
Zakład Chemii Ogólnej, Instytut Chemii Podstawowych, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Stanisław Biliński

Jerzy ISKIERKO, Mieczysław OSINIAK,
Barbara KANADYS-SOBIERAJ

**Zawartość wolnych aminokwasów w surowicy krwi ludzi
w niektórych schorzeniach wątroby**

Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови людей при некоторых
болезнях печени

Contents of Free Amino Acids in the Human Blood Serum in some Liver Diseases

Wątroba jest narządem dominującym w różnorodności i liczebności przemian metabolicznych, jakie się w tym organie dokonują (5). Narząd ten wywiera zasadniczy wpływ na metabolizm większości składników krwi i tkanek. Między innymi w wątrobie odbywają się procesy dezaminacji aminokwasów oraz synteza białek osocza. Różne schorzenia i uszkodzenia wątroby prowadzą do zmiany metabolizmu aminokwasowego i białkowego. Z tych powodów wielu badaczy interesowało się wpływem określonych schorzeń wątroby na zawartość białek i różnych składników azotowych surowicy krwi ludzi chorych.

Knauff, Seybold i wsp. (3, 4) zbadali zawartość wolnych aminokwasów w surowicy krwi ludzi z marskością i wirusowym zapaleniem wątroby. Katarjewa i Jeremienko (2) zajmowali się oznaczaniem wolnych aminokwasów w surowicy krwi ludzi z nadciśnieniem zwrotnym spowodowanym marskością wątroby i blokiem pozawątrobowym. Większość prac dotyczyła badań wpływu zapalenia wirusowego i marskości wątroby na zawartość wolnych aminokwasów w surowicy krwi

W przedstawionej pracy zajęto się wpływem zóltaczki mechanicznej niewirusowej oraz kamicy wątrobowej na zmiany stężenia wolnych aminokwasów. Poza tym przeprowadzono wstępne, sondujące analizy stężenia wolnych aminokwasów w kilku przypadkach zóltaczek niezakaźnych o nie ustalonej etiologii i nowotworu wątroby. Punkt odniesienia i materiał porównawczy stanowiła zawartość wolnych aminokwasów w surowicy fizjologicznej pobranej od ludzi zdrowych.

MATERIAŁY I METODY

Użyto wzorcowych aminokwasów firmy Nutritional Biochemicals Corporation Cleveland Ohio USA. Sporządzono z nich roztwory wzorcowe o stężeniu 10^{-3} mol/l. Wzorcowe roztwory aminokwasów nanoszono na arkusze bibuły Whatman nr 3 o wymiarach 40×44 cm we wzrastających stężeniach wyrażonych w mg%. Odległości pomiędzy poszczególnymi naniesieniami wynosiły 3 cm. Po pasmowym nakropieniu wzorcowych roztworów aminokwasów bibułę suszono w strumieniu ciepłego powietrza za pomocą suszarki. Arkusze bibuły zszywano w kształcie cylindra i umieszczano w szklanych kamerach chromatograficznych o wymiarach 20×40 cm. Chromatogramy rozwijano dwukrotnie układem: n-butanol—lodowaty kwas octowy—woda (4:1:1). Czas dwukrotnego rozwijania chromatogramu wynosił 96 godz. Chromatogramy suszono w temperaturze pokojowej aż do zaniku zapachu rozpuszczalników i wywołano metodą Barrouliera (1) acetonowym roztworem ninhy-

Tab. 1. Wolne aminokwasy w surowicy fizjologicznej i w przypadkach kamicy
Free amino acids in the normal serum and in cases of hepatic

L.p.	Cys. mg%			Liz. his. arg. mg%			Ser. gli. mg%			Glu. treo mg%		
	SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW
1.	—	0,15	0,12	0,63	0,40	0,57	0,36	0,14	0,22	0,42	0,07	0,56
2.	—	0,09	0,17	0,75	0,32	0,40	0,33	0,19	0,28	0,45	0,12	0,48
3.	—	0,05	0,14	0,75	0,32	0,38	0,40	0,19	0,30	0,39	0,07	0,38
4.	—	0,05	0,10	0,75	0,42	0,58	0,36	0,18	0,20	0,42	0,11	0,56
5.	—	0,12	0,18	0,80	0,30	0,39	0,33	0,16	0,23	0,45	0,11	0,45
6.	—	0,13	0,14	0,82	0,32	0,40	0,33	0,20	0,27	0,49	0,11	0,35
7.	—	0,08	0,10	0,80	0,30	0,39	0,40	0,16	0,19	0,33	0,07	0,45
8.	—	0,06	0,18	0,70	0,30	0,56	0,40	0,14	0,27	0,33	0,11	0,57
9.	—	0,09	0,11	0,75	0,32	0,52	0,33	0,13	0,28	0,39	0,12	0,56
10.	—	0,12	0,16	0,63	0,36	0,56	0,33	0,13	0,28	0,42	0,11	0,40
11.	—	0,08	0,13	0,80	0,34	0,56	0,31	0,12	0,20	0,45	0,10	0,35
12.	—	0,09	0,17	0,82	0,38	0,40	0,31	0,16	0,24	0,40	0,12	0,48
13.	—	0,10	0,12	0,70	0,36	0,54	0,40	0,16	0,26	0,39	0,12	0,42
\bar{x}	—	0,09	0,14	0,75	0,34	0,49	0,35	0,16	0,26	0,41	0,10	0,47
S		0,0338	0,0322	0,0683	0,0434	0,0702	0,0392	0,0283	0,0429	0,0506	0,0283	0,0883
A		0,06—0,15	0,10—0,18	0,63—0,82	0,30—0,42	0,38—0,58	0,31—0,40	0,12—0,20	0,17—0,28	0,33—0,45	0,07—0,12	0,35—0,57

Objaśnienia: SF — surowica fizjologiczna, KW — kamica wątrobową, Z+KW — żółtaczka mechaniczna połączona z kamicą, \bar{x} — średnia arytmetyczna zbiorowości próbnej, S — odchylenia standardowe pojedynczego wyniku, A — przedział zmienności.

dryny, zawierającym jony kadmu jako kompleksora barwnego produktu reakcji aminokwasów z ninhydryną tzw. „Dyda” (dwuketohydrindylideno-dwuketohydrindaminy). Czerwono-różowe plamy kompleksów wycinano z bibuły i eluowano 10 ml 70% metanolu. Gęstość optyczną eluatu mierzono w fotokolorymetrze „Specol” firmy Carl Zeiss — Jena, przy długości fali 510 m μ . Grubość warstwy przepuszczającej wynosiła 1 cm.

Srednia arytmetyczna, uzyskana z 5 pomiarów ekstynkcji dla różnych stężeń poszczególnych aminokwasów, służyła do sporządzenia krzywych wzorcowych zależności ekstynkcji od stężenia aminokwasów. Wyniki pomiarów zestawiono w tab. 1.

Materiał doświadczalny stanowiło 13 surowic pobranych od ludzi zdrowych oraz po 13 surowic ludzi cierpiących na kamieć wątrobową, żółtaczkę mechaniczną niezakaźną połączoną z kamiecią wątrobową. Poza tym przebadano 5 surowic ludzi z żółtaczką niezakaźną o nie znanej etiologii i 5 surowic przypadku nowotworu wątroby. Krew do badań otrzymano ze szpitala zespólnego w Lublinie. Była ona pobierana od pacjentów w wieku 21—57 lat, rano przed podaniem pierwszego posiłku.

wątrobowej oraz żółtaczki mechanicznej w połączeniu z kamiecią wątrobową
calculi and obstruction jaundice combined with hepatic calculi

Ala. mg%			Tyr. mg%			Wal. mg%			Fen. mg%			Leu. ileu. mg%		
SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW	SF	KW	Z+KW
0,30	0,06	0,30	0,14	—	0,26	0,30	0,03	0,61	—	—	0,22	0,19	0,05	0,52
0,26	0,06	0,18	0,14	—	0,24	0,32	0,04	0,51	—	—	0,30	0,19	0,07	0,43
0,23	0,07	0,21	0,18	—	0,16	0,26	0,04	0,20	—	—	0,18	0,23	0,05	0,38
0,26	0,06	0,22	0,14	—	0,19	0,24	0,06	0,51	—	—	0,21	0,19	0,05	0,54
0,30	0,05	0,22	0,12	—	0,19	0,24	0,08	0,50	—	—	0,16	0,15	0,05	0,54
0,22	0,05	0,28	0,18	—	0,26	0,20	0,08	0,50	—	—	0,26	0,23	0,05	0,35
0,30	0,06	0,24	0,14	—	0,22	0,20	0,06	0,30	—	—	0,21	0,23	0,03	0,39
0,31	0,06	0,30	0,14	—	0,19	0,26	0,05	0,30	—	—	0,30	0,18	0,03	0,47
0,28	0,09	0,30	0,14	—	0,22	0,32	0,03	0,45	—	—	0,28	0,26	0,05	0,39
0,22	0,06	0,18	0,11	—	0,22	0,32	0,04	0,50	—	—	0,16	0,19	0,05	0,40
0,22	0,07	0,18	0,11	—	0,24	0,30	0,04	0,35	—	—	0,21	0,22	0,05	0,45
0,28	0,08	0,22	0,13	—	0,21	0,28	0,03	0,45	—	—	0,20	0,20	0,06	0,48
0,23	0,06	0,26	0,12	—	0,22	0,24	0,06	0,50	—	—	0,22	0,23	0,04	0,38
0,26	0,06	0,24	0,14	—	0,22	0,27	0,05	0,44	—	—	0,22	0,21	0,05	0,44
0,0386	0,152	0,056	0,0243	—	0,0323	0,047	0,0192	0,0899	—	—	0,0524	0,0322	0,0118	0,0714
0,22—0,31	0,05—0,09	0,18—0,30	0,11—0,18	—	0,16—0,20	0,20—0,32	0,03—0,08	0,20—0,61	—	—	0,16—0,30	0,15—0,23	0,03—0,07	0,35—0,52

Explanation: SF — normal serum, KW — hepatic calculus, Z+KW — obstruction jaundice combined with hepatic calculus, \bar{x} — arithmetic mean in a sample, S — standard deviations of one result, A — variance interval.

Tab. 2. Wolne aminokwasy w surowicy fizjologicznej; oraz w przypadkach
Free amino acids in the normal serum and in cases of obstruction

L.p.	Cys. mg%			Liz. his. arg. mg%			Ser. gli. mg%			Glu. treo. mg%		
	SF	ZN	RW	SF	ZN	RW	SF	ZN	RW	SF	ZN	RW
1.	—	0,09	1,15	0,63	0,32	9,60	0,36	0,09	0,33	0,42	0,11	2,80
2.	—	0,05	1,08	0,75	0,42	2,80	0,33	0,11	0,16	0,45	0,16	1,70
3.	—	0,08	1,20	0,75	0,35	2,20	0,40	0,13	0,26	0,39	0,14	2,20
4.	—	0,10	1,12	0,75	0,38	3,20	0,36	0,10	0,24	0,42	0,12	2,50
5.	—	0,07	1,22	0,80	0,36	2,40	0,33	0,12	0,21	0,39	0,16	1,90
6.	—	—	—	0,82	—	—	0,33	—	—	0,45	—	—
7.	—	—	—	0,82	—	—	0,40	—	—	0,49	—	—
8.	—	—	—	0,80	—	—	0,40	—	—	0,33	—	—
9.	—	—	—	0,70	—	—	0,33	—	—	0,33	—	—
10.	—	—	—	0,75	—	—	0,31	—	—	0,39	—	—
11.	—	—	—	0,63	—	—	0,33	—	—	0,42	—	—
12.	—	—	—	0,80	—	—	0,36	—	—	0,45	—	—
13.	—	—	—	0,75	—	—	0,40	—	—	0,40	—	—
\bar{x}	—	0,80	0,15	0,75	0,36	0,85	0,35	0,11	0,24	0,41	0,14	2,20
S	—	0,0123	0,0363	0,0683	0,0130	0,1155	0,0392	0,01	0,0397	0,0506	0,0145	0,250
A	—	0,05—0,10	0,05—0,10	0,63—0,82	0,32—0,42	2,8—32	0,31—0,40	0,09—0,13	0,16—0,33	0,33—0,45	0,11—0,16	1,7—2,8

Objaśnienia: SF — surowica fizjologiczna, ZN — żółtaczka niezakaźna o nie ustalonej etiologii, RW — rak wątroby, \bar{x} — średnia arytmetyczna zbiorowości próbnej, S — odchylenia standardowe pojedynczego wyniku, A — przedział zmienności.

Do 2 ml analizowanej krwi dolewano 8 ml 96% etanolu i pozostawiano na 2 godz. w lodówce, a następnie odwirowywano i odrzucano białko i czerwone krwinki. Przesącz po wytrąceniu białka zadawano 4 ml etanolu zawierającego stężony kwas solny (9,5 ml etanolu + 0,5 ml 6 N HCl). Jeśli roztwór był klarowny, doprowadziło to całkowitego wytrącenia się białka i odparowywano go promiennikami podczerwonymi. Suchą pozostałość, zawierającą chlorowodorki aminokwasów, rozpuszczano w 0,5 ml wody destylowanej i nanoszono na bibułę Whatman nr 3. Na jednym arkuszu bibuły nanoszono materiał doświadczalny obok wzorcowych roztworów aminokwasów i w tych samych warunkach doświadczalnych przeprowadzano rozdział chromatograficzny, wywoływanie i elucje aminokwasów. W ten sposób kompensowano błędy metody, a uzyskane wyniki mogły stanowić materiał do wyciągania wniosków z przeprowadzonej analizy porównawczej wolnych aminokwasów.

żółtaczkę niezakaźną o nie ustalonej etiologii i nowotworu wątroby
jaundice of unknown etiology and in hepatic neoplasma

Ala. mg%			Tyr. mg%			Wal. mg%			Fen. mg%			Leu. ileu. mg%		
SF	ŻN	RW	SF	ŻN	RW	SF	ŻN	RW	SF	ŻN	RW	SF	ŻN	RW
0,30	0,17	0,82	0,14	0,27	0,75	0,32	0,10	1,28	—	0,25	0,82	0,23	0,02	1,26
0,26	0,22	0,35	0,14	0,27	0,22	0,30	0,13	0,72	—	0,24	0,58	0,19	0,03	1,68
0,23	0,15	0,75	0,18	0,32	0,55	0,26	0,12	1,12	—	0,28	0,65	0,19	0,04	1,20
0,26	0,20	0,90	0,14	0,21	0,75	0,24	0,15	0,95	—	0,22	0,75	0,23	0,03	1,45
0,30	0,14	0,85	0,12	0,24	0,65	0,24	0,10	1,05	—	0,25	0,80	0,19	0,03	1,50
0,22			0,18			0,20			—	0,25	0,70	0,15		
0,30			0,14			0,20						0,23		
0,31			0,14			0,26						0,23		
0,28			0,14			0,32						0,18		
0,22			0,11			0,32						0,26		
0,22			0,11			0,30						0,19		
0,28			0,13			0,28						0,22		
0,23			0,12			0,24						0,20		
0,26	0,18	0,71	0,14	0,26	0,58	0,27	0,12	1,02				0,21	0,03	1,41
0,0383	0,0214	0,1245	0,0243	0,0259	0,1474	0,047	0,0134	0,1317	—	0,0138	0,0513	0,0683	0,00447	0,1221
0,22—0,31	0,14—0,22	0,35—0,90	0,11—0,18	0,21—0,27	0,22—0,75	0,20—0,32	0,10—0,15	0,72—1,28	—	0,22—0,28	0,15—0,23	0,02—0,04	1,20—1,68	

Explanation: SF — normal serum, ŻN — obstruction jaundice of unknown etiology, RW — hepatic neoplasma, \bar{x} — arithmetic mean of a sample; S — standard deviations of one result, A — variance interval.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Uzyskane wyniki, zestawione w tab. 1, uwidaczniają istotne zmiany w zawartości wolnych aminokwasów w surowicy krwi ludzi z kamicią wątrobową oraz żółtaczką mechaniczną połączoną z kamicią w porównaniu do surowic krwi ludzi zdrowych. W przypadku kamicy wątrobowej zmniejszało się stężenie aminokwasów zasadowych, lizyny, histydyny i argininy, glicyny, seryny i alaniny oraz kwasu glutaminowego, treoniny, tyrozyny, waliny, leucyny i izoleucyny. Natomiast w przypadku żółtaczki mechanicznej połączonej z kamicią wątrobową wzrastało stężenie waliny, kwasu glutaminowego, treoniny i leucyny. W obu omawianych przypadkach chorobowych zwiększało się stężenie cystyny.

Wyniki dotyczące zawartości wolnych aminokwasów w kilku przypadkach żółtaczki niezakaźnej o nie ustalonej etiologii i nowotworu wątroby zestawiono w tab. 2. W żółtaczce o nie ustalonej etiologii obniżała się zawartość aminokwasów zasadowych, glicyny, kwasu glutaminowego, alani-

ny, waliny, leucyny, izoleucyny oraz hydroksyaminokwasów, seryny i treoniny. Jednocześnie wzrastała zawartość tyrozyny i fenyloalaniny. W przypadku nowotworu wątroby poza glicyną stężenie wszystkich pozostałych aminokwasów znacznie wzrastało, niektórych aminokwasów nawet siedmiokrotnie w porównaniu do surowic fizjologicznych.

Żółtaczka mechaniczna może prowadzić do zaburzeń i uszkodzeń błony półprzepuszczalnej komórek wątrobowych, a zatem wpływać na resorbcję poszczególnych aminokwasów z wątroby do krwi. Wzrasta również aktywność niektórych transaminaz. Fakty te mogą tłumaczyć zmianę w stężeniu wolnych aminokwasów w surowicy krwi ludzi z żółtaczką mechaniczną.

Łączne uszkodzenie błon komórkowych, połączone z niedrożnością dróg żółciowych, jakie występuje w przypadku żółtaczki mechanicznej wraz z kamicą wątrobową, powoduje wzrost aktywności aminotransferazy alaminowej i asparaginowej.

Uzyskanych w przedstawionej pracy wyników nie można porównywać czy też dyskutować z danymi opublikowanymi przez Knauffa, Seybolda i Kantersa (3, 4), gdyż zajmowali się oni badaniem stężenia wolnych aminokwasów w przypadkach wirusowego zapalenia wątroby oraz marskości wątroby.

Obserwowany duży wzrost aminokwasów w przypadku nowotworu wątroby może wiązać się z postępującą marskością wątroby i z samotrąwieniem tkanki przez endoenzymy wydobywające się przy rozpadzie tkanki nowotworowej. Określenie użyteczności diagnostycznej badania zawartości wolnych aminokwasów w omawianych przypadkach chorób wątroby wymaga dalszych badań na większym materiale doświadczalnym. Uzyskane wyniki sygnalizują tylko wyraźne zmiany w metabolizmie aminokwasowym tkanki wątrobowej w wyżej wymienionych przypadkach chorobowych.

PISMIENICTWO

1. Barroullier J.: *Naturwiss.* **14**, 416, 1955.
2. Katajewá G. A., Jeriemienko W. P.: *Wiestn. Khir.* **106**, 10—14, 1971.
3. Knauff H. G., Seybold D.: *Klin. Wohensr.* **42**, 326—332, 1964.
4. Knauff H. G., Seybold D., Kanters A.: *Klin. Wohensr.* **43**, 382—390, 1965.
5. Kubicki S.: *Żółtaczki*. PZWL, Warszawa 1968.

Otrzymano 15 X 1979.

РЕЗЮМЕ

Исследовано изменения в содержании свободных аминокислот в сыворотке крови у больных печёночно-каменной болезнью, и при неинфекционной желтухе, выступающей одновременно с печёночно-каменной болезнью. Кроме того исследовано сыворотку больных механической желтухой неизвестной этиологии и новообразованием печени. Обнаружена значительная разница в содержании свободных аминокислот в вышеприведенных случаях по сравнению с концентрацией аминокислот в физиологических сыворотках.

SUMMARY

Variations in the contents of free amino acids in the blood human serum in cases of hepatic calculus, and in obstruction jaundice combined with hepatic calculus, were examined. Some human sera, taken from the patients affected with obstruction jaundice, of unknown etiology, and with hepatic neoplasma, were examined. Significant differences in the concentrations of free amino acids in the above cases were observed in comparison with those found in the normal serum.

