



Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 17015 – Конкурсна сесия 2017:

**„Проучване ефектите на сяра-съдържащи минерални води върху
метаболизма на сяра при хора“**

Ръководител: Доц. д-р Милка Аспарухова Нашар, дб

Обект на изследването е сяра-съдържащата минерална вода от Варненския басейн, от гледна точка на метаболитния внос и усвояването на сяра на ниво интестинална абсорбция.

Сярата е макроелемент с важни метаболитни функции. Освен за поддържане на редокс-статуса на клетъчно и извънклетъчно ниво, тя е необходима за посттранслационната модификация на белтъците и за поддържане на тяхната нативна конформация. Не на последно място, сярата е субстрат в реакциите на сулфатиране при метаболизма на ксенобиотици, включително на много лекарства.

Научни данни сочат, че сярата и неорганичните сулфати от различни храни, напитки и лекарства се абсорбират почти напълно в стомашно-чревния тракт. От друга страна, данни за метаболитен внос на сяра чрез прием на минерални води, в които тя се съдържа, остава недооценена и научни данни по темата почти липсват. В същото време минералните води от Варненския басейн ежедневно се използват за питейни нужди от хиляди хора.

Целта на проекта е да се изследва ефекта на сяра-съдържаща минерална вода върху активността на ензими, участващи в процесите на сулфатиране в човешки интестинални клетки.

Сулфатирането е важна реакция при метаболизма на много ксенобиотици, лекарства и ендогенни съединения, катализирана от супер фамилия ензими, наречени сулфотрансферази (SULTs). Универсален донор на сулфат и задължителен ко-субстрат при реакциите на сулфатиране е 3'-фосфоаденозил-5'-фосфосулфат (ФАФС). Доказано е, че слабата наличност на ФАФС е лимитиращ фактор за активността на сулфотрансферазите. Следователно, скоростта на синтез на ФАФС може да бъде важен фактор за определяне на сулфатиращата активност в тъканите и да повлияе метаболизма на лекарства и ксенобиотици, а от там и тяхната биологична активност.

За изпълнение на поставените задачи бяха приложени биохимични и молекулярно-биологични методи. Експерименталната част на работната програма включваше:

- ❖ култивиране на чиста линия човешки интестинални епителни клетки (HIEC6)
- ❖ тест за цитотоксичност (MTT) на сярна-съдържаща минерална вода от избран източник с предварително определени физикохимични показатели и съдържание на сероводород и разтворени сулфиди
- ❖ инкубиране на клетките с различни обемни концентрации сярна-съдържаща минерална вода в хранителната среда
- ❖ изолиране на информационна РНК и провеждане на полимеразна верижна реакция в реално време (RT-PCR) за определяне експресията на гените за две изоформи на човешки сулфотрансферази (SULT1A1 и SULT1A3) и на двете изоформи на човешки ФАФС синтази (PAPSS1 и PAPSS2).

Резултати:

Анализът на резултатите показва, че третирането на човешки интестинални епителни клетки със сярна-съдържаща минерална вода, води до значително повишаване на експресията на гена за SULT1A1, без значение от обемната концентрация на сярна-съдържаща минерална вода в хранителната среда. Подобен стимулиращ ефект на водата се наблюдава и върху PAPSS1, но само в най-малката приложена концентрация. Интересно беше да установим, че по-високите обемни концентрации на водното съдържание значително потискат генната експресия на двете ФАФС синтази, въпреки стимулираната експресия на сулфотрансферазите. Може да се предположи, че този ефект върху експресията на двата типа ензими се дължи на някои от сярна-съдържащите активни компоненти разтворени във водата. Научни данни сочат, че съдържащите се в някои храни органосулфиди, например сулфорафан в зеле и броколи, имат индуциращ ефект върху експресията на гените за ензими от фаза 2 от метаболизма на ксенобиотици, включително на сулфотрансферази. Не се откриват данни за такъв ефект на активни компоненти от храни върху ФАФС синтазите. В достъпната научна литература до момента липсва информация за проучвания на ефекта на сярна-съдържащи минерални води върху изследваните от нас ензими. Логично е да допуснем, че внесените с водата сярна-съдържащи вещества биха имали ефект, съизмерим с този на органосулфидите, внасяни с храната.

Приноси от изпълнението на проекта:

За първи път да са получени данни за директна връзка между метаболитно активиране на ензими участващи в използването и метаболизма на сяра и сяра съдържаща минералната вода. От научна гледна точка, установяване на такава корелация става отправна точка за нови търсения относно значението на минералните води за внос на активни компоненти в клетките още на ниво интестинална абсорбция. От друга страна вярваме, че получените резултати биха представлявали интерес за здравни специалисти и фармацевти, относно консумацията на сяра съдържащи минерални води от хора на лекарствена и хормонозаместителна терапия, имайки предвид участието на изследваните ензими в метаболизма на ксенобиотици, включително и лекарства.

Освен научен и общественополезен принос, проектът има безспорен принос за повишаване квалификацията и кариерното израстване членовете на екипа. Работата по проекта подкрепи докторант, член на научния колектив, защитил успешно дисертационния си труд в началото на 2020 г. От друга страна, в процеса на работа, старшите изследователи имаха възможност да предат на по-младите си колеги и на студентите своите знания и умения. Традиционно, Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика работи активно със студентите, включвайки ги в изпълнението на научни задачи в рамките на свободно избираеми дисциплини и проекти. Вярваме, че трансферът на опит и знания към студенти с интерес към научната работа е в подкрепа на тяхната мотивация и ще бъде нашият принос към привличане на млади хора в науката.

Разпространение на резултатите:

Проектът е представен в обзорна презентация на един национален научен форум, а през септември 2020 г. предстои докладване на по-значимите резултати на международен конгрес в Дъблин. Предстои обобщаване на резултатите в пълнотекстова научна публикация в списание с импакт фактор.

Резултати:

Сяра-съдържащата минерална вода е наливана от две обществени чешми на територията на град Варна, „Аквариум“ и „Дом Младост“, чиято вода е с предварително известен физикохимичен състав и съдържание на сероводород и разтворими сулфиди. В предишно проучване беше проследена промяната в концентрацията на сероводород в проби от двете чешми, при различно време на домуване след наливането: 24 часа, 3 дни и 7 дни. На базата на тези данни беше определена схемата на третиране на клетките с проби с различно домуване. На

базата на теста за цитотоксичност бяха определени три процентни концентрации на минералната вода в хранителната среда: 2%, 4% и 8%.

Анализът на резултатите показва, че третирането на човешки интестинални епителни клетки със сяра-съдържаща минерална вода води до значително повишаване на експресията на двата гена за сулфотрансфераза – SULT1A1 и SULT1A3 при клетките, третирани 24 часа след пробовземането на водата от двата източника, като този ефект е силно подчертан в зависимост от процентното съдържание на минерална вода в хранителната среда.

От друга страна, ефектите върху двете ФАФС синтези са разнопосочни, но с подчертано инхибиране на експресията, като тези ефекти са по-изразени при клетките третирани с вода от чешма „Дом Младост“, в чиято вода по предварителни данни сероводородът е в по-висока концентрация.

Може да се предположи, че тези ефекти върху експресията на двата типа ензими се дължат на сяра-съдържащите активни компоненти разтворени във водата, които оказват инхибиращо действие върху синтеза на ФАФС, а в същото време индуцират сулфотрансферазите. Данни за подобни ефекти са докладвани за сяра-съдържащи активни вещества в растителни храни, например органосулфидите в кръстоцветни. Подобни данни има и за растителните полифеноли, за които е установено че могат да повлияват експресията, както на ензими от метаболизма и антиоксидантни ензими, така и на сулфотрансферазите.

В заключение може да се допусне, че употребата на сяра-съдържащата минерална вода от Варненския басейн повлиява процесите на детоксикация, повлиявайки активността на ензими от втора фаза на метаболизма на ксенобиотици, като силата на този ефект зависи от времето на престояване на водата след наливане. Докладваните в това проучване данни би трябвало да се имат предвид при едновременното прилагане на тази вода с някои лекарства и добавки, които са субстрати на процесите на сулфатиране.