

ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ АМІАКУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НА ТЛІ АЛІМЕНТАРНОГО ДЕФІЦИТУ ПРОТЕЇНУ

С. Ю. ШЕВЧЕНКО, О. М. ВОЛОЩУК

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, 58012
e-mail: o.voloshchuk@chnu.edu.ua

Метою роботи було дослідження основних показників обміну аміаку, зокрема вмісту залишкового азоту, глутаміну та нітрогену аміаку у сироватці крові за умов введення токсичних доз ацетамінофену та різних режимів білкового харчування. Визначення залишкового азоту проводили методом, що ґрунтується на взаємодії азоту всіх азотовмісних речовин сироватки крові із сульфатною кислотою з утворенням сульфату амонію, який з реактивом Несслера утворює сполуку жовто-помаранчевого кольору, інтенсивність забарвлення реєструють при 440-450 нм. Концентрацію глутаміну у сироватці крові визначали за допомогою автоматичного аналізатора амінокислот Т-339. Показано, що достовірне підвищення рівня залишкового азоту спостерігається лише у тварин з токсичним ураженням ацетамінофеном, які перебували на повноцінному харчуванні. Водночас у щурів за умов дефіциту протеїну у раціоні чи з токсичним ураженням на тлі аліментарного дефіциту протеїну значення цього показника порівняно з контролем достовірно не змінюється. При цьому наші дослідження показали підвищення вмісту глутаміну у тварин за умов введення токсичних доз ацетамінофену на тлі аліментарного дефіциту протеїну. Отримані результати, ймовірно, свідчать про перерозподіл між окремими компонентами залишкового азоту у групі НПП/ТУ за умов збереження його загального вмісту. Визначення вмісту нітрогену аміаку показало, що значне зниження рівня цього показника спостерігається у тварин, які споживали низькопротеїновий раціон. Натомість зростання даного показника спостерігається у групах щурів, яким моделювали токсичне ураження ацетамінофеном та токсичне ураження на тлі аліментарного дефіциту протеїну, що свідчить про формування стану гіперамоніємії за досліджуваних умов. Отже, за умов токсичного ураження ацетамінофеном у сироватці крові підвищується вміст як залишкового азоту, так і нітрогену аміаку, тоді як у тварин з інтоксикацією ацетамінофеном на тлі білкової недостатності підвищується вміст лише нітрогену аміаку та зберігається на рівні контролю вміст залишкового азоту у сироватці. Отримані результати свідчать, що за досліджуваних умов посилюється утворення аміаку, проте порушується процес утворення нетоксичних азотовмісних метаболітів.

Ключові слова: ацетамінофен, токсичне ураження, аміак, гіперамоніємія

Вступ. Ацетамінофен – широко розповсюджений жарознижуючий і знеболюючий безрецептурний засіб, побічним ефектом застосування якого є порушення функцій печінки та нирок. Однією із можливих причин токсичної дії ацетамінофену вважається посилене утворення високоактивного метаболіту *N*-ацетил-*p*-бензохіноніміну (Kanchanasurakit et al., 2020). Показно, що токсичність ацетамінофену може посилюватися за умов тривалого голодування, зокрема, аліментарного дефіциту протеїну. Такі зміни пов'язують із нестачею сульфуровмісних амінокислот, необхідних для синтезу глутатіону – ключового агента у кон'югації та антиоксидантному захисті від NAPQI (Cai et al., 2022). Оскільки при передозуванні ацетамінофеном насамперед ушкоджуються тканини печінки, наслідком може стати підвищення концентрації аміаку у крові, тобто виникнення стану гіперамоніємії. Першопричиною таких змін вважається

порушення роботи ензимів метаболізму аміаку, зокрема, циклу сечовини. Оскільки аміак є сильним нейротоксином, то зростання його концентрації може призвести до неврологічних порушень (Ali, Nagalli, 2024). Тому метою роботи було дослідження основних показників обміну аміаку, зокрема вмісту залишкового азоту, глутаміну та нітрогену аміаку у сироватці крові за умов введення токсичних доз ацетамінофену та різних режимів білкового харчування.

Матеріали та методи. Збір крові здійснювали у пробірки з антикоагулянтом (1 об'єм 4 % розчину цитрату натрію до 9 об'ємів крові). Сироватку виділяли шляхом центрифугування крові протягом 30 хв при 1500 g за температури +4 °C. Визначення залишкового азоту проводили методом, що ґрунтується на взаємодії азоту всіх азотовмісних речовин сироватки крові із сульфатною кислотою з утворенням сульфату амонію, який з реактивом Несслера утворює

сполуку жовто-помаранчевого кольору. Інтенсивність забарвлення порівнюється зі стандартом при 440-450 нм.

Концентрацію глутаміну визначали за допомогою автоматичного аналізатора амінокислот Т-339 (Microtechnology, Чехія, на базі Інституту біохімії ім. Палладіна НАН України) з постколонковою дериватизацією за дії нінгідрину (Korylchuk et al., 2023).

Для визначення вмісту нітрогену аміаку у сироватці крові у пробірці вносять 5 мл води, 20 мкл сироватки та 200 мкл реактиву Несслера, перемішують та залишають на 10 хв. Аналогічно готують стандартну пробу, яка замість сироватки

включає 20 мкл стандартного розчину (100 мкг азоту/мл). Оптичну густина реєстрували при 410 нм.

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень показали, що достовірно підвищення рівня залишкового азоту спостерігається лише у тварин з токсичним ураженням ацетамінофеном, які перебували на повноцінному харчуванні. Водночас наші дослідження показали підвищення вмісту глутаміну у тварин груп ТУ, що пояснює підвищення вмісту залишкового азоту у тварин цієї групи (рис. 1).

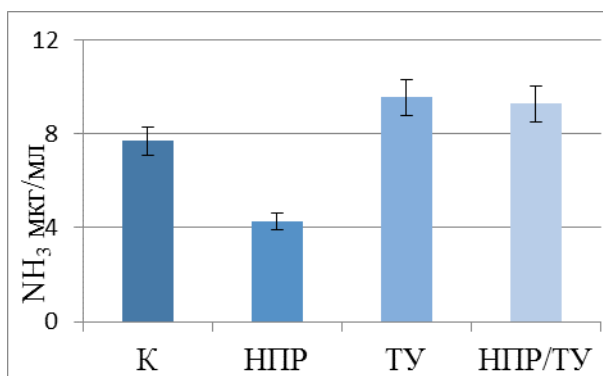


Рис. 1. Вміст нітрогену аміаку у сироватці крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарного дефіциту протеїну

Fig. 1. Ammonia nitrogen content in the blood serum of rats under conditions of toxic damage against the background of nutritional protein deficiency

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

Note (here and hereinafter): K – animals that received a complete semi-synthetic diet (control); LPD – animals that were on a low-protein diet; TU – animals that were simulated with toxic damage; NPD/TU – animals that were simulated with toxic damage on a low-protein diet; * – statistically significant difference compared to control, $P < 0,05$.

У щурів з токсичним ураженням на тлі аліментарного дефіциту протеїну значення показника залишкового азоту порівняно з контролем достовірно не змінюється, проте значно підвищується вміст глутаміну. Отримані результати, ймовірно, свідчать про перерозподіл між окремими компонентами залишкового азоту у групі НПР/ТУ за умов збереження його загального вмісту.

Визначення вмісту нітрогену аміаку показало, що значне зниження рівня цього показника спостерігається у тварин, які споживали низькопротеїновий раціон. Зниження рівня аміаку сироватки крові у групі НПР, ймовірно, пов'язане зі нестачею азоту через споживання низькопротеїнового раціону. Натомість зростання даного показника спостерігається у

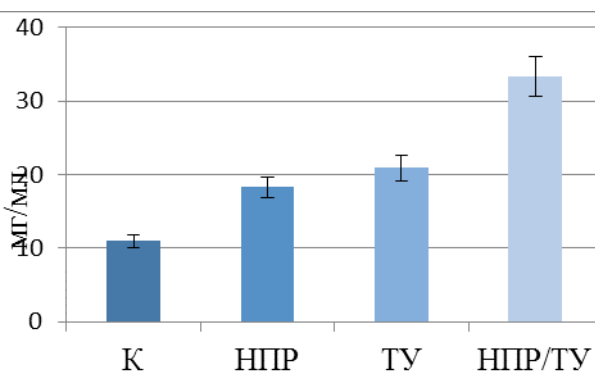


Рис. 2. Вміст глутаміну у сироватці крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарного дефіциту протеїну

Fig. 2. Glutamine content in the blood serum of rats under conditions of toxic damage against the background of alimentary protein deficiency

групах щурів, яким моделювали токсичне ураження ацетамінофеном та токсичне ураження на тлі аліментарного дефіциту протеїну, що свідчить про формування стану гіперамоніємії за досліджуваних умов.

Отримані результати свідчать про підвищення вмісту аміаку у тварин із токсичним ураженням, незалежно від характеру білкового харчування, причиною чого може бути або посилення утворення аміаку, або порушення його знешкодження за досліджуваних умов.

Висновки

1. Встановлено, що достовірні зміни вмісту залишкового азоту у сироватці крові спостерігаються лише у тварин з токсичним ураженням ацетамінофеном, які перебували на повноцінному харчуванні. Водночас у тварин

цієї дослідної групи встановлено підвищення вмісту глутаміну, що пояснює підвищення вмісту залишкового азоту у тварин цієї групи.

2. Показано значне зниження рівня вмісту нітрогену аміаку у сироватці крові тварин, які споживали низькопротеїновий раціон. При цьому зростання цього показника спостерігається у групах щурів, яким моделювали токсичне ураження ацетамінофеном та токсичне ураження на тлі аліментарного дефіциту протеїну, що свідчить про формування стану гіперамоніємії у тварин за досліджуваних умов.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.

References:

1. Kanchanasurakit, S., Arsu, A., Siriplabpla, W., Duangjai, A., Saokaew, S. (2020) Acetaminophen use and risk of renal impairment: A systematic review and meta-analysis. *Kidney Res Clin Pract.* 9 (1), 81-92. <https://doi.org/10.23876/j.krcp.19.106>.
2. Cai, X., Cai, H., Wang, J., Yang, Q., Guan, J., Deng, J., Chen, Z. (2022) Molecular pathogenesis of acetaminophen-induced liver injury and its treatment options. *J Zhejiang Univ Sci B.* 23 (4), 265-285. doi: 10.1631/jzus.B2100977.
3. Ali, R., Nagalli, S. (2023). Hyperammonemia. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557504/>
4. Kopylchuk, G. P., Ivanovich, I. Y., Voloshchuk, O. M. (2020) Peculiarities of ammonia metabolism in the liver of rats under the conditions of different nutrients content in a diet. *Ukr Biochem J.* 92 (4), 70-76. <https://doi.org/10.15407/ubj92.04.070>.
5. Kopylchuk, G. P., Voloshchuk, O. M., Pasailiuk, M. V. (2023) Comparison of total amino acid compositions, total phenolic compounds, total flavonoid content, β -carotene content and hydroxyl radical scavenging activity in four wild edible mushrooms. *IJM.* 2, 112-125. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/16457>.

INDICATORS OF AMMONIA METABOLISM IN RATS UNDER THE CONDITIONS OF TOXIC INJURY AGAINST THE BACKGROUND OF A DIETARY PROTEIN DEFICIENCY

S. Y. Shevchenko, O. M. Voloshchuk

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.
e-mail: o.voloshchuk@chnu.edu.ua

The aim of the work was to study the main indicators of ammonia metabolism, in particular, the content of residual nitrogen, glutamine and ammonia nitrogen in blood serum under the conditions of administration of toxic doses of acetaminophen and different regimes of protein nutrition. Determination of residual nitrogen was carried out by a method based on the interaction of nitrogen from all nitrogen-containing substances in blood serum with sulfuric acid to form ammonium sulfate, which forms a yellow-orange compound with Nessler's reagent, the color intensity is recorded at 440-450 nm. The concentration of glutamine in blood serum was determined using an automatic amino acid analyzer T-339. It is shown that a significant increase in the level of residual nitrogen is observed only in animals with acetaminophen toxic damage, which were on full nutrition. At the same time, in rats under conditions of protein deficiency in the diet or with toxic damage against the background of alimentary protein deficiency, the value of this indicator does not change reliably compared to the control. At the same time, our studies showed an increase in the content of glutamine in animals under the conditions of administration of toxic doses of acetaminophen against the background of dietary protein deficiency. The obtained results probably indicate a redistribution between individual components of residual nitrogen in the NPR/TU group under conditions of preservation of its total content. Determination of ammonia nitrogen content showed that a significant decrease in the level of this indicator is observed in animals that consumed a low-protein diet. Instead, the growth of this indicator is observed in groups of rats that were simulated toxic damage by acetaminophen and toxic damage against the background of alimentary protein deficiency, which indicates the formation of a state of hyperammonemia under the studied conditions. Therefore, under the conditions of toxic damage by acetaminophen in the blood serum, the content of both residual nitrogen and ammonia nitrogen increases, while in animals with acetaminophen intoxication against the background of protein deficiency, only the content of ammonia nitrogen increases and the content of residual nitrogen in the serum remains at the control level. The obtained results indicate that the formation of ammonia increases under the studied conditions, but the process of formation of non-toxic nitrogen-containing metabolites is disturbed.

Key words: acetaminophen, toxic damage, ammonia, hyperammonemia.

Отримано редколегією 17.10.2024

ORCID ID

Оксана Волошук: <https://orcid.org/0000-0002-6005-3732>