

ВМІСТ ЗАЛИШКОВОГО АЗОТУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НА ТЛІ АЛІМЕНТАРНОЇ НЕСТАЧІ ПРОТЕЇНУ

Г. П. КОПИЛЬЧУК*, І. М. НИКОЛАЙЧУК, Г. Г. МОСКАЛИК

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012
*e-mail: g.kopilchuk@chnu.edu.ua

У роботі представлені дослідження вмісту залишкового азоту в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну. За даних експериментальних умов у плазмі крові щурів досліджували наступні біохімічні показники: загальний вміст залишкового азоту; вміст вільного аміноного азоту; концентрацію азоту сечовини; концентрацію азоту аміаку. Впродовж експерименту дослідні тварини споживали напівсинтетичний раціон відповідно до рекомендацій Американського інституту нутрієнтології. З метою моделювання аліментарної депривації протеїну щурі протягом 28 днів щоденно отримували низькопротеїновий раціон, що містив 1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну. Після чотиритижневого утримання тварин на експериментальній дієті моделювали гостре токсичне ураження ацетамінофеном. Введення токсину здійснювали з розрахунку 1250 мг/кг маси тварини у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю один раз на день протягом 2 діб за допомогою спеціального зонда. Вміст залишкового азоту крові визначали у безбілковому фільтраті після осадження протеїнів плазми з реактивом Несслера. Визначення вмісту вільного аміноного азоту в плазмі крові здійснювали методом Узбекова за інтенсивністю забарвлення, що утворювалося внаслідок взаємодії амінокислот плазми крові з нінгідринним реактивом. Визначення вмісту азоту аміаку в плазмі крові оцінювали при взаємодії іонів амонію з формальдегідом шляхом утворення гексаметилентетрааміну (уротропіну). Встановлено, що підвищення вмісту залишкового азоту в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну відбувається внаслідок збільшення концентрації його складових – азоту вільних амінокислот та азоту аміаку, що свідчить про посилення процесів катаболізму білків та порушення механізмів знешкодження аміаку та розвиток гіперамоніємії. Причинами гіперамоніємії можуть виступати як дефект ферментів орнітинового циклу, так і вторинне ураження печінки медикаментозними ксенобіотиками. Водночас за умов ацетамінофен-індукованого ураження на тлі аліментарної білкової недостатності відбувається зменшення вмісту азоту сечовини, що відображає зниження сечовиносинтезуючої функції печінки.

Ключові слова: залишковий азот, вільний аміноний азот; азот сечовини, азот аміаку, токсичне ураження, ацетамінофен, аліментарна депривація протеїну

Вступ. Останні десятиріччя характеризуються стрімким збільшенням патологій, які розвиваються на тлі нутрітивного дисбалансу харчових раціонів (Kitada M. et al., 2019.). Аліментарна депривація протеїну навіть при надлишку надходження енергетичних субстратів часто призводить до функціональної недостатності органів (Solon-Biet et al., 2015).

Одним із найчастіших порушень обміну протеїнів виступає кількісна або якісна протеїно-енергетична недостатність первинного (екзогенного) походження. Дефекти, що пов'язані з цим, зумовлені обмеженням надходження протеїнів при повному або частковому голодуванні, низькою біологічною цінністю харчових протеїнів, дефіцитом есенціальних амінокислот (Masuoka et al., 2020).

При обмеженому надходженні нутрієнтів метаболічна адаптація спрямована на забезпечення органів і тканин організму енергією та структурними субстратами внаслідок утилізації власних

запасів. Цей процес опосередковується активацією стрес-реалізуючих систем, що призводять до підвищення рівня катаболічних гормонів. У результаті відбувається посилення глікогеногенезу, для якого субстратами стають протеїни м'язової тканини (Pezeshki et al., 2021). Тому адаптаційні механізми, що виникають при критичних станах патологічних процесів, супроводжуються проявами гіперкатаболізму, внаслідок чого відбувається розвиток вираженої вторинної (ендогенної) білково-енергетичної недостатності з характерним негативним азотистим балансом (Millward, 2012).

Поряд із протеїнами плазма крові містить різні азотовмісні низькомолекулярні непротеїнові компоненти, в основному представлені продуктами обміну протеїнів і нуклеїнових кислот. Ці речовини залишаються в надосадовій рідині або фільтраті після осадження високомолекулярних протеїнів трихлороцтовою кислотою або іншими осаджувачами. Саме тому фракцію цих сполук називають залишковим азотом (*rest nitrogen*) крові (Wada et

al., 2017). До *rest*-азоту крові входять сполуки, які є проміжними продуктами метаболізму, а саме: сечовина (46–60 % від загальної кількості залишкового азоту), амінокислоти (до 25 %), креатинін (2,5–7,5 %), креатин (5 %), а також індикан, аміак, пептиди, нуклеотиди, сечова кислота, білірубін, холін, гістамін тощо

Загальна кількість залишкового азоту плазми крові та його окремих компонентів при певних патологічних станах може змінюватися, зокрема, за умов порушень видільної функції нирок чи синтетичної функції печінки, що пов'язано з різноспрямованими змінами вмісту азоту сечовини (Dickerson, 2016).

У зв'язку з вищевикладеним метою даної роботи стало дослідження вмісту залишкового азоту та окремих його компонентів у плазмі крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну.

Матеріали та методи. Для досліджень використовували білих щурів масою 100–120 г та віком 2,5–3 місяці. Усі маніпуляції проводили відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Щурів утримували у пластмасових клітках із піщаною підстилкою та вільним доступом до води. Дослідні тварини протягом експерименту споживали напівсинтетичний раціон АІН-93 відповідно до рекомендацій Американського інституту нутрієнтології (Reeves et al., 1993). Нормування добового раціону проводили з урахуванням принципу *pair-feeding* (Lind T. et al., 2018).

Моделювання гострого токсичного ураження здійснювали шляхом введення *per os* дослідним тваринам ацетамінофену з розрахунку 1250 мг/кг маси тварини у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю один раз на день протягом 2 останніх діб експерименту (Стефанов, 2001).

Дослідні тварини були поділені на групи:

- 1 – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами – група контролю (К);
- 2 – тварини, які протягом 4 тижнів отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну) (НПР);
- 3 – тварини, яким викликали гостре токсичне ураження ацетамінофеном (ТУ);
- 4 – тварини, яким після утримання на низькопротеїновому раціоні, моделювали токсичне ураження ацетамінофеном (НПР+ТУ).

Тривалість експерименту складала 28–31 днів. Всіх тварин виводили з досліду шляхом цервікальної дислокації шийних хребців після попередньої легкої наркотизації діетиловим ефіром.

Вміст залишкового азоту крові визначали у безбілковому фільтраті після осадження протеїнів плазми з реактивом Несслера (Лелевич, 2017).

Визначення вмісту вільного аміноного азоту в плазмі крові здійснювали методом Узбекова за інтенсивністю забарвлення, що утворювалося внаслідок взаємодії амінокислот плазми крові з нінгідриновим реактивом (Кондрахин, 2004).

Визначення вмісту азоту сечовини в плазмі крові оцінювали за методом, описаним у літературі (Дзигал, 2017). Принцип методу ґрунтується на тому, що аміногрупи сечовини в кислому середовищі з п-диметиламінобензальдегідом утворюють комплексну сполуку жовтого кольору, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту азоту сечовини в плазмі крові.

Визначення вмісту азоту аміаку в плазмі крові оцінювали при взаємодії іонів амонію з формальдегідом шляхом утворення гексаметилентетраміну (уротропіну) (Дзигал, 2017).

Статистичне опрацювання результатів здійснювали за допомогою пакету прикладних програм *Microsoft Excel* та *STATISTICA 6.0*, використовуючи t-критерій Стьюдента та U-критерій Манна-Уїтні. Значущими вважали відмінності між контролем і дослідом за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати проведених досліджень показали, що в плазмі крові усіх дослідних груп щурів спостерігається підвищення вмісту залишкового азоту порівняно зі значеннями контролю (рис. 1). Максимальне підвищення досліджуваного показника відбувається за умов введення токсичних доз ацетамінофену на тлі попереднього утримання тварин на низькопротеїновому раціоні. Водночас у протеїнодефіцитних щурів та тварин з токсичним ураженням, які споживали повноцінний раціон, концентрація залишкового азоту в плазмі крові зростає в 1,7 та 2,5 рази відповідно порівняно з контролем (рис. 1).

Встановлені нами дані дають можливість говорити про те, що за даних експериментальних умов у щурів розвивається гіперазотемія – патологічний стан, при якому відзначається підвищена концентрація в крові залишкового азоту або його фракцій.

При оцінці вмісту залишкового азоту в клініко-лабораторних дослідженнях виділяють декілька видів азотемії відповідно до причин розвитку патології: ренальну, що характеризується накопиченням залишкового азоту при порушенні роботи нирок; преренальну, що розвивається на тлі порушення кровообігу в нирках; продукційну, що формується внаслідок надходження сполук і продуктів зі значною концентрацією азоту, які утворюються

під час розпаду тканинних білків (Danielis M et al., 2019).

Відомо, що в нормі при незмінному режимі харчування з організму виділяється постійна кількість кінцевих продуктів азотистого обміну. Зміни концентрації залишкового азоту, в першу чергу, зумовлені змінами тих складових компонентів, яким належить найвагомійший відсотковий вміст. Це переважно азот сечовини, креатиніну, вільних амінокислот, аміаку тощо (Reddy et al., 2016).

Нами встановлено, що за даних експериментальних умов у плазмі крові дослідних тварин спостерігається зниження вмісту азоту сечовини порівняно з показниками контролю (рис. 2). Отримані дані щодо вмісту азоту сечовини крові на тлі підвищеного рівня залишкового азоту можна пояснити порушенням синтезу даного продукту в клітинах печінки.

Враховуючи те, що попередніми дослідженнями за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної депривації протеїну встановлено порушення функціонування орнітинового циклу на завершальному етапі, що підтверджується зниженням активності аргінази – ензиму, який каталізує реакцію утворення сечовини та орнітину (Kopylchuk et al., 2017), стає

зрозумілим чому рівень азоту сечовини в плазмі крові зменшується порівняно з контрольними значеннями.

Водночас за умов ацетамінофен-індукованого ураження на тлі протеїнової недостатності порівняно з контролем спостерігаються достовірні зміни вмісту вільного амінного азоту (рис. 3). Так, найвищі значення досліджуваного показника зареєстровані у групі білок-дефіцитних тварин з гострим токсичним ураженням.

Відомо, що в крові постійно міститься деяка кількість вільних амінокислот, серед яких переважають аланін, гліцин, лейцин, аспартат, глутамат кислота, а також глутамін. Рівень амінокислот в плазмі ссавців становить 10-30 мг% (Vag-Peled et al., 2014).

Патології азотистого обміну, які полягають в порушенні катаболізму амінокислот, часто пов'язані з аномаліями процесу трансамінування: зниженням активності амінотрансфераз при гіпо- або авітамінозах В₆, порушенням синтезу цих ензимів, недостатністю кетокислот, зокрема, α -кетоглутарату, у зв'язку з пригніченням функціонування циклу трикарбонових кислот, що встановлено нашими попередніми дослідженнями (Voloshchuk et al., 2016).

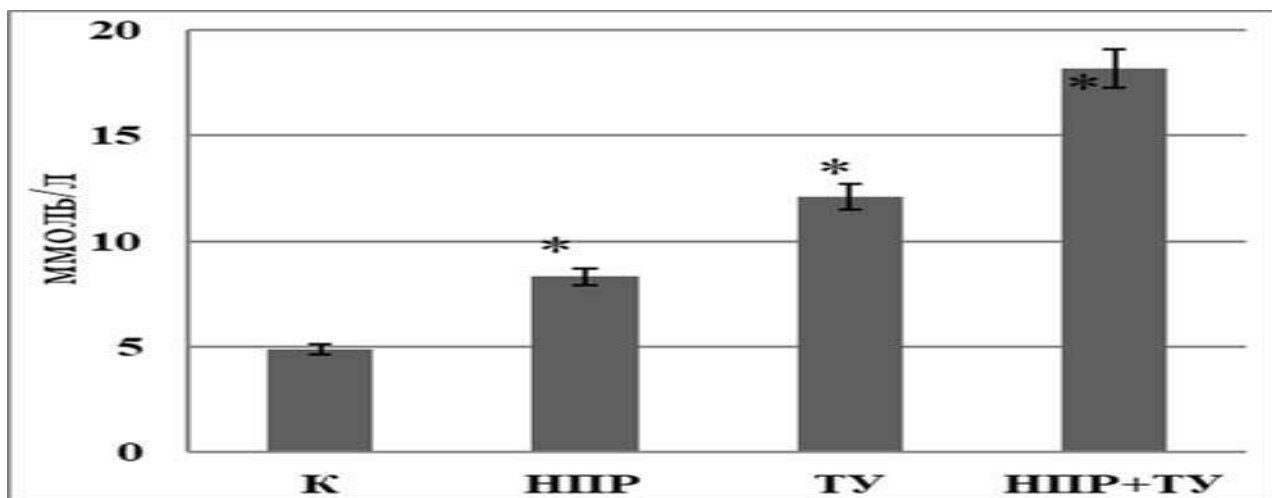


Рис. 1. Вміст залишкового азоту в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 1. The content of residual nitrogen in the blood plasma of rats under the conditions of toxic damage on the background of alimentary protein deprivation

Рис. 2. Вміст азоту сечовини в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 2. The content of urea nitrogen in the blood plasma of rats under the conditions of toxic damage on the background of alimentary protein deprivation

Примітка (тут і надалі): К – тварини, які отримували повноцінний напівсинтетичний раціон (контроль); НІР – тварини, які перебували на низькопротеїновій дієті; ТУ – тварини, яким моделювали токсичне ураження; НІР+ТУ – тварини, яким на тлі низькопротеїнового раціону моделювали токсичне ураження; * – статистично вірогідна різниця порівняно з контролем, $P \leq 0,05$

Note (hereinafter): C – animals that received a full semi-synthetic diet; LPD – animals that consumed a low-protein diet; TD – animals that simulated acute toxic damage; LPD+TD – animals with induced toxic damage after low-protein dieting; * – statistically significant difference compared with the control, $P \leq 0.05$.

Так, зниження інтенсивності трансамінування призводить до пригнічення дезамінування глутамату, та, в свою чергу, – до підвищення частки азоту амінокислот в складі *rest*-азоту крові (гіпераміноацидемія). При значних ураженнях печінки, пов'язаних із гіперкатаболізмом, порушуються процеси дезамінування амінокислот і утворення сечовини таким чином, що зростають концентрація залишкового азоту і вміст у ньому азоту амінокислот на тлі зниження відносного вмісту азоту сечовини (так звана продукційна азотемія). Продукційна азотемія, як правило, супроводжується виведенням надлишку амінокислот з сечею, оскільки навіть у випадку нормального функціонування нирок фільтрація амінокислот в ниркових клубочках відбувається інтенсивніше, ніж їх реабсорбція в каналцях (Parekh et al., 2015).

Аналогічна тенденція змін спостерігається щодо вмісту азоту аміаку в плазмі крові дослідних тварин порівняно зі значеннями контролю (рис. 4). Максимальне зростання концентрації азоту аміаку відбувається за умов введення токсичних доз ацетамінофену незалежно від раціону, який протягом експерименту споживали тварини.

Підвищення концентрації аміаку в крові може передувати розвитку печінкової енцефалопатії (Rose et al., 2020). Значна кількість вільного аміаку надходить у кров із системи ворітної вени внаслідок його утворення під час катаболізму азотовмісних сполук мікробіотою кишечника (Ma et al., 2017). Концентрація аміаку в крові ворітної вени суттєво вища, ніж у загальному кровоплинні. У печінці більшість аміаку утилізується з утворенням

сечовини. З огляду на попередньо проаналізовані значення вмісту азоту сечовини в плазмі крові, рівень якої у всіх дослідних групах виявляється нижчим контролю (рис. 3), стає зрозумілим чому за даних експериментальних умов зростає вміст азоту аміаку (рис. 4).

Аміак легко проникає через клітинні мембрани і в мітохондріях стимулює перетворення α -кетоглутарату в глутамат. Зменшення внутрішньоклітинного вмісту α -кетоглутарату викликає порушення обміну амінокислот із пригніченням синтезу нейромедіаторів – ацетилхоліну, дофаміну тощо, а також знижує швидкість утворення відновлювальних еквівалентів у циклі трикарбонових кислот, викликаючи вторинний енергодефіцит. (Rose et al., 2020).

За даними літератури (Parekh et al., 2015) аміак у високих концентраціях блокує виведення іонів хлору з клітин, що призводить до їх накопичення в клітинах і, у свою чергу, зумовлює гіперполяризацію клітинної мембрани та зниження чутливості до збуджуючих стимулів. Водночас підвищення концентрації аміаку в крові зміщує рН у лужному напрямку (метаболічний алкалоз), що сприяє збільшенню спорідненості гемоглобіну до кисню і викликає гіпоксію тканин.

Таким чином порушення реакцій знешкодження аміаку супроводжуватиметься підвищенням його вмісту в крові – гіперамоніємією. Тяжкість перебігу патології залежатиме не лише від ступеня зниження активності ензимів циклу сечовини, а й рівня глутаміну й аланіну – основних продуктів зв'язування аміаку в тканинах.

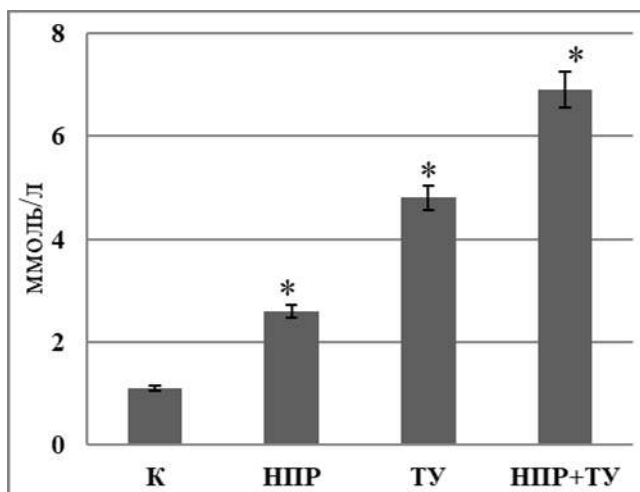


Рис. 3. Вміст вільного аміно азоту в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 3. The content of free amino nitrogen in the blood plasma of rats under the conditions of toxic damage on the background of alimentary protein deprivation

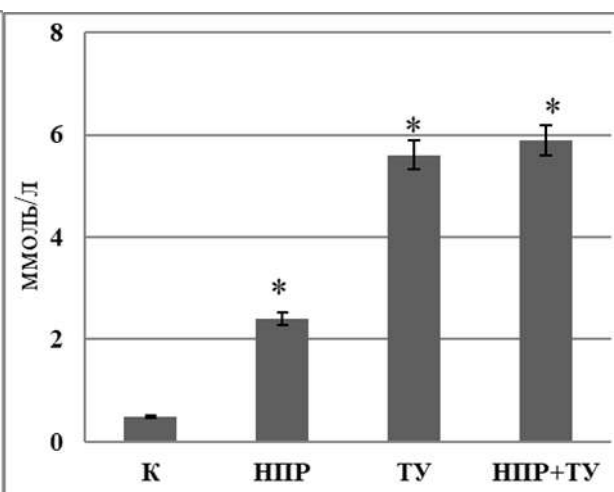


Рис. 4. Вміст азоту аміаку в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 4. Ammonia nitrogen content in the blood plasma of rats under the conditions of toxic damage on the background of alimentary protein deprivation

Тому для діагностики різних типів гіперамоніємії рекомендовано визначати вміст аміаку в крові, метаболітів орнітинового циклу в крові/сечі, активність ензимів циклу сечовини в клітинах/біоптатах печінки.

Висновки. Отже, підвищення вмісту залишкового азоту в плазмі крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну відбувається внаслідок збільшення концентрації його складових – азоту вільних амінокислот та азоту аміаку, що свідчить про посилення процесів катаболізму білків та порушення механізмів знешкодження аміаку.

За умов ацетамінофен-індукованого ураження на тлі аліментарної білкової недостатності відбувається зменшення вмісту азоту сечовини, що відображає зниження сечовиносинтезуючої функції печінки.

Фінансування. Робота виконана у рамках держбюджетної теми «Біохімічні та лазерно-поляриметричні параметри комплексного прогнозування метаболічних порушень» (№ державної реєстрації 0119U100717).

Список літератури:

1. Дзигал О.Ф. Порівняльне дослідження вмісту білків, азот-вмісних компонентів і ліпідів в плазмі крові та асцитичній рідині у хворих на цироз печінки. *Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science»*. 2017. 8(16): 15-19. doi: 10.15587/2519-4798.2017.109164
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник. М.: Колос, 2004. 520 с.
3. Лелевич С.В. Клиническая биохимия: учебное пособие. Гродно: ГрГМУ, 2017 304 с.
4. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Київ: Авіцена, 2001. 527 с.
5. Bar-Peled L., Sabatini D.M. Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends Cell Biol.* 2014. 24(7): 400-406. doi: 10.1016/j.tcb.2014.03.003.
6. Danielis M., Lorenzoni G., Azzolina D., Iacobucci A., Trombini O., De Monte A., Gregori D., Beltrame F. Effect of Protein-Fortified Diet on Nitrogen Balance in Critically Ill Patients: Results from the OPINiB Trial. *Nutrients*. 2019.11(5): 972. doi: 10.3390/nu11050972.
7. Dickerson R.N. Nitrogen Balance and Protein Requirements for Critically Ill Older Patients. *Nutrients*. 2016. 8(4): 226. doi: 10.3390/nu8040226.
8. Kitada M., Ogura Y., Monno I., Koya D. The impact of dietary protein intake on longevity and metabolic health. *EBioMedicine*. 2019. 43: 632-640. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.04.005.
9. Kopylchuk H.P., Nykolaichuk I.M., Zhuretska O.M. Rat liver arginase system under acetaminophen-induced toxic injury and protein. *Ukr. Biochem. J.* 2017. 89(2): 92-98. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj89.02.092>.
10. Ma N., Tian Y., Wu Y., Ma X. Contributions of the Interaction Between Dietary Protein and Gut Microbiota to Intestinal Health. *Curr Protein Pept Sci.* 2017. 18(8): 795-808. doi: 10.2174/1389203718666170216153505.

11. Masuoka H., Suda W., Tomitsuka E., Shindo C., Takayasu L., Horwood P., Greenhill A.R., Hattori M., Umezaki M., Hirayama K. The influences of low protein diet on the intestinal microbiota of mice. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 17077. doi: 10.1038/s41598-020-74122-9.
12. Millward D.J. Amino acid scoring patterns for protein quality assessment. *Br J Nutr.* 2012. 108(2): 31-43. doi: 10.1017/S0007114512002462.
13. Parekh P.J., Balart L.A. Ammonia and Its Role in the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy. *Clin Liver Dis.* 2015. 19(3): 529-537. doi: 10.1016/j.cld.2015.05.002.
14. Pezeshki A., Chelikani P.K. Low Protein Diets and Energy Balance: Mechanisms of Action on Energy Intake and Expenditure. *Front Nutr.* 2021. 8: 655833. doi: 10.3389/fnut.2021.655833.
15. Reddy S.S., Civan J.M. From Child-Pugh to Model for End-Stage Liver Disease: Deciding Who Needs a Liver Transplant. *Med Clin North Am.* 2016. 100(3): 449-464. doi: 10.1016/j.mcna.2015.12.002.
16. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C. Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11): 1939-1951.
17. Rose C.F., Amodio P., Bajaj J.S., Dhiman R.K., Montagnese S., Taylor-Robinson S.D., Vilstrup H., Jalan R. Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy. *J Hepatol.* 2020. 73(6): 1526-1547. doi: 10.1016/j.jhep.2020.07.013.
18. Solon-Biet S.M., Mitchell S.J., Coogan S.C., Cogger V.C., Gokarn R., McMahon A.C., Raubenheimer D., de Cabo R., Simpson S.J., Le Couteur D.G. Dietary Protein to Carbohydrate Ratio and Caloric Restriction: Comparing Metabolic Outcomes in Mice. *Cell Rep.* 2015. 11(10): 1529-34. doi: 10.1016/j.celrep.2015.05.007.
19. Voloshchuk O.N., Kopylchuk G.P. Activity of liver mitochondrial Krebs cycle NAD⁺-dependent dehydrogenases in rats with hepatitis induced by acetaminophen under conditions of alimentary protein deficiency. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry.* 2016. 10 (3): 283-286. doi: 10.1134/S1990750816030173.
20. Wada A., Kawakami M., Otsuka T., Aoki H., Anzai A., Yamada Y., Liu F., Otaka E., Akaboshi K., Liu M. *J Hum Nutr Diet.* 2017. 30(3): 302-308. doi: 10.1111/jhn.12457.

References:

1. Dzygal O. F. Comparative study of the content of proteins, nitrogen-containing components and lipids in blood plasma and ascitic fluid in patients with cirrhosis. *Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science»*. 2017. 8(16): 15-19. doi: 10.15587/2519-4798.2017.109164. (in Ukrainian)
2. Kondrahin I.P. Metodyi veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki: spravochnik. M.: Kolos, 2004. 520 s. (in Russian).
3. Lelevich S.V. Klinicheskaya biohimiya: uchebnoe posobie. Grodno: GrGMU, 2017 304 s. (in Russian)
4. Stefanov O. V. Preclinical studies of drugs. Kyiv: Avicenna, 2001. 527 s. (in Ukrainian).
5. Bar-Peled L., Sabatini D.M. Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends Cell Biol.* 2014. 24(7): 400-406. doi: 10.1016/j.tcb.2014.03.003.
6. Danielis M., Lorenzoni G., Azzolina D., Iacobucci A., Trombini O., De Monte A., Gregori D., Beltrame F. Effect of Protein-Fortified Diet on Nitrogen Balance in Critically

- Ill Patients: Results from the OPINiB Trial. *Nutrients*. 2019.11(5): 972. doi: 10.3390/nu11050972.
7. Dickerson R.N. Nitrogen Balance and Protein Requirements for Critically Ill Older Patients. *Nutrients*. 2016. 8(4): 226. doi: 10.3390/nu8040226.
 8. Kitada M., Ogura Y., Monno I., Koya D. The impact of dietary protein intake on longevity and metabolic health. *EBioMedicine*. 2019. 43: 632–640. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.04.005.
 9. Kopylchuk H.P., Nykolaichuk I.M., Zhuretska O.M. Rat liver arginase system under acetaminophen-induced toxic injury and protein. *Ukr. Biochem. J.* 2017. 89(2): 92-98. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj89.02.092>.
 10. Ma N., Tian Y., Wu Y., Ma X. Contributions of the Interaction Between Dietary Protein and Gut Microbiota to Intestinal Health. *Curr Protein Pept Sci.* 2017. 18(8): 795-808. doi: 10.2174/1389203718666170216153505.
 11. Masuoka H., Suda W., Tomitsuka E., Shindo C., Takayasu L., Horwood P., Greenhill A.R., Hattori M., Umezaki M., Hirayama K. The influences of low protein diet on the intestinal microbiota of mice. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 17077. doi: 10.1038/s41598-020-74122-9.
 12. Millward D.J. Amino acid scoring patterns for protein quality assessment. *Br J Nutr.* 2012. 108(2): 31–43. doi: 10.1017/S0007114512002462.
 13. Parekh P.J., Balart L.A. Ammonia and Its Role in the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy. *Clin Liver Dis.* 2015. 19(3): 529-537. doi: 10.1016/j.cld.2015.05.002.
 14. Pezeshki A., Chelikani P.K. Low Protein Diets and Energy Balance: Mechanisms of Action on Energy Intake and Expenditure. *Front Nutr.* 2021. 8: 655833. doi: 10.3389/fnut.2021.655833.
 15. Reddy S.S., Civan J.M. From Child-Pugh to Model for End-Stage Liver Disease: Deciding Who Needs a Liver Transplant. *Med Clin North Am.* 2016. 100(3): 449-464. doi: 10.1016/j.mcna.2015.12.002.
 16. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C. Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11): 1939–1951.
 17. Rose C.F., Amodio P., Bajaj J.S., Dhiman R.K., Montagnese S., Taylor-Robinson S.D., Vilstrup H., Jalan R. Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy. *J Hepatol.* 2020. 73(6): 1526-1547. doi: 10.1016/j.jhep.2020.07.013.
 18. Solon-Biet S.M., Mitchell S.J., Coogan S.C., Cogger V.C., Gokarn R., McMahon A.C., Raubenheimer D., de Cabo R., Simpson S.J., Le Couteur D.G. Dietary Protein to Carbohydrate Ratio and Caloric Restriction: Comparing Metabolic Outcomes in Mice. *Cell Rep.* 2015. 11(10): 1529-34. doi: 10.1016/j.celrep.2015.05.007.
 19. Voloshchuk O.N., Kopylchuk G.P. Activity of liver mitochondrial Krebs cycle NAD⁺-dependent dehydrogenases in rats with hepatitis induced by acetaminophen under conditions of alimentary protein deficiency. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry.* 2016. 10 (3): 283–286. doi: 10.1134/S1990750816030173.
 20. Wada A., Kawakami M., Otsuka T., Aoki H., Anzai A., Yamada Y., Liu F., Otaka E., Akaboshi K., Liu M. *J Hum Nutr Diet.* 2017. 30(3): 302–308. doi: 10.1111/jhn.12457.

THE CONTENT OF RESIDUAL NITROGEN IN RATS' BLOOD PLASMA UNDER THE CONDITIONS OF TOXIC DAMAGE ON THE BACKGROUND OF ALIMENTARY PROTEIN DEPRIVATION

H. P. Kopylchuk, I. M. Nykolaichuk, G. G. Moskalyk

In the present study, the residual nitrogen content in the blood plasma of rats under the conditions of toxic damage on the background of alimentary protein deficiency is presented. The following biochemical indicators: total residual nitrogen; free amino nitrogen content; urea nitrogen concentration; ammonia nitrogen concentration was studied in the blood plasma of rats under the experimental conditions. During the experiment, the experimental animals consumed a semi-synthetic diet in accordance with the recommendations of the American Institute of Nutrition. In order to model the alimentary protein deprivation rats received a low-protein diet daily for 28 days, which contained 1/3 of the generally accepted daily requirement of protein. After four weeks of keeping animals on an experimental diet, acute toxic damage with acetaminophen was modelled. The toxin was administered at 1250 mg/kg of animal weight as a suspension in a 2% solution of starch gel once a day for 2 days using a special probe. The residual blood nitrogen content was determined in the protein-free filtrate after the precipitation of plasma proteins with Nessler's reagent. Determination of free amino nitrogen content in blood plasma was carried out by the Uzbek method according to the intensity of staining, which was formed due to the interaction of amino acids of blood plasma with ninhydrin. Determination of ammonia nitrogen content in blood plasma was evaluated by the interaction of ammonium ions with formaldehyde by the formation of hexamethylenetetraamine (urotropin). It was established that the increase in residual nitrogen content in the blood plasma of rats under the conditions of toxic damage on the background of alimentary protein deprivation is due to increased concentrations of its components - nitrogen of free amino acids and ammonia nitrogen. This indicates an increase in protein catabolism and disruption of ammonia neutralization mechanisms and the development of hyperammonemia. The defect of ornithine cycle enzymes and secondary liver damage by medicinal xenobiotics can be the causes of hyperammonemia. At the same time, under the conditions of acetaminophen-induced damage on the background of alimentary protein deficiency, a decrease in urea nitrogen content will be, which reflects a decrease in urea-synthesizing function of the liver.

Keywords: residual nitrogen, free amino nitrogen; urea nitrogen, ammonia nitrogen, toxic damage, acetaminophen, alimentary protein deprivation

Отримано редколлезією 08.04.2021