

УДК 363.32/38.612.015.577.122:636.084.4

## ВМІСТ І СКЛАД РОЗЧИННИХ ПРОТЕЇНІВ У ТКАНІНІ ПЕЧІНКИ МОЛОДНЯКУ ОВЕЦЬ ЗА УМОВ ВИКОРИСТАННЯ У ЇХ РАЦІОНАХ ДОБАВОК АМІНОКИСЛОТ ЛІЗИНУ, МЕТІОНІНУ, А ТАКОЖ НАТРІЮ СУЛЬФАТУ

В. В. Гавриляк, О. С. Дружина, П. В. Стапай, Н. П. Сидір  
inenbiol@mail.lviv.ua

Інститут біології тварин НААН,  
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

У статті наведені дані про вплив незамінних амінокислот лізину, метіоніну, а також натрію сульфату як добавок до основного раціону 4-місячних баранчиків на вміст і склад розчинних протеїнів печінки. Показано, що використання у раціонах молодняку овець цих добавок істотно не вплинуло на загальний вміст розчинних протеїнів у тканині печінки, проте призвело до змін у їх складі.

Розчинні протеїни тканини печінки у поліакриламідному гелі поділяються на 10 фракцій, які за електрофоретичною рухливістю подібні до деяких протеїнів сироватки крові. Згодовування у складі основного раціону баранчикам лізину та натрію сульфату (відповідно по 3 г і 2 г на гол/добу) супроводжувалося вірогідним підвищенням в 1,3 і 1,2 разу відповідно двох фракцій протеїнів (2 і 4), які відповідають  $\gamma$ - і  $\beta$ -глобулінам сироватки крові. У групі тварин, яким згодовували метіонін і натрію сульфат (по 2 г гол/добу), не виявлено суттєвих змін у співвідношенні розчинних протеїнів тканини печінки.

Використання у раціонах баранчиків як лізину, метіоніну, так і натрію сульфату (відповідно 3, 2 і 2 г гол/добу) призводило до збільшення частки фракцій протеїнів (4 і 9), які відповідали  $\beta$ -глобулінам і альбумінам сироватки крові в 1,2 разу порівняно з контрольною групою тварин. Водночас у тканині печінки баранчиків цієї групи спостерігалось зменшення частки фракцій 3 і 6 (відповідно в 1,5 і 1,9 разу), які відповідали  $\gamma$ - і  $\alpha$ -глобулінам. Отож, зміни співвідношення окремих фракцій протеїнів у тканині печінки відбуваються здебільшого за впливу лізину, ніж метіоніну, і стосуються переважно глобулінів.

**Ключові слова:** БАРАНЧИКИ, ЛІЗИН, МЕТІОНІН, НАТРІЮ СУЛЬФАТ, ПЕЧІНКА, ПРОТЕЇНИ

## CONTENT AND COMPOSITION OF SOLUBLE PROTEIN IN LIVER TISSUES OF YOUNG SHEEP UNDER THE USING IN THEIR DIET ADDITIVES WITH AMINO ACIDS LYSINE, METHIONINE AND SULFATE

V. V. Havrylyak, O. S. Druzhyna, P. V. Stapay, N. P. Sydir  
inenbiol@mail.lviv.ua

Institute of Animal Biology NAAS,  
V. Stus str., 38, Lviv ,79034, Ukraine

The effect of essential amino acids lysine, methionine and sodium sulphate as supplements to the basic diet of 4-month rams on the content and composition of the soluble protein of the liver were presented in the paper. It has been shown that when using in the diets of young rams, these supplements did not significantly affect on the total content of soluble protein in liver tissue, however their correlation was changed.

In the polyacrylamide gel the soluble proteins of liver tissue were divided into 10 fractions which were similar to some serum proteins by electrophoretic mobility. Feeding lambs with lysine and sodium sulfate in their diet (respectively 3 and 2 grams per head/day) was accompanied by significant increasing by 1,3 and 1,2 times respectively of the two fractions of proteins (2 and 4), corresponding serum  $\gamma$ - and  $\beta$ -globulins. In the animals which were fed with methionine and sodium sulphate (2 grams per head/day) there were no significant changes in the ratio of soluble proteins of liver tissue.

Using supplements with lysine, methionine and sodium sulphate in ram's diet (respectively 3, 2 and 2 g per head/day) resulted in increased protein rate of fractions 4 and fraction 9 on 1,2 times compared with control animals. These proteins fractions correspond to serum  $\beta$ -globulin and albumin.

*Simultaneously in the liver tissue of rams the decrease of content of fraction 3 and 6 (respectively 1,5 and 1,9 times) which correspond to serum  $\gamma$ - and  $\alpha$ -globulin was observed.*

*It was concluded that the changes of the ratio of individual protein fractions in the liver tissue depends on lysine rather than methionine and it is related primarily to globulin.*

**Keywords:** LAMBS, BLOOD, LYSINE, METHIONINE, SULFYR, LIVER, DIET

**СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ РАСТВОРИМЫХ ПРОТЕИНОВ  
В ТКАНИ ПЕЧЕНИ МОЛОДНЯКА ОВЕЦ  
В УСЛОВИЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИХ РАЦИОНАХ ДОБАВОК  
АМИНОКИСЛОТ ЛИЗИНА, МЕТИОНИНА, А ТАКЖЕ НАТРИЯ СУЛЬФАТА**

*В. В. Гавриляк, А. С. Дружина, П. В. Стапай, Н. П. Сыдир  
inenbiol@mail.lviv.ua*

Институт биологии животных НААН,  
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

*В статье представлены данные о влиянии незаменимых аминокислот лизина, метионина, а также натрия сульфата как добавок к основному рациону 4-месячных баранчиков на содержание и состав растворимых протеинов печени. Показано, что использование в рационах молодняка овец этих добавок существенно не влияло на общее содержание растворимых протеинов в ткани печени, однако приводило к изменениям в их соотношении.*

*Растворимые протеины ткани печени в полиакриламидном геле разделяются на 10 фракций, которые по электрофоретической подвижности соответствуют некоторым протеинам сыворотки крови. Скармливание в составе основного рациона баранчикам лизина и натрия сульфата (соответственно по 3 и 2 г на гол/сутки) сопровождалось достоверным повышением в 1,3 и 1,2 раза соответственно двух фракций протеинов (2 и 4), которые соответствуют  $\gamma$ - и  $\beta$ -глобулинам сыворотки крови. В группе животных, которым скармливали метионин и натрия сульфат (по 2 г гол/сутки), не выявлено существенных изменений в соотношении растворимых протеинов ткани печени.*

*Использование в рационах баранчиков как лизина, метионина, так и натрия сульфата (соответственно 3, 2 и 2 г гол/сутки) приводило к увеличению в 1,2 раза содержания фракций протеинов (4 и 9), которые соответствуют  $\beta$ -глобулину и альбуминам сыворотки крови по сравнению с контрольной группой животных. Одновременно в ткани печени баранчиков этой группы наблюдалось уменьшение содержания фракций 3 и 6 (соответственно в 1,5 и 1,9 раза), которые соответствуют  $\gamma$ - и  $\alpha$ -глобулинам. Сделан вывод о том, что изменения в соотношении отдельных фракций протеинов в ткани печени происходит в большей мере под влиянием лизина, чем метионина и касаются преимущественно глобулинов.*

**Ключевые слова:** БАРАНЧИКИ, ЛИЗИН, МЕТИОНИН, НАТРИЯ СУЛЬФАТ, ПЕЧЕНЬ, ПРОТЕИНЫ

Печінка тварин характеризується інтенсивним синтезом протеїнів, що обумовлено високою швидкістю їх оновлення, в основі якого, з одного боку, є їх синтез, а з іншого — розпад. Період півжиття протеїнів у печінці становить від декількох хвилин до декількох годин.

У дослідях на різних видах тварин встановлено, що головними чинниками, які обумовлюють високу інтенсивність синтезу протеїнів у печінці, є висока концентрація ДНК, РНК й інтенсивний ресинтез АТР. Окрім того, висока інтенсивність їх синтезу в печінці пов'язана з великою кількістю у гепатоцитах

полісом — рибосом, зв'язаних з мембранами ендоплазматичного ретикулуму, а також від співвідношення окремих вільних амінокислот у цьому органі [1].

У процесі глюконеогенезу у печінці жуйних тварин, як встановлено у дослідях на вівцях, переважно використовуються глюконеогенні амінокислоти — аланін і глутамінова кислота [2]. Із цих амінокислот у печінці овець синтезується від 11 % до 30 % глюкози від її загальної кількості. Використання окремих амінокислот у синтезі протеїнів у печінці великої рогатої худоби в умовах *in vitro* зменшується у ряді: лизин, гліцин,

триптофан, цистин, метіонін, аланін. Ці дані свідчать про значно більше використання лізину, ніж інших амінокислот. Це пояснюється незначним катаболізмом лізину в печінці порівняно з іншими амінокислотами [3]. Стосовно метіоніну треба відзначити, що ця амінокислота є лімітуючою у синтезі протеїнів у тканинах тварин [4], що пов'язано із низьким вмістом його у рослинних кормах, а також високою інтенсивністю реакції трансметилування і транссульфування у тканинах тварин, внаслідок чого забезпечується використання металічних груп і Сульфуру метіоніну в синтетичних процесах. Відомо також, що потреба жуйних тварин у Сульфурі значною мірою забезпечується за рахунок Сульфуру метіоніну [5].

Незначне використання сульфуровмісних амінокислот у синтезі протеїнів у печінці обумовлено інтенсивним їх катаболізмом не лише у печінці, але й в інших органах і тканинах та використанням їх вуглецевого скелету здебільшого у процесах гліюкогенезу [6, 7].

Однак, даних про використання амінокислот лізину і метіоніну у раціонах молодняку овець ми в літературі не виявили. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було з'ясувати вплив цих амінокислот, а також Сульфуру як добавок до основного раціону молодняку овець на вміст і склад розчинних протеїнів тканини печінки.

### Матеріали і методи

Дослід провели на баранчиках комбінованого напрямку продуктивності породи меріноландшафт. За методом пар-аналогів, з урахуванням віку та живої маси, було сформовано чотири групи баранчиків 4-місячного віку по 4 голови у кожній. Усі піддослідні тварини перебували в однакових умовах утримання і догляду. Годівля тварин здійснювалася двічі на добу з вільним доступом до води. Дослід тривав 67 діб, у літній період, після відбивки ягнят від вівцематок, за такою схемою: контрольна група тварин отримувала основний раціон, збалансований за основ-

ними поживними речовинами відповідно до наявних норм; тварини першої дослідної групи у складі основного раціону отримували 3 г лізину і 2 г натрію сульфату з розрахунку на гол/добу, а тварини двох інших груп — відповідно, 2 г метіоніну і 2 г натрію сульфату (друга дослідна група) та 3 г лізину, 2 г метіоніну і 2 г натрію сульфату (третя дослідна група).

Об'єктом біохімічних досліджень слугували зразки тканини печінки, відібрані після забою тварин. Розчинні протеїни екстрагували за допомогою 0,9 % розчину натрію хлориду, а їх склад досліджували методом електрофорезу в 7,5 % поліакриламідному гелі (ПААГ) [8]. Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за критерієм Стюдента.

### Результати й обговорення

Перш ніж проаналізувати отримані дані, нагадаємо, що основну масу сухого залишку печінки становлять протеїни. Їх склад дуже різноманітний, оскільки у печінці синтезуються і запасуються не тільки власне протеїни печінки й ензими, але і протеїни крові. Результати останніх досліджень свідчать, що нестача есенціальних амінокислот у раціонах тварин може впливати на експресію генів і, таким чином, змінювати метаболічну відповідь клітин печінки [9].

З даних *Рисунку 1* видно, що використання у раціонах молодняку овець добавок амінокислот лізину, метіоніну та натрію сульфату істотно не вплинуло на загальний вміст розчинних протеїнів у печінці.

Водночас у співвідношенні між окремими фракціями протеїнів спостерігалися певні зміни, які можна правомірно розглядати як результат стосовних нами чинників.

Отже, методом електрофорезу у 7,5 % ПААГ розчинні протеїни печінки поділяються на 10 окремих фракцій, відсотковий вміст яких наведено у *Таблиці 1*. З цифрових даних, зокрема видно, що протеїновий профіль печінки представлений переважно глобулінами, а на частку альбумінів (фракції 8–10) припадає біля 20 %.

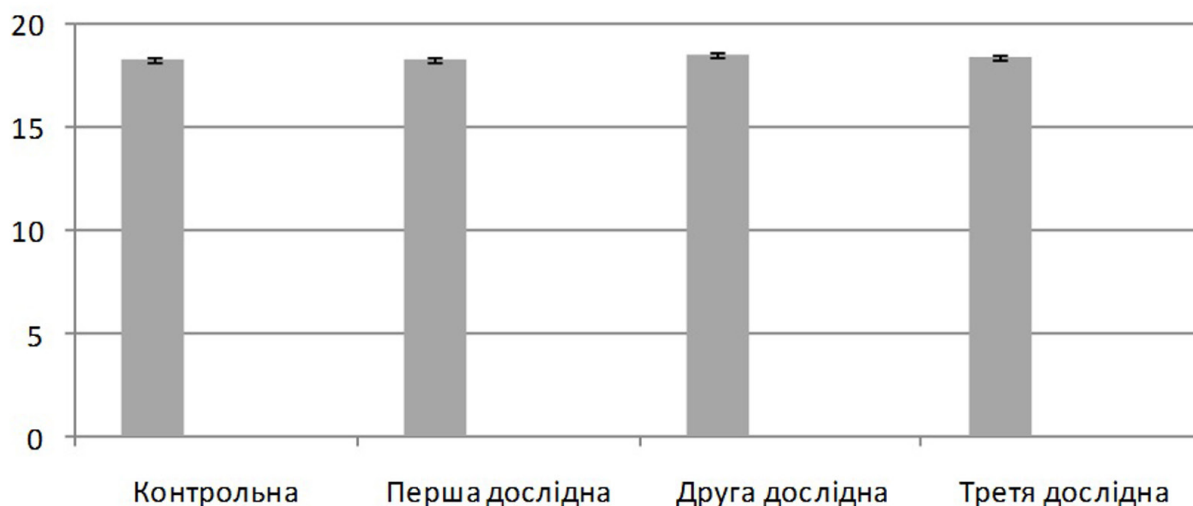


Рис 1. Вміст розчинних протеїнів у тканині печінки баранчиків, мг/г тканини ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

За електрофоретичною рухливістю деякі протеїни печінки подібні до протеїнів сироватки крові. Так, фракції 1–3 відповідають  $\gamma$ -глобулінам, їх сумарний вміст у різних групах тварин є приблизно однаковим (20,7 %, 22,32 %, 17,16 %, 17,86 %), хоча у другій і третій дослідних групах, які у складі основного раціону отримували добавку метіоніну, спостерігається незначне зменшення цих фракцій відповідно в 1,21 і 1,16 разу.  $\beta$ -глобулінам відповідає фракція 4, а  $\alpha$ -глобулінам — відповідно, фракції 5–7 (сумарно 36,05 % у контролі, 36,13 % — у I Д, 36,09 % — у II Д, 30,9 % — у III Д групах). Решта фракцій — це преальбуміни, альбуміни і постальбуміни. Треба відзначити, що введення до раціону баранчиків метіоніну та Сульфору у вигляді

натрію сульфату суттєво не відобразилося на співвідношенні розчинних протеїнів у тканині печінки порівняно з тваринами контрольної групи.

Результати досліджень свідчать, що згодовування баранчикам лізину та Сульфору супроводжувалося вірогідним підвищенням двох фракцій протеїнів (2 і 4), які відповідають  $\gamma$ - і  $\beta$ -глобулінам сироватки крові, відповідно в 1,3 і 1,2 разу порівняно до контролю. Поєднання у раціоні баранчиків лізину, метіоніну та Сульфору сприяло збільшенню вмісту протеїнів, які відповідали електрофоретичній рухливості  $\beta$ -глобулінам і альбумінам сироватки крові, відповідно, в 1,2 разу (фракція 4 і 9). Водночас у тканині печінки баранчиків цієї групи спостерігалось

Таблиця 1

**Вміст розчинних протеїнів у тканині печінки баранчиків, % ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )**

Фракція	Група тварин			
	Контрольна	I дослідна	II дослідна	III дослідна
1	4,50 $\pm$ 0,69	5,40 $\pm$ 0,81	4,48 $\pm$ 0,38	4,72 $\pm$ 0,26
2	6,40 $\pm$ 0,63	8,42 $\pm$ 0,21*	5,58 $\pm$ 0,49	6,51 $\pm$ 0,34
3	9,80 $\pm$ 0,73	8,50 $\pm$ 0,48	7,10 $\pm$ 0,79	6,63 $\pm$ 0,41***
4	17,97 $\pm$ 0,84	21,24 $\pm$ 0,80**	20,83 $\pm$ 0,62	21,93 $\pm$ 0,96***
5	4,55 $\pm$ 0,67	4,30 $\pm$ 0,32	4,39 $\pm$ 0,72	4,21 $\pm$ 0,54
6	14,19 $\pm$ 0,30	15,08 $\pm$ 0,71	16,33 $\pm$ 1,00	7,38 $\pm$ 0,92***
7	17,31 $\pm$ 0,62	16,75 $\pm$ 0,67	15,37 $\pm$ 1,19	19,31 $\pm$ 0,49
8	2,11 $\pm$ 0,36	3,23 $\pm$ 0,34	3,35 $\pm$ 0,78	2,78 $\pm$ 0,21
9	17,76 $\pm$ 1,17	13,40 $\pm$ 1,64	18,79 $\pm$ 1,03	21,61 $\pm$ 0,57***
10	5,42 $\pm$ 0,66	3,69 $\pm$ 0,34	3,78 $\pm$ 0,47	4,90 $\pm$ 0,27

Примітка. \* — різниці вірогідні між контрольною і I дослідною групою; \*\* — між контрольною і II дослідною групою, \*\*\* — між контрольною і III дослідною групами



зниження вмісту фракцій 3 і 6 (відповідно в 1,5 і 1,9 разу), які за своєю рухливістю відповідали  $\gamma$ - і  $\alpha$ -глобулінам. Очевидно, що саме за рахунок цих фракцій зменшується і сумарний вміст  $\gamma$ - і  $\alpha$ -глобулінів у баранчиків третьої дослідної групи порівняно до контролю. Такі зміни у протеїновому складі печінки опосередковано можуть бути пов'язані з впливом метіоніну та сульфатів на детоксикаційні процеси в організмі тварин та синтез глікозаміногліканів [10]. У літературі є повідомлення про вплив метіоніну у складі раціону на експресію гена інсуліноподібного фактора росту в гепатоцитах [11], а також контролі генів, що задіяні в ліпідному метаболізмі, включно з холестерол-7 $\alpha$ -гідроксилазою і ароА-1 [12]. Проте механізми реалізації цих ефектів на сьогодні не з'ясовані.

Отже, проведені дослідження дають змогу отримати прямі свідчення стосовно впливу таких ключових амінокислот, як лізин і метіонін, а також Сульфору у вигляді натрію сульфату на метаболічні процеси в організмі баранчиків та оптимізувати рівень цих амінокислот у раціонах овець.

## Висновок

Використання у раціонах молодняку овець добавок амінокислот лізину, метіоніну, а також сульфату натрію істотно не впливає на загальний вміст розчинних протеїнів у тканині печінки, проте призводить до зміни співвідношення окремих їх фракцій, особливо тих, що відповідають глобуліновим фракціям сироватки крові.

## Перспективи подальших досліджень.

Подальші дослідження доцільно провести на дорослих тваринах, зокрема вівцематках.

1. Waterlow J. C., Garlick P. J., Millward D. J. Protein Turnover in Mammalian Tissues. *North Holland Publishing Amsterdam*, 1978. 804 p.

2. Yanovych V. H., Solohub L. I. Biological bases of transformation of nutritives in feed in

ruminants. Lviv, Triada plyus, 2000, 376 p. (in Ukrainian)

3. Ratych I. B. Biological role of sulphur and metabolism of sulfate in birds. Lviv, 1992, p. 170 (in Ukrainian).

4. Simon O. Metabolism of protein and amino acids. *Protein metabolism in Farm Animals*, 1989, p. 273–367.

5. Ratych I. B., Hunchak A. V., Stoyanovs'ka H. M. Physiological-biochemical bases of bird nutrition. Lviv, 2007, 233 p. (in Ukrainian).

6. Kychma O. S., Kornyat S. B., Yanovych V. H. Use of the [2-C14] methionine and [2-C14] cystine in the synthesis of proteins in different organs and tissues of cattle *in vitro*. *Scientific and Technical bulletin of Institute of Animal Physiology and Biochemistry*, 1997, Vol. 19, No. 1, p. 27–29 (in Ukrainian).

7. Kornyat S. B., Kychma O. S., Yanovych V. H. Use of the [2-C14] methionine and [2-C14] cystine, [1-C14] acetate in energetic processes in different organs and tissues of cattle *in vitro*. *Scientific and Technical bulletin of Institute of Animal Physiology and Biochemistry*, 1997, Vol. 19, No. 1, p. 57–59 (in Ukrainian).

8. Gaal E., Medjeshi H., Vereckei L. Electrophoresis in separation of biological molecules. Moscow, Myr, 1982, 446 p.

9. Kilberg M. S., Pan Y. X., Chen H., Leung-Pineda V. Nutritional control of gene expression: how mammalian cells respond to amino acid limitation. *Annu Rev Nutr*, 2005, Vol. 25, p. 59–85.

10. Tesseraud S., Coustard S., Collin A., Seiliez I. Role of sulfur amino acids in controlling nutrient metabolism and cell function: implication for nutrition. *Br. J. of Nutrition*, 2009, Vol. 101, p. 1132–1139.

11. Stubbs A. K., Wheelhouse N. M., Lomax M. A. et al. Nutrient-hormone interaction in the ovine liver: methionine supply selectively modulates growth hormone-induced IGF-I gene expression. *J. Endocrinol.*, 2002, Vol. 174, p. 335–341.

12. Oda H. Functions of sulfur-containing amino acids in lipid metabolism. *J. Nutr.*, 2006, Vol. 136, Suppl. 6., p. 1666S–1669S.