

УДК: 612.398.192:577.15

Н.О. Салига, О.З. Сварчевська, І.Я. Максимович

**РОЛЬ L-ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ У ПРОЦЕСАХ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ**

*Вивчено вплив додаткового (10% і 25% відповідно) введення до раціону L-глутамінової кислоти (L-Glu) на активність антиоксидантних ензимів. Встановлено, що збагачення раціону щурів L-Glu протягом 30 діб приводило до змін активності глутатіонової ланки антиоксидантного захисту, зокрема, відновленого глутатіону (GSH), глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіонтрансферази (ГТ) в еритроцитах крові щурів. Зокрема, показано, що у тварин, які додатково отримували 10% L-Glu до раціону спостерігали зростання активності ГПО та вмісту GSH порівняно до контролю. В еритроцитах щурів, які отримували додатково 25% L-Glu зростає вміст GSH, активність ГПО та ГТ. Логічним буде припустити, що L-Glu виступала субстратом для синтезу GSH de novo. Відповідно високий рівень внутрішньоклітинного GSH приводив до активації ГПО. Активність глутатіонредуктази (ГР) в еритроцитах крові щурів обох дослідних груп була практично на одному рівні порівняно з тваринами контрольної групи. Очевидно, високий рівень GSH за дії L-Glu проявляє інгібуючий ефект на активність ГР. Оскільки L-Glu може розглядатися як адаптоген широкого спектру дії, зміни в її обміні тісно пов'язані зі зміною рівня GSH, який бере активну участь у процесах антиоксидантного захисту організму.*

**Ключові слова:** L-глутамінова кислота, антиоксидантні ензими, еритроцити, щурі

**Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій.** Адаптивні можливості організму багато в чому залежать від стану його антиоксидантної системи, яка забезпечує, в свою чергу, необхідними ресурсами N і S амінокислот, тобто амінокислот які містять сірку та азот. L-Glu бере участь у процесах переамінування амінокислот в організмі [8]. Азот більшості амінокислот проходить через стадії включення в L-Glu. Ця амінокислота бере участь у білковому і вуглеводному обміні, стимулює окислювальні процеси, сприяє знешкодженню та виведенню з організму аміаку, підвищує стійкість організму до гіпоксії. Сприяє синтезу ацетилхоліну й АТФ, перенесенню іонів калію, відіграє важливу роль у діяльності скелетних м'язів. L-Glu належить до нейромедіаторних амінокислот [1]. Роль L-Glu поза нервовою системою ще недостатньо вивчена, не дивлячись на те, її можна розглядати як регуляторну молекулу широкого спектру дії, функції якої не обмежені ЦНС. Відомо, що L-Glu має виражену антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію завдяки пригніченню пероксидного окислення ліпідів, а також стабілізує мембрани гепатоцитів за рахунок зниження активності цитолітичних ензимів. L-Glu є одним з компонентів ключової ланки антиоксидантного захисту – трипептиду глутатіону [4, 5, 10]. Ензими, залучені у метаболізм глутамінової кислоти займають центральне місце у амінокислотному обміні. Під час захворювань і стресів організму потрібно багато L-Glu. Вона проявляє сильну антикатаболітичну дію.

L-Glu володіє надзвичайно широкою біологічною активністю і має найважливіше значення в адаптації організму до пошкоджуючих впливів. Перш за все, спряженням енергетичного обміну з пластичним. У той же час L-Glu є імуномодулятором, який стимулює лімфоїдну систему організму [7]. L-Glu нормалізує порушені функції ендокринної системи. L-Glu стимулює кістковомозкове кровотворення при анемії. L-Glu модулює експресію цитохрому P-450 через вироблення гормону росту [9]. Викладене дозволяє зробити висновок, що L-Glu може розглядатися як адаптоген широкого спектру дії та зміни в її обміні тісно пов'язані зі зміною рівня глутатіону в тканинах, а отже, антиоксидантними та детоксикаційними ресурсами.

Дослідження обміну глутамінової кислоти є важливими для з'ясування її ролі у метаболічних процесах, представляє значний інтерес для вирішення багатьох фундаментальних та практичних проблем, пов'язаних з білковим обміном. Дані про різні аспекти впливу L-Glu на організм тварин є доволі суперечливими, тому актуальність досліджень у цьому напрямку не викликає сумнівів.

**Мета статті.** З'ясувати вплив додаткового введення L-Glu на активність ферментів глутатіонової ланки антиоксидантного захисту.

### Методика

Дослід 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. Тваринам дослідних груп вводили водний розчин L-глутамінової кислоти в дозі 285 мг/кг (Д1) та 715 мг/кг (Д2) відповідно (1 раз на добу, перорально). Застосовані дози визначали з розрахунку кількості сирого протеїну, який тварина отримувала з кормом. Таким чином, тварини першої дослідної групи отримували додатково 10% глутамінової кислоти від вмісту білка в кормі, тварини другої дослідної групи отримували додатково 25% глутамінової кислоти від вмісту білка в кормі. Щурам контрольної групи упродовж 30-ти днів перорально вводили відповідну кількість дистильованої води. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Після закінчення дослідів тварин всіх груп за анестезії ефіром декапітували. Для аналізу відбирали кров тварин. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

В еритроцитах крові визначали вміст відновленого глутатіону (GSH) за рівнем утворення тіонітрофенільного аніону в результаті взаємодії SH-груп глутатіону з 5,5-дитіобіс,2-нітробензойною кислотою [2]. Глутатіонпероксидазну активність (КФ 1.11.1.9) визначали за швидкістю окислення відновленого глутатіону до і після інкубації з гідропероксидом третинного бутилу [3], глутатіонредуктазну активність (КФ 1.6.4.2) визначали за швидкістю окислення NADPH при  $\lambda = 340$  нм. [2]. Глутатіонтрансферазну активність (КФ 2.5.1.18) визначали за швидкістю утворення кон'югату глутатіону і 1- хлор-2,4-дінитробензолу [5].

Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

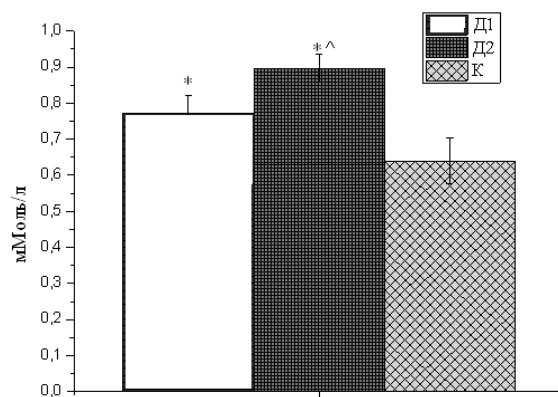
### Результати та їх обговорення

На протидію прооксидантним системам, які генерують активні форми кисню існують антиоксидантні системи. GSH, ГПО, ГТ, глутатіонредуктаза (ГР) и NADPH утворюють глутатіонову антипероксидну систему, в якій ГР і NADPH необхідні для відновлення окисленого глутатіону (GSSH). Ця система ефективно захищає клітини від пероксидного стресу, і зазвичай тільки при її недостатності чи виснаженні виникають серйозні проблеми. Зокрема, в еритроцитах вона захищає гемоглобін від денатурації  $H_2O_2$  і гальмує пероксидацію ліпідів.

GSH має важливе значення в окисно-відновних процесах в організмі. Як відомо, він є одним з найбільш важливих фізіологічних антиоксидантів, бере участь в знешкодженні ксенобіотиків [11].

Згідно з даними, представленими на рис.1, в еритроцитах щурів спостерігається стимуляція GSH-залежної антиоксидантної системи після застосування L-Glu. Це

виявляється в підвищенні порівняно з контролем вмісту GSH у тварин обох дослідних груп порівняно до контролю та посиленні глутатіонпероксидазної активності. Оскільки L-Glu може розглядатися як адаптоген широкого спектру дії, зміни в її обміні тісно пов'язані зі зміною рівня GSH. Значна концентрація GSH в клітині, висока редокс-активність та можливість зберігати свій відновлений стан роблять його важливим внутрішньоклітинним редокс-буфером.



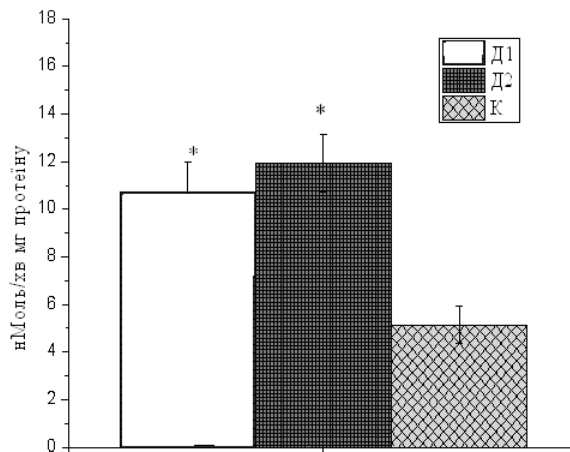
**Рис. 1.** Вміст GSH в еритроцитах крові щурів за дії L-Glu  
В цьому і наступних рис.: \* - вірогідно ( $p < 0,05$ ) відносно контролю,  
^ - вірогідно ( $p < 0,05$ ) відносно першої дослідної групи

Аналізуючи результати досліджень можна припустити, що зростання GSH відбувається за рахунок його синтезу *de novo*. Слід зазначити, що амінокислоти, які входять у склад GSH можуть бути попередниками інших потужних антиоксидантних субстратів. Так, L-Glu є потужним стимулятором біосинтезу аргініну і сечовини в печінці. Метаболізуючись в орнітин, L-Glu служить попередником поліамінів. Слід відзначити, що при порівнянні дослідних груп між собою більші зміни активності GSH спостерігалися у тварин другої дослідної групи, яка отримувала додатково 25% L-Glu у порівнянні з тваринами першої дослідної групи.

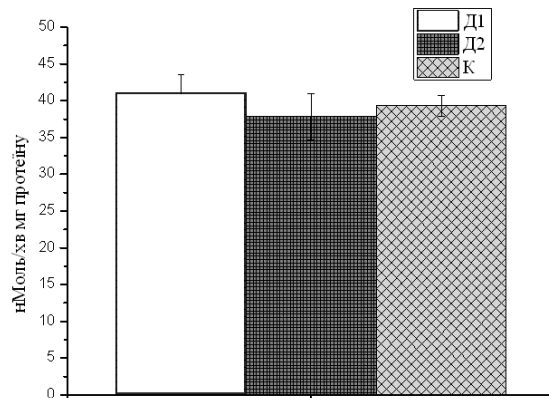
GSH захищає клітину від токсичної дії пероксиду водню. Ця реакція здійснюється за допомогою іншого ензиму – ГПО, що відновлює  $H_2O_2$  до води, а органічні гідропероксида до гідросполук. Результати досліджень показали (рис.2), що застосування L-Glu приводило до вірогідного зростання ГПО у тварин обох дослідних груп порівняно до тварин контрольної групи. Спостерігається кореляція між вмістом GSH та активністю ГПО. Це відповідає припущенню про те, що тривала активація ГПО можлива лише за умови підтримання достатньо високого рівня внутрішньоклітинного GSH, який виступає донором електронів для ензиму ГПО.

Для оцінки загального стану антиоксидантної системи за умов експериментального стресу визначали також активність ГР – NADPH залежного ензиму, що локалізований в цитозолі, який разом з ГПО має найбільше значення для підтримання в організмі певного рівня GSH. ГР підтримує рівень GSH шляхом відновлення його дисульфідної форми за допомогою NADPH як донора водню. Така регенерація глутатіону зменшує необхідність синтезу його *de novo*. Основна біологічна роль ензиму полягає в підтриманні високого рівня GSH та низького GSSG.

Як показали результати наших досліджень активність ГР в еритроцитах крові щурів у тварин першої та другої дослідних груп практично на одному рівні порівняно з тваринами контрольної групи (рис. 3). Це можна пояснити достатньою кількістю GSH у клітинах, а як відомо високий рівень GSH за дії L-Glu проявляє інгібуючий ефект на активність ГР.

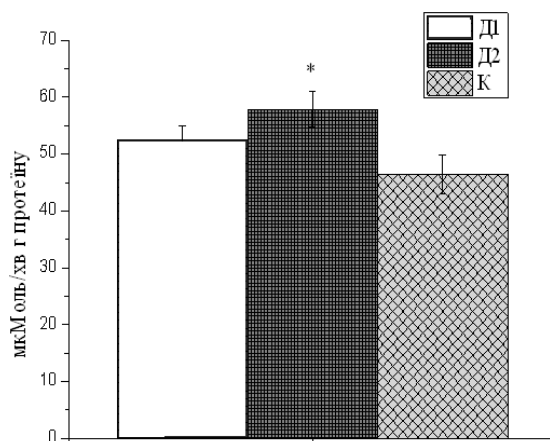


**Рис. 2.** Активність ГПО в еритроцитах крові щурів за дії L-Glu



**Рис. 3.** Активність ГР в еритроцитах крові щурів за дії L-Glu

Що стосується ГТ – це ензим, який каталізує реакцію кон'югації GSH із цілою низкою ксенобіотиків та токсинів. Глутатіонтрансферази знешкоджують з'єднання майже всіх класів, зокрема пестициди. Ксенобіотик, пов'язаний з ГТ, поступово інактивується і виводиться, не пошкоджуючи клітини. Принципово важливим є наявність ГТ в еритроцитах. Це відкриває можливість детоксикації екзогенних гідрофільних сполук вже на перших етапах їх проникнення в організм. ГТ знаходять практично у всіх класів живих організмів. Ензим переважно або цілком локалізований на зовнішній стороні мембран клітин. Функції ГТ пов'язані і з метаболізмом глутатіону. Як показали результати наших досліджень (рис.4) спостерігається зростання активності цього ферменту у тварин обох дослідних груп порівняно до контролю. ГТ оберігають ДНК, мітохондрії та інші життєво важливі органели клітини від дії шкідливих речовин і в результаті значно збільшують стійкість клітини і цілого організму. ГТ не тільки інгібують пероксидацію, але і захищають від неї мембрани.



**Рис. 4.** Активність ГТ в еритроцитах крові щурів за дії L-Glu

### Висновки

Додаткове (на 10% і 25% відповідно) збагачення раціону щурів L-Glu протягом 30 діб призводило до змін активності глутатионової ланки антиоксидантного захисту. Найбільш яскраво це було виражено у підвищенні вмісту GSH та зростанні активності ГПО в еритроцитах тварин обох дослідних груп. Логічним буде припустити, що L-Glu виступала субстратом для синтезу GSH *de novo*. Відповідно високий рівень внутрішньоклітинного GSH приводив до активації ГПО.

### Література

1. Галимская Е.В. Обзор препаратов нейроаминокислот / Е.В. Галимская М.А. Демидова // Врач и аспирант. – 2009. – №6(33). – с. 457-461.
2. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник / [В.В. Влізло, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.] – Львів.: СПОЛОМ. 2012. – 761с.
3. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. / В.М. Моин // Лаб.дело. — 1986. — № 12. — С. 724-727.
4. Brosnan J.T. Glutamate: a truly functional amino acid / J.T. Brosnan, M.E. Brosnan // Amino Acids. – 2012. – Vol. 25. – P. 207-218.
5. Franco R. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases / R. Franco, O. Schoneveld, A. Pappa, M. Panayiotidis // Archives of Physiology and Biochemistry. — 2007. — Vol.113(4-5). —P. 234-258.
6. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W.H. Habig , M.J.Pabst M.J, W.B.Jakoby //J Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249. – P.7130-7139.
7. Hansen A.M. Glutamate joins the ranks of immunomodulators / A.M. Hansen., R.R. Caspi // Nat.Med. – 2010. – Vol. 16. – №8. – P. 856-858.
8. Newsholme P. Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function / P.Newsholme, J. Procopio, M. Lima [et al.] // Cell Biochem. Funct. – 2003. – Vol. 21. – P.1-9.
9. Platt S.R. The role of glutamate in central nervous system health and disease / S.R. Platt // Vet.J. – 2007. – Vol.173(2). – P.278-286.
10. Roth E. Nonnutritive effects of glutamine / E. Roth // J Nutr. – 2008. – Vol.138. – P. 2025-2031.
11. Shelly C. Lu Regulation of glutathione synthesis / C. Lu Shelly // MolecularAspects of Medicine. – 2009. – Vol. 30, Issues 1-2. – P. 42-59.

**Аннотация.** Салыга Н.О., Сварчевская О.З., Максимович И.Я. Роль L-глутаминовой кислоты в процессах антиоксидантной защиты организма крыс. Изучено влияние дополнительного (10% и 25% соответственно) введение в рацион L-глутаминовой кислоты (L-Glu) на активность антиоксидантных ферментов. Установлено, что обогащение рациона крыс L-Glu течение 30 дней приводило к изменениям активности глутатионового звена антиоксидантной защиты, в частности, восстановленного глутатиона (GSH), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионтрансферазы (ГТ) в эритроцитах крови крыс. В частности, показано, что у животных, которые дополнительно получали 10% L-Glu в рацион

наблюдали рост активності ГПО і содержания GSH порівняно з контролем. В еритроцитах крыс, получавших дополнительно 25% L-Glu возрастало содержание GSH, активність ГПО і ГТ. Логичним будет предположить, что L-Glu выступала субстратом для синтеза GSH de novo. Соответственно высокий уровень внутриклеточного GSH приводил к активации ГПО. Активність глутатионредуктазы (ГР) в еритроцитах крови крыс обеих опытных групп была практически на одном уровне по сравнению с животными контрольной группы. Очевидно, высокий уровень GSH за действия L-Glu проявляет ингибирующее действие на активність ГР. Поскольку L-Glu может рассматриваться как адаптоген широкого спектра действия, изменения в ее обмене тесно связаны с изменением уровня GSH, который активно участвует в процессах антиоксидантной защиты организма.

**Ключевые слова:** L-глутаминовая кислота, антиоксидантные ферменты, эритроциты, крысы.

**Summary.** Salyha N.O., Svarchevska O.Z., Maksymovych I.Ya. *The role of L-glutamic acid in the process of antioxidant defense of organism of rats. The effect of additional (10% and 25% respectively) adding to the diet of L-glutamic acid (L-Glu) on the activity of antioxidant enzymes was studied. We found that enrichment of rat's diet by L-Glu during 30 days resulted in a change of glutathione part of antioxidant system, in particular, reduced glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPO) and glutathione transferase (GT) in the red blood cells of rats. The increase in activity of GPO and content of GSH compared to control was observed in animals that received an additional 10% of L-Glu in the diet. In erythrocytes of rats treated with an additional 25% L-Glu content of GSH, GPO activity and GT increased. Logically to suppose that L-Glu acted substrate for the synthesis of GSH de novo. Accordingly, high levels of intracellular GSH leads to activation of GPO. Activity glutathione reductase (GR) in erythrocytes of rats of both experimental groups was virtually the same level compared with animals of the control group. Obviously, high levels of GSH by L-Glu exhibits inhibitory effect on the activity of GR. Since L-Glu can be considered as an adaptogen wide range of actions, changes in its metabolism are closely related to changes in the level of GSH, which is actively involved in the processes of the antioxidant defense system.*

**Key words:** L-glutamic acid, antioxidant enzymes, erythrocytes, rats

### Інститут біології тварин НААН, Львів

Одержано редакцією 14.12.2012

Прийнято до публікації 9.01.2013

УДК 613.955 : 371.32

Н.В. Сисосенко, О.Д. Светлова

### ВИКОРИСТАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ СТАНУ ФІЗИЧНОЇ ПІДГОТОВЛЕНОСТІ УЧНІВ

У зв'язку з тим, що на сьогодні спільним Наказом МОЗ та МОН України за № 518/674 від 2009 року учням, віднесеним за результатами медичних оглядів до підготовчої та спеціальної медичних груп забороняється виконувати навчальні нормативи з фізичної культури, особливої актуальності набуває пошук інших шляхів вирішення проблеми визначення стану фізичної підготовленості дітей із хронічними соматичними захворюваннями та іншими порушеннями здоров'я. Проведені нами дослідження дозволили встановити, що це можливо на основі використання показників функціональних можливостей організму школярів із порушеннями в стані здоров'я. На основі виявленого взаємозв'язку між станом здоров'я та рядом функціональних параметрів організму дітей середнього шкільного віку (індексом фізичного стану, адаптаційним потенціалом, економічністю серцево-судинної системи та її реактивністю), а також розвитком окремих фізичних якостей (швидкісно-силових,