

ОСОБЛИВОСТІ СПОНТАННОГО ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ ТРАНСПОЗНОН-ІНДУКОВАНИХ ПЛЮРИПОТЕНТНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН МИШІ

^{1,2}Малишева С.В. ст. викладач, ^{1,2}Будащ Г.В. ст. викладач, ¹Білько Н.М. д.мед.н.,
професор, ²Хешлер Ю., професор

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія» (Україна),
²Інститут Нейрофізіології Кельнського університету (Німеччина)

Серед унікальних властивостей індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (іПСК) є здатність до проліферації та диференціювання в клітини усіх трьох зародкових шарів – ектодермального, мезодермального та ентодермального. У роботі досліджено диференційний потенціал різних клонів лінії іПСК миші, отриманої авторами за допомогою принципово нового способу за допомогою векторної системи на основі мобільних генетичних елементів. Показано, що в суспензійній культурі клони здатні формувати ембріодні тільця (ЕТ), що за кількістю і розміром не поступаються ЕТ, сформованим загальновідомими лініями іПСК. При спонтанному диференціюванні отриманих клонів у культурі *in vitro* виявлено експресію ранніх диференційних маркерів. Це свідчить про появу попередників різних зародкових шарів, що є доказом плюрипотентності досліджуваних клонів.

Ключові слова: індуковані плюрипотентні стовбурві клітини, спонтанне диференціювання, диференційні маркери.

^{1,2}Мальшева С.В., ^{1,2}Будащ Г.В., ¹Билько Н.М., ²Хешлер Ю. ОСОБЕННОСТИ СПОНТАННОГО ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИЯ ТРАНСПОЗНОН-ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ / ¹Национальный университет «Києво-Могилянська академія», Україна, ²Інститут Нейрофізіології Кельнського університету, Германия

Среди уникальных свойств индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) – способность пролиферировать и дифференцироваться в клетки всех трех зародышевых листков: ектодермального, мезодермального и энтодермального. В работе исследован дифференцировочный потенциал разных клонов, полученных принципиально новым способом с помощью векторной системы на основе мобильных генетических элементов. Показано, что в суспензионной культуре полученные экспериментальные клоны способны формировать эмбрионные тельца (ЭТ), сравнимые по количеству и размеру с ЭТ, сформированным контрольными клеточными линиями иПСК. При спонтанной дифференцировке экспериментальных клонов в системе *in vitro* начинают экспрессироваться ранние дифференцировочные маркеры, что свидетельствует о плюрипотентности исследуемых линий.

Ключевые слова: индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, спонтанная дифференцировка, дифференционные маркеры.

^{1,2}Malysheva S.V., ^{1,2}Budash G.V., ¹Bilko N.M., ²Hesheler J. PECULIARITIES OF SPONTANEOUS DIFFERENTIATION OF TRANSPON-INDUCED MURINE PLURIPOTENT STEM CELLS / ¹ National University of “Kyiv-Mohyla academy”, Ukraine, ²Institute of Neurophysiology, University of Cologne, Germany

The potential to proliferate and differentiate towards cell types of three germ layers – ectoderm, mesoderm and endoderm is the key property of induced pluripotent stem cells (iPS). In the current paper differentiation potential of various clones of newly generated (with Sleeping beauty transposon system) murine iPS cell line is studied. It is shown that in suspension culture the clones are able to generate embryoid bodies (EBs), comparable by the size and number to EBs, generated by established pluripotent stem cell lines. During further spontaneous differentiation *in vitro* the expression of early differentiation markers occurred. That indicates the appearance of the progenitors of various germ layers, which evidences the pluripotency of obtained clones.

Key words: induced pluripotent stem cells, spontaneous differentiation, differentiation markers.

ВСТУП

Ембріональні стовбурві клітини (ЕСК) є плюрипотентними. Вони здатні формувати усі клітинні типи трьох зародкових листків – ектодермального, мезодермального та ентодермального. Терапевтичний ефект таких клітин вивчений і доведений [1]. Однак широкого клінічного застосування вони так і не набули через імунологічні та етичні аспекти їх використання.

У 2006 році вдалося отримати клітини, що нагадували за ключовими характеристиками ЕСК [2]. Такі клітини вдалося генерувати завдяки репрограмуванню диференційованих соматичних клітин шляхом індукції плюрипотентності ключовими факторами. Отримані в такий спосіб клітини названо індуктованими плюрипотентними стовбуровими клітинами (іПСК). І з того часу іПСК стали отримувати різними способами – із використанням вірусних [3, 4, 5] і невірусних векторів [6, 7, 8] для доставки факторів плюрипотентності. Генерування іПСК за допомогою системи транспозонів – принципово новий підхід, що має ряд переваг [9]. Існує перелік характеристик, яким має відповідати новоотримана клітинна лінія іПСК. Експресія маркерів плюрипотентності в недиференційованому стані характеризує проліферативний потенціал клітин. Проте оцінку функціональних характеристик отриманої лінії можна лише при диференціюванні. За відсутності факторів, що підтримують ЕСК/іПСК недиференційованому стані (LIF, bFGF), у культурі *in vitro* цей тип клітин починає спонтанно диференціюватися [10]. У суспензійній культурі іПСК формують ЕТ, що нагадують ембріон на найбільш ранніх стадіях розвитку [11]. Експресія ранніх генів–маркерів ентодермального, мезодермального та ектодермального зародкових шарів у динаміці диференціювання свідчить про появу попередників різних клітинних типів. Показано, що в диференційному потенціалі різних ліній іПСК можуть існувати суттєві розбіжності. Деякі клітинні лінії більш схильні до формування певного типу клітин [12], чи навпаки, не здатні формувати бажаний тип клітин [6]. Тому оцінка диференційного потенціалу є ключовою характеристикою нової лінії іПСК і має вагомe значення для подальшого вивчення і застосування як самої лінії, так і методу її отримання.

Метою роботи було дослідження різних клонів репрограмованих за допомогою системи транспозонів Sleeping beauty ембріональних фібробластів миші. У наших попередніх дослідженнях показано, що отримані клони експресують маркери плюрипотентності (лужна фосфатаза, Oct3/4, Sox2, SSEA-1, Nanog) на рівні зареєстрованих ліній плюрипотентних стовбурових клітин [13]. Для отримання функціональних характеристик отриманої клітинної лінії досліджено здатність клонів формувати в культурі ембріодні тільця (ЕТ) та проведено аналіз експресії ключових плюрипотентних та диференційних маркерів при спонтанному їх диференціюванні в культурі *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Умови культивування ЕСК/іПСК. Усі досліджувані клітинні лінії і клони культивували в середовищі для мишиних ЕСК/іПСК: DMEM із додаванням 15% FBS, 0,1 мМ NEAA, 50 мкМ β-меркаптоетанолу (Gibco, Germany), 1000 од/мкл LIF (Leukemia inhibitory factor, Millipore, Germany), що підтримує їх у недиференційованому стані. Пасажували за допомогою трипсину (0,05% Trypsin-EDTA) кожні 48 год.

Спонтанне диференціювання досліджуваних клітинних ліній in vitro. Спонтанне диференціювання здійснювали, як описано [14], із деякими модифікаціями. Клітини трипсинізували за допомогою 0,05% Trypsin-EDTA та переносили по 1×10^6 клітин у 100 мм чашку Петрі з неадгезивного пластику на орбітальний шейкер для формування ЕТ. Кількість отриманих ЕТ підраховували на 3 добу диференціювання. ЕТ розсаджували на вкритий желатином адгезивний пластик по 60 одиниць на лунку 6-лункової культуральної планшети та культивували до 12 доби. Диференціювання проводили в середовищі складу: DMEM, 15% FBS, 0,1 мМ NEAA, 50 мкМ β-меркаптоетанолу (Gibco, Germany) без LIF), яке змінювали на кожну третю добу.

Аналіз експресії генів. Загальну РНК ізолювали за допомогою тризолу (Invitrogen) на 3 добу (перед посадкою ЕТ на культуральний пластик), на 7-му та 12-ту добу диференціювання. Якість та кількість ізолюваного матеріалу оцінювати на Nanodrop (Thermo Scientific). Для отримання кДНК використовували 1 мкг РНК, реакцію здійснювали за допомогою SuperScript II RNase H- Reverse Transcriptase (Invitrogen),

Random Primers (Sigma). ПЦР ампліфікацію здійснювали за допомогою GreenTaq MM, dNTP Mix (Invitrogen) із праймерами для ампліфікації маркерних генів: Oct4, Nanog, Rex1, Sox17, AFP (α -fetoprotein), α МНС (myosin heavy chain), Brachiry, Nestin (Sigma-Aldrich, Germany).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Із репрограмованих за допомогою системи транспозонів Sleeping beauty ембріональних фібробластів миші, різноманітних за морфологічними, проліферативними показниками та рівнем експресії SSEA-1 [13], клон 6, 7 та 9 було відібрано для дослідження диференційного потенціалу. За контроль було взято зареєстровані лінії іПСК та ЕСК – AT25 та α PIG44, відповідно. Перераховані досліджувані клони та клітинні лінії культивували як типові лінії плюрипотентних стовбурових клітин. У недиференційованому стані досліджувані лінії мали однакову морфологію та проліферативний потенціал (рис.1).

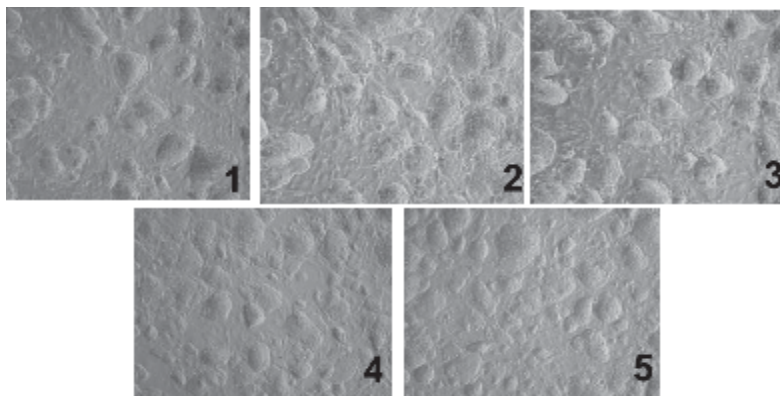


Рис. 1. Морфологія досліджуваних ліній та клонів ЕСК та іПСК, збільшення об'єктиву $\times 2,5$. 1 – клон 6; 2 – клон 7; 3 – клон 9; 4 – α PIG44; 5 – AT25.

При культивуванні плюрипотентних стовбурових клітин у суспензійній культурі без фактору, що підтримує їх у недиференційованому стані (LIF), усі досліджувані клітинні лінії формували ембріодні тільця (рис. 2). Як правило, сформовані в такий спосіб ЕТ є неоднорідними за розміром, проте в основному зберігають кулясту форму та цілісну поверхню [10]. Виявлено, що ЕТ, сформовані отриманими клонами (1-3 рис.2), дещо поступалися, за розміром ЕТ, сформованим контрольними клітинними лініями (4-5 рис. 2).

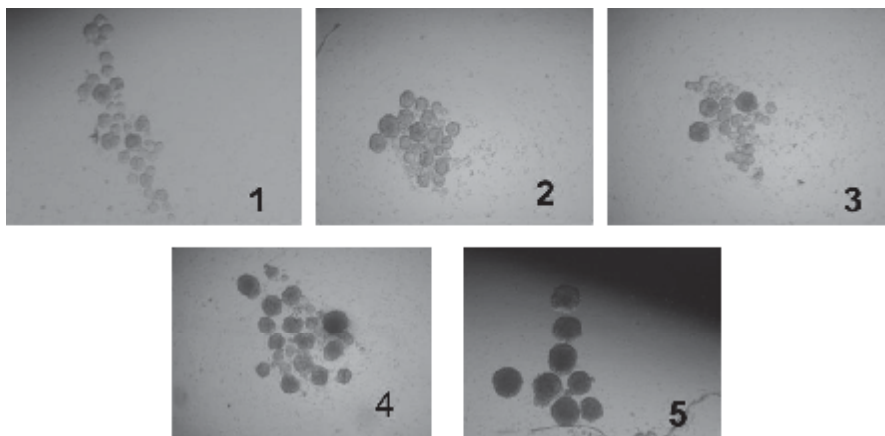


Рис. 2. Ембріодні тільця, сформовані дослідженими клініями та клонами на 3 добу спонтанного диференціювання. 1 – колон 6; 2 – клон 7, 3 – клон 9; 4 – α PIG44; 5 – AT25.

Також було підраховано кількість ЕТ, сформованих експериментальними клонами 6, 7, 9 та зареєстрованими лініями α PIG44 і AT25 із 1×10^6 клітин на третю добу культивування. Підраховували кількість приблизно однакових за розміром ЕТ правильної форми. Для досліджуваних клонів і ліній – клону 6, 7, 9, AT25 та α PIG44 кількість сформованих ЕТ була одного порядку, і становила 2333, 1966, 1000, 2500 та 2200 ЕТ на 1 мл суспензії, відповідно (Табл. 1). Клоном 9 сформовано найменше ЕТ на одиницю об'єму суспензії. Дослідження подальшого диференціювання, зокрема аналіз експресії диференційних генів дасть змогу оцінити, чи впливає кількість ЕТ, що формуються в суспензійній культурі, на диференційний потенціал клону чи лінії.

Таблиця 1 – Кількість сформованих ембріодних тілець на 3 добу спонтанного диференціювання в культурі *in vitro*.

№ п/п	Назва зразка	Кількість ЕТ, сформованих на 1 мл суспензії
1.	Клон 6	2333
2.	Клон 7	1966
3.	Клон 9	1000
4.	AT25	2500
5.	α PIG44	2200

Таким чином було показано, що експериментальні клони здатні формувати ЕТ, співставні за розміром і кількістю із ЕТ, сформованим зареєстрованими лініями плюрипотентних стовбурових клітин.

Аналіз експресії деяких генів при спонтанному диференціюванні. Морфологічно ідентифікувати клітини-попередники на ранніх стадіях диференціювання ЕСК/іПСК практично неможливо. Тому для виявлення в прикріплених та диференційованих ембріональних тільцях попередників ектодермального, мезодермального та ентодермального зародкових шарів визначали появу експресії ранніх диференційних генів. За диференційні маркери обрано ранні ентодермальні гени *AFP* (альфафетопротейн) та *Sox17*, ранні мезодермальні гени *α -myosyn heavy chain* (*α MHC*) та *Brachyury*, та ранній ектодермальний ген *Nestin*. Також досліджували експресію генів, асоційованих із плюрипотентністю – *Oct4*, *Nanog*, та *Rex1* протягом періоду диференціювання.

Із досліджуваних спонтанно диференційованих структур ізолювали загальну РНК на 3, 7 та 12 добу культивування. Із виділеної РНК отримано кДНК, яку використано для реакції RT-PCR зі специфічними до перерахованих вище плюрипотентних та диференційних маркерних генів праймерами. Результати виявленої динаміки експресії генів зображено на рис. 3 та 4.

У недиференційованих плюрипотентних стовбурових клітинах експресуються фактор плюрипотентності *Oct4* та *Rex1*. Транскрипційний фактор *Oct4* є одним із класичних «факторів Яманака». На сьогодні не розроблено методу отримання іПСК, що не передбачає використання цього фактора [15, 16]. Оскільки *Oct4* входить до репрограмуючої касети (за допомогою якої отримано як експериментальні клони, так і контрольна лінія іПСК), його експресія є вірогідно екзогенною та ендегенною водночас. Фактори плюрипотентності *Nanog* та *Rex1* не входили до репрограмуючої касети. Тому можна стверджувати про викликану репрограмуванням реактивацію їх ендегенної

експресії в лініях іПСК, зокрема в експериментальних клонах. Крім того, експресію жодних маркерів плюрипотентності не виявлено у вихідної лінії МЕФ, хоча подібні дані зустрічаються в літературі [17]. Варто зазначити, що експресія *Rex1* в експериментальних клонах була дещо слабшою, ніж у контрольних лініях.

Згідно з отриманими результатами, експресію жодних диференційних генів не виявлено в мишиних ембріональних фібробластах (МЕФ), із яких отримано експериментальні лінії індукованих плюрипотентних стовбурових клітин. Також експресію жодних ранніх диференційних генів не спостерігали в жодній досліджуваній лінії плюрипотентних стовбурових клітин у недиференційованому стані (на день 0).

Першим диференційним маркером, експресію якого виявлено на третю добу культивування (на стадії інтактних ембріодних тілець), був ген, асоційований із ранніми ентодермальними клітинами-попередниками *AFP*, хоча експресію цього гена на третю добу виявлено лише в одній із контрольних ліній – АТ25.

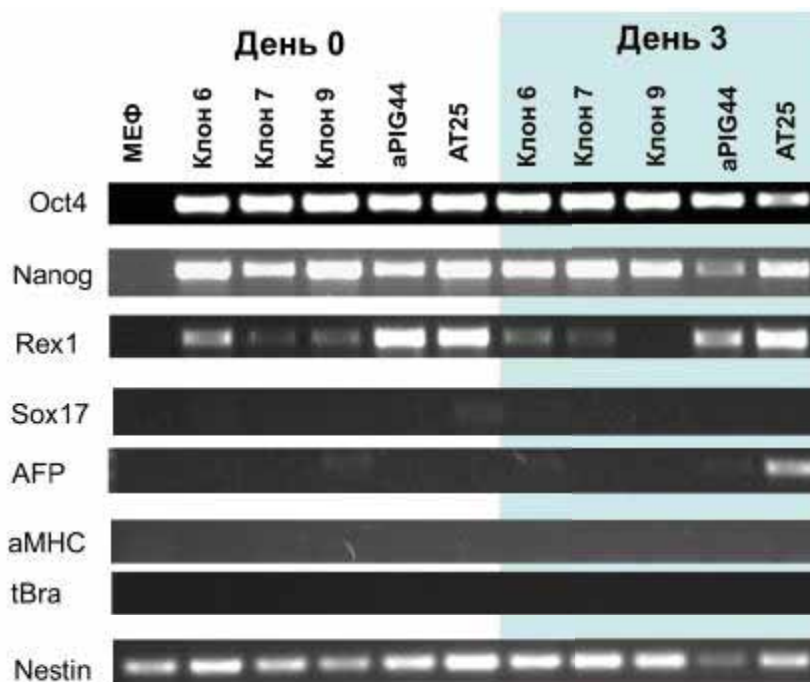


Рис. 3. Експресія маркерних генів у досліджуваних клонах і лініях у недиференційованому стані та на стадії інтактних ембріодних тілець.

На 7 добу культивування при диференціюванні уже прикріплених ембріодних тілець експресію *AFP* виявлено і в іншій контрольній лінії – лінії ЕСК α PIG44. В отриманих експериментальних клонах експресію цього гена виявлено лише на 12 добу диференціювання прикріплених ембріодних тілець. Експресію іншого раннього ентодермального гена *Sox17* виявлено в експериментальних лініях лише на 12 добу культивування, а в контрольних лініях – починаючи із 7 доби диференціювання. На 12 добу спонтанного диференціювання експресія *Sox17* була виявлена в усіх досліджуваних клонах, однак рівень експресії цього гена був нижчим, ніж рівень експресії *AFP* у той самий період диференціювання.

Ранні мезодермальні маркери виявлено, починаючи із 7 доби культивування. Так, експресію раннього мезодермального гена *tBra* виявили починаючи із 7 доби диференціювання в усіх досліджуваних лініях. На 12 добу культивування експресію цього маркера спостерігали лише в клона 6 та 7. Інший мезодермальний маркер α MHC виявлено

лише в клоні 7 та в контрольних лініях α PIG44 і AT25 на 12 добу спонтанного диференціювання.

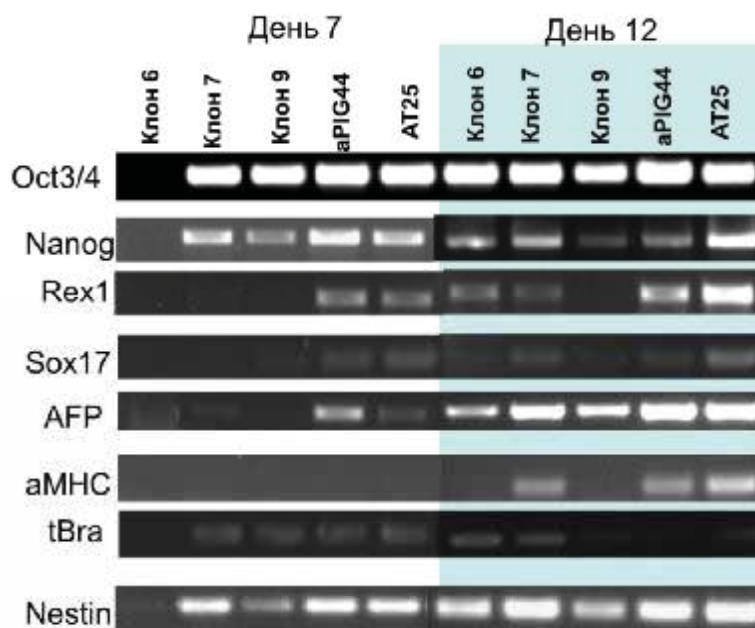


Рис. 4. Експресія маркерних генів у досліджуваних клонах і лініях на 7 та 12 добу спонтанного диференціювання.

Експресія гена *Nestin*, що вважався ектодермальним маркером, спостерігали на усіх етапах диференціювання, а також у недиференційованих клонах. Тому для виявлення ектодермальних клітин-попередників необхідно підібрати інший маркерний ген.

Згідно з літературними даними, транскрипти ранніх диференційних маркерів з'являються уже на 7 добу диференціювання [14]. Оскільки в контрольних клітинних лініях досліджувані маркери також виявлено з певним запізненням (деякі – лише на 12 добу), можна припустити, що їх пізніший прояв у експериментальних клонах пов'язаний із умовами диференціювання та аналізу експресії. За деякими даними, на експресію маркерних генів можна вплинути виключно культуральними умовами [17].

Також було виявлено, що іммобілізовані ембріодні тільця клону 9, α PIG44 і AT25 характеризувалися вираженим диференціюванням у кардіоміоцитарному напрямку, про що свідчить спонтанне поодиноке скорочення певних ділянок ЕТ починаючи з 11 дня диференціювання. Спонтанне скорочення ембріодних структур без жодного стимулу до диференціювання в кардіоміоцити свідчить про спонтанне диференціювання певної фракції плюрипотентних стовбурових клітин у мезодермальному напрямку, зокрема в скоротливі клітини серця [18].

У перспективі заплановано подальші дослідження функціонального потенціалу окремих клонів індукованих плюрипотентних репрограмованих ембріональних фібробластів миші, що є потенційною лінією іПСК.

ВИСНОВКИ

1. У роботі показано, що за допомогою системи транспозонів *Sleeping beauty* можливо репрограмувати ембріональні фібробласти миші.
2. Репрограмовані ембріональні фібробласти здатні диференціюватися *in vitro* у попередники ентодермального та мезодермального зародкових шарів, хоча із

незначним запізненням відносно зареєстрованих ліній плюрипотентних стовбурових клітин миші.

3. Клон 9 має виражений потенціал до диференціювання у кардіоміоцити, про що свідчить спонтанне скорочення сформованих із його клітин ембріодних тілець.
4. Диференційний потенціал досліджуваних клонів потенційної лінії індукованих плюрипотентних стовбурових клітин миші в ектодермальному напрямку потребує подальшого дослідження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Mochiduki Y Methods for iPS cell generation for basic research and clinical applications. / Y. Mochiduki, K. Okita // *Biotechnol J.* – 2012. – V.7 – P.789–799.
2. Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors / K. Takahashi, S. Yamanaka // *Cell.* – 2006. – V. 126. – P. 663–676.
3. EOS lentiviral vector selection system for human induced pluripotent stem cells. / [Akitsu Hotta, Aaron Y L Cheung, Natalie Farra et al.] // *Nature Protocols.* – 2009. – V.4 – P.1828–1844.
4. Generation of human-induced pluripotent stem cells by a nonintegrating RNA sendai virus vector in feeder-free or xeno-free conditions. / [C. C. Macarthur, A. Fontes, N. Ravinder et al.] // *Stem Cells Int.* – 2012. – V.2012. – doi:10.1155/2012/564612.
5. Efficient adipocyte and osteoblast differentiation from mouse induced pluripotent stem cells by adenoviral transduction / [K. Tashiro, M. Inamura, K. Kawabata et al.] // *Stem Cells* – 2009. – V. 27. – P.1802–1811.
6. Activation of pluripotency genes in human fibroblast cells by a novel mRNA based approach. / [J. R. Plews, J. Li, M. Jones et al.] // *PLoS One.* – 2010. – V.5. – e14397.
7. Si-Tayeb K. Generation of human induced pluripotent stem cells by simple transient transfection of plasmid DNA encoding reprogramming factors. / K. Si-Tayeb, F. K. Noto, A. Sepac [et al.] // *BMC Developmental Biology* – 2010. – V.10:81. – doi: 10.1186/1471-213X-10-81.
8. Reprogramming of somatic cells via TAT-mediated protein transduction of recombinant factors. / [H. Zhang, Y. Ma, J. Gu et al.] // *Biomaterials* – 2012. – V.33 – P. 5047–5055.
9. Swierczek M. TheSleepingBeauty transposon system for clinical applications. / M. Swierczek, Z. Izsvák, Z. Ivics // *Expert OpinBiolTher.* – 2012. – V.12 – P.139–153.
10. The culture of mouse embryonic stem cells and formation of embryoid bodies. / [M. Jackson, A.H. Taylor, E.A. Jones et al.] // *Methods Mol Biol.* – 2010. – V.633. – P. 1-18.
11. Keller G. Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. / G. Keller // *Genes Dev.* – 2005. – V.19 – P.1129–1155.
12. Comparative analysis of endoderm formation efficiency between mouse ES cells and iPS cells. / [M. Iwamuro, T. Komaki, Y. Kubota et al.] // *CellTransplant.* – 2010. – V.19 – P.831–839.
13. Expression of SSEA-1 in different clones of reprogrammed murine embryonic fibroblasts. / [S. Malysheva, T. Saric et al.] // *Наукові записки НаУКМА.* – 2011. – Т. 119. – С. 21-25.

14. Okada M. Effective culture conditions for the induction of pluripotent stem cells. / M. Okada, M. Oka, Y. Yoneda // *BiochimBiophysActa*. – 2010. – V.1800 – P.956–963.
15. Generation of retinal pigment epithelial cells from small molecules and OCT4-reprogrammed human induced pluripotent stem cells. / [T. U. Krohne, P. D. Westenskow, T. Kurihara et al.] // *PaediatrInt Child Health*. – 2012. – V.1 – P.96–109.
16. Two-factor reprogramming of somatic cells to pluripotent stem cells reveals partial functional redundancy of Sox2 and Klf4. / [A. Nemerova, S. Y. Kim, O. Petrenko et al.] // *Cell Death Differ*. – 2012. – V.19 – P.1268–1276.
17. Induction of stem cell gene expression in adult human fibroblasts without transgenes. / [R. L. Page, S. Ambady, W. F. Holmes et al.] // *Stem Cells*. – 2009. – V.11 – P.417–426.
18. Differentiation analysis of pluripotent mouse embryonic stem (ES) cells in vitro. / [I.S. Schroeder, C. Wiese, T.T. Truong et al.] // *Methods Mol Biol*. – 2009. – V. 530. – P. 219–50.

УДК 577.112.384:577.122.3

АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У КРОВІ ТА ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ L-ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ ПРИ СТРЕСІ

Салига Н.О., к.б.н., ст. науковий співробітник

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Досліджували вплив L-глутамінової кислоти (L-Glu) та L-Glu у комплексі з цистеїном (Cys) на активність аспаратат (АсАт)- та аланін (АлАт)-амінонотрансфераз у крові та тканинах щурів за дії стресу. Встановлено, що у тварин, які зазнавали дії стресу без застосування вищезгаданих амінокислот, зростала активність АсАт у плазмі крові та тканинах нирок, селезінки, мозку, печінки та м'язів та активність АлАт у тканинах нирок та печінки. Додаткове введення L-Glu та L-Glu у комплексі з Cys при стресах дозволяє організму вийти на рівень контрольних значень, що відобразилось на показниках активності АсАт та АлАт тварин другої та третьої дослідних груп у тканинах нирок, мозку, печінки та легень.

Ключові слова: L-глутамінова кислота, щур, тканина, аспаратамінонотрансфераза, аланінамінонотрансфераза.

Салига Н.О. АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В КРОВИ И ТКАНЯХ КРЫС ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ СТРЕССЕ / Институт биологии животных НААН г. Львов, Украина.

Исследовали влияние L-глутаминовой кислоты (L-Glu) и L-Glu в комплексе с цистеином (Cys) на активность аспаратат (АсАт) - и аланин (АлАт)-аминотрансфераз в крови и тканях крыс при действии стресса. Установлено, что у животных, подвергавшихся действию стресса без применения вышеупомянутых аминокислот, росла активность АсАт в плазме крови и тканях почек, селезенки, мозга, печени и мышц и активность АлАт в тканях почек и печени. Дополнительное введение L-Glu и L-Glu в комплексе с Cys при стрессах позволяет организму выйти на уровень контрольных значений, что отразилось на показателях активности АсАт и АлАт животных второй и третьей опытных групп в тканях почек, мозга, печени и легких.

Ключевые слова: L-глутаминовая кислота, крыса, ткань, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза.

Salyha N.O. AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN BLOOD AND TISSUES OF RATS AFTER APPLICATION OF L-GLUTAMIC ACID UNDER THE STRESS / Institute of Animal Biology NAAN, Lviv, Ukraine

The effects of L-glutamic acid (L-Glu) and L-Glu in combination with cysteine (Cys) on the activity of aspartate (AST) - and alanine (ALT)-aminotransferase in the blood and tissues under the action of stress was investigated. It