ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 577.11:612.015.3:612.82]-092.9
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-4-461-469

Поступила в редакцию 07.02.2020
Received 07.02.2020

Я. И. Новогродская, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПОСЛЕ МЕТИОНИНОВОЙ НАГРУЗКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Аннотация. Изучено влияние метиониновой нагрузки на состояние пула серосодержащих аминокислот и некоторых метаболически родственных им соединений в различных структурах головного мозга крыс. Данные соединения определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Во всех исследованных регионах мозга нагрузка метионином в суточной дозе 3 г/кг приводила к однонаправленному дисбалансу серосодержащих соединений – повышению концентраций метионина и гипотаурина (наиболее выраженное в стриатуме), цистатионина (наиболее выраженное в больших полушариях). Значимое повышение концентрации таурина наблюдалось лишь в гипоталамусе и стриатуме. Во всех отделах мозга, кроме стриатума, отмечалось снижение уровня серина – предшественника транссульфурирования. В мозжечке, по сравнению с другими регионами мозга, наблюдалось повышение содержания цистеиновой кислоты и снижение уровня цистенсульфиновой, что указывает на то, что синтез таурина осуществляется преимущественно по пути окисления последней.

Ключевые слова: метиониновая нагрузка, мозг, серосодержащие аминокислоты

Для цитирования: Новогродская, Я. И. Изменение концентраций серосодержащих аминокислот в головном мозге после метиониновой нагрузки в эксперименте / Я. И. Новогродская, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 4. – С. 461–469. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-4-461-469

Yana I. Novogrodskaya, Yevgeny M. Doroshenko, Mikhail N. Kurbat

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

CHANGES IN THE CONCENTRATION OF SULFUR-CONTAINING AMINO ACIDS IN THE BRAIN AFTER METHIONINE LOAD IN THE EXPERIMENT

Abstract. The effect of methionine overload on the state of the pool of sulfur-containing amino acids and their metabolites was studied in the various brain structures determined by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC). In all regions of the brain studied, methionine led to a unidirectional imbalance of sulfur-containing compounds: there was an increase in the concentrations of methionine, cystathionine and hypotaurine. The most pronounced increase in methionine and hypotaurine levels was observed in the striatum, cystathionine in the hemispheres. A significant increase in taurine concentration was observed only in the hypothalamus and striatum. In other parts of the brain a tendency to increase its level was shown. In all brain regions studied except the striatum, serine levels were decreased. In the cerebellum, in comparison with other regions, an increase in the level of cysteic acid and a decrease in the level of cysteinesulfinic acid were observed, which indicates that taurine synthesis is occurred mainly through the cysteine sulfinate oxidation.

Keywords: methionine load, brain, sulfur-containing amino acids

For citation: Novogrodskaya Ya. I., Doroshenko Ye. M., Kurbat M. N. Changes in the concentration of sulfur-containing amino acids in the brain after methionine load in the experiment. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 4, pp. 461–469 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-4-461-469

Введение. Гипергомоцистеинемия, являющаяся фактором риска неврологических и психических расстройств, может быть обусловлена дефицитом фолатов, цистатионин-β-синтазы, витаминов B_{12}, B_6, B_2 или заменой нуклеотидов в генах N^5,N^{10}-метилентетрагидрофолатредуктазы (T428C, G458T, C459T, C677T, A1298C) [1, 2], редуктазы метионинсинтазы (A66G) [3], метионинсинтазы (A2756G) [4]. Продукт трансметилирования многочисленных субстратов – гомоцистеин (Hcy), а в большей степени продукт его окисления – гомоцистеиновая кислота (HCA) обладают нейротоксическим действием и частично обусловливают развитие когнитивных нарушений в результате развития окислительного стресса [5, 6].

© Новогродская Я. И., Дорошенко Е. М., Курбат М. Н., 2020

Эксперименты *in vitro* показали, что цитотоксический эффект Нсу проявляется только в концентрациях свыше 1 ммоль/л. Исходя из этого, авторы считают, что Нсу является слабым нейротоксином [7]. А. А. Болдырев [8] в своих исследованиях также отмечал токсическое влияние Нсу на культуру нервных клеток. НСА локализуется в глиальных клетках префронтальной коры, гипоталамуса, а ее выход из астроцитов имеет место при стимулировании как ионотропных, так и метаботропных глутаматных рецепторов [9]. Многие исследователи отмечают, что токсическое действие Нсу и НСА направлено на глутаматные рецепторы NMDA-типа на нейронах, что приводит к проникновению в нейроны Ca^{2+}, вызывая накопление свободных радикалов [8, 10–12]. Активные формы кислорода реагируют с ненасыщенными жирными кислотами мембранных липидов и запускают реакции перекисного окисления. Вследствие увеличения проницаемости мембран для ионов водорода и кальция, разобщения процессов фосфорилирования и окисления в митохондриях клетка оказывается в условиях недостатка АТФ [13]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что высокий уровень Нсу в крови связан с нарушениями пространственной ориентации, кратковременной и долговременной памяти у животных [14], обусловленными развитием окислительного стресса в мозге [15, 16]. Другие же авторы полагают, что Нсу может оказывать нейротоксическое действие, сходное с ксенобиотиками, такими как толуол и 1,2-диметилгидразин [17].

S. A. Blaise [18], основываясь на результатах иммуногистохимического исследования активности S-аденозилгомоцистеин гидролазы, предположил, что гипергомоцистеинемия, вызванная дефицитом витаминов группы В в период беременности, может приводить к неравномерному накоплению Нсу в тканях мозга развивающегося плода: в большей степени в зернистом слое мозжечка, пирамидном слое СА1 гиппокампа, стриатуме и субвентрикулярной зоне, выстилающей боковой желудочек мозга крыс, т. е. в областях, ответственных за двигательные функции, обучение и память. Накопление его в нейрональных клетках и астроцитах приводит к апоптотической гибели клеток [19].

K. Robert с соавт. [20] на основе иммуногистохимического метода выявили, что на ранних стадиях развития мозга мыши цистатионин-β-синтаза – фермент, отвечающий за превращение Нсу в цистатионин (Ctn), экспрессируется повсеместно, однако на поздних стадиях его экспрессия становится более тканеспецифичной. У взрослых особей высокий уровень экспрессии цистатионин-β-синтазы наблюдается в клетках Пуркинье и нейронах гиппокампа, низкий – в коре головного мозга, стриатуме, таламусе и спинном мозге [20]. Отмечено, что транссульфурирование в мозге – процесс незавершенный и может вызывать накопление цистатионина [21].

Вместе с тем остается неизученным влияние длительной метиониновой нагрузки и вызванной ею гипергомоцистеинемии на уровни основных компонентов пула низкомолекулярных серосодержащих соединений, а также метаболически связанных с ними компонентов пула свободных аминокислот в структурах головного мозга крыс. Такие данные позволили бы более точно оценить метаболические соотношения внутри пула и подойти к пониманию механизмов нейротоксического действия избытка Нсу.

Цель работы – исследование влияния метиониновой нагрузки на состояние пула серосодержащих аминокислот и родственных им соединений в функционально различных структурах головного мозга.

Материалы и методы исследования. В эксперименте было использовано 18 белых беспородных крыс-самцов массой 200–250 г. Крысы находились в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом, получали воду и корм в достаточном количестве. Моделирование гипергомоцистеинемии осуществляли путем внутрижелудочного введения суспензии L-метионина в 1 % крахмальном растворе (Chem-Impex Int'l Inc., USA) в дозе 1,5 г/кг дважды в сутки в течение 21 сут. Контрольная группа получала эквиобъемное количество 1 % крахмального раствора в том же режиме дозирования [22]. Эксперимент выполнен с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном обращении с животными и одобрен комитетом по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Декапитацию проводили через 12 ч после последнего введения метионина (Met). После декапитации на холоду извлекали головной мозг, промывали его 0,9 % NaCl и выделяли отделы –

ми выявляли с помощью корреляционного анализа. Результаты выражали в виде среднего и стандартной ошибки (M ± m) для тканей мозга, медианы [нижней; верхней квартили] – для уровня Hcy в плазме крови и для показателей в ткани мозга, достоверно различающихся между группами только по непараметрическому тесту. Применяли пакет статистических программ Statistica 10.0 (серийный номер AXAR207F394425FA-Q).

Результаты и их обсуждение. Летальность животных опытной группы составила 5,6 %. Уровень Hcy в плазме крови крыс опытной группы составил 36,28 [32,29; 226,60] мкМ против 9,48 [8,05; 10,80] мкМ в контроле.

Нагрузка метионином привела к дисбалансу серосодержащих аминокислот и их производных в исследованных регионах мозга крыс (табл. 1, 2).

Таблица 1. **Концентрации низкомолекулярных серосодержащих и родственных соединений (нмоль/г) в среднем мозге, стриатуме и гипоталамусе крыс после метиониновой нагрузки ((среднее ± средняя ошибка) и медиана [нижняя; верхняя квартиль])**

Table 1. **Concentration of low-molecular weight sulfur-containing and related compounds (nmol/g) in midbrain, striatum and hypothalamus of rats after methionine load ((mean ± s. e. m.) and median [lower; upper quartiles])**

Показатель	Средний мозг		Стриатум		Гипоталамус	
	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)
CA	1,2 ± 0,14	1,6 ± 0,21	1,7 ± 0,33	1,1 ± 0,13	7,9 ± 0,65	7,5 ± 0,35
CSA	2,8 ± 0,64	3,6 ± 0,27	1,18 [0,94; 1,32]	1,72 [1,50; 2,07]*	2,4 ± 0,16	2,2 ± 0,24
HCA	6,9 ± 1,03	6,4 ± 1,20	6,9 ± 0,83	7,4 ± 0,89	26,3 ± 2,31	27,2 ± 0,76
Ser	443,4 ± 32,82	295,7 ± 13,56*	712,6 ± 52,72	537,7 ± 48,96	340,4 ± 13,72	251,6 ± 17,0*
Gly	2451,1 ± 190,3	2077,6 ± 69,98	746,5 ± 72,85	737,5 ± 51,77	2548,9 ± 241,4	2437,0 ± 217,4
HpTau	45,51 ± 17,79	381,3 ± 74,26*	52,9 ± 4,40	1189,4 ± 189,3*	21,4 ± 1,67	200,4 ± 35,78*
Tau	2107,7 ± 176,4	2501,8 ± 176,4	6149,8 ± 374,1	8495,4 ± 520,1*	1319,5 ± 74,52	1703,5 ± 73,6*
Met	41,9 ± 2,71	135,0 ± 41,21*	37,3 ± 2,63	155,8 ± 44,29*	29,98 ± 1,22	94,4 ± 20,94*
Ctn	91,71 ± 8,191	489,5 ± 144,7*	53,1 ± 3,09	470,5 ± 136,33*	104,3 ± 17,1	945,3 ± 287,0*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – статистически достоверные изменения по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Во всех исследованных регионах мозга возрастала концентрация Met. Наиболее выраженное ее повышение наблюдалось в стриатуме – в 4,2 раза по сравнению с контролем. Уровень Ctn также возрастал во всех регионах, степень его повышения уменьшалась в ряду большие полушария > гипоталамус > стриатум > мозжечок > средний мозг, что может свидетельствовать о сохраненной активности цистатионин-β-синтазы. Это предположение подтверждает отрицательная корреляция в гипоталамусе и больших полушариях между уровнями Met и Ser (r = –0,81; r = –0,74), в мозжечке и среднем мозге между уровнями Ser и Ctn (r = –0,73; r = –0,75) и положительная корреляция в среднем мозге, больших полушариях и стриатуме между уровнями Met и Ctn (r = 0,77; r = 0,92; r = 0,81). Имеются данные, указывающие на высокую активность этого фермента в тканях мозга животных и человека в норме [27], в частности в мозжечке и гиппокампе [28]. Показано, что диета с высоким содержанием Met вызывает активацию транссульфурирования [28]. Вероятно, активность цистатионин-β-синтазы в мозге крыс повышается после длительной метиониновой нагрузки, однако скорость процесса лимитируется именно на уровне второй реакции транссульфурирования, что согласуется с данными работы [21].

Уровень HpTau статистически достоверно повышался во всех отделах мозга. При этом его уровни снижались в ряду стриатум > большие полушария > гипоталамус > средний мозг > мозжечок, а уровень Tau имел лишь тенденцию к повышению, но статистически значимое изменение его уровня отмечалось лишь в гипоталамусе и стриатуме (в 1,3 и 1,4 раза соответственно). В среднем мозге, гипоталамусе, больших полушариях и мозжечке выявлено снижение уровня Ser примерно в 1,5 раза, в то время как в стриатуме наблюдалась лишь тенденция к его снижению. В больших полушариях снижались одновременно уровни Ser и Gly (табл. 2).

Таблица 2. **Концентрации низкомолекулярных серосодержащих и родственных соединений (нмоль/г) в больших полушариях и мозжечке крыс после метиониновой нагрузки (среднее ± средняя ошибка)**

Table 2. **Concentration of low-molecular weight sulfur-containing and related compounds (nmol/g) in hemispheres and cerebellum of rats after methionine load (mean ± s. e. m.)**

Показатель	Большие полушария		Мозжечок	
	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)
CA	1,1 ± 0,13	0,9 ± 0,098	1,1 ± 0,13	1,7 ± 0,22*
CSA	0,7 ± 0,17	0,8 ± 0,11	3,4 ± 0,43	1,9 ± 0,21*
HCA	10,1 ± 1,72	7,0 ± 0,38	7,0 ± 0,39	8,3 ± 1,05
Ser	916,9 ± 52,04	504,4 ± 46,85*	624,8 ± 20,71	320,8 ± 25,35*
Gly	912,97 ± 57,39	735,2 ± 49,47*	638,9 ± 46,47	699,2 ± 93,48
HpTau	77,3 ± 15,06	1405,6 ± 180,02*	24,2 ± 4,06	106,5 ± 20,11*
Tau	4860,3 ± 182,66	5426,2 ± 270,06	3495,0 ± 123,05	3704,2 ± 210,07
Met	38,4 ± 2,61	118,2 ± 29,25*	29,1 ± 1,33	99,6 ± 30,14*
Ctn	26,6 ± 3,25	272,3 ± 87,10*	647,8 ± 34,97	5294,9 ± 792,85*

Нсу поступает во внеклеточную среду с помощью транспортных систем (ASC (аланин, серин и цистеин), L-транспортеров (валин, изолейцин, лейцин, тирозин, триптофан и фенилаланин), X_{AG}-транспортеров (глутамат и аспартат)) [29, 30], что может объяснять несовпадение выраженности наблюдавшихся эффектов в различных отделах мозга с выраженностью повышения уровня Met.

Значительное повышение уровня HpTau во всех отделах мозга на фоне незначительного повышения уровня Tau, возможно, обусловлено торможением гипотауриндегидрогеназы и цистеинсульфинатдекарбоксилазы. Возможно, Нсу является ингибитором этих реакций. Положительная корреляция между уровнями Ctn и HpTau (r = 0,92 в гипоталамусе, r = 0,97 в среднем мозге, r = 0,74 в больших полушариях, r = 0,89 в стриатуме) свидетельствует в пользу этого предположения.

Синтез Tau в мозжечке происходит преимущественно за счет окисления CSA, так как ее уровень понизился в 1,8 раза, CA – повысился в 1,4 раза, а синтез Tau за счет окисления HpTau, вероятно, заторможен (уровень HpTau повысился в 4,4 раза). С помощью флуоресцентных методов было показано нейротоксическое действие Нсу на нейроны мозжечка *in vitro* [31]. Апоптотическую гибель нейронов авторы связывали с чрезмерным проникновением Ca^{2+} через каналы NMDA-рецепторов, способных активироваться Нсу, и изменением митохондриального мембранного потенциала [31]. Подобные изменения были выявлены и в больших полушариях крыс [16]. Однако в больших полушариях Нсу практически не оказывал такого влияния *in vitro*, а лишь незначительно изменял митохондриальный мембранный потенциал, что связывают с особенностями активации Нсу структурных подтипов NMDA-рецепторов GluN1/GluN2B. NMDA-рецепторы подтипов GluN1/GluN2A рассматриваются как более предпочтительные нейрональные мишени Нсу [32]. Наряду с уменьшением уровня Ser происходило и снижение уровня Gly в больших полушариях. Это может объясняться тем, что Нсу частично является агонистом глутаматных сайтов и частично – антагонистом сайтов связывания глицина в NMDA-рецепторах. S. A. Lipton с соавт. [33] в своих исследованиях показали, что нейротоксические эффекты Нсу зависят от присутствия Gly. Последний необходим для вытеснения Нсу из его сайта связывания, что является основным условием для активации NMDA-каналов, однако цитотоксический эффект Нсу при этом повышается. В мозжечке же экспрессируются NMDA-рецепторы подтипов GluN2C и GluN2D, которые, вероятно, не десенситизируются Нсу [34]. Возможно, это объясняет относительно большую устойчивость больших полушарий к нейротоксическому действию Нсу [35, 36].

Заключение. Введение метионина в суммарной суточной дозе 3 г/кг в сутки может считаться адекватной моделью гипергомоцистеинемии и приводит к изменениям в содержании низкомолекулярных серосодержащих и некоторых метаболически родственных им соединений, выраженность которых различна, но однонаправленна во всех отделах мозга.

GZb[hel u_jZ `_ggu ^\b]ZlZ [ex ^Z ebfkna `_qdlmk< kj_^ g_hfa] \uj Z `_ggh kl v gZjmr_gbyZ [hebg bbZ dhfhe_dmk eyjgkuh ^_j`Zkb_o^bg_[gbeZg_kdhe gvbd`h_ gh\h\k_bl^_ eZha] Zjhy\eye Zikh\ur_gbkbdhjhkll Zgkkmevnmjbjhk\bZ gl b_yaZ]bihlZmjbgZ

Благодарности. :\lhjuaZy\eyhx[hlkmlkl\bbg nebbdgZ_j_kh\

Список использованных источников

0XWDWRUV WRNDM +)5 JHQH &!7 DQG *!7 &!7 PDUNHGHF\UH LQ D +)5 JHQ] \PDHFWLYLW\ + <DQ -HDWO 1@HXURJHQHW 9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ V

3RO\PRUSKLVP (PV 0 6DQ &G% 6HQDHQVK GRPRF\VWHLQHPLD DQG NLVN RI DXWLVP DQG DWKRV HEDWO @ 3/R6 21(± ±9RO 1 ±3H KWWSV GRL RUJ MRXUQDO SRQH

$VVRFLDWLRQ ZLWK PHPDWRU\ DQG SUHILDQGXFHG 0*7 55 JHQH DQG KRPRF\VWHLQH FRQFHQWUDWLRQ 5@HSURG%LRPHG2QOLQH ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M UEPR

07+)5& 7DQG 0*7 55$ *SRO\PRUSKLVPV DQG KRPRF\VWHLQH OHYHOV LQ DXWLVP VSHFWUXP GLVRUGHU 1@XWU ±9RO ±$UWKWWSV GRL RUJ

3RVWWUDQVODWLRQDO PRGLILFDWLRQV RI SURWHLQV DPLQR DFLG GHULYDWLYHV DQG WKH PHWDEROLVP RI KRPRF\VWHLQH >HUR ±9RO ±3 ± KWWSV GRL RUJ M EUDLQUHV

*XQGRJG7XUKDQ *G KRPRF\VWHLQH 6< FHO *R GHSRUWHG 9.XFXNDWDO %LRPH SRUWV ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ V

=LHPL (V 5LDO RQ UR[LPDWH DQG WKH QH[W JHQHUDWLRQ 1@XFOHLF $FLGV 5HV $ ¿HOG 'D]DUH=]XURFRQHXP ±9RO N ± ±3 ± KWWSV GRL RUJ s [

;he^uj_:\: lhq_fhndkbq]h[hpbkl_bg: ";he^uj_\ljbjh^Z± ±‹ ±& ±

%HQ<]*OXWDPDWH KRPRF\VWHLQH DQG WKH UROH RI PHWK\O JURXS DQG IRODWH LQ JHQHWLF DQG HQYLURQPHQWDO < %HQ<]*ULP.D 4 'R// 1HXURVFLHQFH ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M QHX

$U]XPDQ\DQ $ %DNHU 0 &KDQ 6 +RPRF\VWHLQH DQG PLWRFKRQGULD $U]XPDQ\DQ 0 6WHSDQ\DQ 5 1HXURFKHP ± ±9RO N ±3 ± KWWSV GRL RUJ V

FZojh < <ebyg]h[hpbkl_bg Zh[hpbkl_bg dhbkehg]ZjZgmeyjgu_ ldba`_qdZ< FZojh ?J;meu]bgZ ;he^uj_ G_cjhobf± by ±L ‹ ±K ±

+RPRF\VWHLQH PHWDEROLVP DQG QXWULWLRQDO UHTXLUHPHQWV LQ WKH FRQWH[W RI PHWK\O JURXS WUDQVIHU QHXURG $VS $EXV KDO @(YROLFK 3KHPV ±9RO ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ V

%KDW 6 $OLWWRFK RQ GHULYDWLRQ RI D VWXGLHG EDVHG RQ WKH DPLQR DFLG DQG D QHZ DSSURDFK WR UHGXFH EDVHG SODVPD WL 9LWKDW .W %KDW 3 W 5HGG %LRFKHP $FDG 3K $ VFLHQWLILF PDSSLQJ $0 %DOD DL FLVV RI FDVHV ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M EEDGLV

6HYHUDO PHWKRGV DQG WKH FKRLFH RI PHWKRG IRU FOLQLFDO FRQGLWLRQV RI KRPRF\VWHLQH PHDVXUHPHQW LQ D SKDUPDFRORJLFDO DQG FOLQLFDO SUDFWLFH 1@ 1DWXU 0HG >HYLHZ 0 @R&HQ 0HWDE ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M \PJPH

,QKLELWLRQ RI KRPRF\VWHLQH DQG DQWLRQFRJHQLF HIIHFW >DSDGUR[LGH@ DGGLWLRQ WR HIIHFW RI D FHUHEUDO DQG PHWKRGRORJLFDO EORRG FK\VWRU\ ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M [

3LQHDO WR PRWKHU DQG FKLOG VXSSRUW KRPRF\VWHLQH IRU \RXQJ HFRQRPLF 1HZ -@ 0HG ±9RO 1 ±3 ±

<ebyg]h[hpbkl_bg gZ lZeh]h[hpbkl_bg ` gZ nheZli]Z hbh]bojZ h\ gZ ef; 9 B< S_j[bpdZ :\j @G_cjhobf±by ±L ‹ ±K ±

*HVWDWLRQDO KRPRF\VWHLQH DQG EDVDO PHWDEROLF UDWH LQ FKLOGUHQ DQG DGXOWV >WDZ $!\ %OD>LHWD@ $@P -3DWKRO ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ MSDWK

6DFKG3 6 +RPRF\VWHLQH DQG RWKHU FHUHEURYDVFXODU GLVHDVHV 9 6DFKG3 9 UHYLHZ >]ULQJ @ 9RO ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M SQSES

([SUHVVLRQ RI PHWK\O WUDQVIHUDVHV LQ KXPDQ DQG PRXVH FKLOG HPEU\RQLF EUDLQ 5REHUWV @ +LVWRFKHP ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ

002215540305100311

)LQNHOVWHLQ - /HOPDQQ 0 0HWKLRQLQH)LQNHO - 1XWU %LRFKHP ±9RO N ± 3 ± KWWSV GRL RUJ

F_^_^ < Kihkhfh ^_ebjh\Zgb yeh chjfu]bi_j]h[hpbkl_bg dhb > < F_^_^_\ < B A\y]bgZ: NhfbgZ Jhkf_^ [bh_eklg bfZdZB I lZ\eh\Z ±L ‹ ±& ±

*ORZLQ 5 3K RI KRPRF\VWHLQH LQ WKH FKLOG DQG DGXOW ZLWK SUHJQDQF\ @ 0HG 3$ 3 0H@DO +HDOWK 3URF -H\ 0 ±9RO 1 ±3 ± KWWSV GRL RUJ M WE [

11. Makhro A. V., Bulygina E. R., Boldyrev A. A. Effect of homocysteine and homocysteinic acid on cerebellar granule cells. *Neirokhimiya* [Neurochemistry], 2006, vol. 23, no. 3, pp. 179–184 (in Russian).

12. Abushik P. A., Karelina T. V., Sibarov D. A., Stepanenko Y. D., Antonov S. M., Giniatullin R. A. Homocysteine-induced membrane currents, calcium responses and changes in mitochondrial potential in rat cortical neurons. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2015, vol. 51, no. 4, pp. 296–304. https://doi.org/10.1134/s0022093015040055

13. Bhatti J. S., Bhatti G. K., Reddy P. H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – a step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*, 2017, vol. 1863, no. 5, pp. 1066–1077. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.010

14. Jadavji N. M., Deng L., Leclerc D., Malysheva O., Bedell B. J., Caudill M. A., Rozen R. Severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency in mice results in behavioral anomalies with morphological and biochemical changes in hippocampus. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2012, vol. 106, no. 2, pp. 149–159. https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2012.03.020

15. Baydas G., Kutlu S., Naziroglu M., Canpolat S., Sandal S., Ozcan M., Kelestimur H. Inhibitory effects of melatonin on neural lipid peroxidation induced by intracerebroventricularly administered homocysteine. *Journal of Pineal Research*, 2003, vol. 34, no. 1, pp. 36–39. https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2003.02939.x

16. Arutjunyan A., Kozina L., Stvolinskiy S., Bulygina Y., Mashkina A., Khavinson V. Pinealon protects the rat offspring from prenatal hyperhomocysteinemia. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2012, vol. 5, no. 2, pp. 179–185.

17. Shcherbitskaya A. D., Milyutina Yu. P., Zaloznyaya I. V., Arutyunyan A. V., Nalivaeva N. N., Zhuravin I. A. The effects of prenatal hyperhomocysteinemia on the formation of memory and the contents of biogenic amines in the rat hippocampus. *Neirokhimiya* [Neurochemistry], 2017, vol. 34, no. 4, pp. 296–302 (in Russian).

18. Blaise S. A., Nédélec E., Schroeder H., Alberto J. M., Bossenmeyer-Pourié C., Guéant J. L., Daval J. L. Gestational vitamin B deficiency leads to homocysteine-associated brain apoptosis and alters neurobehavioral development in rats. *American Journal of Pathology*, 2007, vol. 170, no. 2, pp. 667–679. https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060339

19. Sachdev P. S. Homocysteine and brain atrophy. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2005, vol. 29, no. 7, pp. 1152–1161. https://doi.org/10.1016/j.pnpbpp.2005.06.026

20. Robert K., Vialard F., Thiery E., Toyama K., Sinet P. M., Janel N., London J. Expression of the cystathionine-β-synthase (CBS) gene during mouse development and immunolocalization in adult brain. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2003, vol. 51, no. 3, pp. 363–371. https://doi.org/10.1177/002215540305100311

21. Finkelstein J. D. Methionine metabolism in mammals. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 1990, vol. 1, no. 5, pp. 228–237. https://doi.org/10.1016/0955-2863(90)90070-2

22. Medvedev D. V., Zvyagina V. I., Fomina M. A. Modeling of severe hyperhomocysteinemia in rats. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I. P. Pavlova* [Russian medical and biological bulletin named after academician I. P. Pavlov], 2014, vol. 22, no. 4, pp. 42–46 (in Russian).

23. Glowinsky J., Iversen L. L. Regional studies of catecholamines in the rat brainthe disposition of [^{3}H]norepinephrine, [^{3}H]dopamine and [^{3}H]dopa in various regions of the brain. *Journal of Neurochemistry*, 1966, vol. 13, no. 8, pp. 655–669. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1966.tb09873.x

24. Doroshenko E. M., Snezhitskii V. A., Lelevich V. V. Structure of the pool of free amino acids and their derivatives in plasma of patients with ishemic heart disease and chronic cardiac insufficiency. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of Grodno State Medical University], 2017, vol. 15, no. 5, pp. 551–555 (in Russian).

25. Durand P. P., Fortin L. J., Lussier-Cacan S., Davignon J., Blache D. Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load – applications of a modified HPLC method. *Clinica Chimica Acta*, 1996, vol. 252, no. 1, pp. 83–93. https://doi.org/10.1016/0009-8981(96)06325-5

26. Krijt J., Vacková M., Kožich V. Measurement of homocysteine and other aminothiols in plasma: advantages of using tris(2-carboxyethyl)phosphine as reductant compared with tri-n-butylphosphine. *Clinical Chemistry*, 2001, vol. 47, no. 10, pp. 1821–1828. https://doi.org/10.1093/clinchem/47.10.1821

27. Zaichko N. V., Yurchenko P. A., Fil'chukov D. A. The level of hydrogen sulphide and antioxidant system in rat brain in isolated hyperhomocysteinemia and its correction. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2016, vol. 1, no. 55, pp. 109–112 (in Russian).

28. Nagasawa M., Ikeda H., Kawase T., Iwamoto A., Yasuo S., Furuse M. Suppressed expression of cystathionine β-synthase and smaller cerebellum in Wistar Kyoto rats. *Brain Research*, 2015, vol. 1624, pp. 208–213. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.043

29. Jiang X., Yang F., Brailoiu E., Jakubowski H., Dun N. J., Schafer A. I., Yang X., Durante W., Wang H. Differential regulation of homocysteine transport in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, vol. 27, no. 9, pp. 1976–1983. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.148544

30. Büdy B., O'Neill R. M., DiBello P. M., Sengupta S., Jacobsen D. W. Homocysteine transport by human aortic endothelial cells: Identification and properties of import systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2006, vol. 446, no. 2, pp. 119–130. https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.12.014

31. Sitnikova L. S., Ivanova M. A., Stepanenko Y. D., Karelina T. V., Sibarov D. A., Abushik P. A., Antonov S. M., Giniatullin R. Collapse of neuronal energy balance as a basis of L-homocysteine neurotoxicity. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology*, 2018, vol. 12, no. 4, pp. 360–368 (in Russian).

32. Sibarov D. A., Abushik P. A., Giniatullin R., Antonov S. M. GluN2A subunit-containing NMDA receptors are the preferential neuronal targets of homocysteine. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2016, vol. 10, no. 246, pp. 1–11. https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00246

33. Lipton S. A., Kim W. K., Choi Y. B., Kumar S., D'Emilia D. M., Rayudu P. V., Arnelle D. R., Stamler J. S. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-d-aspartate receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, vol. 94, no. 11, pp. 5923–5928. https://doi.org/10.1073/pnas.94.11.5923

34. Sibarov D. A., Giniatullin R., Antonov S. M. High sensitivity of cerebellar neurons to homocysteine is determined by expression of GluN2C and GluN2D subunits of NMDA receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, vol. 506, no. 3, pp. 648–652. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.10.140

35. Abushik P. A., Bart G., Korhonen P., Leinonen H., Giniatullina R., Sibarov D. A., Levonen A. L., Malm T., Antonov S. M., Giniatullin R. Pro-nociceptive migraine mediator CGRP provides neuroprotection of sensory, cortical and cerebellar neurons via multi-kinase signaling. *Cephalalgia*, 2017, vol. 37, no. 14, pp. 1373–1383. https://doi.org/10.1177/0333102416681588

36. Deep S. N., Mitra S., Rajagopal S., Paul S., Poddar R. GluN2A-NMDA receptor-mediated sustained Ca^{2+} influx leads to homocysteine-induced neuronal cell death. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, vol. 294, no. 29, pp. 11154–11165. https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008820

37. Arutjunyan A. V., Milyutina Y. P., Kerkeshko G. O., Zalozniaia I. V., Mikhel A. V., Shcherbitskaia A. D. Neurotrophins of the fetal brain and placenta in prenatal hyperhomocysteinemia. *Biochemistry (Moscow)*, 2020, vol. 85, no. 2, pp. 213–223. https://doi.org /10.1134/S000629792002008X

Информация об авторах

Новогродская Яна Иосифовна – аспирант. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: yananovogrodskaya@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-9505-6717

Дорошенко Евгений Михайлович – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: dgi03@mail.ru

Курбат Михаил Николаевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией. Гродненский государственный медицинский университет» (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vwmisha@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-9939-8749

Information about the authors

Yana I. Novogrodskaya – Postgraduate student. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: yananovogrodskaya@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-9505-6717

Yevgeny M. Doroshenko – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Leading Researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: dgi03@mail.ru

Mikhail N. Kurbat – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vwmisha@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-9939-8749