

УДК 619:616.935:636.2:577.115.3

Сидір-Басараб І.М.¹⁻³, аспірант;**Калачнюк Л.Г.**^{1,2} д.б.н., доцент;**Мельничук Д.О.**¹, д.б.н., професор, академік НАНУ і НААНУ,**Мельничук С.Д.**¹, д.б.н., професор, член-кор. НААНУ**Калачнюк Г.І.**^{1,2}, д.б.н., професор¹Національний університет біоресурсів і природокористування України²НДІ біотехнологічних основ підвищення продуктивності тварин ЛНУВМтаБТ імені С. З. Гжицького³ Інститут фізіології і генетики тварин Чеської АН, Прага, Чеська Республіка

ВМІСТ ВІЛЬНИХ АРОМАТИЧНИХ АМІНОКИСЛОТ У КРОВІ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ГЕПАТОСТЕАТОЗУ ТА ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ЧИННИКІВ

На експериментальній моделі за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки показано, що в плазмі крові щурів вірогідно знижується вміст вільних ароматичних амінокислот (ВААК) – Tyr, Phe, Trp та їхньої сумарної кількості. Відсоткове зниження знаходиться в межах 18,6 -23,1, що прямо вказує на порушення метаболічних шляхів аренів, значна частина реакцій яких очевидно залежить від пошкоджень мембран гепатоцитів. Це узгоджується із раніше отриманими даними. Використання фосфоліпідвмісних комплексних біологічно активних добавок (БАД) рослинного і тваринного походження дозволяє відновити вміст досліджуваних ВААК у крові.

Ключові слова: вільні ароматичні амінокислоти, печінка, етанол, кров, щурі, біологічно активні добавки, фосфоліпіди молока.

В експериментальних моделях алкогольіндукованого гепатостеатозу показано не тільки значні зміни багатьох показників внутрішньоклітинного метаболізму в печінці і крові, але й відмічено своєрідні порушення в обміні білків та амінокислот (АК) [1 – 9]. Виявлено, що суттєвих змін зазнають амінокислоти з розгалуженими карбоновими ланцюгами та ряд важливих глікогенних АК [3, 4]. Цікавим є те, що вміст таких АК, як Val, Leu, Ile та їх сумарна кількість вірогідно спадає, тоді як Ala, Glu і Gln та їх сума, навпаки, зростає [3, 4]. Хронічне вживання етанолу (EtOH) по-різному впливає на вміст інших вільних АК та їх груп. Це також чітко видно і на прикладі зрушень вмісту таких ароматичних амінокислот, як Tyr, Phe, Trp та їхньої суми, що наведено нами у цьому повідомленні

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 сульфасалциловою кислотою і супернатант використовували для амінокислотного аналізу іонообмінною хроматографією *HPLC* (model 6300, *Beckman Instruments, Fullerton, 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

Вміст (мкмоль/л) вільних ароматичних амінокислот (ВААК) у плазмі крові щурів за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки і впливу фосфоліпідвмісних комплексних добавок ($M \pm m$; $n=5-15$)

Групи тварин	Амінокислоти			
	Tyr	Phe	Trp	$\Sigma_{\text{ВААК}}$
1 (К; контроль)	108±4,1	84±4,3	97±3,2	289±14
2 (К+EtOH)	83±3,7*	62±3,1*	79±3,3*	224±6,2*
3(К+EtOH+EPL)	98±3,4 [#]	75±3,2 [#]	91±3,1 [#]	264±10 [#]
4(К+EtOH+FLP-MD)	99±3,5 [#]	77±3,8 [#]	94±3,3 [#]	270±9,5 [#]
5(К+EtOH+LP FLP-MD)	102±3,8 [#]	81±3,5 [#]	99±3,2 [#]	282±12,7 [#]

Тут і далі : *різниця вірогідна у порівнянні з контролем, [#]різниця вірогідна у порівнянні з 2^{ою} групою

Із даних табл. 1 і рис. 1 видно, що під впливом екзогенного алкоголю в плазмі крові тварин майже на 23 % знижується вміст ароматичних АК. Це вказує на значне порушення метаболізму згаданих аренів під впливом екзогенного *EtOH*. Гальмування етанолом окремих ланок обмінних процесів можна прослідкувати на спеціальних схемах метаболізму Tyr, Phe і Trp [10].

Із наведених схем і конкретних даних видно, що під дією екзогенного *EtOH*, можливо, порушуються цитоплазматичні й субклітинні мембрани печінки і в результаті цього багато важливих сполук не може вчасно і в достатній кількості транспортуватися до місця синтезу аренів, або ж навпаки, паралельно посилюються процеси деградації їх та інших АК. Тому, очевидно, понижені кількості таких амінокислот спостерігаються в плазмі крові.

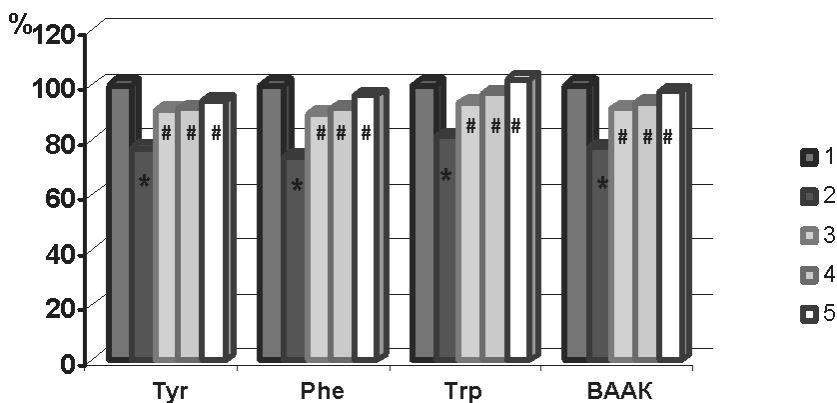
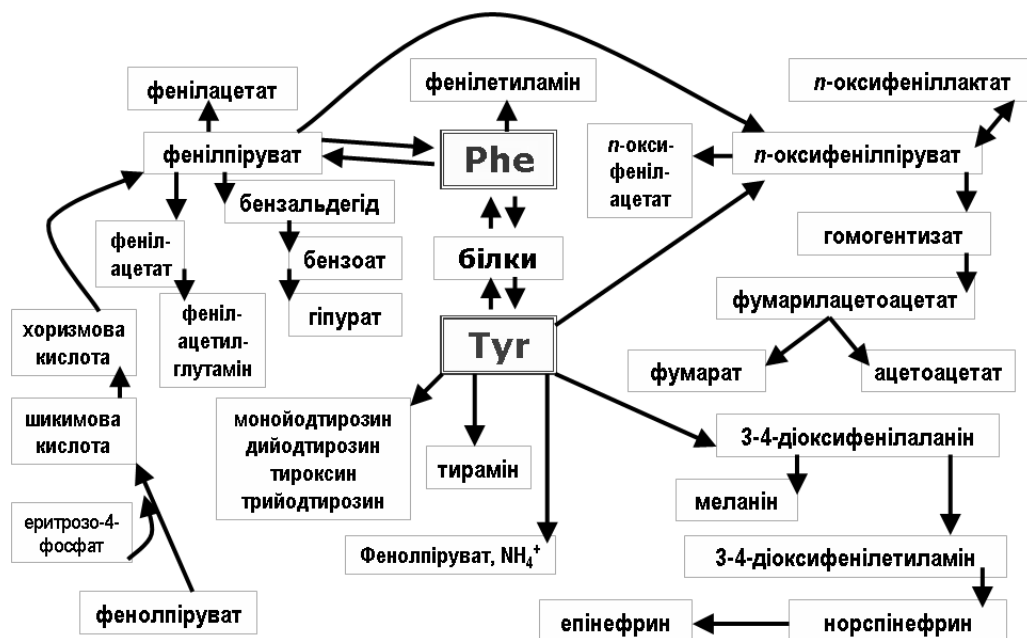


Рис. 1. Відсоткові зміни вмісту ВААК у плазмі крові щурів за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки і впливу фосфоліпідвмісних комплексних добавок (M±m; n=5-15).

Метаболізм Tyr і Phe





Важливо зазначити, що згадані порушення вірогідно зникають при застосуванні фосфоліпідвмісних комплексних біологічно активних добавок рослинного й тваринного походження. При цьому найвищий біологічний ефект проявляє ліпосомальна форма БАД LP FLP-MD, одержана із фосфоліпідів молока.

Висновки:

1. За умов розвитку алкогольіндукованого гепатостеатозу в плазмі крові щурів вірогідно знижується вміст вільних ароматичних амінокислот – *Tyr*, *Phe*, *Trp* та їхньої сумарної кількості.

2. Використання фосфоліпідвмісних комплексних добавок рослинного (*EPL* – «Есенціале») й тваринного (*FLP-MD* і *LP FLP-MD*) походження, виготовлених на основі ліпідів молока, підвищує вміст ароматичних кислот у крові. Причому найвищий ефект проявляє ліпосомальна форма БАД – *LP FLP-MD*.

3. Ушкоджуюча дія *EtOH* і лікувальний вплив нових фосфоліпідвмісних БАД 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. Відновлення рівня вільних амінокислот із розгалуженими «С»-ланцюгами в крові за дії токсичних і нейтралізуючих речовин / . Калачнюк, І.

Сидір-Басараб, Д. Мельничук, Г. Калачнюк // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2010. – Т. 12, № 2 (44), Ч. 2. – С. 99 – 103.

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.

10. J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer Biochemistry : [5th ed.]. – New York: W.H. Freeman and Co., 2002. – 572 p.

Summary

**I. Sydir-Basarab¹⁻³, L. Kalachnyuk^{1,2}, D. Mel'nychuk¹, S. Mel'nychuk¹,
G. Kalachnyuk^{1,2}**

CONTENT OF FREE AROMATIC AMINO ACIDS IN THE BLOOD UNDER CONDITIONS OF HEPATIC STEATOSIS DEVELOPMENT AND EFFECT OF EXOGENOUS FACTORS

On the experimental model, under conditions of alcohol-induced hepatic steatosis development, it has been shown that content of free aromatic amino acids (Tyr, Phe, Trp and sum of their amounts) is significantly decreased in the blood plasma of rats. Their percentage decrease is at boundary-line of 18,6 to 23,1% that directly show on alteration of metabolic aromatic amino acids pathways with most of reactions depending obviously on breaches of membranes of hepatocytes. It is coordinated with data obtained previously. Use of phospholipids containing complex biologically active additives of plant and animal origin permits recovery of the investigated free aromatic amino acids content in the blood.

Key words: *free aromatic amino acids, liver, ethanol, blood, rats, biologically active additives, milk phospholipids, liposome.*

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010