

¹ УДК 619:616.935:636.2:577.115.3

Калачнюк Л.Г.^{1,2} д.б.н., доцент;

Сидір-Басараб І.М.¹⁻³, аспірант;

Мельничук Д.О.², д.б.н., професор, академік НАНУ і УААН,

Калачнюк Г.І.^{1,2}, д.б.н., професор

¹НДІ біотехнологічних основ підвищення продуктивності тварин ЛНУВМтаБТ імені С. З. Гжицького

²Національний університет біоресурсів і природокористування України

³ Інститут фізіології і генетики тварин Чеської АН, Прага, Чеська Республіка

ВІДНОВЛЕННЯ РІВНЯ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ ІЗ РОЗГАЛУЖЕНИМИ «С»-ЛАНЦЮГАМИ В КРОВІ ЗА ДІЇ ТОКСИЧНИХ І НЕЙТРАЛІЗУЮЧИХ РЕЧОВИН

Показано, що за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки в плазмі крові щурів вірогідно знижується концентрація вільних амінокислот (АК) із розгалуженими карбоновими ланцюгами – Val, Leu, Ile та сумарної кількості. Відсоткове зниження їх знаходиться в межах 27 – 53 %. Використання фосфоліпідвмісних препаратів рослинного і тваринного походження сприяє вірогідному підвищенню рівня цих незамінних АК. Найвищим ефектом виділяється ліпосомальна форма FLP-MD, що виготовлена на основі ліпідів молока. Ушкоджуюча дія етанолу і терапевтичний вплив фосфоліпідвмісних комплексних препаратів пов'язуються із порушеннями та відновленням структурно-функціонального стану мембран у клітинах печінки.

Ключові слова: амінокислоти із розгалуженими «С»-ланцюгами, гепатоцити, плазма крові, структура і функції мембран, алкогольіндукований стеатоз печінки, щурі.

Особливий науковий інтерес викликають ті публікації, що присвячені дослідженням порушень метаболізму білків і амінокислот за умов споживання алкоголю та багатьох нейтралізуючих його дію засобів. Матеріали цих робіт свідчать, що у спектрі вільних амінокислот (АК) плазми крові хворих алкоголізмом найбільших змін зазнають амінокислоти із розгалуженими карбоновими ланцюгами на тлі виявленої білкової недостатності. Хронічна інтоксикація організму дієтою, що містить етанол (EtOH) у кількості 36 % від загальної калорійності, веде до розвитку жирової дистрофії печінки [1, 2]. Показано також, що введення всередину шлунку АК з розгалуженими карбоновими ланцюгами і таурину суттєво зрівноважує амінокислотний спектр та знижує розвиток стеатозу печінки [3]. Раніше нами було показано вірогідне зростання у крові щурів вільних глікогенних АК (Ala, Glu, Gln та їх сумарної кількості) [4] під впливом екзогенного алкоголю. При цьому паралельне застосування фосфоліпідвмісних комплексних препаратів сприяє вірогідному відновленню їхньої фізіологічної норми. Зважаючи на вказане та на інші мотиви, які стосуються пошуків нових ефективних засобів для запобігання

розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки, у цій роботі ми поставили за основну мету дослідити можливості відновлюючої дії нових препаратів на рівень вільних АК із розгалуженими карбоновими ланцюгами за умов токсичної дії *EtOH*.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на 25 щурах-самцях живою масою 130-150 г, які були розділені на п'ять груп, по 5 тварин у кожній. Щурі 1^{oi} групи (контрольної) у складі раціону одержували ізокалорійний розчин глюкози (40 %-ний розчин), 2-, 3-, 4- і 5^{oi} груп, окрім глюкози, – алкоголь (30 %-ний розчин; v/v) по 8 г/кг живої маси *per os*. Крім цього тварини 3^{oi}, 4^{oi} і 5^{oi} груп за 1 год до введення *EtOH* і глюкози додатково отримували фосфоліпідвмісний препарат із сої *EPL* (“Есенціале”, 25 мг/1 кг живої маси), *FLP-MD* (фосфоліпідвмісний препарат на основі відходів молока; 25 мг/1кг живої маси) і *LP FLP-MD*, тобто препарат у ліпосомальній формі у кількості 10 мг/1 кг живої маси, відповідно. Детальний опис методики подано раніше [5 – 9]. Плазму крові депротейнізували сульфасаліциловою кислотою і супернатант використовували для амінокислотного аналізу іонообмінною хроматографією *HPLC* (model 6300, *Beckman Instruments, Fullerten, CA*). Оптичну густина вимірювали при 440 і 570 нм після постколоночної обробки нінгідрином. У якості внутрішнього стандарту використовували (*S*)-2-аміноетил-L-цистеїн. Отримані цифрові дані обробляли статистично з використанням критерію Стьюдента «*t*».

Результати і обговорення. Отримані результати досліджень наведені у табл. 1 і рис 1.

Таблиця 1

Концентрація (мкмоль/л) вільних амінокислот з розгалуженими карбоновими ланцюгами у плазмі крові щурів за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки і впливу різних фосфоліпідвмісних комплексних препаратів ($M \pm m$; $n=5-15$)

Групи тварин	Амінокислоти			
	<i>Val</i>	<i>Leu</i>	<i>Ile</i>	$\sum_{\text{сума АК}}$
1 (К; контроль)	420±23	286±16	172±14	876±42
2 (К+ <i>EtOH</i>)	307±13*	178±12*	98±11*	583±24*
3(К+ <i>EtOH</i> + <i>EPL</i>)	366±12* [#]	239±11 [#]	141±13 [#]	746±18 [#]
4(К+ <i>EtOH</i> + <i>FLP-MD</i>)	389±17 [#]	257±16 [#]	159±14 [#]	805±34 [#]
5(К+ <i>EtOH</i> + <i>LP FLP-MD</i>)	397±19 [#]	268±18 [#]	165±15 [#]	830±37 [#]

Із наведених у табл. 1 та на рис.1 даних видно, що вживання алкоголю викликає вірогідне зниження концентрації вільних АК із розгалуженими «С»-ланцюгами (*Val*, *Leu*, *Ile* та $\sum_{\text{сума АК}}$). Відсоткові зміни вмісту індивідуальних АК цієї групи та їхньої сумарної кількості показують, що під впливом екзогенного *EtOH* це зниження знаходиться в межах 27 – 53%. Слід зазначити, що такі АК, як *Val* і *Ile* перетворюються подібно до метіоніну через сукциніл-КоА. А *Leu* перетворюється через ацетил-КоА і ацетоацетат. Вищевказане значне зменшення концентрації АК цієї важливої групи незамінних складників білкових молекул у плазмі крові сповна віддзеркалює можливі зміни у багатьох

інших сполуках, які загалом пов'язані з їхнім метаболізмом. У цьому аспекті досить згадати про неможливість без них утворення жирних кислот із розгалуженими «С»-ланцюгами [5], які за біологічним значенням прирівнюються до важливих вітамінів у мікробній екосистемі травного тракту.

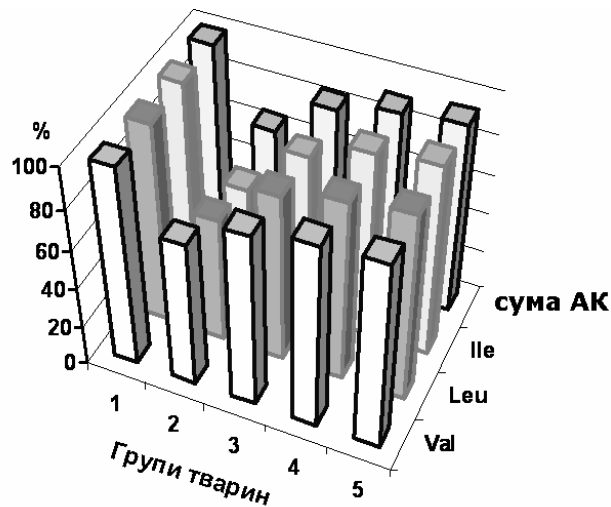


Рис. 1. Відсоткові зміни в концентрації вільних АК з розгалуженими карбоновими ланцюгами у плазмі крові щурів за дії екзогенних чинників (М; n=5-15).

Стосовно впливу використаних лікарських препаратів, то всі вони вірогідно наближають концентрації *Val*, *Leu*, *Ile* та їхню сумарну кількість до рівнів, які спостерігаються у плазмі крові тварин контрольної групи. Однак, вищим біоефектом своєї дії відрізняються препарати тваринного походження – *FLP-MD* та особливо його ліпосомальна форма порівняно з препаратом рослинного походження (*EPL*).

Загалом, наведені дані узгоджуються із результатами наших попередніх досліджень і зокрема тих, які стосуються зміни окремих показників, відображаючих інтенсивність окисно-відновних процесів, транс амінування, ліпідного обміну, алкогольметаболізуючих й інших реакцій в організмі, в тому числі – відновлення рівня глікогенних АК (*Ala*, *Glu*, *Gln* та їхньої суми) у крові щурів за дії токсичних та біопротекторних речовин, що слід пов'язувати, передусім із порушеннями й відновленням структурно-функціонального стану біомембран клітин печінки.

Висновки:

1. За умов розвитку алкоголь індукованого стеатозу печінки в плазмі крові щурів вірогідно знижується концентрація вільних амінокислот із розгалуженими «С»-ланцюгами – *Val*, *Leu*, *Ile* та їхньої сумарної кількості.

2. Використання фосфоліпідвмісних комплексних препаратів рослинного (*EPL* – «Есенціале») й тваринного (*FLP-MD* і *LP FLP-MD*) походження, виготовлених на основі ліпідів молока, підвищує концентрацію АК із

розгалуженими карбоновими ланцюгами у крові. Причому найвищий ефект проявляє ліпосомальна форма біологічно активної добавки – *LP FLP-MD*.

3. Ушкоджуюча дія *EtOH* і терапевтичний вплив нових фосфоліпідвмісних препаратів пов'язується із порушеннями та відновленням структурно-функціонального стану мембран клітин печінки.

Література

1. Островский Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Минск: Наука и техника, 1995. – 280 с.

2. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма / В.Ю. Смирнов, Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко [и др.] // Укр. биохим. журн. – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 101 – 107.

3. Hepatoprotective effects of amino acids with branched hydrocarbon chains and taurine in experimental subchronic alcohol intoxication and ethanol withdrawal / Yu.E. Razvodovskiy, E.M. Doroshenko, N.I. Prokopchik [et al.] // Biomed Khim. – 2004. – Vol. 50, № 1. – P. 64 – 72.

4. Корекція обсягів глюкогенних амінокислот у крові за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки / Л. Калачнюк, І. Сидір-Басараб, Д. Мельничук, Г. Калачнюк // Вісник Львівського ун-ту. Серія Біол. 2010. – (у друці).

5. Калачнюк Л.Г., Мельничук Д.О., Калачнюк Г.І. Регуляція метаболізму жирних кислот та інших ліпідних сполук у жуйних тварин // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 1. – С. 22 – 45.

6. Зміни активності внутрішньоклітинних ензимів за дії токсиканта і протектора / Л.Г. Калачнюк, І.М. Сидір-Басараб, Г.І. Калачнюк, Д.О. Мельничук // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2009. – Т. 11, № 2 (41), Ч. 2. – С. 105 – 109.

7. Зміни активності ліпогенних ензимів у клітині за дії екзогенних факторів / Л.Г. Калачнюк, Д.О. Мельничук, І.М. Сидір-Басараб [та ін.] // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2009. – Т. 11, № 3 (42), Ч. 2. – С. 76 – 80.

8. Антиоксидантна здатність фосфоліпідвмісних комплексів за умов розвитку алкогольіндукованого гепатичного стеатозу / Л.Г. Калачнюк, Д.О. Мельничук, І.М. Сидір [та ін.] // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2008. – Т. 10, № 3 (38), Ч. 1. – С. 99 – 105.

9. Зміни біохімічних показників крові за екзогенної дії алкоголю та фосфоліпідвмісних комплексів / Л.Г. Калачнюк, Д.О. Мельничук, І.М. Сидір [та ін.] // Наук. вісник НАУ, Київ, 2008. – Вип. 127. – С. 117 – 120.

Summary

L. Kalachnyuk^{1,2}, I. Sydir-Basarab¹⁻³, D. Mel'nychuk², G. Kalachnyuk^{1,2}

¹*Biotechnology Research Institute of Animal Production L'viv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyi,*

Pekarska st. 50, L'viv 79010, Ukraine;

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Heroyiv Oborony st. 15, Kyiv 03041, Ukraine

³Institute of Animal Physiology and Genetics, Czech Academy of Sciences, Prague,
Czech Republic

RECOVERY OF LEVEL OF FREE AMINO ACIDS WITH BRANCHED HYDROCARBON CHAINS IN THE BLOOD UNDER EFFECT OF TOXIC SUBSTANCES AND NEUTRALIZERS

It has been shown, under conditions of alcohol-induced hepatic steatosis development, concentration of free amino acids (AA) with branched hydrocarbon chains (Val, Leu, Ile and sum of their amounts) is significantly increased in the blood plasma of rats. Their percentage decrease is within the bounds of 27 – 53 %. Use of phospholipids containing preparations of plant and animal origin promotes significant increase of level of these essential AA. The liposomal form of FLP-MD (prepared on base of milk lipids) has the highest effect. Harmful affect of ethanol and therapeutic influence of phospholipids containing complex preparations are connected with damages and recovery of structure-functional status of membranes in the liver cells.

Key words: *amino acids with branched hydrocarbon chains, hepatocytes, the blood plasma, structure and functions of membranes, alcohol-induced hepatic steatosis, rats*

Стаття надійшла до редакції 20.04.2010