

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

was found that in animals that underwent by stress without the use of the above amino acids increased of AST activity in plasma and tissues of the kidneys, spleen, brain, liver and muscles and ALT activity in tissues of the kidneys and liver. Additional injection of L-Glu and L-Glu in combination with Cys allows the body to reach the level of control values during stress, which affected the index of AST and ALT activity in animals of the second and third experimental groups in the tissues of the kidneys, brain, liver, and lungs.

Key words: L-glutamic acid, rat, tissue, aspartataminotransferase, alaninaminotransferase.

ВСТУП

L-Glu слід розглядати як регуляторну молекулу широкого спектра дії. L-Glu відіграє одну з основних ролей в азотному обміні, бере участь у білковому і вуглеводному обміні, стимулює окислювальні процеси, перешкоджає зниженню 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 [1-3]. Ця амінокислота є джерелом α -кетоглутарату – компоненту циклу Кребса. Ензими, залучені в метаболізм, L-Glu займають центральне місце в амінокислотному обміні. L-Glu є донором аміногруп у реакціях трансамінування, які поповнюють пул амінокислот для забезпечення біосинтетичних потреб організму, а також є з'єднувальною ланкою з енергетичним метаболізмом клітин [4, 5]. Крім того, L-Glu використовується як сировина для антиоксиданту - глутатіону (який синтезується з L-Glu, цистеїну і гліцину) [6, 7].

Організм використовує протягом дня величезну кількість L-Glu. Особливо багато її потрібно для підтримки функціонування імунної системи, нирок, підшлункової залози, жовчного міхура і печінки [8, 9]. Метаболічні процеси, що відбуваються в організмі тварин та людини при стресах і захворюваннях призводять до використання великої кількості L-Glu. Застосування L-Glu має сприятливий вплив на багато органів і систем, може значною мірою знизити ступінь гіперкатаболізму, відновити показники білкового обміну.

У зв'язку з вищесказаним, актуальним є дослідження обміну L-Glu для з'ясування її ролі в метаболічних процесах, представляє значний інтерес для вирішення багатьох фундаментальних та практичних проблем, пов'язаних з білковим обміном.

Метою роботи було вивчити вплив L-Glu та L-Glu в комплексі з Cys на активність АсАт- і АлАт-амінотрансфераз у крові та тканинах щурів за дії стресу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослід проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-220 г, які були розділені на 4 групи по 10 тварин у групі (три дослідні та одна контрольна). Тваринам першої дослідної групи вводили внутрішньочеревинно адреналін у дозі 10 мкг/100 г маси тіла, тваринам другої та третьої дослідних груп вводили адреналін у дозі 10 мкг/100г маси тіла, після чого щурам другої групи – розчин L-Glu у дозі 750 мг/кг, а щурам третьої групи – розчин Cys у дозі 300 мг/кг та L-Glu у дозі 750 мг/кг. Щурам контрольної групи вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Через 24 години тварин усіх груп за анестезії ефіром декапітували. 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).

Матеріалом для досліджень служила кров та тканини лабораторних щурів. У плазмі крові та тканинах (нирки, селезінка, мозок, серце, печінка, легені, м'язи) визначали активність аланінамінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАт) [10]. Одержані

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

АлАт та АсАт є основними ензимами, які беруть участь в білковому обміні. Поряд із цим, вони також вважаються важливою ланкою між вуглеводневими та білковими обмінними процесами. У їх складі міститься достатня кількість вітаміну В6.

Ці ферменти володіють конкретною спеціалізацією. Аналіз крові АлАт дає уявлення про роботу печінки, а АсАт – показує, в якому стані знаходиться серцевий м'яз. Відповідно, коли відбувається підвищення рівня цих компонентів, це означає наявність будь-яких порушень у тканинах міокарду або печінки.

Як видно з результатів наших досліджень (рис.1), активність АсАт, яка каталізує реакцію між L-аспартатом і 2-оксоглутаратом, у результаті якої вони перетворюються в L-глутамат і оксалоацетат, у плазмі крові була вірогідно вищою у тварин першої дослідної групи, яка зазнавала дії стресу без застосування амінокислот порівняно до тварин контрольної групи. Таке зростання можна пояснити посиленням біосинтезу білків у організмі щурів за дії стресу внаслідок чого підвищується активність реакцій переамінування. Підвищений рівень АсАТ при стресі вважається ознакою стимуляції мітохондрій та маркером активності циклу трикарбонових кислот. Збільшення активності АсАТ розглядають як інтенсифікацію шляхів згорання токсичних метаболітів у циклі трикарбонових кислот. Що стосується тварин другої та третьої дослідних груп, активність АсАт була практично на одному рівні з контрольною групою тварин. Це говорить про те, що застосування L-Glu та L-Glu в комплексі з Cys допомагає згладити негативний вплив стресу.

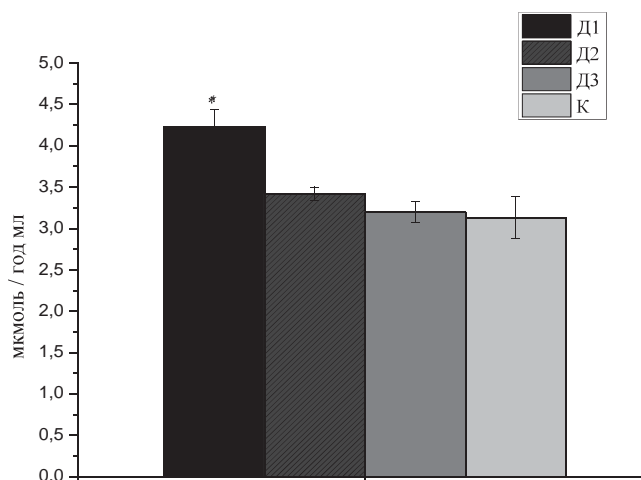


Рис. 1. Активність АсАт у плазмі крові щурів за дії L-Glu

Примітки тут та далі: * – різниця вірогідна відносно тварин контрольної групи $p < 0,05$.

Аланінамінотрансфераза (АлАТ) каталізує реакцію між L-аланіном і 2-оксоглутаратом, у результаті якої вони перетворюються в L-глутамат і сіль пірвіноградної кислоти. Як видно з рис. 2, активність АлАТ у плазмі крові тварин третьої дослідної групи була вірогідно нижчою у порівнянні до тварин контрольної групи.

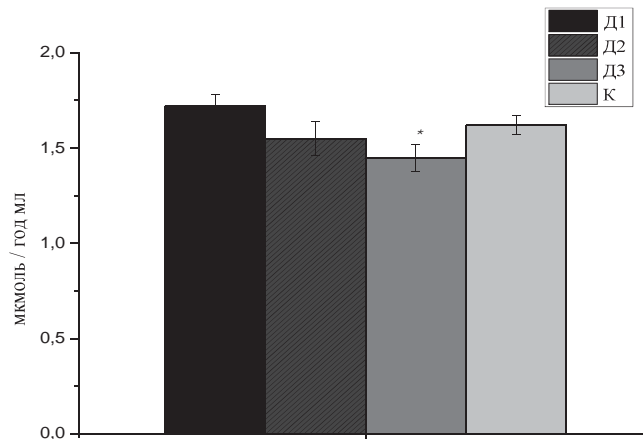


Рис. 2. Активність АЛат у плазмі крові щурів за дії L-Glu

Амінотрансферази – ензими, які каталізують взаємоперетворення амінокислот і α -кетокислот шляхом переносу аміногрупи. Для АЛат і АсАт характерна субстратна специфічність. Суть трансамінування полягає в його колекторній функції, тобто в тому, що аміногрупи від різних амінокислот збираються в одній формі – у вигляді L-Glu. Є підстави вважати, що накопичення аміногруп у формі L-Glu відбувається в цитозолі. Потім глутамат за допомогою транслоказ потрапляє в мітохондрії, де активна специфічна АсАт. У результаті дії цього ферменту глутамат знову перетворюється на α -кетоглутарат, що використовується для непрямого дезамінування амінокислот, які містяться в мітохондріях. Це дуже важливо, тому що тільки глутамат в тканинах ссавців найшвидше може піддаватися окислювальному дезамінуванню.

Як показали результати наших досліджень (рис. 3), у тканинах щурів першої дослідної групи, яка зазнавала дії стресу, зростає активність АсАт.

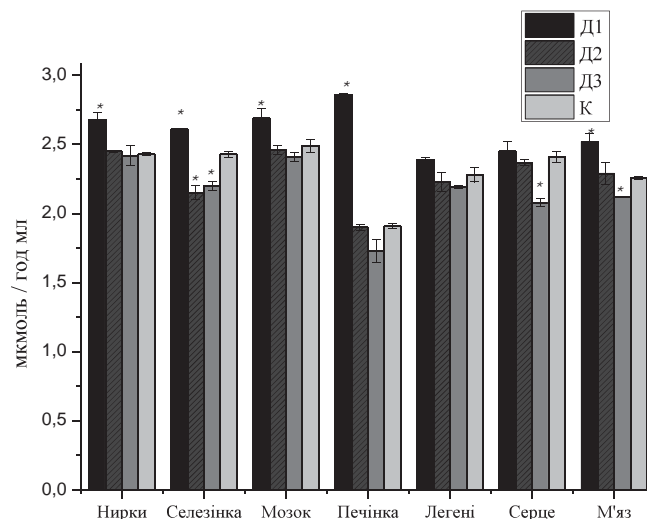


Рис. 3. Активність АсАт у тканинах щурів за дії L-Glu

Зокрема, відмічене вірогідне зростання активності цього ферменту в тканинах нирок, селезінки, печінки, мозку та м'язів порівняно з контрольною групою тварин. Слід зазначити вірогідне зниження активності цього показника у тварин другої та третьої дослідних груп у тканинах селезінки. А також зниження активності АсАт у тварин третьої дослідної групи, які після дії стресу отримували L-Glu та Cys у тканинах серця та м'язів.

Можна прослідкувати кореляцію між активністю АсАт та АлАт. Зокрема, активність АлАт була вірогідно вищою в нирках та печінці тварин першої дослідної групи (рис. 4).

Що стосується тварин третьої дослідної групи, спостерігалось зниження цього показника в тканинах селезінки, серця та м'язів порівняно з контролем. L-Glu виконує основні функції в обміні амінокислот. Вона приймає аміногрупи від тих амінокислот, що знаходяться в організмі людини в надлишку, і віддає на утворення тих замісних амінокислот, яких недостатньо.

Можна припустити, що додаткове введення L-Glu при стресах дозволяє організму вийти на рівень контрольних значень. Зокрема, більша кількість L-Glu здатна перетворитися в альфа-кетоглутарат у реакціях окиснювального дезамінування, які відбуваються в мітохондріях печінки (а також інших органів) з утворенням аміаку, НАДН+Н⁺ і альфа-кетоглутарової кислоти, яка може бути використана в циклі лимонної кислоти. Ензимом, який каталізує ці реакції, є глутаматдегідрогеназа. Активатором ферменту є АДФ, інгібітором – ГДФ. Таким чином, коли клітинам потрібно більше субстратів циклу трикарбонних кислот для синтезу АТФ, активність реакцій окиснювального дезамінування глутамату підвищується.

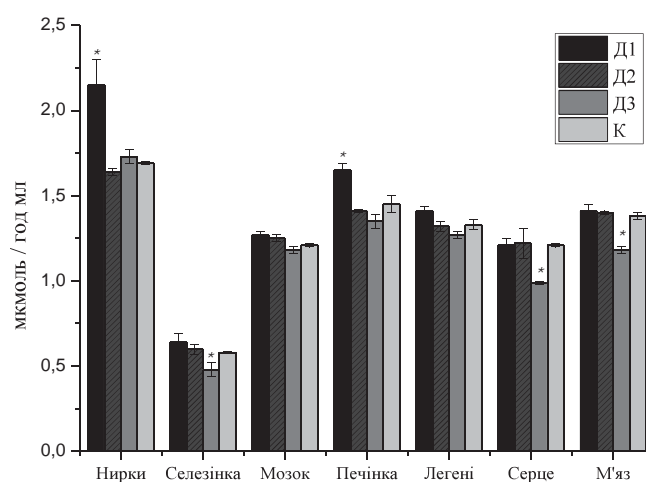


Рис. 4. Активність АлАт у тканинах щурів за дії L-Glu

Перспективою подальших досліджень буде з'ясування впливу L-Glu та L-Glu у комплексі з Cys на активність ензимів антиоксидантного захисту та вміст продуктів пероксидного окиснення та стан імунної системи щурів за дії стресу.

ВИСНОВКИ

1. У результаті роботи встановлено підвищення активності АсАт та АлАт у плазмі крові та тканинах тварин першої дослідної групи, які зазнавали дії стресу.
2. Додаткове введення L-Glu в дозі 750 мг/кг та L-Glu в 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.
3. Застосування L-Glu, постачаючи субстрати циклу трикарбонних кислот, ймовірно дозволить забезпечити клітини більшою кількістю енергії, яка вкрай необхідна при стресах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function / [Newsholme P., Procopio J., Lima M. et al.] // Cell Biochem. Funct. – 2003. – V. 21. – P.1-9.
2. Hansen A.M. Glutamate joins the ranks of immunomodulators / A.M. Hansen, R.R. Caspi // Nat.Med. – 2010. – V. 16. – №8. – P. 856-858.
3. Platt S.R. The role of glutamate in central nervous system health and disease / S.R. Platt // Vet.J. – 2007. – V.173(2). – P.278-286.
4. Roth E. Nonnutritive effects of glutamine / E. Roth // J Nutr. – 2008. – V.138. – P. 2025-2031.
5. Tapiero H. Glutamine and glutamate / H. Tapiero , G. Mathé , P. Couvreur , K.D.Tew // Biomed Pharmacother. – 2002. –V.56(9). – P.446-457.
6. Yuan L. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity / L.Yuan, N. Kaplowitz // Molecular Aspects of Medicine. – 2009. – V. 30, Issues 1-2. – P. 29-41.
7. Shelly C. Lu Regulation of glutathione synthesis / C. Lu Shelly // MolecularAspects of Medicine. – 2009. – V. 30, Issues 1-2. – P. 42-59.
8. Brosnan J.T. Glutamate: a truly functional amino acid / J.T. Brosnan, M.E. Brosnan // Amino Acids. – 2012. – V. 25. – P. 207–218.
9. Glutamine and glutamate as vital metabolites / [Newsholme P., Lima M., Procopio J. et.al.] // Braz J. Med Biol Res. – 2003. – V. 36. – P.153-163.
10. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: Довідник / [Влізло В.В., Федорук Р.С., Макап І.А. та ін.] – Львів, 2004. – 400 с.

УДК 577.121:612.015.1:615.099

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНА І КАТАЛАЗНА АКТИВНІСТЬ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ХЛОРПІРИФОСОМ

Салига Ю.Т., к.б.н., ст. науковий співробітник

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Досліджували зміни супероксиддисмутазної і каталазної активності в гомогенатах тканин різних органів білих лабораторних щурів лінії Вістар, які зазнавали хронічної інтоксикації фосфорорганічною сполукою – хлорпірифосом. Показано, що дія цієї речовини протягом одного місяця на організм тварин призводить до вірогідного зниження супероксиддисмутазної активності в тканинах нирок, легень, серця, печінки і головного мозку. Каталазна активність вірогідно зменшувалася у тканинах нирок, печінки і головного мозку і незначно зростала в селезінці і серці. Отримані результати свідчать про інгібуючий вплив хлорпірифосу на систему антиоксидантного захисту організму.

Ключові слова: супероксиддисмутаза, каталаза, хлорпірифос, щурі, система антиоксидантного захисту

Салига Ю.Т. СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНАЯ И КАТАЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРПИРИФОСОМ / Институт биологии животных НААН, г. Львов, Украина.

Исследовали изменения супероксиддисмутазной и каталазной активности в гомогенатах тканей различных органов белых лабораторных крыс линии Вистар, подвергавшихся хронической интоксикации фосфорорганическим соединением – хлорпирифосом. Показано, что действие этого вещества в течение