

ЗАБЕЗПЕЧЕНІСТЬ ОРГАНІЗМУ ВІТАМІНОМ А ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОЇ НЕСТАЧІ ПРОТЕЇНУ ТА ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ АЦЕТАМІНОФЕНОМ У ЩУРІВ

Г. П. КОПИЛЬЧУК*, І. М. НИКОЛАЙЧУК, В.І. КУГАЇВСЬКА

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012

*e-mail: g.kopilchuk@chnu.edu.ua

У роботі представлені дослідження вмісту ретинолу та ретинілефірів у печінці й сироватці крові щурів за умов ацетамінофен-індукованого ураження та аліментарної нестачі протеїну. Впродовж експерименту тварини споживали напівсинтетичний раціон AIN-93. Моделювання гострого токсичного ураження здійснювали шляхом введення *per os* щурам ацетамінофену з розрахунку 1250 мг/кг маси тварини. Дослідження концентрації ретинолу в сироватці крові та ретинілефірів у печінці ґрунтується на екстракції гексаном із наступним визначенням флуоресценції при хвилі збудження (335 нм) та поглинання (460 нм). Встановлено, що за змодельованих нами експериментальних умов – дефіциту протеїну та токсичного ураження ацетамінофеном – спостерігається зниження вмісту ретинолу в сироватці крові щурів з мінімальними значеннями при надходженні в організм медикаментозного ксенобіотика незалежно від кількості харчового протеїну. За умов аліментарної депривації протеїну в печінці щурів зареєстровано підвищення вмісту ретиноїдів (ретинолу та ретинілефірів), що, ймовірно, спрямовано на підтримання концентрації вітаміну А в крові. Токсичне ураження ацетамінофеном незалежно від надходження харчового протеїну виступає ключовим чинником зниження вмісту ретинолу та ретинілефірів у печінці щурів. За умов споживання низькопротеїнового раціону в організмі щурів відбувається перерозподіл ретиноїдів: підвищення вмісту ретинолу та його запасуючих форм у печінці з одночасним зниженням рівня ретинолу в сироватці крові, що можна розглядати як передумову мобілізації вітаміну А у кровоплин.

Ключові слова: вітамін А, ретинол, ретинілефіри, ацетамінофен, аліментарна протеїнова недостатність, печінка

Вступ. Одним із основних факторів розвитку білково-енергетичної недостатності та зниження пулу вільних амінокислот в організмі є дефіцит протеїну (Копильчук та ін., 2015). Аліментарна депривація протеїну навіть при надлишку надходження енергетичних субстратів часто призводить до функціональної недостатності органів (Masuoka et al., 2020).

Складність проблеми полягає ще й в тому, що протеїнова недостатність, як правило, супроводжується комплексом метаболічних порушень, в першу чергу, пов'язаних із дефіцитом вітамінів. У літературі (Wiseman et al., 2017; Cifelli et al., 2006) зазначається, що при вираженому дефіциті протеїнів виникає гіповітаміноз А, навіть при запасах цього вітаміну в печінці.

Слід зазначити, що розподіл вітаміну А в організмі важливий для підтримки функції ретиноїдів в периферичних тканинах. Накопичення вітаміну А в клітинах зумовлено з'єднанням процесів транспорту та етерифікації вітаміну А (Dhokia, Masip, 2021). Значна частина ретиноїдів організму ссавців зберігається в

ліпідних краплях стелатних клітин печінки у формі ретинілефірів. Унікальна тканино-специфічна локалізація значної кількості ретиноїдів у високоспеціалізованих клітинах печінки об'єктивно свідчить про їхню виключну роль у метаболізмі цього органу (Tanumihardjo, 2021).

Варто зауважити, що ретинол може переноситися від стелатних клітин до гепатоцитів у комплексі з ретинолозв'язуючим білком (RBP) для секреції в кровоплин. У крові комплекс ретинол-RBP асоціюється з іншим білком, транстиретином (TTR), який запобігає фільтрації цього комплексу в нирках перед доставкою до позапечінкових тканин (Senoo et al., 2007).

Ретинолозв'язуючий білок, що виділяється в плазму, є носієм, за допомогою якого позапечінкові тканини обмінюються ретинолом між собою до незворотної його утилізації в організмі. Описане явище отримало назву рециркуляції ретинолу та вважається особливо вигідним під час дефіциту вітаміну А, коли печінкові запаси ретинолу виснажуються (Friedman, 2008).

Окрім того, причиною розвитку гострих токсичних уражень печінки може бути застосування високих доз терапевтичних лікарських засобів, зокрема парацетамолу. Гепатотоксичні властивості парацетамолу реалізуються шляхом утворення активних кисневих метаболітів, надмірне утворення яких супроводжується розвитком ендогенної інтоксикації (Ramachandran, Jaeschke, 2018). Відомо, що в печінці парацетамол метаболізується з утворенням N-ацетил-р-бензохіноніміну, який арилює нуклеофільні макромолекули, необхідні для життєдіяльності гепатоцитів, викликаючи некроз (Fisher, Curry, 2019).

Враховуючи вищесказане, метою роботи стало дослідження вмісту ретинолу та ретинілефірів як основних форм вітаміну А в печінці та сироватці крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної протеїнової недостатності.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 150-170 г та віком 120 днів. Під час проведення експерименту тварин утримували в пластмасових клітках з вільним доступом до води та піщаною підстилкою. Утримання та всі маніпуляції здійснювали згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), та VII Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2019).

Впродовж експерименту тварин утримували на напівсинтетичній дієті AIN-93, розробленій Американським інститутом харчування, до складу якої у певному відсотковому співвідношенні входили білки, жири, вуглеводи, вітамінна та мінеральна суміші (Reeves et al., 1993).

Моделювання гострого токсичного ураження печінки здійснювали шляхом введення *per os* дослідним тваринам ацетамінофену з розрахунку 1250 мг/кг маси тварини у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю 1 раз на день протягом 2 діб (Gao et al., 2017).

Модель дослідження передбачала поділ тварин на групи: 1 – тварини, які отримували повноцінний раціон – група контролю (К); 2 – тварини, які протягом усього експерименту отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну) (НПР); 3 – тварини, яким моделювали гостре токсичне ураження печінки (ТУ); 4 – тварини, яким за умов

аліментарної депривації протеїну моделювали токсичне ураження (НПР/ТУ).

Умертвіння тварин здійснювали методом червікальної дислокації на 29 і 31 дні експерименту під легким ефірним наркозом.

Екстракцію ретиноїдів із сироватки крові та печінки проводили за методом (Thompson et al., 1971). Тканини печінки гомогенізували у фосфатно-сольовому буфері. Протеїни осаджували додаванням 95 % етанолу, після чого до екстрагуючої суміші вносили гексан.

Дослідження концентрації ретинолу та ретинілефірів в сироватці крові та печінці (Thompson et al., 1973) здійснювали на спектрофлуориметрі Percin Elmer (США) на базі Інституту біохімії імені О. В. Палладіна НАН України відповідно до угоди про співпрацю. Вимірювання проводили при хвилі збудження (335 нм) та поглинання (460 нм).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету аналізу табличного редактора «Microsoft Excel». Обробку результатів здійснювали із застосуванням t-критерію Стьюдента. Для цього обчислювали середнє арифметичне, стандартні відхилення та врахували кількість тварин в кожній групі. Достовірними вважалися результати, якщо $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати проведених досліджень засвідчують зниження вмісту ретинолу в сироватці крові всіх дослідних груп щурів порівняно зі значеннями контролю. Встановлено, що в сироватці крові протеїнодефіцитних тварин (група НПР) концентрація вітаміну А виявляється нижчою контрольних величин на 25 % (рис. 1).

У літературних джерелах (Egbe, Eworo, 2018; Iannotti et al. 2013) продемонстровано взаємозв'язок між кількістю споживання протеїну та вітаміном А. Сироваткові рівні вітаміну А можуть знижуватися внаслідок виснаження тканинних запасів, дефіциту протеїну або порушення мобілізації печінкових запасів вітаміну А. Враховуючи попередньо отримані результати щодо зниження концентрації загального білка в крові щурів, які знаходилися на ізоенергетичному низькопротеїновому раціоні (Копільчук та ін., 2015), можна припустити, що зниження вмісту ретинолу за даних експериментальних умов пов'язано з недостатністю транспортних білків вітаміну А. Цілком вірогідно, що за умов аліментарної протеїнової недостатності відбувається пригнічення синтезу ретинолзв'язуючого білка та транстиретину в печінці, задіяних у транспортуванні ретинолу кровоплином (Steinhoff et al., 2022). Тому в протеїнодефіцитному організмі запаси вітаміну А

у печінці можуть не мобілізуватися належним чином і концентрація ретинолу в крові буде знижуватись. Окрім того, зниження концентрації ретинолу в сироватці крові зумовлено досить коротким періодом напіввиведення транстиретину в плазмі, що становить приблизно 2-3 дні у людей та 29 годин у щурів (Vieira, Saraiva, 2014). TTR вважається дуже чутливим до змін білково-енергетичного статусу і його концентрація корелює зі споживання білка. Тому за умов порушення протеїносинтетичної здатності печінки період напіввиведення

преальбуміну швидко знижується внаслідок порушення його синтезу (Shenkin, 2006).

Отже, можна припустити, що за умов протеїно-енергетичної недостатності рівень ретинолу в крові лімітується концентрацією транспортних протеїнів плазми, а не резервом ретиноїдів в організмі. Водночас в сироватці крові груп щурів із токсичним ураження ацетамінофеном (ТУ, НПР/ТУ) зареєстровано зниження концентрації вітаміну А на 47 % порівняно з показниками контролю (рис. 1).

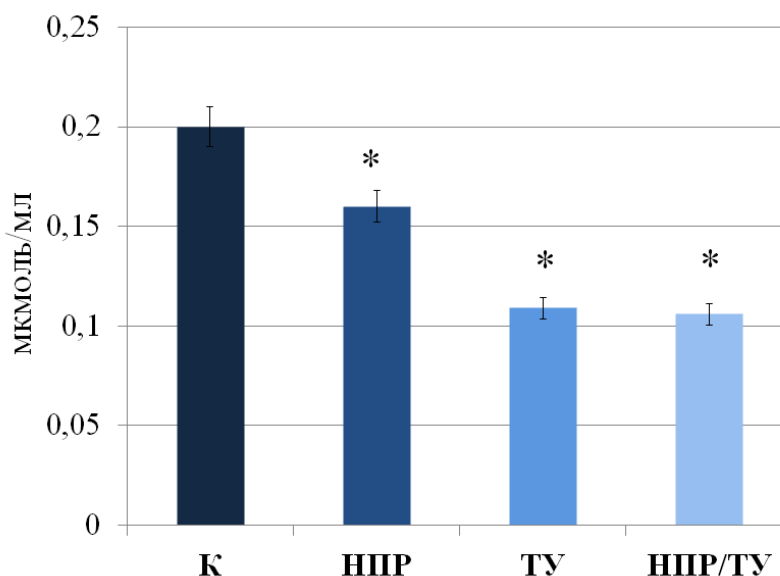


Рис. 1. Вміст ретинолу в сироватці крові щурів за умов аліментарної нестачі протеїну та ацетамінофен-індукованого ураження

Примітка (тут і надалі): К – тварини, які отримували повноцінний раціон (контроль); НПР – щури, які споживали низькопротеїновий раціон; ТУ – тварини з токсичним ураженням; НПР/ТУ – тварини, яким за умов аліментарної депривації протеїну моделювали токсичне ураження; * - статистично достовірна різниця порівняно з контролем, $P \leq 0,05$.

Fig. 1. Retinol content in the blood serum of rats under conditions of dietary protein deficiency and acetaminophen-induced damage

Note (hereafter): C – animals that received a complete diet (control); LPD - rats that consumed a low-protein diet; TI – animals with toxic injury; LPD/TI – animals that were simulated toxic injury under conditions of dietary protein deprivation; * - statistically significant difference compared to the control, $P \leq 0.05$.

Варто зауважити, що один із механізмів гепатотоксичної дії ацетамінофену полягає у зв'язуванні його метаболіту N-ацетил-р-бензохіноніміну (NAPQI), що утворюється за участю цитохрому Р-450, з протеїнами дихального ланцюга через залишки цистеїну (Akakro et al., 2020). Зазвичай цей високореакційний метаболіт складає лише 5-9 % продуктів метаболізму ацетамінофену та інактивується шляхом кон'югації з ендogenousним глутатіоном (GSH). За умов надходження надтерапевтичних доз парацетамолу відбувається виснаження запасів відновленого глутатіону, а NAPQI не детоксикується, зумовлюючи централобулярний некроз печінки (McGill, Hinson, 2020).

Виходячи з відомих механізмів токсичності реактивного метаболіту, розглядають низку факторів ризику. По-перше, застосування неконтрольованих доз лікарських засобів або рослинних препаратів індукує ферменти цитохрому Р-450 та посилює окислювальні процеси в організмі (Ramachandran, Jaeschke, 2018). По-друге, аліментарна депривація протеїну призводить до зниження рівня GSH у печінці, що, в свою чергу, обмежує процеси знешкодження NAPQI. По-третє, на тлі зниження екзогенного надходження протеїну порушується механізм дії ретиноєвої кислоти – активного метаболіту вітаміну А та регулятора експресії генів, – що викликає дефіцит ферментів детоксикації печінки, що продемонстровано в роботі

(Korylchuk et al., 2022) через зниження реакцій гідроксилювання системою цитохрому Р-450 за умов введення токсичних доз ацетамінофену на тлі аліментарної недостатності протеїну.

З іншого боку, дослідження демонструють, що введення надмірних доз ксенобіотиків, які використовуються як модельні токсини, щурам супроводжується зниженням концентрації ретинолу та RBP у плазмі (Hu et al., 2014). Вважається, що RBP слугує біомаркером медикаментозної гепатотоксичності, а зниження його концентрації у кровоплинні спричинене порушенням синтезу RBP у гепатоцитах.

Нещодавні дослідження показують, що циркулюючий RBP синтезується гепатоцитами, тому його слід вважати переважно гепатокіном (Thompson et al., 2017). У такому випадку, гострі, викликані застосування високих доз медикаментозних ксенобіотиків, зокрема парацетамолу, та хронічні захворювання печінки супроводжуються пригніченням протеїно-

синтетичної здатності печінки, що призводить до зниження рівня RBP у сироватці крові.

Отже, введення токсичних доз ацетамінофену незалежно від кількості протеїну в харчовому раціоні виступає ключовим чинником зниження концентрації ретинолу в сироватці крові щурів.

Результати досліджень сумарного вмісту ретинолу та ретинілефірів у печінці дослідних груп щурів показують різноспрямовану тенденцію змін за умов аліментарної нестачі протеїну (НПР) та введення токсичних доз ацетамінофену незалежно від кількості харчового білка (ТУ, НПР/ТУ). У протеїнодефіцитних тварин нами зареєстровано зростання рівня досліджуваного показника на 24 % порівняно зі значеннями контролю. Водночас за умов токсичного ураження тварин ацетамінофеном концентрація вітаміну А виявляється нижчою контрольних величин на 22 % (ТУ) та 27 % (НПР/ТУ) відповідно (рис. 2).

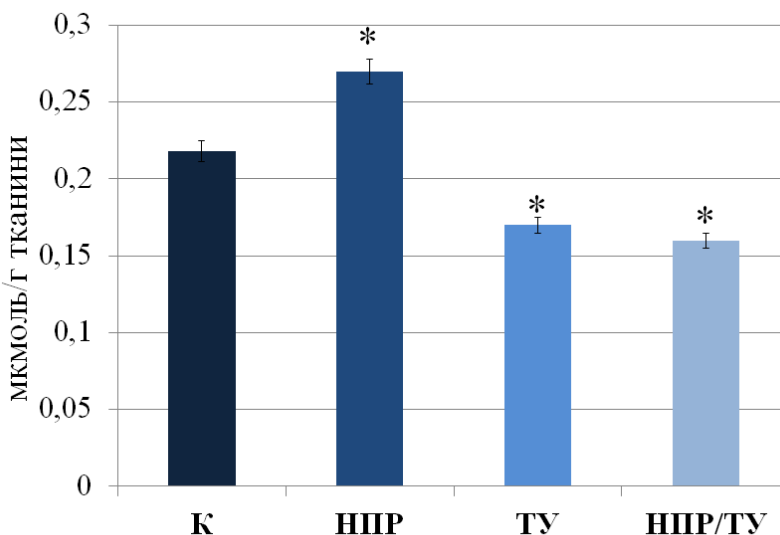


Рис. 2. Вміст ретинолу та ретинілефірів у печінці щурів за умов аліментарної нестачі протеїну та ацетамінофен-індукованого ураження

Fig. 2. The content of retinol and retinyl esters in the liver of rats under conditions of dietary protein deficiency and acetaminophen-induced damage

Відомо, що за умов тривалої білкової недостатності різко порушується біосинтез протеїнів у різних органах, зокрема в печінці. Печінка відіграє важливу роль в підтримці гомеостазу вітаміну А, зокрема ретиноєвої кислоти (РК), забезпечуючи її синтез, а також як депо зберігання ретинілових ефірів. Точний метаболічний шлях, за допомогою якого РК виводиться з організму, досі невідомий, але вважається, що первинний окислювальний шлях відбувається через опосередковане ізоформою CYP26 цитохрому Р-450 утворення 4-ОН-*all-trans*-ретиноєвої кислоти (Yabut, Isoherranen, 2022). Окрім того, РК вважається не тільки специфічним субстратом для ізоферментів

CYP26A1 і CYP26B1, але й потужним індуктором цих генів (Ross, Zolfaghari, 2011). Таким чином, відбувається аутоіндукція CYP26A1 і CYP26B1 ретиноєвою кислотою, що забезпечує ефективний зворотний механізм метаболізму РК, а також індукцію утворення потенційно активних метаболітів РК, реакції яких каталізуються CYP26.

Здатність вітаміну А, зокрема ретиноєвої кислоти, індукувати експресію CYP26 залежить від нутрієнтного статусу організму та здатності своєчасно забезпечувати метаболічні перетворення. Тому можна припустити, що на тлі аліментарної нестачі протеїну в раціоні концентрація ретинолу та ретинілефірів у печінці

підвищується через порушений кліренс ретиноєвої кислоти, зокрема за участі ізоформ CYP26 цитохрому Р-450. Окрім того, дослідження (Quadro et al., 1999) вказують на те, що в щурів, яким бракує RBP, спостерігається підвищена кількість печінкового ретинолу та ретинілових ефірів, тоді як рівень ретинолу в кровоплинні знижується, підкреслюючи ключову роль експресії RBP в гепатоцитах для мобілізації ретинолу в кровоплин. Імовірно, недостатня кількість есенціальних амінокислот, що виникає внаслідок споживання ізоенергетичної дієти (група НІР) унеможливує печінковий синтез RBP, що у свою чергу гальмує виведення комплексу ретинол-RBP у кровоплин та призводить до накопичення ретиноїдів у печінці.

Відомо, що ретиноїди впливають на метаболізм і дію ксенобіотиків, і, навпаки, ксенобіотики впливають на метаболізм і дії ретиноїдів. Велика кількість опублікованих даних (Марченко та ін., 2012; Shmarakov, 2015) свідчить про те, що оптимальне функціонування системи детоксикації ксенобіотиків забезпечується дією ретиноїдів для їх виявлення, детоксикації та елімінації. Існують припущення, що деякі з побічних ефектів інтоксикації ксенобіотиками виникають через порушення нормального ретиноїдного гомеостазу та нормального сигнального шляху ретиноєвої кислоти (Shmarakov, 2015). Вплив ксенобіотиків, що пов'язаний зі зниженням рівня ретиноїдів у тканинах, особливо в печінці, може бути викликаний декількома причинами: підвищеною мобілізацією ретинолу із запасів ретинілових

ефірів; порушенням етерифікації ретинолу, що впливає на накопичення ретинілефірів; перерозподілом ретиноїдів між тканинами; посиленням катаболізму ретиноєвої кислоти; збільшенням елімінації окислених ретиноїдних продуктів.

Отже, за умов споживання низькопротеїнового раціону в організмі щурів відбувається перерозподіл ретиноїдів: підвищення вмісту ретинолу та його запасючих форм у печінці з одночасним зниженням рівня ретинолу в сироватці крові, ймовірно, можна розглядати як передумову мобілізації вітаміну А у кровоплин. Водночас токсичне ураження ацетамінофеном незалежно від надходження харчового протеїну виступає ключовим чинником зниження вмісту ретинолу та ретинілефірів у печінці.

Висновки. За змодельованих нами експериментальних умов – дефіциту протеїну та токсичного ураження ацетамінофеном – спостерігається зниження вмісту ретинолу в сироватці крові щурів з мінімальними значеннями при надходженні в організм медикаментозного ксенобіотика незалежно від кількості харчового протеїну.

За умов аліментарної депривації протеїну в печінці щурів зареєстровано підвищення вмісту ретиноїдів (ретинолу та ретинілефірів), що, вірогідно, спрямовано на підтримання рівня вітаміну А в крові.

Токсичне ураження ацетамінофеном незалежно від надходження харчового протеїну виступає ключовим чинником зниження вмісту ретинолу та ретинілефірів у печінці щурів.

Список літератури:

1. Копильчук Г.П., Бучковська І.М., Борщовецька Н.Л., Чопик Н.В. Активність ензимів синтезу та кон'югації глутатіону в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки. *Біологічні системи*. 2014;6(1):10-15.
2. Копильчук Г.П., Бучковська І.М., Ніколаєв Р.О. Вміст білкових фракцій плазми крові тварин за умов білкової недостатності. *Біологічні системи*. 2015;7(1):16-20.
3. Марченко М.М., Копильчук Г.П., Шмараков І.О., Бучковська І.М. Глутатіон S-трансферазна активність клітин печінки мишей за умов відсутності запасів ретиноїдів. *Доповіді Національної академії наук України*. 2012;3:168-173.
4. Akakpo JY, Ramachandran A, Jaeschke H. Novel strategies for the treatment of acetaminophen hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2020;16(11):1039-1050. <https://doi.org/10.1080/17425255.2020.1817896>.
5. Cifelli C.J., Ross A.C. All-trans-retinoic acid distribution and metabolism in vitamin A-marginal rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291(2):195-202. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00011.2006>.
6. Dhokia V., Macip S. A master of all trades - linking retinoids to different signalling pathways through the multi-purpose receptor STRA6. *Cell Death Discov*. 2021;7(1):358-366. <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00754-z>.
7. Egbe Edmund Richard, Eworo Raymond Ekong. Albumin and Serum Vitamin A Status of Malnourished Children. *European Journal of Clinical and Biomedical Sciences*. 2018;4(1):6-11. <https://doi.org/10.11648/j.ejcb.20180401.12>.
8. Fisher E.S., Curry S.C. Evaluation and treatment of acetaminophen toxicity. *Adv Pharmacol*. 2019;85:263-272. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2018.12.004>.
9. Friedman S.L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008;88(1):125-172. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2007>.
10. Gao Y, Cao Z, Yang X, et al. Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential plasma biomarker of liver injury. *Proteomics Clin Biological systems*. Vol.15. Is.2. 2023

- Appl. 2017;11(1-2):10.1002/prca.201600123. <https://doi.org/10.1002/prca.201600123>
11. Hu Z, Lausted C, Yoo H, et al. Quantitative liver-specific protein fingerprint in blood: a signature for hepatotoxicity. *Theranostics*. 2014;4(2):215-228. <https://doi.org/10.7150/thno.7868>.
 12. Iannotti LL, Trehan I, Manary MJ. Review of the safety and efficacy of vitamin A supplementation in the treatment of children with severe acute malnutrition. *Nutr J*. 2013;12:125. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-125>.
 13. Kopylchuk H., Nikolaichuk I., Ursatyi M. Effect of dietary protein deficiency on the activity of cytochrome P450 enzyme systems in the liver of rats of reproductive age under acetaminophen-induced injury. *Acta Scientific Gastrointestinal Disorders*. 2022;5(4):39-48. <https://doi.org/10.31080/ASGIS.2022.05.0402>.
 14. Masuoka H, Suda W, Tomitsuka E, et al. The influences of low protein diet on the intestinal microbiota of mice. *Scientific reports*. 2020;10(1):170-177. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74122-9>.
 15. McGill MR, Hinson JA. The development and hepatotoxicity of acetaminophen: reviewing over a century of progress. *Drug Metab Rev*. 2020;52(4):472-500. <https://doi.org/10.1080/03602532.2020.1832112>.
 16. Quadro L, Blaner WS, Salchow DJ, et al. Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein. *EMBO J*. 1999;18(17):4633-4644. doi:10.1093/emboj/18.17.4633.
 17. Ramachandran A., Jaeschke H. Acetaminophen Toxicity: Novel Insights Into Mechanisms and Future Perspectives. *Gene Expr*. 2018;18(1):19-30. doi:10.3727/105221617X15084371374138.
 18. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC 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. doi:10.1093/jn/123.11.1939.
 19. Ross AC, Zolfaghari R. Cytochrome P450s in the regulation of cellular retinoic acid metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2011;31:65-87. doi:10.1146/annurev-nutr-072610-145127.
 20. Senoo H., Kojima N., Sato M. Vitamin A-storing cells (stellate cells). *Vitam Horm*. 2007;75:131-159. doi:10.1016/S0083-6729(06)75006-3.
 21. Shenkin A. Serum prealbumin: Is it a marker of nutritional status or of risk of malnutrition?. *Clin Chem*. 2006;52(12):2177-2179. doi:10.1373/clinchem.2006.077412.
 22. Shmarakov IO. Retinoid-xenobiotic interactions: the Ying and the Yang. *Hepatobiliary surgery and nutrition*. 2015;4(4):243-267. doi:10.3978/j.issn.2304-3881.2015.05.05.
 23. Steinhoff JS, Lass A, Schupp M. Retinoid Homeostasis and Beyond: How Retinol Binding Protein 4 Contributes to Health and Disease. *Nutrients*. 2022;14(6):1236. doi:10.3390/nu14061236.
 24. Tanumihardjo S.A. Biological evidence to define a vitamin A deficiency cutoff using total liver vitamin A reserves. *Exp Biol Med* (Maywood). 2021;246(9):1045-1053. <https://doi.org/10.1177/1535370221992731>.
 25. Thompson JN, Erdody P, Brien R, Murray TK. Fluorometric determination of vitamin A in human blood and liver. *Biochemical Medicine*. 1971;5(1):67-89.
 26. Thompson JN, Erdody P, Maxwell WB: Simultaneous fluorometric determination of vitamin A and E in human serum and plasma. *Biochemical Medicine*. 1973;8(1):403-414.
 27. Thompson SJ, Sargsyan A, Lee SA, et al. Hepatocytes Are the Principal Source of Circulating RBP4 in Mice. *Diabetes*. 2017;66(1):58-63. <https://doi.org/10.2337/db16-0286>.
 28. Vieira M, Saraiva MJ. Transthyretin: a multifaceted protein. *Biomol Concepts*. 2014;5(1):45-54. <https://doi.org/10.1515/bmc-2013-0038>.
 29. Wiseman E.M, Bar-El Dadon S, Reifen R. The vicious cycle of vitamin a deficiency: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2017;57(17):3703-3714. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1160362>.
 30. Yabut KCB, Isoherranen N. CRABPs Alter all-trans-Retinoic Acid Metabolism by CYP26A1 via Protein-Protein Interactions. *Nutrients*. 2022;14(9):1784. <https://doi.org/10.3390/nu14091784>.

References:

1. Kopylchuk G. P., Buchkovska I. M., Borschovetska N. L., Chopyk N. V. The activity of glutathione synthesis and conjugation enzymes in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury. *Biologichni systemy*. 2014; 6(1): 10–15. (in Ukrainian)
2. Kopylchuk H. P., Buchkovska I. M., Nikolaev R. O. Content of protein fractions of blood plasma in animals under the conditions of protein deficiency. *Biologichni systemy*. 2015; 7(3): 16–20. (in Ukrainian).
3. Marchenko M. M., Kopylchuk G. P., Shmarakov I. O., Buchkovska I. M. Glutathione S-transferase activity of liver cells under condition of the absence of retinoid stores. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2012;3:168-173. (in Ukrainian).
4. Akakpo JY, Ramachandran A, Jaeschke H. Novel strategies for the treatment of acetaminophen hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2020;16(11):1039-1050. <https://doi.org/10.1080/17425255.2020.1817896>.
5. Cifelli C.J., Ross A.C. All-trans-retinoic acid distribution and metabolism in vitamin A-marginal rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291(2):195-202. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00011.2006>.
6. Dhokia V., Macip S. A master of all trades - linking retinoids to different signalling pathways through the multi-purpose receptor STRA6. *Cell Death Discov*. 2021;7(1):358-366. <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00754-z>.
7. Egbe Edmund Richard, Eworo Raymond Ekong. Albumin and Serum Vitamin A Status of Malnourished Children. *European Journal of Clinical and Biomedical Sciences*. 2018;4(1):6-11. <https://doi.org/10.11648/j.ejcb.20180401.12>.
8. Fisher E.S., Curry S.C. Evaluation and treatment of

- acetaminophen toxicity. *Adv Pharmacol.* 2019; 85: 263-272. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2018.12.004>.
9. Friedman S.L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev.* 2008;88(1):125-172. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2007>.
 10. Gao Y, Cao Z, Yang X, et al. Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential plasma biomarker of liver injury. *Proteomics Clin Appl.* 2017; 11(1-2): 10. <https://doi.org/10.1002/prca.201600123>
 11. Hu Z, Lausted C, Yoo H, et al. Quantitative liver-specific protein fingerprint in blood: a signature for hepatotoxicity. *Theranostics.* 2014;4(2):215-228. <https://doi.org/10.7150/thno.7868>.
 12. Iannotti LL, Trehan I, Manary MJ. Review of the safety and efficacy of vitamin A supplementation in the treatment of children with severe acute malnutrition. *Nutr J.* 2013;12:125. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-125>.
 13. Kopylchuk H, Nykolaichuk I, Ursatyi M. Effect of dietary protein deficiency on the activity of cytochrome P450 enzyme systems in the liver of rats of reproductive age under acetaminophen-induced injury. *Acta Scientific Gastrointestinal Disorders.* 2022;5(4):39-48. <https://doi.org/10.31080/ASGIS.2022.05.0402>.
 14. Masuoka H, Suda W, Tomitsuka E, et al. The influences of low protein diet on the intestinal microbiota of mice. *Scientific reports.* 2020;10(1):170-177. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74122-9>.
 15. McGill MR, Hinson JA. The development and hepatotoxicity of acetaminophen: reviewing over a century of progress. *Drug Metab Rev.* 2020;52(4):472-500. <https://doi.org/10.1080/03602532.2020.1832112>.
 16. Quadro L, Blaner WS, Salchow DJ, et al. Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein. *EMBO J.* 1999;18(17):4633-4644. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.17.4633>.
 17. Ramachandran A., Jaeschke H. Acetaminophen Toxicity: Novel Insights Into Mechanisms and Future Perspectives. *Gene Expr.* 2018;18(1):19-30. <https://doi.org/10.3727/105221617X15084371374138>.
 18. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC 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. <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>.
 19. Ross AC, Zolfaghari R. Cytochrome P450s in the regulation of cellular retinoic acid metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2011;31:65-87. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-072610-145127>.
 20. Senoo H., Kojima N., Sato M. Vitamin A-storing cells (stellate cells). *Vitam Horm.* 2007;75:131-159. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(06\)75006-3](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(06)75006-3).
 21. Shenkin A. Serum prealbumin: Is it a marker of nutritional status or of risk of malnutrition?. *Clin Chem.* 2006;52(12):2177-2179. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.077412>.
 22. Shmarakov IO. Retinoid-xenobiotic interactions: the Ying and the Yang. *Hepatobiliary surgery and nutrition.* 2015;4(4):243-267. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3881.2015.05.05>.
 23. Steinhoff JS, Lass A, Schupp M. Retinoid Homeostasis and Beyond: How Retinol Binding Protein 4 Contributes to Health and Disease. *Nutrients.* 2022;14(6):1236. <https://doi.org/10.3390/nu14061236>.
 24. Tanumihardjo S.A. Biological evidence to define a vitamin A deficiency cutoff using total liver vitamin A reserves. *Exp Biol Med (Maywood).* 2021;246(9):1045-1053. <https://doi.org/10.1177/1535370221992731>.
 25. Thompson JN, Erdody P, Brien R, Murray TK. Fluorometric determination of vitamin A in human blood and liver. *Biochemical Medicine.* 1971;5(1):67-89.
 26. Thompson JN, Erdody P, Maxwell WB: Simultaneous fluorometric determination of vitamin A and E in human serum and plasma. *Biochemical Medicine.* 1973;8(1):403-414.
 27. Thompson SJ, Sargsyan A, Lee SA, et al. Hepatocytes Are the Principal Source of Circulating RBP4 in Mice. *Diabetes.* 2017;66(1):58-63. <https://doi.org/10.2337/db16-0286>.
 28. Vieira M, Saraiva MJ. Transthyretin: a multifaceted protein. *Biomol Concepts.* 2014;5(1):45-54. <https://doi.org/10.1515/bmc-2013-0038>.
 29. Wiseman E.M, Bar-El Dadon S, Reifen R. The vicious cycle of vitamin a deficiency: A review. *Critical reviews in food science and nutrition.* 2017;57(17):3703-3714. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1160362>.
 30. Yabut KCB, Isoherranen N. CRABPs Alter all-trans-Retinoic Acid Metabolism by CYP26A1 via Protein-Protein Interactions. *Nutrients.* 2022;14(9):1784. <https://doi.org/10.3390/nu14091784>

SUPPLY OF THE ORGANISM WITH VITAMIN A UNDER CONDITIONS OF DIETARY PROTEIN DEFICIENCY AND TOXIC INJURY WITH ACETAMINOPHEN IN RATS

H. P. Kopylchuk, I. M. Nykolaichuk, V. I. Kuhaivska

*Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.
g.kopilchuk@chnu.edu.ua*

The paper presents studies of the content of retinol and retinyl esters in the liver and serum of rats under conditions of acetaminophen-induced lesions and alimentary protein deficiency. During the experiment, the animals consumed a semi-synthetic diet of AIN-93. Simulation of acute toxic damage was carried out by per os administration of acetaminophen to rats at the rate of 1250 mg/kg of animal weight. It was found that under the simulated experimental conditions – protein deficiency and toxic damage by acetaminophen – there is a decrease in retinol in the serum of rats with minimal values when entering the body of medicinal xenobiotics, regardless of the amount of dietary protein. An increase in the content of retinoids (retinol and retinyl esters) has been reported in the liver of rats under the conditions of alimentary protein deprivation, which is probably aimed at maintaining the level of vitamin A in the blood. Toxicity with acetaminophen, regardless of dietary protein intake, is a key factor in reducing retinol and retinyl esters levels in rat liver. Under conditions of consumption of a low-protein diet in the body of rats, redistribution of retinoids occurs: an increase in the content of retinol and its storage forms in the liver with a simultaneous decrease in the level of retinol in the blood serum can probably be considered as a prerequisite for the mobilization of vitamin A into the bloodstream.

Keywords: vitamin A, retinol, retinyl esters, acetaminophen, alimentary protein deficiency

Отримано редколегією 04.11.2023 р.