



УДК 001.891:[616.379-008.64+577.114-021.632:599.323.4]

А. О. Данилова, С. А. Петров

## ВПЛИВ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ СТАНІВ НА АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ ПРИ ВИКОРИСТАННІ У СКЛАДІ РАЦІОНІВ ІММОБІЛІЗОВАНИХ НА ВИСОКОВУГЛЕВОДНИХ НОСІЯХ ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Одеса, Україна

УДК 001.891:[616.379-008.64+577.114-021.632:599.323.4]

А. О. Данилова, С. А. Петров

### ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ НА АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В СОСТАВЕ РАЦИОНОВ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ НА ВЫСОКО- УГЛЕВОДНЫХ НОСИТЕЛЯХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

*Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Одесса, Украина*

После кормления в течение трех недель препаратами пробиотических микроорганизмов, иммобилизованных на высокоуглеводных носителях, у крыс существенных различий в уровнях общих липидов, холестерина печени и холестерина крови не обнаружено. Определена активность аминотрансфераз в печени и крови крыс с сахарным диабетом, сахарным диабетом и гепатитом при использовании в составе рационов пробиотических микроорганизмов, иммобилизованных на высокоуглеводных препаратах. Установлено, что при аллоксановом диабете и гепатите активность аминотрансфераз изменяется в результате экстремальных нагрузок. Введение препаратов пробиотических микроорганизмов предотвращает появление негативных изменений и способствует нормализации соотношения аминотрансфераз в крови и печени.

**Ключевые слова:** диабет, гепатит, аминотрансферазы, высокоуглеводные препараты, пробиотики.

UDC 001.891:[616.379-008.64+577.114-021.632:599.323.4]

A. O. Danilova, S. A. Petrov

### EFFECT OF EXTREME STATES ON THE ACTIVITY OF AMINOTRANSFERASES WHEN USING IN THE DIETS OF PROBIOTIC MICROORGANISMS, WHICH ARE IMMOBILIZED ON CARBOHY- DRATE-RICH CARRIERS

*I. I. Mechnikov Odessa National University, Odessa, Ukraine*

**Background.** The actual task of clinical biochemistry is a study of natural origin preparations influence on activity of enzymes which play an important role in metabolism.

The **aim** of this research is study of aminotransferases activity in rats when using probiotic microorganisms in the diet, which are immobilized on a carbohydrate-rich carriers of probiotic microorganisms.

**Methods.** There were used generally accepted methods of biochemical researches.

**Results.** After feeding during three weeks there were not found substantial distinctions in the levels of general lipids, cholesterol of liver and cholesterol of blood. After three months feeding content of general lipids in the liver had an insignificant tendency to decline. Animals have different values of activity of the enzymic systems of Krebs cycle and differ on the state of oxidant and antioxidant systems. The degree of distinctions depends on the kind of bioactive substance which was intaken in the diet. It was determined the activity of aminotransferases in the liver and blood of rats with diabetes mellitus and hepatitis when using in the diets of microbial probiotics, which are immobilized on high carbohydrate preparations. It was found that with alloxan diabetes and hepatitis aminotransferases activity changes as a result of extreme stress.

**Conclusions.** Introduction of microbial probiotic preparations prevents adverse changes and helps to normalize ratio of aminotransferases in blood and liver.

**Key words:** diabetes mellitus, hepatitis, aminotransferases, carbohydrate-rich preparations, probiotics.



## Вступ

Актуальне завдання клінічної біохімії — вивчення впливу препаратів природного походження на активність ферментів, що відіграють важливу роль в обміні речовин. Амінотрансферази (К.Ф.2.6.) — це ферменти класу трансфераз, що каталізують реакцію переносу аміногрупи ( $\text{NH}_2$ -групи) разом із протоном (іоном водню) і парою електронів від амінокислот або амінів до кетокислот або інших сполук, що містять у складі своєї молекули карбонільну групу (СО-групу). Ці ферменти відіграють важливу роль в азотному обміні, беруть участь у розщепленні амінокислот, які не використовуються в процесах біосинтезу [1–3]. Біологічна роль амінотрансфераз надзвичайно велика завдяки їх участі у трансамінуванні — процесі, що має найважливіше значення для енергетичного й азотного обмінів.

В організмі тварини й людини амінотрансферази беруть участь у регуляції процесів, пов'язаних з обміном білків, жирів, вуглеводів, деяких гормонів, біогенних амінів, низки простетичних груп та інших фізіологічно активних сполук [4; 5]. Установлено, що будь-який стан, який потребує термінової мобілізації компонентів білка для покриття енергетичних затрат організму (недостатнє або незбалансоване харчування, усі види стресу тощо), пов'язаний з адаптивним, гормонально-стимулювальним біосинтезом певних амінотрансфераз, насамперед тих, що беруть участь у глюконеогенезі (аланін- і аспартатамінотрансфераз, амінотрансфераз ароматичних амінокислот).

Амінотрансферази містяться практично в усіх органах, але найактивніше реакції трансамінування відбуваються у печінці. Найбільше діагностичне значення при патології низки органів має визначення актив-

ності аспартатамінотрансферази (АСТ) (К.Ф.2.6.1.1) і аланінамінотрансферази (АЛТ) (К.Ф.2.6.1.2) [6].

При запальних процесах помірної тяжкості, у тому числі при гострих вірусних гепатитах, дегенеративні зміни гепатоцитів супроводжуються вивільненням АСТ, із цитозоллю і його проникненням у кров. Мітохондріальні структури при цьому ушкоджуються мало, тому загальна кількість АСТ, що потрапляє у кров, невелика, якщо її співставити з кількістю АЛТ, яка цілком локалізується у цитозолі й переходить у кров при ушкодженні останнього. Як наслідок — виникає співвідношення АСТ і АЛТ, назване коефіцієнтом де Рітиса [7]. Нормальні значення АСТ становлять 0,45 ммоль/л на 1 год для сироватки крові дорослої людини. Результати визначення можуть відхилитися у бік підвищення, якщо в сироватку крові потрапляє АСТ зі зруйнованих еритроцитів, або у бік зниження, якщо у результаті зберігання протягом кількох днів відбувається інактивація ферменту [2].

Вивільнення АЛТ у кров відбувається при порушеннях внутрішньої структури гепатоцитів і підвищенні проникності клітинних мембран, що властиво як гострому вірусному гепатиту, так і рецидивам хронічного гепатиту. У зв'язку з цим АЛТ вважається індикаторним ферментом і до його визначення звертаються постійно при встановленні діагнозу гепатитів будь-якої природи [6]. У сироватці крові дорослої людини активність АЛТ у нормі становить 0,1–0,7 ммоль/л на 1 год. Оскільки АЛТ міститься в еритроцитах, слід запобігати їхньому руйнуванню при підготовці сироватки до дослідження. Активність АЛТ може знижуватися при зберіганні сироваткових проб протягом кількох днів [3; 4].

Важливе значення має участь АСТ і АЛТ у процесі

трансамінування, АСТ і АЛТ каталізують взаємоперетворення глютаміну, аспартату й відповідних кетоаналогів цих амінокислот — компонентів циклу Кребса. При цьому реакції трансамінування зв'язують білковий і вуглеводний обміни.

Результати аналізу сучасних публікацій свідчать, що при ускладнених гепатитах або неалкогольних ураженнях печінки співвідношення АСТ і АЛТ, як правило, не перевищує 1 або знижується до 0,6–0,8. Навпаки, збільшення коефіцієнта більше 1,4 (завдяки підвищенню активності АСТ) спостерігається при цирозах, тяжких алкогольних і токсичних ураженнях печінки (з руйнуванням більшої частини її клітин) або при інших захворюваннях [8; 9].

Вивчення можливості корекції патологічних станів при діабеті й гепатиті та визначення препаратів, здатних позитивно впливати на активність амінотрансфераз, є актуальним завданням як із теоретичної точки зору, так і для практичного застосування.

**Метою** даного дослідження стало вивчення активності амінотрансфераз у щурів з алоксановим діабетом і гепатитом при використанні у складі раціонів іммобілізованих на високочуглеводних носіях пробіотичних мікроорганізмів.

Вибір визначення активності АЛТ і АСТ зумовлений тим, що дозволяє оцінити бар'єрну, регуляторну й імунну функції.

## Матеріали та методи дослідження

Досліди виконані на 120 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г, які в умовах віварію ОНУ ім. І. І. Мечникова були розміщені у клітках по одному. Робота виконана з дотриманням усіх правил і міжнародних рекомендацій Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, задіяних в експериментальних дослідженнях.



Активність амінотрансфераз визначали за допомогою наборів «Філісіт-Діагностика».

В експерименті використані препарати із введенням пробіотичних мікроорганізмів (лактобактерій і лакто + біфідумбактерій), іммобілізованих на високовуглеводних носіях — харчових волокнах бурякового жому (ХВБурЖ) [10]. Тварин в експерименті (12 груп) утримували на раціоні віварію, БАД (20 %) додавали до раціону. Група I отримувала загальновіварійний раціон, Ia — здорові тварини, Ib — з алоксановим діабетом, Iv — з діабетом і гепатитом; група II перебувала на раціоні з додаванням препарату з лактобактеріями, іммобілізованими на ХВБурЖ (ХВБурЖ + Л), IIa — здорові тварини, IIb — з алоксановим діабетом, Iv — з діабетом і гепатитом, тварини групи III отримували раціон з лакто- і біфідобактеріями, іммобілізованими на ХВБурЖ (ХВБурЖ + Л + Б), IIIa — здорові тварини, IIIb — з алоксановим діабетом, IIIв — з діабетом і гепатитом. Для контролю використовували тварин із гепатитом: група Іг — на загальновіварійному

раціоні, ІІг — на раціоні з додаванням ХВБурЖ + Л, ІІІг — на раціоні з додаванням ХВБурЖ + Л + Б. Алоксановий діабет викликали внутрішньочеревинним введенням 5 % розчину алоксангідрату фірми «Хемапол» (20 мг на 100 г маси тварини), що узгоджується із загальноприйнятими методиками індукування діабету. Гепатит спричинювали внутрішньочеревинним введенням чотирьохлористого вуглецю.

### Результати дослідження та їх обговорення

Вивчення гепатопротекторної активності БАД на моделі гострого тетрачлорметанового ураження печінки показало, що його застосування призвело до регресивних змін у розвитку патології. Останнє підтверджується відповідними змінами функціонально-біохімічних показників. Активність АЛТ у печінці знижувалася порівняно із групою з гепатитом на 37,2 % при використанні ХВБурЖ + Л, на 37,27 % — при використанні ХВБурЖ + Л + Б, тобто була відповідно на 5,7 і 4,6 % більшою, ніж у інтактних

тварин без гепатиту. Активність АСТ у групах тварин з гепатитом при використанні БАД зростала на 5,75 і 4,73 % відповідно щодо групи здорових тварин при використанні ХВБурЖ + Л і ХВБурЖ + Л + Б (рис. 1). При цьому коефіцієнт де Рітіса стабілізувався і у крові, і у печінці (рис. 2).

У крові тварин групи Ів активність АЛТ зросла у 4 рази, АСТ — у 2,27 разу, а в печінці активність АЛТ збільшилася в 5,56 разу, АСТ — у 3,53 разу, що спричинило значний дисбаланс і зміну значень коефіцієнта де Рітіса в печінці тварин групи Ів, який становив 0,84. У групі тварин із гепатитом без діабету цей показник дорівнював 0,95. У тварин, що отримували у складі раціонів препарати з пробіотичними мікроорганізмами, активність амінотрансфераз також зросла: АЛТ у 3,80, 4,92, 5,19 разу в групах тварин Ів, ІІв, ІІІв, а АСТ — у 3,53, 2,91, 3,03 разу в групах тварин Ів, ІІв, ІІІв відповідно (див. рис. 1), але при цьому коефіцієнти де Рітіса мало відрізнялися від норми (див. рис. 2). Отже, виявлено мембранопротекторний

Значення активності амінотрансфераз, мкмоль/(л·хв)

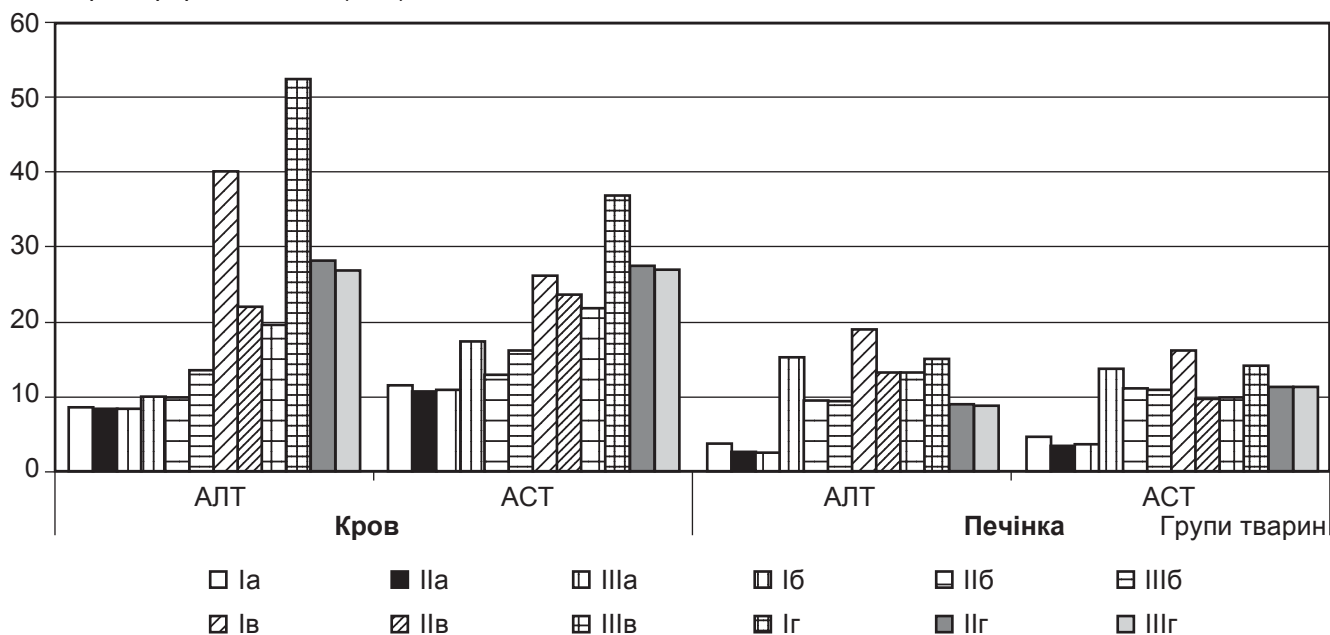


Рис. 1. Вплив препаратів на активність трансфераз



ефект у моделі алоксан-гепатитової інтоксикації в групах тварин, що отримували БАД.

### Висновки

Отримані дані свідчать про можливість корекції активності амінотрансфераз за допомогою препаратів лактобактерій та лакто- і біфідобактерій, іммобілізованих на високовуглеводних носіях, і доцільність подальших досліджень для обґрунтованого застосування цих засобів для захисту від негативного впливу під час екстремальних станів, що викликають цукровий діабет і гепатит.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Биохимия* / Т. Л. Алейникова, Л. В. Авдеева, Л. Е. Андрианова [и др.] ; под ред. Е. С. Северина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 784 с.
2. Аншелевич Ю. В. Диагностическое значение определения активности трансаминаз сыворотки крови в терапевтической клинике / Ю. В. Аншелевич // *Клиническая медицина*. – 1992. – Т. 40, № 7. – С. 15–16.
3. *Ефекти дії природних антиоксидантів на активність амінотрансфераз у клітинах слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментального ульцерогенезу* / А. Шевченко, В. Ковальова, Д. Шелест [та ін.] // *Медична і клінічна хімія*. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 201.
4. Бергман Р. Е. *Биохимия для врача* / Р. Е. Бергман. – М., 1994. – 457 с.
5. *Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний*: рук. / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремская [и др.]. – М. : Медицина, 2002. – 355 с.
6. Кленова Н. А. *Биохимия патологических состояний* / Н. А. Кленова. – Самара, 2006. – 216 с.
7. Горячковский О. Я. *Недостаточность печени* / О. Я. Горячковский. – М. : Медицина, 2005. – 521 с.
8. Pratt D. S. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients / D. S. Pratt, M. M. Kaplan // *N. Engl. J. Med.* – 2000 Apr 27. – Vol. 342 (17). – P. 1266–1271.
9. Paul T. Mildly Elevated Liver Transaminase Levels in the Asympto-

### Коефіцієнт де Рітца

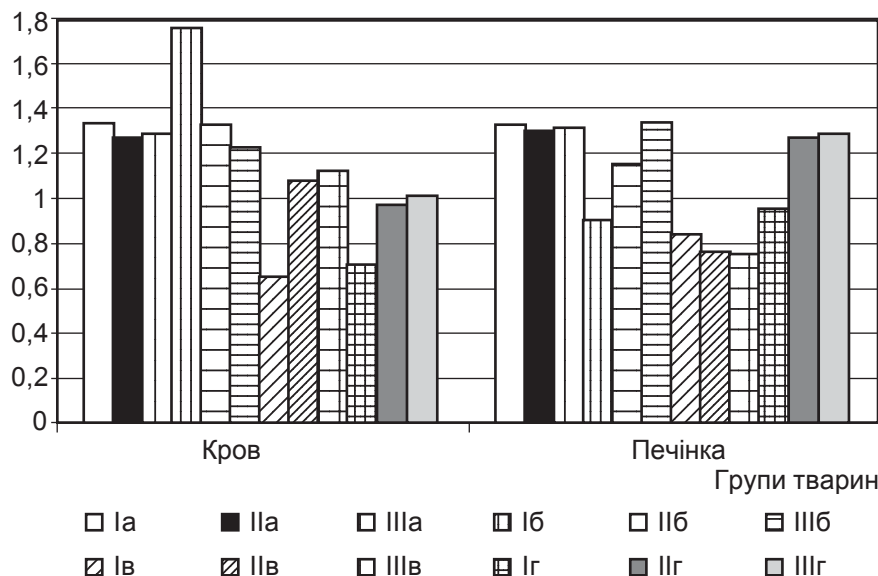


Рис. 2. Вплив препаратів на значення коефіцієнта де Рітца (АСТ/АЛТ)

6. Klenova N.A. *Biochemistry of pathological conditions*. Samara, 2006. 216 p.
7. Goryachkovskiy O.Ya. *Hepatic failure*. Moscow, Medicine, 2005. 521 p.
8. Pratt D.S., Kaplan M.M. Evaluation of abnormal liver — enzyme results in asymptomatic patients. *N. Engl. J. Med.* 2000 Apr 27; 342(17): 1266-71.
9. Paul T., Giboney M.D. Mildly Elevated Liver Transaminase Levels in the of Asymptomatic Patient. *Am. Fam. Physician* 2005 Mar 15; 71(6): 1105-1110.
10. Пат. 68589 Україна МПК G09B 23/28 Спосіб профілактики і лікування цукрового діабету в експерименті / Л. В. Капрельянц, М. І. Гоцуленко, А. О. Данилова [та ін.] ; заявник і патентовласник ОНАХТ і ОНУ № u201113887 ; заявл. 25.11.2011 ; опубл. 26.03.2012, Бюл. № 6.

### REFERENCES

1. Aleinikova T.L., Avdeeva L.I., Andrianova L.E. et al. *Biochemistry* ed. by Severin E.S. Moscow, GEOTAR-Media, 2006: 784 p.
2. Anshelevich U.V. Diagnostic value of determination of activity of transaminases of blood serum in the therapeutic clinic. *Clinical Medicine* 1992; 40(7): 15-16.
3. Shevchenko A., Kovalyova V., Shelest D., Vishnevskaya A., Ostapchenko L. Effects of action of natural antioxidants on activity of aminotransferases in the cells of stomach mucosa of rats at the terms of experimental ulcerogenesis. *Medical and clinical chemistry* 2011; 13(4): 201.
4. Bergman R.Ye. *Biochemistry for a doctor*. Moscow, 1994: 457 p.
5. Balabolkin M.I., Klebanova Ye.M., Kreminskaya V.M. et al. *Differential diagnostics and treatment of endocrine diseases* : рук. Moscow, Meditsina, 2002. 355 p.

Надійшла 28.08.2012

