуанозинмонофосфат; РААС – ренін-ангіотензин-альдостеронова система; ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації; АТ – артеріальний тиск.

Порушення ендогенної продукції H_2S справляє негативний ефект на стан нирок, що пояснюється участю цього газотрансміттеру у механізмах антиоксидантного захисту, цитопротекції, імунозапальному процесі, регуляції ниркового кровообігу і формуванні адаптаційних можливостей органу.

1. Оксидативний стрес. Зміни антиоксидантного захисту нирок, підвищення рівня ROS і продуктів пероксидації ліпідів, підвищення активності супероксиддисмутази, та глутатіонпероксидази реєструються при гострому ураженні нирок [188]. Інгібування ЦГЛ має вирішальне значення для утворення ROS та дисфункції мітохондрій на моделях мишей з односторонньою обструкцією сечоводу. Однак підвищення рівня H_2S може відновити функції мітохондрій та знизити рівень окиснення [114]. H_2S підвищує експресію та активність антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази (Cu-Zn) та супероксиддисмутази (Mn) [139],

гемоксигенази-1, SIRT1 [123], рівня GSH [288], підвищує транскрипцію антиоксидантних генів через активацію шляху Nrf2 [126; 324].

H₂S може регулювати деградацію окисномодифікованих та конформаційно змінених протеїнів і зменшувати стрес ендоплазматичного ретикулуму, оскільки підвищує рівні субодиниці протеосоми α-типу 6 і субодиниці протеосоми β-типу 7 (ключові субодиниці протеосоми 20 S) [307]. Було виявлено, що інгібування АТФ-незалежної 20 S протеосоми убіквітинового протеолітичного шляху сприяє порушенню роботи нирок, посилюючи прогресування гострої ренальної дисфункції та ішемічнореперфузійного ушкодження нирок [319].

2. Запалення. У пацієнтів з інтерстиціальним фіброзом і термінальною стадією ХХН у плазмі крові зростають рівні прозапальних цитокінів та її рецепторів, особливо рецепторів фактору некрозу пухлини-1 і -2 [217; 269]. H₂S інгібує активацію прозапальних цитокінів: молекул міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1), молекул адгезії клітин судинної стінки (VCAM-1), MCP-1, фактору некрозу пухлини-α (TNF-α), інтерлейкінів ІЛ-1β, -6, -8 та макрофагального запального протеїну 2 [288]. Нокаут гена *CBS* в клітинах проксимальних каналців людини призводить до підвищення експресії прозапальних медіаторів, тоді як гіперекспресія *CBS* має протилежний ефект [309]. Дефіцит ЦГЛ та ЦБС викликає гіпрегомоцистеїнемію, активацію прозапальних реакцій і прогресування фіброзу [303].

3. Аутофагія (клітинний процес деградації вмісту цитоплазми, включаючи білкові агрегати та нефункціонуючі органели [119]) відіграє ключову роль у захисті ниркових клітин від апоптозу [134]. Однак, надмірна аутофагія може стимулювати апоптотичну діяльність, що призводить до атрофії ниркових каналців [63]. Роль H₂S у аутофагії клітин проксимальних каналців та ураженні нирок ще вивчається. Зниження рівня H₂S при захворюваннях нирок може посилити аутофагію через підвищення рівня ROS, і, відповідно, призвести до прогресування ураження нирок [216]. В умовах сильної

травматизації нирок H_2S може сприяти апоптозу або переродженню клітин [63].

4. Продукція позаклітинного матриксу. Накопичення позаклітинного матриксу призводить до втрати функції нирок і прогресування ураження нирок. Активація експресії трансформуючого фактора росту- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) тісно пов'язана з прогресуванням фіброзу нирок, оскільки він збільшує експресію матриксних металопротеїназ (ММР), включаючи ММР-2 і ММР-9, що призводить до стимуляції епітеліально-мезенхімального переходу клітин і збільшенні їх профібротичної активності [323]. Інгибування експресії ЦГЛ і ЦБС може викликати ремоделювання матриксу внаслідок інгибування експресії рецепторів ММР-9 та конексинів, але цей ефект пом'якшується в присутності NaHS [164; 165]. У щурів з цукровим діабетом введення тадалафілу (інгібітору фосфодіестерази-5 і донору H_2S) зменшувало продукцію матриксу в подоцитах через регуляцію сигнального каскаду NO- H_2S -AMPK-mTORC1 [170]. Донор H_2S (GYY4137) стабілізував рівні ММР-9, ММР-13 і ММР-14 і зменшував ROS-індукований фіброз нирок шляхом підвищення рівня мікроРНК-194 [135].

5. Гіпоксичне ураження клітин. Одним з пускових механізмів пошкодження клітин є спричинена гіпоксією дисфункція мітохондрій [325]. Транскрипційні фактори, індуковані гіпоксією (HIFs), відіграють важливу роль у відновленні клітин нирок, зменшуючи апоптоз, сприяючи проліферації клітин і активації специфічних генів репарації [43]. Наприклад, активація HIF може запобігти дегенерації тканин, покращуючи баланс O_2 і сприяючи відновленню клітин; однак його тривала стимуляція може призвести до прогресування пошкодження тканини за рахунок накопичення позаклітинного матриксу та активації запалення [76]. Інгибування ЦГЛ посилює індуковане гіпергомоцистеїнемією пошкодження подоцитів, регулюючи Wnt-шлях [189]; сприяє пошкодженню ниркових клітин через стимуляцію окиснення тіоредоксину і його зв'язування з протеїнами, інгибування кінази-1, яка

регулює сигнал апоптозу, та її впливу на протеїнкіназу активовану мітогеном P38 (MAPK); а NaHS запобігає такому ефекту [198].

Вищенаведені уявлення про роль H_2S у механізмах ураження нирок узагальнені на рис. 1.4.

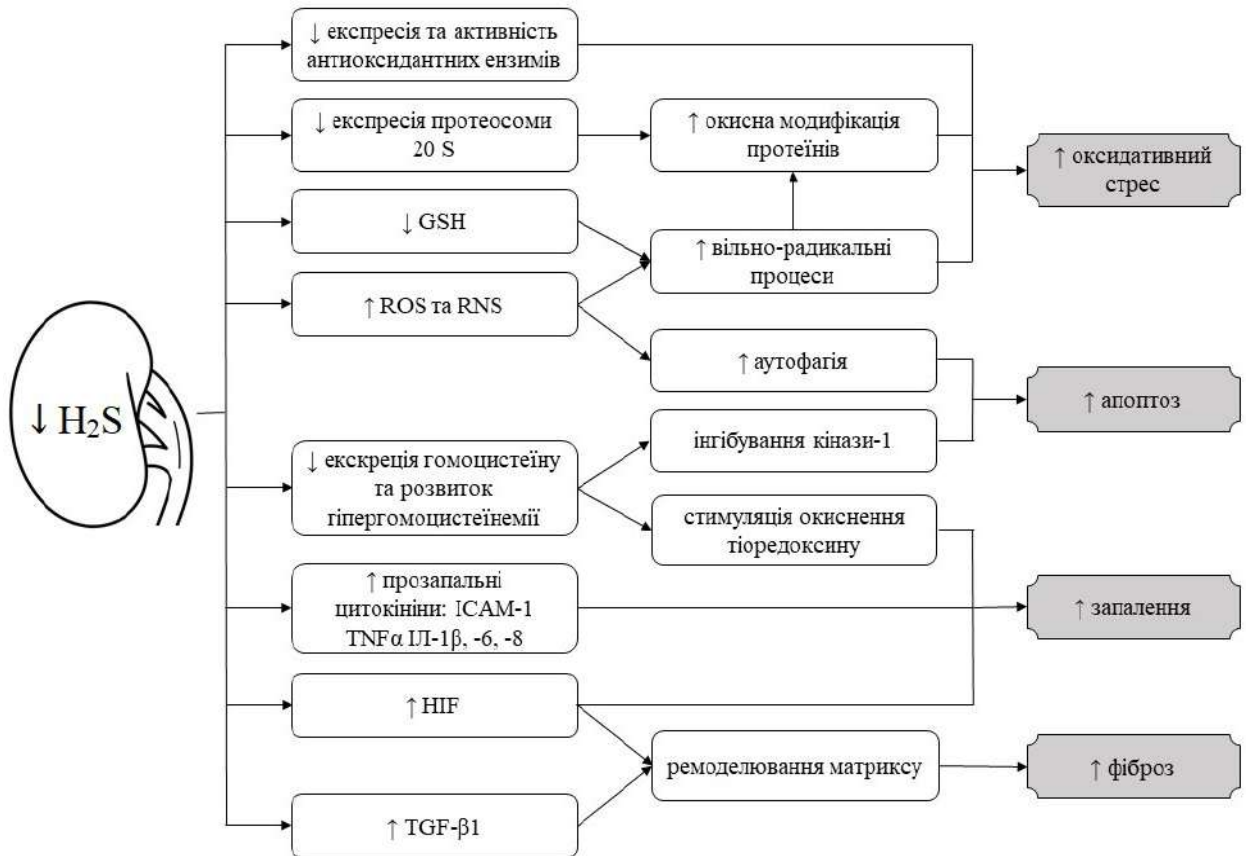


Рис.1.4 Участь H_2S у механізмах ураження нирок. Примітки: GSH – глутатіон відновлений; ROS – активні форми кисню; RNS – активні форми азоту; ICAM-1 – молекула міжклітинної адгезії-1; $TNF\alpha$ – фактор некрозу пухлини α ; ІЛ – інтерлейкіни; HIF – транскрипційний фактор індукований гіпоксією; $TGF-\beta 1$ – трансформуючий фактор росту- $\beta 1$.

Роль H_2S в патогенезі ХХН. Зміни вмісту H_2S у нирках спостерігаються при багатьох захворюваннях [57; 93]. Повідомлялося про знижений рівень H_2S у пацієнтів із ХХН і у експериментальних тварин з моделями гострої та хронічної ниркової недостатності [157; 162]. У щурів після хірургічного видалення 5/6 загальної маси нирок відмічалось зниження ниркового рівня H_2S , зменшення активності та експресії ЦБС, ЦГЛ, 3-МСТ [205; 238]. Зниження ниркової продукції H_2S асоціюється зі збільшенням активності

РААС та реноваскулярною гіпертензією у тварин, оскільки H_2S знижує рівень сироваткового ангіотензину II шляхом зниженн утворення клітинного цАМФ [268]. H_2S пригнічує в ендотеліальних клітинах людини активність ангіотензинперетворюючого ферменту [288] та в багатих реніном клітинах нирок вивільнення реніну [193]. У мишей з 5/6 нефректомією NaHS справляв антиоксидантній, антиапоптотичний та протизапальний ефект через активацію фактору транскрипції Nfr2 та інактивацію mTOR [264]. NaHS знижував експресію каспази-3, p-NF- κ B, зменшував екскрецію з сечею ліпокаліну, асоційованого з нейтрофільною желатиназою [34]. NaHS знижував рівень прозапальних і проапоптотичних протеїнів у мишей з аденін-індукованою нирковою недостатністю через інгібування шляхів MAPK і NF- κ B [294]. H_2S пригнічував фіброз ниркової тканини, інгібуючи аутофагію у моделі ХХН [178]. Відмічено захисну роль H_2S у клітинах ниркових каналців при ХХН [288].

Таким чином, ренальна дисфункція асоціюється зі зниженням ендогенної продукції H_2S . Дефіцит H_2S є потенційним фактором ризику розвитку та прогресування ХХН шляхом активації апоптозу, аутофагії, запалення та оксидативного стресу. Підвищення рівня H_2S може запобігти цим подіям, адже донори H_2S виявляють нефропротекторний ефект [57; 216], а інгібітори H_2S -синтезуючих ферментів можуть бути потенційними діуретиками [315].

1.3 Основні аспекти біохімії нефропатії ожиріння, зв'язок з системою гідроген сульфїду

У ХХІ сторіччі поширеність ожиріння набула характеру епідемії – приблизно два мільярди дорослого населення мають зайву вагу або страждають ожирінням [129; 291]. За даними офіційної статистики ВООЗ (2022) частота ожиріння у різних популяціях та окремих етнічних групах коливається у досить широкому діапазоні – від 2,1 % у В'єтнамі до 61 % на

островах Кука в Океанії. У розвинутих країнах частота ожиріння в середньому сягає 25-35 %, зокрема у США – 36,2 %, Канаді – 29,4 %, Польщі – 23,1 %, Україні – 24,1 %, відповідно [221].

Ожиріння є вагомим чинником розвитку серцево-судинної патології (артеріальної гіпертензії, атеросклерозу, хронічної серцевої недостатності), цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому, неалкогольної жирової хвороби печінки, захворювань дихальної системи та онкологічної патології [31]. Ще одним загрозливим ускладненням ожиріння є розвиток ХХН. За умов ожиріння відбувається формування характерної гломерулопатії (obesity-related glomerulopathy) з гіперплазією клубочкового апарату, вогнищевим фокальним та сегментарним гломерулосклерозом, інтерстиціальним фіброзом, мікропротеїнурією та альбумінурією [69; 71; 293; 298; 306]. За умов ожиріння у нирках виникає широкий спектр системних метаболічних змін, що ведуть до утворення жирових відкладень в тканинах нирок, погіршення ниркової гемодинаміки [99; 210; 236; 244], нефролітіазу [233].

Патогенез ураження нирок за умов ожиріння залишається предметом для дискусій. У добірці опублікованих за останні роки наукових оглядів з проблеми [80; 159; 160; 233; 236; 290; 298; 306] окреслені наступні ключові шляхи формування асоційованої з ожирінням гломерулопатії та ХХН:

- 1) гемодинамічні зміни у нирках (збільшення швидкості клубочкової фільтрації, посилення ниркового кровообігу, гіперплазія клубочків), активація РААС, підвищення фільтраційної фракції та каналцевої реабсорбції натрію;
- 2) дисбаланс продукції жировою тканиною адипокінів, ростових факторів, прозапальних цитокінів, розвиток персистуючого імунозапального процесу;
- 3) пошкодження клітин нирок внаслідок ектопічної акумуляції ліпідів, механічного стресу та гіперфільтрації, що зумовлює виснаження подоцитів та розвиток протеїнурії;
- 4) порушення метаболічних процесів в клітинах нирок, мітохондріальна дисфункція та оксидативний стрес; пошкодження ендотеліоцитів,

мезангіальна експансія, розвиток фокального сегментарного клубочкового фіброзу; пошкодження тубулярних клітин та розвиток інтерстиціального фіброзу;

5) порушення уродинаміки та розвиток нефролітіазу.

Усі вищеперелічені механізми дезадаптації та ушкодження нирок за ожиріння тісно пов'язані між собою (рис. 1.5) (узагальнено за [80; 159; 160; 233; 236; 290; 298; 306]).



Рис. 1.5 Патогенетичні механізми ураження нирок за ожиріння. Примітки: ФНПa – фактор некрозу пухлини α ; ІЛ-6 – інтерлейкін-6; РААС – ренін-ангіотензин-альдостеронова система; ЕПР – ендоплазматичний ретикулум.

Аліментарне ожиріння, викликане високожировою дієтою, в досліджах *in vivo* індукує в нирках складний комплекс біохімічних порушень – оксидативний стрес, запалення, фіброгенез [218; 242], ектопічну акумуляцію жирів [187], порушення експресії інсулінових рецепторів [172]. Підшкірна і особливо вісцеральна жирова тканина є не лише простим органом зберігання жиру, але зараз визнана динамічною тканиною, що бере участь у виробництві адипокінів: лептин, адипонектин, ангіотензиноген, цитокінів: інтерлейкінів

(IL-1, IL-6, IL-8, IL-10), фактору некрозу пухлини- α (TNF- α), хемокінінів факторів росту: моноцитарний хемоатрактантний білок-1 (MCP-1), фактору росту ендотелію судин (VEGF) та трансформуючого фактору росту- β (TGF- β), факторів системи комплементу [81; 166], ROS [66], які потім безпосередньо стимулюють ураження нирок від посилення вазоконстрикції та зменшення вазодилатації [129]. Серед великої кількості прозапальних адипокінів TNF- α був визнаний одним із найважливіших медіаторів запалення жирової тканини [81]. Секреція TNF- α підвищується при ожирінні і викликає персистуюче клубочкове і тубулоінтерстиціальне запалення [291]. Підвищений рівень TNF- α зазвичай пов'язаний із збільшенням вироблення MCP-1, що виробляється адипоцитами та макрофагами і рівень якого збільшується при надмірній кількості жиру [81].

Важливу роль в регуляції функціонального та метаболічного стану нирок відіграє родина інсуліноподібного фактору росту (IGF-1-7) та високоафінні протеїнів – інгібіторів IGFБPs (1-7) [85; 142; 287]. Розлади сигнальної системи IGF-1/IGF-1R (рецептори) в нирках ведуть до погіршення ниркової гемодинаміки через пряму та опосередковану взаємодію з системою РААС, зниження опірності ниркових судин, підвищення внутрішньоклубочкової гіпертензії, гіперфільтрації і розвитку протеїнурії [50; 97]. Подоцити вивільняють IGF-1, який стимулює продукцію протеїнів позаклітинного матриксу і розвиток гломерулосклерозу [241; 257]. Через систему IGF-1 гормон росту стимулює каналцеву реабсорбцію натрію та води, сприяючи затримці рідини [50]. IGF-1 стимулює експресію судинних ростових факторів та медіаторів фіброзу через сигнальний шлях PI3K/Akt в ендотеліальних клітинах та стовбурових клітинах жирової тканини [183], стимулює ангіогенез у жировій тканині [59; 168]. Інгібітори системи IGF-1/IGF-1R зменшують діабетичне ураження нирок при цукровому діабеті – гломеруломегалію, запальну інфільтрацію та тубулоінтерстиціальний фіброз [85]. Родина із 7 відомих насьогодні IGF (та їх рецепторів) залучена у патогенез ожиріння, інсулінорезистентності, метаболічного синдрому [118],

однак питання щодо ролі IGF-1 при нефропатії ожиріння потребує уточнення. Зокрема, в одному з клінічних досліджень було показано, що у пацієнтів з морбідним ожирінням та нефропатією відмічались нижчі рівні IGF-1 в плазмі крові, ніж у пацієнтів без ураження нирок [39]. За іншими даним у дітей з ожирінням виявлялось підвищення рівня IGF-1 в крові [133].

Інформація щодо ролі системи H_2S в нирках за умов ожиріння та підходів до його корекції залишається дискусійною. Доведено, що система ЦГЛ/ H_2S залучена до регуляції проліферації та диференціації адипоцитів *in vitro* і акумуляції жиру в жировій тканині *in vivo* [301]. У пацієнтів з морбідним ожирінням зростає рівень H_2S в плазмі крові за відсутності змін експресії H_2S -синтезуючих ензимів [75]. Ожиріння асоціюється із розвитком гіпергомоцистеїнемії [282; 284; 296] та гіперцистеїнемії [182], що свідчить про порушення процесів транссульфування [255].

Отримані суперечливі дані щодо впливу донорів H_2S на масу тіла лабораторних тварин з ожирінням [103; 301]. Зокрема, введення $NaHS$ знижує акумуляцію ліпідів та експресію прозапальних цитокінів в нирках, покращує фільтраційну функцію, зменшує масу тіла за умов високожирової дієти [293]. За іншими даними, донори H_2S та стимулятори його ендогенної продукції інгібують ліполіз, стимулюють адипогенез та депонування жиру в білій жировій тканині [103; 301]. У мишей з дієт-індукованим ураженням нирок донори H_2S знижували рівні фосфорилування інсулінових рецепторів та Akt в кірковому шарі [169; 172], зменшували накопичення ліпідів та знижували експресію NF- κ B (p65) [293]. Делеція генів *CSE* у мишей викликає зниження рівня H_2S та GSH у нирках та посилює індукований високожировою дієтою окислювальний стрес, фрагментацію мітохондрій, апоптоз та запалення, що призводить до більшого фіброзу нирок [268; 315; 320]. Зміни обміну H_2S в нирках, індуковані ожирінням, можуть порушувати загальний гомеостаз, імунний захист, знижувати адаптивні резерви організму [259].

1.4 Нефропротекторні ефекти кофакторів обміну гідроген сульфїду

Пошук коректорів обміну H_2S при ожирінні, які б забезпечували нефропротекцію, і водночас не активували ліпогенез та адипогенез, коригували продукцію цитокїнів та ростових факторів, залишається актуальним. Позитивний вплив на обмін ліпїдів та масу тіла при ожирінні був показаний у препаратів цинку [146], α -ліпоєвої кислоти (α -ЛК) [214], таурину [147], у натрій тіосульфату виявлений антигіпертензивний та нефропротекторний ефекти [125]. Вищевказані речовини потенційно можуть виступати модуляторами рівня ендогенного H_2S в нирках, тому що всі вони залучені до 3-МСТ- та ТСТ-залежних шляхів обміну H_2S [47; 83; 224; 321]. Однак це питання потребує детального вивчення за умов ожиріння. Зауважимо, що у всіх вказаних речовин в експериментальних умовах виявлені нефропротекторні властивості, який реалїзується через різні механїзми.

Цинк (Zn) є компонентом понад 300 металоензимів і сприяє підтримці структури та каталїтичної активності цих ферментів [308], входить до складу протеїнів цинкових пальців та MMP [251]. Крім того, Zn відіграє регуляторну роль у різних клітинних процесах, таких як передача сигналів та експресія генів [308]. Zn відіграє важливу роль у регуляції експресії генів факторів росту та функціонування імунної системи [174; 190], індукує експресію металотїонеїну – хелатору важких металів, ROS та вільних радикалів [308], інгїбує активацію NF- κ B [251]. Введення $ZnSO_4$ зменшувало CCl_4 -індуковане токсичне ураження нирок і виявляло нефропротекторний ефект, зумовлений антиоксидантною роллю та знешкодженням ROS [308]. $ZnSO_4$ сприяв кращому загоєнню нирок щурів після травми нирок I типу, зменшував запалення, утворення грануляції в тканинах та втрату ниркової паренхіми [251]. У щурів з ішемїчно-реперфузійним ураженням нирок $ZnSO_4$ підвищував активність супероксиддисмутази, регулював експресію апоптичних протеїнів BCL-2 / BAX, знижував рівень МДА та відсоток апоптотичних клітин [109;

209]. Слід відзначити, що ожиріння асоціюється з дефіцитом цинку – зниження його рівня у плазмі крові виявлено у осіб з високим ІМТ [247; 267].

Натрій тіосульфат ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ є відомим антидотом при отруєнні ціанідом [42], використовується при лікуванні цис-платиною для зменшення нефротоксичності [55], а також при лікуванні кальцифілаксії [252; 265]. Описані судинорозширювальні властивості самого $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [266]. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ з успіхом застосовується при деяких захворюваннях, пов'язаних з перенавантаженням організму Ca^{2+} – каменів в нирках, кальцифікації м'яких тканин, уремична артеріолопатія (кальцифілаксії) [229]. Антикальцифікуючі властивості $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ пов'язують з його антиоксидантною та хелатуючою дією [46]. Він взаємодіє з нерозчинними солями кальцію, утворюючи розчинний тіосульфат кальцію [229]. У моделі хронічної гіпероксалурії $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ зберігав функції нирок завдяки зменшенню рівня медіатора фіброзу α -SMA, макрофагального білка ED-1 та виділення оксалату з сечею [46]. У моделях на щурах $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ефективно відновлював функції мітохондрій нирок, забезпечуючи захист від сечокам'яної хвороби [37], ниркової недостатності індукованої аденіном [161], також допомагав зберегти функціональну цілісність мітохондрій при гіпоксії / ішемії / реперфузії [206]. Введення $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ при ренальній гіпертензії знижувало артеріальний тиск, зменшувало протеїнурію, оксидативний стрес і функціональне та структурне пошкодження нирок [296]. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ є антиоксидантом і потенційно може коригувати рівень H_2S за оксидативного стресу [180; 277].

α -Ліноєва кислота (α -ЛК або тіоктова кислота). У клітинах біологічне значення має α -ЛК, яка перетворюється на дигідроліпоєву кислоту (ДГЛК) за допомогою трьох ферментів: дигідроліпоатдегідрогенази, глутатіонредуктази або тіоредоксинредуктази. ЛК є кофактором мітохондріальних комплексів, що каталізують окисне декарбоксілювання α -кетокислот та катаболізм гліцину [47]. ЛК і ДГЛК мають потужні антиоксидантні функції і можуть слугувати вловлювачами активних форм кисню та азоту. ЛК та ДГЛК здатні до хелатування металів, взаємодіють з іншими окисниками, впливають на

експресію генів, інгібують апоптоз через шляхи фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3K)/Akt/Nrf2 та PI3K/Akt [316]. Антиоксидантні властивості ЛК лежать в основі нефропротекторного ефекту при гострій травмі нирок, ішемії-реперфузії нирок [316], сприяють покращенню клубочкової фільтрації при ХХН [200]. ЛК пригнічує утворення цистинового каменю при експериментальній цистинурії, підвищуючи розчинність цистину в сечі [314]. Дефіцит ЛК є можливим фактором діабетичної нефропатії [44; 101]. ЛК зменшувала пошкодження нирок, спричинене ліпополісахаридом, покращувала функцію ниркових каналців, зменшуючи явища апоптозу та запалення [275]. ЛК зменшувала нефротоксичність доксорубіцину [89] та кадмієве ураження нирок [64; 195], зменшувала тубуло-інтерстиціальний фіброз при обструкції сечовивідних шляхів [67].

Таурин (2-аміноетансульфонова кислота) є внутрішньоклітинною сірковмісною амінокислотою, яка присутня в більшості тканин ссавців, бере участь у рості та розвитку [107]. Таурин ендогенно синтезується з метіоніну та цистеїну, а також надходить в організм з їжею. Таурин активно синтезується в білій жировій тканині, печінці та нирках [211]. Таурин має властивості антиоксиданта, нейромодулятора, осморегулятора та внутрішньоклітинного регулятора рівня Ca^{2+} [136; 256], підвищує стабільність клітинних мембран, бере участь в знешкодженні ROS і обмеженні перекисного окиснення ліпідів [107; 199; 263]. Внаслідок антиоксидантним властивостям проявляє модулюючий ефект на різні параметри клітинного ремоделювання [279]. Таурин використовується для кон'югації жовчних кислот [211], забезпечує нейтралізацію гіпохлорної кислоти – за участі мієлопероксидази утворює протизапальний метаболіт – таурин хлораміну (Tau-Cl) у фагоцитах [199; 256]. Похідні таурину є фізіологічно активними сполуками і виявляють протизапальну, антиоксиданту дію, впливають на вуглеводний та ліпідний обмін [256]. У моделі мишей з гострим ураженням нирок, викликаних доксорубіцином, додавання таурину зменшувало ниркову експресію факторів

апоптозу (p53, фосфо-p53, каспази-9, каспази-3) та запалення (NF- κ B, COX-2, iNOS) [149].

Резюме. Таки чином, система H_2S відіграє важливу роль у функціонуванні нирок і підтримці гомеостазу цілісного організму. Нирки є важливим постачальником ендogenousного H_2S , синтез якого може відбуватись з сірковмісних амінокислот та тіосульфат-аніону. За умов ожиріння виникають зміни в обміні сірковмісних сполук і детальне дослідження внеску ПАЛФ-залежних та тіосульфат-залежних шляхів у формування загального сульфідного пулу у нирках за цих умов залишається доцільним. Проблема профілактики та корекції індукованої ожирінням нефропатії набуває все більшої актуальності. Це зумовлено 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 ХХН; складністю молекулярних механізмів уражень гломерулярного і тубулярного апарату, інтерстицію та ниркових судин; переважно симптоматичною корекцією нефропатії ожиріння. Нові стратегії нефропротекції при ожирінні можуть включати застосування кофакторів та косубстратів різних ланок обміну H_2S і це питання є перспективним для подальшого вивчення.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [1; 2; 4; 5; 6; 7; 12; 15; 16; 22; 49; 313].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, МОДЕЛІ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика експериментальних тварин, дієт та моделей

Біоетичні норми, умови утримання та рандомізації тварин. Досліди проведені на 156 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях (*Rattus norvegicus*) із початковою масою тіла 150-190 г, що були отримані з експериментальної біологічної клініки (віварію) ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Всі етапи експериментів виконували згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директив Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), що засвідчено комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №9 від 02.11.2017, №5 від 01.09.2022).

Лабораторні тварини утримувались в стандартних умовах віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова, з 12-годинним режимом освітлення (день/ніч), при температурі 22 ± 2 °С та відносній вологості повітря 55 ± 5 %, із вільним доступом до води та корму. Перед включенням у дослідження всіх тварин витримували на карантині упродовж 10 діб, за 1 добу до початку експерименту тварин оглядали кваліфікованим зоотехніком. У дослідження включали виключно здорових особин, які надалі сліпим методом були розподілені на дослідні групи (з урахуванням принципу мінімізації відмінностей за масою тіла). Всі маніпуляції проводили вранці, з 9-00 до 11-00, у стандартних умовах. Щодня оцінювали кількість спожитого корму та води, 1 раз на тиждень визначали масо-ростові параметри тварин. У визначені умовами експерименту

проміжки часу тварин піддавали евтаназії шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом (тіопентал натрію 100 мг/кг в/оч).

Розподіл тварин за серіями дослідів. Згідно мети та задач дослідження тварини були розподілені на 3 серії дослідів (табл. 2.1). Включені у серію тварини на початку дослідів випадковим чином розподілялись на групи (по 6-10 особин).

Таблиця 2.1

Розподіл щурів за серіями дослідів

№№ серій	Серії дослідів	Кількість тварин
1.1	Вивчення змін соматометричних параметрів (маси тіла, ІМТ, індексу Лі, індексу ожиріння) та можливого зв'язку зі змінами рівня H_2S в нирках щурів за умов висококалорійної високожирової дієти та за введення потенційних модуляторів обміну H_2S – цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти	60
1.2	Дослідження впливу потенційних модуляторів обміну H_2S – цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти на показники обміну H_2S (активність H_2S -синтезуючих ензимів, ензимів шляхів депонування та утилізації H_2S – тіоредоксинредуктази, сульфітоксидази) в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням	
2.1	Вивчення впливу модуляторів обміну H_2S на експресію генів <i>CSE</i> та <i>CBS</i> , рівні медіаторів імунозапальних та фібротичних процесів (інсуліно-подібного фактору росту 1, фактору некрозу пухлини альфа) в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням	60
2.2	Дослідження змін біохімічних маркерів ураження клубочкового та тубулярного апарату нирок (цистатину С, креатиніну, кліренсу креатиніну, ензимурії γ -глутамілтрансферази) у щурів з дієт-індукованим ожирінням за умов введення модуляторів обміну H_2S	
3	Дослідження впливу модуляторів обміну H_2S (натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти, цинк сульфату) на морфологічні зміни в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням	36
Всього тварин		156

Характеристика дієт, дизайн дослідження. Відомі експериментальні моделі дієт-індукованого ожиріння (ДІО) у щурів базуються на застосуванні високалорійної дієти із збільшеною квотою жирів в раціоні – від 30 до 70% загального калоражу [20; 113; 116; 159]. В раціон тварин обов'язково включають підвищену кількість жирів тваринного походження – свиняче сало або лярд, або топлене вершкове масло, що забезпечує швидкий приріст маси тіла та досягнення стану ожиріння. Найбільш вживаною є модель ДІО у щурів із застосуванням високожирового високалорійного раціону з орієнтовною енергетичною цінністю 28,71 кДж/г, який включає 60 % повнораціонного корму для лабораторних тварин, 10 % яйця, 10 % свинячого жиру, 9 % цукру, 5 % арахісу, 5 % сухого молока, 1 % рослинної олії [113; 143; 260]. Модифікований варіант цього раціону передбачає додавання до свинячого жиру м'ясного фаршу, а із рослинних олій – вибір кунжутної олії, що забезпечує краще споживання корму дослідними тваринами і, відповідно, пришвидшує приріст маси тіла [23].

У дисертаційному дослідженні були використані наступні дієти:

- 1) стандартна дієта (СД) – повнораціонний гранульований корм для лабораторних гризунів, збалансований за всіма макро- та мікронутрієнтами (ПК120-2 (P50258-92), ТОВ «НВП Ф.У.Д.», Україна). Енергетична цінність СД – 2,71 ккал/г (22,1 % білків, 10,8 % жирів, 67,1 % вуглеводів за калоражем);
- 2) високожирова високалорійна дієта (ВКД): СД – 60 %, яйце варене – 10 %, свинячий лярд з свинячим м'ясним фаршем (співвідношення 3:1) – 10 %, цукор – 9 %, арахіс очищений – 5 %, сухе молоко цільне – 5 %, кунжутна олія – 1 %. Енергетична цінність ВКД – 4,33 ккал/г (15,7 % білків, 39,5 % жирів, 44,8 % вуглеводів за калоражем).

Дизайн дослідження (рис.2.1). На першому етапі експерименту, який тривав 8 тижнів (56 діб), у дослідних щурів викликали розвиток дієт-індукованого ожиріння (ДІО) шляхом застосування ВКД. Тварини контрольної групи отримували СД. Корм вносили в надлишковій кількості в годівниці із розрахунку 20 г сухого корму на 1 особину на початку

експерименту. В подальшому вага харчової порції збільшувалась на 1 г / тиждень на 1 тварину. Залишки корму щоденно зважували. Джерелом води була охолоджена кип'ячена вода у скляних поїлках. Упродовж усього експерименту доступ до корму та води у тварин був *ad libitum*.

Розвиток ожиріння контролювали за зміною масо-ростових параметрів (маси тіла, індексу маси тіла, індексу Лі), які визначали 1 раз на тиждень. Другий етап експерименту тривав 2 тижні. У цей етап включались тварини, які за 8 тижнів досягли соматометричних критеріїв ожиріння. Тварин з ДЮ рандомно розподіляли на підгрупи відповідно до модуляторів обміну H_2S . Раціон тварин у цей період не змінювався: щурі дослідних груп отримували ВКД, а тварини контрольних груп – СД, відповідно.

Метаболічні коректори – потенційні модулятори обміну H_2S вводили упродовж 14 діб (з 57-ої по 70-у добу включно), дози та шляхи введення речовин запозичували з літератури з урахуванням коефіцієнтів видової специфічності. Потенційні модулятори обміну H_2S застосовували у діапазоні доз, які за даними літератури позитивно впливали на функціональний стан нирок та/або покращували метаболічні процеси (зменшували оксидативний стрес, інсулінорезистентність, ліпотоксичність) у щурів [61; 104; 206; 226; 250]. α -Ліпоєву (тіоктову) кислоту вводили у дозі 100 мг/кг; $ZnSO_4$ (цинк сульфат моногідрат) – у дозі 124 мг/кг; таурин (2-аміно-етансульфонову кислоту) – у дозі 100 мг/кг, натрій тіосульфат ($Na_2S_2O_3$) – у дозі 300 мг/кг. Усі вказані метаболічні коректори вводили внутрішньошлунково (в/шл) на 0,1 % крохмальному гелі (1,0 мл/кг маси) за допомоги металевого зонду з оливою. Застосовані у дослідженні дози препаратів не викликали загибелі тварин. Тварини контрольних груп отримували еквіоб'ємні кількості розчинників.

У роботі використані фармакопейні препарати: тіопентал натрію (Київмедпрепарат, Україна), α -ліпоєва (тіоктова) кислота (Берлін-Хемі, Німеччина); цинк сульфат (Тева, Польща); натрій тіосульфат (Фармстандарт-Біолік, Україна); таурин (Еліт-фарм, Україна).

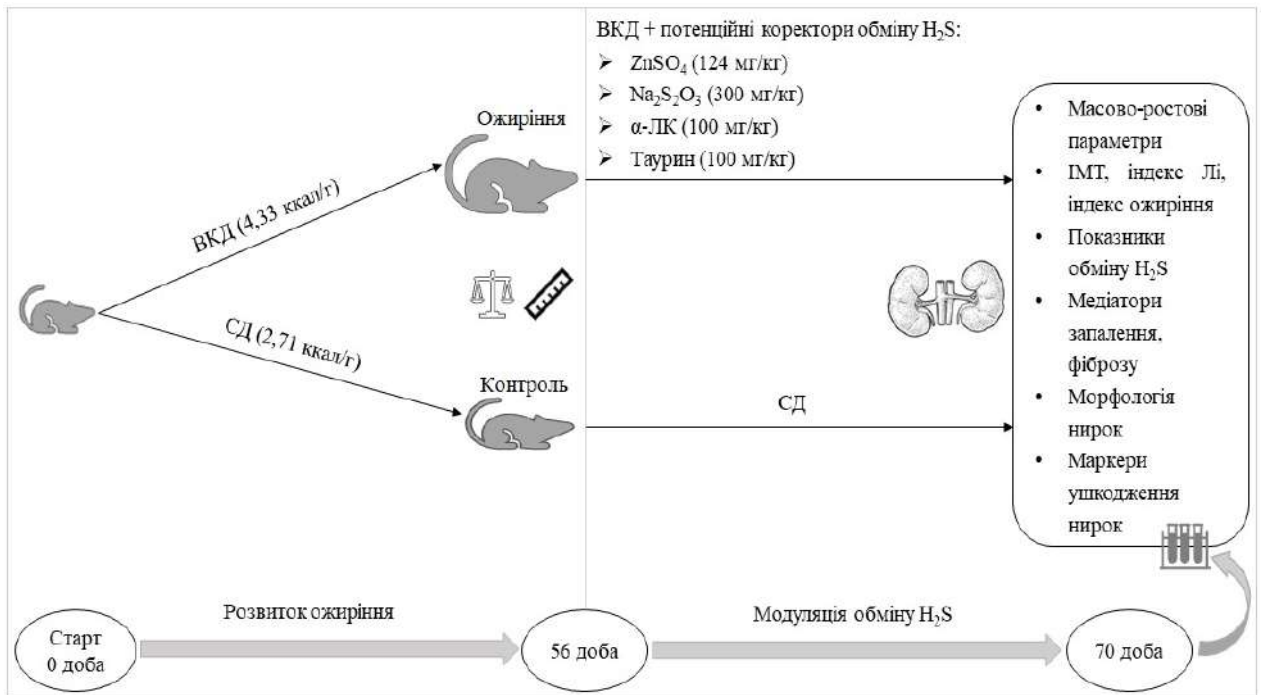


Рис. 2.1 Дизайн дослідження: моделювання дієт-індукованого ожиріння та введення коректорів. Примітки: СД – стандартна дієта; ВКД – висококалорійна дієта; α -ЛК – α -ліпоєва кислота; ІМТ – індекс маси тіла.

2.2 Методи оцінки соматометричних показників ожиріння у щурів

Відтворення моделі ожиріння контролювали за допомогою вимірювання маси тіла, назально-анальної довжини тіла та оцінки соматометричних індексів. Зважування тварин та вимірювання довжини тіла здійснювали в стандартних умовах 1 раз на тиждень і оцінювали їх динаміку у відсотках. Збільшення маси тіла більше 20 % відносно нормативного показника вказує на наявність ожиріння у піддослідних тварин [276]. У щурів з моделлю ожиріння приріст маси тіла до 25 % вважається помірним, 26-40 % – середньої вираженості, > 40 % – важкого ступеня [20; 278].

Соматометричні індекси для контролю розвитку ожиріння обчислювали за відомими формулами для тварин (табл. 2.2). *Середньодобовий приріст маси тіла (СДПМТ)* визначали як відношення різниці між масою тіла в кінці облікового періоду (г) та масою тіла на початку облікового (г) періоду до кількості днів облікового періоду [24]. *Відносний приріст маси*

тіла (ВПМТ) обчислювали як відсоткове відношення різниці між масою тіла в кінці облікового періоду (г) та масою тіла на початку облікового періоду (г) до маси тіла на початку облікового періоду (г) [24]. *Індекс маси тіла (ІМТ)* визначали як відношення маси тіла (г) до квадрату довжини тіла (см²) [220]. Після досягнення щурами 3-х місячного віку ІМТ майже не змінюється і може застосовуватись для оцінки розвитку ожиріння [220]. *Індекс Лі* обчислювали як відношення кореня кубічного маси тіла (г) до довжини тіла (см) [173]. Критерієм досягнення стану ожиріння у щурів вважається індекс Лі $\geq 0,310$ [20; 278]. *Індекс ожиріння (ІО)* визначали після виведення тварин з досліду. Одразу після евтаназії тварин вилучали мезентеріальний, ретроперитонеальний та епідидимальний жир, підсушували фільтрувальним папером, зважували на аналітичних вагах. ІО обчислювали як відсоткове відношення сумарної маси вісцерального жиру (г) до маси тіла (г) [32].

Таблиця 2.2

Індекси для верифікації дієт-індукованого ожиріння у щурів

Індекс	Формула для обчислення
СДПМТ (г/доба)	$\text{СДПМТ} = \frac{m_t - m_0}{n}$, де m_t – маса тіла в кінці облікового періоду (г), m_0 – маса тіла на початку облікового періоду (г), n – кількості діб облікового періоду
ВПМТ (%)	$\text{ВПМТ} = \frac{m_t - m_0}{m_0} * 100 \%$, де m_t – маса тіла в кінці облікового періоду (г), m_0 – маса тіла на початку облікового періоду (г)
ІМТ (г/см ²)	$\text{ІМТ} = \frac{m}{l^2}$, де m – маса тіла (г), l – довжина тіла (см)
Індекс Лі	$\text{Індекс Лі} = \frac{\sqrt[3]{m}}{l}$, де m – маса тіла (г), l – довжина тіла (см)
ІО (%)	$\text{ІО} = \frac{m_v + m_p + m_e}{m_t} * 100 \%$, де m_t – маса тіла (г), m_v – маса вісцерального жиру (г), m_p – маса ретроперитонеального жиру (г), m_e – маса епідидимального жиру (г)

2.3 Отримання біологічного матеріалу

Біохімічні дослідження виконані на базі кафедри біологічної та загальної хімії та науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво про атестацію №04915) за безпосередньої участі автора. Усі засоби вимірювальної техніки, які використовувались у дослідженні, підлягали метрологічному контролю.

Отримання проб сироватки крові. Одразу після евтаназії збирали венозну кров через скляну воронку у стерильні пластикові пробірки Vacuette (Greiner Bio-One, Австрія). Сироватку крові отримували центрифугуванням цільної крові при 1500 g 15 хв при 18-22 °С. Аліквоти сироватки відбирали в мікропробірки типу Eppendorf і зберігали при -20 °С до проведення дослідження.

Отримання проб сечі. За 1 добу до закінчення дослідження тваринам проводили «водне навантаження» шляхом в/шл введення питної води із розрахунку 1 мл на 100 г маси тіла, розміщували в спеціальних обмінних клітках і збирали сечу за 8 годин. Сечу ретельно перемішували, центрифугували при 1500 g 15 хв, аліквоти відбирали в мікропробірки типу Eppendorf і зберігали при -20 °С до проведення дослідження.

Отримання постядерного супернатанту нирок. Після евтаназії у тварин швидко вилучали нирки, промивали охолодженим розчином 1,15 % KCl, одразу відбирали наважку тканини 500 мг для визначення вмісту H₂S, решту тканини подрібнювали ножицями, гомогенізували упродовж 2 хв в охолодженому середовищі 1,15 % KCl у співвідношенні маса/об'єм – 1:4 при 3000 об/хв (тефлон-скло). Центрифугували 30 хв при 600 g при температурі 4 °С, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в пластикові мікропробірки типу Eppendorf і до проведення біохімічних досліджень зберігали при -20 °С.

Для ПЛР-досліджень нирки поміщали у стерильні герметичні пластикові контейнери і до проведення досліджень зберігали при -70 °С.

2.4 Біохімічні методи дослідження показників обміну гідроген сульфїду

Вміст H_2S в нирках визначали ex tempore! за методом Wiliński [292]. Наважку тканини 500 мг, подрїбнювали ножицями, гомогенїзували в середовищі 0,01 М NaOH у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло). До 1 мл гомогенату додавали 250 мкл 50 % ТХО, центрифугували при 1200 g 15 хв, в супернатанті визначали вміст H_2S спектрофотометричним методом за реакцією з N,N-диметил-пара-фенїлендіамїном в присутності $FeCl_3$. До 750 мкл супернатанту додавали 150 мкл 20 мМ розчину N,N-диметил-пара-фенїлендіамїну сульфату в 7,2 М HCl, 150 мкл 30 мМ розчину $FeCl_3$ в 1,2 М HCl, інкубували 20 хв при 20-22°C. Фотометрували при 670 нм (Arel PD-303, Saitama, Japan). Вміст S^{2-} в пробї розраховували за калїбрувальним графіком. Стандартом слугували водні розчини $Na_2S \cdot 9H_2O$ (31,2-3120 мкМ). Концентрацію H_2S в пробах обчислювали за формулою: $C = \Delta E / (k \cdot a)$, де C – концентрація H_2S нмоль/мг протеїну; ΔE – різниця екстинцій дослідної та холостої проби; k – калїбрувальний коефіцієнт; a – кількість протеїну в пробї, мг.

Дослідження активності H_2S -синтезуючих ензимів. Активність цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1), цистатіонін- β -синтази (ЦБС, КФ 4.2.1.22), цистеїнамїнотрансферази (ЦАТ, КФ 2.6.1.3) разом з 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (3-МСТ, КФ 2.8.1.2) в реакціях десульфуровання L-цистеїну з утворенням H_2S визначали у постядерних гомогенатах нирок за методом Stipanuk M., Beck P. [271] у модифікації [17].

Активність ЦГЛ визначали у середовищі 1, що містило в кінцевих концентраціях піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, Тріс-HCl буфер 0,083 М (рН 8,5). *Активність ЦБС* визначали у середовищі 2, що містило піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, Тріс-HCl буфер 0,083 М (рН 8,5) та 3,3 мМ D,L-гомоцистеїну. *Активність ЦАТ/3-МСТ* визначали у середовищі 3, що містило піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, Тріс-HCl буфер 0,083 М (рН 8,5) та 0,825 мМ α -кетоглутарату. Реакцію

ініціювали додаванням 100 мкл постядерного супернатанту нирок до 500 мкл інкубаційного середовища. Проби інкубували 30 хв при 37 °С у пластикових пробірках, герметизованих плівкою Parafilm (для попередження втрат H_2S). Реакцію зупиняли охолодженням пробірок на льоду, додавали 500 мкл 1 % розчину цинк ацетату для зв'язування утвореного H_2S .

Активність синтезу H_2S з тіосульфат-аніону (ТСТ) досліджували в середовищі, що містило тіосульфат натрію 0,2 мМ, дітіотреїтол 2,3 мМ, Тріс- HCl буфер 0,09 М (рН 8,5) [21]. Реакцію ініціювали додаванням 50 мкл постядерного супернатанту нирок до 500 мкл інкубаційного середовища. Проби інкубували 10 хв при 37 °С у стерильних герметизованих пластикових пробірках (для попередження втрат H_2S). Реакцію зупиняли охолодженням пробірок на льоду, додавали 0,5 мл 1 % розчину цинк ацетату для зв'язування утвореного H_2S .

Концентрацію H_2S у пробах визначали за реакцією з N,N -диметил-пара-фенілендіаміном в присутності FeCl_3 [84]. В проби додавали 500 мкл 20 мМ розчину N,N -диметил-пара-фенілендіаміну в 7,2 М HCl , 400 мкл 30 мМ розчину FeCl_3 в 1,2 М HCl , інкубували 20 хв при 18-22 °С, додавали 1 мл 20 % трихлороцтової кислоти, центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Оптичну щільність надосадової рідини вимірювали при довжині хвилі 670 нм (спектрофотометр Appl PD-303, Saitama, Japan). Вміст S^{2-} розраховували за калібрувальним графіком. Стандартом слугували водні розчини $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ з концентрацією 31,2-3120 мкМ. Активність ензимів в реакціях синтезу H_2S обчислювали за формулою: $A = (E_D - E_K)/(k \cdot t \cdot c)$, де A – активність ензиму у нмоль $\text{H}_2\text{S}/\text{хв}\cdot\text{мг}$ протеїну; E_D – екстинція дослідної проби; E_K – екстинція контрольної проби; k – калібрувальний коефіцієнт; t – час інкубації, хв; c – кількість протеїну в пробі, мг.

Активність ензимів шляхів депонування та утилізації H_2S . Активність тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9) визначали за швидкістю NADPH -залежного відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату) [138]. Інкубаційне середовище містило 0,25 М Тріс (рН 7,4), 1 мМ ЕДТА, 1 мМ DTNB, 0,25 мМ

NADPH. Реакцію ініціювали додаванням 50 мкл постядерного гомогенату нирок, реєстрували підвищення абсорбції через 15 хв при 25 °С та довжині хвилі 412 нм. Активність тіоредоксинредуктази розраховували за наступною формулою: $A = (E_2 - E_1)/(k \cdot t \cdot c)$, де A – активність ензиму у нмоль DTNB/хв·мг протеїну; DTNB – 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоат); E_2 – екстинція проби в кінці інкубації; E_1 – екстинція проби до інкубації; k – калібрувальний коефіцієнт; t – час інкубації, хв; c – кількість протеїну в пробі, мг.

Активність сульфітоксидази (КФ 1.8.3.1) визначали за швидкістю відновлення калій гексоціаноферату (III) в присутності сульфїт-аніону за методом Cohen H. [70]. В кювету вносили 2,5 мл інкубаційного середовища, що містило 0,4 мМ Na₂SO₃, 0,4 мМ K₃[Fe(CN)₆], 0,1 мМ ЕДТА, Тріс-НСІ буфер 0,10 М (рН 8,5). Реакцію ініціювали додаванням 50 мкл постядерного гомогенату нирок. Швидкість відновлення гексоціаноферрату реєстрували за зниженням абсорбції упродовж 5 хв при температурі 25 °С при довжині хвилі 420 нм (коефіцієнт молярної екстинції $1,02 \cdot 10^{-3}$). Активність сульфітоксидази розраховували за формулою: $A = (E_2 - E_1)/(\varepsilon \cdot t \cdot c)$, де A – активність ензиму у нмоль K₃[Fe(CN)₆]/хв·мг протеїну; E_1 – початкова екстинція проби; E_2 – кінцева екстинція проби; ε – молярний коефіцієнт екстинції; t – час інкубації, хв; c – кількість протеїну в пробі, мг.

Вміст протеїну у пробах визначали відомим методом Lowry [192].

Кваліфікація реактивів: L-цистеїн, Na₂S·9H₂O, дітіотреїтол, реактив Елмана (DTNB), NADPH (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA); α -кетоглутарат, піридоксальфосфат, N,N-диметил-пара-фенілендіамін сульфат (Fluka, Німеччина). Інші реактиви були вітчизняного виробництва категорії х.ч.

2.5 Методи лабораторної оцінки функціонального стану нирок

Для оцінки стану клубочкового апарату нирок визначали рівень креатиніну (в сироватці крові та сечі) та рівень цистатину С (в сироватці крові), розраховували кліренс креатиніну та відносну реабсорбцію води.

Рівень креатиніну визначали спектрофотометричним методом, заснованим на кольоровій реакції Яффе (з пікриною кислотою) за стандартним набором відповідно до інструкції виробника (Філісіт-Діагностика, Україна).

Кліренс креатиніну розраховували за формулою:

$$\text{Кліренс креатиніну (мкл/хв)} = \frac{\text{Креатинін сечі (мкмоль/л)} \cdot \text{Діурез (мкл/хв)}}{\text{Креатинін сироватки (мкмоль/л)}}$$

Відносну реабсорбцію води (%) розраховували за формулою:

$$\text{Реабсорбція (\%)} = \frac{\text{Кліренс креатиніну (мкл/хв)} - \text{Діурез (мкл/хв)}}{\text{Кліренс креатиніну (мкл/хв)}} \cdot 100 \%$$

Рівень цистатину С визначали методом ELISA за набором Rat Cystatin C ELISA Kit (RayBiotech, USA) відповідно до інструкції виробника. Концентрації стандартних розчинів для побудови калібрувальної кривої – 0,0; 1,03; 3,09; 9,3; 27,8; 83,3; 250 нг/мл. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до цистатину С, додавали по 100 мкл стандартних розчинів, 100 мкл проб сироватки крові, закривали лунки адгезивною плівкою, інкубували 150 хв при 22 °С. Ретельно відмивали лунки і вносили по 100 мкл біотинільованих антитіл, перемішували, закривали лунки адгезивною плівкою, інкубували 60 хв при 22 °С. Відмивали лунки від незв'язаних реагентів, вносили 100 мкл ензимного кон'югату, перемішували, закривали лунки адгезивною плівкою. Інкубували 45 хв при 22 °С. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них 100 мкл хромогенного субстрату. Перемішували, інкубували 30 хв, реакцію зупиняли 50 мкл стоп-розчину. Чутливість методу – 1,2 нг/мл, коефіцієнт варіації < 10 %. Вимірювання оптичної щільності проводили на аналізаторі Stat Fax 303/Plus (США) при довжині хвилі 450 нм (диференційний фільтр – 630 нм).

Для оцінки змін каналцевого апарату нирок визначали рівень ензимурії γ -глутамілтрансферази (ГГТ, КФ 2.3.2.2). *Активність ГГТ* визначали за швидкістю вивільнення 4-нітроаніліну з γ -глутамілнітроанілідом уніфікованим методом за стандартним набором (Філісіт-Діагностика, Україна) відповідно до інструкції виробника.

Рівень медіаторів запалення та фіброгенезу визначали в постядерному супернатанті нирок методом ELISA. *Рівень фактору некрозу пухлин альфа (TNF α)* визначали за набором Rat TNF α Immunoassay (ELISA Quantikine, USA) відповідно до інструкції виробника. Концентрації стандартних розчинів TNF α – 0; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400; 800 пг/мл. Чутливість методу ≤ 50 пг/мл, коефіцієнт варіації ≤ 10 %. В лунки планшетів додавали по 50 мкл буферного розчину, 50 мкл стандартних розчинів, контрольних та дослідних проб, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 120 хв при 22 °С. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили 100 мкл ензимного кон'югату, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 120 хв при 22 °С. Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 100 мкл ТМВ-субстрату, інкубували 30 хв у темряві, додавали 100 мкл стоп-розчину для зупинки реакції. Детекцію проводили при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на фотооптичному аналізаторі Stat Fax 303/Plus (США).

Рівень інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) визначали за набором m/r IGF-1-ELISA (Mediagnost, Німеччина) відповідно до інструкції виробника. Концентрації стандартних розчинів IGF-1 – 0; 0,5; 2,5; 6; 12; 18 пг/мл. Чутливість методу $\leq 0,29$ пг/мл IGF-1, коефіцієнт варіації ≤ 10 %. В лунки планшетів з антитілами до IGF-1 додавали по 50 мкл кон'югату біотинильованих антитіл, 50 мкл стандартних розчинів, дослідних проб, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 60 хв при 22 °С. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів і вносили по 100 мкл стрептавідин-пероксидази, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 30 хв при 22°С. Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 100 мкл ТМВ-субстрату, інкубували 30 хв при 22 °С у темряві, додавали 100 мкл стоп-розчину для зупинки реакції. Детекцію проводили при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на фотооптичному аналізаторі Stat Fax 303/Plus (США).

2.6 Дослідження рівня експресії генів ензимів транссульфування

Молекулярно-генетичні дослідження виконані в навчально-науковій клініко-діагностичній лабораторії ПЛР ВНМУ ім. М.І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про атестацію №051/15) за консультативною допомогою завідувачки лабораторії Г.П. Людкевич.

Рівень експресії генів *CSE*, *CBS* в нирках щурів визначали методом кількісної полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу (qRT-PCR). Принцип методу дослідження рівня експресії генів ензимів транссульфування (*CSE*, *CBS*) щурів запозичено з роботи [127]. Загальну РНК виділяли з тканин за допомогою комплекту реагентів Quick-RNA MicroPrep Kit (Zymo Research, США). Для отримання кДНК використовували набір реагентів для проведення реакції оберненої транскрипції ProtoScript M-MuLV First Strand cDNA Synthesis Kit (New England BioLabs, США). Реакційна суміш включала 2 мкл праймермікс (60 мкМ оліго(dT)₂₃), 2 мкл (50 од/мкл) оберненої транскриптази M-MuLV-Reaction Mix, 8 мкл деіонізуючої води, вільної від РНКаз. До 10 мкл суміші додавали 2 мкг загальної РНК. Експресію генів *CSE*, *CBS* визначали в присутності барвника SYBR Green I за допомогою детектувального ампліфікатора CFX 96 (Bio Rad, USA). Реакційна суміш містила 10x буфер для ампліфікації з барвником SYBR Green I; 25 мМ MgCl₂; 2,5 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів; специфічні праймери цільового гену відповідного ензиму транссульфування:

CSE: F (прямий) 5'-GCTGAGAGCCTGGGAGGATA-3',

R (зворотний) 5'-TCACTGATCCCGAGGGTAGCT-3';

CBS: F (прямий):5'-CTCCGGGAGAAGGGTTTTGA-3',

R (зворотний) 5'-CATGTTCCCGAGAGTCACCAT-3';

праймери референтного гену β-актину:

F (прямий): 5'-ACCCGCGAGTACAACCTTCTT-3',

R (зворотний)5'-TATCGTCATCCATGGCGAACT-3';

та 5 Од/мкл SynTaq ДНК-полімерази. До суміші додавали 5 мкл зразка кДНК.

Режим ампліфікації: 94 °С, 3 хв (преденатурація); 40 циклів: 94 °С – 15 с (денатурація); 64 °С – 40 с (відпал праймерів); 72 °С – 30 с (елонгація). Для контролю специфічності реакції димеризації праймерів в кінці кожного циклу ампліфікації реєстрували флуоресценцію неспецифічного інтеркалюючого барвника SYBR-Green з побудовою кривої плавлення. Для перевірки відтворюваності результатів qRT-PCR аналіз повторювали тричі з кожним дослідним зразком. Для аналізу даних застосовували відносний Ct метод з розрахунком за формулою $2^{-\Delta Ct}$ відносного рівня мРНК «Цільовий ген» / β -актин (у.о.) [243].

2.7 Методи морфологічних досліджень

Морфологічні дослідження виконані у Вінницькому обласному патолого-анатомічному бюро (ліцензія МОЗ України АЕ №638623 від 23.04.2015, №240).

Нирки у тварин вилучали одразу після евтаназії, підсушували фільтрувальним папером, зважували на аналітичних вагах, відносну масу нирок обчислювали за формулою: $VMH = \frac{m_n}{m_t} \cdot 100 \%$, де VMH – відносна маса нирок (%), m_n – маса нирок (г), m_t – маса тіла (г) [325].

Для мікроскопічного дослідження забирали шматочки нирок, фіксували їх в 10 % розчині формаліну, при цьому тривалість експозиції не перевищувала 1-2 доби. Застосований фіксуючий розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини і тканини для їх подальшої обробки та використання в процедурах забарвлення. Далі проводили дегідратацію шматочків в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. За допомогою санного мікротома Мікромед МС-2М готували напівтонкі зрізи (4-5-мкм), які забарвлювали гематоксилином і еозином. Гістологічні препарати аналізували на світлооптичному рівні із використанням світлового мікроскопу Olympus VX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія) при збільшеннях мікроскопу $\times 400$ (ок.

10, об. 40). Мікрофотографії виготовляли за допомогою фотокамери Olympus C-5050 Zoom (Olympus Europe GmbH, Японія).

2.8 Методи статистичної обробки цифрового матеріалу

Обробку первинного матеріалу проводили за допомогою універсальних програм MS Excel, IBM Statistics SPSS 26 for Windows. Розраховували середнє значення (M), стандартне відхилення (σ) та похибку середнього (m). Для оцінки міжгрупової різниці застосовували параметричний t -критерій Ст'юдента, при відхиленні від нормального розподілу – непараметричний критерій U Мана-Уїтні або критерій Краскела-Уолліса (з поправкою Бонферроні). Нормальність розподілу визначали за критерієм Шапіро-Уїлка (W). Зв'язок між показниками визначали за допомогою кореляційного аналізу за Спірманом. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$. Результати наведено як $M \pm \sigma$.

Резюме. Використані моделі та методи дослідження дозволяють об'єктивно та комплексно вивчити зміни показників обміну H_2S та асоційованих процесів в нирках щурів за аліментарного ожиріння, викликаного висококалорійною високожировою дієтою, встановити вплив метаболічних коректорів на обмін H_2S та визначити найбільш перспективний засіб для корекції H_2S -залежних порушень морфофункціонального стану нирок за ожиріння.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [13; 14].

РОЗДІЛ 3

ЗМІНИ СОМАТОМЕТРИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ТА НИРКОВОГО РІВНЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ У ЩУРІВ ЗА ДІЇ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ДІЄТИ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ КОРЕКТОРІВ

Довготривале застосування висококалорійної високожирової дієти (ВКД) дозволяє викликати експериментальне ожиріння у щурів, що механізмом розвитку та змінами метаболізму найбільш наближене до аліментарного ожиріння у людини. Як зазначалось у розділі 2, для створення моделі дієт-індукованого ожиріння (ДІО) був застосований модифікований варіант ВКД (з енергетичною цінністю 4,33 ккал/г та часткою жирів за калоражем 39,5 %), контрольні щурі отримували увесь термін дослідження стандартну дієту (з енергетичною цінністю 2,71 ккал/г, часткою жирів – 10,8 %), відповідно.

Завданням даного розділу було дослідити зміни соматометричних параметрів (маси тіла, ІМТ, індексу Лі, ІО) у щурів за ВКД та за введення потенційних модуляторів обміну H_2S – цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоевої кислоти; оцінити зв'язок соматометричних параметрів з рівнем H_2S у нирках. Експеримент складався із двох етапів: перший етап – «розвиток ДІО» тривав 8 тижнів і включав ретельний контроль змін масо-ростових параметрів дослідних щурів (для фінального аналізу результатів було відібрано 50 особин) у порівнянні з контрольною групою (10 особин).

На другому етапі тварини, у яких були наявні соматометричні критерії ДІО (індекс Лі вище 0,310), випадковим чином були розподілені на 5 груп, по 10 особин у кожній: група ДІО (без корекції), група ДІО+ $ZnSO_4$, що отримувала цинк сульфат (124 мг/кг); група ДІО+ $Na_2S_2O_3$, що отримувала натрій тіосульфат (300 мг/кг); група ДІО+ЛК, що отримувала α -ліпоеву кислоту (100 мг/кг); група ДІО+таурин, що отримувала таурин (100 мг/кг). Усі метаболічні коректори (можливі модулятори обміну H_2S , які є кофакторами чи біологічно-активними метаболітами сірковмісних амінокислот) вводили в/шл

упродовж наступних 2-х тижнів на тлі ВКД. Таким чином, загальна тривалість експерименту становила 10 тижнів.

3.1 Зміни соматометричних параметрів у щурів за умов висококалорійної високожирової дієти

Аналіз соматометричних показників упродовж 8-ми тижнів експерименту виявив суттєві розбіжності параметрів тіла в групах щурів залежно від режиму харчування. Так, якщо на старті експерименту контрольна і дослідна група не відрізнялись за масою тіла, то наприкінці 8-го тижня виявлялись статистично значущі відмінності (рис. 3.1). Так, у групі контролю початкова маса коливалась від 155 до 190 г (95 % ДІ), через 8 тижнів – від 216 до 276 г (95 % ДІ). В той час, як в групі «модель ДІО» маса тіла коливалась від 150 до 190 г (95 % ДІ) на початку та від 287 до 391 г (95 % ДІ) у фіналі експерименту.

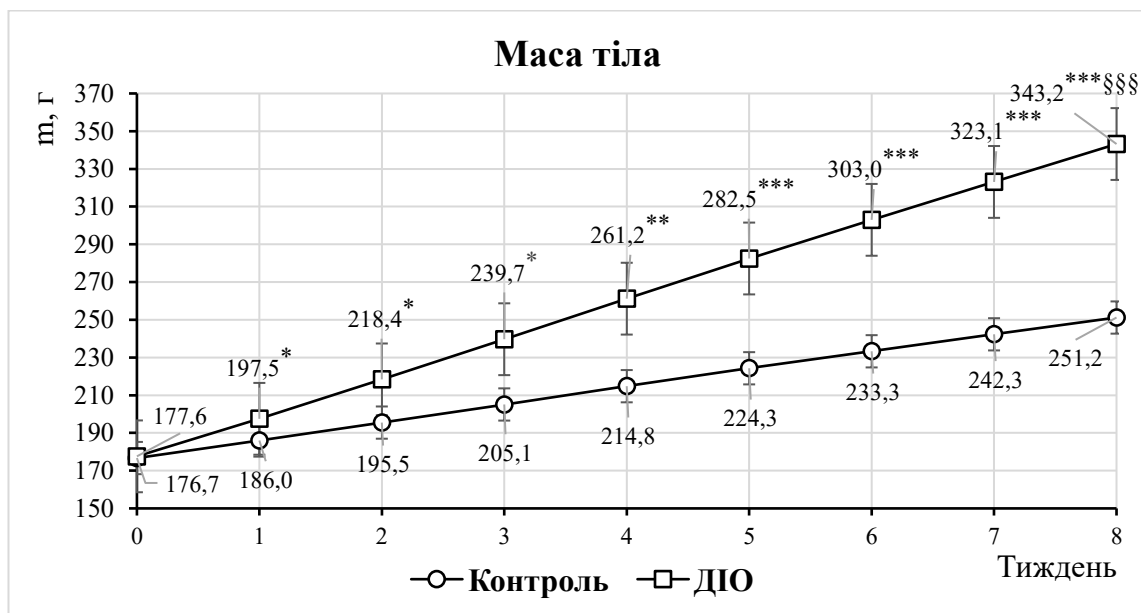


Рис. 3.1 Зміни маси тіла щурів за умов стандартної дієти та висококалорійної високожирової дієти (модель ДІО), термін спостереження 8 тижнів ($M \pm \sigma$). Примітки: 1. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. §§§ $p < 0,001$ – між початковою (0 доба) та фінальною масою тіла (56 доба) в групі «модель ДІО».

Застосування ВКД упродовж 8-ми тижнів експерименту поступово викликало надлишкове збільшення маси тіла у дослідних щурів: зокрема, на 2-ому тижні досліду маса тіла у щурів групи «модель ДІО» була вищою на 11,7%, на 4-ому тижні – на 21,6 %, а на 8-ому тижні – на 36,6 % ($p<0,001$), ніж відповідні показники в групі контролю. За 8 тижнів перебування на ВКД у щурів в групі «модель ДІО» фінальна маса тіла зросла на 93,2 % ($p<0,001$), у той час як в контролі – на 42,1 % ($p<0,001$) відносно відповідної стартової маси в кожній групі.

Оцінка щотижневої динаміки маси тіла засвідчила більш високі показники відносного приросту маси у дослідних щурів під впливом ВКД (рис. 3.2). Так, станом на 8-й тиждень у групі контролю відносний приріст маси тіла становив 37,79 - 51,60 % (95 % ДІ) . У групі «модель ДІО» відносний приріст маси тіла склав 83,74 - 117,71 % (95 % ДІ), що за середніми величинами було вищим на 121,8 % ($p<0,001$), ніж у групі контролю. Зауважимо, що відносний приріст маси тіла у тварин і контрольної, і дослідної групи виявляв тенденцію до сповільнення починаючи з 4-го тижня досліду.

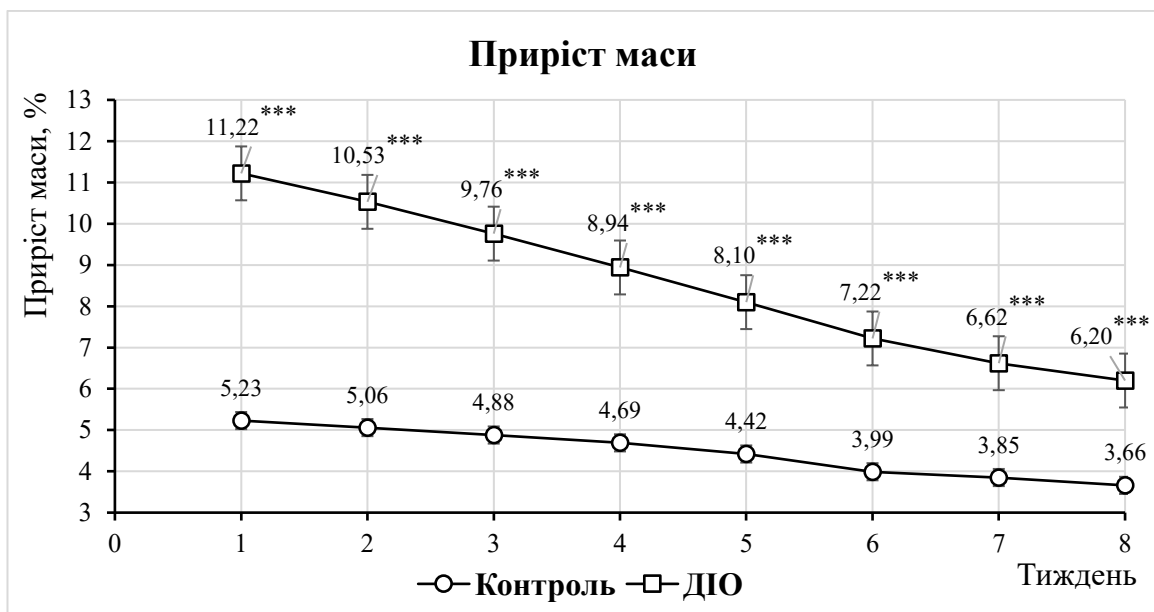


Рис. 3.2 Відносний приріст маси тіла щурів за умов стандартної дієти та висококалорійної високожирової дієти (модель ДІО), термін спостереження 8 тижнів ($M\pm\sigma$). Примітки: *** $p<0,001$ – відносно групи контролю.

За умов застосування ВКД у дослідних щурів суттєво зростав середньодобовий приріст маси тіла (рис. 3.3). Так, в групі контролю реєструвався фізіологічний середньодобовий приріст маси тіла – від 1,09 до 1,64 г/добу (95 % ДІ), а в групі «модель ДІО» коливався від 2,41 до 3,68 г/добу (95 % ДІ). Таким чином, в групі «модель ДІО» середньодобовий приріст маси (станом на 8 тиждень) був на 122,5 % ($p < 0,001$) вищим, ніж в групі контролю, і ця відмінність зберігалась упродовж всього терміну дослідження.

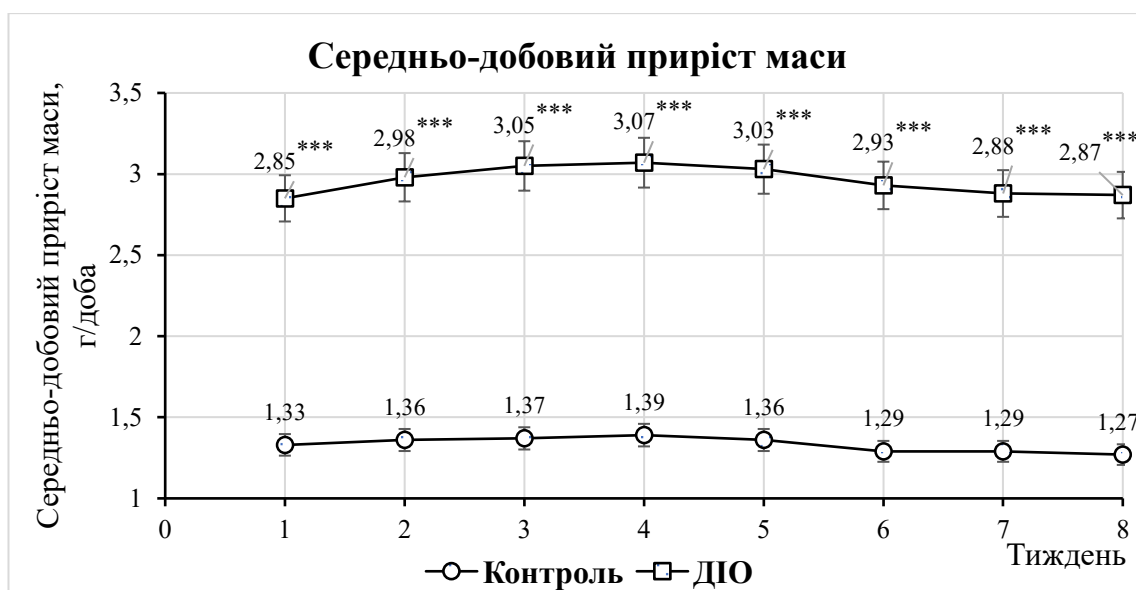


Рис. 3.3 Середньодобовий приріст маси тіла щурів за умов стандартної дієти та висококалорійної високожирової дієти (модель ДІО), термін спостереження 8 тижнів ($M \pm \sigma$). Примітки: *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю.

Для більш об'єктивної оцінки змін масо-ростових параметрів контрольних і дослідних щурів, були проаналізовані зміни індексу маси тіла (ІМТ) у динаміці. Встановлено, що застосування ВКД упродовж 8 тижнів викликало у щурів поступове зростання ІМТ (рис. 3.4). ІМТ у групі контролю на початку експерименту становив 0,408 - 0,591 г/см² (95 % ДІ), у фіналі – 0,487 - 0,589 г/см² (95 % ДІ), а у групі «модель ДІО» – 0,466 - 0,586 г/см² (95 % ДІ) та 0,741 - 0,839 г/см² (95 % ДІ), відповідно на початку та у фіналі дослідження. Отже, у фіналі 8-тижневого експерименту ІМТ в групі «модель ДІО» був вищим на 40,9 % ($p < 0,001$) порівняно з групою контролю. Також, у щурів в групі «модель ДІО» фінальний ІМТ був вищим на 56,6 % ($p < 0,001$) за

початковий показник, у той час як в контролі – фінальний ІМТ практично залишався сталим, що є характерним для дорослих статевозрілих тварин.

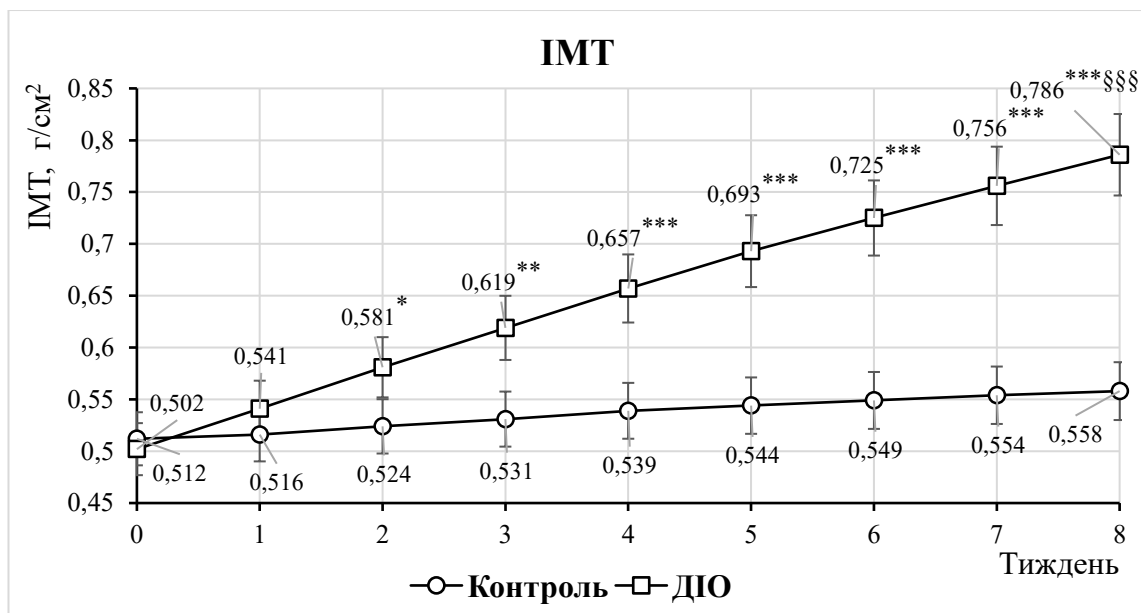


Рис. 3.4 Зміни ІМТ щурів за умов стандартної дієти та висококалорійної високожирової дієти (модель ДІО), термін спостереження 8 тижнів ($M \pm \sigma$).

Примітки: 1. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю;

2. §§§ $p < 0,001$ – між початковим (0 доба) та фінальним ІМТ (56 доба) в групі «модель ДІО».

Застосування ВКД викликало поступове збільшення індексу Лі упродовж 8-ми тижневого терміну спостереження, що свідчить про зміну пропорцій тіла тварин за рахунок накопичення підшкірного жиру (рис. 3.5). Так, в групі контролю на старті експерименту індекс Лі коливався від 0,273 до 0,298 (95 % ДІ), а наприкінці 8-го тижня – від 0,282 до 0,304 (95 % ДІ). В групі «модель ДІО» початковий індекс Лі коливався від 0,280 до 0,301 (95 % ДІ), а у фіналі – від 0,322 до 0,342 (95 % ДІ). Станом на 56 добу індекс Лі в дослідній групі «модель ДІО» був вищим на 12,8 % ($p < 0,001$), ніж у групі контролю. Зауважимо, що у всіх дослідних щурів індекс Лі досягав або перевищував показник 0,310, що свідчить про досягнення стану ожиріння. У щурів контрольної групи таких значень індексу Лі не виявлялось.

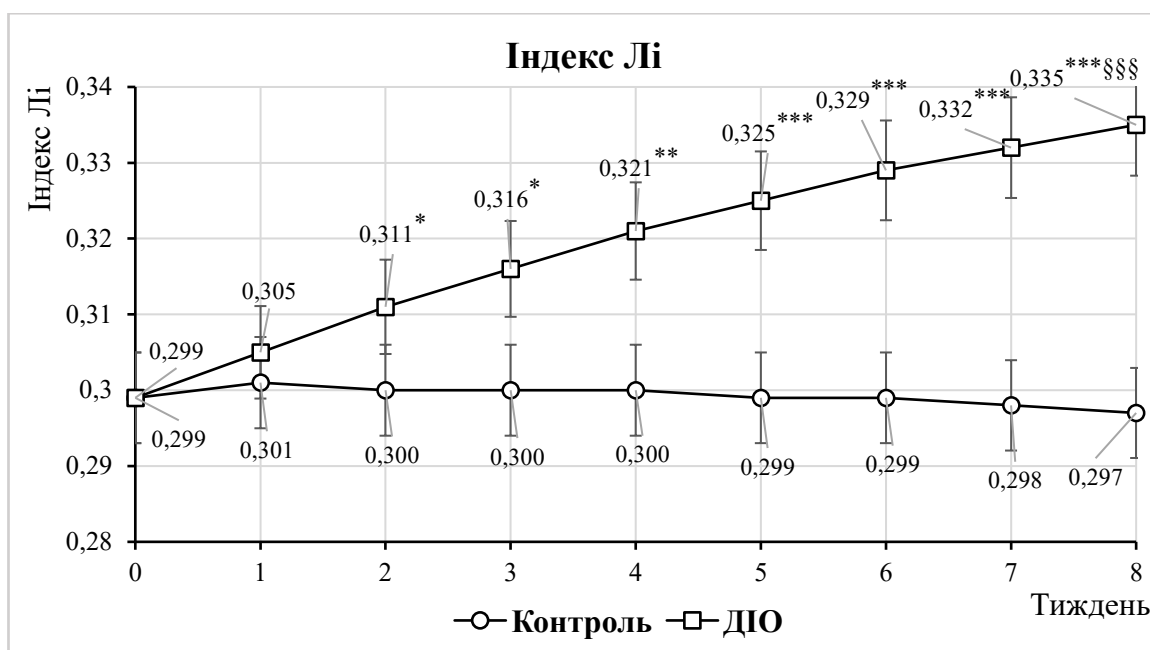


Рис. 3.5 Зміни індексу Лі щурів за умов стандартної дієти та висококалорійної високожирової дієти (модель ДІО), термін спостереження 8 тижнів ($M \pm \sigma$). Примітки: 1 * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. §§§ $p < 0,001$ – між початковим (0 доба) та фінальним індексом Лі (56 доба) в групі «модель ДІО».

Таким чином, зміни соматометричних параметрів, індуковані застосуванням модифікованого варіанту ВКД, засвідчили достовірне відтворення стану ожиріння у дослідних щурів.

3.2 Вплив метаболічних коректорів (цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти) на соматометричні параметри у щурів дієт-індукованим ожирінням

На наступному етапі було оцінено вплив метаболічних коректорів на соматометричні параметри у щурів з відтвореним ДІО, які продовжували перебувати на ВКД. Зауважимо, що усі групи, на які були розподілені дослідні щури з ДІО, були репрезентативними за масо-ростовими параметрами (як вихідними, так і за станом на 56 добу). Метаболічні коректори вводили з 57-ої по 70-у добу досліду 4 групам щурів з ДІО і одна група коректорів не

отримувала. Встановлено, що станом на 56-у добу у щурів з ДІО (без корекції) маса тіла була вищою на 33,9 % ($p < 0,01$) порівняно з контролем (табл. 3.1). На 70 добу у щурів з ДІО реєструвалось ще більш значуще підвищення маси тіла (на 42,1 %, $p < 0,01$) порівняно з групою контролю. Аналіз фінальних значень абсолютної маси тіла дослідних щурів різних груп не виявив суттєвих відмінностей. У той же час, аналіз показників відносного приросту маси тіла засвідчив наступні особливості. У щурів з ДІО відносний приріст маси тіла з 56-ої по 70-у добу в 2,05 рази перевищував такий, ніж у контрольних щурів ($13,7 \pm 2,34$ проти $6,69 \pm 0,26$ %, $p < 0,001$). Введення усіх потенційних коректорів обміну H_2S на тлі ВКД не посилювало ліпогенний ефект ВКД і, навіть, викликало тенденцію до сповільнення подальшого накопичення жиру. Так, відносний приріст маси тіла в групах ДІО+ $ZnSO_4$ та ДІО+ЛК був нижчим на 46,7 % та 54,2 % ($p < 0,05$), а в групах ДІО+ $Na_2S_2O_3$ та ДІО+таурин – на 20,4 % та 21,2 % ($p < 0,05$), відповідно, ніж в групі ДІО (без корекції).

Таблиця 3.1

Зміни маси тіла у щурів з дієт-індукованим ожирінням при введенні потенційних коректорів обміну H_2S ($M \pm \sigma$, $n=10$)

Групи щурів		Маса тіла, г			Приріст маси тіла, % (56-70 доба)
		0 доба	56 доба	70 доба	
1	Контроль	$176,7 \pm 13,6$	$251,2 \pm 25,7$	$268,8 \pm 27,4$	$6,69 \pm 0,26$
2	ДІО	$175,6 \pm 16,1$	$336,4 \pm 33,4^*$	$382,1 \pm 35,4^*$	$13,7 \pm 2,34^{**}$
3	ДІО+ $ZnSO_4$	$178,8 \pm 13,9$	$344,5 \pm 37,1^*$	$369,4 \pm 37,8^*$	$7,30 \pm 1,98^\#$
4	ДІО+ $Na_2S_2O_3$	$178,3 \pm 9,17$	$347,9 \pm 35,1^*$	$385,7 \pm 37,4^*$	$10,9 \pm 1,27^{*\#}$
5	ДІО+ЛК	$177,7 \pm 14,1$	$342,6 \pm 34,31^*$	$364,4 \pm 40,1^*$	$6,28 \pm 2,75^\#$
6	ДІО+таурин	$177,4 \pm 14,2$	$344,5 \pm 36,1^*$	$381,9 \pm 40,2^*$	$10,8 \pm 0,70^{*\#}$

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 ($^\#p < 0,05$).

Аналіз середньо-добового приросту маси тіла щурів (рис. 3.6) показав, що упродовж останніх 2-х тижнів експерименту в групі контролю залишався

фізіологічний середньо-добовий приріст маси тіла – від 1,00 до 1,36 г/добу (95 % ДІ). В групі ДІО (без корекції) середньо-добовий приріст маси тіла коливався від 2,43 до 4,14 г/добу (95 % ДІ) і в цілому перевищував такий в контролі на 171,7 % ($p < 0,001$). Виявилось, що станом на 70-у добу середньо-добовий приріст маси тіла в групах ДІО+ZnSO₄, ДІО+Na₂S₂O₃, ДІО+ЛК, ДІО+таурин був меншим на 45,4 % ($p < 0,001$), 17,2 % ($p < 0,05$), 52,1 % ($p < 0,001$) та 18,1 % ($p < 0,01$), ніж в групі ДІО (без корекції).

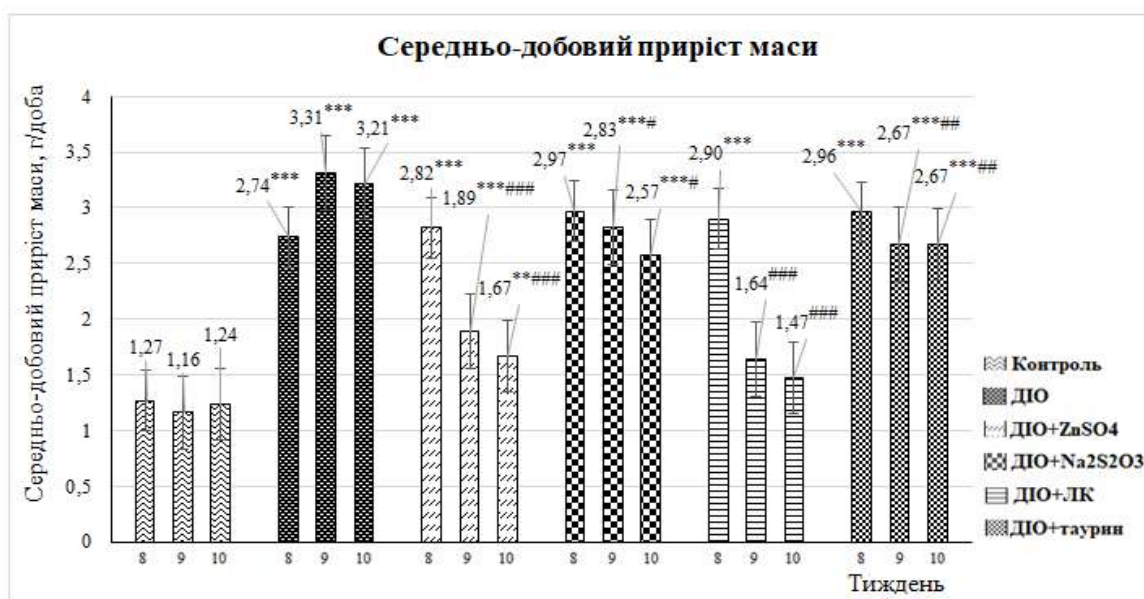


Рис. 3.6 Середньо-добовий приріст маси тіла у щурів з ДІО за дії потенційних модуляторів обміну H₂S (M±σ, n=10). Примітки: 1. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ – відносно групи ДІО (без корекції).

У підрозділі 3.1 було продемонстровано, що зміни соматометричних індексів розвиваються більш повільно, ніж абсолютні зміни масо-ростових параметрів. Тому фінальні зміни (70 доба) ІМТ та індексу Лі у межах кожної групи спостереження оцінювали відносно початкових параметрів (0 доба). Слід відзначити, що контрольна та усі дослідні групи були репрезентативними за вихідними параметрами ІМТ та індексу Лі. Встановлено, що в групі ДІО (без корекції) фінальні значення ІМТ та індексу Лі були вищими на 65,0 % та 12,9 % ($p < 0,001$), ніж початкові, і на 52,4 % та 16,4 % вищими, ніж фінальні показники в контролі ($p < 0,001$). При цьому, в групі ДІО+ЛК фінальні значення

ІМТ та індекс Лі були вищими на 51,4 % та 9,0 % ($p < 0,001$), ніж початкові, і лише на 37,4 % та 11,3 % вищими, ніж в контролі ($p < 0,01$). Подібні, але менш виразні зміни ІМТ та індексу Лі виявлялись за дії інших коректорів. Зокрема, в групах ДІО+ZnSO₄, ДІО+Na₂S₂O₃, ДІО+таурин фінальні значення ІМТ були вищими на 42,3; 46,5; 44,1 % ($p < 0,01$), а індексу Лі – на 12,9; 13,9; 13,3 % ($p < 0,01$), відповідно, відносно контролю. Слід відзначити, що ІМТ у щурів з ДІО (без корекції) виявився вищим на 10,9 %, ніж у щурів в групі ДІО+ЛК.

Таблиця 3.2

Індекс маси тіла та індекс Лі у щурів з дієт-індукованим ожирінням при введенні потенційних коректорів обміну H₂S ($M \pm \sigma$, n=10)

Групи щурів		ІМТ, г/см ²		Індекс Лі	
		0 доба	70 доба	0 доба	70 доба
1	Контроль	0,512±0,060	0,553±0,032	0,299±0,018	0,293±0,006
2	ДІО	0,511±0,037	0,843±0,037***	0,302±0,010	0,341±0,006***
3	ДІО+ZnSO ₄	0,495±0,020	0,787±0,034**	0,297±0,009	0,331±0,004**
4	ДІО+Na ₂ S ₂ O ₃	0,507±0,028	0,810±0,037**	0,300±0,009	0,334±0,008**
5	ДІО+ЛК	0,502±0,020	0,760±0,043**#	0,299±0,007	0,326±0,008**#
6	ДІО+таурин	0,495±0,027	0,797±0,034**	0,297±0,011	0,332±0,008**

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (# $p < 0,05$).

Підвищення ІМТ та індексу Лі відображає зміни пропорцій тіла тварин та накопичення підшкірного жиру. Однак, найбільш важливою ознакою дисбалансу процесів ліпогенезу / ліполізу та енергетичного обміну вважається підвищення кількості вісцеральної жирової тканини. В експериментальних умовах оцінити цей параметр дозволяє аналіз абсолютної маси вісцерального жиру та індексу ожиріння (ІО), здійснення якого можливе лише після евтаназії тварин. Тому аналіз вказаних параметрів був проведений у фіналі експерименту.

Встановлено, що 10-тижневе застосування ВКД викликало статистично значуще збільшення маси внутрішнього жиру у дослідних щурів (рис. 3.7). В групі контролю сумарна маса ретроперитонеального, епідидимального та вісцерального жиру коливалась від 8,03 до 9,58 г (95 % ДІ), і в середньому становила $8,78 \pm 0,49$ г. В групі ДІО (без корекції) сумарна маса ретроперитонеального, епідидимального та вісцерального жиру коливалась від 14,67 до 20,28 г (95 % ДІ), і за середніми величинами була вищою на 105,3 % ($p < 0,001$), ніж у контрольних щурів. Застосування метаболічних коректорів не поглиблювало ліпогенний ефект ВКД і навіть сприяло розвитку тенденції до зменшення ознак вісцерального ожиріння.

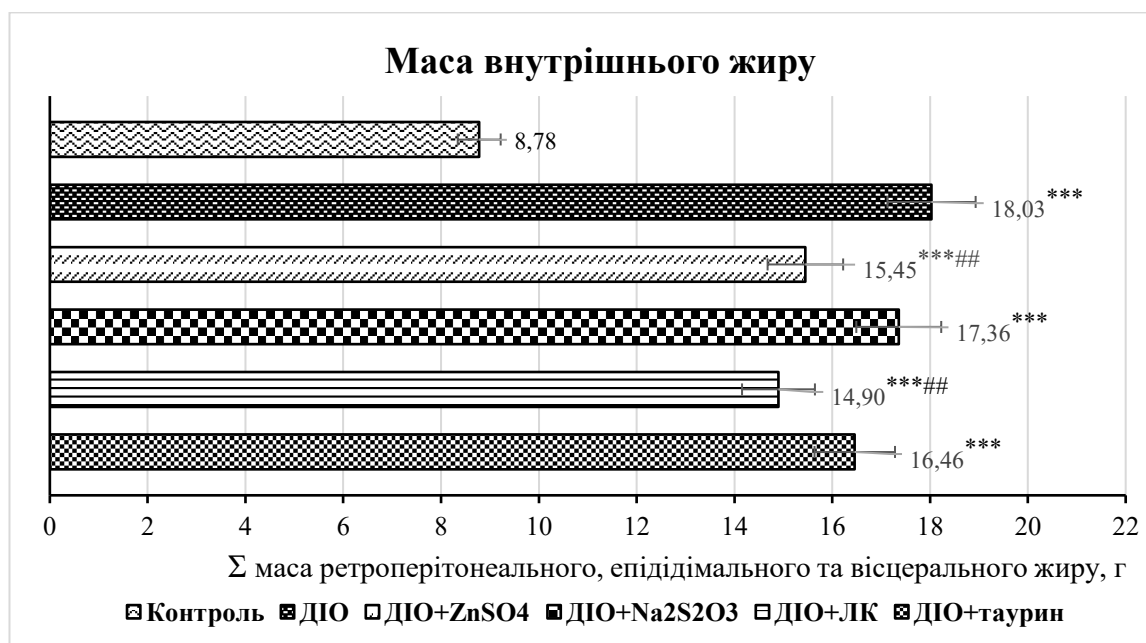


Рис. 3.7 Маса внутрішнього жиру у щурів з ДІО та за дії потенційних модуляторів обміну H_2S ($M \pm \sigma$, $n=10$). Примітки: 1. *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Так, в групах ДІО+ZnSO₄, ДІО+Na₂S₂O₃, ДІО+ЛК та ДІО+таурин сумарна маса ретроперитонеального, епідидимального та вісцерального жиру перевищувала контрольні показники на 76,0; 97,7; 69,7 та 92,6 %, відповідно. Зауважимо, що лише в групах ДІО+ZnSO₄ та ДІО+ЛК сумарна маса ретроперитонеального, епідидимального та вісцерального жиру виявилась статистично значуще нижчою на 14,3 % ($p < 0,01$) та 17,3 % ($p < 0,01$), ніж у щурів з ДІО (без корекції).

Оцінка індексу ожиріння (ІО) підтвердила вищевказані закономірності (рис. 3.8). В групі контролю ІО коливався від 2,80 до 3,56 % (95 % ДІ) і в середньому становив $3,30 \pm 0,25$ %. В групі ДІО (без корекції) цей показник виявився вищим на 43,0 % ($p < 0,001$) порівняно з групою контролю. У дослідних групах, де застосовувались потенційні модулятори обміну H_2S , спостерігалась тенденція сповільнення приросту ІО. Цей показник в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ $Na_2S_2O_3$, ДІО+ЛК та ДІО+таурин був вищим ніж в контролі на 27,0; 36,4; 24,2 та 30,6 % ($p < 0,001$), відповідно. Також ІО в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ЛК та ДІО+таурин виявився статистично значуще нижчим на 11,2; 13,1 % ($p < 0,01$) та 8,7 % ($p < 0,05$), ніж в групі щурів з ДІО (без корекції).

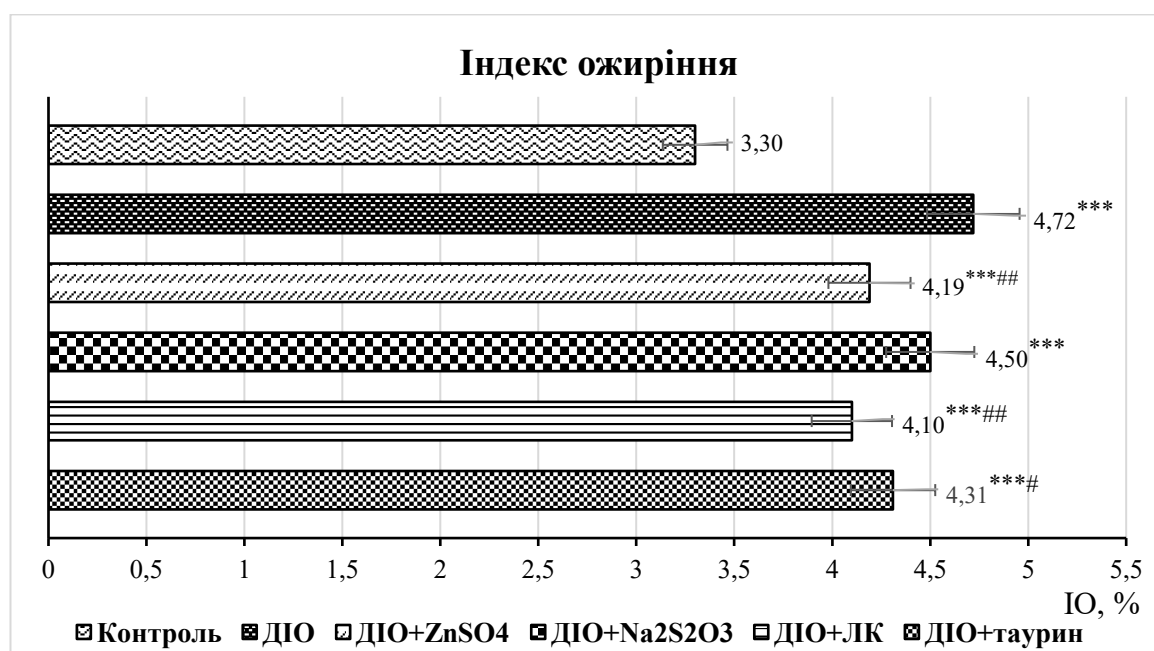


Рис. 3.8 Індекс ожиріння (ІО) у щурів з ДІО та за дії потенційних модуляторів обміну H_2S ($M \pm \sigma$, $n=10$). Примітки: 1. *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

За умов аліментарного ожиріння акумуляція жирів відбувається не лише у жировій тканині, а й ектопічно, у паренхимі внутрішніх органів, що може супроводжуватись активацією процесів запалення та фіброзу, і викликати зміни масових та об'ємних параметрів органів. За результатами даного дослідження, розвиток ДІО супроводжувався помірним підвищенням відносної маси нирок щурів (на 9,2 %, $p < 0,05$) порівняно з параметрами нирок в групі контролю

станом на 70-у добу (рис. 3.9) Двотижневе введення коректорів не поглиблювало ВКД-індукованих змін відносної маси нирок у щурів з ДІО в жодній групі.

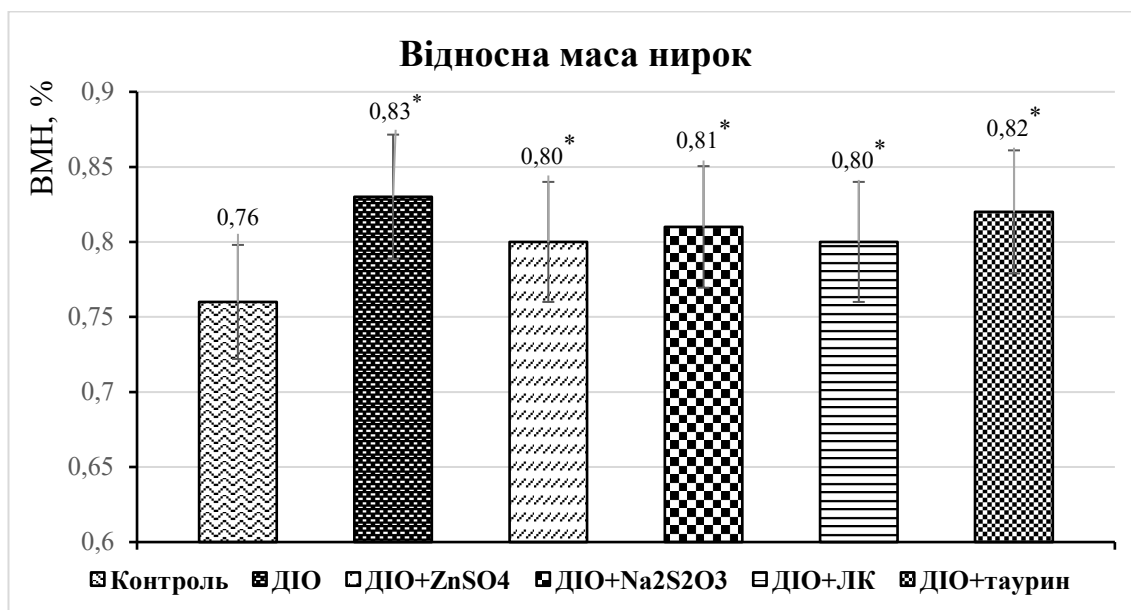


Рис. 3.9 Відносна маса нирок у щурів з ДІО та за дії потенційних модуляторів обміну H₂S (M±σ, n=10). Примітки: *p<0,05– відносно групи контролю.

Таким чином, зміни соматометричних параметрів свідчили про подальший розвиток ДІО у щурів за умов ВКД. Двотижневе застосування потенційних модуляторів обміну H₂S стримувало подальший розвиток ДІО під впливом ВКД з різною інтенсивністю. За здатністю стримувати ліпогенний ефект ВКД метаболічні коректори можна розташувати наступним чином: ліпоєва кислота > цинк сульфат > таурин > натрій тіосульфат.

3.3 Зміни ниркового рівня H₂S у щурів за дії висококалорійної високожирової дієти та метаболічних коректорів – цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α-ліпоєвої кислоти

Застосування ВКД упродовж 10 тижнів спричиняло формування дефіциту ендogenous H₂S у нирках щурів (рис. 3.10). Зокрема в групі контролю рівень H₂S станом на 70 добу коливався від 2,37 до 3,62 нмоль/мг протеїну (95 % ДІ), а в групі ДІО без корекції – від 1,22 до 2,29 нмоль/мг

протеїну (95 % ДІ). За середніми величинами рівень H_2S в нирках групи ДІО (без корекції) був нижчим на 47,4 % ($p < 0,001$), ніж в групі контролю. Застосування усіх коректорів сприяло підвищенню рівня H_2S в нирках з ДІО, при цьому більш виразний ефект справляли препарати α -ліпоєвої кислоти та цинк сульфату. Рівень H_2S в нирках щурів в групах ДІО+ $ZnSO_4$ та ДІО+ЛК був вищим на 46,1 % та 50,3 % ($p < 0,01$), а в групах ДІО+ $Na_2S_2O_3$ та ДІО+таурин – на 33,3 % та 39,3 % ($p < 0,05$), ніж у щурів з ДІО (без корекції).

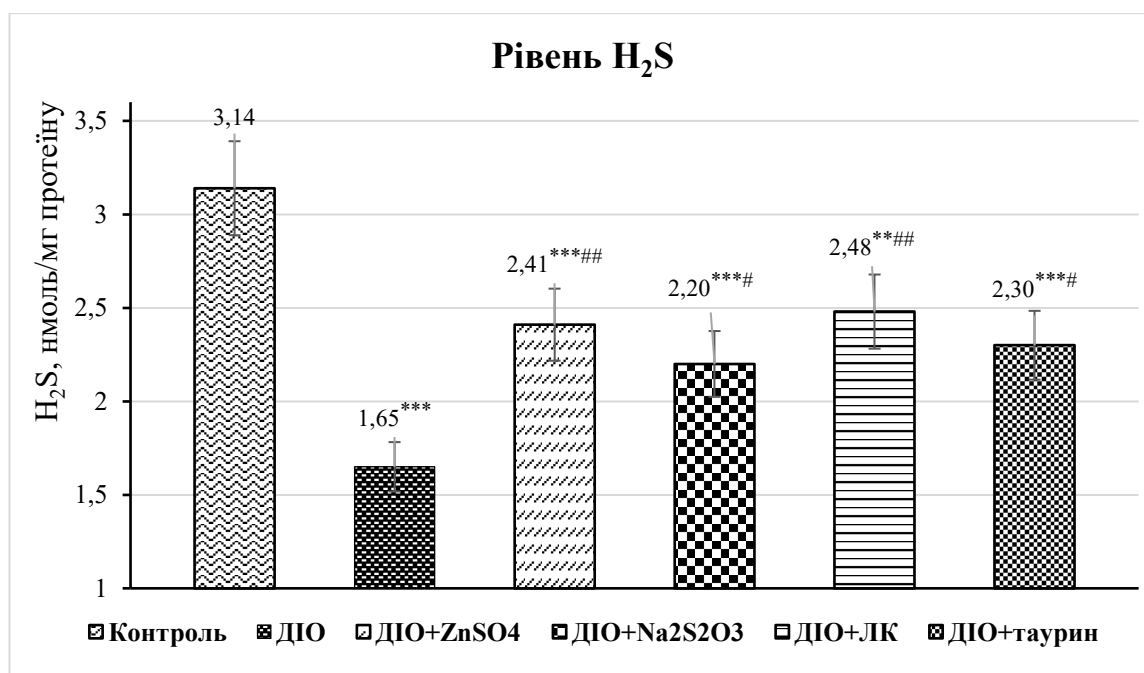


Рис. 3.10 Зміни рівня H_2S в нирках щурів за умов ДІО та за дії метаболічних коректорів ($M \pm \sigma$, $n=10$). Примітки: 1. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Встановлено, що формування дефіциту H_2S в нирках щурів асоціювалось з накопиченням підшкірного та вісцерального жиру, про що свідчило зростання відповідних соматометричних індексів (рис. 3.11). Між нирковим рівнем H_2S та ІМТ, індексом Лі та ІО виявлялись статистично значущі обернені зв'язки: коефіцієнти кореляції Пірсона (r_{xy}) становили -0,641; -0,607, -0,513 ($p < 0,01$), відповідно. Зв'язок середньої сили виявлявся між рівнем H_2S та відносною масою нирок ($r_{xy} = -0,462$, $p < 0,01$).

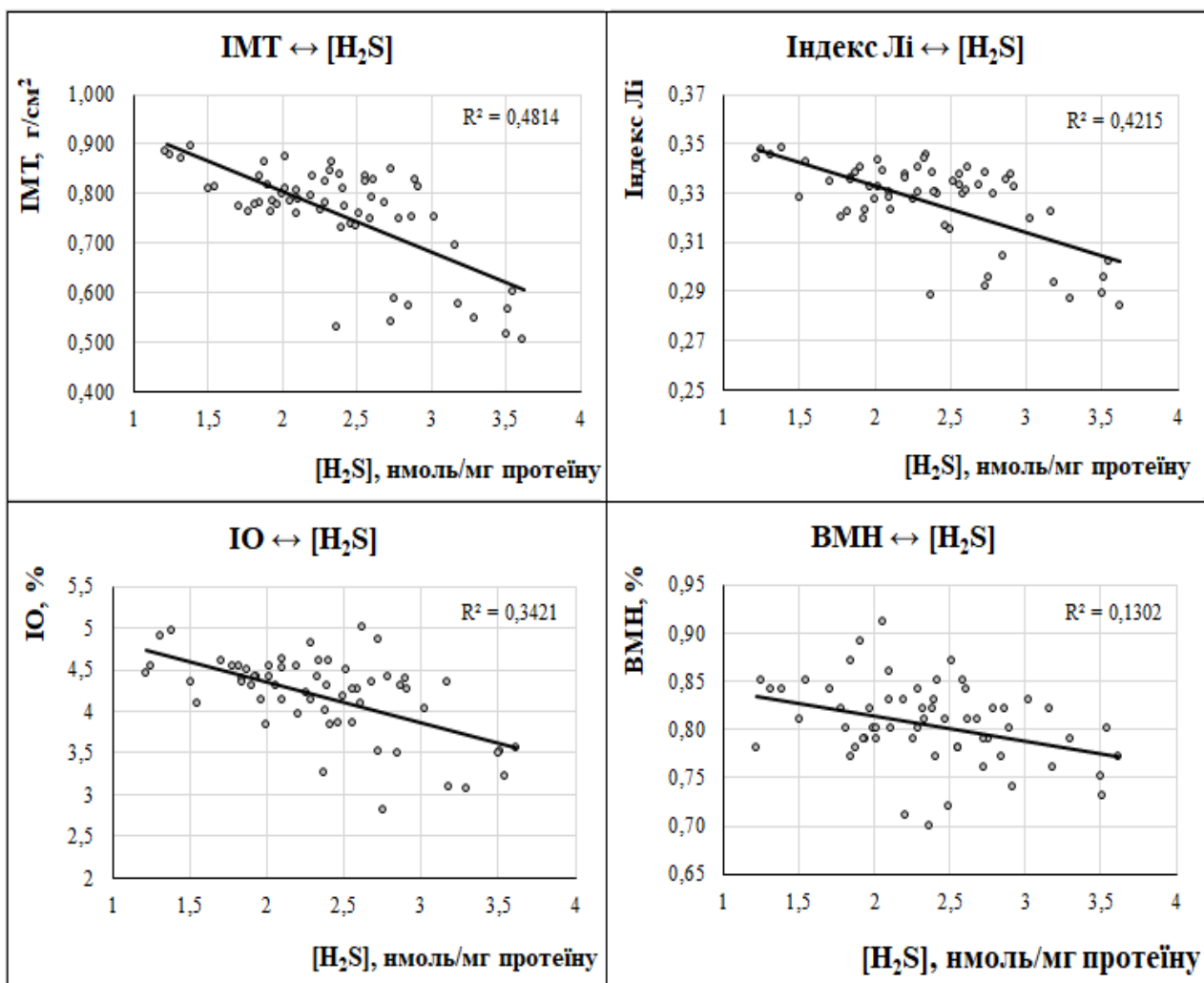


Рис. 3.11 Асоціація рівня H_2S в нирках зі змінами соматометричних показників за умов експериментального ожиріння ($n=50$). Примітки: R^2 – показник розподілу.

Кореляційний аналіз за Спірманом підтвердив виявлені закономірності: між рівнем H_2S в нирках та ІМТ, індексом Лі, ІО та відносною масою нирок у щурів з ДІО встановлені статистично значущі асоціації середньої сили ($r_s = -0,435$; $-0,381$; $-0,449$ та $-0,431$, $p < 0,01$). Цілком очевидно, що корекція рівня H_2S у нирках може бути важливим чинником нефропротекції за умов ДІО.

Резюме. Застосування модифікованого варіанту ВКД (4,33 ккал/г, 39,5 % жирів за калоражем) забезпечує значне зростання ІМТ (в 1,6 рази) та індексу Лі (вище 0,310) у дорослих статевозрілих щурів-самців і дозволяє відтворити

модель аліментарного ожиріння у тварин упродовж 8 тижнів. Двотижнєве застосування потенційних модуляторів обміну H_2S не посилює ліпогенного ефекту ВКД і навіть сповільнює подальший розвиток ДІО під впливом ВКД з різною інтенсивністю. Цинк сульфат та ліпоева кислота більш ефективно, ніж тіосульфат і таурин стримували розвиток ДІО: відносний приріст маси тіла в групах ДІО+ $ZnSO_4$ та ДІО+ЛК був нижчим в 2,0 рази ($p<0,05$), а в групах ДІО+ $Na_2S_2O_3$ та ДІО+таурин – в 1,3 рази ($p<0,05$), ніж у в групі ДІО без корекції. Також в групах таурину, цинк сульфату та ліпоевої кислоти виявлялись нижчі показники ІО (на 8,7 ($p<0,05$), 11,2; 13,1 % ($p<0,01$)), ніж в групі ДІО без корекції. Розвиток ДІО під впливом ВКД асоціюється зниженням рівня H_2S в нирках (в 1,9 рази, $p<0,001$), що обернено корелює зі зростанням ІМТ, індексом Лі та ІО ($r_s = -0,435; -0,381; -0,449, p<0,01$). Кофактори та метаболіти сірковмісних амінокислот достовірно зменшували негативний вплив ВКД на рівень H_2S в нирках. Зауважимо, що дефіцит H_2S в нирках більш ефективно зменшували цинк сульфат та ліпоева кислота (в 1,5 рази, $p<0,01$), помірний ефект справляли натрій тіосульфат і таурин (в 1,3-1,4 рази, $p<0,05$). Особливості обміну H_2S в нирках за умов ДІО та їх зв'язок з медіаторами запалення та фіброгенезу охарактеризовані в наступному розділі роботи.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях:
[2; 3; 4; 7; 22; 49].

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ МЕТАБОЛІЧНИХ КОРЕКТОРІВ НА ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ
ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ, РІВНІ МЕДІАТОРІВ ЗАПАЛЕННЯ І
ФІБРОГЕНЕЗУ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ОЖИРІННЯ

Результати попереднього розділу засвідчили, що розвиток ожиріння, індукованого ВКД, асоціюється зі зниженням рівня H_2S в нирках. Концентрація H_2S у нирках підтримується за рахунок транссульфування сірковмісних амінокислот за участі ПАЛФ-залежних ензимів (ЦГЛ, ЦБС, ЦАТ), а також може відбуватись в реакціях обміну тіосульфат-аніону за участі мітохондріальних тіосульфат(тіол)сульфуртрансфераз (ТСТ). До процесів депонування та вивільнення H_2S з полісульфідів причетна система тіоредоксинредуктази/тіоредоксину, а в кінцевих етапах утилізації сірковмісних інтермедіатів бере участь сульфітоксидаза. Розлади в обміні H_2S можуть бути чинником активації імунозапальних та фібротичних процесів у нирках за умов ДІО. Завданнями даного розділу було встановити зміни зазначених метаболічних шляхів в нирках щурів за умов ДІО та за його корекції цинком сульфатом, натрій тіосульфатом, таурином, α -ліпоєвою кислотою; з'ясувати зміни рівнів IGF-1 та $TNF\alpha$ в нирках щурів за умов ДІО та за його корекції, оцінити можливі зв'язки з показниками системи H_2S .

4.1 Вплив цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти на показники обміну H_2S в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням

За 10-тижневого впливу ВКД в нирках щурів було виявлено зниження активності ПАЛФ-залежного десульфурування L-цистеїну за участі ЦГЛ (табл. 4.1). В групі контролю активність ЦГЛ в нирках коливалась від 1,07 до 1,95 (95 % ДІ) нмоль H_2S /хв·мг протеїну. У той час як в групі ДІО активність

ЦГЛ коливалась від 0,45 до 1,0 (95 % ДІ) нмоль $\text{H}_2\text{S}/\text{хв}\cdot\text{мг}$ протеїну і за середніми величинами була нижчою на 53,5 % ($p<0,001$) відносно контролю. Застосування усіх коректорів запобігало зниженню активності ЦГЛ в нирках щурів з ДІО, при цьому більш виразний ефект справляли препарати цинку та ліпоєвої кислоти. Так, активність ЦГЛ в групах ДІО+ ZnSO_4 та ДІО+ЛК була вищою на 69,4 % та 54,2 % ($p<0,01$), а в групах ДІО+ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ та ДІО+таурин – на 41,6 та 44,4 % ($p<0,05$), відповідно, порівняно з групою ДІО. Аналіз відмінностей між групами з різними коректорами підтвердив тенденцію до більш виразних змін активності ЦГЛ під впливом цинку сульфату. За умов ожиріння між активністю ЦГЛ та рівнем H_2S в нирках виявлявся сильний прямий зв'язок ($r_s > 0,7$, $p<0,001$).

Таблиця 4.1

Вплив метаболічних коректорів на десульфуразну активність цистатіонін- γ -ліази в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням ($M\pm\sigma$, $n=10$)

Група		Активність ЦГЛ, нмоль $\text{H}_2\text{S}/\text{хв}\cdot\text{мг}$ протеїну	p між групами з корекцією	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	1,55 \pm 0,34	$p_{3-4} = 0,265$ $p_{3-5} = 0,654$ $p_{3-6} = 0,343$ $p_{4-5} = 0,505$ $p_{4-6} = 0,868$ $p_{5-6} = 0,617$	$r_s = 0,707,$ $p<0,001$
2	ДІО	0,72 \pm 0,21***		
3	ДІО+ ZnSO_4	1,22 \pm 0,29*##		
4	ДІО+ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	1,03 \pm 0,28**#		
5	ДІО+ЛК	1,11 \pm 0,26***#		
6	ДІО+таурин	1,04 \pm 0,27**#		

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (# $p<0,05$; ## $p<0,01$).

Застосування ВКД викликало в нирках щурів пригнічення синтезу H_2S в реакції транссульфування L-цистеїну з L-гомоцистеїном за участі ЦБС (табл. 4.2). Зокрема, в групі контролю активність ЦБС становила 1,62 - 2,59 (95 % ДІ) нмоль $\text{H}_2\text{S}/\text{хв}\cdot\text{мг}$ протеїну, а в групі ДІО – 0,79 до 1,55 нмоль $\text{H}_2\text{S}/\text{хв}\cdot\text{мг}$

протеїну. В середньому активність ЦБС у щурів з ДІО була нижчою на 48,6 % ($p < 0,001$), ніж у контрольних щурів.

Застосування усіх коректорів запобігало зниженню активності ЦБС в нирках щурів з ДІО, при цьому більш виразний ефект справляли препарати цинку та ліпоєвої кислоти. Так, активність ЦБС в групі ДІО+ZnSO₄ була вищою на 49,1 % ($p < 0,01$), в групі ДІО+ЛК – на 39,8 % ($p < 0,01$), в групі ДІО+Na₂S₂O₃ – на 29,6 % ($p < 0,01$), в групі ДІО+таурин – на 25,9 % порівняно з групою ДІО. Оцінка відмінностей в між групами корекції також засвідчила тенденцію до більш виразного відновлення активності ЦБС під впливом цинку сульфату порівняно з тіосульфатом і таурином ($p = 0,288$ та $0,165$, відповідно). Між активністю ЦБС та рівнем H₂S в нирках виявлявся статистично значущий прямий зв'язок ($r_s > 0,65$, $p < 0,001$).

Таблиця 4.2

Вплив метаболічних коректорів на десульфуразну активність цистатіонін-β-синтази в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням (M±σ, n=10)

Група		Активність ЦБС, нмоль H ₂ S/хв·мг протеїну	р між групами з корекцією	Кореляція з рівнем H ₂ S в нирках
1	Контроль	2,10±0,39	$p_{3-4} = 0,288$ $p_{3-5} = 0,654$ $p_{3-6} = 0,165$ $p_{4-5} = 0,586$ $p_{4-6} = 0,744$ $p_{5-6} = 0,384$	$r_s = 0,658,$ $p < 0,001$
2	ДІО	1,08±0,29***		
3	ДІО+ZnSO ₄	1,61±0,38###		
4	ДІО+Na ₂ S ₂ O ₃	1,40±0,26**#		
5	ДІО+ЛК	1,51±0,29**##		
6	ДІО+таурин	1,36±0,27**#		

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (# $p < 0,05$; ## $p < 0,01$).

Розвиток ожиріння спричиняв пригнічення синтезу H₂S з L-цистеїну за участі цистеїнамінотрансферази в асоціації з 3-меркаптопіруват-сульфуртрансферазою в нирках щурів (табл. 4.3). Активність ЦАТ/3-МСТ в

групі контролю коливалась від 1,80 до 2,94 (95 % ДІ) нмоль H_2S /хв·мг протеїну, а в групі ДІО – від 0,89 до 1,54 (95 % ДІ) нмоль H_2S /хв·мг протеїну і за середніми величинами виявилась нижчою на 51,9 % ($p < 0,001$). Всі метаболічні коректори сприяли відновленню H_2S -продукуючої активності шляху ЦАТ/3-МСТ і більший ефект спостерігався під впливом цинку сульфату. Так, активність ЦАТ в групі ДІО+ $ZnSO_4$ була вищою на 61,4 % ($p < 0,01$), в групі ДІО+ЛК – на 46,4 % ($p < 0,01$), в групі ДІО+ $Na_2S_2O_3$ – на 39,5 % ($p < 0,05$), в групі ДІО+таурин – на 44,7 % ($p < 0,05$), порівняно з групою ДІО. За умов ожиріння між активністю ЦАТ та рівнем H_2S в нирках виявлявся сильний прямий зв'язок ($r_s > 0,7$, $p < 0,001$).

Таблиця 4.3

Вплив метаболічних коректорів на активність цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням ($M \pm \sigma$, $n=10$)

Група		Активність ЦАТ/3-МСТ, нмоль H_2S /хв·мг протеїну	р між групами з корекцією	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	2,37±0,42	$p_{3-4} = 0,239$ $p_{3-5} = 0,654$ $p_{3-6} = 0,412$ $p_{4-5} = 0,659$ $p_{4-6} = 0,720$ $p_{5-6} = 0,934$	$r_s = 0,703$, $p < 0,001$
2	ДІО	1,14±0,27***		
3	ДІО+ $ZnSO_4$	1,84±0,37*##		
4	ДІО+ $Na_2S_2O_3$	1,59±0,32*##		
5	ДІО+ЛК	1,67±0,37*##		
6	ДІО+таурин	1,65±0,31*##		

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (# $p < 0,05$; ## $p < 0,01$).

Встановлено, що 10-тижневе застосування ВКД спричинило зниження активності тіосульфатзалежних шляхів обміну H_2S в нирках щурів (табл. 4.4). Активність продукції H_2S з тіосульфат-аніону в контрольній групі становила

3,10 - 4,43 (95 % ДІ) нмоль H_2S /хв·мг протеїну, а у щурів з ДІО – 1,46 - 2,42 (95 % ДІ) нмоль H_2S /хв·мг протеїну, відповідно. Отже, H_2S -продукуюча активність ТСТ у щурів з ДІО була нижчою на 49,7 % ($p < 0,001$), ніж в групі контролю. Виявилось, що тіосульфат-залежну продукцію H_2S найбільш ефективно коригував тіосульфат натрію, у той час як інші коректори справляли менш виразні зміни. Так, активність ТСТ в групі ДІО+ $Na_2S_2O_3$ була вищою на 68,8 % ($p < 0,01$), ніж в групі ДІО, яка не отримувала коректорів. У той же час, приріст активності ТСТ в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ЛК, ДІО+таурин становив 30,1; 56,1; 35,9 %, відповідно.

Таблиця 4.4

Вплив метаболічних коректорів на активність тіосульфат-залежної продукції H_2S в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням ($M \pm \sigma$, $n=10$)

Група		Активність ТСТ, нмоль H_2S /хв·мг протеїну	p між групами з корекцією	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	3,76±0,50	$p_{3-4} = 0,012$ $p_{3-5} = 0,117$ $p_{3-6} = 0,645$ $p_{4-5} = 0,347$ $p_{4-6} = 0,040$ $p_{5-6} = 0,268$	$r_s = 0,630,$ $p < 0,001$
2	ДІО	1,89±0,39***		
3	ДІО+ $ZnSO_4$	2,46±0,39***#		
4	ДІО+ $Na_2S_2O_3$	3,19±0,51***#		
5	ДІО+ЛК	2,95±0,57***#		
6	ДІО+таурин	2,57±0,32***#		

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (# $p < 0,05$; ## $p < 0,01$).

Слід відзначити, що активність ТСТ в групі ДІО+ $Na_2S_2O_3$ була статистично значуще вищою, ніж в групах ДІО+ $ZnSO_4$ та ДІО+таурин на 29,8 % та 24,1% ($p < 0,05$), але незначно перевищувала показник в групі ДІО+ЛК ($p = 0,347$). Кореляційний аналіз засвідчив статистично значущу пряму асоціацію між активністю ТСТ та рівнем H_2S в нирках ($r_s > 0,6$, $p < 0,001$).

Розвиток ожиріння спричиняв зниження відновлювального потенціалу тіоредоксинредуктази (TRP) (табл. 4.5). Так, якщо в групі контролю активність TRP коливалась від 4,57 до 6,76 (95 % ДІ) нмоль DTNB/хв·мг протеїну, то у щурів з ДІО – від 2,68 до 4,26 (95 % ДІ) нмоль DTNB/хв·мг протеїну, відповідно. За середніми величинами активність TRP у щурів з ДІО виявилась на 40,5 % нижчою, ніж в групі контролю. Застосування усіх метаболічних коректорів стримувало прогресування виявлених змін, однак активність TRP найбільш ефективно коригували ліпоєва кислота та ZnSO₄, тоді як тіосульфат і таурин справляли помірний ефект. Активність TRP в групах ДІО+ZnSO₄ та ДІО+ЛК була вищою на 44,6 та 39,2 %, а в групах ДІО+Na₂S₂O₃ та ДІО+таурин – на 28, та 23,3%, відповідно. Між активністю TRP та рівнем H₂S в нирках виявлявся статистично значущий зв'язок (p<0,001).

Таблиця 4.5

Вплив метаболічних коректорів на активність тіоредоксинредуктази в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням (M±σ, n=10)

Група		Активність TRP, нмоль DTNB/хв·мг протеїну	р між групами з корекцією	Кореляція з рівнем H ₂ S в нирках
1	Контроль	5,73±0,81	p ₃₋₄ = 0,155 p ₃₋₅ = 0,682 p ₃₋₆ = 0,084 p ₄₋₅ = 0,312 p ₄₋₆ = 0,759 p ₅₋₆ = 0,187	r _s = 0,738, p<0,001
2	ДІО	3,34±0,68 ^{***}		
3	ДІО+ZnSO ₄	4,83±0,78 ^{###}		
4	ДІО+Na ₂ S ₂ O ₃	4,29±0,82 ^{###}		
5	ДІО+ЛК	4,65±0,75 ^{###}		
6	ДІО+таурин	4,12±0,58 ^{###}		

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (#p<0,05; ##p<0,01).

Дослідження активності сульфітоксидази (СО), яка забезпечує кінцеві етапи окиснення сульфіт-аніону – неорганічного інтермедіату сірковмісних амінокислот та H₂S, виявило депримуєчий вплив ВКД на активність цього

метаболического шляху в нирках щурів (табл. 4.6). Активність СО в контрольній групі становила 6,57 - 8,47 (95 % ДІ) нмоль/хв·мг протеїну, а у щурів з ДІО – 3,75 - 5,23 (95 % ДІ) нмоль/хв·мг протеїну, відповідно. Таким чином активність СО у щурів з ДІО була на 39,2 % нижчою, ніж у контрольних щурів. Виявилось, що усі коректори зменшували ВКД-індуковані зміни активності цього метаболического шляху, при цьому більш виразний ефект спостерігався під впливом натрій тіосульфату. Активність СО в групі ДІО+Na₂S₂O₃ була вищою на 40,7 %, а в групах ДІО+ZnSO₄, ДІО+ЛК та ДІО+таурин – вищою на 28,4; 32,4; 14,7 %, ніж в групі ДІО, відповідно. Між активністю СО та рівнем H₂S в нирках спостерігався статистично значущий кореляційний зв'язок.

Таблиця 4.6

Вплив метаболических коректорів на активність сульфатоксидази в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням (M±σ, n=10)

Група		Активність СО, нмоль K ₃ [Fe(CN) ₆]/хв·мг протеїну	р між групами з корекцією	Кореляція з рівнем H ₂ S в нирках
1	Контроль	7,35±0,26	р ₃₋₄ = 0,224 р ₃₋₅ = 0,682 р ₃₋₆ = 0,157 р ₄₋₅ = 0,420 р ₄₋₆ = 0,009 р ₅₋₆ = 0,068	r _s = 0,618, p < 0,001
2	ДІО	4,47±0,61***		
3	ДІО+ZnSO ₄	5,74±0,67***##		
4	ДІО+Na ₂ S ₂ O ₃	6,29±0,79*##		
5	ДІО+ЛК	5,92±0,66***##		
6	ДІО+таурин	5,13±0,63***#		

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (#p<0,05; ##p<0,01).

Таким чином, розвиток ожиріння супроводжується змінами у різних ланках обміну H₂S, які зумовлюють формування дефіциту цього медіатора в нирках щурів. Метаболическі коректори стримували розвиток ВКД-індукованих змін у ПАЛФ-залежних та тіосульфат-залежних шляхах обміну H₂S із певними

відмінностями. На наступному етапі була проведена оцінка впливу метаболічних коректорів на експресію генів *CSE* та *CBS*, які контролюють синтез ензимів транссульфування.

Розвиток ожиріння на тлі ВКД супроводжувався зниженням експресії гена *CSE*, що детермінує синтез одного із ключових H_2S -синтезуючих ензимів – ЦГЛ (рис. 5.1). Станом на 70 добу в групі ДІО відносний рівень мРНК *CSE* / β -актин був нижчим на 59,7 % ($p < 0,001$), ніж в групі контролю. Цинк сульфат та ліпоєва кислота підвищували експресію *CSE* в нирках щурів з ДІО, в у той час як тіосульфат і таурин такого ефекту не викликали. Зокрема, рівень мРНК *CSE* / β -актин в групі ДІО+ $ZnSO_4$ був вищим на 51,8 % ($p < 0,01$), а в групі ДІО+ЛК – вищим на 40,7 % ($p < 0,01$), ніж в групі ДІО, відповідно.

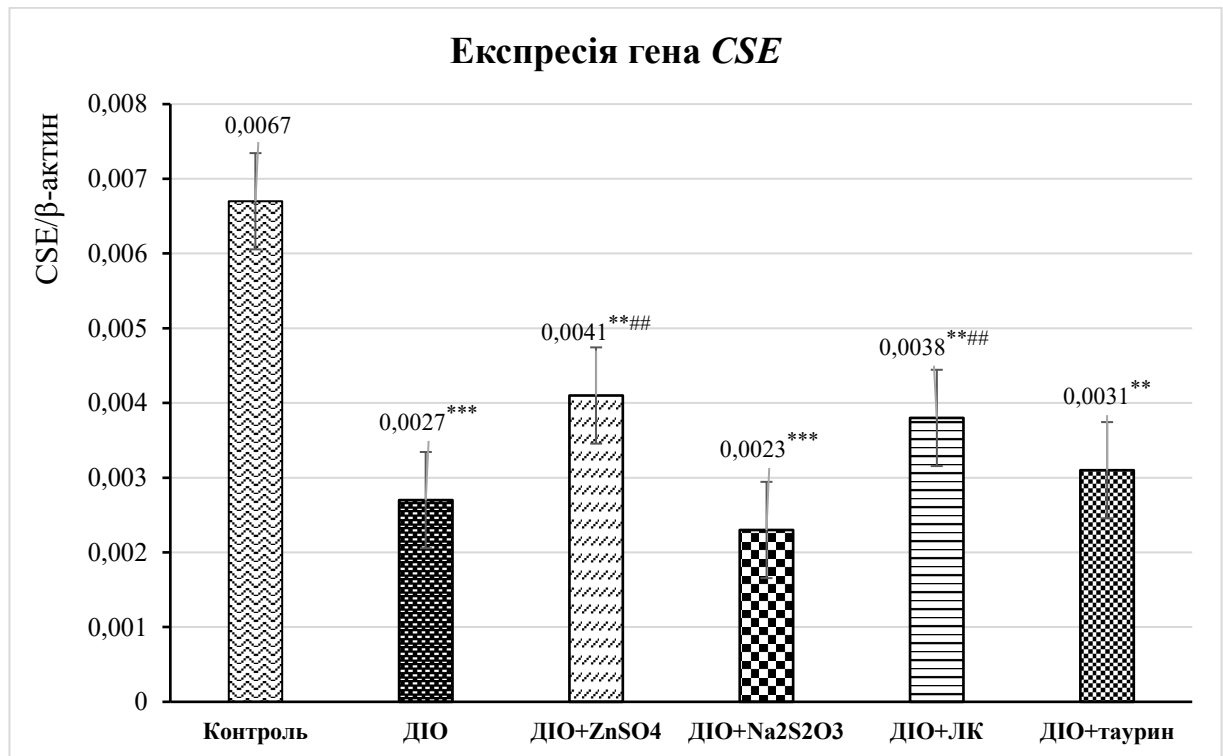


Рис. 4.1 Експресія гена *CSE* в нирках щурів з ДІО та за дії модуляторів обміну H_2S ($M \pm \sigma$, $n=6$). Примітки: 1. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Аналогічні зміни були виявлені і при дослідженні експресії гена *CBS*, який контролює синтез ключового ензиму транссульфування ЦБС. Станом на 70 добу в групі ДІО відносний рівень мРНК *CBS* / β -актин виявився нижчим на 54,2 % ($p < 0,001$), ніж в групі контролю. Виявилось, що як і у випадку з

експресією гена *CSE*, лише цинк сульфат та ліпоєва кислота підвищували експресію гена *CBS* в нирках щурів з ДІО: рівень мРНК *CBS* / β -актин в групі ДІО+ZnSO₄ був вищим на 68,4 % ($p < 0,01$), а в групі ДІО+ЛК – вищим на 50,0 % ($p < 0,01$), ніж в групі ДІО, відповідно. Зауважимо, що тіосульфат і таурин не викликали статистично значущих змін експресії гена *CBS* за умов ДІО.

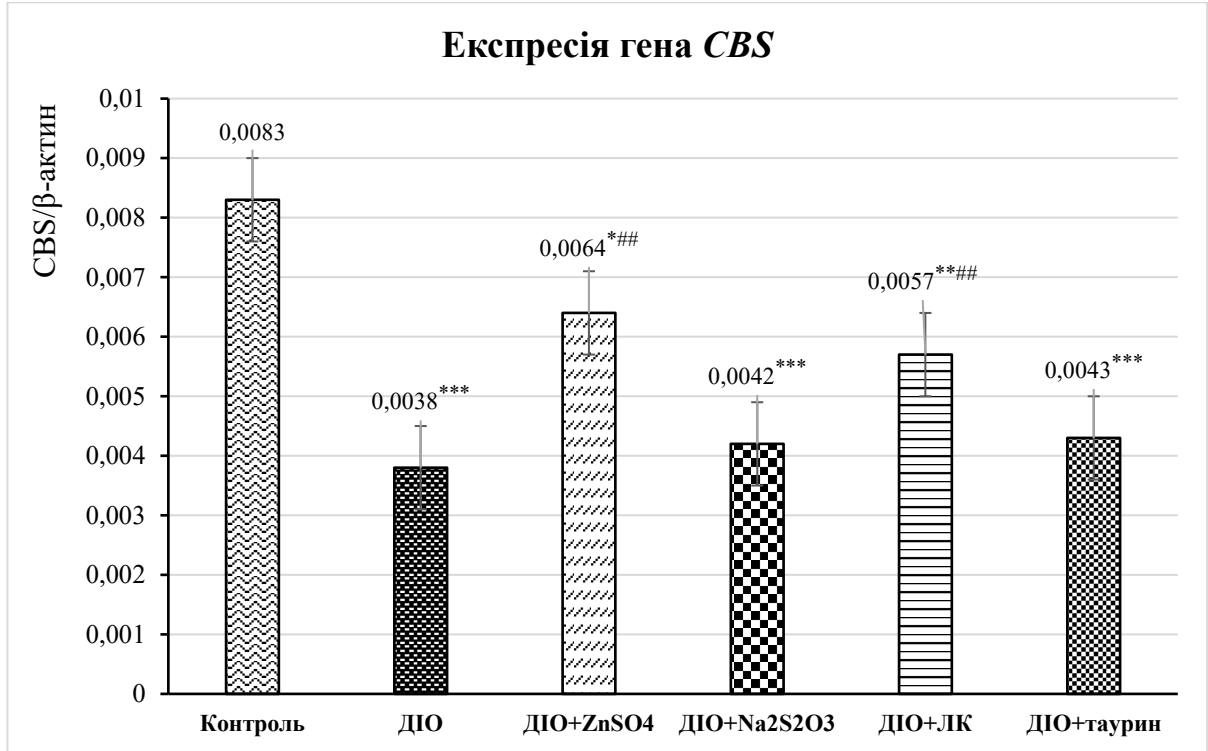


Рис. 4.2 Експресія гена *CBS* в нирках щурів з ДІО та за дії модуляторів обміну H₂S (M \pm σ ; n=6). Примітки: 1. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Кореляційний аналіз засвідчив наявність статистично значущих зв'язків середньої сили між показниками системи H₂S в нирках та соматометричними маркерами ожиріння у щурів (табл. 4.7). Найбільш тісні обернені зв'язки виявлялись між ІМТ та нирковим рівнем ЦБС і ТРР ($r_s = -0,535$; $-0,523$, $p < 0,001$), а також між індексом Лі та відносним рівнем мРНК *CBS*/ β -актин ($r_s = -0,559$, $p < 0,001$).

Коефіцієнти кореляції Спірмана соматометричних індексів з показниками системи H_2S в нирках щурів за умов ДІО (n=50)

Показники	Коефіцієнти кореляції (r_s)		
	ІМТ	Індекс Лі	ІО
мРНК <i>CSE</i> /β-актин	-0,468**	-0,368*	-0,411**
мРНК <i>CBS</i> /β-актин	-0,309*	-0,559***	-0,303*
ЦГЛ	-0,345*	-0,314*	-0,351*
ЦБС	-0,535***	-0,477**	-0,458**
ЦАТ	-0,492**	-0,456**	-0,349*
ТСТ	-0,486**	-0,456**	-0,479**
ТРР	-0,523***	-0,458**	-0,382*
СО	-0,481**	-0,497**	-0,357*

Примітки:

1. r_s – коефіцієнт кореляції Спірмана;
2. * – статистична значущість r_s (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
3. r_s для генетичних маркерів розраховано для $n=35$.

Таким чином, розвиток ожиріння супроводжується такими змінами у різних ланках обміну H_2S , які зумовлюють формування дефіциту цього медіатора в нирках щурів. Метаболічні коректори стримували розвиток ВКД-індукованих змін у ПАЛФ-залежних та тіосульфат-залежних шляхах обміну H_2S , однак виявляли певні відмінності. В цілому, усі включені у дослідження метаболічні коректори підтвердили здатність модулювати обмін H_2S в нирках. На наступному етапі було вивчено вплив вказаних модуляторів на рівні медіаторів запальних та фібротичних процесів в нирках щурів за умов ДІО.

4.2 Вплив цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти на рівень інсуліноподібного фактору росту 1 та фактору некрозу пухлин альфа в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням

За умов 10-тижневого застосування ВКД в нирках щурів підвищувалась продукція прозапального профіброгенного цитокіну – фактору некрозу пухлин альфа (TNF α) (рис. 4.3). В групі контролю рівень TNF α в нирках коливався від 333,8 до 459,2 (95% ДІ) пг/мг протеїну, а в групі ДІО – від 725,8 до 985 (95 % ДІ) пг/мг протеїну і в середньому був вищим 129,3 % ($p < 0,001$), ніж в контролі. Застосування усіх коректорів стримувало зростання рівня TNF α в нирках щурів з ДІО, при цьому більш виразний ефект справляли препарати цинку та ліпоєвої кислоти. Так, рівень TNF α в групах ДІО+ZnSO $_4$ та ДІО+ЛК був нижчим на 42,7 % та 36,8 % ($p < 0,01$), а в групах ДІО+Na $_2$ S $_2$ O $_3$ та ДІО+таурин – на 34,7,1 % ($p < 0,01$) та 28,8 % ($p < 0,05$), відповідно, порівняно з групою ДІО.

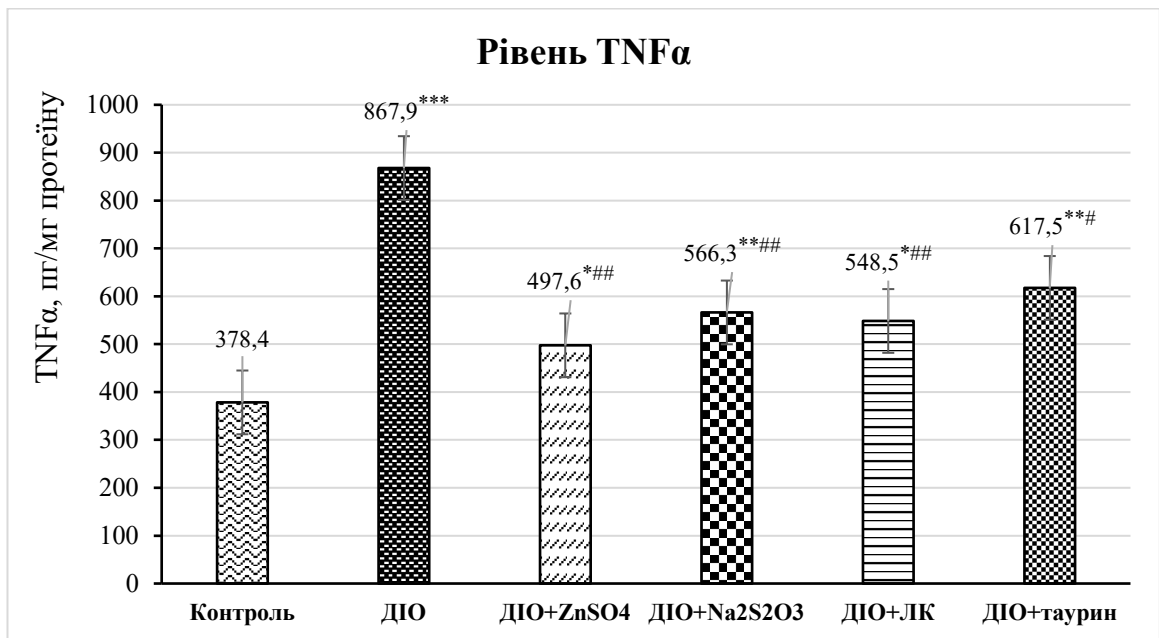


Рис. 4.3 Рівень TNF α в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням (ДІО) та за дії модюляторів обміну H $_2$ S (M \pm σ ; n=10). Примітки: 1. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Довготривале застосування ВКД викликало підвищення ниркової продукції медіатора мезангіальної проліферації та фіброзу – інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) (рис. 4.4). В групі контролю рівень IGF-1 в нирках становив 219,1 - 330,4 (95 % ДІ) пг/мг протеїну, а в групі ДІО цей показник становив 582,6 - 882 (95% ДІ) пг/мг протеїну, відповідно. Отже, за середніми величинами в групі ДІО рівень IGF-1 був вищим на 156,1 % ($p < 0,001$), ніж в контролі. Метаболічні коректори стримували ВКД-індуковане зростання рівня IGF-1 в нирках щурів, при цьому більш виразний ефект викликав цинк сульфат. Зокрема, в групах ДІО+ZnSO₄, ДІО+Na₂S₂O₃, ДІО+ЛК та ДІО+таурин рівень IGF-1 був нижчим на 48,4; 41,4; 46,2 та 33,7 % ($p < 0,01$), ніж в групі ДІО, відповідно.

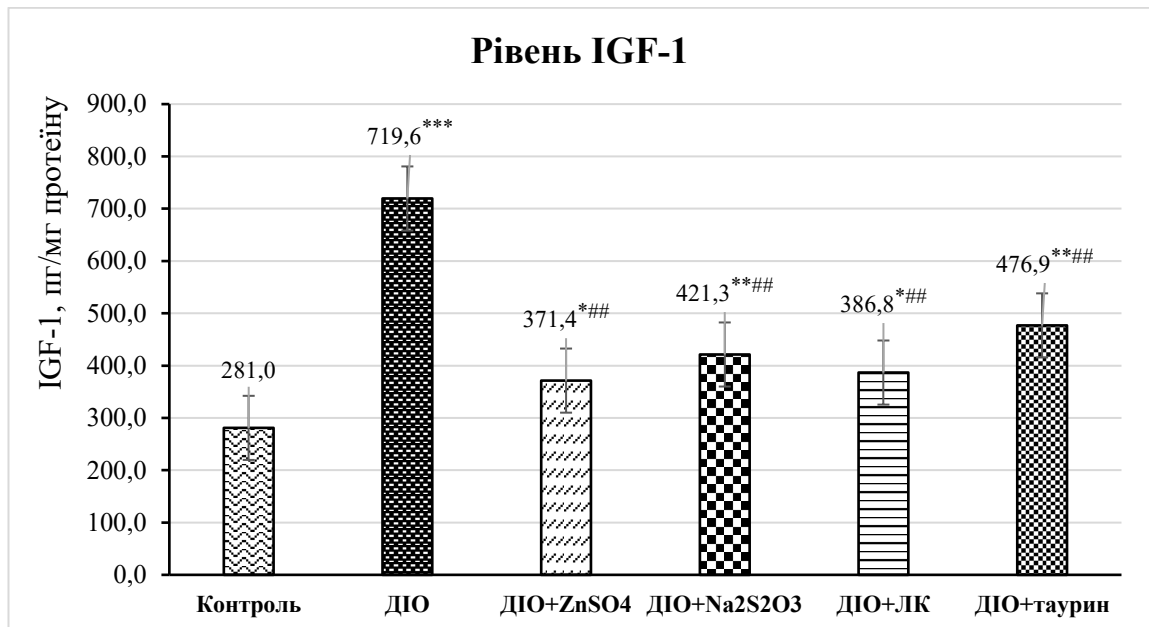


Рис. 4.4 Рівень IGF-1 в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням (ДІО) та за дії модуляторів обміну H₂S (M±σ; n=10). Примітки: 1. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. ### $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Кореляційний аналіз засвідчив статистично значущі обернені зв'язки між показниками системи H₂S та рівнем медіаторів запалення та фіброзу в нирках щурів з ДІО (табл. 4.7). Рівень TNFα найбільш сильно обернено корелював з рівнем H₂S ($r_s = -0,757$, $p < 0,001$), у той час як з іншими показниками обміну H₂S виявлялись зв'язки середньої сили. Слід відзначити

більш сильні асоціації рівня $TNF\alpha$ з показниками «тіосульфат-залежного» обміну H_2S , зокрема з активністю TRP та CO ($r_s = -0,594$ та $-0,604$, $p < 0,001$), а з показників шляху транссульфування – з активністю ЦБС і ЦАТ. Рівень $IGF-1$ також найбільш сильно корелював з рівнем H_2S ($r_s = -0,649$, $p < 0,001$), рівнем мРНК CSE/β -актин та мРНК CBS/β -актин гена ($r_s = -0,595$ та $-0,528$, $p < 0,001$) у той час як з іншими показниками обміну H_2S виявлялись обернені зв'язки середньої сили.

Таблиця 4.8

Коефіцієнти кореляції Спірмана медіаторів запалення та фіброзу з показниками системи H_2S в нирках щурів за умов ДІО (n=50)

Показники	Коефіцієнти кореляції (r_s)	
	$IGF-1$	$TNF\alpha$
H_2S (нирки)	-0,649***	-0,757***
мРНК CSE/β -актин	-0,595**	-0,518**
мРНК CBS/β -актин	-0,528**	-0,357*
ЦГЛ	-0,291*	-0,431**
ЦБС	-0,529**	-0,567**
ЦАТ	-0,427**	-0,573***
ТСТ	-0,489**	-0,551**
TRP	-0,485**	-0,594***
CO	-0,488**	-0,604***

Примітки:

1. r_s – коефіцієнт кореляції Спірмана;
2. * – статистична значущість r_s (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
3. r_s для генетичних маркерів розраховано для $n=35$.

Резюме. У щурів з ДІО виявлялись порушення обміну H_2S в нирках: зниження активності ПАЛФ-залежних ензимів транссульфування (ЦГЛ, ЦБС, ЦАТ), зниження активності тіосульфат-залежних мітохондріальних шляхів обміну H_2S (ТСТ, TRP, CO), що асоціювалось зі зростанням ІМТ та індексу Лі.

Препарати цинку сульфату, ліпоєвої кислоти, натрій тіосульфату і таурину підвищували активність H_2S -синтезуючих ензимів транссульфування та тіосульфатзалежних шляхів в нирках (в 1,4-1,7 рази, $p < 0,01$) щурів з ДІО із певними особливостями. Цинк сульфат і ліпоєва кислота більш ефективно коригували активність ензимів транссульфування, у той час як тіосульфат більш ефективно підвищував активність ТСТ та СО, таурин виявляв помірний протекторний вплив на різні шляхи обміну H_2S . З усієї лінійки застосованих модуляторів лише цинк сульфат та ліпоєва кислота сприяли нормалізації рівня ниркової експресії генів *CSE, CBS*, у той же час натрій тіосульфат і таурин не виявили такої дії за умов ДІО. Встановлена асоціація між зниженням активності H_2S -синтезуючих ензимів, пригніченням експресії генів ензимів транссульфування (*CSE, CBS*) та підвищенням ниркового рівня експресії медіаторів запалення та фіброгенезу ($TNF\alpha$, IGF-1) в нирках щурів з ДІО. Модулятори обміну H_2S стримували підвищення рівня $TNF\alpha$, IGF-1 в нирках, при цьому більшу ефективність проявляли цинк сульфат та ліпоєва кислота, натрій тіосульфат і таурин справляли помірний ефект на продукцію медіаторів запалення та фіброзу в нирках щурів з ДІО за даних умов досліджу.

Таким чином, зниження активності та експресії ензимів синтезу H_2S асоціюється з активацією запальних та фібротичних процесів в нирках за ожиріння. Цинк сульфат, ліпоєва кислота, тіосульфат, таурин зменшують біохімічні зміни у нирках, але виявляють різну активність щодо впливу на систему H_2S . Вплив модуляторів обміну H_2S на показники функціонального стану нирок та морфологічні зміни у цьому органі за умов експериментального ожиріння охарактеризовано в наступному розділі дисертаційної роботи.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [2; 4; 5; 6; 7; 12; 15; 16; 49; 311].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЩУРІВ ЗА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ

Результати попередніх розділів засвідчили, що ВКД індукувала біохімічні розлади в різних ланках системи H_2S , що асоціювалось з підвищенням продукції медіаторів запалення та фіброгенезу. Метаболічні коректори – цинк сульфат, ліпоєва кислота, натрій тіосульфат і таурин підвищували рівень H_2S в нирках, зменшували дисбаланс у шляхах обміну H_2S і коригували ниркові рівні IGF-1 та $TNF\alpha$. Завданням даного розділу було встановити зміни функціонального стану та морфології нирок щурів з ДІО та за умов корекції модуляторами обміну H_2S .

5.1 Показники функціонального стану нирок у щурів з дієт-індукованим ожирінням та за введення модуляторів обміну H_2S

Для визначення стану гломерулярного апарату нирок оцінювали рівень креатиніну в сироватці крові, кліренс креатиніну та ранній маркер ураження клубочків – сироватковий рівень цистатину С, для визначення стану тубулярного апарату нирок розраховували відносну реабсорбцію води та оцінювали рівень ензимурії ГГТ. Встановлено, що 70-добове застосування ВКД викликало погіршення фільтраційної функції нирок у щурів (табл. 5.1). Так, в групі ДІО сироватковий рівень креатиніну був вищим на 26,6 % ($p<0,01$), ніж у щурів в групі контролю. Введення усіх метаболічних коректорів стримувало зростання рівня креатиніну у щурів з ДІО: в групах ДІО+ $ZnSO_4$ та ДІО+ЛК показник був нижчим на 13,6 та 14,7 % ($p<0,05$), ніж в групі ДІО, в групах ДІО+ $Na_2S_2O_3$ та ДІО+таурин виявлялась тенденція до зниження рівня креатиніну. Також, у щурів групи ДІО спостерігалось зниження кліренсу креатиніну (на 22,4 %, $p<0,001$) порівняно з контролем.

Застосування модуляторів обміну H_2S покращувало фільтраційну функцію нирок і найбільш виразний ефект спостерігався в групах ДІО+ $ZnSO_4$ та ДІО+ЛК, у яких кліренс креатиніну був вищим на 16,0 та 20,9 % ($p < 0,05$ та $p < 0,01$, відповідно) порівняно з показником в групі ДІО. Також, в усіх дослідних групах щурів з ДІО спостерігалось зниження показника відносної реабсорбції води, однак при застосуванні модуляторів обміну H_2S виразність цих змін зменшувалась.

Таблиця 5.1

Показники функціонального стану нирок у щурів з ДІО та за дії модуляторів обміну H_2S ($M \pm \sigma$, $n=10$)

Групи		Креатинін сироватки, мкмоль/л	Креатинін сечі, ммоль/л	Кліренс креатиніну, мкл/хв	Відносна реабсорбція води, %
1	Контроль	68,4±10,1	7,01±0,98	917,6±40,2	99,0±0,08
2	ДІО	86,6±13,8**	5,95±0,95*	712,1±69,9***	98,5±0,03**
3	ДІО+ $ZnSO_4$	74,8±9,8#	6,85±0,82#	826,2±94,4*#	98,9±0,04***
4	ДІО+ $Na_2S_2O_3$	82,4±11,1*	6,51±0,99	787,8±80,5*#	98,7±0,06***
5	ДІО+ЛК	73,9±10,8#	7,06±1,01#	861,1±73,9***	98,9±0,04***
6	ДІО+ таурин	83,7±8,8*	6,77±0,85#	774,1±55,6*#	98,8±0,06***

Примітки:

- * – статистично значущі відмінності відносно групи 1 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$);
- # – статистично значущі відмінності відносно групи 2 (# $p < 0,05$; ## $p < 0,01$).

Дослідження раннього маркера ураження клубочкового апарату нирок цистатину С підтвердило виявлені вище закономірності і дозволило виявити більш суттєві міжгрупові відмінності у щурів з ДІО (рис. 5.1). Зокрема, в групі ДІО рівень цистатину С в сироватці крові був вищим на 198,3 % ($p < 0,001$), ніж в контролі. Введення усіх метаболічних коректорів стримувало індуковане ВКД погіршення функціонального стану нирок: рівень цистатину С в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ $Na_2S_2O_3$, ДІО+ЛК та ДІО+таурин був нижчим на 41,8; 29,1; 36,3 та 30,8 % ($p < 0,01$), ніж в групі ДІО.

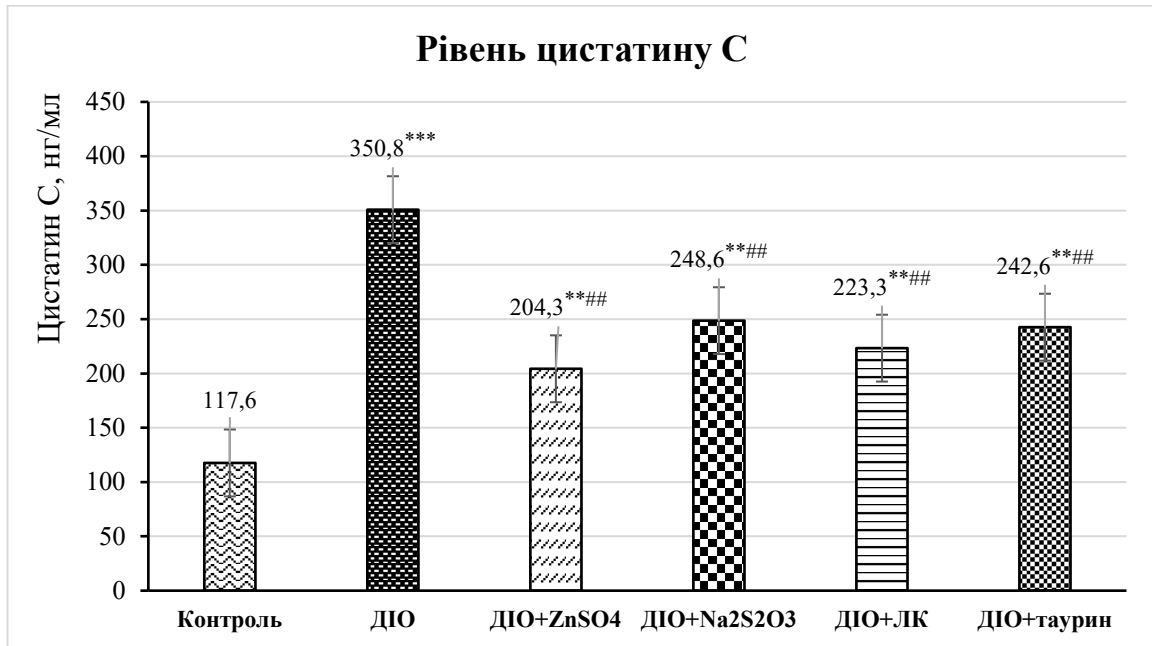


Рис. 5.1 Рівень цистатину С в сироватці крові щурів з ДІО та за дії модуляторів обміну H₂S (M±σ, n=10). Примітки: 1. **p<0,01; ***p<0,001 – відносно групи контролю; 2. ##p<0,01 – відносно групи ДІО (без корекції).

ВКД виклала погіршення стану каналцевого апарату нирок, про що свідчить статистично значуще збільшення екскреції з сечею ензиму епітелію проксимальних каналців ГГТ (рис. 5.2). Зокрема, у тварин з ДІО екскреція ГГТ була вищою (в 2,59 рази, p<0,001), ніж в контролі. Модулятори обміну H₂S зменшували розвиток ВКД-індукованих порушень тубулярного апарату нирок, про що свідчить нижчий рівень ензимурії ГГТ. Наприклад, рівень ГГТ в сечі в групах ДІО+ZnSO₄ та ДІО+ЛК був нижчим на 33,0 та 26,4 % (p<0,01), а в групах ДІО+Na₂S₂O₃ та ДІО+таурин був нижчим на 18,2 та 21,9 % (p<0,05) порівняно з групою ДІО.

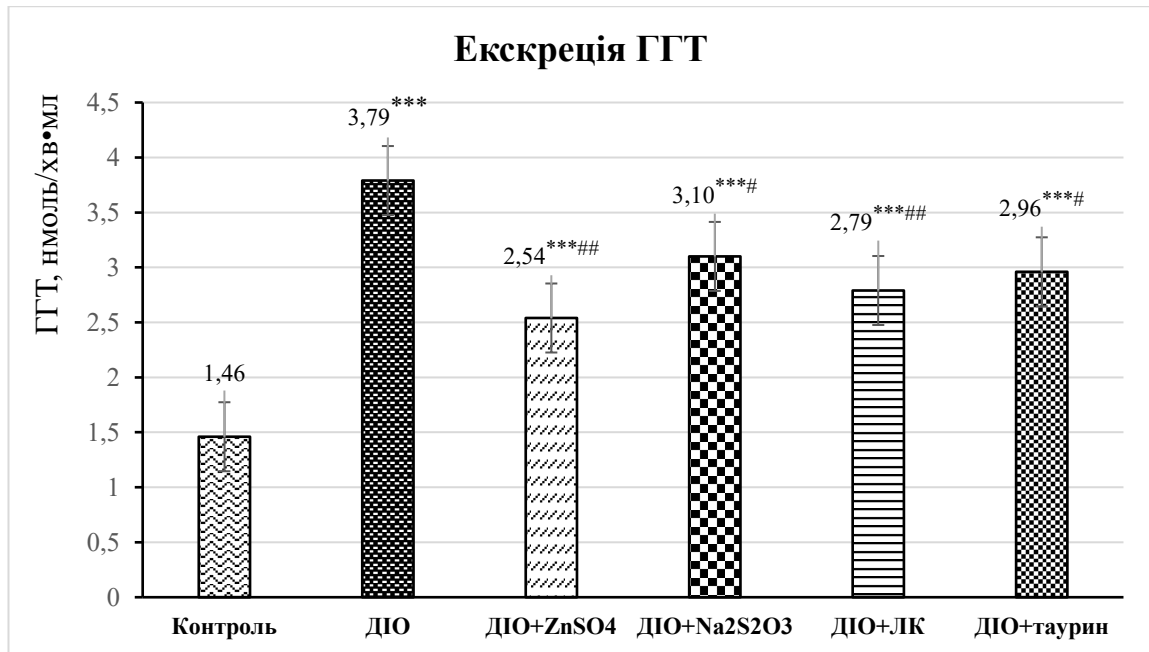


Рис. 5.2 Рівень ензимурії γ -глутамілтрансферази (ГГТ) у щурів з ДІО та за дії модуляторів обміну H_2S ($M \pm \sigma$, $n=10$). Примітки: 1. *** $p < 0,001$ – відносно групи контролю; 2. # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ – відносно групи ДІО (без корекції).

Кореляційний аналіз засвідчив статистично значущі асоціації між біохімічними показниками функціонального стану нирок та показниками системи H_2S , медіаторами запалення та фіброгенезу (табл. 5.2). Сильні обернені зв'язки реєструвались між нирковим рівнем H_2S та сироватковим рівнем креатиніну, цистатину С, ензимурією ГГТ ($r_s = -0,684$; $-0,793$ та $-0,791$, $p < 0,001$). Виявлялись статистично значущі обернені зв'язки між рівнем ниркової експресії генів ензимів транссульфування *CSE* та *CBS* та рівнем цистатину С, сироваткового креатиніну, ензимурією ГГТ ($r_s = -0,525$ – $-0,685$), $p < 0,01$) та прямий зв'язок з швидкістю клубочкової фільтрації, оціненої за кліренсом креатиніну ($r_s > 0,57$, $p < 0,001$).

Показники функціонального стану нирок статистично значуще корелювали з рівнем медіаторів запалення та фіброзу, при цьому найбільш сильні прямі асоціації виявлялись між нирковими рівнями IGF-1 та $TNF\alpha$ і сироватковим рівнем цистатину С ($r_s > 0,7$, $p < 0,001$), а також рівнем екскреції ГГТ ($r_s > 0,6$, $p < 0,001$). Кореляційний аналіз підтвердив, що індуковане ВКД зростання маси тіла, ІМТ, індексу Лі та індексу ожиріння (ІО) статистично

значуще асоціюється із маркерами ренальної дисфункції. При цьому найбільш тісний зв'язок виявлявся між рівнем цистатину С та ІМТ та ІО ($r_s > 0,5$, $p < 0,01$), у той час як між рівнем креатиніну та соматометричними параметрами виявлялись більш слабкі асоціації.

Таблиця 5.2

Коефіцієнти кореляції Спірмана показників функціонального стану нирок з біохімічними та соматометричними показниками у щурів з ДІО (n=50)

Показники	Показники функціонального стану нирок			
	Креатинін (сироватка)	Кліренс креатиніну	Цистатин С (сироватка)	ГГТ (ензимурія)
Кореляція з показниками системи H ₂ S в нирках (r _s)				
H ₂ S (нирки)	-0,684***	0,403*	-0,793***	-0,791***
мРНК CSE/β-актин	-0,595**	0,698***	-0,685***	-0,671***
мРНК CBS/β-актин	-0,525**	0,573***	-0,574***	-0,555**
Кореляція з медіаторами запалення та фіброзу в нирках (r _s)				
IGF-1	0,539**	0,565**	0,704***	0,639***
TNFα	0,598***	0,493**	0,716***	0,681***
Кореляція з соматометричними параметрами (r _s)				
Маса тіла	0,323*	0,247	0,407**	0,506**
ІМТ	0,339*	-0,472**	0,514**	0,503**
Індекс Лі	0,299*	-0,546**	0,468**	0,473**
Індекс ожиріння	0,301*	-0,344*	0,502**	0,484**

Примітки:

1. r_s – коефіцієнт кореляції Спірмана;
2. * – статистична значущість r_s (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001).

Таким чином, ДІО викликає розвиток ренальної дисфункції, виразними біохімічними ознаками якої є зростання рівня цистатину С та екскреції ГГТ, а модулятори обміну H₂S справляють нефропротекторний ефект.

5.2 Морфологічні зміни в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням та за дії модуляторів обміну гідроген сульфідом

Спочатку було оцінено морфологічний стан нирок і встановлені загальні закономірності їх структурної організації у щурів контрольної групи, які увесь термін досліду перебували на СД (рис. 5.3). Гістологічне дослідження засвідчило, що орган представлений стромою та паренхімою. Строма являє собою фіброзну капсулу, що побудована із щільної волокнистої сполучної тканини, яка збагачена ретикулярними клітинами і волокнами та прошарків пухкої сполучної тканини. Паренхіма розділена на кіркову і мозкову речовину та представлена епітеліальною тканиною, з якої походять ниркові тільця, звивисті, і прямі каналці. Кіркова речовина на препаратах займає периферичне положення, є темною і зернистою. Мозкова речовина паренхіми нирок мала центральне положення, була світлішою та посмуговою.

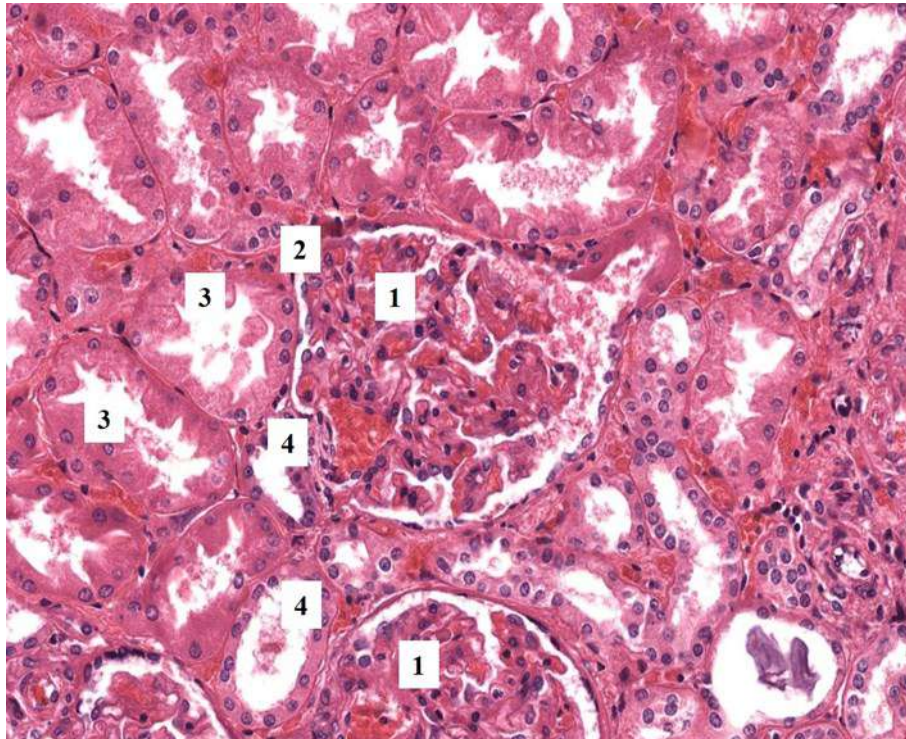


Рис. 5.3 Мікроскопічна організація паренхіми нирки щура контрольної групи. Судинний клубочок (1), капсула Боумена (2), проксимальні каналці нефрона (3), дистальні каналці нефрона (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 400.

Нефрони мали характерну будову та включали ниркові тільця і систему каналців. Судинний клубочок ниркових тілець представлений приносними і виносними артеріолами, між капілярами клубочка виявляли клітини мезангію. Капсула нефрона утворена зовнішнім та внутрішнім листками, між якими зосереджений сечовий простір. Обидва листки капсули характеризувались неперервністю будови. Зовнішня або парієтальна оболонка капсули Боумена вкрита одношаровим плоским епітелієм, що оточений базальною мембраною. Вісцеральний (внутрішній) листок капсули утворений специфічними епітеліальними клітинами – подоцитами (рис. 5.4).

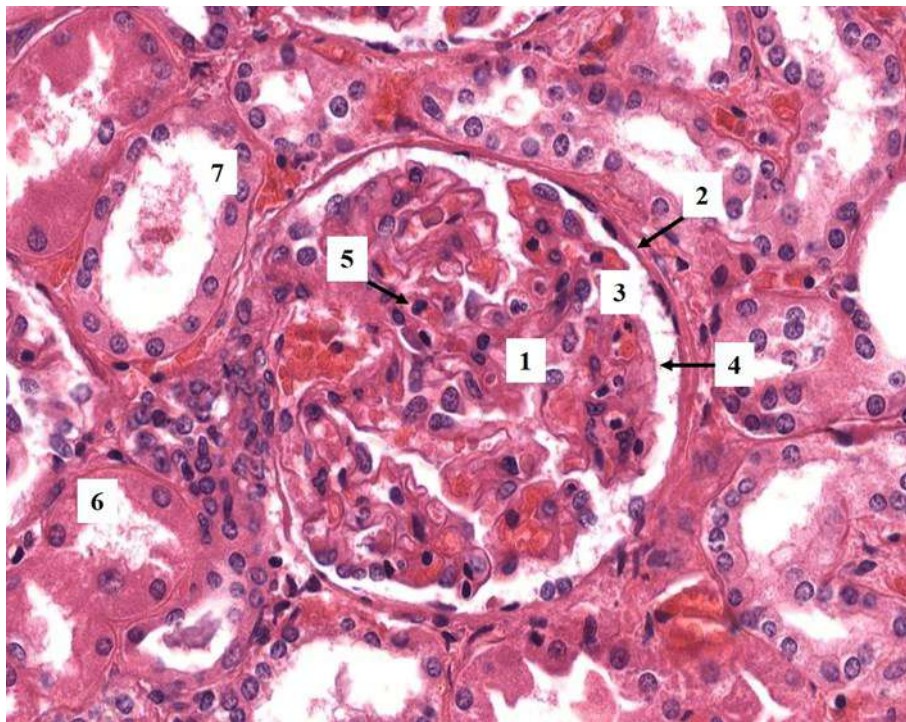


Рис. 5.4 Мікроскопічна організація паренхіми нирки щура контрольної групи. Судинний клубочок (1), зовнішня (2) та внутрішня (3) оболонки капсули Боумена, сечовий простір (4), клітини мезангію (5), проксимальні каналці нефрона (6), дистальні каналці нефрона (7). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. x 400.

Проксимальні каналці нефрона зсередини вистилені одношаровими циліндричними або кубічними епітеліоцитами, що розміщені на базальній мембрані. Цитоплазма даних клітин оксифільна, а самі клітини на апікальній поверхні формують щіточкову облямівку. Дистальні каналці нефронів вкриті

низьким призматичним епітелієм, що розміщений на базальній мембрані. Клітини даного відділу не мають облямівки, цитоплазма їх світліша, в порівнянні з такою в проксимальних канальцях. Збірні трубочки паренхіми нирок були побудовані з одношарового кубічного або циліндричного епітелію. В останньому спостерігали наявність темних та світлих клітин (рис. 5.5).

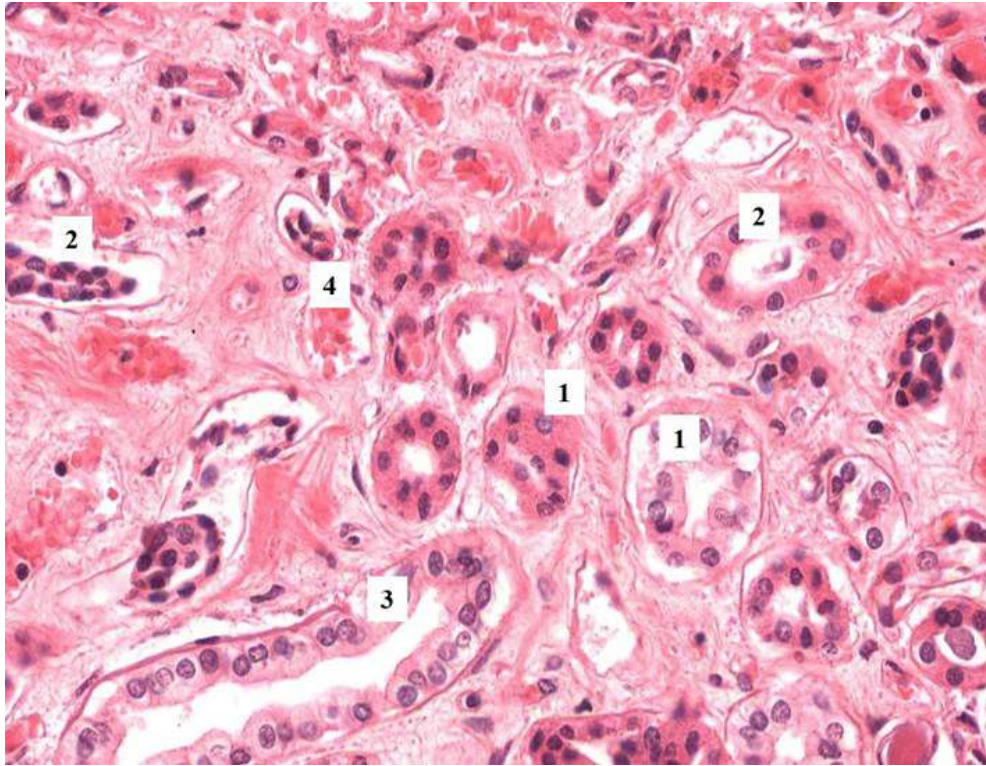


Рис. 5.5 Структурна організація канальців нефрона нирки щура контрольної групи. Проксимальні канальці нефрона (1), дистальні канальці нефрона (2), збірні трубочки (3), просвіт капіляра (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400.

При гістологічному дослідженні паренхіми нирок щурів з ДЮ спостерігали виражену інфільтрацію її лімфоцитами та макрофагами. В пристінкових шарах нефронів і між нирковими канальцями визначались вогнища лімфоцитарних інфільтратів. Клубочки нефронів фрагментовані. В більшій частині нефронів ниркові тільця мали ознаки деструкції. Внутрішній листок капсули Боумена деформований, несучільний. Визначалися прояви вакуольної дистрофії подоцитів. Сечові простори нефронів значно розширені. В ядрах клітин нефронів характерним було крайове стояння хроматину. Визначальною рисою є атрофія стінок дистальних канальців (рис. 5.6, 5.7).

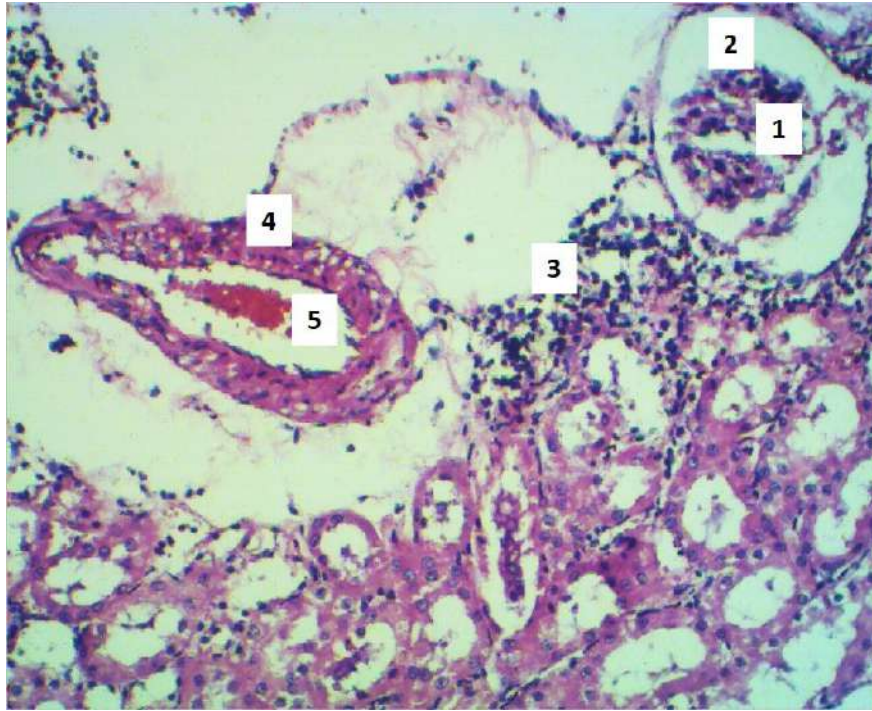


Рис. 5.6 Мікроскопічні зміни паренхіми нирки щура з ДІО. Ниркове тільце з ознаками фрагментації (1), сечовий простір (2), лейкоцитарна інфільтрація (3), набряк судинної стінки (4), складжі еритроцитів (5). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

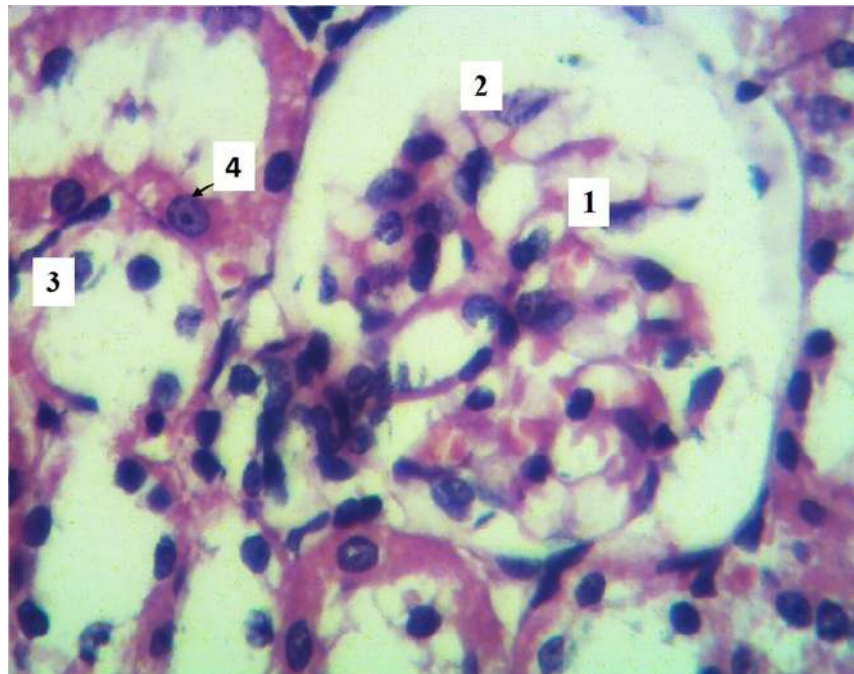


Рис. 5.7 Мікроскопічні зміни структури нефронів щурів з ДІО. Деструкція ниркових тілець (1), деформація внутрішнього листка капсули клубочка (2), атрофія стінки дистальних канальців (3), крайове стояння хроматину в ядрах (4). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. х 400.

У тварин з ДЮ структурні зміни виявляли також в стінці міжчасточкових судин. Остання була потовщена, набрякла, характеризувалась порушенням цілісності ендотеліального вистилення та частковим руйнуванням міжклітинних контактів і базальної мембрани. Цитоплазма гладких міоцитів середньої оболонки міжчасточкових артерій мала ознаки набряку, вакуолізації. Ядра зазначених клітин видовжені, химерної форми. В просвітах судин відмічалися явища сладжу і стазу еритроцитів (рис. 5.8).



Рис. 5.8 Гістологічні зміни судинної стінки міжчасточкової артерії нирки щура за умов експериментального ожиріння. Набряк і потовщення судинної стінки (1), ендотеліоцити (2), набряк медії (3), ядра гладких міоцитів (4), сладжі еритроцитів (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400.

За умов застосування цинк сульфату на фоні ВКД спостерігали позитивні зміни особливостей структурної організації нефронів ниркової паренхіми щурів з ДЮ (рис. 5.9, 5.10). Зокрема, характерним було зменшення сечових просторів, відновлення будови судинного клубочка. Зовнішня оболонка капсули суцільна, без ознак деструкції. Відмічали зменшення проявів запальних змін у вигляді поодиноких ділянок лейкоцитарної

інфільтрації. Наявні також подекуди дезорганізовані ниркові тільця. Стінка проксимальних та дистальних канальців нефронів в порівнянні з групою щурів з ДІО характеризувалась помірними атрофічними змінами.

Введення щурам натрій тіосульфату за умов експериментального ожиріння характеризувалось наявністю тенденції до покращення структури ниркової паренхіми. Однак, відмічали збереження ознак запалення, окремі нефрони мали прояви деструктивних змін, в просвітах ниркових канальців спостерігали клітинний детрит. Визначали розширення простору клубочкової капсули. В стінках судин характерними були ознаки набряку та дезорганізації епітеліального шару. В просвітах артерій ниркової паренхіми зосереджені формені елементи у вигляді складів еритроцитів (рис. 5.11, 5.12).

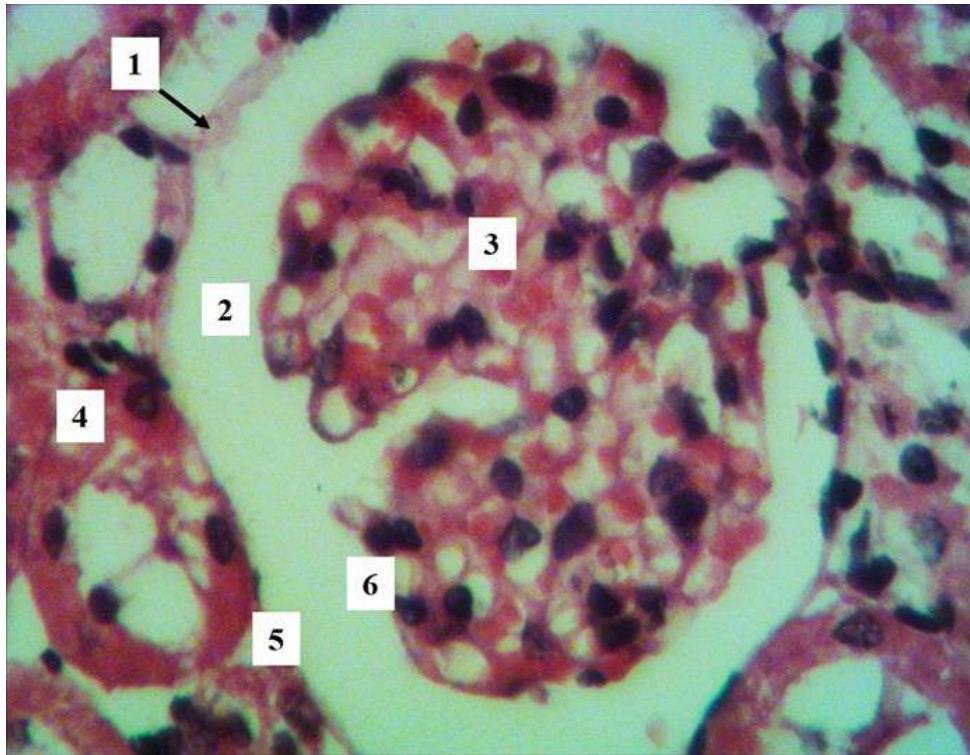


Рис. 5.9 Мікроскопічні зміни паренхіми нирки щура групи ДІО+ZnSO₄. Ниркове тільце (1), сечовий простір (2), судинний клубочок (3), дистальний каналець нефрона (4), зовнішня стінка капсули нефрона (5), внутрішня стінка капсули нефрона (6). Зabarвлення гематоксилином та еозином. x 400.

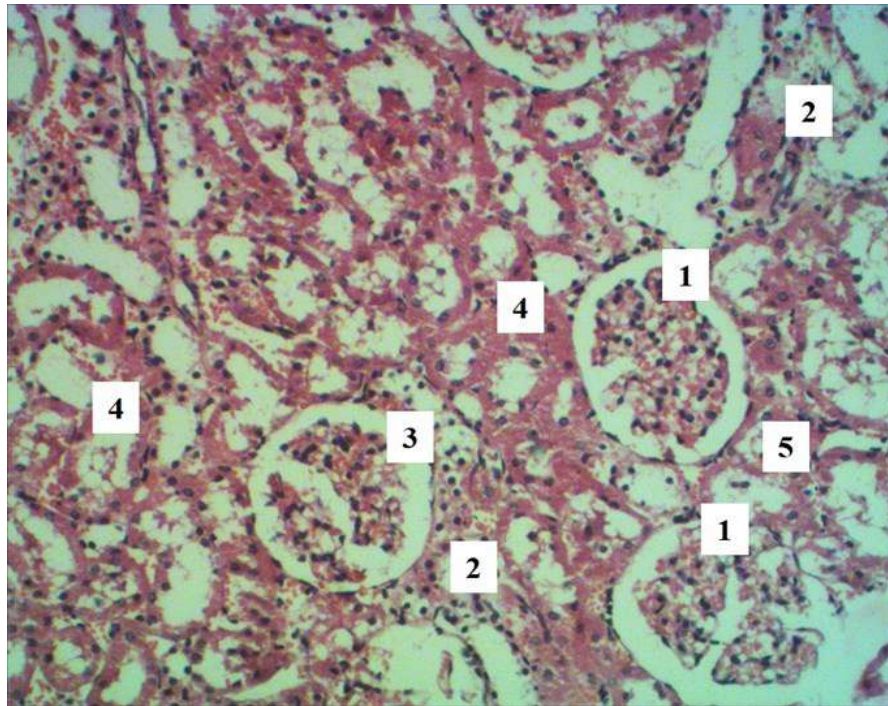


Рис. 5.10 Мікроскопічні зміни паренхіми нирки щура групи ДІО+ZnSO₄. Ниркове тільце (1), лейкоцитарна інфільтрація (2), сечовий простір (3), проксимальний каналець нефрона (4), дистальний каналець нефрона (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

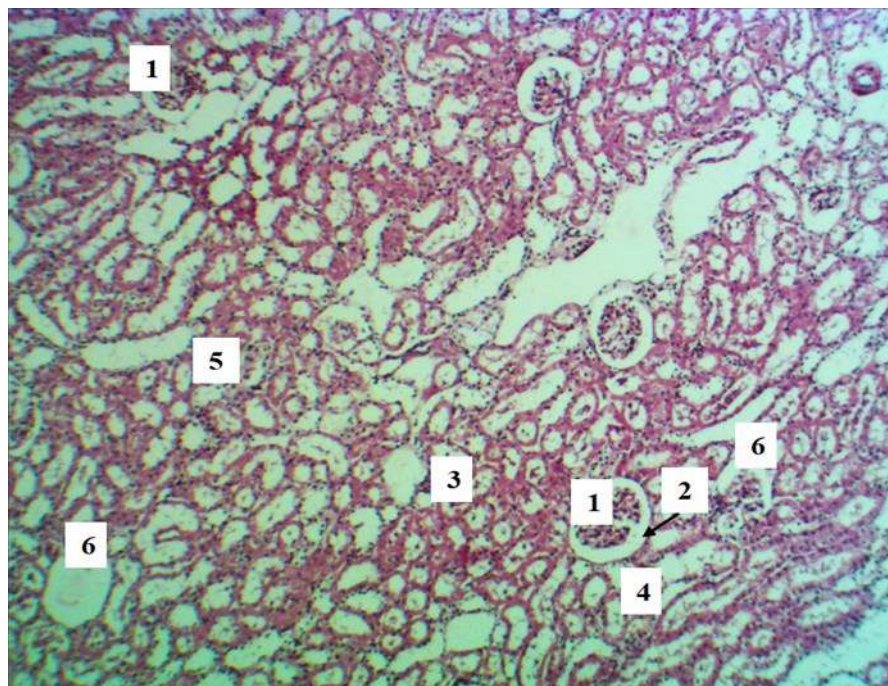


Рис. 5.11 Мікроскопічні зміни паренхіми нирки щура групи ДІО+Na₂S₂O₃. Нирковий клубочок (1), сечовий простір (2), проксимальний каналець нефрона (3), дистальний каналець нефрона (4), лейкоцитарна інфільтрація (5), деструкція нефрона (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 100.

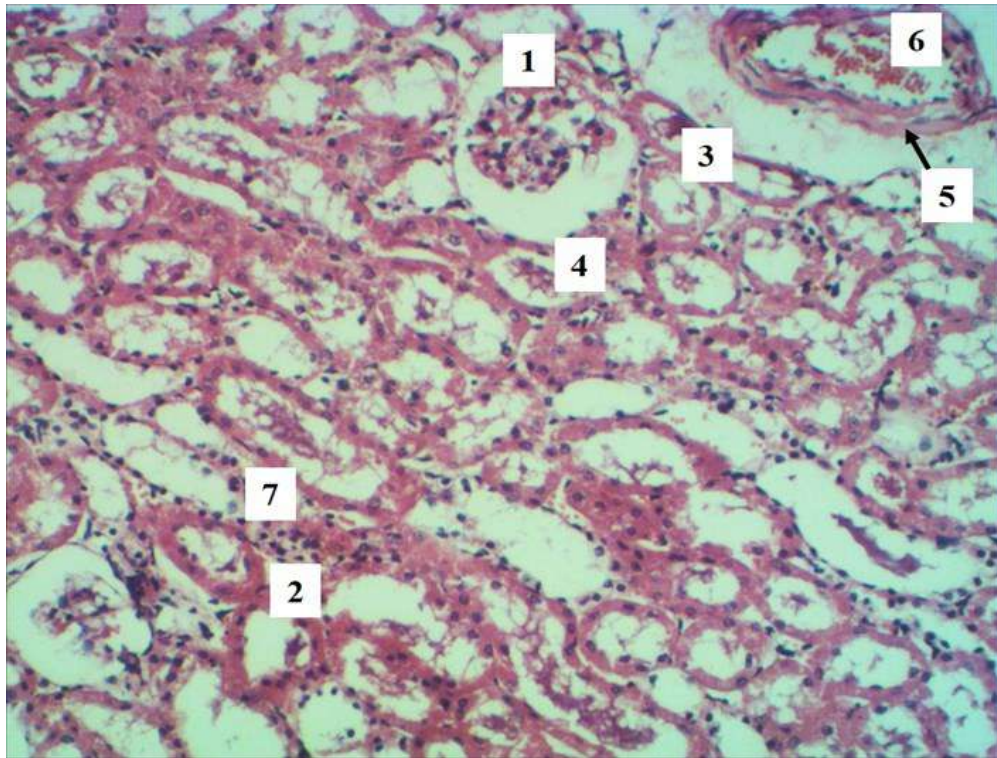


Рис. 5.12 Мікроскопічні зміни паренхіми нирки щура групи ДІО+Na₂S₂O₃. Ниркове тільце (1), проксимальний каналець нефрона (2), дистальний каналець нефрона (3), клітинний детрит в просвітах дистальних каналців (4), набряк судинної стінки (5), складж еритроцитів (6), лейкоцитарна інфільтрація (7). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200.

Введення ліпоєвої кислоти щурам з ДІО призводило до покращення морфологічної структури ниркової паренхіми. Будова судинного клубочка була збережена. В більшості нефронів сечовий простір не розширений, листки клубочкової капсули без суттєвих змін. Зберігались ознаки незначного запалення, що характеризувались наявністю поодиноких ділянок лейкоцитарної інфільтрації. Слід зазначити, що на фоні значних позитивних змін гістоструктури органу, виявляли розширення просвітів проксимальних та дистальних каналців нефрона з явищами набряку, деформації та атрофії їх стінок і наявність клітинного детриту. При використанні ліпоєвої кислоти у піддослідних тварин спостерігали ділянки проліферації компонентів сполучної тканини, що ймовірно є проявом процесів відновлення структурної організації ниркової паренхіми після впливу ВКД (рис. 5.13).

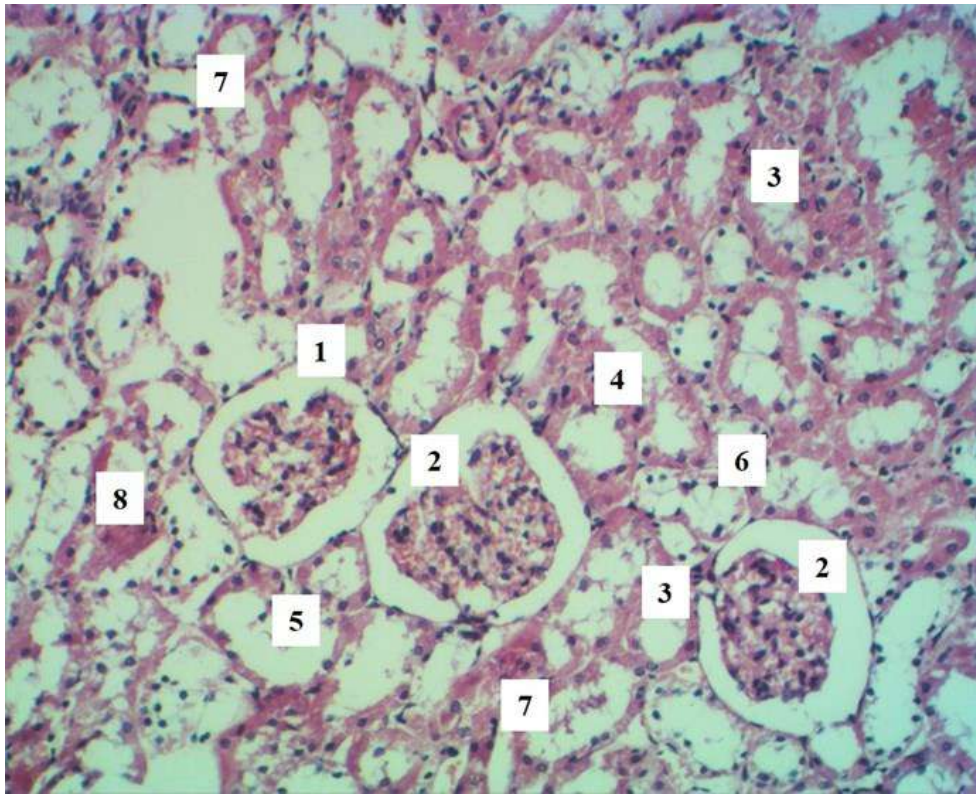


Рис. 5.13 Гістологічні зміни паренхіми нирки щура групи ДІО+ЛК. Ниркове тільце (1), сечовий простір (2), просвіт ниркових каналців (3), набряк (4), деформація (5) та атрофія (6) стінок ниркових каналців, клітинний детрит (7), проліферація сполучної тканини (8). Забарвлення гематоксилином та еозином. x 200.

Введення таурину викликало позитивні зміни морфології нирок у щурів з ДІО (рис. 5.14). Структура переважної більшості ниркових клубочків збережена, зовнішній та внутрішній листки капсули Боумена цілісні, простір між ними не розширений. Однак, подекуди спостерігали ділянки паренхіми органу з явищами деформації ниркових тілець. Наявне розширення просвітів проксимальних і дистальних каналців з присутністю в них циліндрів. Стінки каналців нефрона неоднорідні, з ознаками набряків, атрофії, некрозу епітеліального вистилення. Визначали також зони гістіолейкоцитарної інфільтрації. Характерною була зміна будови стінок судин ниркової паренхіми. Ендотеліальний шар інтиму артерій несучільний за рахунок порушення міжклітинних контактів. Середня оболонка набрякла, гладенькі

міоцити видовженої форми. Адвентиція деформована. В просвіті артерій чітко визначались складжі еритроцитів.

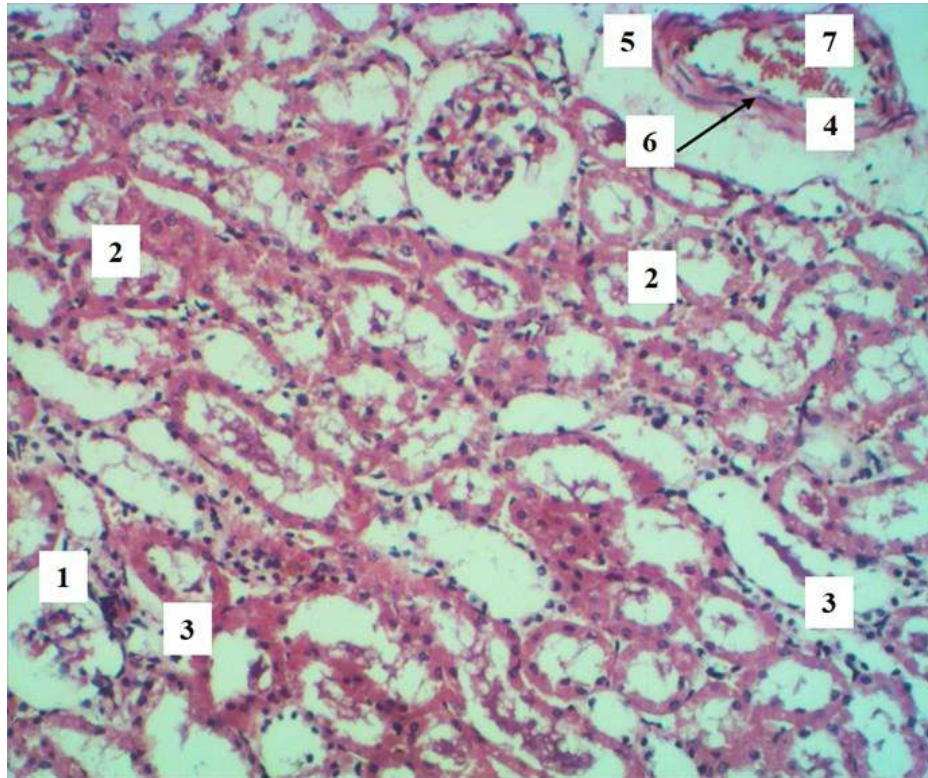


Рис. 5.14 Мікроскопічні зміни паренхіми нирки щура групи ДІО+таурин. Деформація ниркового тільця (1), просвіт ниркових канальців (2), лейкоцитарна інфільтрація (3), набряк (4) та деформація (5) стінки артерії, порушення цілісності ендотеліального шару інтими артерії (6), складжі еритроцитів (7). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200.

Резюме. Таким чином, розвиток ожиріння від впливом ВКД супроводжувався характерними біохімічними та морфологічними ознаками ушкодження клубочкового і канальцевого апарату, вираженою запальною реакцією паренхіми органу, пошкодженням структури судин із порушенням цілісності ендотелію, руйнуванням міжклітинних контактів. Усі метаболічні коректори стримували прогресування нефропатії, асоційованої з ДІО, зменшували сироватковий рівень цистатину С та рівень ензимурії ГГТ, при цьому відрізнялись за спектром та вираженістю морфологічних змін ниркової паренхіми. За умов ВКД найкращий ефект у відношенні збереження та

відновлення структурних елементів паренхіми нирок щурів справляли цинк сульфат і ліпоєва кислота, у той час як натрій тіосульфат та таурин викликали стійку тенденцію до зменшення морфологічних ознак нефропатії. За нефропротекторним ефектом за ДЮ метаболічні коректори можна розташувати наступним чином: цинк сульфат \geq ліпоєва кислота $>$ тіосульфат натрію \geq таурин.

Подальше вивчення молекулярних аспектів впливу метаболічних коректорів обміну H_2S на функціональний стан нирок дозволить запропонувати нові підходи до профілактики та корекції ренальної дисфункції, асоційованої з ожирінням.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях:
[3; 5].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ожиріння є вагомим чинником хронічної хвороби нирок. За ожиріння формується особлива гломерулопатія (obesity-related glomerulopathy) з гіперплазією клубочкового апарату, вогнищевим гломерулосклерозом, мікропротеїнурією, ушкодженням канальцевого апарату нирок [298; 306]. Ожиріння викликає широкий спектр системних метаболічних змін у нирках, що ведуть до утворення жирових відкладень у паренхімі нирок, погіршення ниркової гемодинаміки, нефролітазу [233; 236]. В регуляції функціонального стану нирок важливу роль відіграє гідроген сульфід (H_2S), який впливає на ниркову гемодинаміку, проявляє протизапальні, протифібротичні та протиапотичні властивості [9; 10; 157; 216]. При ожирінні порушується ендогенна продукція H_2S , але значення цих метаболічних змін залишається дискутабельним [18; 75; 246]. В експериментальних дослідженнях отримані неоднозначні дані щодо впливу донорів H_2S на масу тіла за умов високожирової дієти [103; 301]. Тому пошук ефективних та безпечних коректорів обміну H_2S в нирках за умов ожиріння залишається актуальним. Потенційними коректорами рівня ендогенного H_2S можуть виступати тіосульфат-аніон [224], ліпоева кислота [47], таурин [83] та цинк сульфат [321], які залучені до обміну сірковмісних амінокислот та їх похідних, володіють антиоксидантними та цитопротекторними властивостями. Вплив вказаних модуляторів на обмін H_2S та морфологічні зміни в нирках щурів за умов ожиріння потребує окремого вивчення.

Метою роботи було з'ясувати участь системи гідроген сульфіду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння та обґрунтувати шляхи корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну H_2S .

Для вирішення даної мети та реалізації поставлених завдань досліди були проведені на 156 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях із

початковою масою 150-190 г. Всі етапи дослідження виконували згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директив Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), що засвідчено комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №9 від 02.11.2017, №5 від 01.09.2022).

Модель ДІО викликали шляхом застосування ВКД (4,33 ккал/г, 39,5 % жирів) упродовж 10 тижнів. Стан ДІО вважали досягнутим за наявності соматометричного маркера ожиріння – індексу Лі $\geq 0,310$ на 8-ому тижні досліджу. Метаболічні коректори (потенційні модулятори обміну H_2S) – $ZnSO_4$ (124 мг/кг), $Na_2S_2O_3$ (300 мг/кг), α -ліпоєва кислота (ЛК, 100 мг/кг) і таурин (100 мг/кг) вводили в/шл з 9-го по 10-й тиждень досліджу. У визначені проміжки часу тварин піддавали евтаназії шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом (100 мг/кг в/оч). Групи щурів були репрезентативними за вихідними соматометричними параметрами. Також дослідні групи були репрезентативними за соматометричними параметрами станом на 56 добу дослідження.

Дослідження складалось з 3-х етапів: 1-й етап (розділ 3) – дослідили зміни соматометричних параметрів та ниркового рівня H_2S у щурів за дії ВКД та за введення потенційних модуляторів обміну H_2S ; 2-й етап (розділ 4) – встановили вплив метаболічних коректорів на показники обміну H_2S , рівні медіатору запалення (TNF α) і фіброгенезу (IGF-1) в нирках щурів за умов ДІО; 3-й етап (розділ 5) – встановили зміни функціонального та морфологічного стану нирок щурів з ДІО та за умов корекції модуляторами обміну H_2S .

За результатами нашого дослідження, через 8 тижнів застосування ВКД у щурів реєструвалось підвищення маси тіла, ІМТ та індексу Лі (на 36,6; 40,9 та 12,8 % $p < 0,001$ порівняно з контролем), що свідчило про наявність ДІО. У

щурів з ДІО, які не отримували метаболічну корекцію, через 2 тижні ознаки ожиріння виявились ще більш виразними: маса тіла, ІМТ та індекс Лі були вищими на 42,1; 52,4 та 16,4 % ($p < 0,001$), а відносний приріст маси тіла за останні 2 тижні був вдвічі вищим ($13,7 \pm 2,34$ % проти $6,69 \pm 0,26$ %, $p < 0,001$) порівняно з контролем. Застосування ВКД викликало накопичення внутрішнього жиру у щурів, що засвідчує збільшення ІО ($3,30 \pm 0,25$ % проти $4,72 \pm 0,25$, $p < 0,001$) порівняно з контролем.

Введення потенційних модуляторів обміну H_2S (кофакторів та метаболітів сірковмісних амінокислот) стримувало прогресування ожиріння: відносний приріст маси тіла в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ЛК був нижчим на 46,7 % та 54,2 % ($p < 0,05$), а в групах ДІО+ $Na_2S_2O_3$ та ДІО+таурин – на 20,4 % та 21,2 % ($p < 0,05$), ніж в групі ДІО без корекції. Усі метаболічні коректори стримували накопичення внутрішнього жиру за умов ВКД: ІО в групі ДІО був вищим на 43,0 % ($p < 0,001$) порівняно з контролем, а в групах ДІО+ $ZnSO_4$, ДІО+ $Na_2S_2O_3$, ДІО+ЛК та ДІО+таурин – 27,0; 36,4; 24,2 та 30,6 % ($p < 0,001$), відповідно. Також в групах цинк сульфату, ліпоєвої кислоти та таурину ІО був статистично значуще нижчим (на 11,2; 13,1 % ($p < 0,01$) та 8,7 % ($p < 0,05$)), ніж у нелікованих щурів. За здатністю стримувати розвиток ДІО потенційні модулятори обміну H_2S можна розташувати наступним чином: ліпоєва кислота > цинк сульфат > таурин > натрій тіосульфат.

Вплив метаболічних коректорів на розвиток ожиріння може реалізуватись через різні механізми. Так, відомо, що ліпоєва кислота стримує розвиток ожиріння: через інгібування АМРК гіпоталамуса, що активує окислення жирних кислот та пригнічення накопичення адипоцитів [148]; шляхом активації АМРК у м'язовій тканині, що призводить до збільшення надходження глюкози та до активації β -окислення жирних кислот у м'язових клітинах [176]; через антиоксидантні властивості та індукцію розз'єднуючого білка-1 (UCP-1) на рівні жирової тканини [88]; шляхом пригнічення секреції лептину та активності Sp1 в адипоцитах [237]. Механізми, що стримують прогресування ожиріння при введенні Zn^{2+} , включають: зменшення утворення

лептину адипоцитами; послаблення інфільтрації макрофагів у жировій тканині [184]; індукування олігомеризації цинк- α_2 -глікопротеїну (адипокінін) [310], який стимулює секрецію адипонектину [48], активує експресію γ -коактиватора 1- α рецептора, активованого проліфератором пероксисом (PGC1 α) [186], та пригнічує АКТ-залежну передачу сигналу інсуліну шляхом активації β_2 -адренорецепторів і збільшує активність PP₂A-фосфатази [60]. Таурин запобігає розвитку ожиріння шляхом опосередкованої АМПК сигнальної індукції PGC1 α в білих адипоцитах [112] та зниження експресії генів пов'язаних з адипогенезом, таких як PPAR- α , PPAR- γ , C/EBP- α , C/EBP- β і AP2, інгібує адипогенез в білій жировій тканині [243].

Отримані нами дані узгоджуються з результатами клінічних досліджень, які показали, що препарати цинку та ліпоєвої кислоти сприяють зниженню маси тіла у осіб з ожирінням [146; 214].

Слід зауважити, що раніше були отримані неоднозначні дані щодо впливу неорганічного донору H₂S – NaHS на динаміку маси тіла за умов високожирової дієти (ВЖД) [103; 301]. Показано, що донори H₂S та стимулятори його ендогенної продукції інгібують ліполіз, стимулюють адипогенез та депонування жиру в білій жировій тканині [103; 301]. За іншими даними, введення донору H₂S (NaHS) зменшує масу тіла, знижує акумуляцію ліпідів та експресію прозапальних цитокінів в нирках та покращує фільтраційну функцію за умов ВЖД [293]. Таким чином, відсутність ліпогенного ефекту у застосованих нами потенційних модуляторів обміну H₂S можна розцінювати як суттєву перевагу за умов ВЖД-індукованих метаболічних розладів порівняно з неорганічним донором NaHS.

За результатами нашого дослідження, розвиток ДІО супроводжувався помірним підвищенням відносної маси нирок щурів (на 9,2 %, p<0,05) порівняно з параметрами нирок в групі контролю, що можливо пов'язано з ектопічним накопиченням ліпідів у паренхимі нирок, активацію процесів запалення та фіброзу, порушенням гемодинаміки та набряком. Двотижневе

введення коректорів не поглиблювало ВКД-індукованих змін відносної маси нирок у щурів з ДІО в жодній групі.

Прогресування ожиріння пов'язане з посиленням ліпогенезу в результаті позитивного балансу калорій, а велика кількість ліпідів призводить до збільшення системної доступності вільних жирних кислот та їх накопичення поза жировою тканиною [28; 166]. Надлишок калорій акумулюється у вигляді тригліцеридів у жировій тканині, однак надлишки ліпідів також можуть накопичуватися ектопічно в інших органах, включаючи нирку [130]. Це призводить до вторинного ураження органів внаслідок ліпотоксичності та дисліпідемії [166; 210]. Ліпотоксичність в нирках реалізується через відкладання надлишку тригліцеридів в клубочках і проксимальних ниркових канальцях, що призводить до пошкодження мембрани клубочків та подоцитів [166; 210], збільшення мембранної проникності та втрати альбуміну – активатору ліпопротеїнліпази [166], підвищенням резистентності до інсуліну, оксидативним стресом та ендотеліальною дисфункцією, прозапальними змінами [28; 166].

Нещодавно засвідчено, що у пацієнтів з морбідним ожирінням зростає рівень H_2S в плазмі крові [75], але зміни рівня H_2S в нирках при ожирінні остаточно не з'ясовані. Результати наших досліджень показали, що розвиток ДІО асоціювався зі зниженням рівня H_2S в нирках на 47,4 % відносно контролю ($1,65 \pm 0,39$ проти $3,14 \pm 0,43$ нмоль/мг протеїну, $p < 0,001$). Між рівнем H_2S в нирках та ІМТ, індексом Лі та індексом ожиріння виявлялись обернені кореляційні зв'язки ($r_s = -0,435$; $-0,381$; $-0,449$, $p < 0,01$). Показано, що цинк сульфат та ліпоева кислота більш ефективно підвищували рівень H_2S в нирках (на 46,1 % та 50,3 %, $p < 0,01$), помірний ефект справляли тіосульфат і таурин (33,3 % та 39,3 %, $p < 0,05$). Таким чином, усі метаболічні коректори зменшували дефіцит H_2S в нирках щурів за умов ДІО і ці дані були отримані нами вперше.

Здатність вказаних коректорів нормалізувати обмін H_2S в нирках при ожирінні може реалізуватись через різні механізми, зокрема через регуляцію

активності та експресії генів ензимів обміну сірковмісних амінокислот. Тому на наступному етапі нами була проведена комплексна оцінка впливу метаболічних коректорів на різні шляхи обміну H_2S у нирках за умов ДІО. Встановлено, що у щурів з ДІО зміни обміну H_2S в нирках характеризувались зниженням H_2S -продукуючої активності ензимів транссульфування – цистатіонін- γ -ліази, цистатіонін- β -синтази (на 53,5; 48,6 %, $p < 0,001$); зниженням активності шляху цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруват-сульфуртрансферази (на 51,9 %, $p < 0,001$) та тіосульфатзалежного обміну H_2S за участі тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітоксидази (на 49,7; 40,5; 39,2 %, $p < 0,001$). Усі застосовані метаболічні коректори зменшували розлади обміну H_2S в нирках щурів з ДІО, при цьому цинк сульфат та ліпоєва кислота найбільш ефективно підвищували активність ензимів транссульфування (в 1,40-1,69 рази, $p < 0,01$) та тіоредоксинредуктази (в 1,45 та 1,39 рази, $p < 0,01$), натрій тіосульфат більш суттєво підвищував активність тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази та сульфітоксидази (в 1,69 та 1,41 рази, $p < 0,01$), а таурин справляв помірний вплив на продукцію H_2S . Ці дані були отримані нами вперше. За умов ДІО в нирках щурів знижувалась експресія генів ензимів транссульфування (відносні рівні мРНК *CSE* / β -актин та мРНК *CBS* / β -актин були нижчими на 59,7 % та 54,2 % ($p < 0,001$), ніж в контролі. Серед метаболічних коректорів лише цинк сульфат та ліпоєва кислота викликали підвищення експресії генів *CSE* (на 51,8 та 40,7 %, $p < 0,01$) та *CBS* (на 68,4 та 50,0 %, $p < 0,01$) в нирках за умов ДІО.

Повідомлялось, що у мишей, за умов 16-ти тижневої ВЖД в нирках не змінюється експресія *CSE* та *CBS* [228]. Згідно новіших даних, у мишей з ожирінням, індукованим високожировою дієтою протягом 8-ми тижнів, знижується експресія *CBS* та не змінюється експресія *CSE* у нирках. Зниження регуляції шляху *CBS* / H_2S може бути патогенетичним механізмом ушкодження нирок за умов ожиріння [185]. Експресія *CSE* та *CBS* регулюється запаленням, оксидативним стресом, стресом ендоплазматичного ретикулуму і мітохондрій, та фіброзом [139; 255]. Також відомо, що у тварин за умов ВЖД

знижується активність H_2S -продукуючих ензимів у міокарді [248] і у печінці [53; 179], та знижується активність у печінці тіоредоксинредуктази [216].

Відновлення ендogenous синтезу H_2S може покращити ендотелій-залежну вазодилатацію [86; 213] та відновити тіол-дисульфідну рівновагу, що зменшить розвиток оксидативного стресу [158].

Для ожиріння характерним є розвиток оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції, зниження пулу відновлених тіолів, формування дефіциту цинку [73; 146; 247]. За цих умов активність редокс-чутливих ензимів обміну H_2S в нирках може суттєво знижуватись, що спостерігалось у даному дослідженні. Зниження рівня H_2S може призвести до мітохондріальної дисфункції: посилити мітохондріальний стрес та погіршити роботу електронно-транспортного ланцюга [19]. Тіосульфат-аніон є потужним відновником і субстратом для мітохондріального синтезу H_2S в тіосульфат(тіол)сульфуртрансферазних реакціях [180]. Введення $Na_2S_2O_3$ з питною водою (2 г/кг) підвищувало рівень H_2S та тіосульфат-аніону в плазмі крові та зменшувало гіпертензію у щурів з аденін-індукованою ХХН [125]. Існують докази, що ліпоєва кислота підвищує експресію гену тіоредоксинредуктази [167], забезпечує вивільнення H_2S з полісульфідів [47]. Цинк підвищує стабільність тіоредоксину та збільшує його відновні властивості [87], регулює вуглеводний та ліпідний обмін, зменшує оксидативний стрес, підвищує активність антиоксидантних ензимів [175; 249]. Таурин підвищував судинну експресію ЦГЛ та ЦБС у спонтанно-гіпертензивних щурів [83], інгібував адипогенез у білій жировій тканині мишей з дієт-індукованим ожирінням [243].

Запалення, пов'язане з ожирінням, зараз вважається головним патологічним явищем, що спричиняє ураження нирок [129]. При запаленні активація шляху CD36 (транслоказа жирної кислоти) супроводжується ураженням нирок і підвищує схильність до ХХН за умов ожиріння [305]. Характерними складовими розвитку ХХН при ожирінні є порушення гемодинаміки нирок [81], гіпертрофія клубочкової тканини, потовщення

клубочкової базальної мембрани [218], дисфункція ендотелію основи мембрани та подоцитів [129; 218], накопичення мезангіального матриксу, атрофією каналців [81; 218], ниркове запалення, інтерстиціальний фіброз та прогресуюче зниження функції нирок (із збільшенням альбумінурії та зниженням ШКФ [11; 81; 218]. Ожиріння прискорює прогресування ниркової недостатності за діабетичної нефропатії, гіпертонічного нефросклерозу, вогнищового та сегментарного клубочкового склерозу [62; 291].

Слід відзначити, що вісцеральна жирова тканина є не лише простим органом зберігання жиру, але й динамічною тканиною, що бере участь у синтезі адипокінів: лептину, адипонектину, ангіотензиногену, прозапальних інтерлейкінів (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10), TNF α , хемокінінів та факторів росту: моноцитарний хемоатрактантний білок-1 (MCP-1), фактор росту ендотелію судин (VEGF) та трансформуючий фактор росту бета (TGF- β), гострофазових реагентів: інгібітору активатора плазміногену-1 (PAI-1), факторів альтернативної системи комплементу [81; 166], надмірної продукції ROS [66], які потім безпосередньо стимулюють ураження нирок, посилюють вазоконстрикцію та зменшують вазодилатацію [129].

ДіО-асоційовані порушення обміну H₂S асоціювались з підвищенням ниркових рівнів медіаторів запалення, ліпогенезу та фіброгенезу IGF-1 та TNF α в 2,56 та 2,29 рази (p<0,001). Рівні IGF-1 та TNF α обернено корелювали з рівнем експресії генів *CSE* (r_s = -0,595, -0,518, p<0,01) та *CBS* (r_s = -0,528, -0,357, p<0,01), рівнем H₂S (r_s = -0,649; -0,757, p<0,001). Встановлено, що усі модулятори обміну H₂S забезпечували зниження ниркових рівнів IGF-1 та TNF α (в 1,4-1,9 рази, p<0,01), при цьому більш виразний ефект справляли цинк сульфат та ліпоєва кислота.

Зміни обміну H₂S в нирках, індуковані ожирінням, можуть порушувати загальний гомеостаз, імунний захист, знижувати адаптивні резерви організму [259]. ВЖД індукує в нирках складний комплекс біохімічних порушень – оксидативний стрес, запалення, фіброгенез [218; 242], ектопічну акумуляцію жирів [187], порушення експресії інсулінових рецепторів [172]. В нирках IGF-

1 відіграє таку роль: має плейотропний вплив на клітинну проліферацію, апоптоз, гіпертрофію та диференціацію [120; 163; 222]; впливає на ниркову гемодинаміку [36] та каналцеву реабсорбцію води, натрію та фосфату [163]; індукує швидке збільшення ниркового кровотоку та ШКФ разом зі зниженням опору ниркових судин [222].

Блокування дії IGF-1 зменшує гломеруломегалію, запальну інфільтрацію, тубулоінтерстиціальний фіброз за діабетичній нефропатії у щурів [85]. Тому, здатність вищевказаних кофакторів та похідних сірковмісних амінокислот коригувати рівень IGF-1 та TNF α в нирках, поряд із впливом на експресію ензимів обміну H₂S, підтверджує їх високий нефропротекторний потенціал при ожирінні.

За умов ДІО виявлялись біохімічні ознаки ренальної дисфункції – підвищення сироваткових рівнів креатиніну (в 1,27 рази, $p < 0,01$) та цистатину С (в 2,98 рази, $p < 0,001$), зниження кліренсу креатиніну (в 1,29 рази, $p < 0,001$), підвищення екскреції γ -глутамілтрансферази (в 2,59 рази, $p < 0,001$). Усі модулятори обміну H₂S зменшували ознаки дисфункції клубочкового та каналцевого апарату за умов ДІО, при цьому найбільш виразний ефект викликали цинк сульфат та ліпоєва кислота: рівні цистатину С знизились на 41,8 та 36,3 % ($p < 0,01$), креатиніну – на 13,6 та 14,7 % ($p < 0,05$), ензимурії – на 33,0 та 26,4 % ($p < 0,01$), кліренс креатиніну збільшився на 16,0 та 20,9 % ($p < 0,05$), відповідно, відносно нелікованих щурів. Між нирковим рівнем H₂S та рівнями креатиніну, цистатину С, ензимурії ГГТ виявлені сильні обернені зв'язки ($r_s = -0,684$; $-0,793$ та $-0,791$, $p < 0,001$).

Як відомо, цистатин С є ендогенним інгібітором цистеїнових протеїназ, який утворюється всіма еукаріотичними клітинами і виділяється в плазму крові з постійною швидкістю [128]. Це протеїн з молекулярною масою 13 кДа, що вільно фільтрується клубочками нирок. Після фільтрації цистатин С практично повністю реабсорбується і катаболізується проксимальними каналцями без значного виведення із сечею. Тому за фізіологічних умов його не виявляють у сечі і концентрація цього білку в плазмі крові залежить

виключно від клубочкової фільтрації [96]. Концентрація цистатину С в плазмі крові не залежить від м'язової маси, дієти, статі та віку [230]. Рівень цистатину С в крові зростає на ранніх етапах ренальної дисфункції [212], що засвідчено і в нашому дослідженні. γ -Глутамілтрансфераза (ГГТ) – це глікопротеїн, функцією якого є відновлення цистеїну з позаклітинного глутатіону [115]. ГГТ потрапляє в сечу із зруйнованих епітеліальних клітин проксимальних каналців нирок, де він міститься у високій кількості [197]. ГГТ у нирках забезпечує реабсорбцію амінокислот з первинної сечі [78]. Підвищення активності ГГТ у сечі реєструється на ранній стадії ураження нирок і вказує на пошкодження проксимальних каналців внаслідок деструкції їх епітеліальних клітин [8]. Таким чином, за результатами даного дослідження, цистатин С та ГГТ виявились чутливим маркерами ВКД-індукованих змін у нирках щурів, а також дозволили оцінити вплив модуляторів обміну H_2S на стан клубочкового та каналцевого апарату у щурів з ДІО.

Результати гістологічних досліджень нирок щурів з ДІО узгоджувались з вищевказаними змінами біохімічних маркерів ренальної дисфункції. Так, у щурів з ДІО реєструвались характерні зміни морфології нирок, із ушкодженням клубочкового і каналцевого апарату, вираженою запальною реакцією паренхіми органу, пошкодженням структури судин із порушенням цілісності ендотелію, руйнуванням міжклітинних контактів пошкодженням структури судин, які свідчили про формування нефропатії. Зміни соматометричних параметрів та порушення стану нирок у щурів за умов ВКД узгоджувались з результатами інших досліджень [159]. Так, застосування ВКД упродовж 96 діб викликало зниження гломерулярної фільтрації, підвищення ехогенності нирок та порушення ниркового кровотоку у дослідних щурів [159]. 16-ти тижнева ВКД викликала у мишей підвищення екскреції альбуміну, втрату подоцитів, гіпертрофію нирок і збільшення об'єму ниркових клубочків і відкладенням колагену за відсутності мезангіального розширення [261]; у щурів призводить до тубулоінтерстиціального пошкодження, артеріолопатії та відкладення амیلіоду, локалізованого в клубочках нирок [52]. Застосування

ВКД упродовж 10-ти тижнів викликало вогнищеву інтерстиціальну інфільтрацію мононуклеарних клітин та мезангіальне розширення у нирках щурів [274]. Застосування ВКД упродовж 20 місяців пригнічує ниркову аутофагію та посилює окисне пошкодження нирок у щурів [79].

Усі модулятори обміну H_2S стримували прогресування нефропатії, асоційованої з ДІО, однак відрізнялись за спектром та вираженістю змін ниркової паренхіми. В умовах ВКД найкращий ефект щодо підвищення рівня H_2S , збереження та відновлення структурних елементів паренхіми нирок щурів справляли цинк сульфат і ліпоева кислота. Натрій тіосульфат та таурин викликали стійку тенденцію до зменшення морфологічних ознак нефропатії, асоційованої з ожирінням. Отримані нами результати узгоджуються нефропротекторним ефектом зазначених модуляторів за інших патологічних станів. Зокрема, введення $Na_2S_2O_3$ (0,1 г/кг інтраперітонеально) зменшувало ознаки ураження нирок, справляло антифібротичний та антиапоптичний ефект у щурів з моделлю реноваскулярної гіпертензії [68]. Введення $Na_2S_2O_3$ (400 мг/кг перорально 28 діб) зменшувало прояви ренальної дисфункції та ішемічно-гіпоксичного ушкодження нирок у щурів [206]. Введення $Na_2S_2O_3$ в дозі 2 г/кг маси з питною водою покращувало гемодинаміку, нормалізувало артеріальний тиск та підвищувало рівень H_2S в плазмі крові у щурів з моделлю аденін-індукованої хронічної хвороби нирок [125]. Застосування $Na_2S_2O_3$ (400 мг/кг перорально упродовж 28 діб) зменшувало ознаки ренальної дисфункції та ішемічно-гіпоксичного ушкодження нирок у щурів з нирковою недостатністю [206]. Ліпоева кислота і таурин справляли нефропротекторний ефект за експериментального цукрового діабету [38; 94]. Ліпоева кислота сприяє підвищенню клубочкової фільтрації у пацієнтів з хронічною хворобою нирок [200]. Застосування ліпоевої кислоти (50 мг/кг перорально 14 діб) запобігає у щурів доксорубіцин-індукованої нефротоксичності, що можна пояснити її антиоксидантною, протизапальною та антиапоптозною діяльністю [89]. Введення таурину (50 мг/кг перорально 10 діб) у щурів забезпечує гепаторенальний захист від апоптозу та оксидативного стресу, індукованого

пестицидом фіпронілом [25]. Таурин (250, 500, 1000 мг/кг інтраперітонеально 14 діб) зменшує у щурів ураження нирок, яке викликане сульфазалазином [121]. Застосування таурину (200 мг/кг перорально 45 діб) пригнічувало у щурів оксидативне пошкодження нирок, яке індуковане фтором, а також покращувало їх гістологію [27]. Нещодавно встановлено, що дефіцит цинку підвищує ризик розвитку ХХН [137; 281]. Введення Zn^{2+} (2,8 мг/кг інтраперітонеально 3 доби) у 5/6 нефректомованих щурів полегшувало ниркову анемію шляхом індукції еритропоезу [95]. Застосування Zn^{2+} (8,25 мг/кг перорально 28 діб) сприяє кращому загоєнню нирок щурів після травматичного ушкодження [251]. Zn^{2+} (15 мг/кг перорально 45 діб) зменшує кадмій-індуковане окисне пошкодження нирок щурів [231]. Введення Zn^{2+} (20 мг/кг перорально 42 доби) під час вагітності та лактації у щурів проявляє захисний ефект проти нефротоксичності, спричиненої миш'яком [215]. Застосування Zn^{2+} (50 мг/кг перорально 8 тижнів) покращує гістопатологічні зміни нирок щурів під час субхронічного впливу гербіциду гліфосату [280].

На підставі аналізу наукової літератури та результатів власних досліджень була розроблена схема участі системи H_2S у механізмах розвитку нефропатії ожиріння та окреслені напрямки впливу метаболічних коректорів на обмін H_2S (рис. 6.1). Серед пускових механізмів ренальної дисфункції важливу роль відіграє пригнічення процесів синтезу та утилізації H_2S , активація продукції прозапальних цитокінів, підвищення продукції факторів росту. Метаболіти (таурин, тіосульфат) та кофактори (ліпоева кислота, цинк) обміну сірковмісних амінокислот коригують різні ланки обміну H_2S у нирках, виявляють протизапальний та антифібротичний ефект, і в цілому ефективно стримують розвиток нефропатії ожиріння на тлі ВКД. За збільшенням нефропротекторного ефекту за умов ДЮ метаболічні коректори можна розташувати наступним чином: цинк сульфат \geq ліпоева кислота $>$ натрій тіосульфат \geq таурин. Подальші дослідження механізмів органопротекторної дії модуляторів мітохондріальних шляхів обміну H_2S за умов ожиріння залишаються найбільш перспективними.

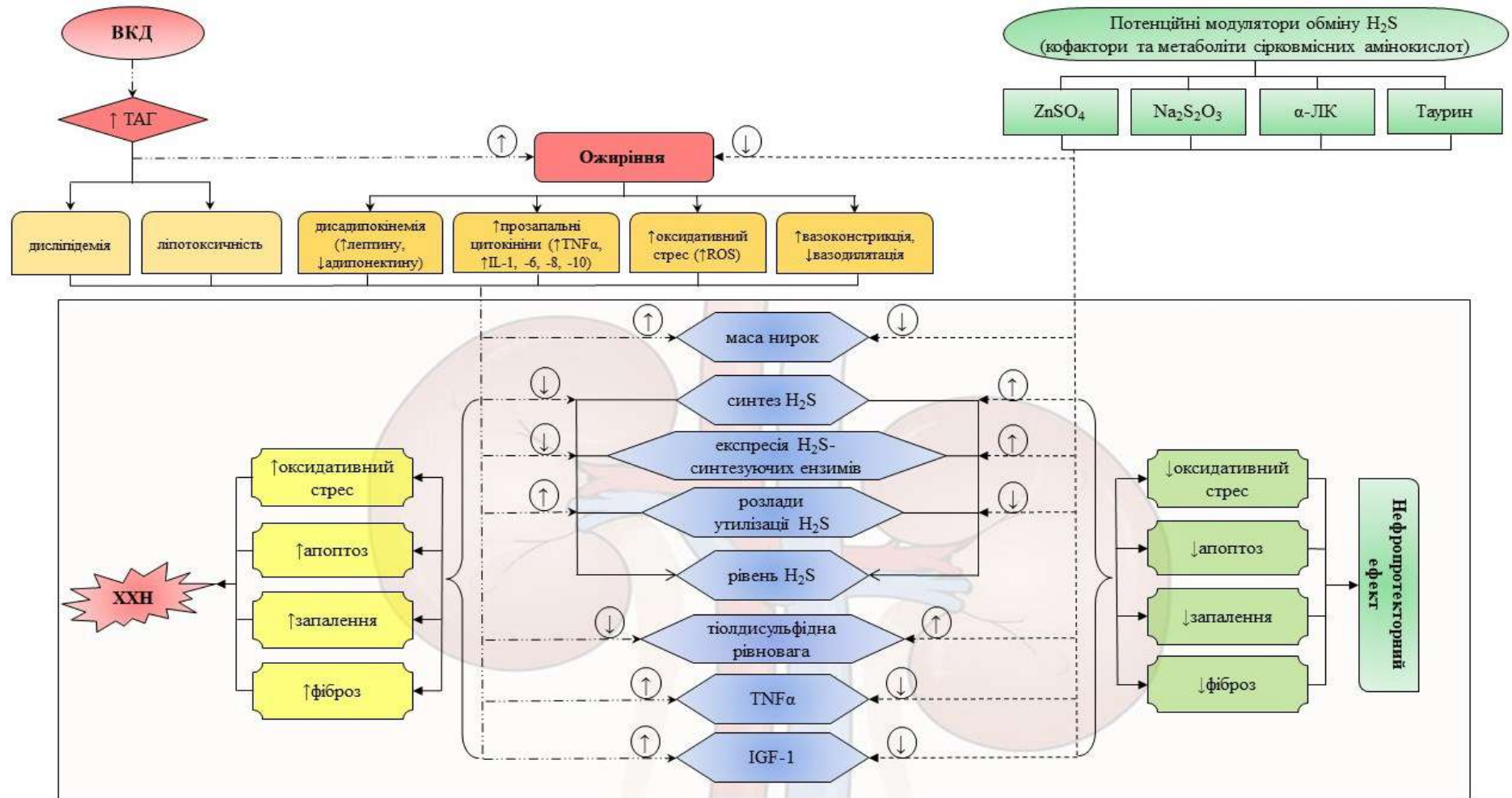


Рис. 6.1 Участь системи H₂S у механізмах розвитку нефропатії ожиріння та напрямки впливу метаболічних коректорів на обмін H₂S. Примітки: ВКД – висококалорійна (високожирова) дієта; ТАГ – триацилгліцерол; α -ЛК – α -ліпоєва кислота; TNF α – фактор некрозу пухлини альфа; IL – інтерлейкіни; ROS – активні форми кисню; IGF-1 – інсуліноподібний фактор росту-1; ХХН – хронічна хвороба нирок; $\cdots\rightarrow$ – вплив ВКД; $\cdots\cdots\rightarrow$ – вплив ВКД + модулятори обміну H₂S.

ВИСНОВКИ

У дисертації розглянуто та вирішено наукове завдання, яке полягало у встановленні участі системи гідроген сульфід (H₂S) в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння і обґрунтуванні шляхів корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну H₂S.

1. Застосування висококалорійної високожирової дієти (4,33 ккал/г, 39,5 % жирів) упродовж 10 тижнів викликало у щурів збільшення маси тіла, ІМТ, індексу Лі, індексу ожиріння (на 42,1; 52,4; 16,4; 43 %, $p < 0,001$). Розвиток дієт-індукованого ожиріння (ДІО) асоціювався зі зниженням рівня H₂S в нирках ($1,65 \pm 0,39$ проти $3,14 \pm 0,43$ нмоль/мг протеїну, $p < 0,001$, відносно контролю), між рівнем H₂S та ІМТ виявлявся обернений зв'язок ($r_s = -0,435$, $p < 0,01$). Метаболічні коректори – цинк сульфат (124 мг/кг), натрій тіосульфат (300 мг/кг), ліпоєва кислота (100 мг/кг) і таурин (100 мг/кг) знижували приріст маси тіла (на 46,7; 20,4; 54,2; 21,2 %, $p < 0,05$) і викликали зростання рівня H₂S в нирках (на 46,1; 33,3; 50,3 та 39,3 %, $p < 0,05-0,01$) у щурів з ДІО.

2. ДІО у щурів характеризувалось комплексом порушень обміну H₂S у нирках: зниженням H₂S-продукуючої активності ензимів транссульфування – цистатіонін- γ -ліази, цистатіонін- β -синтази (на 53,5; 48,6 %, $p < 0,001$); зниженням активності шляху цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруват-сульфуртрансферази (на 51,9 %, $p < 0,001$) та тіосульфатзалежного обміну H₂S за участі тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітоксидази (на 49,7; 40,5; 39,2 %, $p < 0,001$). Усі модулятори коригували обмін H₂S у нирках за умов ДІО, при цьому цинк сульфат та ліпоєва кислота більш ефективно підвищували активність ензимів транссульфування (в 1,40-1,69 рази, $p < 0,01$) та тіоредоксинредуктази (в 1,45 та 1,39 рази, $p < 0,01$), а натрій тіосульфат - активність тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази та сульфітоксидази (на 1,69 та 1,41 рази, $p < 0,01$), вплив таурину на усі вказані шляхи був помірним.

3. За умов ДІО в нирках щурів знижувалась експресія генів ензимів транссульфування (рівні мРНК *CSE* / β -актин та мРНК *CBS* / β -актин були нижчими на 59,7 та 54,2 %, $p < 0,001$, ніж в контролі); підвищувались рівні прозапальних і профіброгенних медіаторів IGF-1 та TNF α (на 156,1 та 129,3 %, $p < 0,001$). Рівні IGF-1 та TNF α обернено корелювали з рівнем експресії *CSE* ($r_s = -0,595$; $-0,518$, $p < 0,01$) та *CBS* ($r_s = -0,528$; $-0,357$, $p < 0,01$). Усі модулятори обміну H₂S сприяли зниженню рівнів IGF-1 та TNF α (в 1,4-1,9 рази, $p < 0,01$), крім того цинк сульфат та ліпоєва кислота викликали підвищення експресії генів *CSE* та *CBS* (у 1,5-2,0 рази, $p < 0,01$) в нирках щурів з ДІО.

4. За умов ДІО виявлялись біохімічні ознаки ренальної дисфункції – підвищення сироваткових рівнів креатиніну (на 26,6 %, $p < 0,01$) та цистатину С (на 198,3 %, $p < 0,001$), зниження кліренсу креатиніну (на 22,4 %, $p < 0,001$), підвищення екскреції γ -глутамілтрансферази (в 2,59 рази, $p < 0,001$). Усі модулятори обміну H₂S зменшували ознаки дисфункції клубочкового та каналцевого апарату, при цьому найбільш виразний ефект викликали цинк сульфат та ліпоєва кислота: рівні цистатину С знизились на 41,8 та 36,3 % ($p < 0,01$), креатиніну – на 13,6 та 14,7 % ($p < 0,05$), ензимурії – на 33,0 та 26,4 % ($p < 0,01$), кліренс креатиніну збільшився на 16,0 та 20,9 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих щурів. Між нирковим рівнем H₂S та сироватковим рівнем креатиніну, цистатину С, рівнем ензимурії γ -глутамілтрансферази виявлені сильні обернені зв'язки ($r_s = -0,684$; $-0,793$ та $-0,791$, $p < 0,001$).

5. У щурів з ДІО реєструвались характерні зміни морфології нирок, із ушкодженням клубочкового і каналцевого апарату, вираженою запальною реакцією паренхіми органу, пошкодженням структури судин, які свідчили про формування нефропатії ожиріння. Модулятори обміну H₂S викликали позитивні зміни морфології нирок у щурів з ДІО, за цих умов найбільший нефропротекторний ефект справляли цинк сульфат і ліпоєва кислота, менш виразний – натрій тіосульфат і таурин. За збільшенням нефропротекторного ефекту за умов ДІО модулятори обміну H₂S можна розташувати наступним чином: цинк сульфат \geq ліпоєва кислота $>$ натрій тіосульфат \geq таурин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2018). Вплив висококалорійної дієти на активність H_2S -синтезуючих ензимів в жировій тканині. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2018: матеріали XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених, м. Вінниця, 18-20 квітня, 2018* (с. 205–206). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/2648>
2. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2019). Вплив висококалорійної дієти на вміст гідроген сульфїду та показники оксидативного стресу в нирках щурів. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2019: матеріали XVI міжнародної конференції студентів та молодих вчених, м. Вінниця, 18-19 квітня, 2019* (с. 426–427). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/4436>
3. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на морфологічні зміни в нирках щурів з ожирінням, індукованим висококалорійною дієтою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 26(2), 184–190. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(2\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(2)-03)
4. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти та таурину на обмін гідроген сульфїду в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Медична та клінічна хімія*, 24(1), 46–52. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i1.13036>
5. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти, таурину на експресію ензимів синтезу гідроген сульфїду, медіатори запалення, фіброгенезу в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Вісник проблем біології та медицини*, 1(2), 114–125. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-114-125>
6. Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Заїчко, Н. В. (2019). Вплив тіосульфату натрію на рівень гідроген сульфїду та показники тіол-

дисульфідного обміну в нирках та міокарді щурів за експериментального ожиріння. У М. М. Рожко, & Л. М. Шафран (Гол.), *Бабенківські читання: матеріали науково-практична конференція з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2019* (с. 26). ІФНМУ

7. Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Заїчко, Н. В. (2020). Вплив таурину на рівень гідроген сульфїду та маркери оксидативного стресу в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2020: матеріали XVII міжнародної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Вінниця, 8-10 квітня, 2020* (с. 482–483). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/5537>

8. Волощук, О. П., & Копильчук, Г. П. (2019). Функціональний стан нирок щурів за умов ацетамінофен-індукованого ушкодження на тлі аліментарної депривації протеїну. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (біологічні системи)*, 11(1), 3–9. <https://doi.org/10.31861/biosystems2019.01.003>

9. Волощук, Н. І., Конюх, С. А., & Мельник, А. В. (2017). Участь системи гідроген сульфїду в патогенезі експериментальної ниркової недостатності. *Вісник морфології*, 23(2), 252–256. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vismorf_2017_23_2_19

10. Волощук, Н. І., Конюх, С. А., Денисюк, О. М., & Саєнко, А. В. (2019). Дослідження впливу геністеїну, ресвератролу та кверцетину на показники обміну гідроген сульфїду в нирках і маркери функціонального стану нирок в умовно здорових щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 13(3), 187–196. <https://doi.org/10.33250/13.03.187>

11. Дїдушко, О. М. (2016). Вплив ожиріння на функцію нирок у хворих на гіпотиреоз. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хїрургія*, 1(53), 41–46. [https://doi.org/10.24026/1818-1384.1\(53\).2016.75747](https://doi.org/10.24026/1818-1384.1(53).2016.75747)

12. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., & Бобецька, О. П. (2020). Вплив таурину на продукцію гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів з

експериментальним ожирінням. У А. А. Котвіцька, В. А. Капустник, Г. Б. Кравченко, О. А. Наконечна, & Т. О. Брюханова (Ред.), *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 2 жовтня 2020 р.* (с. 11).

НФаУ. <https://biochem.nuph.edu.ua/naukovo-praktichna-konferencija-z-mizhn/>

13. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Штатсько, О. І., (2020). *Спосіб корекції обміну гідрогену сульфідру за аліментарного ожиріння в експерименті* (Патент України № 143134). Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269728>

14. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., Штатсько, О. І., & Остренюк, Р. С. (2020). *Спосіб корекції обміну гідрогену сульфідру за аліментарного ожиріння в експерименті* (Патент України № 143133). Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269727>

15. Заїчко, Н. В., Бобецька, О. П., & Блажченко, В. В. (2019). Вплив ліпоєвої кислоти на продукцію гідроген сульфідру в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У В. М. Мороз, & О. О. Яковлева (Ред.), *Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позиції доказової медицини: матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції за участі міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології, м. Вінниця, 7-8 листопада, 2019* (с. 77–78). Нілан-ЛТД

16. Заїчко, Н. В., Остренюк, Р. С., & Блажченко, В. В. (2017). Аналіз впливу високожирової дієти на кінетичні параметри синтезу гідроген сульфідру в органах щурів. У І. М. Кліщ, & О. О. Шевчук (Відп.), *Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ): матеріали LX науково-практичної конференції, м. Тернопіль, 14 червня, 2017* (с. 288–290). ТДМУ «Укрмедкнига». <https://repository.tdmu.edu.ua/handle/1/8519>

17. Заїчко, Н. В., Пентюк, Н. О., Мельник, А. В., Штатко, О. І., & Андрушко, І. І. (2009). Утворення гідроген сульфїду в органах щурів. *Медицна хїмїя*, 11(4), 7–13
18. Куцик, Д., & Скляров, Є. (2017). Предиктори ураження нирок у хворих із метаболїчним синдромом. *Галицький лікарський вісник*, 24(2), 24–26. <https://doi.org/10.21802/gmj.2017.2.15>
19. Лучкова, А. Ю., Струтинська, Н. А., Коркач, Ю. П., & Сагач В. Ф. (2018). Інгїбування мїтохондрїального синтезу сїрководню посилює окисний стрес та погїршує роботу електронно-транспортного ланцюга. *Фїзіологїчний журнал*, 64(6), 9–16. https://fz.kiev.ua/journals/2018_V.64/2018_6/6_2018-9-16.pdf
20. Мазур, О. Ю. (2020). Модель експериментального алїментарного ожирїння у статевозрїлих щурів-самцїв з використанням моделї пасивного тютюнопалїння. *Morphologia*, 14(3), 45–51. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.45-51>
21. Мельник, А. В., & Пентюк, О. О. (2009). Активнїсть ензимів синтезу гїдроген сульфїду в нирках щурів. *Український бїохїмїчний журнал*, 81(4), 12–23. <http://ubj.biochemistry.org.ua/index.php/journal-archiveac/2009ad/qq4/2608>
22. Остренюк, Р. С., Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2017). Вплив високожирової дїєти на вміст гїдроген сульфїду в мїокарді та нирках щурів. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2017: матеріали XIV мїжнародної конференції студентів та молодих вчених, м. Вінниця, 26-28 квітня, 2017* (с. 220–221). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/2063>
23. Посохова, К. А., Зозуляк, Н. Б., Стечишин, І. П., & Черняшова, В. В. (2014). *Спосїб моделювання експериментального ожирїння* (Патент України № 92289). Державна служба інтелектуальної власності України. <https://uapatents.com/4-92289-sposib-modelyuvannya-eksperimentalnogo-ozhirinnya.html>

24. Стефанова, О. В. (Ed.). (2001). *Доклінічні дослідження лікарських засобів*. Київ, Україна: Авіцена
25. Abdel-Daim, M. M., Dessouki, A. A., Abdel-Rahman, H. G., Eltaysh, R., & Alkahtani, S. (2019). Hepatorenal protective effects of taurine and N-acetylcysteine against fipronil-induced injuries: The antioxidant status and apoptotic markers expression in rats. *The Science of the total environment*, 650(Pt 2), 2063–2073. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.313>
26. Abou-Hamdan, A., Ransy, C., Roger, T., Guedouari-Bounihi, H., Galardon, E., & Bouillaud, F. (2016). Positive feedback during sulfide oxidation fine-tunes cellular affinity for oxygen. *Biochimica et biophysica acta*, 1857(9), 1464–1472. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.04.282>
27. Adedara, I. A., Ojuade, T., Olabiyi, B. F., Idris, U. F., Onibiyo, E. M., Ajeigbe, O. F., & Farombi, E. O. (2017). Taurine Ameliorates Renal Oxidative Damage and Thyroid Dysfunction in Rats Chronically Exposed to Fluoride. *Biological trace element research*, 175(2), 388–395. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0784-2>
28. Aguilar A. (2016). Obesity: Shielding mitochondria from lipotoxicity prevents renal injury. *Nature reviews. Nephrology*, 12(10), 580. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.132>
29. Akaike, T., Ida, T., Wei, F. Y., Nishida, M., Kumagai, Y., Alam, M. M., ... Motohashi, H. (2017). Cysteinyl-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics. *Nature communications*, 8(1), 1177. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01311-y>
30. Akbari, M., Sogutdelen, E., Juriasingani, S., & Sener, A. (2019). Hydrogen Sulfide: Emerging Role in Bladder, Kidney, and Prostate Malignancies. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 2360945. <https://doi.org/10.1155/2019/2360945>
31. Ansari, S., Haboubi, H., & Haboubi, N. (2020). Adult obesity complications: challenges and clinical impact. *Therapeutic advances in*

endocrinology and metabolism, 11, 2042018820934955.
<https://doi.org/10.1177/2042018820934955>

32. Anyanwu, A. (2013). Impact of *Anthocleista vogelii* root bark ethanolic extract on weight reduction in high carbohydrate diet induced obesity in male wistar rats. *African Journal Of Biochemistry Research*, 7(11), 225–232. <https://doi.org/10.5897/ajbr2013.0733>

33. Asimakopoulou, A., Panopoulos, P., Chasapis, C. T., Coletta, C., Zhou, Z., Cirino, G., Giannis, A., Szabo, C., Spyroulias, G. A., & Papapetropoulos, A. (2013). Selectivity of commonly used pharmacological inhibitors for cystathionine β synthase (CBS) and cystathionine γ lyase (CSE). *British journal of pharmacology*, 169(4), 922–932. <https://doi.org/10.1111/bph.12171>

34. Askari, H., Seifi, B., Kadkhodae, M., Sanadgol, N., Elshiekh, M., Ranjbaran, M., & Ahghari, P. (2018). Protective effects of hydrogen sulfide on chronic kidney disease by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis. *EXCLI journal*, 17, 14–23. <https://doi.org/10.17179/excli2017-711>

35. Augustyn, K. D., Jackson, M. R., & Jorns, M. S. (2017). Use of Tissue Metabolite Analysis and Enzyme Kinetics To Discriminate between Alternate Pathways for Hydrogen Sulfide Metabolism. *Biochemistry*, 56(7), 986–996. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b01093>

36. Bach, L. A., & Hale, L. J. (2015). Insulin-like growth factors and kidney disease. *American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation*, 65(2), 327–336. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.05.024>

37. Baldev, N., Sriram, R., Prabu, P. C., & Kurian Gino, A. (2015). Effect of mitochondrial potassium channel on the renal protection mediated by sodium thiosulfate against ethylene glycol induced nephrolithiasis in rat model. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*, 41(6), 1116–1125. <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.0585>

38. Baliou, S., Adamaki, M., Ioannou, P., Pappa, A., Panayiotidis, M.I., Christodoulou, I. ... Zoumpourlis, V. (2021). Ameliorative effect of taurine against

diabetes and renal-associated disorders (Review). *Medicine International*, 1(2), <https://doi.org/10.3892/mi.2021.3>

39. Bancu, I., Navarro Díaz, M., Serra, A., Granada, M., Lopez, D., Romero, R., & Bonet, J. (2016). Low Insulin-Like Growth Factor-1 Level in Obesity Nephropathy: A New Risk Factor?. *PloS one*, 11(5), e0154451. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154451>

40. Banerjee, R. (2017). Catalytic promiscuity and heme-dependent redox regulation of H₂S synthesis. *Current opinion in chemical biology*, 37, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.02.021>

41. Banerjee, R., Chiku, T., Kabil, O., Libiad, M., Motl, N., & Yadav, P. K. (2015). Assay methods for H₂S biogenesis and catabolism enzymes. *Methods in enzymology*, 554, 189–200. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2014.11.016>

42. Bebart, V. S., Brittain, M., Chan, A., Garrett, N., Yoon, D., Burney, T., ... Boss, G. R. (2017). Sodium Nitrite and Sodium Thiosulfate Are Effective Against Acute Cyanide Poisoning When Administered by Intramuscular Injection. *Annals of emergency medicine*, 69(6), 718–725.e4. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2016.09.034>

43. Bessho, R., Takiyama, Y., Takiyama, T., Kitsunai, H., Takeda, Y., Sakagami, H., & Ota, T. (2019). Hypoxia-inducible factor-1 α is the therapeutic target of the SGLT2 inhibitor for diabetic nephropathy. *Scientific reports*, 9(1), 14754. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51343-1>

44. Bhattacharjee, N., Barma, S., Konwar, N., Dewanjee, S., & Manna, P. (2016). Mechanistic insight of diabetic nephropathy and its pharmacotherapeutic targets: An update. *European journal of pharmacology*, 791, 8–24. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.08.022>

45. Bianco, C. L., Toscano, J. P., Fukuto, J. M. (2017). Chapter 2—An Integrated View of the Chemical Biology of NO, CO, H₂S, and O₂ A₂. In B. A. Freeman & L. J. Ignarro (Eds.), *Nitric Oxide* (3rd ed.) (pp. 9–21). London, UK: Academic Press

46. Bijarnia, R. K., Bachtler, M., Chandak, P. G., van Goor, H., & Pasch, A. (2015). Sodium thiosulfate ameliorates oxidative stress and preserves renal function in hyperoxaluric rats. *PLoS one*, *10*(4), e0124881. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124881>
47. Bilska-Wilkosz, A., Iciek, M., Kowalczyk-Pachel, D., Górny, M., Sokołowska-Jeżewicz, M., & Włodek, L. (2017). Lipoic Acid as a Possible Pharmacological Source of Hydrogen Sulfide/Sulfane Sulfur. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *22*(3), 388. <https://doi.org/10.3390/molecules22030388>
48. Bing, C., Mracek, T., Gao, D., & Trayhurn, P. (2010). Zinc- α 2-glycoprotein: an adipokine modulator of body fat mass?. *International journal of obesity (2005)*, *34*(11), 1559–1565. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.105>
49. Blazhchenko, V. V., Ostrenyuk, R. S., & Zaichko, N. V. (2017). The activity of enzymes of transsulfuration in kidneys and myocardium of rats with experimental obesity. In A. Bogucka-Kocka (Ed.), *VIII Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, 18-20 September 2017, Lublin, Poland: Programme and Book of Abstract* (p. 52). Polihymnia.
50. Blutke, A., Schneider, M. R., Wolf, E., & Wanke, R. (2016). Growth hormone (GH)-transgenic insulin-like growth factor 1 (IGF1)-deficient mice allow dissociation of excess GH and IGF1 effects on glomerular and tubular growth. *Physiological reports*, *4*(5), e12709. <https://doi.org/10.14814/phy2.12709>
51. Bos, E. M., Wang, R., Snijder, P. M., Boersema, M., Damman, J., Fu, M., ... van Goor, H. (2013). Cystathionine γ -lyase protects against renal ischemia/reperfusion by modulating oxidative stress. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, *24*(5), 759–770. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012030268>
52. Bratoeva, K., Stoyanov, G. S., Merdzhanova, A., & Radanova, M. (2017). Manifestations of Renal Impairment in Fructose-induced Metabolic Syndrome. *Cureus*, *9*(11), e1826. <https://doi.org/10.7759/cureus.1826>
53. Bravo, E., Palleschi, S., Aspichueta, P., Buqué, X., Rossi, B., Cano, A., ... Botham, K. M. (2011). High fat diet-induced non alcoholic fatty liver disease in

rats is associated with hyperhomocysteinemia caused by down regulation of the transsulphuration pathway. *Lipids in health and disease*, *10*, 60. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-60>

54. Breza, J., Soltysova, A., Hudecova, S., Penesova, A., Szadvari, I., Babula, P., ... Krizanova, O. (2018). Endogenous H₂S producing enzymes are involved in apoptosis induction in clear cell renal cell carcinoma. *BMC cancer*, *18*(1), 591. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4508-1>

55. Brock, P. R., Maibach, R., Childs, M., Rajput, K., Roebuck, D., Sullivan, M. J., ... Neuwelt, E. A. (2018). Sodium Thiosulfate for Protection from Cisplatin-Induced Hearing Loss. *The New England journal of medicine*, *378*(25), 2376–2385. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801109>

56. Bucci, M., Papapetropoulos, A., Vellecco, V., Zhou, Z., Zaid, A., Giannogonas, P., ... Cirino, G. (2012). cGMP-dependent protein kinase contributes to hydrogen sulfide-stimulated vasorelaxation. *PloS one*, *7*(12), e53319. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053319>

57. Cao, X., & Bian, J. S. (2016). The Role of Hydrogen Sulfide in Renal System. *Frontiers in pharmacology*, *7*, 385. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00385>

58. Cao, X., Zhang, W., Moore, P. K., & Bian, J. (2019). Protective Smell of Hydrogen Sulfide and Polysulfide in Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *International journal of molecular sciences*, *20*(2), 313. <https://doi.org/10.3390/ijms20020313>

59. Cao, Y. (2007). Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *The Journal of clinical investigation*, *117*(9), 2362–2368. <https://doi.org/10.1172/JCI32239>

60. Ceperuelo-Mallafre, V., Ejarque, M., Duran, X., Pachón, G., Vázquez-Carballo, A., Roche, K., ... Fernández-Veledo, S. (2015). Zinc- α 2-Glycoprotein Modulates AKT-Dependent Insulin Signaling in Human Adipocytes by Activation of the PP2A Phosphatase. *PloS one*, *10*(6), e0129644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129644>

61. Chen, C., Yang, Q., & Ma, X. (2020). Synergistic effect of ascorbic acid and taurine in the treatment of a spinal cord injury-induced model in rats. *3 Biotech*, *10*(2), 50. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-2032-x>
62. Chen, P., Xuan, D. Y., & Zhang, J. C. (2017). Periodontitis aggravates kidney damage in obese mice by MMP2 regulation. *Bratislavske lekarske listy*, *118*(12), 740–745. https://doi.org/10.4149/BLL_2017_140
63. Chen, Q., Yu, S., Zhang, K., Zhang, Z., Li, C., Gao, B., ... Wang, Y. (2018). Exogenous H₂S Inhibits Autophagy in Unilateral Ureteral Obstruction Mouse Renal Tubule Cells by Regulating the ROS-AMPK Signaling Pathway. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, *49*(6), 2200–2213. <https://doi.org/10.1159/000493824>
64. Chen, S., Liu, G., Long, M., Zou, H., & Cui, H. (2018). Alpha lipoic acid attenuates cadmium-induced nephrotoxicity via the mitochondrial apoptotic pathways in rat. *Journal of inorganic biochemistry*, *184*, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.04.001>
65. Chen, Y., Jin, S., Teng, X., Hu, Z., Zhang, Z., Qiu, X., ... Wu, Y. (2018). Hydrogen Sulfide Attenuates LPS-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting Inflammation and Oxidative Stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2018*, 6717212. <https://doi.org/10.1155/2018/6717212>
66. Cheng, K., Song, Z., Chen, Y., Li, S., Zhang, Y., Zhang, H., ... Wang, T. (2019). Resveratrol Protects Against Renal Damage via Attenuation of Inflammation and Oxidative Stress in High-Fat-Diet-Induced Obese Mice. *Inflammation*, *42*(3), 937–945. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0948-7>
67. Cho, H. S., Kim, J. H., Jang, H. N., Lee, T. W., Jung, M. H., Kim, T. H., ... Park, D. J. (2017). Alpha-lipoic acid ameliorates the epithelial mesenchymal transition induced by unilateral ureteral obstruction in mice. *Scientific reports*, *7*, 46065. <https://doi.org/10.1038/srep46065>
68. Chou, P. L., Chen, Y. S., Chung, S. D., Lin, S. C., & Chien, C. T. (2021). Sodium Thiosulfate Ameliorates Renovascular Hypertension-Induced Renal

Dysfunction and Injury in Rats. *Kidney & blood pressure research*, 46(1), 41–52. <https://doi.org/10.1159/000510047>

69. Choung, H. G., Bomback, A. S., Stokes, M. B., Santoriello, D., Campenot, E. S., Batal, I., ... D'Agati, V. D. (2019). The spectrum of kidney biopsy findings in patients with morbid obesity. *Kidney international*, 95(3), 647–654. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.11.026>

70. Cohen, H. J., & Fridovich, I. (1971). Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties. *The Journal of biological chemistry*, 246(2), 359–366. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)62499-8/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)62499-8/pdf)

71. Cohen, J. B. (2017). Hypertension in Obesity and the Impact of Weight Loss. *Current cardiology reports*, 19(10), 98. <https://doi.org/10.1007/s11886-017-0912-4>

72. Coletta, C., Papapetropoulos, A., Erdelyi, K., Olah, G., Módis, K., Panopoulos, P., ... Szabo, C. (2012). Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(23), 9161–9166. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202916109>

73. Comas, F., & Moreno-Navarrete, J. M. (2021). The Impact of H₂S on Obesity-Associated Metabolic Disturbances. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(5), 633. <https://doi.org/10.3390/antiox10050633>

74. Comas, F., Latorre, J., Ortega, F., Arnoriaga Rodríguez, M., Kern, M., Lluch, A., ... Moreno-Navarrete, J. M. (2021). Activation of Endogenous H₂S Biosynthesis or Supplementation with Exogenous H₂S Enhances Adipose Tissue Adipogenesis and Preserves Adipocyte Physiology in Humans. *Antioxidants & redox signaling*, 35(5), 319–340. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8206>

75. 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. *International journal of obesity (2005)*, 45(2), 415–426. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-00696-z>

76. Conde, E., Giménez-Moyano, S., Martín-Gómez, L., Rodríguez, M., Ramos, M. E., Aguado-Fraile, E., ... García-Bermejo, M. L. (2017). HIF-1 α induction during reperfusion avoids maladaptive repair after renal ischemia/reperfusion involving miR127-3p. *Scientific reports*, 7, 41099. <https://doi.org/10.1038/srep41099>
77. Cortinovis, M., Ruggenti, P., & Remuzzi, G. (2016). Progression, Remission and Regression of Chronic Renal Diseases. *Nephron*, 134(1), 20–24. <https://doi.org/10.1159/000445844>
78. Crivellenti, L. Z., Mesa, J. S., Meirelles, A. É., Borin Crivellenti, S., Mireya, E. G., Canola, J. C., ...Silva, G. E. (2014). False positivity of gamma-glutamyl transpeptidase measurement in urine. *Renal failure*, 36(4), 581–584. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2014.880325>
79. Cui, J., Shi, S., Sun, X., Cai, G., Cui, S., Hong, Q., ... Bai, X. Y. (2013). Mitochondrial autophagy involving renal injury and aging is modulated by caloric intake in aged rat kidneys. *PloS one*, 8(7), e69720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069720>
80. D'Agati, V. D., Chagnac, A., de Vries, A. P., Levi, M., Porrini, E., Herman-Edelstein, M., & Praga, M. (2016). Obesity-related glomerulopathy: clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. *Nature reviews. Nephrology*, 12(8), 453–471. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.75>
81. Declèves, A. E., & Sharma, K. (2015). Obesity and kidney disease: differential effects of obesity on adipose tissue and kidney inflammation and fibrosis. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 24(1), 28–36. <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000087>
82. d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Mitidieri, E., Fusco, F., Russo, A., Pagliara, V., Tramontano, T., ... Sorrentino, R. (2016). Urothelium muscarinic activation phosphorylates CBS(Ser227) via cGMP/PKG pathway causing human bladder relaxation through H₂S production. *Scientific reports*, 6, 31491. <https://doi.org/10.1038/srep31491>

83. 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. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2017-000600>
84. Dombkowski, R. A., Russell, M. J., & Olson, K. R. (2004). Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, *286*(4), R678–R685. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00419.2003>
85. Dong, R., Yu, J., Yu, F., Yang, S., Qian, Q., & Zha, Y. (2019). IGF-1/IGF-1R blockade ameliorates diabetic kidney disease through normalizing Snail1 expression in a mouse model. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, *317*(4), E686–E698. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00071.2019>
86. Dorofeyeva, N., Korkach, I., Kutsyk, O., & Sagach, V. (2021). Modulation of hydrogen sulfide synthesis improves heart function and endothelium-dependent vasorelaxation in diabetes. *Canadian Journal Of Physiology And Pharmacology*, *99*(5), 549–555. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0302>
87. 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. *Journal of molecular biology*, *386*(1), 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.11.046>
88. El Midaoui, A., Fantus, I. G., Ait Boughrous, A., & Couture, R. (2019). Beneficial Effects of Alpha-Lipoic Acid on Hypertension, Visceral Obesity, UCP-1 Expression and Oxidative Stress in Zucker Diabetic Fatty Rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *8*(12), 648. <https://doi.org/10.3390/antiox8120648>
89. El-Sayed, E. M., Mansour, A. M., & El-Sawy, W. S. (2017). Alpha lipoic acid prevents doxorubicin-induced nephrotoxicity by mitigation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, *31*(9), 10.1002/jbt.21940. <https://doi.org/10.1002/jbt.21940>
90. Ereño-Orbea, J., Majtan, T., Oyenarte, I., Kraus, J. P., & Martínez-Cruz, L. A. (2014). Structural insight into the molecular mechanism of allosteric

activation of human cystathionine β -synthase by S-adenosylmethionine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(37), E3845–E3852. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414545111>

91. Evans, R. G., Smith, D. W., Khan, Z., Ngo, J. P., & Gardiner, B. S. (2015). Letter to the editor: "The plausibility of arterial-to-venous oxygen shunting in the kidney: it all depends on radial geometry". *American journal of physiology. Renal physiology*, 309(2), F179–F180. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00094.2015>

92. Fan, Q. L., Yang, G., Liu, X. D., Ma, J. F., Feng, J. M., Jiang, Y., & Wang, L. N. (2013). Effect of losartan on the glomerular protein expression profile of type 2 diabetic KKAY mice. *Journal of nephrology*, 26(3), 517–526. <https://doi.org/10.5301/jn.5000176>

93. Feliers, D., Lee, H. J., & Kasinath, B. S. (2016). Hydrogen Sulfide in Renal Physiology and Disease. *Antioxidants & redox signaling*, 25(13), 720–731. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6596>

94. Feng, B., Yan, X. F., Xue, J. L., Xu, L., & Wang, H. (2013). The protective effects of α -lipoic acid on kidneys in type 2 diabetic Goto-Kakisaki rats via reducing oxidative stress. *International journal of molecular sciences*, 14(4), 6746–6756. <https://doi.org/10.3390/ijms14046746>

95. Feng, H. L., Chen, Y. H., & Jeng, S. S. (2019). Effect of Zinc Supplementation on Renal Anemia in 5/6-Nephrectomized Rats and a Comparison with Treatment with Recombinant Human Erythropoietin. *International journal of molecular sciences*, 20(20), 4985. <https://doi.org/10.3390/ijms20204985>

96. Ferguson, T. W., Komenda, P., & Tangri, N. (2015). Cystatin C as a biomarker for estimating glomerular filtration rate. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 24(3), 295–300. <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000115>

97. Fernandez-Fernandez, B., Ortiz, A., Gomez-Guerrero, C., & Egido, J. (2014). Therapeutic approaches to diabetic nephropathy--beyond the RAS. *Nature reviews. Nephrology*, 10(6), 325–346. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2014.74>

98. Filipovic, M. R., Miljkovic, J., Nauser, T., Royzen, M., Klos, K., Shubina, T., ... Ivanović-Burmazović, I. (2012). Chemical characterization of the smallest S-nitrosothiol, HSNO; cellular cross-talk of H₂S and S-nitrosothiols. *Journal of the American Chemical Society*, *134*(29), 12016–12027. <https://doi.org/10.1021/ja3009693>
99. Francisqueti, F. V., Ferron, A., Hasimoto, F. K., Alves, P., Garcia, J. L., Dos Santos, K. C., ... Corrêa, C. R. (2018). Gamma Oryzanol Treats Obesity-Induced Kidney Injuries by Modulating the Adiponectin Receptor 2/PPAR- α Axis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2018*, 1278392. <https://doi.org/10.1155/2018/1278392>
100. Gadalla, M. M., & Snyder, S. H. (2010). Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. *Journal of neurochemistry*, *113*(1), 14–26. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06580.x>
101. Gao, T., Qian, S., Shen, S., Zhang, X., Liu, J., Jia, W., ... Ye, J. (2019). Reduction of mitochondrial 3-oxoacyl-ACP synthase (OXSM) by hyperglycemia is associated with deficiency of α -lipoic acid synthetic pathway in kidney of diabetic mice. *Biochemical and biophysical research communications*, *512*(1), 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.02.155>
102. Ge, S. N., Zhao, M. M., Wu, D. D., Chen, Y., Wang, Y., Zhu, J. H., ... Zhu, Y. C. (2014). Hydrogen sulfide targets EGFR Cys797/Cys798 residues to induce Na⁽⁺⁾/K⁽⁺⁾-ATPase endocytosis and inhibition in renal tubular epithelial cells and increase sodium excretion in chronic salt-loaded rats. *Antioxidants & redox signaling*, *21*(15), 2061–2082. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5304>
103. Geng, B., Cai, B., Liao, F., Zheng, Y., Zeng, Q., Fan, X., ... Xu, G. H. (2013). Increase or decrease hydrogen sulfide exert opposite lipolysis, but reduce global insulin resistance in high fatty diet induced obese mice. *PloS one*, *8*(9), e73892. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073892>
104. Ghelani, H., Razmovski-Naumovski, V., & Nammi, S. (2017). Chronic treatment of (R)- α -lipoic acid reduces blood glucose and lipid levels in high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced metabolic syndrome and type 2 diabetes in

Sprague-Dawley rats. *Pharmacology research & perspectives*, 5(3), e00306. <https://doi.org/10.1002/prp2.306>

105. Giannakopoulou, E., Konstantinou, F., Ragia, G., Tavridou, A., Karaglani, M., Chatzaki, E., ... Manolopoulos, V. G. (2017). Epigenetics-by-Sex Interaction for Coronary Artery Disease Risk Conferred by the Cystathionine γ -Lyase Gene Promoter Methylation. *OmicS: a journal of integrative biology*, 21(12), 741–748. <https://doi.org/10.1089/omi.2017.0149>

106. Giuffrè, A., & Vicente, J. B. (2018). Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 6290931. <https://doi.org/10.1155/2018/6290931>

107. Goc, Z., Kapusta, E., Formicki, G., Martiniaková, M., & Omelka, R. (2019). Effect of taurine on ethanol-induced oxidative stress in mouse liver and kidney. *The Chinese journal of physiology*, 62(4), 148–156. https://doi.org/10.4103/CJP.CJP_28_19

108. Guo, C., Liang, F., Shah Masood, W., & Yan, X. (2014). Hydrogen sulfide protected gastric epithelial cell from ischemia/reperfusion injury by Keap1 s-sulfhydration, MAPK dependent anti-apoptosis and NF- κ B dependent anti-inflammation pathway. *European journal of pharmacology*, 725, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.01.009>

109. Guo, L., Li, P., Meng, C., Lu, R., Yang, Y., Zhou, Y., ... Yin, F. (2014). Protective effect of zinc on mouse renal ischemia-reperfusion injury by anti-apoptosis and antioxidation. *Current pharmaceutical biotechnology*, 15(6), 577–582. <https://doi.org/10.2174/1389201015666140827110120>

110. Guo, Q., Feng, X., Xue, H., Teng, X., Jin, S., Duan, X., ... Wu, Y. (2017). Maternal Renovascular Hypertensive Rats Treatment With Hydrogen Sulfide Increased the Methylation of AT1b Gene in Offspring. *American journal of hypertension*, 30(12), 1220–1227. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpx124>

111. Guo, W., Kan, J. T., Cheng, Z. Y., Chen, J. F., Shen, Y. Q., Xu, J., ... Zhu, Y. Z. (2012). Hydrogen sulfide as an endogenous modulator in mitochondria

and mitochondria dysfunction. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012, 878052. <https://doi.org/10.1155/2012/878052>

112. Guo, Y. Y., Li, B. Y., Peng, W. Q., Guo, L., & Tang, Q. Q. (2019). Taurine-mediated browning of white adipose tissue is involved in its anti-obesity effect in mice. *The Journal of biological chemistry*, 294(41), 15014–15024. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009936>

113. 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. <https://doi.org/10.3390/molecules25010023>

114. Han, S. J., Noh, M. R., Jung, J. M., Ishii, I., Yoo, J., Kim, J. I., & Park, K. M. (2017). Hydrogen sulfide-producing cystathionine γ -lyase is critical in the progression of kidney fibrosis. *Free radical biology & medicine*, 112, 423–432. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.017>

115. Hanigan M. H. (2014). Gamma-glutamyl transpeptidase: redox regulation and drug resistance. *Advances in cancer research*, 122, 103–141. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420117-0.00003-7>

116. Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*, 23(2), 270–299. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000168>

117. Hassan, M. I., Boosen, M., Schaefer, L., Kozłowska, J., Eisel, F., von Knethen, A., ... Pfeilschifter, J. (2012). Platelet-derived growth factor-BB induces cystathionine γ -lyase expression in rat mesangial cells via a redox-dependent mechanism. *British journal of pharmacology*, 166(8), 2231–2242. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01949.x>

118. Haywood, N. J., Slater, T. A., Matthews, C. J., & Wheatcroft, S. B. (2019). The insulin like growth factor and binding protein family: Novel therapeutic targets in obesity & diabetes. *Molecular metabolism*, 19, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.10.008>

119. He, L., Wei, Q., Liu, J., Yi, M., Liu, Y., Liu, H., ... Dong, Z. (2017). AKI on CKD: heightened injury, suppressed repair, and the underlying mechanisms. *Kidney international*, *92*(5), 1071–1083. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.06.030>
120. Hegazy, R., Salama, A., Mansour, D., & Hassan, A. (2016). Renoprotective Effect of Lactoferrin against Chromium-Induced Acute Kidney Injury in Rats: Involvement of IL-18 and IGF-1 Inhibition. *PloS one*, *11*(3), e0151486. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151486>
121. Heidari, R., Rasti, M., Shirazi Yeganeh, B., Niknahad, H., Saeedi, A., & Najibi, A. (2016). Sulfasalazine-induced renal and hepatic injury in rats and the protective role of taurine. *BioImpacts: BI*, *6*(1), 3–8. <https://doi.org/10.15171/bi.2016.01>
122. Hirakawa, Y., Tanaka, T., & Nangaku, M. (2017). Renal Hypoxia in CKD; Pathophysiology and Detecting Methods. *Frontiers in physiology*, *8*, 99. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00099>
123. Hou, C. L., Wang, M. J., Sun, C., Huang, Y., Jin, S., Mu, X. P., Chen, Y., & Zhu, Y. C. (2016). Protective Effects of Hydrogen Sulfide in the Ageing Kidney. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*, 7570489. <https://doi.org/10.1155/2016/7570489>
124. Hsu, C. N., & Tain, Y. L. (2018). Hydrogen Sulfide in Hypertension and Kidney Disease of Developmental Origins. *International journal of molecular sciences*, *19*(5), 1438. <https://doi.org/10.3390/ijms19051438>
125. 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. <https://doi.org/10.3390/antiox11010147>
126. Huang, P., Shen, Z., Liu, J., Huang, Y., Chen, S., Yu, W., ... Jin, H. (2016). Hydrogen Sulfide Inhibits High-Salt Diet-Induced Renal Oxidative Stress and Kidney Injury in Dahl Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*, 2807490. <https://doi.org/10.1155/2016/2807490>

127. Huang, P., Shen, Z., Yu, W., Huang, Y., Tang, C., Du, J., & Jin, H. (2017). Hydrogen Sulfide Inhibits High-Salt Diet-Induced Myocardial Oxidative Stress and Myocardial Hypertrophy in Dahl Rats. *Frontiers in pharmacology*, 8, 128. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00128>
128. Huidobro E, J. P., Guzmán, A. M., & Tagle, R. (2021). Uso de la cistatina C como biomarcador para estimar la tasa de filtración glomerular [Use of cystatin C to estimate glomerular filtration rate]. *Revista medica de Chile*, 149(1), 98–102. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872021000100098>
129. Imam, T. H., & Coleman, K. J. (2016). The triad of kidney, obesity, and bariatric surgery. *Saudi journal of kidney diseases and transplantation: an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*, 27(5), 875–884. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.190772>
130. Izquierdo-Lahuerta, A., Martínez-García, C., & Medina-Gómez, G. (2016). Lipotoxicity as a trigger factor of renal disease. *Journal of nephrology*, 29(5), 603–610. <https://doi.org/10.1007/s40620-016-0278-5>
131. Jackson, M. R., Melideo, S. L., & Jorns, M. S. (2012). Human sulfide:quinone oxidoreductase catalyzes the first step in hydrogen sulfide metabolism and produces a sulfane sulfur metabolite. *Biochemistry*, 51(34), 6804–6815. <https://doi.org/10.1021/bi300778t>
132. Jackson, M. R., Melideo, S. L., & Jorns, M. S. (2015). Role of human sulfide: quinone oxidoreductase in H₂S metabolism. *Methods in enzymology*, 554, 255–270. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2014.11.037>
133. Jaksic, M., Martinovic, M., Gligorovic-Barhanovic, N., Antunovic, T., & Nedovic-Vukovic, M. (2021). Relationship between insulin-like growth factor-1, insulin resistance and metabolic profile with pre-obesity and obesity in children. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism: JPEM*, 34(3), 301–309. <https://doi.org/10.1515/jpem-2020-0447>
134. Jiang, M., Wei, Q., Dong, G., Komatsu, M., Su, Y., & Dong, Z. (2012). Autophagy in proximal tubules protects against acute kidney injury. *Kidney international*, 82(12), 1271–1283. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.261>

135. John, A., Kundu, S., Pushpakumar, S., Fordham, M., Weber, G., Mukhopadhyay, M., & Sen, U. (2017). GYY4137, a Hydrogen Sulfide Donor Modulates miR194-Dependent Collagen Realignment in Diabetic Kidney. *Scientific reports*, 7(1), 10924. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11256-3>
136. Jong, C. J., Ito, T., Prentice, H., Wu, J. Y., & Schaffer, S. W. (2017). Role of Mitochondria and Endoplasmic Reticulum in Taurine-Deficiency-Mediated Apoptosis. *Nutrients*, 9(8), 795. <https://doi.org/10.3390/nu9080795>
137. Joo, Y. S., Kim, H. W., Lee, S., Nam, K. H., Yun, H. R., Jhee, J. H., ... Park, J. T. (2021). Dietary zinc intake and incident chronic kidney disease. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 40(3), 1039–1045. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.07.005>
138. 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 medical journal*, 45(2), 263–272. <https://doi.org/10.3349/ymj.2004.45.2.263>
139. Jung, K. J., Jang, H. S., Kim, J. I., Han, S. J., Park, J. W., & Park, K. M. (2013). Involvement of hydrogen sulfide and homocysteine transsulfuration pathway in the progression of kidney fibrosis after ureteral obstruction. *Biochimica et biophysica acta*, 1832(12), 1989–1997. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.06.015>
140. Kabil, O., & Banerjee, R. (2014). Enzymology of H₂S biogenesis, decay and signaling. *Antioxidants & redox signaling*, 20(5), 770–782. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5339>
141. Kabil, O., Yadav, V., & Banerjee, R. (2016). Heme-dependent Metabolite Switching Regulates H₂S Synthesis in Response to Endoplasmic Reticulum (ER) Stress. *The Journal of biological chemistry*, 291(32), 16418–16423. <https://doi.org/10.1074/jbc.C116.742213>
142. Kamenický, P., Mazziotti, G., Lombès, M., Giustina, A., & Chanson, P. (2014). Growth hormone, insulin-like growth factor-1, and the kidney:

pathophysiological and clinical implications. *Endocrine reviews*, 35(2), 234–281. <https://doi.org/10.1210/er.2013-1071>

143. Karpovets, T. P., Shabanova, N. V., Konopelnyuk, V. V., Savchuk, O. M., & Ostapchenko L. I. (2014). High-calorie diet as a factor of obesity development in rats. *Біологічні системи*, 6(2), 139–142. http://ibhb.chnu.edu.ua/uploads/files/vb/BS_T6_V2_2014.pdf

144. Kashfi, K. (2018). The role of hydrogen sulfide in health and disease. *Biochemical pharmacology*, 149, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.02.030>

145. Kasinath, B. S., Feliers, D., & Lee, H. J. (2018). Hydrogen sulfide as a regulatory factor in kidney health and disease. *Biochemical pharmacology*, 149, 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.12.005>

146. 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. <https://doi.org/10.1186/s13098-019-0497-8>

147. 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. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2659-7>

148. Kim, M. S., Park, J. Y., Namkoong, C., Jang, P. G., Ryu, J. W., Song, H. S., ... Lee, K. U. (2004). Anti-obesity effects of alpha-lipoic acid mediated by suppression of hypothalamic AMP-activated protein kinase. *Nature medicine*, 10(7), 727–733. <https://doi.org/10.1038/nm1061>

149. Kim, Y. S., Sung, S. H., Tang, Y., Choi, E. J., Choi, Y. J., Hwang, Y. J., ... Kim, E. K. (2017). Protective Effect of Taurine on Mice with Doxorubicin-

induced Acute Kidney Injury. *Advances in experimental medicine and biology*, 975 Pt 2, 1191–1201. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1079-2_95

150. Kimura, H. (2012). Metabolic turnover of hydrogen sulfide. *Frontiers in physiology*, 3, 101. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00101>

151. Kimura, H. (2014). Production and physiological effects of hydrogen sulfide. *Antioxidants & redox signaling*, 20(5), 783–793. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5309>

152. Kimura, H. (2015). Signaling of hydrogen sulfide and polysulfides. *Antioxidants & redox signaling*, 22(5), 347–349. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.6082>

153. Kimura, H., Shibuya, N., & Kimura, Y. (2012). Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant. *Antioxidants & redox signaling*, 17(1), 45–57. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4345>

154. Kolluru, G. K., Shen, X., & Kevil, C. G. (2013). A tale of two gases: NO and H₂S, foes or friends for life?. *Redox biology*, 1(1), 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.05.001>

155. Kolluru, G. K., Shen, X., Bir, S. C., & Kevil, C. G. (2013). Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 35, 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.07.002>

156. Koning, A. M., Frenay, A. R., Leuvenink, H. G., & van Goor, H. (2015). Hydrogen sulfide in renal physiology, disease and transplantation – the smell of renal protection. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 46, 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2015.01.005>

157. Koniukh, S., Voloshchuk, N., Melnyk, A., & Domin, I. (2020). Hydrogen sulfide metabolism and its role in kidney function in a rat model of chronic kidney disease. *Health Problems Of Civilization*, 14(4), 289–297. <https://doi.org/10.5114/hpc.2020.96571>

158. Konjuch, S., Voloshchuk, N., Melnyk, A., Denysiuk, O., & Zhorniak, P. (2019). Molecular mechanisms of the nephroprotective action of polyphenols in experimental chronic kidney disease. Association with hydrogen sulfide

system. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 23(4), 561–566. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2019-23\(4\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2019-23(4)-01)

159. Konopelniuk, V. V., Goloborodko, I. I., Ishchuk, T. V., Synelnyk, T. B., Ostapchenko, L. I., Spivak, M. Y., & Bubnov, R. V. (2017). Efficacy of Fenugreek-based bionanocomposite on renal dysfunction and endogenous intoxication in high-calorie diet-induced obesity rat model-comparative study. *The EPMA journal*, 8(4), 377–390. <https://doi.org/10.1007/s13167-017-0098-2>

160. Kovesdy, C. P., Furth, S. L., Zoccali, C., & World Kidney Day Steering Committee (2017). Obesity and Kidney Disease: Hidden Consequences of the Epidemic. *Canadian journal of kidney health and disease*, 4, 2054358117698669. <https://doi.org/10.1177/2054358117698669>

161. Krishnaraj, P., Ravindran, S., & Kurian, G. A. (2016). The renal mitochondrial dysfunction in patients with vascular calcification is prevented by sodium thiosulfate. *International urology and nephrology*, 48(11), 1927–1935. <https://doi.org/10.1007/s11255-016-1375-z>

162. Kuang, Q., Xue, N., Chen, J., Shen, Z., Cui, X., Fang, Y., & Ding, X. (2018). Low Plasma Hydrogen Sulfide Is Associated with Impaired Renal Function and Cardiac Dysfunction. *American journal of nephrology*, 47(5), 361–371. <https://doi.org/10.1159/000489606>

163. Kumar, P. A., Brosius, F. C., 3rd, & Menon, R. K. (2011). The glomerular podocyte as a target of growth hormone action: implications for the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Current diabetes reviews*, 7(1), 50–55. <https://doi.org/10.2174/157339911794273900>

164. Kundu, S., Pushpakumar, S. B., Tyagi, A., Coley, D., & Sen, U. (2013). Hydrogen sulfide deficiency and diabetic renal remodeling: role of matrix metalloproteinase-9. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 304(12), E1365–E1378. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00604.2012>

165. Kundu, S., Pushpakumar, S., & Sen, U. (2015). MMP-9- and NMDA receptor-mediated mechanism of diabetic renovascular remodeling and kidney

dysfunction: hydrogen sulfide is a key modulator. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 46, 172–185. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2015.02.003>

166. Lakkis, J. I., & Weir, M. R. (2018). Obesity and Kidney Disease. *Progress in cardiovascular diseases*, 61(2), 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2018.07.005>

167. 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. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl233>

168. Laschke, M. W., Kontaxi, E., Scheuer, C., Heß, A., Karschnia, P., & Menger, M. D. (2019). Insulin-like growth factor 1 stimulates the angiogenic activity of adipose tissue-derived microvascular fragments. *Journal of tissue engineering*, 10, 2041731419879837. <https://doi.org/10.1177/2041731419879837>

169. Lee, H. J., Feliers, D., Barnes, J. L., Oh, S., Choudhury, G. G., Diaz, V., ... Kasinath, B. S. (2018). Hydrogen sulfide ameliorates aging-associated changes in the kidney. *GeroScience*, 40(2), 163–176. <https://doi.org/10.1007/s11357-018-0018-y>

170. Lee, H. J., Feliers, D., Mariappan, M. M., Sataranatarajan, K., Choudhury, G. G., Gorin, Y., & Kasinath, B. S. (2015). Tadalafil Integrates Nitric Oxide-Hydrogen Sulfide Signaling to Inhibit High Glucose-induced Matrix Protein Synthesis in Podocytes. *The Journal of biological chemistry*, 290(19), 12014–12026. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.615377>

171. Lee, H. J., Lee, D. Y., Mariappan, M. M., Feliers, D., Ghosh-Choudhury, G., Abboud, H. ... Kasinath, B. S. (2017). Hydrogen sulfide inhibits high glucose-induced NADPH oxidase 4 expression and matrix increase by recruiting inducible nitric oxide synthase in kidney proximal tubular epithelial cells. *The Journal of biological chemistry*, 292(14), 5665–5675. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.766758>

172. Lee, H. J., Mariappan, M. M., Norton, L., Bakewell, T., Feliers, D., Oh, S. B., ... Kasinath, B. S. (2021). Proximal tubular epithelial insulin receptor

mediates high-fat diet-induced kidney injury. *JCI insight*, 6(3), e143619. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.143619>

173. Lee, M. (1929). Determination Of The Surface Area Of The White Rat With Its Application To The Expression Of Metabolic Results. *American Journal Of Physiology-Legacy Content*, 89(1), 24–33. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1929.89.1.24>

174. Lee, S. H., Kim, M. Y., Kim, H. Y., Lee, Y. M., Kim, H., Nam, K. A., Roh, M. R., Min, d., Chung, K. Y., & Choi, K. Y. (2015). The Dishevelled-binding protein CXXC5 negatively regulates cutaneous wound healing. *The Journal of experimental medicine*, 212(7), 1061–1080. <https://doi.org/10.1084/jem.20141601>

175. Lee, S. R. (2018). Critical Role of Zinc as Either an Antioxidant or a Prooxidant in Cellular Systems. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 9156285. <https://doi.org/10.1155/2018/9156285>

176. Lee, W. J., Song, K. H., Koh, E. H., Won, J. C., Kim, H. S., Park, H. S., Kim, M. S., Kim, S. W., Lee, K. U., & Park, J. Y. (2005). Alpha-lipoic acid increases insulin sensitivity by activating AMPK in skeletal muscle. *Biochemical and biophysical research communications*, 332(3), 885–891. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.05.035>

177. Leucker, T. M., Nomura, Y., Kim, J. H., Bhatta, A., Wang, V., Wecker, A., ... Pandey, D. (2017). Cystathionine γ -lyase protects vascular endothelium: a role for inhibition of histone deacetylase 6. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 312(4), H711–H720. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00724.2016>

178. Li, L., Xiao, T., Li, F., Li, Y., Zeng, O., Liu, M., ... Yang, J. (2017). Hydrogen sulfide reduced renal tissue fibrosis by regulating autophagy in diabetic rats. *Molecular medicine reports*, 16(2), 1715–1722. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6813>

179. Li, M., Xu, C., Shi, J., Ding, J., Wan, X., Chen, D., ... Yu, C. (2018). Fatty acids promote fatty liver disease via the dysregulation of 3-mercaptopyruvate

sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. *Gut*, 67(12), 2169–2180. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-313778>

180. 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. *The Journal of biological chemistry*, 293(8), 2675–2686. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000826>

181. Libiad, M., Yadav, P. K., Vitvitsky, V., Martinov, M., & Banerjee, R. (2014). Organization of the human mitochondrial hydrogen sulfide oxidation pathway. *The Journal of biological chemistry*, 289(45), 30901–30910. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.602664>

182. Lima, A., Ferin, R., Bourbon, M., Baptista, J., & Pavão, M. L. (2019). Hypercysteinemia, A Potential Risk Factor for Central Obesity and Related Disorders in Azores, Portugal. *Journal of nutrition and metabolism*, 2019, 1826780. <https://doi.org/10.1155/2019/1826780>

183. Lin, S., Zhang, Q., Shao, X., Zhang, T., Xue, C., Shi, S., ... Lin, Y. (2017). IGF-1 promotes angiogenesis in endothelial cells/adipose-derived stem cells co-culture system with activation of PI3K/Akt signal pathway. *Cell proliferation*, 50(6), e12390. <https://doi.org/10.1111/cpr.12390>

184. Liu, M. J., Bao, S., Bolin, E. R., Burris, D. L., Xu, X., Sun, Q., ... Knoell, D. L. (2013). Zinc deficiency augments leptin production and exacerbates macrophage infiltration into adipose tissue in mice fed a high-fat diet. *The Journal of nutrition*, 143(7), 1036–1045. <https://doi.org/10.3945/jn.113.175158>

185. Liu, M., Deng, M., Su, J., Lin, Y., Jia, Z., Peng, K., ... Yang, T. (2018). Specific downregulation of cystathionine β -synthase expression in the kidney during obesity. *Physiological reports*, 6(13), e13630. <https://doi.org/10.14814/phy2.13630>

186. Liu, M., Zhu, H., Dai, Y., Pan, H., Li, N., Wang, L., ... Gong, F. (2018). Zinc- α 2-Glycoprotein Is Associated with Obesity in Chinese People and HFD-Induced Obese Mice. *Frontiers in physiology*, 9, 62. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00062>

187. Liu, S., Da, J., Yu, J., Dong, R., Yuan, J., Yu, F., & Zha, Y. (2022). Renal tubule ectopic lipid deposition in diabetic kidney disease rat model and in vitro mechanism of leptin intervention. *Journal of physiology and biochemistry*, 78(2), 389–399. <https://doi.org/10.1007/s13105-022-00874-9>
188. Liu, T., Xiao, B., Xiang, F., Tan, J., Chen, Z., Zhang, X., ... Deng, J. (2020). Ultrasmall copper-based nanoparticles for reactive oxygen species scavenging and alleviation of inflammation related diseases. *Nature communications*, 11(1), 2788. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16544-7>
189. Liu, Y., Zhao, H., Qiang, Y., Qian, G., Lu, S., Chen, J., ... Fu, Y. (2015). Effects of hydrogen sulfide on high glucose-induced glomerular podocyte injury in mice. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(6), 6814–6820. <https://e-century.us/web/journal.php?journal=ijcep>
190. Livingstone, C. (2015). Zinc: physiology, deficiency, and parenteral nutrition. *Nutrition in clinical practice: official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(3), 371–382. <https://doi.org/10.1177/0884533615570376>
191. Lobb, I., Sonke, E., Aboalsamh, G., & Sener, A. (2015). Hydrogen sulphide and the kidney: important roles in renal physiology and pathogenesis and treatment of kidney injury and disease. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 46, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.10.004>
192. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265–275. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)52451-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)52451-6/pdf)
193. Lu, M., Liu, Y. H., Ho, C. Y., Tiong, C. X., & Bian, J. S. (2012). Hydrogen sulfide regulates cAMP homeostasis and renin degranulation in As4.1 and rat renin-rich kidney cells. *American journal of physiology. Cell physiology*, 302(1), C59–C66. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00341.2010>
194. Luo, R., Hu, S., Liu, Q., Han, M., Wang, F., Qiu, M., ... Li, C. (2019). Hydrogen sulfide upregulates renal AQP-2 protein expression and promotes urine

concentration. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 33(1), 469–483.

<https://doi.org/10.1096/fj.201800436R>

195. Luo, T., Liu, G., Long, M., Yang, J., Song, R., Wang, Y., ... Liu, Z. (2017). Treatment of cadmium-induced renal oxidative damage in rats by administration of alpha-lipoic acid. *Environmental science and pollution research international*, 24(2), 1832–1844. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7953-x>

196. Majtan, T., Pey, A. L., Fernández, R., Fernández, J. A., Martínez-Cruz, L. A., & Kraus, J. P. (2014). Domain organization, catalysis and regulation of eukaryotic cystathionine beta-synthases. *PloS one*, 9(8), e105290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105290>

197. Mancinelli, E., Shaw, D. J., & Meredith, A. L. (2012). γ -Glutamyl-transferase (GGT) activity in the urine of clinically healthy domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *The Veterinary record*, 171(19), 475. <https://doi.org/10.1136/vr.101081>

198. Mao, Z., Huang, Y., Zhang, Z., Yang, X., Zhang, X., Huang, Y., ... Yao, J. (2019). Pharmacological levels of hydrogen sulfide inhibit oxidative cell injury through regulating the redox state of thioredoxin. *Free radical biology & medicine*, 134, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.009>

199. Marcinkiewicz, J., & Kontny, E. (2014). Taurine and inflammatory diseases. *Amino acids*, 46(1), 7–20. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1361-4>

200. Marcykiewicz, B., Wiśniowski, Z., Iciek, M., Bilaska-Wilkosz, A., Kowalczyk-Pachel, D., Górny, M., ... Książek P. (2016). The effects of lipoic acid supplementation on the estimated glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. *Nefrologia i Dializoterapia Polska*, 20(4), 235–238. <https://nefroldialpol.pl/2021/05/05/the-effects-of-lipoic-acid-supplementation-onthe-estimated-glomerular-filtration-ratein-patients-with-chronic-kidney-disease/>

201. Marutani, E., & Ichinose, F. (2020). Emerging pharmacological tools to control hydrogen sulfide signaling in critical illness. *Intensive care medicine experimental*, 8(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40635-020-0296-4>

202. Matallo, J., Vogt, J., McCook, O., Wachter, U., Tillmans, F., Groeger, M., ... Calzia, E. (2014). Sulfide-inhibition of mitochondrial respiration at very low oxygen concentrations. *Nitric oxide: biology and chemistry*, *41*, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.06.004>
203. Mikami, Y., Shibuya, N., Kimura, Y., Nagahara, N., Ogasawara, Y., & Kimura, H. (2011). Thioredoxin and dihydrolipoic acid are required for 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase to produce hydrogen sulfide. *The Biochemical journal*, *439*(3), 479–485. <https://doi.org/10.1042/BJ20110841>
204. Mishanina, T. V., Yadav, P. K., Ballou, D. P., & Banerjee, R. (2015). Transient Kinetic Analysis of Hydrogen Sulfide Oxidation Catalyzed by Human Sulfide Quinone Oxidoreductase. *The Journal of biological chemistry*, *290*(41), 25072–25080. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.682369>
205. Módis, K., Coletta, C., Erdélyi, K., Papapetropoulos, A., & Szabo, C. (2013). Intramitochondrial hydrogen sulfide production by 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase maintains mitochondrial electron flow and supports cellular bioenergetics. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *27*(2), 601–611. <https://doi.org/10.1096/fj.12-216507>
206. 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 journal of pharmacology*, *49*(4), 317–321. https://doi.org/10.4103/ijp.IJP_751_16
207. Morales-Loredo, H., Barrera, A., Garcia, J. M., Pace, C. E., Naik, J. S., Gonzalez Bosc, L. V., & Kanagy, N. L. (2019). Hydrogen sulfide regulation of renal and mesenteric blood flow. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, *317*(5), H1157–H1165. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00303.2019>
208. Morikawa, T., Kajimura, M., Nakamura, T., Hishiki, T., Nakanishi, T., Yukutake, Y., ... Suematsu, M. (2012). Hypoxic regulation of the cerebral microcirculation is mediated by a carbon monoxide-sensitive hydrogen sulfide

pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(4), 1293–1298. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119658109>

209. Moslemi, F., Talebi, A., & Nematbakhsh, M. (2019). Protective Effect of Zinc Supplementation on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat: Gender-related Difference. *International journal of preventive medicine*, 10, 68. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_279_17

210. Mount, P. F., & Juncos, L. A. (2017). Obesity-Related CKD: When Kidneys Get the Munchies. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 28(12), 3429–3432. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017080850>

211. Murakami, S. (2015). Role of taurine in the pathogenesis of obesity. *Molecular nutrition & food research*, 59(7), 1353–1363. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500067>

212. Murty, M. S., Sharma, U. K., Pandey, V. B., & Kankare, S. B. (2013). Serum cystatin C as a marker of renal function in detection of early acute kidney injury. *Indian journal of nephrology*, 23(3), 180–183. <https://doi.org/10.4103/0971-4065.111840>

213. Mys, L., Strutynska, N., Luchkova, A., & Sagach, V. (2022). Stimulation of the endogenous hydrogen sulfide synthesis restores constitutive nitric oxide synthesis and endothelium-dependent vasodilation in old rats. *Cardiovascular Research*, 118(Supplement_1). <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac066.173>

214. Namazi, N., Larijani, B., & Azadbakht, L. (2018). Alpha-lipoic acid supplement in obesity treatment: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 37(2), 419–428. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.06.002>

215. Nasiry Zarrin Ghabaee, D., Talebpour Amiri, F., Esmaeelnejad Moghaddam, A., Khalatbary, A. R., & Zargari, M. (2017). Administration of zinc against arsenic-induced nephrotoxicity during gestation and lactation in rat model. *Journal of nephropathology*, 6(2), 74–80. <https://doi.org/10.15171/jnp.2017.13>

216. 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. *Frontiers in pharmacology*, *11*, 564281. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.564281>
217. Niewczas, M. A., Gohda, T., Skupien, J., Smiles, A. M., Walker, W. H., Rosetti, F., ... Krolewski, A. S. (2012). Circulating TNF receptors 1 and 2 predict ESRD in type 2 diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, *23*(3), 507–515. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011060627>
218. Niu, H., Li, Y., Li, H., Chi, Y., Zhuang, M., Zhang, T., ... Nie, L. (2016). Matrix metalloproteinase 12 modulates high-fat-diet induced glomerular fibrogenesis and inflammation in a mouse model of obesity. *Scientific reports*, *6*, 20171. <https://doi.org/10.1038/srep20171>
219. Niu, W. N., Yadav, P. K., Adamec, J., & Banerjee, R. (2015). S-glutathionylation enhances human cystathionine β -synthase activity under oxidative stress conditions. *Antioxidants & redox signaling*, *22*(5), 350–361. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5891>
220. 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. *Laboratory animals*, *41*(1), 111–119. <https://doi.org/10.1258/002367707779399518>
221. *Obesity Rates by Country 2022*. worldpopulationreview.com. Взято 10 травня 2022 з <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/obesity-rates-by-country>
222. Oh, Y. (2012). The insulin-like growth factor system in chronic kidney disease: Pathophysiology and therapeutic opportunities. *Kidney research and clinical practice*, *31*(1), 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.krcp.2011.12.005>
223. Olson, K. R., & Straub, K. D. (2016). The Role of Hydrogen Sulfide in Evolution and the Evolution of Hydrogen Sulfide in Metabolism and Signaling. *Physiology (Bethesda, Md.)*, *31*(1), 60–72. <https://doi.org/10.1152/physiol.00024.2015>

224. Olson, K. R., Deleon, E. R., Gao, Y., Hurley, K., Sadauskas, V., Batz, C., & Stoy, G. F. (2013). Thiosulfate: a readily accessible source of hydrogen sulfide in oxygen sensing. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, *305*(6), R592–R603. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00421.2012>
225. Ono, K., Akaike, T., Sawa, T., Kumagai, Y., Wink, D. A., Tantillo, D. J., ... Fukuto, J. M. (2014). Redox chemistry and chemical biology of H₂S, hydropersulfides, and derived species: implications of their possible biological activity and utility. *Free radical biology & medicine*, *77*, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.09.007>
226. Owumi, S. E., Adeniyi, G., & Oyelere, A. K. (2021). The modulatory effect of taurine on benzo (a) pyrene-induced hepatorenal toxicity. *Toxicology research*, *10*(3), 389–398. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab016>
227. Paul, B. D., & Snyder, S. H. (2015). Modes of physiologic H₂S signaling in the brain and peripheral tissues. *Antioxidants & redox signaling*, *22*(5), 411–423. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5917>
228. Peh, M. T., Anwar, A. B., Ng, D. S., Atan, M. S., Kumar, S. D., & Moore, P. K. (2014). Effect of feeding a high fat diet on hydrogen sulfide (H₂S) metabolism in the mouse. *Nitric oxide: biology and chemistry*, *41*, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.03.002>
229. Peng, T., Zhuo, L., Wang, Y., Jun, M., Li, G., Wang, L., & Hong, D. (2018). Systematic review of sodium thiosulfate in treating calciphylaxis in chronic kidney disease patients. *Nephrology (Carlton, Vic.)*, *23*(7), 669–675. <https://doi.org/10.1111/nep.13081>
230. Piko, N., Petreski, T., Naji, F., Ekart, R., Hojs, R., & Bevc, S. (2021). Cystatin C and arterial stiffness in patients without chronic kidney disease. *Clinical nephrology*, *96*(1), 43–48. <https://doi.org/10.5414/CNP96S08>
231. Poli, V., Madduru, R., Aparna, Y., Kandukuri, V., & Motireddy, S. R. (2022). Amelioration of Cadmium-Induced Oxidative Damage in Wistar Rats by

Vitamin C, Zinc and N-Acetylcysteine. *Medical sciences (Basel, Switzerland)*, 10(1), 7. <https://doi.org/10.3390/medsci10010007>

232. Pollak, M. R., Quaggin, S. E., Hoenig, M. P., & Dworkin, L. D. (2014). The glomerulus: the sphere of influence. *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 9(8), 1461–1469. <https://doi.org/10.2215/CJN.09400913>

233. Poore, W., Boyd, C. J., Singh, N. P., Wood, K., Gower, B., & Assimos, D. G. (2020). Obesity and Its Impact on Kidney Stone Formation. *Reviews in urology*, 22(1), 17–23. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7265184/>

234. Pouokam, E., & Althaus, M. (2016). Epithelial Electrolyte Transport Physiology and the Gasotransmitter Hydrogen Sulfide. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 4723416. <https://doi.org/10.1155/2016/4723416>

235. Powell, C. R., Dillon, K. M., & Matson, J. B. (2018). A review of hydrogen sulfide (H₂S) donors: Chemistry and potential therapeutic applications. *Biochemical pharmacology*, 149, 110–123. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.11.014>

236. Praga, M., & Morales, E. (2017). The Fatty Kidney: Obesity and Renal Disease. *Nephron*, 136(4), 273–276. <https://doi.org/10.1159/000447674>

237. Prieto-Hontoria, P. L., Pérez-Matute, P., Fernández-Galilea, M., Martínez, J. A., & Moreno-Aliaga, M. J. (2011). Lipoic acid inhibits leptin secretion and Sp1 activity in adipocytes. *Molecular nutrition & food research*, 55(7), 1059–1069. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000534>

238. Pushpakumar, S., Kundu, S., & Sen, U. (2019). Hydrogen Sulfide Protects Hyperhomocysteinemia-Induced Renal Damage by Modulation of Caveolin and eNOS Interaction. *Scientific reports*, 9(1), 2223. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38467-6>

239. Qian, Q. (2018). Salt, water and nephron: Mechanisms of action and link to hypertension and chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton, Vic.)*, 23 Suppl 4(Suppl Suppl 4), 44–49. <https://doi.org/10.1111/nep.13465>

240. Qin, H., Zhang, X., Ye, F., & Zhong, L. (2014). High-fat diet-induced changes in liver thioredoxin and thioredoxin reductase as a novel feature of insulin resistance. *FEBS open bio*, *4*, 928–935. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2014.10.015>
241. Rae, F. K., Suhaimi, N., Li, J., Nastasi, T., Slonimsky, E., Rosenthal, N., & Little, M. H. (2012). Proximal tubule overexpression of a locally acting IGF isoform, IGF-1Ea, increases inflammation after ischemic injury. *Growth hormone & IGF research: official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*, *22*(1), 6–16. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2011.11.002>
242. Rangel Silveiras, R., Nunes Goulart da Silva Pereira, E., Eduardo Ilaquita Flores, E., Lino Rodrigues, K., Ribeiro Silva, A., Gonçalves-de-Albuquerque, C. F., & Daliry, A. (2019). High-fat diet-induced kidney alterations in rats with metabolic syndrome: endothelial dysfunction and decreased antioxidant defense. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, *12*, 1773–1781. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S21125>
243. Rao, X., Huang, X., Zhou, Z., & Lin, X. (2013). An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, bioinformatics and biomathematics*, *3*(3), 71–85. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4280562>
244. Redon, J., & Lurbe, E. (2015). The kidney in obesity. *Current hypertension reports*, *17*(6), 555. <https://doi.org/10.1007/s11906-015-0555-z>
245. Renga, B., Cipriani, S., Carino, A., Simonetti, M., Zampella, A., & Fiorucci, S. (2015). Reversal of Endothelial Dysfunction by GPBAR1 Agonism in Portal Hypertension Involves a AKT/FOXO1 Dependent Regulation of H2S Generation and Endothelin-1. *PloS one*, *10*(11), e0141082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141082>
246. Revenko, O., Pavlovskiy, Y., Savytska, M., Yashchenko, A., Kovalyshyn, V., Chelpanova, I., ... Zayachkivska, O. (2021). Hydrogen Sulfide Prevents Mesenteric Adipose Tissue Damage, Endothelial Dysfunction, and Redox

Imbalance From High Fructose Diet-Induced Injury in Aged Rats. *Frontiers in pharmacology*, 12, 693100. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.693100>

247. 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. *Biological trace element research*, 198(1), 51–57. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02060-8>

248. Rong-na, L., Xiang-jun, Z., Yu-han, C., Ling-qiao, L., & Gang, H. (2011). Interaction between hydrogen sulfide and nitric oxide on cardiac protection in rats with metabolic syndrome. *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 33(1), 25–32. <https://doi.org/10.3881/j.issn.1000-503X.2011.01.007>

249. Saad-Hussein, A., Ibrahim, K. S., Abdalla, M. S., El-Mezayen, H. A., & Osman, N. (2019). Effects of zinc supplementation on oxidant/antioxidant and lipids status of pesticides sprayers. *Journal of complementary & integrative medicine*, 17(1), [/j/jcim.2019.17.issue-1/jcim-2019-0001/jcim-2019-0001.xml](https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0001). <https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0001>

250. Sacan, O., Turkyilmaz, I. B., Bayrak, B. B., Mutlu, O., Akev, N., & Yanardag, R. (2016). Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 29(2), 239–248. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9911-y>

251. Salehipour, M., Monabbati, A., Ensafdaran, M. R., Adib, A., & Babaei, A. H. (2017). The effect of zinc on healing of renal damage in rats. *Journal of nephropathology*, 6(3), 157–162. <https://doi.org/10.15171/jnp.2017.27>

252. Salmhofer, H., Franzen, M., Hitzl, W., Koller, J., Kreymann, B., Fend, F., ... Schmaderer, C. (2013). Multi-modal treatment of calciphylaxis with sodium-thiosulfate, cinacalcet and sevelamer including long-term data. *Kidney & blood pressure research*, 37(4-5), 346–359. <https://doi.org/10.1159/000350162>

253. Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2016). Transcriptional control of amino acid homeostasis is disrupted in Huntington's disease. *Proceedings*

of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113(31), 8843–8848. <https://doi.org/10.1073/pnas.1608264113>

254. Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2018). Golgi stress response reprograms cysteine metabolism to confer cytoprotection in Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(4), 780–785. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717877115>

255. Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2019). Regulators of the transsulfuration pathway. *British journal of pharmacology*, 176(4), 583–593. <https://doi.org/10.1111/bph.14446>

256. Schaffer, S., & Kim, H. W. (2018). Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomolecules & therapeutics*, 26(3), 225–241. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.251>

257. Schreiber, B. D., Hughes, M. L., & Groggel, G. C. (1995). Insulin-like growth factor-1 stimulates production of mesangial cell matrix components. *Clinical nephrology*, 43(6), 368–374. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7554520/>

258. Sen, N., Paul, B. D., Gadalla, M. M., Mustafa, A. K., Sen, T., Xu, R., ... Snyder, S. H. (2012). Hydrogen sulfide-linked sulfhydration of NF- κ B mediates its antiapoptotic actions. *Molecular cell*, 45(1), 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.10.021>

259. Sharma, I., Liao, Y., Zheng, X., & Kanwar, Y. S. (2021). New Pandemic: Obesity and Associated Nephropathy. *Frontiers in medicine*, 8, 673556. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.673556>

260. Shen, X. H., Tang, Q. Y., Huang, J., & Cai, W. (2010). Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 235(1), 47–51. <https://doi.org/10.1258/ebm.2009.009122>

261. Shevalye, H., Lupachyk, S., Watcho, P., Stavniichuk, R., Khazim, K., Abboud, H. E., & Obrosova, I. G. (2012). Prediabetic nephropathy as an early consequence of the high-calorie/high-fat diet: relation to oxidative stress. *Endocrinology*, 153(3), 1152–1161. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1997>

262. Shibuya, N., Koike, S., Tanaka, M., Ishigami-Yuasa, M., Kimura, Y., Ogasawara, Y., ... Kimura, H. (2013). A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nature communications*, *4*, 1366. <https://doi.org/10.1038/ncomms2371>
263. Shimada, K., Jong, C. J., Takahashi, K., & Schaffer, S. W. (2015). Role of ROS Production and Turnover in the Antioxidant Activity of Taurine. *Advances in experimental medicine and biology*, *803*, 581–596. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15126-7_47
264. Shirazi, M. K., Azarnezhad, A., Abazari, M. F., Poorebrahim, M., Ghoraeian, P., Sanadgol, N., ... Askari, H. (2019). The role of nitric oxide signaling in renoprotective effects of hydrogen sulfide against chronic kidney disease in rats: Involvement of oxidative stress, autophagy and apoptosis. *Journal of cellular physiology*, *234*(7), 11411–11423. <https://doi.org/10.1002/jcp.27797>
265. Smith, V. M., Oliphant, T., Shareef, M., Merchant, W., & Wilkinson, S. M. (2012). Calciphylaxis with normal renal function: treated with intravenous sodium thiosulfate. *Clinical and experimental dermatology*, *37*(8), 874–878. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2012.04350.x>
266. Snijder, P. M., Frenay, A. R., Koning, A. M., Bachtler, M., Pasch, A., Kwakernaak, A. J., ... van Goor, H. (2014). Sodium thiosulfate attenuates angiotensin II-induced hypertension, proteinuria and renal damage. *Nitric oxide: biology and chemistry*, *42*, 87–98. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.10.002>
267. Soheilipour, F., Ebrahimian, M., Pishgahroudsari, M., Hajian, M., Amirkashani, D., Ordooei, M., ... Eskandari, D. (2021). The prevalence of zinc deficiency in morbidly obese patients before and after different types of bariatric surgery. *BMC endocrine disorders*, *21*(1), 107. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00763-0>
268. Song, K., Li, Q., Yin, X. Y., Lu, Y., Liu, C. F., & Hu, L. F. (2015). Hydrogen Sulfide: A Therapeutic Candidate for Fibrotic Disease?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2015*, 458720. <https://doi.org/10.1155/2015/458720>

269. Sonoda, Y., Gohda, T., Suzuki, Y., Omote, K., Ishizaka, M., Matsuoka, J., & Tomino, Y. (2015). Circulating TNF receptors 1 and 2 are associated with the severity of renal interstitial fibrosis in IgA nephropathy. *PloS one*, *10*(4), e0122212. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122212>
270. Stein, A., & Bailey, S. M. (2013). Redox Biology of Hydrogen Sulfide: Implications for Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Redox biology*, *1*(1), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2012.11.006>
271. Stipanuk, M. H., & Beck, P. W. (1982). Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *The Biochemical journal*, *206*(2), 267–277. <https://doi.org/10.1042/bj2060267>
272. Stubbert, D., Prysyazhna, O., Rudyk, O., Scotcher, J., Burgoyne, J. R., & Eaton, P. (2014). Protein kinase G I α oxidation paradoxically underlies blood pressure lowering by the reductant hydrogen sulfide. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, *64*(6), 1344–1351. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04281>
273. Su, W., Cao, R., Zhang, X. Y., & Guan, Y. (2020). Aquaporins in the kidney: physiology and pathophysiology. *American journal of physiology. Renal physiology*, *318*(1), F193–F203. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00304.2019>
274. Sucedaram, Y., Johns, E. J., Husain, R., Abdul Sattar, M., H Abdulla, M., Nelli, G., ... Abdullah, N. A. (2021). Exposure to High-Fat Style Diet Induced Renal and Liver Structural Changes, Lipid Accumulation and Inflammation in Intact and Ovariectomized Female Rats. *Journal of inflammation research*, *14*, 689–710. <https://doi.org/10.2147/JIR.S299083>
275. Suh, S. H., Lee, K. E., Kim, I. J., Kim, O., Kim, C. S., Choi, J. S., ... Kim, S. W. (2015). Alpha-lipoic acid attenuates lipopolysaccharide-induced kidney injury. *Clinical and experimental nephrology*, *19*(1), 82–91. <https://doi.org/10.1007/s10157-014-0960-7>
276. Sung, Y. Y., Kim, S. H., Yoo, B. W., & Kim, H. K. (2015). The nutritional composition and anti-obesity effects of an herbal mixed extract containing *Allium fistulosum* and *Viola mandshurica* in high-fat-diet-induced obese

mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 370.
<https://doi.org/10.1186/s12906-015-0875-1>

277. Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2017). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H₂S Levels: H₂S Donors and H₂S Biosynthesis Inhibitors. *Pharmacological reviews*, 69(4), 497–564.
<https://doi.org/10.1124/pr.117.014050>

278. Thibault, L. (2013). Animal models of dietary-induced obesity. In P. M. Conn (Ed.), *Animal models for the study of human disease* (pp. 277–303). Academic Press, Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-05225-0>

279. Thirupathi, A., Freitas, S., Sorato, H. R., Pedroso, G. S., Effting, P. S., Damiani, A. P., ... Pinho, R. A. (2018). Modulatory effects of taurine on metabolic and oxidative stress parameters in a mice model of muscle overuse. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 54, 158–164.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.03.058>

280. Tizhe, E. V., Ibrahim, N. D., Fatihu, M. Y., Onyebuchi, I. I., George, B. D., Ambali, S. F., & Shallangwa, J. M. (2014). Influence of zinc supplementation on histopathological changes in the stomach, liver, kidney, brain, pancreas and spleen during subchronic exposure of Wistar rats to glyphosate. *Comparative clinical pathology*, 23(5), 1535–1543. <https://doi.org/10.1007/s00580-013-1818-1>

281. Tokuyama, A., Kanda, E., Itano, S., Kondo, M., Wada, Y., Kadoya, H., ... Kashihara, N. (2021). Effect of zinc deficiency on chronic kidney disease progression and effect modification by hypoalbuminemia. *PloS one*, 16(5), e0251554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251554>

282. Vayá, A., Rivera, L., Hernández-Mijares, A., de la Fuente, M., Solá, E., Romagnoli, M., ... Laiz, B. (2012). Homocysteine levels in morbidly obese patients: its association with waist circumference and insulin resistance. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 52(1), 49–56. <https://doi.org/10.3233/CH-2012-1544>

283. Vitvitsky, V., Prudova, A., Stabler, S., Dayal, S., Lentz, S. R., & Banerjee, R. (2007). Testosterone regulation of renal cystathionine beta-synthase:

implications for sex-dependent differences in plasma homocysteine levels. *American journal of physiology. Renal physiology*, 293(2), F594–F600. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00171.2007>

284. Wang, J., You, D., Wang, H., Yang, Y., Zhang, D., Lv, J., ... Ma, L. (2021). Association between homocysteine and obesity: A meta-analysis. *Journal of evidence-based medicine*, 14(3), 208–217. <https://doi.org/10.1111/jebm.12412>

285. Wang, P., Isaak, C. K., Siow, Y. L., & O, K. (2014). Downregulation of cystathionine β -synthase and cystathionine γ -lyase expression stimulates inflammation in kidney ischemia-reperfusion injury. *Physiological reports*, 2(12), e12251. <https://doi.org/10.14814/phy2.12251>

286. Wang, R. (2012). Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiological reviews*, 92(2), 791–896. <https://doi.org/10.1152/physrev.00017.2011>

287. Wang, S., Chi, K., Wu, D., & Hong, Q. (2021). Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins in Kidney Disease. *Frontiers in pharmacology*, 12, 807119. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.807119>

288. Wang, Y., Xing, Q. Q., Tu, J. K., Tang, W. B., Yuan, X. N., Xie, Y. Y., ... Yuan, Q. J. (2019). Involvement of hydrogen sulfide in the progression of renal fibrosis. *Chinese medical journal*, 132(23), 2872–2880. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000537>

289. Weber, G. J., Pushpakumar, S. B., & Sen, U. (2017). Hydrogen sulfide alleviates hypertensive kidney dysfunction through an epigenetic mechanism. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 312(5), H874–H885. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00637.2016>

290. Wei, L., Li, Y., Yu, Y., Xu, M., Chen, H., Li, L., ... Zhuang, Y. (2021). Obesity-Related Glomerulopathy: From Mechanism to Therapeutic Target. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 14, 4371–4380. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S334199>

291. Whaley-Connell, A., & Sowers, J. R. (2017). Obesity and kidney disease: from population to basic science and the search for new

therapeutic targets. *Kidney international*, 92(2), 313–323.
<https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.12.034>

292. 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. *Pharmacological reports: PR*, 63(1), 184–188.
[https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(11\)70414-5](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(11)70414-5)

293. Wu, D., Gao, B., Li, M., Yao, L., Wang, S., Chen, M., ... Li, Y. (2016). Hydrogen Sulfide Mitigates Kidney Injury in High Fat Diet-Induced Obese Mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 2715718.
<https://doi.org/10.1155/2016/2715718>

294. Wu, D., Luo, N., Wang, L., Zhao, Z., Bu, H., Xu, G., Yan, Y., Che, X., Jiao, Z., Zhao, T., Chen, J., Ji, A., Li, Y., & Lee, G. D. (2017). Hydrogen sulfide ameliorates chronic renal failure in rats by inhibiting apoptosis and inflammation through ROS/MAPK and NF-κB signaling pathways. *Scientific reports*, 7(1), 455.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-00557-2>

295. Wu, N., Siow, Y. L., & O, K. (2010). Ischemia/reperfusion reduces transcription factor Sp1-mediated cystathionine beta-synthase expression in the kidney. *The Journal of biological chemistry*, 285(24), 18225–18233.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.132142>

296. Xiang, Y., Zhao, Q., Wang, N., Yu, Y., Wang, R., Zhang, Y., Cui, S., Wu, Y., Liu, X., Jiang, Y., Yu, Y., & Zhao, G. (2021). Association of Obesity with the Risk of Hyperhomocysteinemia among the Chinese Community Residents: A Prospective Cohort Study in Shanghai, China. *Nutrients*, 13(10), 3648.
<https://doi.org/10.3390/nu13103648>

297. Xiao, Q., Ying, J., Xiang, L., & Zhang, C. (2018). The biologic effect of hydrogen sulfide and its function in various diseases. *Medicine*, 97(44), e13065.
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000013065>

298. Xu, T., Sheng, Z., & Yao, L. (2017). Obesity-related glomerulopathy: pathogenesis, pathologic, clinical characteristics and treatment. *Frontiers of medicine*, 11(3), 340–348. <https://doi.org/10.1007/s11684-017-0570-3>

299. Yadav, P. K., Yamada, K., Chiku, T., Koutmos, M., & Banerjee, R. (2013). Structure and kinetic analysis of H₂S production by human mercaptopyruvate sulfurtransferase. *The Journal of biological chemistry*, 288(27), 20002–20013. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.466177>
300. Yamamoto, J., Sato, W., Kosugi, T., Yamamoto, T., Kimura, T., Taniguchi, S., ... Niki, I. (2013). Distribution of hydrogen sulfide (H₂S)-producing enzymes and the roles of the H₂S donor sodium hydrosulfide in diabetic nephropathy. *Clinical and experimental nephrology*, 17(1), 32–40. <https://doi.org/10.1007/s10157-012-0670-y>
301. 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. *Biochimica et biophysica acta. Molecular and cell biology of lipids*, 1863(2), 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2017.11.008>
302. Yang, G., Pei, Y., Teng, H., Cao, Q., & Wang, R. (2011). Specificity protein-1 as a critical regulator of human cystathionine gamma-lyase in smooth muscle cells. *The Journal of biological chemistry*, 286(30), 26450–26460. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.266643>
303. Yang, J., Fang, P., Yu, D., Zhang, L., Zhang, D., Jiang, X., ... Wang, H. (2016). Chronic Kidney Disease Induces Inflammatory CD40⁺ Monocyte Differentiation via Homocysteine Elevation and DNA Hypomethylation. *Circulation research*, 119(11), 1226–1241. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308750>
304. Yang, J., Minkler, P., Grove, D., Wang, R., Willard, B., Dweik, R., & Hine, C. (2019). Non-enzymatic hydrogen sulfide production from cysteine in blood is catalyzed by iron and vitamin B₆. *Communications biology*, 2, 194. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0431-5>
305. Yang, P., Xiao, Y., Luo, X., Zhao, Y., Zhao, L., Wang, Y., ... Chen, Y. (2017). Inflammatory stress promotes the development of obesity-related chronic

kidney disease via CD36 in mice. *Journal of lipid research*, 58(7), 1417–1427. <https://doi.org/10.1194/jlr.M076216>

306. Yang, S., Cao, C., Deng, T., & Zhou, Z. (2020). Obesity-Related Glomerulopathy: A Latent Change in Obesity Requiring More Attention. *Kidney & blood pressure research*, 45(4), 510–522. <https://doi.org/10.1159/000507784>

307. Yi, J., Yuan, Y., Zheng, J., & Hu, N. (2018). Hydrogen sulfide alleviates uranium-induced kidney cell apoptosis mediated by ER stress via 20S proteasome involving in Akt/GSK-3 β /Fyn-Nrf2 signaling. *Free radical research*, 52(9), 1020–1029. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1514603>

308. Yoshioka, H., Usuda, H., Nonogaki, T., & Onosaka, S. (2016). Carbon tetrachloride-induced lethality in mouse is prevented by multiple pretreatment with zinc sulfate. *The Journal of toxicological sciences*, 41(1), 55–63. <https://doi.org/10.2131/jts.41.55>

309. Yuan, X., Zhang, J., Xie, F., Tan, W., Wang, S., Huang, L., ... Yuan, Q. (2017). Loss of the Protein Cystathionine β -Synthase During Kidney Injury Promotes Renal Tubulointerstitial Fibrosis. *Kidney & blood pressure research*, 42(3), 428–443. <https://doi.org/10.1159/000479295>

310. Zahid, H., Miah, L., Lau, A. M., Brochard, L., Hati, D., Bui, T. T., ... McDermott, L. C. (2016). Zinc-induced oligomerization of zinc α 2 glycoprotein reveals multiple fatty acid-binding sites. *The Biochemical journal*, 473(1), 43–54. <https://doi.org/10.1042/BJ20150836>

311. Zaichko, N. V., Blazhchenko, V. V., Bobetska, O. P., & Filchukov, D. O. (2019). Effects of zinc sulfate, sodium thiosulfate and alpha ketoglutarate on hydrogen sulfide production in the kidney of obese rats. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу, м. Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р.* (с. 186). *Медична та клінічна хімія*, 21(3, додаток). ТДМУ «Укрмедкнига». <http://www.biochemistry.org.ua/index.php/uk/ubs-society-newsua/5590-11-10-2019-30-04-2019>

312. Zaichko, N. V., Melnik, A. V., Yoltukhivskyy, M. M., Olhovskiy, A. S., & Palamarchuk, I. V. (2014). Hydrogen sulfide: metabolism, biological and

medical role. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 86(5), 5–25.
<https://doi.org/10.15407/ubj86.05.005>

313. Zaichko, N. V., Palamarchuk, I. V., Blazhchenko, V. V., Ostrenyuk, R. S., & Bobetska, O. P. (2019). Age related changes in hydrogen sulfide metabolism in rats organs: connection with mediators of angiogenesis. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу, м. Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р.* (с. 187–188). *Медична та клінічна хімія*, 21(3, додаток). ТДМУ «Укрмедкнига». <http://www.biochemistry.org.ua/index.php/uk/ubs-society-newsua/5590-11-10-2019-30-04-2019>

314. Zee, T., Bose, N., Zee, J., Beck, J. N., Yang, S., Parihar, J., ... Kapahi, P. (2017). α -Lipoic acid treatment prevents cystine urolithiasis in a mouse model of cystinuria. *Nature medicine*, 23(3), 288–290. <https://doi.org/10.1038/nm.4280>

315. Zhang, H., Zhao, H., & Guo, N. (2021). Protective effect of hydrogen sulfide on the kidney (Review). *Molecular medicine reports*, 24(4), 696. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12335>

316. Zhang, J., & McCullough, P. A. (2016). Lipoic Acid in the Prevention of Acute Kidney Injury. *Nephron*, 134(3), 133–140. <https://doi.org/10.1159/000448666>

317. Zhang, J., Chen, S., Liu, H., Zhang, B., Zhao, Y., Ma, K., ... Zhang, Z. (2013). Hydrogen sulfide prevents hydrogen peroxide-induced activation of epithelial sodium channel through a PTEN/PI(3,4,5)P3 dependent pathway. *PLoS one*, 8(5), e64304. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064304>

318. Zhang, L., Yang, G., Tang, G., Wu, L., & Wang, R. (2011). Rat pancreatic level of cystathionine γ -lyase is regulated by glucose level via specificity protein 1 (SP1) phosphorylation. *Diabetologia*, 54(10), 2615–2625. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2187-4>

319. Zhang, R., Wang, X., Gao, Q., Jiang, H., Zhang, S., Lu, M., ... Xue, X. (2020). Taurine Supplementation Reverses Diabetes-Induced Podocytes Injury via Modulation of the CSE/TRPC6 Axis and Improvement of Mitochondrial Function. *Nephron*, 144(2), 84–95. <https://doi.org/10.1159/000503832>

320. Zhang, S., Pan, C., Zhou, F., Yuan, Z., Wang, H., Cui, W., & Zhang, G. (2015). Hydrogen Sulfide as a Potential Therapeutic Target in Fibrosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 593407. <https://doi.org/10.1155/2015/593407>
321. Zhang, Y., Ali, A., Jin, Z., Pei, Y., & Yang, G. (2019). Induction of cystathionine gamma-lyase expression and metallothionein-1 S-sulfhydration alleviate cadmium-induced cell death in myoblast cells. *Ecotoxicology and environmental safety*, 179, 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.04.063>
322. Zhao, H., Chan, S. J., Ng, Y. K., & Wong, P. T. (2013). Brain 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase (3MST): Cellular Localization and Downregulation after Acute Stroke. *PloS one*, 8(6), e67322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067322>
323. Zhao, H., Dong, Y., Tian, X., Tan, T. K., Liu, Z., Zhao, Y., ... Zheng, G. (2013). Matrix metalloproteinases contribute to kidney fibrosis in chronic kidney diseases. *World journal of nephrology*, 2(3), 84–89. <https://doi.org/10.5527/wjn.v2.i3.84>
324. Zhou, X., Feng, Y., Zhan, Z., & Chen, J. (2014). Hydrogen sulfide alleviates diabetic nephropathy in a streptozotocin-induced diabetic rat model. *The Journal of biological chemistry*, 289(42), 28827–28834. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.596593>
325. Zhu, C., Xuan, X., Che, R., Ding, G., Zhao, M., Bai, M., ... Zhang, A. (2014). Dysfunction of the PGC-1 α -mitochondria axis confers adriamycin-induced podocyte injury. *American journal of physiology. Renal physiology*, 306(12), F1410–F1417. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00622.2013>

ДОДАТОК А
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти та таурину на обмін гідроген сульфід у нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Медична та клінічна хімія*, 24(1), 46–52. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i1.13036>

2. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти, таурину на експресію ензимів синтезу гідроген сульфід, медіатори запалення, фіброгенезу в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Вісник проблем біології та медицини*, 1(2), 114–125. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-114-125>

3. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на морфологічні зміни в нирках щурів з ожирінням, індукованим висококалорійною дієтою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 26(2), 184–190. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(2\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(2)-03)

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

4. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., Штатко, О. І., & Остренюк, Р. С. (2020). *Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід за аліментарного ожиріння в експеримент* (Патент України № 143133). Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269727>

5. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Штатко, О. І., (2020). *Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід за аліментарного ожиріння в експерименті* (Патент України № 143134). Міністерство розвитку економіки,

торгівлі та сільського господарства України.
<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269728>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Остренюк, Р. С., Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2017). Вплив високожирової дієти на вміст гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2017: матеріали XIV міжнародної конференції студентів та молодих вчених, м. Вінниця, 26-28 квітня, 2017* (с. 220–221). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/2063>

7. Заїчко, Н. В., Остренюк, Р. С., & Блажченко, В. В. (2017). Аналіз впливу високожирової дієти на кінетичні параметри синтезу гідроген сульфїду в органах щурів. У І. М. Кліщ, & О. О. Шевчук (Відп.), *Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ): матеріали LX науково-практичної конференції, м. Тернопіль, 14 червня, 2017* (с. 288–290). ТДМУ «Укрмедкнига». <https://repository.tdmu.edu.ua/handle/1/8519>

8. Blazhchenko, V. V., Ostrenyuk, R. S., & Zaichko, N. V. (2017). The activity of enzymes of transsulfuration in kidneys and myocardium of rats with experimental obesity. In A. Bogucka-Kocka (Ed.), *VIII Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, 18-20 September 2017, Lublin, Poland: Programme and Book of Abstract* (p. 52). Polihymnia.

9. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2018). Вплив висококалорійної дієти на активність H₂S-синтезуючих ензимів в жировій тканині. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2018: матеріали XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених, м. Вінниця, 18-20 квітня, 2018* (с. 205–206). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/2648>

10. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2019). Вплив висококалорійної дієти на вміст гідроген сульфїду та показники оксидативного стресу в нирках щурів. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2019: матеріали XVI міжнародної конференції студентів та молодих*

вчених, м. Вінниця, 18-19 квітня, 2019 (с. 426–427). ВНМУ.
<https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/4436>

11. Zaichko, N. V., Blazhchenko, V. V., Bobetska, O. P., & Filchukov, D. O. (2019). Effects of zinc sulfate, sodium thiosulfate and alpha ketoglutarate on hydrogen sulfide production in the kidney of obese rats. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу, м. Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р.* (с. 186). *Медична та клінічна хімія, 21(3, додаток)*. ТДМУ «Укрмедкнига». <http://www.biochemistry.org.ua/index.php/uk/ubs-society-newsua/5590-11-10-2019-30-04-2019>

12. Zaichko, N. V., Palamarchuk, I. V., Blazhchenko, V. V., Ostrenyuk, R. S., & Bobetska, O. P. (2019). Age related changes in hydrogen sulfide metabolism in rats organs: connection with mediators of angiogenesis. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу, м. Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р.* (с. 187–188). *Медична та клінічна хімія, 21(3, додаток)*. ТДМУ «Укрмедкнига». <http://www.biochemistry.org.ua/index.php/uk/ubs-society-newsua/5590-11-10-2019-30-04-2019>

13. Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Заїчко, Н. В. (2019). Вплив тіосульфату натрію на рівень гідроген сульфїду та показники тіол-дисульфїдного обміну в нирках та міокарді щурів за експериментального ожиріння. У М. М. Рожко, & Л. М. Шафран (Гол.), *Бабенківські читання: матеріали науково-практична конференція з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2019* (с. 26). ІФНМУ

14. Заїчко, Н. В., Бобецька, О. П., & Блажченко, В. В. (2019). Вплив ліпоєвої кислоти на продукцію гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У В. М. Мороз, & О. О. Яковлева (Ред.), *Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позиції доказової медицини: матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції за участі міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології, м. Вінниця, 7-8 листопада, 2019* (с. 77–78). Нілан-ЛТД

15. Заїчко, Н. В., Блажченко, В. В., & Бобецька, О. П. (2020). Вплив таурину на продукцію гідроген сульфїду в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У А. А. Котвіцька, В. А. Капустник, Г. Б. Кравченко, О. А. Наконечна, & Т. О. Брюханова (Ред.), *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 2 жовтня 2020 р.* (с. 11). НФаУ. <https://biochem.nuph.edu.ua/naukovo-praktichna-konferencija-z-mizhn/>

16. Блажченко, В. В., Бобецька, О. П., & Заїчко, Н. В. (2020). Вплив таурину на рівень гідроген сульфїду та маркери оксидативного стресу в міокарді та нирках щурів з експериментальним ожирінням. У В. М. Мороз, О. В. Власенко, & Н. І. Волощук (Ред.), *Перший крок в науку – 2020: матеріали XVII міжнародної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Вінниця, 8-10 квітня, 2020* (с. 482–483). ВНМУ. <https://dspace.vnmu.edu.ua/handle/123456789/5537>

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. XIV міжнародна конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017» (Вінниця, 26-28 квітня, 2017, форма участі – усна доповідь, публікація тез, диплом II ступеня).

2. LX науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ)» (Тернопіль, 14 червня, 2017, форма участі – постерна доповідь, публікація тез).

3. VIII Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry (Lublin, Poland, 18-20 September, 2017, форма участі – постерна доповідь, публікація тез).

4. XV міжнародна конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018» (Вінниця, 18-20 квітня, 2018, форма участі – усна доповідь, публікація тез, диплом II ступеня).

5. XVI міжнародна конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2019» (Вінниця, 18-19 квітня, 2019, форма участі – усна доповідь, публікація тез).

6. XII Український біохімічний конгрес (Тернопіль, 30 вересня – 4 жовтня, 2019, форма участі – постерна доповідь, публікація тез).

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Бабенківські читання» (Івано-Франківськ, 24-25 жовтня, 2019, форма участі – публікація тез).

8. X Всеукраїнська науково-практична конференція за участі міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позиції доказової медицини» (Вінниця, 7-8 листопада, 2019, форма участі – усна доповідь, публікація тез).

9. XVII міжнародна конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2020» (Вінниця, 8-10 квітня, 2020, форма участі – усна доповідь, публікація тез).

10. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (Харків, 2 жовтня, 2020, форма участі – публікація тез).

ДОДАТОК Б

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
науково-педагогічної та навчальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф. ЗВО Оксана СЕРЕБРЕННИКОВА
« 28 » 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: участь системи гідроген сульфїду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, старший викладач ЗВО Віталій БЛАЖЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

1. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти та таурину на обмін гідроген сульфїду в нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Медична та клінічна хімія*, 24(1), 46–52. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i1.13036>
2. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти, таурину на експресію ензимів синтезу гідроген сульфїду, медіатори запалення, фіброгенезу в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням. *Вісник проблем біології та медицини*, 1(2), 114–125. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-114-125>
3. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на морфологічні зміни в нирках щурів з ожирінням, індукованим висококалорійною дієтою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 26(2), 184–190. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(2\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(2)-03)

4. Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова у 2022 р.

5. Результати впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

Використання результатів досліджень Віталія БЛАЖЧЕНКА в науково-навчальному процесі дозволить здобувачам вищої освіти здобути нові теоретичні знання та дослідні навички щодо впливу модуляторів обміну гідроген сульфїду на біохімічні показники обміну гідроген сульфїду, медіаторів запалення, фіброгенезу в нирках та участь системи гідроген сульфїду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

6. Зауваження та пропозиції: не вносились.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біологічної та загальної хімії, протокол № 1 від 28.08 2022 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
біологічної та загальної

проф. ЗВО Наталія ЗАЙЧКО

ДОДАТОК Б (продовження)



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної та навчальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф. ЗВО Оксана СЕРЕБРЕННИКОВА
08 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: участь системи гідроген сульфїду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, старший викладач ЗВО Віталій БЛАЖЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

1. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти та таурину на обмін гідроген сульфїду в нирках шурів з дієтіндукованим ожирінням. *Медицина та клінічна хімія*, 24(1), 46–52. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i1.13036>
2. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоевої кислоти, таурину на експресію ензимів синтезу гідроген сульфїду, медіатори запалення, фіброгенезу в нирках шурів з дієт-індукованим ожирінням. *Вісник проблем біології та медицини*, 1(2), 114–125. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-114-125>
3. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на морфологічні зміни в нирках шурів з ожирінням, індукованим висококалорійною дієтою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 26(2), 184–190. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(2\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(2)-03)

4. Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри медичної біології ВНМУ ім. М.І. Пирогова у 2022 р.

5. Результати впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

Використання результатів досліджень Віталія БЛАЖЧЕНКА в науково-навчальному процесі дозволить здобувачам вищої освіти здобути нові теоретичні знання та дослідні навички щодо участі системи гідроген сульфїду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

6. Зауваження та пропозиції: не вносились.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри медичної біології, протокол № 1
від 29. 08 2022 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
медичної біології

ст. наук. спів. ЗВО Володимир Шкарупа

ДОДАТОК Б (продовження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
науково-педагогічної та навчальної роботиВінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пироговапроф. ЗВО Оксана СЕРЕБРЕННІКОВА
2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: участь системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, старший викладач ЗВО Віталій БЛАЖЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

1. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти та таурину на обмін гідроген сульфід у нирках щурів з дієтіндукованим ожирінням. *Медична та клінічна хімія*, 24(1), 46–52. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i1.13036>
2. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив цинк сульфату, тіосульфату натрію, ліпоєвої кислоти, таурину на експресію ензимів синтезу гідроген сульфід, медіатори запалення, фіброгенезу в нирках щурів з дієт-індукованим ожирінням. *Вісник проблем біології та медицини*, 1(2), 114–125. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-114-125>
3. Блажченко, В. В., & Заїчко, Н. В. (2022). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на морфологічні зміни в нирках щурів з ожирінням, індукованим висококалорійною дієтою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 26(2), 184–190. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(2\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(2)-03)

4. Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова у 2022 р.

5. Результати впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

Використання результатів досліджень Віталія БЛАЖЧЕНКА в науково-навчальному процесі дозволить здобувачам вищої освіти здобути нові теоретичні знання та дослідні навички щодо участі системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

6. Зауваження та пропозиції: не вносились.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології, протокол № 1
від 28.08 2022 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
фармакології

проф. ЗВО Наталія ВОЛОЩУК

ДОДАТОК Б (продовження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: участь системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, асистент Блажченко Віталій Вікторович.

3. Джерела інформації:

1. Патент на корисну модель № 143133 Україна UA МПК G09B 23/28 (2006.01) A61K 31/38 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01). Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід у аліментарного ожиріння в експерименті / Заїчко Н.В., Блажченко В.В., Бобецька О.П., Штатько О.І., Остренюк Р.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № u202000958; заявл. 14.02.2020; опубл. 10.07.2020; Бюл. № 13.
2. Патент на корисну модель № 143134 Україна UA МПК G09B 23/28 (2006.01) A61K 31/30 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01). Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід у аліментарного ожиріння в експерименті / Заїчко Н.В., Блажченко В.В., Бобецька О.П., Штатько О.І.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № u202000960; заявл. 14.02.2020; опубл. 10.07.2020; Бюл. № 13.

4. Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри біоорганічної та біологічної хімії Полтавського державного медичного університету у 2021 р.

5. Результати впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

Використання результатів досліджень В.В. Блажченка в науково-навчальному процесі дозволить здобувачам вищої освіти здобути нові теоретичні знання та дослідницькі навички щодо корекції обміну гідроген сульфід у умов експериментального ожиріння з метою нефропротекції.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біоорганічної та біологічної хімії Полтавського державного медичного університету, протокол № 5 від 17 серпня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри біоорганічної та біологічної хімії,

д. мед. н., проф. Непорада К.С.

ДОДАТОК Б (продовження)



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
д.мед.н., проф. Наконечний А.Й.

“31” серпня 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: участь системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, асистент Блажченко Віталій Вікторович.

3. Джерела інформації:

1. Патент на корисну модель № 143133 Україна UA МПК G09B 23/28 (2006.01) A61K 31/38 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01). Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід у аліментарного ожиріння в експерименті / Заїчко Н.В., Блажченко В.В., Бобецька О.П., Штатко О.І., Остренюк Р.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № u202000958; заявл. 14.02.2020; опубл. 10.07.2020; Бюл. № 13.
2. Патент на корисну модель № 143134 Україна UA МПК G09B 23/28 (2006.01) A61K 31/30 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01). Спосіб корекції обміну гідрогену сульфід у аліментарного ожиріння в експерименті/ Заїчко Н.В., Блажченко В.В., Бобецька О.П., Штатко О.І.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u202000960; заявл. 14.02.2020; опубл. 10.07.2020; Бюл. № 13.

4. Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри медичної біології ЛНМУ ім. Данила Галицького у 2020-2021 навчальному році.

5. Результати впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

Використання результатів досліджень В.В. Блажченко в науково-навчальному процесі дозволить здобувачам вищої освіти здобути нові теоретичні знання та дослідницькі навички щодо корекції обміну гідроген сульфід у умов експериментального ожиріння з метою нефропротекції.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри медичної біології ЛНМУ імені Данила Галицького, протокол № 1 від 31 серпня 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри медичної біології
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
д. б. н., професор

З.Д. Воробець

ДОДАТОК Б (продовження)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київського національного
університету ім. Т. Шевченка

 Остапченко Л. І.
14 лютого 2021 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: участь системи гідроген сульфїду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, асистент Блажченко Віталій Вікторович.

3. Джерела інформації:

1. Патент на корисну модель № 143133 Україна UA МПК G09В 23/28 (2006.01) А61К 31/38 (2006.01) А61Р 3/04 (2006.01). Спосіб корекції обміну гідрогену сульфїду за аліментарного ожиріння в експерименті / Заїчко Н.В., Блажченко В.В., Бобецька О.П., Штатько О.І., Остренюк Р.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № u202000958; заявл. 14.02.2020; опубл. 10.07.2020; Бюл. № 13.
2. Патент на корисну модель № 143134 Україна UA МПК G09В 23/28 (2006.01) А61К 31/30 (2006.01) А61Р 3/04 (2006.01). Спосіб корекції обміну гідрогену сульфїду за аліментарного ожиріння в експерименті/ Заїчко Н.В., Блажченко В.В., Бобецька О.П., Штатько О.І.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u202000960; заявл. 14.02.2020; опубл. 10.07.2020; Бюл. № 13.

4. Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри клінічної медицини навчально-наукового центру "Інститут біології та медицини" Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка у 2021 р.

5. Результати впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

Використання результатів досліджень В.В. Блажченко в науково-навчальному процесі дозволить здобувачам вищої освіти здобути нові теоретичні знання та дослідницькі навички щодо корекції обміну гідроген сульфїду за умов експериментального ожиріння з метою нефропротекції.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри клінічної медицини навчально-наукового центру "Інститут біології та медицини" Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка, протокол № 17 від 06 лютого 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри клінічної медицини
ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського
національного університету ім. Т.Г. Шевченка,
д. мед. н., професор



Маєвський О.Є.