

## АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ЗНЕШКОДЖЕННЯ $H_2O_2$ У МІТОХОНДРІЯХ НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ РАЦІОНУ НУТРИЄНТАМИ

О. М. ВОЛОЩУК, Л. В. МОЛДОВАН

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012  
e-mail: o.voloschuk@chnu.edu.ua

Метою даної роботи було дослідження вмісту  $H_2O_2$  та активності ключових ензимів його знешкодження – каталази та глутатіонпероксидази у мітохондріях нирок щурів за умов різної забезпеченості раціону нутрієнтами. Вміст пероксиду водню визначали спектрофотометрично за здатністю утворювати стійкий комплекс із сорбітолом, який реєструють при довжині хвилі 540 нм. Каталазну активність визначали згідно методу, який базується на здатності  $H_2O_2$  утворювати стійкий забарвлений комплекс з молібдатом амонію з максимумом поглинання при  $\lambda = 410$  нм. Активність глутатіонпероксидази визначали за методом, принцип якого базується на визначенні показнику накопичення окисленого глутатіону при  $\lambda = 260$  нм. Дослідження проводили на 4 групах тварин: I група – інтактні тварини (К); II – щурі, які перебували на низькопротеїновому раціоні (НПР); III – щурі, які перебували на високосахарозному раціоні (ВС); IV – щурі, які отримували низькопротеїновий/ високосахарозний раціон (НПР/ВС). Встановлено, що в мітохондріях нирок щурів, які споживали низькопротеїновий раціон, спостерігається незначне підвищення вмісту пероксиду водню на тлі зниження активності каталази та збереження на рівні показників контролю значень глутатіонпероксидази. Водночас у тварин, яких утримували на високосахарозній дієті, спостерігається виражене зростання вмісту пероксиду водню при одночасному зростанні активності як каталази, так і глутатіонпероксидази порівняно з показниками контролю. Максимальне накопичення вмісту  $H_2O_2$  виявлено у тварин, яких утримували на низькопротеїновій/високосахарозній дієті, при цьому показники каталазної активності достовірно не відрізняються від показників групи ВС, тоді як глутатіонпероксидазна активність знижується порівняно із показниками цієї групи. Виявлені зміни вмісту  $H_2O_2$  і активності антиоксидантних ензимів у мітохондріях нирок щурів можуть розглядатися як передумови для порушення функціональної активності нирок за умов нутрієнтного дисбалансу.

*Ключові слова:* нутрієнти, нирки, мітохондрії,  $H_2O_2$ , каталаза, глутатіонпероксидаза

**Вступ.** Нині питання формування метаболічних порушень за умов дефіциту або надлишку окремих нутрієнтів в харчовому раціоні залишається відкритим (Wu, 2016; Souza et al., 2021). За останнє десятиріччя зібрано велику кількість експериментальних даних, які свідчать про порушення основних процесів життєдіяльності у тварин за умов аліментарної недостатності білка, зокрема виявлені імунопатологічні зміни, системні порушення водно-електролітного дисбалансу, гомеостазу, ендокринопатії, порушення нервової регуляції, дисфункції системи травлення, інших органів і систем (Deutz et al., 2014; Malta de Oliveira et al., 2014; Волощук та ін., 2020). У той же час хронічне уживання раціону з високим вмістом сахарози сприяє розвитку ожиріння, формуванню резистентності до інсуліну та неалкогольної жирової хвороби печінки (Maciejczyk et al., 2018; Ragab et al., 2015; Kursov, Nikonov, 2019).

Метаболічні процеси в організмі тісно пов'язані з вільнорадикальними процесами, в результаті яких утворюються активні форми кисню, зокрема пероксид водню. Відомо, що надлишок пероксиду водню може ініціювати окислення

білків клітинних мембран та ліпідів, активувати процеси апоптозу або некрозу (Zandalinas, Mittler, 2017). Окрім того, пероксид водню є попередником агресивніших активних форм кисню, насамперед гідроксильного радикалу (Ofoedu et al., 2021). Знешкодження АФК спеціалізованими ензимами розглядається як фундаментальна фізіологічна функція, що забезпечує регуляцію концентрацій АФК в організмі. Інтенсивність процесів вільнорадикального окислення значною мірою залежить від активності ензимів антиоксидантного захисту, серед яких провідна роль відводиться ферментам каталази (CAT, EC 1.11.16) та глутатіонпероксидази (GSHPx, EC 1.11.1.9) (Dauqan et al., 2012). Водночас у літературі (Cardoso et al., 2017) показано, що глутатіонпероксидаза ефективніше діє при низьких концентраціях  $H_2O_2$ , тоді як при високих концентраціях пероксиду водню клітини захищає переважно каталаза.

*Мета* роботи – дослідження вмісту  $H_2O_2$  та активності ключових ензимів його знешкодження – каталази та глутатіонпероксидази у мітохондріях нирок щурів за умов різної забезпеченості раціону нутрієнтами.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 110-130 г та віком 2,5-3 місяці. Маніпуляції з тваринами відповідали положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики. Щурів утримували в пластикових клітках з піщаною підстилкою, доступом до води *ad libitum*.

Модель дослідження передбачала поділ тварин на групи: I група – інтактні тварини (К); II – щури, які перебували на низькопротеїновому раціоні (НПР); III – щури, які перебували на високосахарозному раціоні (ВС); IV – щури, які отримували низькопротеїновий/високосахарозний раціон (НПР/ВС). Тварини I групи отримували раціон, що містив 14 % протеїну (у вигляді казеїну), 10 % жирів, 76 % вуглеводів (10% сахарози), збалансований за всіма нутрієнтами. Раціон тварин II групи містив 4,7 % протеїну та необхідну кількість інших нутрієнтів. Тварин III групи утримували на раціоні, що містив 40 % сахарози та був збалансований за всіма іншими нутрієнтами. Тварини IV групи отримували раціон, що містив 4,7 % протеїну, 40 % сахарози та збалансоване співвідношення інших компонентів. Тривалість експерименту становила 28 діб. Цервікальну дислокацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 29-ту добу експерименту.

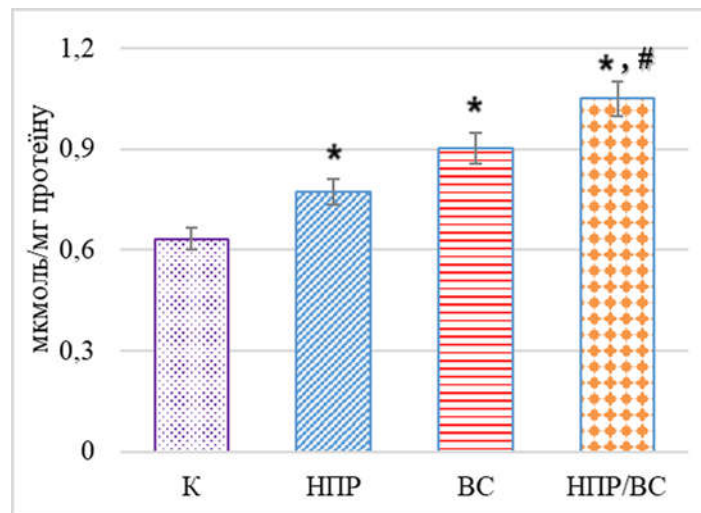
Вміст пероксиду водню визначали згідно методу (Jiang et al., 1990), який базується на здатності пероксиду водню набувати характерного забарвлення, утворюючи стійкий комплекс із сорбітолом, який реєструють при довжині хвилі 540 нм. Каталазну активність визначали згідно методу (Strugała et al., 2019), який базується на здатності  $H_2O_2$  утворювати стійкий забарвлений комплекс з молібдатом амонію з максимумом поглинання при  $\lambda$  410 нм. Активність глутатіонпероксидази визначали за методом (Melekh et al., 2017), принцип якого базується на визначенні показнику накопичення окисленого глутатіону при  $\lambda$  260 нм. Для статичного опрацювання даних кількісні показники обробляли математичними методами, що використовуються в біології, на персональному комп'ютері з використанням пакета аналізу даних Microsoft Excel. Оцінювали середнє значення (M) та стандартну похибку середнього (m). Для параметричних даних використовували t-критерій Стьюдента. Результати вважали достовірними при  $P \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Результати проведених досліджень показали, що в мітохондріях нирок щурів, яких утримували на низькопротеїновій дієті, спостерігається незначне підвищення вмісту пероксиду водню у порівнянні з

показниками контролю (рис. 1). Відомо (Conti et al., 2016), що інтенсивність утворення вільних радикалів, зокрема пероксиду водню, в клітині контролюється цілою низкою ферментативних і неферментативних систем антиоксидантного захисту. Ключовими ензимами, які здатні знешкоджувати даний радикал, є каталаза, яка каталізує перетворення  $H_2O_2$  до води і кисню, та глутатіонпероксидаза (Yalcin et al., 2020). Нами показано, що за умов дефіциту протеїну у раціоні активність глутатіонпероксидази не відрізняється від показників контролю (рис. 3), а активність каталази достовірно знижується (рис. 2).

Враховуючи, що за умов аліментарної білкової недостатності відбуваються різноманітні метаболічні порушення, ймовірно, підвищення вмісту пероксиду водню за відсутності активації ензимів його знешкодження має важливе регуляторне значення. Відомо (Veal et al., 2007), що пероксид водню є сигнальною молекулою, що індукуює експресію понад 100 генів. Нині ідентифіковано низку білків-мішеней, активність яких регулюється пероксидом водню. Зокрема, пероксид водню регулює активність c-JunN-кінцевих протенікіназ, низки іонних каналів і G-білків рецепторів. Найдетальніше вивчений вплив  $H_2O_2$  на тирозинові фосфатази, які гідролізують фосфатні групи, пов'язані з залишками тирозину багатьох білків. У клітинах бактерій пероксид водню активує транскрипційний фактор OxyR, що відповідає за транскрипцію генів, пов'язаних із захистом від окиснювального стресу: гену гідропероксидази I (*katG*), алкілгідропероксидази (*aphCF*), нетранскрибованої регуляторної РНК (*oxyS*), глутатіонредуктази (*gorA*) і глутаредоксину (*grxA*) (Li et al., 2020).

Показано (Paulsen, Carroll, 2010), що  $H_2O_2$  здатний регулювати активність сигнальних білків через їх окиснювальну модифікацію, використовуючи в якості мішені сульфгідрильні групи білкових молекул. Пероксид водню може діяти як сигнальна молекула або шляхом безпосередньої взаємодії з амінокислотними залишками білка-мішені, або опосередковано через залучення пероксидаз (Sies, 2017). У одних випадках продукти таких реакцій інгібують функції білків, блокуючи важливі каталітичні амінокислотні залишки, зокрема цистеїну в активних центрах тирозинфосфатаз. У інших – модифікації у білку-мішені можуть зумовити зміни його конформації або зміни у взаємодії з іншими білками, таким чином сприяючи активації чи інгібуванню функцій модифікованого білка або зв'язаних з ним білком. Слід відмітити, що у процесі редокс-сигналіngu особливістю модифікацій білків, індукованих пероксидом водню, є їх зворотність (Hancock, 2021).



**Рис. 1. Вміст H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> у мітохондріальній фракції нирок щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном**

**Fig. 1. The content H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the rat kidneys mitochondrial fraction under conditions of different dietary supply of sucrose and protein**

Примітка (рис. 1-3): К – щури, які перебували на повноцінному напівсинтетичному раціоні; НПР – щури, які перебували на низькопротеїновому раціоні; ВС – щури, які перебували на високосахарозному раціоні; НПР/ВС – тварини, які перебували на низькопротеїновому/високосахарозному раціоні; \* – статистично достовірна різниця порівняно з контролем,  $P \leq 0,05$ ; # – статистично достовірна різниця порівняно з тваринами, які споживали високосахарозний раціон,  $P \leq 0,05$ .

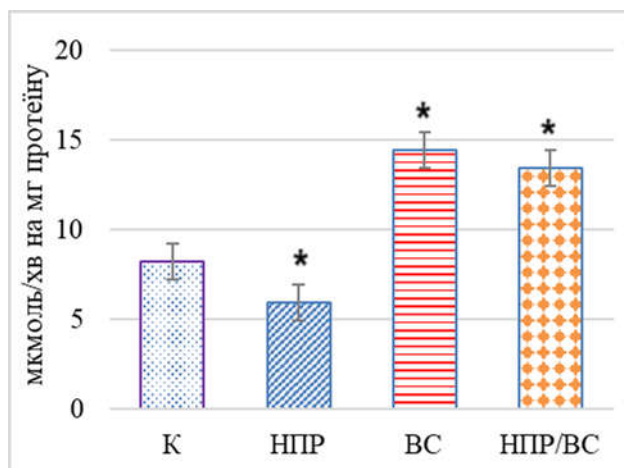
Note (fig. 1-3): C – animals that received a complete diet; LPD – animals receiving low-protein ration; HSD – animals receiving high-sucrose diet; LPD/HSD – animals receiving low-protein high-sucrose diet; \* – significant difference with control group,  $P \leq 0,05$ ; # – statistically significant difference compared with animals that consumed a high-sucrose diet,  $P \leq 0,05$

Водночас підвищення утворення H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в середньому у 1,4-1,5 рази порівняно з контролем виявлено у тварин, яких утримували на високосахарозному раціоні (рис. 1). У літературі показано, що споживання надмірної кількості сахарози індукує утворення низки прозапальних цитокінів, зокрема TNF- $\alpha$  та інтерлейкіну (IL)-1 і їх рецепторів; хемокінів, наприклад хемоатрактанту моноцитів білка-1 (MCP-1), та інтерферон-(IFN)-індукованого білка-10 (IP-10), адгезивного 2-інтегринового рецептору, більшість з яких регулюються NF- $\kappa$ B (Narkunaraja et al., 2003). Активіація фактора транскрипції NF- $\kappa$ B (який сприяє експресії прозапальних цитокінів) зумовлює погіршення сигналізації інсуліну, впливаючи на нирки (Rosas-Villegas et al., 2017). Посилена продукція цих цитокінів призводить до порушення окисно-відновного балансу та посилення генерації АФК, поглиблюючи запалення та окисний стрес, що розглядається як одна із причин хронізації захворювань нирок. Цікаво, що у тварин, які споживали 5%-розчин сахарози, виявлено значне зниження білка UCP-1, що у нормі контролює протонний градієнт та запобігає надмірному утворенню АФК (Rosas-Villegas et al., 2017). Тому зниження вмісту UCP-1 буде призводити до інтенсифікації продукування АФК, зокрема і пероксиду водню. Ще один механізм

посиленого утворення АФК у нирках за умов споживання високосахарозного раціону може бути пов'язаний із індукцією фактора транскрипції SREBP-1, який збільшує експресію НАДФН-оксидази та продукцію АФК (Huang et al., 2012).

Проте максимально виражене накопичення пероксиду водню спостерігається у тварин, яких утримували на низькопротеїновій/ високосахарозній дієті (рис. 1). У літературі (Sousa-Lima et al., 2020) показано, що надмірне споживання сахарози призводить до формування інсулінорезистентності. При цьому H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> виступає вторинним месенджером передачі інсулінового сигналу і називається “інсуліноміметиком”. Пероксид водню шляхом інактивації протеїнових фосфатаз сприяє фосфорилуванню тирозину низки факторів росту, зокрема епідермального фактору росту (EGF), фактору росту фібробластів (FGF), фактору росту судинного ендотелію (VEGF), а також серинових/треонінових кіназ, таким чином впливаючи на метаболічні процеси, у яких задіяні ці ферменти (Markadieu et al., 2005).

Отже, з одного боку, посилення утворення пероксиду водню має певний біологічний ефект, забезпечуючи передачу сигналу від інсуліну, проте, з іншого боку, є індуктором аутофагії, апоптозу та запалення, що разом становить так звану “пероксидну дилему” (Sies, 2014).



**Рис. 2.** Каталазна активність у мітохондріальній фракції нирок щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном

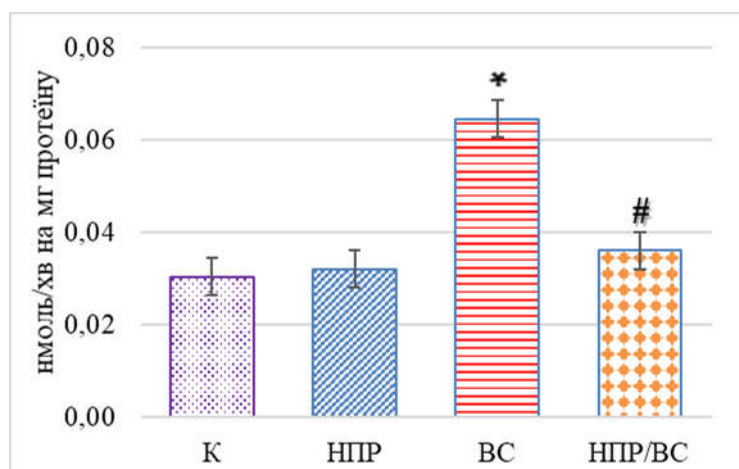
**Fig. 2.** Catalase activity in the rat kidneys mitochondrial fraction under conditions of different dietary supply of sucrose and protein

Негативні прояви пероксиду водню виявляються при перевищенні фізіологічної норми. Зокрема,  $H_2O_2$  інгібує алкогольдегідрогеназу, ініціює пероксидне окислення ліпідів, зменшує концентрацію лактату і порушує трансмембранний переніс аніонів. При взаємодії з  $NO\bullet$ , аскорбіновою кислотою, L-His, L-Cys цитотоксичність пероксиду водню підвищується. Цитотоксичний ефект  $H_2O_2$  реалізується через утворення гідроксильного радикалу в присутності низки донорів, а також через ініціювання дисоціації заліза з гемоглобіну та феритину (Kerboua et al., 2021).

При цьому нами встановлено, що у тварин, які споживали високосахарозний раціон, спостерігається як підвищення активності каталази (рис. 2), так і глутатіонпероксидази (рис. 3). Відомо, що каталаза забезпечує важливий вклад у деградацію  $H_2O_2$ , захищаючи біомолекули від окиснювального ушкодження за дії АФК, а також обмежує участь  $H_2O_2$  у сигналінгу (Ighodaro

et al., 2018). Слід відмітити, що каталаза проявляє свою активність при високих концентраціях  $H_2O_2$ , тоді як при низьких концентраціях ефективнішим є глутатіонпероксидаза, що має вищу спорідненість до цього субстрату. Ймовірно, встановлене нами підвищення активності антиоксидантних ферментів за умов надмірного споживання вуглеводів може розглядатися як компенсаторна реакція, оскільки відомо (Jafari et al., 2012), що надлишок сахарози індукує утворення активних форм кисню, тоді як надмірна експресія каталази та глутатіонпероксидази буде послаблювати ушкодження нирок за умов гіперглікемії.

Слід відмітити, що у тварин, яких утримували на низькопротеїновій/високосахарозній дієті, показники каталазної активності достовірно не відрізняються від показників групи ВС (рис. 2), тоді як глутатіонпероксидазна активність знижується (рис. 3).



**Рис. 3.** Глутатіонпероксидазна активність у мітохондріальній фракції нирок щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном

**Fig. 3.** Glutathione peroxidase activity in the rat kidneys mitochondrial fraction under conditions of different dietary supply of sucrose and protein

Ймовірно, встановлений факт може бути пов'язаний зі зниженням вмісту відновленого глутатіону, оскільки відомо, що активність GSHPx і швидкість утилізації пероксиду водню безпосередньо залежать від концентрації відновленого глутатіону в клітині. Зокрема в літературі (Hong, Park, 2021) показано, що глутатіон – кофермент даного ензиму, є важливим компонентом глутатіонпероксидази. Виявлений нами факт зниження активності глутатіонпероксидази може розглядатися як одна із причин посиленого накопичення пероксиду водню у мітохондріях нирок за умов споживання низькопротеїнового/високосахарозного раціону.

Таким чином аналіз отриманих результатів дозволяє зробити висновок, що визначальним фактором впливу на інтенсивність вільнорадикальних процесів у мітохондріях нирок є надлишкове споживання сахарози. При цьому споживання високосахарозного раціону супроводжується інтенсифікацією продукування пероксиду водню та підвищенням активності каталази та глутатіонпероксидази у мітохондріях нирок.

Виявлені зміни вмісту H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і активності антиоксидантних ензимів у мітохондріях нирок щурів можуть розглядатися як передумови для порушення функціональної активності нирок за умов нутрієнтного дисбалансу.

#### Список літератури:

- Wu G. Dietary protein intake and human health. *Food Funct.* 2016;7(3):1251-1265. doi: 10.1039/c5fo01530h.
- Souza J.A., Pinto A.B.G., Oliveira E.C., Coelho D.B., Totou N.L., Lima W.G., Becker L.K. Aerobic exercise training prevents impairment in renal parameters and in body composition of rats fed a high sucrose diet. *BMC Res Notes.* 2021;14:378. <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05790-7>.
- Malta de Oliveira J.C., Ribeiro T.A., Tófolo L.P. Low-protein diet in adult male rats has long-term effects on metabolism. *J Endocrinol.* 2014;221(2):285-295. doi: 10.1530/JOE-13-0473.
- Deutz N.E., Bauer J.M., Barazzoni R., Biolo G., Boirie Y., Bosty-Westphal A., Cederholm T., Cruz-Jentoft A., Krznarić Z., Nair S., Singer P., Teta D., Tipton K., Calder P.C. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN expert group. *Clin Nutr.* 2014;33(6):929-936. doi: 10.1016/j.clnu.2014.04.007.
- Maciejczyk M., Matczuk J., Żendzian-Piotrowska M. Eight-week consumption of high-sucrose diet has a pro-oxidant effect and alters the function of the salivary glands of rats. *Nutrients.* 2018;10(10):1-19. doi:10.3390/nu10101530.
- Ragab S.M., Abd Elghaffar S.Kh., El-Metwally T.H. Effect of a high fat, high sucrose diet on the promotion of non-alcoholic fatty liver disease in male rats: the ameliorative role of three natural compounds. *Lipids Health Dis.* 2015;14:1-11. doi: 10.1186/s12944-015-0087-1.
- Kursov S.V., Nikonov V.V. Stress hyperglycemia: discussion of ways to eliminate it with the help of sugar alcohols. *Emergency medicine.* 2019;28;4(99):30-37.
- Zandalinas S., Mittler R. ROS-induced ROS release in plant and animal cells. *Free Radical Biology and Medicine.* 2017;122:21-27. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.11.028.
- Ofoedu C.E., You L., Osuji C.M., Iwouno J.O., Kabuo N.O., Ojukwu M., Agunwah I.M., Chacha J.S., Muobike O.P., Agunbiade A.O. Hydrogen Peroxide Effectson Natural-Sourced Polysacchrides :Free Radical Formation/ Production, Degradation Process, and ReactionMechanism – A Critical Synopsis. *Foods* 2021;10:699. <https://doi.org/10.3390/foods10040699>.
- Dauqan E.M.A., Aminah Abdullah A., Sani H.A. Lipid Profile and Antioxidant Enzymes in Normal and Stressed Rat Fed with Palm Olein. *Am. J. Applied Sci.* 2012;9(7):1071-1078.
- Cardoso B.R., Hare D.J., Bush A.I., Roberts B.R. Glutathione peroxidase 4: a new player in neurodegeneration? *Molecular Psychiatry.* 2017;22:328-335.
- Jiang Z.Y., Woollard A.C., Wolff S.P. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation. *FEBS Lett.* 1990;268(1):69-71.
- Strugała P., Dzydzan O., Brodyak I., Kucharska A.Z., Kuroпка P., Liuta M., Kaleta-Kuratewicz K., Przewodowska A., Michałowska D., Gabrielska J., Sybirna N. Antidiabetic and Antioxidative Potential of the Blue Congo Variety of Purple Potato Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Molecules.* 2019;24(17): 3126. <https://doi.org/10.3390/molecules24173126>.
- Melekh B., Ilkiv I., Lozynskyi A., Sklyarov A. Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in rat liver exposed to celecoxib and lansoprazole under epinephrine-induced stress. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2017;7:94-99.
- Conti V., Izzo V., Corbi G. Antioxidant Supplementation in the Treatment of Aging-Associated Diseases. *Front. Pharmacol.* 2016;7(24):1-24. [doi:10.3389/fphar.2016.00024](https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00024).
- Yalcin M.S., Gulesci N., Bilgin R., Koltas I.S. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in patients with viral hepatitis C. *Integr Mol Med.* 2020;7:1-3. doi: 10.15761/IMM.1000397.
- Veal E.A., Day A.M., Morgan B.A. Hydrogen Peroxide Sensing and Signaling. *Mol cell.* 2007;26(1): 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.03.016>.
- Li L.H., Shih Y.L., Huang J.Y., Wu C.J., Huang Y.W., Huang H.H., Tsai Y.C., Yang T.C. Protection from hydrogen peroxide stress relies mainly on AhpCF and KatA2 in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Biomed Science.* 2020;27(37).
- Paulsen C., Carroll K.S. Orchestrating Redox Signaling Networks through Regulatory Cysteine Switches. *ACS Chemical Biology.* 2010;5:47-62. doi:10.1021/cb900258z.
- Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology.* 2017;11:613-619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>.

21. Hancock J.T. Oxygen Is Instrumental for Biological Signaling: An Overview. *Oxygen*. 2021;1:3-15. <https://doi.org/10.3390/oxygen1010002>.
22. Narkunaraaja S., Marpadga R., Mausumee G., Rama N. High Glucose-Induced Expression of Proinflammatory Cytokine and Chemokine Genes in Monocytic Cells. *Diabetes*. 2003;52:1256-1264. doi: 10.2337/diabetes.52.5.1256.
23. Rosas-Villegas A., Sánchez-Tapia M., Avila-Nava A., Ramírez V., Tovar A., Torres N. Differential effect of sucrose and fructose in combination with a high fat diet on intestinal microbiota and kidney oxidative stress. *Nutrients*. 2017;9(4):1-13. doi: 10.3390/nu9040393.
24. Huang W., Li X., Liu J., Lin J., Chung L. Activation of androgen receptor, lipogenesis, and oxidative stress converged by SREBP-1 is responsible for regulating growth and progression of prostate cancer cells. *Mol Cancer Res*. 2012;10(1):133-142. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0206.
25. Sousa-Lima I., Fernandes A.B., Rita S. Patarrão R.S., Kim Y.B., Macedo M.P. S-Nitrosoglutathione Reverts Dietary Sucrose-Induced Insulin Resistance. *Antioxidants*. 2020;9: 870. <https://doi.org/10.3390/antiox9090870>.
26. Markadieu N., Crutzen R., Blero D., Erneux C., Beauwens R. Hydrogen peroxide and epidermal growth factor activate phosphatidylinositol 3-kinase and increase sodium transport in A6 cell monolayers. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;288(6):1200-1212. doi: 10.1152/ajprenal.00383.2004.
27. Sies H. Role of metabolic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Generation: Redox Signalling and Oxidative Stress. *J. Biol. Chem*. 2014;289:8733-8741. doi: 10.1074/jbc.R113.544635.
28. Kerboua K., Hamdaoui O., Haddour N., Alghyamah A. Simultaneous Galvanic Generation of Fe<sup>2+</sup> Catalyst and Spontaneous Energy Release in the Galvano-Fenton Technique: A Numerical Investigation of Phenol's Oxidation and Energy Production and Saving. *Catalysts*. 2021;11:943. <https://doi.org/10.3390/catal11080943>.
29. Ighodaro O.M., Akinloye O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med*. 2018;54:287-293. doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001.
30. Jafari M., Salehi M., Ahmadi S., Asgari A., Abasnezhad M., Hajigholamali M. The role of oxidative stress in diazinon-induced tissues toxicity in Wistar and Norway rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2012;22:638-647. doi: 10.3109/15376516.2012.716090.
31. Hong Y.A., Park C.W. Catalytic Antioxidants in the Kidney. *Antioxidants*. 2021;10:130. <https://doi.org/10.3390/an-tiox10010130>.

## ACTIVITY OF H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> DEGRADATION ENZYMES IN THE RAT KIDNEYS UNDER THE CONDITIONS OF DIFFERENT NUTRIENT SUPPLY

**O. M. Voloshchuk, L. V. Moldovan**

*The aim of this work was to study the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the activity of key enzymes of its neutralization - catalase and glutathione peroxidase in the mitochondria of rat kidneys under conditions of different nutrient supply. The hydrogen peroxide content was determined spectrophotometrically by the ability to form a stable complex with sorbitol, which is recorded at a wavelength of 540 nm. Catalase activity was determined according to a method based on the ability of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to form a stable colored complex with ammonium molybdate with a maximum absorption at λ = 410 nm. Glutathione peroxidase activity was determined by the method, the principle of which is based on determining the accumulation of oxidized glutathione at λ = 260 nm. The study was performed on 4 groups of animals: Group I - intact animals (K); II - rats that were on a low-protein diet (LPD); III - rats that were on a high-sucrose diet (HS); IV - rats that received a low-protein / high-sucrose diet (LPD / HS). It was found that in the mitochondria of the kidneys of rats that consumed a low-protein diet, there is a slight increase in hydrogen peroxide against the background of reduced catalase activity and maintaining the level of control of glutathione peroxidase. At the same time, in animals kept on a high-sucrose diet, there is a marked increase in the content of hydrogen peroxide with a simultaneous increase in the activity of both catalase and glutathione peroxidase compared with controls. The maximum accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content was found in animals kept on a low-protein / high-sucrose diet, with catalase activity indicators not significantly different from those of the HS group, while glutathione peroxidase activity is reduced compared to this group. The detected changes in the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the activity of antioxidant enzymes in the mitochondria of the kidneys of rats can be considered as prerequisites for the violation of the functional activity of the kidneys under conditions of nutritional imbalance.*

*Key words: nutrients, kidneys, mitochondria, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, catalase, glutathione peroxidase*

*Отримано редколегією 15.08.2021*