© Юрченко П. О.

УДК 546. 221. 1: 616. 83: 616. 153

Юрченко П. О.

ВПЛИВ ІЗОЛЬОВАНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ НА СИСТЕМУ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова (м. Вінниця)

peter777ah@mail.ru

Робота виконана в рамках планової НДР кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова: «Обмін гомоцистеїну в умовах дії нутрієнтних чинників та при різних патологічних станах», № держ. реєстрації 0106U005134.

Вступ. Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) асоціюється з розвитком нейроваскулярних та нейродегенеративних захворювань. В процесі обміну гомоцистеїну (ГЦ) в гіпокампі, мозочку, корі, стовбурі мозку, церебральних судинах утворюється біологічно-активна молекула гідрогенсульфід (H_2S), що виконує функції нейротрансміттера, цитопротектора та антиоксиданта [11,12]. Синтез H_2S в мозку забезпечують піридоксальфосфатзалежні ензими – цистатіонін-β-синтаза, цистеїнамінотрансфераза у асоціації з 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою [17]. Не виключається і можливість синтезу H_2S в мозку з альтернативних джерел, наприклад тіосульфат-аніону. Деградація H_2S може здійснюватись неензиматичним та ензиматичним шляхом, одним з етапів якого є окиснення сульфіт-аніону за участі сульфітоксидази у мітохондріях [16]. Особливості обміну H_2S в мозку за умов ГГЦ остаточно не з'ясовані, а інформація про джерела ендогенного H_2S постійно розширюється. Виникає питання, як впливає ГГЦ на вміст H_2S, активність ензимів його синтезу та деградації.

Метою роботи було вивчити показники обміну H_2S в мозку щурів з ізольованою підгострою та тривалою ГГЦ, індукованою введенням тіолактону ГЦ.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведені на 56 білих лабораторних щурах-самцях масою 220-280 г. Тварини перебували в стандартних умовах віварію з природнім світловим режимом день/ніч, воду і корм отримували *ad libitum*. Під час експериментів тварин годували напівсинтетичною крохмально-казеїновою дієтою із збалансованим вмістом всіх макро- та мікронутрієнтів [1]. Дослідження проведено за загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі.

Тварин випадковим чином розподіляли на групи, по 8-10 особин в кожній. Модель ізольованої ГГЦ (підгострої та тривалої) створювали шляхом введення тіолактону D,L-гомоцистеїну (Sigma, США) в/шл на 1% крохмальному гелі в дозі 200 мг/кг упродовж 14 діб або в дозі 100 мг/кг упродовж 28 діб, відповідно. Щурам контрольних груп вводили еквівалентні кількості 1% крохмального гелю. Знеживлювали тварин методом декапітації під пропофоловим наркозом («Fresenius Kabi» 60 мг/кг в/о).

Вміст H_2S в головному мозку визначали як описано [4]. Мозок промивали холодним 1,15% розчином KCl, наважку тканини гомогенізували 1-2 хв. 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 за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності $FeCl_3$. Для попередження втрат H_2S маніпуляції проводили у стерильних герметизованих пластикових пробірках.

Для інших досліджень мозок гомогенізували 1-2 хв. в охолодженному середовищі 1,15% KCl у співвідношенні 1:4 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло). Центрифугували 30 хв при 600 g при 4°С, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20°С. Активність H_2S-синтезуючих ензимів цистатіонін-β-синтази (ЦБС, КФ 4.2.1.22), цистеїнамінотрансферази (ЦАТ, КФ 2.6.1.3) разом із 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (3-МСТ, КФ 2.8.1.2), тіосульфатдитіолсульфідтрансферази (ТСТ, КФ 2.8.15) в постядерному супернатанті мозку оцінювали як описано [3].

Загальну швидкість утилізації H_2S в мозку визначали за допомогою модельної системи (Патент №87884): до 1 мл інкубаційного середовища, яке містило 312 мкМ Na_2S, 0,47 мМ Трис-HCl буферу (pH 7,4) додавали 0,1 мл (1 мг протеїну) постядерного супернатанту гомогенату мозку, інкубували при 37°С в герметизованих пробірках, і через 30 хв. визначали вміст сульфід-аніону за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном [2]. Питому швидкість утилізації H_2S розраховували за зниженням

концентрації сульфід-аніону і виражали у нмоль S^{2-}/хв·мг протеїну. Активність сульфітоксидази (КФ 1.8.3.1) визначали за швидкістю окиснення сульфіт-аніону в присутності гексоціаноферрату калію [5]. Вміст ГЦ в сироватці крові визначали за набором «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія).

Статистичний аналіз проводили з використанням t-критерію Стьюдента, для визначення зв'язків між показниками проводили кореляційний аналіз по Пірсону. Вірогідними вважали дані при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Спочатку був досліджений вміст H_2S в мозку 18 інтактних статевозрілих щурів-самців. Результати наших досліджень показали, що абсолютний вміст H_2S в мозку становив 3,91 ± 0,13 (Me = 3,79; CI 95% 3,30-4,84) мкг/г вологої тканини, що відповідало 2,70 ± 0,12 (Me = 2,55; CI 95% 2,11-3,47) нмоль/мг протеїну. Вказаний вміст H_2S в мозку щурів виявлявся за умов фізіологічного базального рівня ГЦ в сироватці крові – 6,57 ± 0,23 (Me = 6,53; CI 95% 5,16-8,18) мкмоль/л. При цьому співвідношення між вмістом H_2S та ГЦ у інтактних тварин склало 0,43 ± 0,03 (Me = 0,39; CI 95% 0,27-0,67).

Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших досліджень – вміст H_2S в мозку мишей становив 2,60 мкг/г тканини [4]. Слід відзначити, що в більшості досліджень вміст H_2S визначається за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності $FeCl_3$, що потребує сильно кислого середовища і не виключає вивільнення H_2S з тканинних депо. Ймовірно, внутрішньоклітинна концентрація вільного H_2S є набагато меншою, оскільки в мітохондріях pH становить біля 7-8. В одній роботі показано, що визначений методом газової хроматографії вміст вільного H_2S в гомогенатах мозку щурів становив 0,12 мкмоль/кг протеїну, а кислото-лабільної сірки – 916 мкмоль/кг протеїну [7]. Отже, отриманий нами показник скоріше відображає суму вільної та кислото-лабільної фракції H_2S в тканинах мозку.

14-добове введення тіолактону ГЦ 200 мг/кг викликало достовірне зростання сироваткового рівня ГЦ в 3,25 рази, що супроводжувалось зниженням вмісту H_2S в мозку щурів в 2,0 рази (**табл. 1**). 28-добове введення тіолактону ГЦ викликало підвищення вмісту ГЦ в сироватці крові в 2,54 рази та зниження вмісту H_2S в мозку в 2,1 рази. Вміст ГЦ у щурів з підгострою ГГЦ був достовірно вищим (в 1,27 рази), ніж у щурів з тривалою ГГЦ, в той же час суттєвих відмінностей за рівнем H_2S в мозку між цими групами не виявлялось. За умов ізольованої ГГЦ спостерігалось суттєве зниження відношення H_2S (мозок) / ГЦ (сироватка) як за умов 14-добової моделі (в 6,14 рази), так і за умов 28-добової моделі (в 5,13 рази). В цілому, у щурів з ізольованою ГГЦ вміст H_2S в мозку становив (Me; CI 95%) – 1,28 (0,73; 2,18) нмоль/мг протеїну, що відповідало 1,77 (1,02; 2,64) мкг/г вологої тканини, а відношення H_2S / гомоцистеїн склало 0,07 (0,033; 0,149).

Розвиток ГГЦ супроводжувався змінами в активності H_2S-синтезуючих ензимів (**табл. 2**). За умов підгострої ГГЦ спостерігалось

Таблиця 1

Вміст гомоцистеїну в сироватці крові та H_2S в мозку у щурів з моделями ізольованої ГГЦ (M ± m, n = 8-10)

Групи щурів		Гомоцистеїн (сироватка), мкмоль/л	H_2S (мозок) нмоль/мг протеїну	H_2S / гомоцистеїн
Тіолактон гомоцистеїну 200 мг/кг 14 діб				
1	Контроль	6,58 ± 0,40	2,72 ± 0,19	0,43 ± 0,05
2	ГГЦ (підгостра)	21,4 ± 1,42*	1,33 ± 0,15*	0,07 ± 0,01*
Тіолактон гомоцистеїну 100 мг/кг 28 діб				
3	Контроль	6,62 ± 0,23	2,64 ± 0,15	0,41 ± 0,04
4	ГГЦ (тривала)	16,8 ± 0,92*#	1,24 ± 0,12*	0,08 ± 0,01*

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно відповідного контролю (між групами 1 та 2; 3 та 4); # – $p < 0,05$ між групами 2 та 4.

Таблиця 2

Активність H_2S-синтезуючих ензимів в мозку у щурів з моделями ізольованої ГГЦ (M ± m, n = 8-10)

Групи щурів		Активність ензимів, нмоль H_2S /хв·мг протеїну		
		ЦБС	ЦАТ/3-МСТ	ТСТ
Тіолактон гомоцистеїну 200 мг/кг 14 діб				
1	Контроль	0,472 ± 0,044	0,385 ± 0,025	1,83 ± 0,08
2	ГГЦ (підгостра)	0,249 ± 0,025*	0,265 ± 0,020*	1,07 ± 0,06*
Тіолактон гомоцистеїну 100 мг/кг 28 діб				
3	Контроль	0,451 ± 0,023	0,393 ± 0,021	1,96 ± 0,05
4	ГГЦ (тривала)	0,297 ± 0,018*	0,305 ± 0,026*	1,34 ± 0,09*#

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно відповідного контролю (між групами 1 та 2; 3 та 4); # – $p < 0,05$ між групами 2 та 4.

достовірне зниження швидкості ПАФЛ-залежного десульфурування цистеїну в присутності ГЦ за участі ЦБС (в 1,89 рази) та в присутності альфа-кетоглутарату за участі ЦАТ/3-МТС (в 1,45 рази). Також в мозку щурів з підгострою ГГЦ знижувалась швидкість утворення H_2S з тіосульфат-аніону за участі ТСТ (в 1,71 рази). Тривала ГГЦ викликала майже співставне з підгострою ГГЦ зниження активності ЦБС, ЦАТ/3-МСТ та ТСТ – в 1,52; 1,29 та 1,46 рази, відповідно. Вміст ГЦ в сироватці крові обернено корелював з вмістом H_2S та активністю цистатіонін-β-синтази ($r = -0,51$; -0,71) в мозку. За чутливістю до депримуючого впливу ГГЦ H_2S-синтезуючі ензими мозку можна розташувати таким чином ЦАТ < ТСТ < ЦБС.

На наступному етапі ми оцінили чи змінюється здатність мозку до утилізації H_2S за умов ГГЦ. Встановлено, що за умов підгострої та тривалої ГГЦ достовірно зростала швидкість утилізації екзогенного H_2S в 1,77 та 1,70 рази (**табл. 3**). Один із етапів ензиматичної деградації H_2S у мітохондріях

Таблиця 3

Активність сульфітоксидази та швидкість утилізації H_2S в мозку у щурів з моделями ізольованої ГГЦ (M ± m, n = 8-10)

Групи щурів		Сульфітоксидаза, нмоль $[K_3FeCN_6]$ / хв·мг протеїну	Швидкість утилізації H_2S, нмоль S^{2-}/хв·мг протеїну
Тіолактон гомоцистеїну 200 мг/кг 14 діб			
1	Контроль	4,47 ± 0,29	0,184 ± 0,012
2	ГГЦ (підгостра)	2,36 ± 0,20*	0,326 ± 0,028*
Тіолактон гомоцистеїну 100 мг/кг 28 діб			
3	Контроль	4,10 ± 0,29	0,187 ± 0,017
4	ГГЦ (тривала)	2,24 ± 0,39*	0,318 ± 0,014*

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно відповідного контролю (між групами 1 та 2; 3 та 4); # – $p < 0,05$ між групами 2 та 4.

каталізується сульфітоксидазою, забезпечує окиснення сульфітів до сульфатів. Введення тіолактону ГЦ індукувало зниження активності цього ензиму при 14-добовому введенні – в 1,90 рази, при 28-добовому введенні – в 1,83 рази.

Таким чином, за умов ізольованої ГГЦ (середньої важкості та помірної) формувався дефіцит H_2S в мозку, що асоціювалось зі зниженням каталітичної активності H_2S-синтезуючих ензимів, підвищенням загальної швидкості деградації H_2S та зниженням активності сульфітоксидази.

Цілком очевидно, що ГГЦ-індуковані зміни в системі H_2S в мозку можуть мати несприятливі наслідки. Адже H_2S проявляє нейропротекторні властивості, запобігає розвитку глутамат-індукованого оксидативного стресу та апоптозу нейронів [11; 12]. Механізми, що лежать в основі формування ГГЦ-індукованих змін в системі H_2S в мозку потребують уточнення. Активність ЦБС залежить від вмісту S-аденозилметіоніну в нейронах, який може знижуватись за ГГЦ. В умовах оксидативного стресу може відбуватись деградація H_2S-синтезуючих ензимів, адже ЦБС є редокс-чутливим гемвмісним протеїном [8]. ГЦ та його тіолактон мають високу реакційну здатність і вступають в реакції S- та N-гомоцистеїнування, змінюючи властивості ензимів [10]. Синтез H_2S за участі ЦАТ/ 3-МСТ дозозалежно інгібується іонами Ca^{2+}[11], концентрація яких в нейронах може зростати під впливом ексайтотоксичних інтермедіатів ГЦ [13]. H_2S може взаємодіяти з активними формами кисню, тіолами, протеїнами з утворенням нестабільних персульфідів (протеїн-SSH, тіотаурин, тіоцистеїн) [15]. ГГЦ-індуковане зниження активності сульфітоксидази створює умови для накопичення в мозку токсичного сульфіт-аніону, що може збільшувати оксидативний стес [14] та знижувати чутливість судин до дії вазодилятаторів [6]. Відомо, що дефіцит сульфітоксидази в мозку індукує енцефалопатію [9].

Отже, дисбаланс в системі H_2S в мозку може бути інтегрованим в патогенез нейродегенеративних станів, асоційованих з ГГЦ.

Висновки.

1. Ізольована ГГЦ викликає зменшення в 2,0-2,1 рази вмісту H_2S в мозку; зниження в 1,26-1,89 рази активності H_2S-синтезуючих ензимів (ЦБС, ЦАТ, ТСТ). Вміст ГЦ в сироватці крові обернено корелює з вмістом H_2S та активністю ЦБС в мозку ($r = -0,51$; $-0,71$).

2. Ізольована ГГЦ спричиняє підвищення загальної швидкості деградації H_2S та зниження активності сульфітоксидази в мозку щурів, що свідчить про дисбаланс у шляхах утилізації H_2S із сповільненням мітохондріальних етапів.

Перспективи подальших досліджень. Уточнення молекулярних механізмів, що лежать в основі формування ГГЦ-індукованих змін в системі H_2S в мозку, та розробка підходів до корекції обміну сірковмісних модуляторів в мозку за умов ГГЦ є перспективним напрямком подальших досліджень.

Література

1. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, К. П. Постовітенко [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1 (3). – С. 35-38.
2. Пат. України на корисну модель № 87884 UA МПК (2013) G01N 30/22 Спосіб визначення утилізації H_2S в органах тварин / Н. В. Заічко, О. С. Ольховський, П. О. Юрченко, А. В. Мельник, О. І. Штатько; заявник та патентовласник НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – № u2013 10024; заявл. 12.08.2013; опубл. 25.02.2014; Бюл. № 4.
3. Утворення гідроген сульфіду в органах щурів / Н. В. Заічко, Н. О. Пентюк, А. В. Мельник [та ін.] // Медична хімія. – 2009. – Vol. 11, № 4. – С. 7-13.
4. Carvedilol induces endogenous hydrogen sulfide tissue concentration changes in various mouse organs / B. Wiliński, J. Wiliński, E. Somogyi [et al.] // Folia Biol. (Krakow). – 2011. – Vol. 59, № 3-4. – P. 151-155.
5. Cohen H. J. Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties / H. J. Cohen, I. Fridovich // J. Biol. Chem. – 1971. – Vol. 246, № 2. – P. 359-366.
6. Effects of sulphite supplementation on vascular responsiveness in sulphite oxidase-deficient rats / C. Nacitarhan, V. Kucukatay, G. Sadan [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2008. – Vol. 35, № 3. – P. 268-272.
7. Furne J. Whole tissue hydrogen sulfide concentrations are orders of magnitude lower than presently accepted values / J. Furne, A. Saeed, M. D. Levitt // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 5. – P. 1479-1485.
8. Gadalla M. M. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter / M. M. Gadalla, S. H. Snyder // J. Neurochem. – 2010. – Vol. 113. – P. 14-26.
9. Isolated sulphite oxidase deficiency mimics the features of hypoxic ischaemic encephalopathy / E. E. Hobson, S. Thomas, P. M. Crofton [et al.] // Eur. J. Pediatr. – 2005. – Vol. 164, № 11. – P. 655-659.

10. Jakubowski H. The pathophysiological hypothesis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease / H. Jakubowski // J. Phys. Pharm. – 2008. – Vol. 59, Suppl. 9. – P. 155-167.
11. Kimura H. Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant / H. Kimura, N. Shibuya, Y. Kimura // Antioxid. Redox. Signal. – 2012. – Vol. 17, № 1. – P. 45-57.
12. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system / H. Kimura // Neurochem. Int. – 2013. – Vol. 63, № 5. – P. 492-497.
13. L-homocysteine sulfinic acid and other acidic homocysteine derivatives are potent and selective metabotropic glutamate receptor agonists / Q. Shi, J. E. Savage, S. J. Hufeisen [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2003. – Vol. 305, № 1. – P. 131-142.
14. Ozturk O. H. Effect of sulfite on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in normal and sulfite oxidase-deficient rat erythrocytes / O. H. Ozturk, S. Oktar, M. Aydin, V. Kucukatay // J. Physiol. Biochem. – 2010 . – Vol. 66, № 3. – P. 205-212.
15. Paul B. D. H_2S signalling through protein sulfhydration and beyond / B. D. Paul, S. H. Snyder // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2012. – Vol. 13, № 8. – P. 499-507.
16. Stein A. Redoxbiology of hydrogen sulfide : Implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology / A. Stein, Sh. M. Bailey // Redox. Biology. – 2013. – № 1. – P. 32–39.
17. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide / N. Shibuya, Y. Mikami, Y. Kimura [et al.] // J. Biochem. – 2009. – Vol. 146, № 5. – P. 623-626.

УДК 546. 221. 1: 616. 83: 616. 153

ВПЛИВ ІЗОЛЬОВАНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ НА СИСТЕМУ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ

Юрченко П. О.

Резюме. Досліджено вплив ізольованої гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) на вміст гідрогенсульфіду (H_2S), процеси його синтезу та утилізації в мозку дорослих щурів-самців. Введення тіолактону гомоцистеїну (200 мг/кг 14 діб та 100 мг/кг 28 діб в/шл) викликало достовірне зменшення (в 2,0-2,1 рази) вмісту H_2S, зниження активності H_2S-синтезуючих ензимів, дисбаланс у шляхах утилізації H_2S. Формування дефіциту H_2S в мозку може бути одним із механізмів реалізації нейротоксичної дії ГГЦ.

Ключові слова: гомоцистеїн, гідрогенсульфід, ензими, метаболізм, мозок.

УДК 546. 221. 1: 616. 83: 616. 153

ВЛИЯНИЕ ИЗОЛИРОВАНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА СИСТЕМУ ГИДРОГЕНСУЛЬФИДА В ГОЛОВОМ МОЗГЕ КРЫС

Юрченко П. А.

Резюме. Исследовано влияние изолированной гипергомоцистеинемии (ГГЦ) на содержание гидроген сульфида (H_2S), процессы его синтеза и утилизации в мозге взрослых крыс-самцов. Введение тиолактона гомоцистеина (200 мг/кг 14 суток и 100 мг/кг 28 суток интрагастрально) вызвало достоверное уменьшение (в 2,0-2,1 раза) содержания H_2S, снижение активности H_2S-синтезирующих энзимов, дисбаланс в путях утилизации H_2S. Формирование дефицита H_2S в мозге может быть одним из механизмов реализации нейротоксического эффекта ГГЦ.

Ключевые слова: гомоцистеин, гидроген сульфид, энзимы, метаболизм, мозг.

UDC 546. 221. 1: 616. 83: 616. 153

Effect of Isolated Hyperhomocysteinemia on Hydrogen Sulfide System in Rats' Brain

Yurchenko P. O.

Abstract. Hyperhomocysteinemia (HHC) is associated with the development of neurovascular and neurodegenerative diseases. In the brain during homocysteine metabolism is formed a biologically active molecule of hydrogen sulfide (H_2S), which served as a neurotransmitter, cytoprotector and antioxidant. Pyridoxal 5'-phosphate (PLP)-dependent enzymes such as cystathionine β-synthase (CBS) and cysteine aminotransferase (CAT) in association with 3-mercaptopyruvate sulfur transferase (3-MST) synthesize H_2S in the brain. It is possible that H_2S synthesize in the brain from the thiosulfate anion. Degradation of H_2S can be carried in no- enzyme and enzyme ways, one step of which is the oxidation of sulfite anion due to the action of the sulfite oxidase in mitochondria. The question concerning the features of the H_2S metabolism in the brain with the HHC has not been estimated yet. The aim was to study the effect of isolated hyperhomocysteinemia (HHC) on hydrogen sulfide (H_2S) concentration, activity of its synthesis and utilization in the brain of adult rats.

Methods. Isolated HHC was created in 56 white laboratory male rats by intragastrically administration of thiolactone homocysteine 200 mg / kg for 14 days or 100 mg / kg for 28 days. H_2S brain level and activity of cystathionine beta-synthase (CBS, EC 4.2.1.22), cysteine aminotransferase (CAT, EC 2.6.1.3) in association with 3-mercaptopyruvate sulfur-transferase (3-MST, EC 2. 8.1.2), thiosulfate-dithiol sulfurtransferase (TST, EC 2.8.1.5) in brain were measured by reaction with N,N-dimethyl-p-phenylenediamine. Was estimated the activity of H_2S utilization (Patent № 87884) and sulfite oxidase activity in rats brain.

Results and discussion. Administration of the thiolacton homocysteine caused significant decrease H_2S level, reducing the activity of H_2S-synthesizing enzyme, reducing imbalance in the ways of H_2S utilization in rats brain. H_2S

content in the brain of 18 intact mature male rats was 3. 91 ± 0.13 (Me = 3.79; CI 95 % 3.30-4.84) μg / g wet tissue, which corresponded to 2.70 ± 0. 12 (Me = 2.55; CI 95 % 2.11-3.47) nmol / mg protein 2.70 ± 0.12 nmol/ mg protein. The same level of H_2S was detected under the condition of physiological serum level of homocysteine (6.57 ± 0.23 mmol/l). Administration of thiolactone homocysteine in dose 200 mg / kg (14 days) and 100 mg / kg (28 days) increased the level of homocysteine in 3.25 and 2. 54 times ($p < 0.05$). H_2S level in the brain was decreased in 2,0-2,1 times under the condition of the isolated HHC and the ratio H_2S/ homocysteine was lower in 5,13-6,14 times ($p < 0.05$). H_2S content in the rats' brain with isolated HHC was Me = 1.77 (CI 95 % 1.02, 2.64) μg / g wet tissue, which corresponded to 1.28 (0.73; 2.18) nmol / mg protein. Activity of CBS, CAT / 3-MTS and TST was significant decrease (in 1.89, 1.45 and 1.71 times) under condition of 14-days long isolated HHC. Long-timed HHC caused less significant decrease in the enzymes activity (in 1,29-1,52 times). Homocysteine serum level correlated inversely with H_2S content and CBS activity in the brain ($r = -0.51$; -0.71, $p < 0.05$). Utilization activity of H_2S was significantly higher under conditions of the isolated HHC but sulfite oxidase activity was decreased in 1.83-1.90 times.

Conclusions. Isolated HHC causes the deficiency of H_2S in the brain, which associates with the decrease in H_2S-synthesizing enzyme catalytic activity and an imbalance in the ways of H_2S utilization. H_2S metabolic changes in the brain can be integrated in the pathogenesis of the neurodegenerative conditions, which are connected to the HHC. We propose that modulation of hydrogen sulfide production may be a useful therapeutic strategy of such disorders.

Keywords: homocysteine, hydrogen sulfide, enzymes, metabolism, brain.

Рецензент – проф. Тарасенко Л. М.

Стаття надійшла 18. 02. 2015 р.