

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ МЕТИЛУВАННЯ, ТРАНССУЛЬФУВАННЯ
ТА УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ЦИСПЛАТИНОВОЇ НЕФРОПАТІЇ**

За умов пошкодження нирок цисплатином реєструють гіпергомоцистеїнемію та гіперцистеїнемію, а також зниження рівня гідроген сульфїду в сироватці крові. У гомогенатах нирок визначається зменшення активності ензимів циклу метилування, транссульфування та продукування H_2S . Можливо, нефротоксична дія цисплатину опосередковується через вказані метаболічні мішені.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цисплатин, нефротоксичність, гомоцистеїн, цистеїн, гідроген сульфід.

ВСТУП. В останні роки, у зв'язку з широким застосуванням медикаментів, частота уражень нирок зросла й досягла 10–20 % від усієї ниркової патології. Одним із цитостатиків, які найчастіше використовують при лікуванні злоякісних пухлин, є цисплатин. До побічних ефектів препарату відносять ототоксичність, гастротоксичність, мієлосупресію та алергічні реакції [22], але найбільш виразним із побічних ефектів цисплатину є його нефротоксичність [12]. Незважаючи на активні зусилля протягом багатьох років, щоб знайти менш токсичні, але не менш ефективні альтернативні препарати, цисплатин і досі широко застосовують. Одним із напрямків у вдосконаленні цитостатичної терапії цисплатином є використання засобів, що зменшують нефротоксичність препарату.

На сьогодні відомо, що нирки пошкоджуються цисплатином через різноманітні молекулярні механізми: процеси метаболічної активації, ініціювання оксидативного стресу, розвиток імунних та запальних реакцій, пошкодження мітохондрій та індукцію апоптозу [12]. Але остаточного уявлення про нефротоксичність препарату досі не сформовано, що заважає пошуку оптимальних шляхів корекції ускладнень.

Нефротоксичність цисплатину, як і інших ксенобіотиків, може реалізовуватись через порушення гемодинаміки. Токсиканти можуть впливати як на утворення вазоконстрикторів та вазодилататорів, так і на чутливість ниркових судин до цих вазорегуляторних молекул. Відомо,

що викликана цисплатином нефротоксичність супроводжується змінами чутливості адренорецепторів [14]. Нещодавно було з'ясовано, що до регуляції ниркового кровотоку залучені сірковмісні амінокислоти гомоцистеїн (ГЦ), цистеїн та їх біологічно активний метаболіт гідроген сульфід (H_2S) [7]. Останнім часом також виявлено, що високі концентрації гомоцистеїну викликають виражені морфологічні зміни в нирках, зокрема значні пошкодження гломерулярного апарату, судин, меншою мірою – тубулярні порушення [9, 10]. Можливо, нефротоксична дія цисплатину опосередковується і через вказані метаболічні мішені, однак детальних досліджень у цьому напрямку не проводили.

Метою даної роботи було оцінити стан процесів транссульфування, метилування та утворення гідроген сульфїду в нирках щурів за цисплатинової нефропатії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використано 30 білих щурів-самців масою 200–250 г, які перебували на стандартному сухому раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами, виробництва НВП Ф.У.Д. (м. Київ). Тварин поділили на дві групи (по 15 тварин у кожній). Цисплатинову нефропатію викликали в щурів (2-га група) шляхом одноразового інтраперитонеального введення препарату в дозі 7 мг/кг маси тіла за 72 год до виведення тварин з експерименту. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Евтаназію щурів здійснювали під легким ефірним наркозом шляхом дислокації шийних хребців

© М. М. Йолтухівський, 2012.

відповідно до міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами, згідно з правилами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). При проведенні біохімічних досліджень застосовували пост'ядерний гомогенат нирок, сироватку та сечу тварин.

Активність H_2S -синтезуючих ферментів цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ) (КФ 4.4.1.1), цистатіонін- β -синтази (ЦБС) (КФ 4.2.1.22) та цистеїнамінотрансферази (ЦАТ) (КФ 2.6.1.3) у пост'ядерному гомогенаті нирок оцінювали за приростом сульфід аніона, який визначали за реакцією утворення метиленового синього, як описано [6].

Цистатіоназну активність ЦГЛ визначали за утворенням цистеїну в реакції розщеплення цистатіоніну [23], а цистатіонінсинтазну активність ЦБС – за утворенням цистатіоніну в реакції конденсації гомоцистеїну із серином [21]. Рівень серину та цистатіоніну в гомогенаті нирок досліджували методом тонкошарової хроматографії на целюлозі [21]. Активність сульфітоксидази (КФ 1.8.3.1), γ -глутамілцистеїнсинтази (КФ 6.3.2.2) визначали за описаними методиками [27, 28]. S-аденозилгомоцистеїнгідролазу (АГГ) (КФ 3.3.1.1) активність визначали в реакції гідролізу S-аденозилгомоцистеїну за приростом сульфгідрильних груп [24]. Активність метіонаденозилтрансферази (МАТ) (КФ 2.5.1.6) визначали за приростом неорганічного фосфату [13], а бетаїноггомоцистеїнметилтрансферази (БГМТ) (КФ 2.1.1.5) – за зниженням вмісту сульфгідрильних груп [17]. Сумарну активність NO-синтаз (eNOS та iNOS) у гомогенатах нирок встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніона (NO_2^-) [16]. Вміст метаболітів оксиду азоту – нітритів та нітратів визначали за реакцією з реактивом Griess [4].

Для оцінки процесів оксидативного стресу визначали активність тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9) в пост'ядерному гомогенаті нирок, вміст SH-груп протеїнів та відновленого глутатіону в сироватці [11, 25]. Рівень загального цистеїну в сироватці крові (сума цистеїну та цистину) визначали за реакцією з нінгідринним реактивом [18]. Загальний рівень ГЦ у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням набору фірми "Axis-Shield". Вміст протеїну в сироватці крові, гомогенаті нирок та сечі визначали мікробіуретовим методом [5]. Вміст H_2S у сироватці крові визначали за реакцією утворення тіоніну з використанням n-фенілєндіаміну [1, 2]. Вміст креатиніну в сироватці крові та сечі визначали

за методом Яффе із застосуванням набору фірми "Філісіт-Діагностика" (Україна). Кліренс креатиніну розраховували за відомими формулами [8]. Активність γ -глутамілтрансферази (ГГТ) (КФ 2.3.2.2) у сечі оцінювали за швидкістю вивільнення 4-нітроаніліну з γ -глутамілнітроаніліду з використанням стандартного набору фірми "Філісіт-Діагностика" (Україна). Фосфоліпідний спектр визначали методом тонкошарової хроматографії на силікагелі Л5/40, застосовуючи систему розчинників хлороформ–метанол–вода у співвідношенні за об'ємом 65:30:5. Ідентифікацію індивідуальних фосфоліпідів після їх хроматографічного розділення проводили методом свідків, за допомогою якісних реакцій на холін, етаноламін та за величинами R_f , відомими з літератури [3].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми "MS Excel XP". Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента. У роботі використано цисплатин (EBEWE, Австрія), DL-гомоцистеїн, L-цистеїн, аденозин, S-аденозилгомоцистеїн, $Na_2S \cdot 9H_2O$, дитіотреїтол (Sigma, США), набір "Homocysteine EIA" (Axis-Shield, Великобританія). Інші реактиви були вітчизняного виробництва категорії хч.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Через 3 доби після інтраперитонеального введення щурам цисплатину реєстрували збільшення вмісту креатиніну та сечовини в плазмі крові в 3,3 і 6,1 рази відповідно, зменшення екскреції креатиніну із сечею в 1,7 рази, а також зниження кліренсу креатиніну в 3,4 рази. Крім цього, відмічали підвищення активності ГГТ у сечі в 3,2 рази (табл. 1). Такі зміни фільтраційної та азотовидільної функцій нирок, а також порушення канальцевої реабсорбції підтвердили формування у тварин дослідної групи цисплатинової нефропатії.

Встановлено, що розвиток цисплатинової нефропатії супроводжувався формуванням гіпергомоцистеїнемії та гіперцистеїнемії. Так, у тварин дослідної групи відмічали достовірне зростання рівня загального ГЦ на 88 %, загального цистеїну – на 27 % (особливо виразним було зростання фракції непротеїнового цистеїну – 45 %). На цьому тлі спостерігали зниження на 20 % вмісту H_2S (біологічно активного похідного гомоцистеїну та цистеїну) в сироватці крові щурів з цисплатиновою нефропатією (табл. 1).

Вірогідною причиною гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) може бути зниження активності ферментів, що метаболізують ГЦ. Так, відмічали порушення процесів транссульфування ГЦ у нир-

Таблиця 1 – Вплив цисплатину на вміст метаболітів у сироватці крові, сечі та нирках, а також активність γ -глутамілтрансферази в сечі ($M \pm m$, $n=15$)

Показник	Контроль	Цисплатинова нефропатія
Сироватка крові		
Загальний цистеїн, мкмоль/л	127 \pm 3,64	161 \pm 6,70*
Непротеїновий цистеїн, мкмоль/л	43,8 \pm 1,64	63,5 \pm 3,31*
Протеїнозв'язаний цистеїн, мкмоль/л	83,1 \pm 2,59	97,5 \pm 8,14
Загальний ГЦ, мкмоль/л	6,42 \pm 0,22	12,1 \pm 0,58*
Гідроген сульфід, мкмоль/л	78,5 \pm 2,59	64,0 \pm 4,28*
Протеїнозв'язані SH-групи, мкмоль/л	8,87 \pm 0,09	7,57 \pm 0,14*
NO ² +NO ³ , мкмоль/л	43,8 \pm 1,13	35,8 \pm 0,93*
Сечовина, ммоль/л	4,62 \pm 0,25	28,1 \pm 1,18*
Креатинін, мкмоль/л	110 \pm 5,34	364 \pm 12,8*
Кліренс креатиніну, мл/хв	0,94 \pm 0,05	0,28 \pm 0,01*
Сеча		
Креатинін, ммоль/л	4,96 \pm 0,11	2,95 \pm 0,13*
Активність ГГТ, нмоль/хв·мл	0,88 \pm 0,05	2,84 \pm 0,08*
Пост'ядерні гомогенати нирок		
Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	1,56 \pm 0,06	0,89 \pm 0,05*
ФЕА, мкг/мг протеїну	57,8 \pm 2,0	72,4 \pm 2,55*
ФХ, мкг/мг протеїну	68,1 \pm 1,6	49,9 \pm 1,71*
ФХ/ФЕА	1,19 \pm 0,04	0,70 \pm 0,04*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно групи контролю.

ках, а саме достовірне зменшення цистатіонін-синтазної активності ЦБС та цистатіоназної активності ЦГЛ на 28,7 і 24,7 % відповідно. Введення цисплатину викликало істотне зменшення активності ензимів циклу метилування ГЦ. Зокрема, у нирках щурів, які отримували цисплатин, активність БГМТ, МАТ та АГГ зменшилась у 2,2, 1,5 і 3,1 раза відповідно (табл. 2). Як відомо, зниження активності АГГ призводить до накопичення в клітинах S-аденозилгомоцистеїну – потужного інгібітора метилтрансферазних реакцій. Про

глибокі порушення процесів метилування в нирках щурів із цисплатиновою нефропатією свідчили зміни фосфоліпідного спектра. Відмічали зростання рівня фосфатидилетаноламіну (ФЕА) на 25,3 % та зменшення – фосфатидилхоліну (ФХ) на 26,7 % порівняно з інтактною групою. Співвідношення ФХ/ФЕА знижувалось в 1,7 раза, що вказує перш за все на пригнічення метилтрансферазних реакцій у нирках (табл. 2).

Окрім ГГЦ, у тварин дослідної групи реєстрували також гіперцистеїнемію, причиною

Таблиця 2 – Вплив цисплатину на активність ензимів обміну сірковмісних амінокислот, а також продукування H₂S і NO в нирках щурів ($M \pm m$, $n=15$)

Показник активності ферментів (нмоль/хв на 1 мг протеїну)	Контроль	Цисплатинова нефропатія
Транссульфування ГЦ		
Цистатіонін- β -синтаза (цистатіонінсинтазна активність)	15,7 \pm 0,47	11,2 \pm 0,65*
Цистатіонін- γ -ліаза (цистатіоназна активність)	15,8 \pm 0,50	11,9 \pm 0,37*
Метилування ГЦ		
Бетаїногмоцистеїнметилтрансфераза	2,45 \pm 0,23	1,11 \pm 0,08*
Метіонінаденозилтрансфераза	3,19 \pm 0,09	2,16 \pm 0,09*
S-аденозилгмоцистеїнгідролаза	4,90 \pm 0,23	1,59 \pm 0,12*
Метаболізм цистеїну		
Сульфітоксидаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	7,40 \pm 0,37	5,48 \pm 0,33*
γ -глутамілцистеїнсинтетаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	3,48 \pm 0,19	2,91 \pm 0,20*
Продукція H ₂ S		
Цистатіонін- β -синтаза	2,18 \pm 0,09	1,50 \pm 0,18*
Цистатіонін- γ -ліаза	1,61 \pm 0,07	1,17 \pm 0,12*
Цистеїнаміотрансфераза	2,54 \pm 0,09	1,77 \pm 0,29*
Інші		
Тіоредоксинредуктаза	5,49 \pm 0,34	4,30 \pm 0,35*
NO-синтаза [#]	10,7 \pm 0,66	7,95 \pm 0,58*

Примітка * – $p < 0,05$ відносно групи контролю; # – активність визначали у пмоль/хв на 1 мг протеїну.

якої, найімовірніше, було порушення обміну цистеїну в цистеїнсульфінатному шляху та в шляху синтезу глутатіону. Відзначали зменшення активності сульфітоксидази та гамма-глутамілцистеїнсинтетази на 25,9 і 16,4 % відповідно (табл. 2). Інші тіол-сульфідні порушення та формування осидативного стресу проявлялись зниженням активності тіоредоксинредуктази на 21,7 % та відновленого глутатіону на 44,0 % у пост'ядерному гомогенаті нирок, а також зменшенням вмісту в сироватці крові протеїнозв'язаних SH-груп на 14,7 % (табл. 1, 2).

Було оцінено зміни продукції H_2S у гомогенатах нирок щурів дослідної групи. Встановлено, що введення цисплатину достовірно порушує здатність нирок до продукування H_2S . Зокрема, утворення H_2S у реакції конденсації цистеїну з гомоцистеїном з участю ЦБС зменшилось на 31,2 %, у реакції розщеплення цистатіоніну з участю ЦГЛ – на 27,2 %, а в реакції трансамінування цистеїну з участю ЦАТ – на 30,3 % (табл. 2).

Для оцінки продукції нітроген оксиду як одного з регуляторів ниркового кровотоку ми визначали активність NO-синтази в нирках щурів та вміст метаболітів NO в сироватці крові. За умов цисплатинової нефропатії активність NO-синтази знижувалась на 25,7 %, а вміст нітритів та нітратів у сироватці крові зменшувався на 18,3 % (табл. 1, 2).

Виявлену нами залежність між порушенням стану нирок та показниками обміну сірковмісних метаболітів підтвердили результати кореляційного аналізу.

При цьому показники клубочкової фільтрації тісно корелювали з вмістом гомоцистеїну, гідроген сульфідну та метаболітами NO в сироватці крові, а маркери каналцевого пошкодження – з рівнем цистеїну, тіольних груп у сироватці крові та співвідношенням ФХ/ФЕА в нирках (табл. 3).

Отримані нами дані свідчать про те, що цисплатинова нефропатія супроводжується порушеннями в нирках процесів транссуль-

фування і метилування ГЦ, метаболізму цистеїну, а також продукування газотрансмітерів H_2S і NO. Виникає питання, за рахунок яких механізмів реалізується вплив цисплатину на процеси метаболізму сірковмісних амінокислот. Викликаний цисплатином оксидативний стрес може призводити до зниження активності ряду ферментів. Так, зменшення активності МАТ призводить до дефіциту S-аденозилметіоніну. Це, у свою чергу, є депримуєчим фактором щодо активності регуляторного ферменту транссульфування – ЦБС. Зниження активності ЦБС спричиняє накопичення ГЦ.

Про стан гіпометилування при цисплатиновій нефропатії свідчить зниження співвідношення ФХ/ФЕ в нирках. За цих умов у нирках порушується не тільки реметилування ГЦ у метіонін, але й синтез креатину, креатиніну та компонентів клітинних мембран – фосфатидилхолінів [19]. Імовірно, реакції метилування пригнічуються внаслідок зниження активності АГГ та накопичення S-аденозилгомоцистеїну, який є інгібітором метилтрансфераз [11].

Одним із механізмів нефротоксичної дії цисплатину також може бути пригнічення продукування H_2S . Встановлено, що ендогенний H_2S необхідний для захисту нирок від дисфункцій за умов ішемії/реперфузії [20]. Існують дані, що інгібування ендогенного утворення H_2S супроводжується втратою цілісності епітелію в різних органах та активацією в них запальних процесів [15]. Імовірно, дефіцит гідроген сульфідну зумовлений накопиченням у крові ГЦ, що створює умови для ковалентної модифікації ферментів, які продукують H_2S . Поряд із цим, за умов оксидативного стресу може прискорюватись деградація молекул H_2S . Активація оксидативного стресу, у свою чергу, підтверджувалась змінами показників тіол-дисульфідного обміну. Також у нашому дослідженні підтверджено зменшення активності ендотеліальної NO-синтази за індукованої цисплатином нефропатії [26]. Це є важливим фактором нефротоксичності, оскільки продукування оксиду азоту необхідне для підтримки

Таблиця 3 – Кореляційні зв'язки між показниками функціонального стану нирок з рівнем сірковмісних метаболітів, фосфоліпідів, тіольних груп та нітратів і нітритів за умов цисплатинового ураження нирок (n=15)

Показник	Кліренс креатиніну	Активність ГГТ
ГЦ	-0,875*	0,336
Цистеїн сироватки	-0,238	0,523*
H_2S сироватки	0,696*	-0,275
Метаболіти NO сироватки	0,622*	-0,295
Тіольні групи сироватки	0,277	-0,596*
ФХ/ФЕА нирок	0,326	-0,617*

Примітка. * – коефіцієнти кореляції $r \geq 0,51$ є достовірними ($p < 0,05$).

нормальної вазодилатації в нирках. Тому порушення продукування вазодилаторів NO і H₂S може бути визначальним фактором у розвитку саме клубочкової дисфункції.

ВИСНОВКИ. 1. Введення щурам цисплатину викликає збільшення рівня гомоцистеїну на 88 %, цистеїну – на 27 % та зниження на 20 % вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові.

2. За умов цисплатинової нефропатії реєструють зниження активності ензимів циклу метилування в нирках (бетаїнгомоцистеїн-метилтрансферази, метіонінаденозилтрансферази та S-аденозилгомоцистеїнгїдроксилази в 2,2, 1,5 і 3,1 раза відповідно) та порушення

фосфолїпідного спектра нирок (рівень фосфотидилетаноламіну зростає на 25,3 %, вміст фосфотидилхоліну зменшується на 26,7 %).

3. Ураження нирок цисплатином супроводжується зменшенням на 27–31 % активності ензимів транссульфування та утворення гідроген сульфїду (цистатіонін- γ -ліази, цистатіонін- β -синтази, цистеїнамінотрансферази).

4. Маркери канальцевого пошкодження тісно корелюють з рівнем цистеїну, тіольних груп у сироватці крові та співвідношенням ФХ/ФЕА в нирках, а показники клубочкової фільтрації – з вмістом гомоцистеїну, гідроген сульфїду та метаболітами NO в сироватці крові.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Визначення вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові / Н. В. Заїчко, Н. О. Пентюк, Л. О. Пентюк [та ін.] // Вісн. наук. досліджень. – 2009. – № 1. – С. 29–32.
2. Заїчко Н. В. Вплив тіолактину гомоцистеїну, цистеїну та гідроген сульфїду на систему гемостазу кролів / Н. В. Заїчко // Мед. хімія. – 2009. – **11**, № 2. – С. 51–56.
3. Кейтс М. Техника липидології. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М. : Мир, 1975. – 322 с.
4. Коренман И. М. Фотометрический анализ: методы определения органических соединений / И. М. Коренман. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Химия, 1975. – 359 с.
5. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М. : Высш. шк., 1980. – 324 с.
6. Мельник А. В. Активність ензимів синтезу гідроген сульфїду в нирках щурів / А. В. Мельник, О. О. Пентюк // Укр. біохім. журн. – 2009. – № 4. – С. 12–22.
7. Мельник А. В. Дослідження ролі гідроген сульфїду та сірковмісних амінокислот в регуляції тонузу ниркових артерій та фільтрації в нирках / А. В. Мельник // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2009. – **9**, вип. 4 (28), частина 3. – С. 98–102.
8. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
9. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / О. О. Пентюк, Б. М. Луцок, І. І. Андрушко [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 5–17.
10. Морфологічні зміни в органах тварин з експериментальною гіпергомоцистеїнемією та можливість їх корекції дієтами, збагаченими вітамінами / К. П. Постовітенко, О. О. Пентюк, М. Б. Луцок [та ін.] // Вісник морфології. – 2005. – **11**, № 2. – С. 287–291.
11. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. – М. : Медицина, 1977. – 392 с.
12. Arany I. Cisplatin nephrotoxicity / I. Arany, R. L. Safirstein // Semin. Nephrol. – 2003. – **23**. – P. 460–464.
13. Chiang P. K. Activation of methionine for transmethylation. Purification of the S-adenosylmethionine synthetase of bakers' yeast and its separation into two forms / P. K. Chiang, G. L. Cantoni // J. Biol. Chem. – 1977. – **252**, № 13. – P. 4506–4513.
14. Cisplatin-induced nephrotoxicity causes altered renal hemodynamics in Wistar Kyoto and spontaneously hypertensive rats: role of augmented renal alpha-adrenergic responsiveness / M. A. Hye Khan, M. Abdul Sattar, N. A. Abdullah, E. J. Johns // Exp Toxicol Pathol. – 2007. – **59** (3-4). – P. 253–260.
15. Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception / T. M. Cunha, D. Dal-Secco, W. A. Verri [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2008. – **590**. – P. 127–135.
16. Effect of N-stearoylethanolamine on the level of stable NO metabolites in different pathological conditions which are accompanied by oxidative stress / N. M. Hula, H. V. Kosiakova, N. L. Kindruk, T. O. Khmel' // Ukr. Biochim. Zh. – 2005. – **77**, № 3. – P. 113–119.
17. Ericson L-E. Betaine-homocysteine methyltransferases: Distribution in nature / L-E. Ericson // Acta. Chem. Scand. – 1960. – **14**. – P. 2102–2112.
18. Gaitonde M. K. A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids / M. K. Gaitonde // Biochem J. – 1967. – **104**, № 2 – P. 627–633.
19. Garlick P. J. Toxicity of methionine in humans / P. J. Garlick // J. Nutr. – 2006. – **136**(6). – P. 1722–1725.
20. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine gamma-lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction / P. Tripathi, N. S. Patel, M. Collino [et al.] // Lab. Invest. – 2008. – **88**, № 10. – P. 1038–1048.

21. Goldstein J. L. Cystathionine synthase activity in human lymphocytes: induction by phytohemagglutinin / J. L. Goldstein, B. K. Campbell, S. M. Gartler // J. Clin. Invest. – 1972. – **51**, № 4. – P. 1034–1037.
22. Hartmann J. T. Toxicity of platinum compounds / J. T. Hartmann, H.-P. Lipp // Expert Opin. Pharmacother. – 2003. – **4**. – P. 889–901.
23. Heinonen K. Studies on cystathionase activity in rat liver and brain during development / K. Heinonen // Biochem. J. – 1973. – **136**(4). – P. 1011–1015.
24. Isa Y. Effect of vitamin B6 deficiency on S-adenosylhomocysteine hydrolase activity as a target point for methionine metabolic regulation / Y. Isa, H. Tsuge, T. Hayakawa // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 2006. – **52**, № 5. – P. 302–306.
25. Moore E. C. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleotides. V. Purification and properties of thioredoxin reductase from escherichia Coli B. / E. C. Moore, P. Reichard, L. Thelander // J. Biol. Chem. – 1964. – **239**. – P. 3445–3452.
26. Saleh S. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide / S. Saleh, E. El-Demerdash // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2005. – **97**, № 2. – P. 91–97.
27. Stipanuk M. H. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat / M. H. Stipanuk, P. W. Beck // Biochem. J. – 1982. – **206**, № 2. – P. 267–277.
28. Yan C. C. Fluorimetric determination of monobromobimane and o-phthalaldehyde adducts of γ -glutamylcysteine and glutathione: application to assay of γ -glutamylcysteinyl synthetase activity and glutathione concentration in liver / C. C. Yan, R. J. Huxtable // J. Chromatogr. B Biomed. Appl. – 1995. – **672**. – P. 217–224.

Н. М. Йолтуховский

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ, ТРАНССУЛЬФИРОВАНИЯ И ОБРАЗОВАНИЯ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА В ПОЧКАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЦИСПЛАТИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ

Резюме

В условиях повреждения почек цисплатином развиваются гипергомоцистеинемия и гиперцистеинемия, а также снижается уровень гидроген сульфида в сыворотке крови. В гомогенатах почек определяется уменьшение активности ферментов цикла метилирования, транссульфирования и продуцирования H_2S . Не исключено, что нефротоксическое действие цисплатина опосредуется через указанные метаболические мишени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **цисплатин, нефротоксичность, гоомоцистеин, цистеин, гидроген сульфид.**

M. M. Yoltukhivskyi

M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

STUDY OF THE PROCESSES OF METHYLATION, TRANSSULFURATION AND HYDROGEN SULFIDE FORMATION IN RAT KIDNEY WITH CISPLATIN NEPHROPATHY

Summary

Cisplatin-induced renal damage associated with hyperhomocysteinemia and hypercysteinemia, and decreased in serum hydrogen sulfide levels. In kidney homogenates were determined the decrease of enzyme activities of the methylation cycle and the transsulfuration pathway as well as hydrogen sulfide formation. It is possibly that the nephrotoxic effect of cisplatin is mediated through these metabolic targets.

KEY WORDS: **cisplatin, nephrotoxicity, homocysteine, cysteine, hydrogen sulfide.**

Отримано 20.12.11

Адреса для листування: М. М. Йолтухівський, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна, e-mail: yokolya@yahoo.com