

## ВПЛИВ L-ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ НА ОКРЕМІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ

Н. О. Салига

Інститут біології тварин НААН

*Наведено дані про вплив перорального введення щурам 60 і 150 мг/добу глютамінової кислоти на деякі імунологічні показники крові щурів та активність аланін- та аспартатамінотрансфераз. Як показують результати досліджень, застосування глютамінової кислоти сприяє зростанню фагоцитарної активності нейтрофілів у тварин, що отримували 60 мг/добу глютамінової кислоти та достовірному зростанню активності аланінамінотрансферази і загального білка в обох дослідних групах. Пероральне введення глютамінової кислоти сприятливо впливає на багато органів і систем, що може значно знизити ступінь гіперкатаболізму, відновити показники білкового обміну при стресах.*

**Ключові слова:** ГЛУТАМІНОВА КИСЛОТА, ЛЕЙКОЦИТИ, СТРЕС, ФАГОЦИТАРНА АКТИВНІСТЬ, АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗА (АЛАТ), АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗА (АСАТ)

Ензими, залучені у метаболізм глютамінової кислоти і глютаміну займають центральне місце у амінокислотному обміні. Глутамінова кислота у реакціях трансамінування є донором аміногруп, які поповнюють пул амінокислот для забезпечення біосинтетичних потреб організму, а також є з'єднувальною ланкою з енергетичним метаболізмом клітин [1–3]. З іншого боку, реакції синтезу глютамінової кислоти і глютаміну один із важливих механізмів знешкодження надлишку аміаку в організмі. Загальновідомо, що  $\text{NH}_3$  дуже токсичний. Організм використовує протягом дня велику кількість глютамінової кислоти. Особливо багато її потрібно для підтримки функціонування імунної системи, нирок, підшлункової залози, жовчного міхура і печінки. Крім того, глютамін використовується як попередник антиоксиданту – глутатіону (синтезується з глютаміну, цистеїну і гліцину) [4–6].

Глутамінова кислота відіграє одну з основних ролей в азотному обміні, бере участь в білковому і вуглеводному обміні, стимулює окислювальні процеси, попереджує зниження окисно-відновного потенціалу, підвищує стійкість організму до гіпоксії, нормалізує обмін речовин, змінюючи функціональний стан нервової і ендокринної систем, нормалізує процеси гліколізу в тканинах, проявляє гепатопротекторну дію. При стресових станах вона здатна перетворюватися в аміномасляну кислоту, яка є гальмівним нейромедіатором [7, 8]. У здоровому організмі глютамінова кислота синтезується і використовуються для забезпечення функцій клітин, що швидко діляться, зокрема, імунних. Наявність рецепторів глютамінової кислоти на клітинах імунної системи дозволяє вважати глютамінову кислоту не лише нейро-, але і імуномодулятором [9].

Велику кількість глютамінової кислоти використовують метаболічні процеси, що відбуваються в організмі тварин та людини при стресах і захворюваннях [10, 11]. Дослідження обміну глютамінової кислоти є важливими для з'ясування її ролі у метаболічних процесах, детоксикації надлишків аміаку, представляє значний інтерес для вирішення багатьох фундаментальних та практичних проблем, пов'язаних з білковим обміном.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, які були розділені на 3 групи по 10 тварин у групі (дві дослідні та одна контрольна). Тривалість дослідного періоду 1 місяць. Усім групам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Тваринам дослідних груп вводився водний розчин глютамінової кислоти в дозі 60 мг та 150 мг відповідно (1 раз на добу, перорально). Щурам контрольної групи упродовж 30-ти днів перорально вводили таку ж кількість дистильованої води. Після закінчення досліду тварин декапітували за анестезії ефіром. Матеріалом для досліджень служила кров лабораторних щурів після забою. У цільній крові визначали загальну кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоформулу, фагоцитарну активність нейтрофілів [12]. У плазмі крові визначали АЛАТ і АСАТ [12]. Цитологічний аналіз клітин проводили шляхом фарбування фіксованих метанолом висушених мазків за методом Романовського-Гімза. Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стюдента.

### Результати й обговорення

Результати досліджень показали (табл. 1), що загальна кількість еритроцитів після застосування глютамінової кислоти була на одному рівні у всіх груп тварин і знаходилась в межах фізіологічної норми. Загальна кількість лейкоцитів теж не зазнавала змін у порівнянні з контролем.

Таблиця 1

### Кількість еритроцитів та лейкоцитів у крові щурів

**після застосування глютамінової кислоти ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

| Група тварин   | Показники       |                 |
|----------------|-----------------|-----------------|
|                | Еритроцити, Т/л | Лейкоцити, Г/л  |
| К              | $5,88 \pm 0,24$ | $6,70 \pm 0,64$ |
| Д <sub>1</sub> | $6,31 \pm 0,09$ | $6,85 \pm 0,58$ |
| Д <sub>2</sub> | $5,80 \pm 0,22$ | $6,90 \pm 0,40$ |

*Примітка:* у цій і наступних таблицях: \* – вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною та дослідними групами тварин (\* – \*\*\*  $p < 0,05$ – $p < 0,001$ ).

Після введення глютамінової кислоти не спостерігалось відмінностей досліджуваних показників клінічного стану крові лабораторних щурів від фізіологічної норми. Незрілих і патологічних форм еритроцитів та лейкоцитів у крові тварин дослідних груп виявлено не було, що підтверджує позитивний вплив глютамінової кислоти на інтенсивність гемопоезу в організмі щурів.

Лейкоцитарна формула експериментальних тварин представлена в таблиці 2. В організмі процентний вміст одних видів лейкоцитів зменшується чи збільшується за рахунок зменшення або збільшення інших видів лейкоцитів. За аналізом лейкоцитарної формули крові можна судити про стан протікання патологічних процесів, про появу ускладнень. Показники лейкограми периферичної крові у щурів дослідних груп, достовірно не відрізнялися від показників контрольної групи.

Як відомо, в організмі тварин поряд з функціонуванням специфічних до конкретних антигенів форм реагування (імуноглобуліни різних класів, реакції клітинного імунітету), наявні філогенетично більш древні фактори неспецифічної резистентності організму. Ця форма резистентності забезпечує першу лінію захисту організму до пошкоджуючих факторів і лежить в основі природного імунітету.

Таблиця 2

**Лейкоцитарна формула крові щурів після застосування глютамінової кислоти ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

| Група тварин   | Лімфоцити, %     | Базофіли, % | Еозинофіли, % | Моноцити, % | Нейтрофіли |                   |                    |
|----------------|------------------|-------------|---------------|-------------|------------|-------------------|--------------------|
|                |                  |             |               |             | Юні, %     | Паличко-ядерні, % | Сегменто-ядерні, % |
| К              | $67,20 \pm 1,66$ | —           | 1.20          | 0.40        | —          | 1.00              | $30.20 \pm 1,39$   |
| Д <sub>1</sub> | $66,80 \pm 2,20$ | —           | 1.60          | 0.80        | —          | 1.00              | $29.80 \pm 0,97$   |
| Д <sub>2</sub> | $70,00 \pm 1,26$ | —           | 1.00          | 0.80        | —          | 1.40              | $26.80 \pm 1,20$   |

Фагоцитарна активність нейтрофілів, котру оцінювали за допомогою НСТ-тесту вказує на метаболічний потенціал фагоцитів. Відповідно зниження активності й інтенсивності фагоцитозу розцінюють, як показник послаблення поглинальної функції фагоцитів [13]. Аналіз даних таблиці (табл. 3) свідчить про те, що фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів, у тварин першої дослідної групи була достовірно вищою у порівнянні з тваринами контрольної групи ( $p < 0,01$ ). Що стосується тварин другої дослідної групи, які отримували вищу дозу глютамінової кислоти цей показник був на одному рівні з тваринами контрольної групи.

Таблиця 3

**Фагоцитарна активність нейтрофілів щурів після застосування глютамінової кислоти, ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

| Група тварин   | Показники             |
|----------------|-----------------------|
|                | НСТ-тест, %           |
| К              | $8,00 \pm 0,24$       |
| Д <sub>1</sub> | $10,40 \pm 0,51^{**}$ |
| Д <sub>2</sub> | $7,80 \pm 1,12$       |

Відомо, що білковий обмін є інтегруючою ланкою всіх систем організму. Результати наших досліджень показали, що вміст загального білка в плазмі крові щурів двох дослідних груп достовірно зростає ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем (табл.4). Ці дані можуть свідчити про активацію анаболічних та збільшення білоксинтезуючих процесів у організмі щурів під впливом глютамінової кислоти.

Таблиця 4

**Концентрація загального білка в плазмі крові щурів після застосування глютамінової кислоти, г/л ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

| Група тварин   | Показник                |
|----------------|-------------------------|
| К              | $85,88 \pm 3,15$        |
| Д <sub>1</sub> | $102,58 \pm 1,53^{***}$ |
| Д <sub>2</sub> | $96,28 \pm 2,95^*$      |

Про рівень білкового обміну в організмі свідчить інтенсивність процесів переамінування, які характеризуються активністю двох амінотрансфераз. У зв'язку з посиленням біосинтезу білків в організмі щурів підвищується активність реакцій переамінування [14, 15]. Аланінамінотрансфераза (АлАТ) каталізує реакцію між L-аланіном і 2-оксоглутаратом, в результаті якої вони перетворюються в L-глутамат і сіль піровиноградної кислоти. У наших дослідженнях встановлена достовірно вища активність АлАТ ( $p < 0,01$ ) у тварин обох дослідних груп (табл. 5), що може пояснюватись посиленням в них анаболічних процесів. Що стосується аспартатамінотрансферази (АсАТ), яка каталізує реакцію між L-аспартатом і 2-оксоглутаратом, в результаті якої вони перетворюються в L-глутамат и оксалоацетат, то достовірних змін між дослідними та контрольною групами не виявлено.

Таблиця 5

**Активність амінотрансфераз в плазмі крові щурів, ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

| Група тварин   | Показники              |                        |
|----------------|------------------------|------------------------|
|                | АсАТ (мкмоль /год× мл) | АлАТ (мкмоль /год× мл) |
| К              | $1,17 \pm 0,06$        | $0,38 \pm 0,005$       |
| Д <sub>1</sub> | $1,22 \pm 0,03$        | $0,47 \pm 0,03^{**}$   |
| Д <sub>2</sub> | $1,13 \pm 0,02$        | $0,45 \pm 0,02^{**}$   |

У результаті роботи амінотрансфераз аміний азот багатьох амінокислот переходить до складу глутамату. Є підстави вважати, що накопичення аміногруп у формі глютамінової кислоти відбувається в цитозолі. Потім глутамат за допомогою транслоказ потрапляє в мітохондрії, де активна специфічна АсАТ. У результаті дії цього ферменту глутамат знову перетворюється на  $\alpha$ -кетоглутарат, що використовується для непрямого дезамінування амінокислот, які містяться у мітохондріях. Це дуже

важливо, тому що тільки глутамат в тканинах ссавців найшвидше може піддаватися окислювальному дезамінуванню.

#### **Висновки**

Застосування глутамінової кислоти сприяє зростанню фагоцитарної активності нейтрофілів у тварин першої дослідної групи та достовірному зростанню активності аланінамінотрансферази і загального білка у двох дослідних групах тварин у порівнянні з контролем.

*N. O. Salyha*

#### **INFLUENCE OF L-GLUTAMIC ACID ON SOME BLOOD PARAMETERS OF RATS**

##### **S u m m a r y**

The data concerning the influence of per oral introduction 60 and 150 mg/d of glutamic acid on some immunological parameters in rat blood and the activity of alanine- and aspartate aminotransferase are presented in the article. Results of our investigations shows that use of glutamic acid promotes the phagocytic activity of neutrophils in animals that received 60 mg/d of glutamic acid and reliable growth activity of alanine aminotransferase and total protein in the two experimental groups of animals. Per os input of glutamic acid positive affects on many organs and systems that can significantly reduce the degree of hypercatabolism, restore indexes of protein metabolism during stress.

*Н. О.Салыга*

#### **ВЛИЯНИЕ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ОТДЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС**

##### **А н н о т а ц и я**

Приведены данные о влиянии перорального введения крысам 60 и 150 мг/сутки глутаминовой кислоты на некоторые иммунологические показатели крови крыс и активность аланин- и аспаратаминотрансфераз. Как показывают результаты исследований, применение глутаминовой кислоты способствует росту фагоцитарной активности нейтрофилов у животных получавших 60 мг/сутки глутаминовой кислоты и достоверному росту активности аланинаминотрансферазы и общего белка в обеих опытных группах. Пероральное введение глутаминовой кислоты благоприятно влияет на многие органы и системы, что может в значительной степени снизить степень гиперкатаболизма, восстановить показатели белкового обмена при стрессах.

1. *Stylianios Michalakis*. The Glutamic Acid–Rich Protein Is a Gating Inhibitor of Cyclic Nucleotide–Gated Channels / Stylianios Michalakis, Xiangang Zong, Elvir Becirovic, et al // *The Journal of Neuroscience*. – 2011. – Vol.31(1). – P. 133–141.
2. *Tara M. DeSilva*. Regulation of Glutamate Transport in Developing Rat Oligodendrocytes / Tara M. DeSilva, Anatoli Y. Kabakov, Patricia E. Goldhoff, et al // *The Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 29(24). – P. 7898–7908.
3. *Newsholme P.* Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function / Newsholme P., Procopio J., Lima M. M., et al // *Cell Biochem Funct*. – 2003. – Vol. 21. – P.1–9.
4. *Yuan L.* Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity / L. Yuan, N. Kaplowitz // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2009. – Vol. 30, Issues 1–2. – P. 29–41.
5. *Shelly C. Lu*. Regulation of glutathione synthesis / Shelly C. Lu // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2009. – Vol. 30, Issues 1–2. – P. 42–59.
6. *Magdalena L.* Glutathione and apoptosis / Magdalena L. Circu, Tak Yee Aw // *Free Radical Research*. – 2008. – Vol.42 (8). – P. 689–706.
7. *Косицын Н. С.* Общих физиологические физиологические механизмы воздействия глутамата на центральную нервную систему / Косицын Н. С., Сапеев А. О., Мошарова И. В. // *Успехи физиологических наук*. – 2004. – N 1. – С.20–42.
8. *Фалалеева Т. М.* Роль центральных та периферичних моноотропних глутаматних рецепторів АМПА та кайнатного типу в регуляції шлункової секреції кислоти у щурів : доповіді Національної академії наук України / Т. М. Фалалеева, Т. В. Берегова. – 2010. – №7. – С. 155–157.
9. *Костанян И. А.* Изучение влияния L–глутаминовой кислоты на рецепцию цитокинов клетками HL–60 / Костанян И. А., Нуриева Р. И., Наволоцкая Е. В., и др. // *Биоорганическая химия*. – 1998. – Т.24, №1. – С.3–9.
10. *Franco R.* The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases / R. Franco, O. J. Schoneveld, A. Pappa et al // *Archives of Physiology and Biochemistry*. – 2007. – Vol. 113, Issues 4–5. – P. 234–258.

11. *Roth E.* Nonnutritive effects of glutamine / Roth E. // J Nutr. – 2008. – Vol.138. – P. 2025S–31S.
12. *Влізло В. В.* Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. А. Макар та ін. – Львів, 2004. – 400с.
13. *Roth E.* Glutamine: effects on the immune system, protein balance and intestinal functions / Roth E, Spittler A, Oehler R. // Wien Klin Wochenschr. – 1996. – Vol. 108(21). – P.669–676.
14. *Newsholme P.* Glutamine and glutamate as vital metabolites / Newsholme P., Lima M. M., Procopio J. et al. // Braz J Med Biol Res. – 2003. – Vol. 36. – P.153–163.
15. *Roth E.* Regulative potential of glutamine–relation to glutathione metabolism. Nutrition / Roth E., Oehler R., Manhart N., et al – 2002. – Vol. 18(3). – P.217–21.

**Рецензент:** завідувач лабораторії живлення великої рогатої худоби, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. Вудмаска І. В.