

ОСОБЛИВОСТІ ТРАНСАМІНУВАННЯ ЛЕЙЦИНУ В СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДИСБАЛАНСУ НУТРИЄНТІВ У ХАРЧОВОМУ РАЦІОНІ

Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. НИКОЛАЙЧУК*, Ю. В. САНДУЛЯК

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,

вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012

*e-mail: i.nykolaichuk@chnu.edu.ua

У роботі представлені дослідження особливостей трансамінування лейцину в скелетних м'язах щурів за умов дисбалансу нутрієнтів у харчовому раціоні. Досліджено розподіл вмісту вільного лейцину в м'язах та плазмі крові, активність лейцинамінотрансферази у м'язах за умов споживання надмірного вмісту сахарози, нестачі харчового протеїну та поєднаної дії двох аліментарних чинників. Впродовж експерименту дослідні тварини споживали напівсинтетичний раціон AIN-93 відповідно до рекомендацій Американського інституту харчування. З метою моделювання аліментарної депривації протеїну тварини протягом 28 днів щоденно отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон, що містить 1/3 загальноприйнятої норми добової потреби білка. Високосахарозну дієту моделювали шляхом збільшення кількості сахарози в харчовому раціоні в 4 рази. Вміст лейцину в скелетних м'язах та плазмі крові визначали методом хроматографічного аналізу на автоматичному аналізаторі амінокислот Т 339. Лейцинамінотрансферазну активність у мітохондріальній фракції скелетних м'язів щурів оцінювали за кількістю утвореного α -кетозокапроату.

Встановлено достовірне зниження вмісту лейцину в скелетних м'язах протеїнодефіцитних щурів на 42% та приблизно на 70% у групах тварин, які отримували надмірну кількість сахарози порівняно зі значеннями контрольних тварин. Оскільки надмірне споживання сахарози призводить до максимального зменшення рівня даної амінокислоти у м'язах тварин, це можна розглядати як один із механізмів порушення надходження глюкози в інсулінозалежні тканини. Водночас у скелетних м'язах протеїнодефіцитних щурів зареєстровано зниження лейцинамінотрансферазної активності на 40%; при споживанні високосахарозного раціону активність досліджуваного ферменту порівняно з показниками контролю знижується на 50%. Результати досліджень засвідчують зниження концентрації лейцину в плазмі крові усіх дослідних груп тварин порівняно із контрольними показниками. Найнижчі значення рівня даної амінокислоти зареєстровано за умов споживання надлишкової кількості сахарози незалежно від вмісту протеїну в харчовому раціоні.

Дисбаланс нутрієнтів у харчовому раціоні супроводжується порушенням процесів трансамінування лейцину в скелетних м'язах щурів, що характеризується зниженням лейцинамінотрансферазної активності у мітохондріальній фракції, та, очевидно, пов'язано зі зниженням вмісту лейцину – субстрату даної реакції. Надмірне споживання сахарози виступає ключовим чинником зниження вмісту лейцину у плазмі крові щурів, що можна розглядати як характеристику внутрішньоклітинного дефіциту даної амінокислоти в м'язах.

Ключові слова: лейцин, лейцинамінотрансфераза, скелетні м'язи, високосахарозний раціон, аліментарна депривація протеїну.

Вступ. Нині значна увага дослідників спрямована на вивчення механізмів метаболічних порушень в організмі за умов надлишку та/або дефіциту нутрієнтів у харчовому раціоні (Golanka et al., 2020). Нутрієнтоасоційоні стани часто характеризуються дисбалансом амінокислот як у плазмі крові, так і в тканинах.

Серед внутрішньоклітинних перетворень вільних амінокислот ключова роль належить метаболізму амінокислот із розгалуженим боковим ланцюгом (АРБЛ) – валіну, лейцину та ізолейцину. На відміну від інших амінокислот АРБЛ піддаються метаболічним перетворенням у м'язах, а не в печінці. На першому етапі катаболізму реакції трансамінування всіх трьох амінокислот супроводжуються утворенням відповідних розгалужених α -кетокислот. Останні шляхом окис-

лювального декарбоксілювання перетворюються в ацил-КоА тіоестери. З цього моменту катаболізм кожної амінокислоти відбувається своїм специфічним шляхом. Лейцин перетворюється до ацетоацетату і ацетил-КоА, ізолейцин – до сукциніл-КоА і ацетил-КоА, катаболізм валіну призводить до утворення сукциніл-КоА (Holeček et al., 2018).

Водночас зміни катаболізму АРБЛ причетні до розвитку інсулінорезистентності (Cifarelli et al., 2020), серцевої недостатності (Li et al., 2020), прогресування злоякісних новоутворень (Soares et al., 2020) тощо. Тим не менш в літературі останніх років зустрічаються лише окремі відомості щодо особливостей метаболічних перетворень АРБЛ за умов нутритивного дисбалансу.

Особлива роль серед АРБЛ належить лейцину, який, на відміну від валіну та ізолейцину, ініціює біосинтез протеїнів у скелетних м'язах шляхом активації кіназного комплексу mTOR та характеризується найвищою реакційною здатністю до окислення (Chen et al., 2021).

У тканинах скелетних м'язів лейцин функціонує як донор азоту для аланіну та глутаміну, модулятор інсулінового каскаду шляхом активації фосфоінозитол-3-кінази (Gannon et al., 2015; Holeček et al., 2018).

Враховуючи вищесказане, метою роботи стало дослідження особливостей трансамінування лейцину в скелетних м'язах щурів за умов різного забезпечення харчового раціону протеїном та сахарозою.

Матеріали та методи. Для досліджень використовували білих безпородних щурів репродуктивного віку та масою 120-160 г. Усі маніпуляції проводили відповідно до загальних біоетичних 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 VII національним конгресом з біоетики (Київ, 2019).

Щурів утримували у пластмасових клітках із піщаною підстилкою та вільним доступом до води.

Дослідні тварини протягом експерименту споживали напівсинтетичний раціон AIN-93 відповідно до рекомендацій Американського інституту харчування (Reeves et al., 1993). Аліментарну депривацію протеїну моделювали шляхом споживання тваринами впродовж 4 тижнів низькопротеїнового раціону (Korylchuk et al., 2020). Високосахарозну дієту моделювали відповідно до рекомендацій (Fernandes-Lima, 2015).

Нормування добового раціону проводили з урахуванням принципу *pair-feeding* (Lind T. et al., 2018).

Дослідні тварини були поділені на групи:

1 – щури, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами – група контролю (К);

2 – щури, які протягом 4 тижнів отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну) (НПР);

3 – щури, які впродовж експерименту споживали високосахарозний раціон (ВС);

4 – щури, які на при нестачі харчового протеїну споживали надлишок сахарози (НПР/ВС).

Тривалість експерименту складала 28 днів. Усіх тварин виводили з досліду шляхом цервікальної

дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом.

Вміст лейцину в скелетних м'язах та плазмі крові визначали методом хроматографічного аналізу на автоматичному аналізаторі амінокислот Т 339 (Чехія) на базі Інституту біохімії О. В. Палладіна відповідно до угоди про співпрацю.

Виділення мітохондріальної фракції скелетних м'язів щурів здійснювали методом диференційного центрифугування в іонному середовищі наступого складу: 0,1 М KCl, 1 мМ MgCl₂, 0,05 М трис-HCl, рН 7,4 при 0 – 4°C.

Лейцинамінотрансферазну активність у мітохондріальній фракції скелетних м'язів щурів оцінювали за кількістю утвореного α -кетозокапроату на спектрофотометрі CARY 60 (США) при довжині хвилі 440 нм (Robert et al., 1966).

Статистичний аналіз отриманих результатів досліджень здійснювали з використанням прикладних програм статистичного аналізу *Microsoft Excel 2010* та *STATISTICA 6.0*. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний t-критерій критерій Стьюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати проведених нами досліджень показали зниження вмісту лейцину в скелетних м'язах усіх дослідних груп щурів порівняно зі значеннями контролю (рис. 1).

Очевидним є те, що зниження вмісту лейцину в групі протеїнодефіцитних щурів на 42% порівняно зі значеннями контрольних тварин пов'язане із недостатністю харчового протеїну, оскільки дана амінокислота є есенціальною. З іншого боку, лейцин, як і всі інші амінокислоти з розгалуженим боковим ланцюгом, трансамінується у м'язах до відповідних кетокислот. Останні згодом утилізуються в реакціях глюконеогенезу в печінці, що може відбуватися й за даних експериментальних умов та спрямоване для підтримання енергетичних ресурсів організму, оскільки рівень лейцину регулюється його розподілом між біосинтезом протеїнів та окислювальним метаболізмом у мітохондріях (Holeček et al., 2018).

Як видно з рис. 1 максимальне зниження концентрації лейцину зареєстровано в групах тварин ВС (на 67 %) на НПР/ВС (на 70 %) порівняно з контрольними показниками. Скелетні м'язи – це основна тканина, що відповідає за поглинання глюкози інсулінозалежним механізмом. Цей ефект виникає, коли інсулін зв'язується зі своїм рецептором на поверхні мембрани клітин скелетних м'язів, тим самим запускаючи активність тирозинкінази. Активованій рецептор інсуліну здатний фосфорилювати власні субстрати за тирозиновими залишками, дозволяючи цим субстратам зв'язуватися та активувати фосфоінозитол-3-кіназу з подальшим

впливом на фосфоінозитол-2-фосфат та фосфоінозитол-3-фосфат, що ініціюють сигнальний шлях через альфа-серинтреонінпротеїнкіназу, активація якого призводить до збільшення транслокації GLUT4 до плазматичної мембрани і збільшення поглинання глюкози (Duan et al., 2015).

Лейцин, в свою чергу, через активацію сигнальних шляхів викликає секрецію інсуліну, що сприяє поглинанню м'язами більше глюкози, тим самим знижуючи її рівень в крові. Таким чином, недостатність вказаної амінокислоти за даних експериментальних умов можна розглядати як передумову порушення гомеостазу глюкози.

Ця ж сама альфа-серинтреонінпротеїнкіназа може запускати mTOR через який лейцин активує біосинтез протеїнів. Тому, з іншого боку, зниження вмісту лейцину за даних умов може супроводжуватися пригніченням процесів синтезу м'язових білків (Yoshizawa et al., 2015). Аналогічна тенденція змін вмісту лейцину спостерігається за умов абсолютного дисбалансу макронутрієнтів на прикладі споживання надмірного вмісту сахарози на тлі аліментарної депривації протеїну (рис. 1).

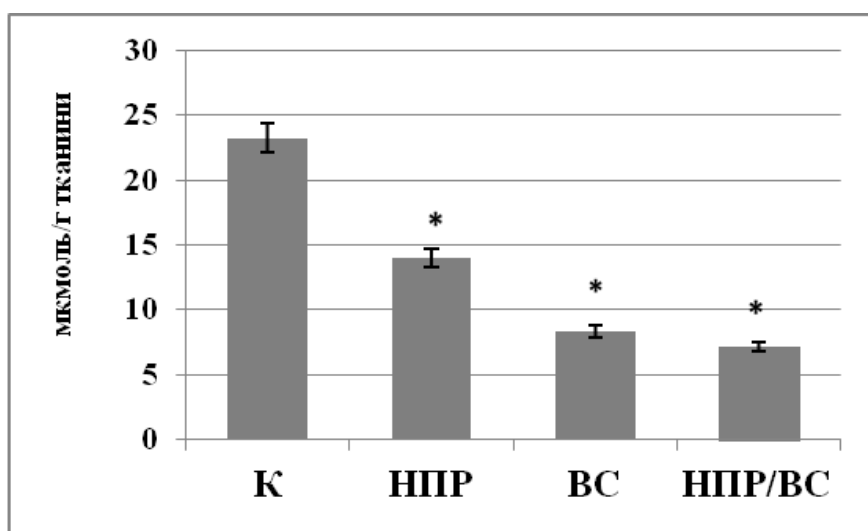


Рис. 1. Вміст лейцину в скелетних м'язах щурів за умов різного забезпечення харчового раціону нутрієнтами

Примітка (тут і надалі): К – група тварин, які отримували повноцінний раціон; НПР – тварини, які утримувались на низькопротеїновому раціоні; ВС – тварини, які утримувались на високосахарозному раціоні; НПР/ВС – тварини, які перебували на низькопротеїновому/високосахарозному раціоні; * – статистично достовірна різниця порівняно з контролем, $P \leq 0,05$.

Як видно з рисунку 2, в усіх дослідних групах тварин порівняно з контрольними показниками зареєстровано зниження лейцинамінотрансферазної активності в мітохондріальній фракції скелетних м'язів. У скелетних м'язах протеїнодефіцитних щурів зниження лейцинамінотрансферазної активності на 40 % порівняно з контролем, очевидно, пов'язане зі зменшеним вмісту лейцину – одного із субстратів даної реакції, та показано на рис. 1.

Можна припустити, що доступність енергосубстратів за даних експериментальних умов стає обмеженою, що призводить до запуску глюконеогенезу та катаболічних перетворень амінокислот.

Так, в реакції трансамінування лейцину утворюється α -кетозіокапроат, який в подальшому через ізовалеріат-КоА та β -гідрокси- β -метил-глутарил-КоА потрапляє в один із двох метаболічних шляхів, генеруючи або ацетил-КоА (90–95 %), або ацетоацетат (5–10 %). Ймовірно, що за даних умов можливе переключення цих шляхів із посиленням утворенням ацетоацетату, що часто супроводжує функціональні порушення, коли надлишок вуглеводів може використовуватись для синтезу жирних кислот (Duan et al., 2015). Враховуючи те, що перші реакції катаболізму лейцину розпочинаються з процесу трансамінування в тканині скелетних м'язів, то активність трансаміназ відіграє важливу роль у багатьох механізмах із залученням вуглецевих скелетів амінокислот для утворення енергосубстратів.

Fig. 1. The content of leucine in the skeletal muscles of rats under the conditions of different nutrients' supplementation in diet

Note (hereinafter): C – animals that received a full semi-synthetic diet; LPD – animals that consumed a low-protein diet; HSD – animals that consumed a high-sucrose diet; LPD/HSD – animals that consumed a low-protein/high-sucrose diet; * – statistically significant difference compared with the control, $P \leq 0.05$

Враховуючи те, що трансамінування амінокислот – це оборотний процес, то напрям реакцій відповідатиме за зміни концентрації лейцину та його продуктів в даній тканині (Gannon et al., 2015).

Водночас при споживанні високосахарозного раціону активність досліджуваного ферменту порівняно з показниками контролю знижується на 50 % (рис. 2). Встановлений нами факт, ймовірно, пов'язаний із тим, що за даних умов м'язи почи-

нають посилено використовувати глюкозу, що ймовірно, супроводжується запуском глюконеогенезу (Holeček et al., 2018).

Аналогічна тенденція змін щодо активності лейцинамінотрансферази спостерігається у тварин, які при надмірному споживанні легкозасвоюваного дисахариду – сахарози – отримували недостатню кількість харчового протеїну (рис. 2). Це можна пояснити тим, що розпад лейцину в скелетних м'язах частково регулюється дегідрогеназним комплексом. Встановлено, що трансамінази та дегідрогенази α -кетокислот з розгалуженим боковим ланцюгом тісно пов'язані та утворюють надмолекулярний комплекс, відомий як «метаболон», функціонування якого відбувається скоординовано для врегулювання катаболізму АРБЛ (Tessari et al., 2017). Це полегшує перенесення субстратів і підвищує ефективність реакцій. Загальна активність, дегідрогеназного комплексу в скелетних м'язах становить тільки 2 % від всієї активності в печінці. Тому, в даній тканині він знаходиться майже в неактивному стані, що й власне сприяє синтезу м'язових білків, а утворений в реакціях трансамінування альфа-кетозокапроат стає доступним для окислювального декарбоксілювання цим комплексом у печінці. Порушення функціонування останнього, в свою чергу, призводитиме до накопичення кетокислоти у крові.

Варто зазначити, що в подальшому утворенні альфа-кетокислоти за дії дегідрогеназ перетворюються до відповідних ацильованих похідних КоА,

які в свою чергу, або метаболізуються в печінці або передають ацильний залишок на карнітин. Останні можуть транспортуватися для подальшого окислення в інші тканини, зокрема, в м'язи. Цей механізм дозволяє регулювати структуру внутрішньомітохондріального пулу КоА, звільняючи КоASH, що має важливе значення для метаболізму (Holeček et al., 2018).

Таким чином ключовим чинником зниження лейцинамінотрансферазної активності у скелетних м'язах щурів виступає недостатність протеїну в харчовому раціоні, що пов'язано зі зниженням вмісту лейцину – субстрату даної реакції.

Отже, за умов аліментарної депривації протеїну спостерігається зниження вмісту лейцину в скелетних м'язах щурів. Водночас надмірне споживання сахарози призводить до максимального зменшення рівня даної амінокислоти у м'язах тварин, що можна розглядати як один із механізмів порушення надходження глюкози в інсулінозалежні тканини.

Одним з найбільш важливих показників проміжного обміну є вміст вільних амінокислот у крові, що відображає баланс між надходженням амінокислот із їжі та тканин внаслідок катаболізму легко мобілізованих протеїнів. Однак, метаболічна функція лейцину визначається більшою мірою його внутрішньоклітинною концентрацією, а не рівнем в плазмі крові. Тому вміст у плазмі лише частково може бути характеристикою надлишку або дефіциту лейцину (Holeček et al., 2018).

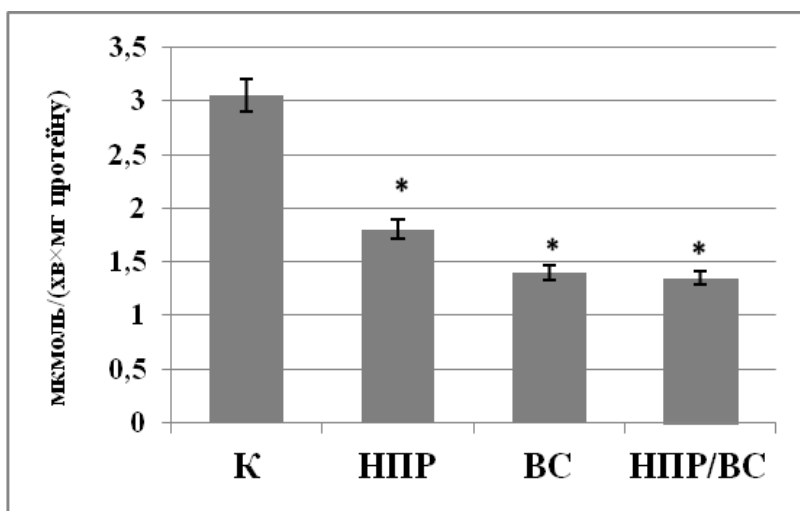


Рис. 2. Лейцинамінотрансферазна активність у скелетних м'язах щурів за умов різного забезпечення харчового раціону нутрієнтами

Fig. 2. Leucine aminotransferase activity in the skeletal muscles of rats under the conditions of different nutrients' supplementation in diet

Як видно з рисунку 2, в усіх дослідних групах тварин порівняно з контрольними показниками зареєстровано зниження лейцинамінотрансферазної активності в мітохондріальній фракції скелетних м'язів. У скелетних м'язах протеїнодефіцитних щурів зниження лейцинамінотрансферазної активності на 40 % порівняно з контролем, очевидно,

пов'язане зі зменшенням вмісту лейцину – одного із субстратів даної реакції, та показано на рис. 1. Враховуючи те, що трансамінування амінокислот – це оборотний процес, то напрям реакцій відповідатиме за зміни концентрації лейцину та його продуктів в даній тканині (Gannon et al., 2015).

Водночас при споживанні високосахарозного раціону активність досліджуваного ферменту порівняно з показниками контролю знижується на 50 % (рис. 2). Встановлений нами факт, ймовірно, пов'язаний із тим, що за даних умов м'язи починають посилено використовувати глюкозу, що ймовірно, супроводжується запуском глюконеогенезу (Holeček et al., 2018).

Аналогічна тенденція змін щодо активності лейцинамінотрансферази спостерігається у тварин, які при надмірному споживанні легкозасвоюваного дисахариду – сахарози – отримували недостатню кількість харчового протеїну (рис. 2). Це можна пояснити тим, що розпад лейцину в скелетних м'язах частково регулюється дегідрогеназним комплексом. Встановлено, що трансамінази та дегідрогенази α -кетокислот з розгалуженим боковим ланцюгом тісно пов'язані та утворюють надмолекулярний комплекс, відомий як «метаболон», функціонування якого відбувається скоординовано для врегулювання катаболізму АРБЛ (Tessari et al., 2017). Це полегшує перенесення субстратів і підвищує ефективність реакцій. Загальна активність, дегідрогеназного комплексу в скелетних м'язах становить тільки 2 % від всієї активності в печінці. Тому, в даній тканинній він знаходиться майже в неактивному стані, що й власне сприяє синтезу м'язових білків, а утворений в реакціях трансамінування альфа-кетозокапроат стає доступним для окислювального декарбоксілювання цим комплексом у печінці. Порушення функціонування останнього, в свою чергу, призводитиме до накопичення кетокислоти у крові.

Варто зазначити, що в подальшому утворенні альфа-кетокислоти за дії дегідрогеназ перетворюються до відповідних ацильованих похідних КоА, які в свою чергу, або метаболізуються в печінці або передають ацильний залишок на карнітин. Останні можуть транспортуватися для подальшого окислення в інші тканини, зокрема, в м'язи. Цей механізм дозволяє регулювати структуру внутрішньомітохондріального пулу КоА, звільняючи КоASH, що має важливе значення для метаболізму (Holeček et al., 2018).

Таким чином ключовим чинником зниження лейцинамінотрансферазної активності у скелетних м'язах щурів виступає недостатність протеїну в харчовому раціоні, що пов'язано зі зниженням вмісту лейцину – субстрату даної реакції.

Отже, за умов аліментарної депривації протеїну спостерігається зниження вмісту лейцину в скелетних м'язах щурів. Водночас надмірне споживання сахарози призводить до максимального зменшення рівня даної амінокислоти у м'язах тварин, що можна розглядати як один із механізмів порушення надходження глюкози в інсулінозалежні тканини.

Одним з найбільш важливих показників проміжного обмін є вміст вільних амінокислот у крові, що відображає баланс між надходженням амінокислот із їжі та тканин внаслідок катаболізму легко мобілізованих протеїнів. Однак, метаболічна функція лейцину визначається більшою мірою його внутрішньоклітинною концентрацією, а не рівнем в плазмі крові. Тому вміст у плазмі лише частково може бути характеристикою надлишку або дефіциту лейцину (Holeček et al., 2018).

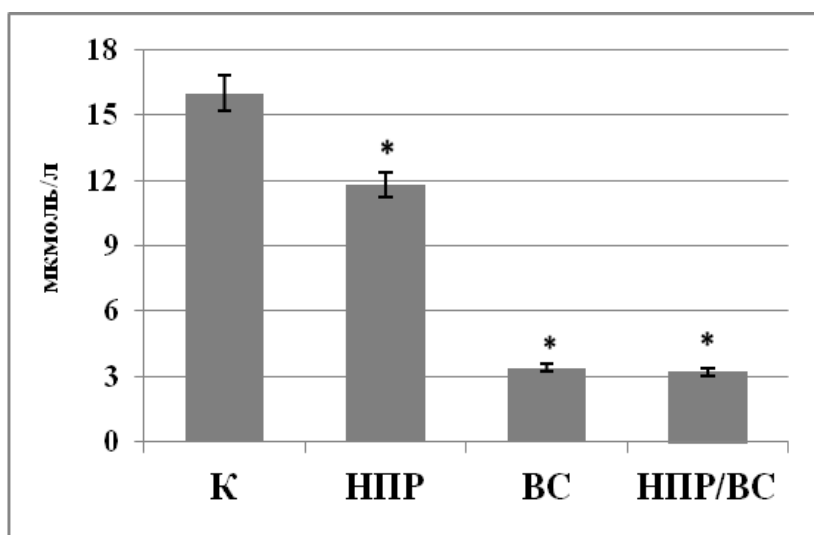


Рис. 3. Концентрація лейцину в плазмі крові щурів за умов різного забезпечення харчового раціону нутрієнтами.

Fig. 3. Concentration of leucine in blood plasma of rats under the conditions of different nutrients' supplementation in diet.

Результати проведених нами досліджень засвідчують зниження концентрації лейцину в плазмі крові усіх дослідних груп тварин порівняно із кон-

трольними показниками (рис. 3). Найнижчі значення рівня даної амінокислоти зареєстровано за

умов споживання надлишкової кількості сахарози незалежно від вмісту протеїну в харчовому раціоні.

Ймовірно, що за даних умов лейцин слугує активатором глутаматдегідрогенази – ферменту задіяного в утворенні альфа-кетоглутарату й аміаку. За даними літератури (Rajendram et al., 2015) концентрація лейцину вище за 800 мкМ активує даний ензим з метою утилізації надлишкових амінокислот. Окрім цього, накопичення ізовалерііл-КоА – метаболіту лейцину, інгубує N-ацетилглутаматсинтазу, яка, в свою чергу, є активатором карбамоїлфосфатсинтети 1, що регулює цикл сечовини, що і, можливо, пояснює збільшення вмісту аміаку в крові та підтверджується нашими попередніми дослідженнями за даних експериментальних умов (Kopylchuk et al., 2020). Висока концентрація аміаку посилює роботу сигнального шляху mTOR та його мішені P70S6K (Drummond et al., 2017). Окрім того, що mTOR приймає участь в передачі сигналів інсуліну, на цьому його дія не закінчується. Даний протеїнкіназний комплекс сприяє й β-окисленню жирних кислот. mTOR може регулювати транскрипційний фактор, що зв'язує регуляторний елемент стеролу (SREBP) шляхом активації S6K або Lipin 1 для контролю біосинтезу жирних кислот. За умов підвищення концентрації аміаку, активність SREBP зростає, що супроводжується пригніченням функціонування Lipin 1 (Cifarelli et al., 2020)

З іншого боку, за даними літературних джерел (Lind et al., 2018) висунуто гіпотезу про те, що за умов надмірного надходження вуглеводів амінокислоти з розгалуженим боковим ланцюгом конкурують за транспортні системи з ароматичними амінокислотами. Тому можна припустити, що інсулін у відповідь на гіперглікемію стимулюватиме транспортери амінокислот периферичних тканин, зокрема лейцину, для ініціації синтезу м'язових білків, що призводить до зниження концентрації цієї амінокислоти у плазмі крові (Akikazu et al., 2020).

Висновки. Дисбаланс нутрієнтів у харчовому раціоні супроводжується порушенням процесів трансамінування лейцину в скелетних м'язах щурів, що характеризується зниженням лейцинаміно-трансферазної активності у мітохондріальній фракції, та, очевидно, пов'язано зі зниженням вмісту лейцину – субстрату даної реакції.

Надмірне споживання сахарози виступає ключовим чинником зниження вмісту лейцину у плазмі крові щурів, що можна розглядати як характеристику внутрішньоклітинного дефіциту даної амінокислоти в м'язах.

References:

1. Akikazu T., Fumiko S., Yukie I., et al. Glucose or Sucrose Intakes and Plasma Levels of Essential and Nonessential Amino Acids. *New Insights Into Metabolic Syndrome*.

- 2020; 1:1-15. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.9225>
2. Chen J., Ou Y., Luo R., et al. SAR1B senses leucine levels to regulate mTORC1 signalling. *Nature*. 2021; 596(7871): 281-284. doi: 10.1038/s41586-021-03768-w.
3. Cifarelli V., Beeman S.C., Smith G.I., et al. Decreased adipose tissue oxygenation associates with insulin resistance in individuals with obesity. *J Clin Invest*. 2020; 130(12): 6688-6699. doi: 10.1172/JCI141828.
4. Drummond M., Reidy P., Baird L., et al. Leucine Differentially Regulates Gene-Specific Translation in Mouse Skeletal Muscle. *The Journal of Nutrition*. 2017; 1: 1-8. doi:10.3945/jn.117.251181.
5. Duan Y., Li F., Li Y., et al. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino Acids*. 2015; 48(1): 41-51. doi:10.1007/s00726-015-2067-1.
6. Fernandes-Lima F., Monte T. L., Nascimento F. A., et al. Short Exposure to a High-Sucrose Diet and the First 'Hit' of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. *Cells Tissues Organs*. 2015-2016; 201(6): 464-472. doi: 10.1159/000446514.
7. Gannon N.P., Vaughan R.A. Leucine-induced anabolic-catabolism: two sides of the same coin. *Amino Acids*. 2015; 48(2): 321-336. doi:10.1007/s00726-015-2109-8.
8. Golonka R.M., Xiao X., Abokor A.A., et al. Altered nutrient status reprograms host inflammation and metabolic health via gut microbiota. *J Nutr Biochem*. 2020; 80: 108360. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108360.
9. Holeček M. Branched-chain amino acid supplementation in treatment of liver cirrhosis: Updated views on how to attenuate their harmful effects on cataplerosis and ammonia formation. *Nutrition*. 2017; 41:80-85. doi:10.1016/j.nut.2017.04.003.
10. Holeček M. Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements. *Nutrition & Metabolism*. 2018; 15(1): 1-12. doi:10.1186/s12986-018-0271-1.
11. Holeček M., Vodeňáková M. Effects of branched-chain amino acids on muscles under hyperammonemic conditions. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2018; 74(4): 523-530. doi:10.1007/s13105-018-0646-9.
12. Kopylchuk G.P., Ivanovich I.Y., Voloshchuk O.M. Peculiarities of ammonia metabolism in the liver of rats under the conditions of different nutrients content in a diet. *Ukr Biochem J*. 2020; 92(4): 71-77.
13. Kopylchuk H.P., Nykolaichuk I.M., Lylyk I.S. Indexes of citrulline metabolism in rat liver under the toxic injury against the background of alimentary protein deficiency. *Ukr. Biochem. J*. 2020; 92: 113-119. <https://doi.org/10.15407/ubj92.01.113>.
14. Li Y., Xiong Z., Yan W., et al. Branched chain amino acids exacerbate myocardial ischemia/reperfusion vulnerability via enhancing GCN2/ATF6/PPAR-α pathway-dependent fatty acid oxidation. *Theranostics*. 2020; 10(12): 5623-5640. doi: 10.7150/thno.44836. eCollection 2020.
15. Lima F., Monte T. L., Nascimento F. A., et al. Short Exposure to a High-Sucrose Diet and the First 'Hit' of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. *Cells Tissues Organs*. 2016; 201(6): 464-472. doi: 10.1159/000446514.
16. Lind T., Lind P.M., Hu L., et al. Studies of indirect and direct effects of hypervitaminosis A on rat bone by comparing free access to food and pair-feeding. *Ups J Med*

- Sci.* 2018; 123(2): 82-85. doi: 10.1080/03009734.2018.1448020.
17. Petersen K., Gary W., Gerald I. Regulation of hepatic mitochondrial oxidation by glucosealanine cycling during starvation in humans. *The Journal of Clinical Investigation.* 2019; 129 (11): 4671-4675.
 18. Rajendram R., Preedy V. R., Patel V. B. Branched Chain Amino Acids in *Clinical Nutrition.* 2015; 2. 342 p.
 19. 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.
 20. Robert T., Taylor W., Jenkins T. Leucine Aminotransferase: I. Colorimetric assays. *J Biol Chem.* 1966; 241: 4391-4395.
 21. Soares J.D.P., Howell S.L., Teixeira F.J., et al. Dietary Amino Acids and Immunonutrition Supplementation in Cancer-Induced Skeletal Muscle Mass Depletion: A Mini-Review. *Curr Pharm Des.* 2020; 26(9): 970-978. doi: 10.2174/1381612826666200218100420.
 22. Tang S., Xie J., Wu W., et al. High ammonia exposure regulates lipid metabolism in the pig skeletal muscle via mTOR pathway. *Science of The Total Environment.* 2020; 740: 1-11. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139917.
 23. Tessari P. Leucine Transamination Is Lower in Middle-Aged Compared with Younger Adults. *The Journal of Nutrition.* 2017; 147(11): 1-6. jn250852. doi:10.3945/jn.117.250852.
 24. Yoshizawa F. Effects of Leucine and Isoleucine on Glucose Metabolism. *Branched Chain Amino Acids in Clinical Nutrition.* 2015; 1: 63-73. doi:10.1007/978-1-4939-1923-9_6.

FEATURES OF LEUCINE TRANSAMINATION IN THE SKELETAL MUSCLES OF RATS UNDER CONDITIONS OF NUTRIENT IMBALANCE IN FOOD RATION

H. P. Kopylchuk, I. M. Nykolaichuk, Yu. V. Sanduliak

The paper presents studies of the features of transamination of leucine in skeletal muscles of rats under conditions of nutrient imbalance in the diet. The distribution of the content of free leucine in muscles and blood plasma, the activity of leucine aminotransferase in muscles under conditions of consumption of excessive sucrose content, lack of dietary protein and the combined effect of two dietary factors were studied. During the experiment, experimental animals consumed a semi-synthetic AIN-93 diet in accordance with the recommendations of the American Institute of Nutrition. For the purpose of simulating alimentary protein deprivation, the animals received a semi-synthetic low-protein diet containing 1/3 of the generally accepted daily protein requirement daily for 28 days. A high-sucrose diet was simulated by increasing the amount of sucrose in the diet by 4 times. The content of leucine in skeletal muscles and blood plasma was determined by the method of chromatographic analysis on an automatic amino acid analyzer T 339. Leucine aminotransferase activity in the mitochondrial fraction of skeletal muscles of rats was assessed by the amount of α -ketoisocaproate formed.

A significant decrease in leucine content in skeletal muscle of protein-deficient rats was found by 42% and by approximately 70% in groups of animals that received excessive amounts of sucrose compared to the values of control animals. Since the excessive consumption of sucrose leads to a maximum decrease in the level of this amino acid in the muscles of animals, this can be considered as one of the mechanisms of disruption of the supply of glucose to insulin-dependent tissues. At the same time, a 40% decrease in leucine aminotransferase activity was recorded in the skeletal muscles of protein-deficient rats; when consuming a high-sucrose diet, the activity of the studied enzyme is reduced by 50% compared to control indicators. The research results show a decrease in the concentration of leucine in the blood plasma of all experimental groups of animals compared to control indicators. The lowest values of the level of this amino acid were recorded under conditions of consumption of an excess amount of sucrose, regardless of the protein content in the diet.

Nutrient imbalance in the diet is accompanied by a violation of leucine transamination processes in the skeletal muscles of rats, which is characterized by a decrease in leucine aminotransferase activity in the mitochondrial fraction, and is obviously associated with a decrease in the content of leucine, the substrate of this reaction. Excessive consumption of sucrose is a key factor in reducing the content of leucine in the blood plasma of rats, which can be considered as a characteristic of the intracellular deficiency of this amino acid in muscles.

Keywords: leucine, leucine aminotransferase, skeletal muscles, high-sucrose diet, alimentary protein deprivation.

Отримано редколегією 07.04.2022