

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

УДК 577.112.384:612.12:612.35].084.086

Бевзо В.В.

НЕФЕРМЕНТАТИВНА АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА КРОВІ ТА ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ

ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Відомим підсилювачем смаку, аромату та заміником солі є глутамат натрію. Незважаючи на те, що біля 25% населення Землі є чутливими до глутамату натрію, він залишається широкоживаною харчовою добавкою. Тому дослідження впливу глутамату натрію на рівень неферментативних антиоксидантів організму за умов тривалого вживання глутамату натрію є актуальним, що і було метою наших досліджень. Встановлено, що тривале введення 3 % розчину глутамату натрію щурів в дозі 30 мг/кг маси тіла протягом 4-х тижнів призводить до вірогідного підвищення вмісту відновленого глутатіону, вітамінів С та Е в гомогенаті печінки. Тоді як вміст церулоплазміну в крові та печінці тварин, що отримували глутамат натрію вірогідно знижується на 28 добу експерименту, що може призвести до зміни антиоксидантного статусу організму при тривалій дії, цієї харчової добавки.

Ключові слова: глутамат натрію, церулоплазмін, відновлений глутатіон, вітамін С, вітамін Е, сироватка крові, печінка, щури.

Робота є фрагментом НДР «Стрес-індуковані морфофункціональні та біохімічні зміни хроноперіодичної та гепаторенальної систем у ссавців», № державної реєстрації 0114U002472.

Вступ

Глутамат є однією з найбільш поширених амінокислот, що зустрічається в природі і є основним компонентом багатьох білків і пептидів більшості тканин. Глутамінова кислота, є глікогенною і заміною амінокислотою для людини і тварин, бере активну участь в енергетичному, білковому, жировому обміні, включається в синтез специфічних метаболітів, зокрема глутатіону і глутаміну [1].

Відомим підсилювачем смаку, аромату та заміником солі є глутамат натрію. Незважаючи на те, що біля 25% населення Землі є чутливими до глутамату натрію, він залишається широкоживаною харчовою добавкою. При цьому допустимі норми можуть бути значно перевищені, що призводить до таких метаболічних та токсичних ефектів глутамату натрію як окислювальний стрес, гіперглікемічні стани, зміни ліпідного обміну та ожиріння.

Антиоксидантна система організму включає ферментативні та неферментативні антиоксиданти організму елементи якої є більш автономними і складаються, окрім ендогенних, також із екзогенних елементів, що робить цю систему набагато гнучкішою [2]. Тому дослідження впливу глутамату натрію на рівень неферментативних антиоксидантів організму за умов тривалого вживання глутамату натрію є досить актуальним. Це дозволить розширити спектр негативних аспектів впливу цієї харчової добавки на дестру-

ктивні процеси в організмі та зробити практичні рекомендації щодо норм вживання даної харчової добавки.

Мета дослідження

Дослідити вплив 28-ми денного введення розчину 3 % розчину глутамату натрію в дозі 30 мг/кг маси тіла на деякі показники неферментативної антиоксидантної системи сироватки крові та печінки щурів.

Матеріали і методи дослідження

Робота виконана на 90 білих нелінійних щурах масою 120–160 г, яких утримували в умовах віварію з дотриманням нормативів Європейської конвенції про захист тварин, ухвалених І національним конгресом України з біоетики [3]. Тварини були поділені на дві групи: інтактні та дослідні щури, які щодня отримували розчин 3 % водний розчин глутамату натрію по 1 мл в розрахунок 30 мг/кг маси тіла протягом 28 діб. Така доза відповідає 2 г глутамату натрію на середньостатистичну людину. Вибір даної дози обумовлений тим, що за даними літератури 1-2 г глутамату натрію на середньостатистичну людину не виявляє негативного впливу, тоді як 3 г глутамату натрію може бути небезпечним для здоров'я людини [4]. Глутамат натрію в кількості 30 мг розчиняли в 1 мл дистильованої води кімнатної температури. Контрольна група тварин отримувала таку ж кількість дистильованої води без глутамату натрію.

Дослідження показників сироватки крові та гомогенату печінки тварин проводили на 7, 14, 21 та 28 доби експерименту. Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом. В тварин відбирали кров та видаляли печінку. Отриманий біологічний матеріал використовували для подальших досліджень.

Для досліджень використовували сироватку крові тварин, яку отримували шляхом центрифугування цільної крові при 1500 об/хв протягом 15 хв. В сироватці крові визначали вміст церулоплазміну за методом Ревіна [5]. 5% гомогенат печінки тварин готували на 50 мМ трис-НСІ-буфері (рН 7,4), після чого центрифугували при 900 g, протягом 15 хв. У постядерному супернатанті визначали вміст відновленого глутатіону за утворенням комплексу відновленого глутатіону з реактивом Елмана. Вітамін С визначали за здатністю відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол. Вітамін Е – за здатністю хлорного заліза окиснювати токоферол та утворювати забарвлений комплекс з α -

дипіридиллом [5]. Визначення загального білка в гомогенаті печінки тварин проводили за методом Лоурі [6].

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою стандартного пакету програм Microsoft Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента. Вірогідною вважалась різниця, якщо значення $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати проведених досліджень показали, що 4-х тижневе введення 3% розчину глутамату натрію в розрахунку 30 мг/кг маси тіла щурів призводило до зниження вмісту церулоплазміну в сироватці крові. Як видно з рис. 1, вміст церулоплазміну в сироватці крові дослідних тварин був практично на одному рівні з контролем протягом 3-х тижнів експерименту. Тоді як після 4-х тижневого введення тваринам глутамату натрію реєстрували вірогідне зниження вмісту церулоплазміну на 18 % порівняно з контролем.

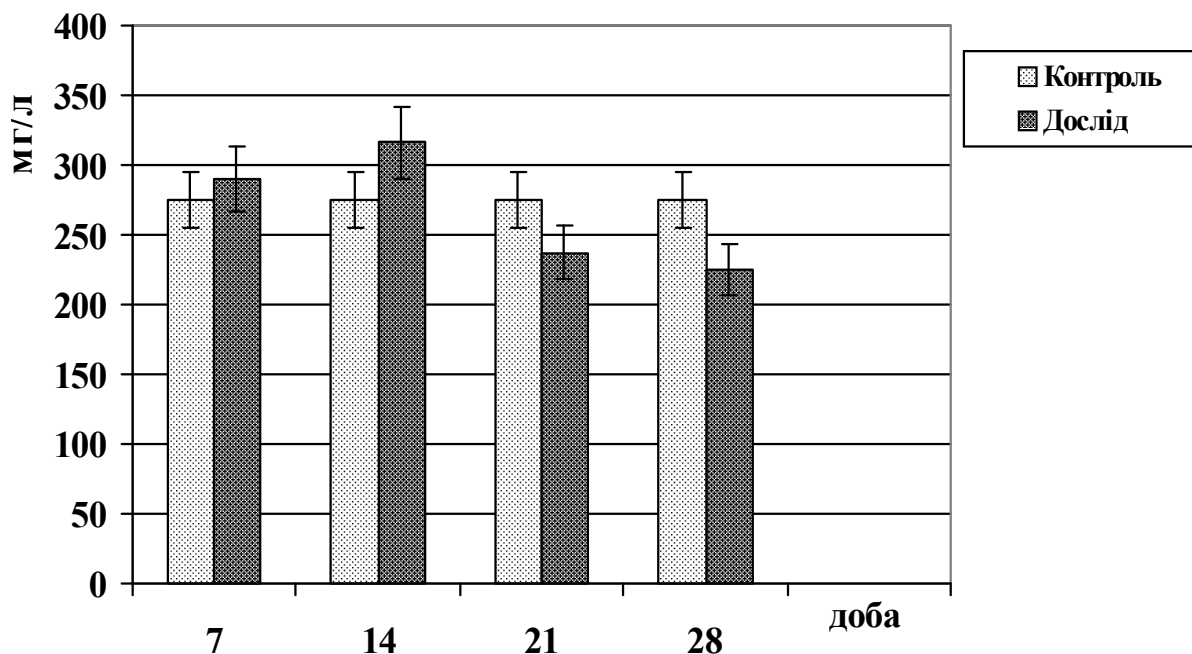


Рис. 1. Вміст церулоплазміну в сироватці крові щурів за умови 28-добового введення глутамату натрію дозі 30 мг/кг маси тіла.

Оскільки печінка є основним місцем синтезу церулоплазміну, то дослідження вмісту церулоплазміну проводили в гомогенаті печінки при тривалому введенні глутамат натрію. Найбільші зміни даного показника в гомогенаті печінки щурів спостерігали на 28 добу експерименту.

Так, відносно контрольної групи тварин, рівень церулоплазміну знижувався на 20 % (рис. 2). Встановлені зміни вмісту церулоплазміну в

сироватці крові та гомогенату печінки тварин після чотирьохтижневого введення глутамату натрію можуть свідчити про зрушення в системі антиоксидантного захисту, насамперед, про гальмування процесу перетворення двовалентного заліза до трьохвалентного, що сприятиме накопиченню Fe^{2+} , в результаті чого буде активуватися пероксидне окиснення ліпідів.

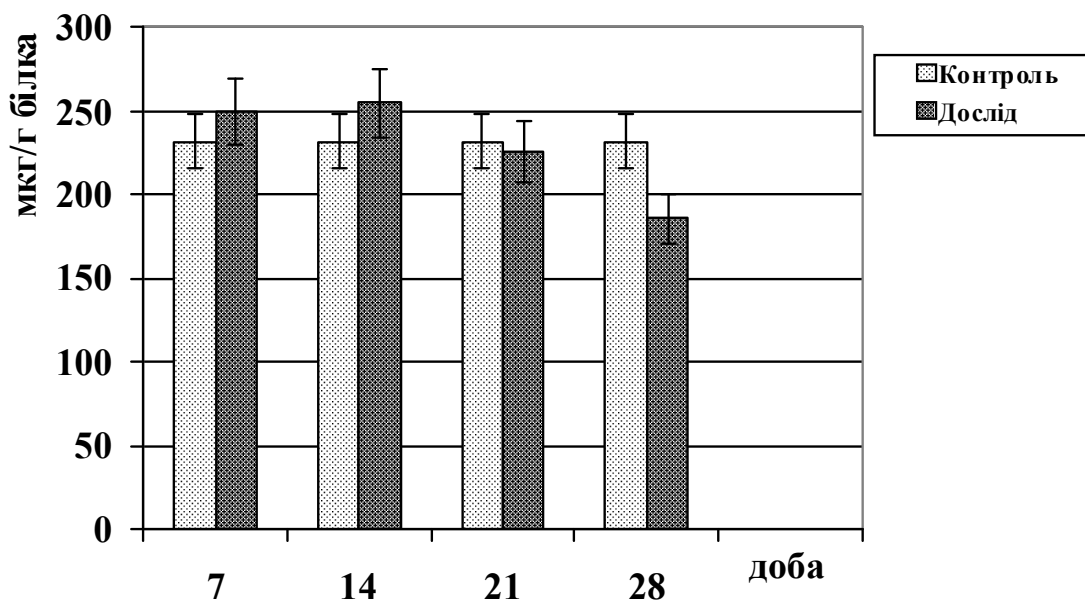


Рис. 2. Вміст церулоплазміну в гомогенаті печінки щурів за умови 28-ми добового введення глютамату натрію дозі 30 мг/кг маси тіла.

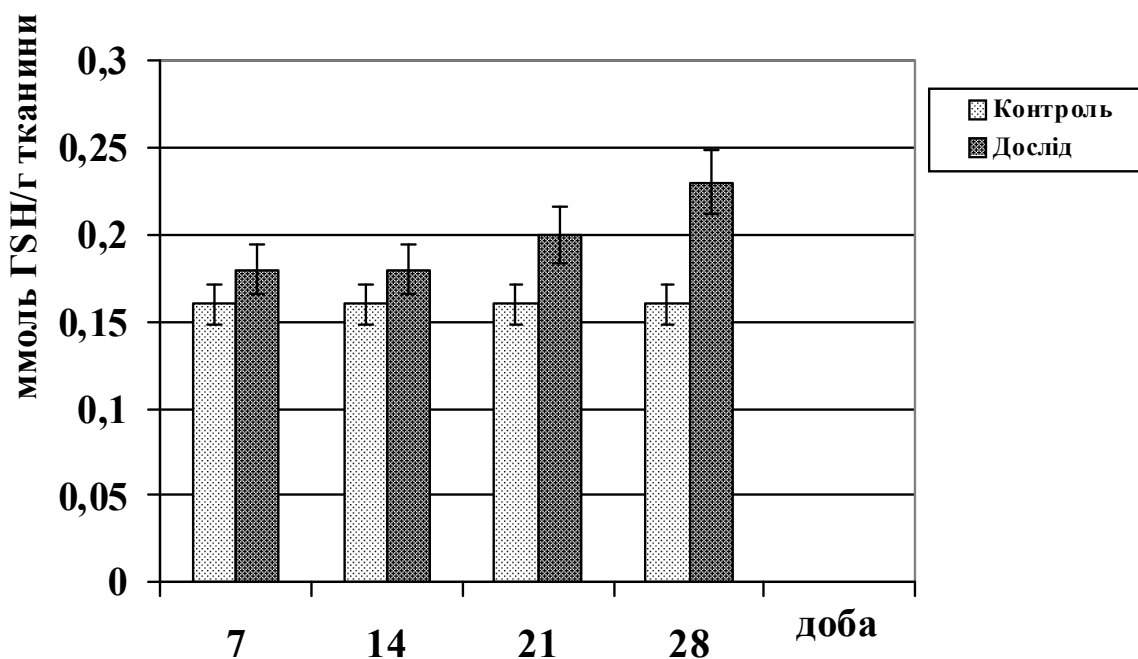


Рис. 3. Вміст відновленого глютаміону в гомогенаті печінки щурів за умови 28-ми добового введення глютамату натрію дозі 30 мг/кг маси тіла.

Відомо [7], що неферментативна антиоксидантна система організму забезпечує підтримання гомеостазу і провідна роль належить, насамперед, відновленому глютаміону, вітамінам С та Е. Як видно з рис. 3, вміст відновленого глютаміону в гомогенаті печінки дослідних тварин знаходився практично на одному рівні з контролем протягом 2-х тижневого експерименту.

Вірогідне зростання рівня відновленого глю-

таміону у гомогенаті печінки дослідних тварин порівняно з контролем відмічали на 21 та 28 доби експерименту на 28 та 42 % відповідно.

Зростання рівня відновленого глютаміону в печінці щурів за умови додаткового введення глютамату натрію є цілком закономірним, адже це головний орган де синтезується майже 90 % відновленого глютаміону із L-глютамінової кислоти.

При дослідженні рівня відновленої форми вітаміну С у гомогенаті печінки щурів після чотирьохтижневого введення глютамату натрію, фіксували збільшення його концентрації починаючи з 7-ї доби експерименту, що становило 156 мг/мг білка. Максимальне зростання рівня досліджуваного показника реєстрували на 21 та 28 доби експерименту, в порівнянні з контрольною групою у 1,4 і 1,5 рази відповідно (рис. 4).

Крім того, у ході експерименту було показано

вірогідне збільшення концентрації вітаміну Е в гомогенаті печінки щурів на 14, 21 та 28 доби після перорального введення тваринам глютамату натрію на 20 %, 35 % та 60 % відповідно у порівнянні з контролем (рис. 5).

Вітамін С і вітамін Е є синергістами. В нашому експерименті рівень вітаміну Е є вищим ніж вітаміну С, це, можливо, пов'язане з тим, що радикал вітаміну Е взаємодіє з аскорбіновою кислотою і тим самим відновлюється швидше.

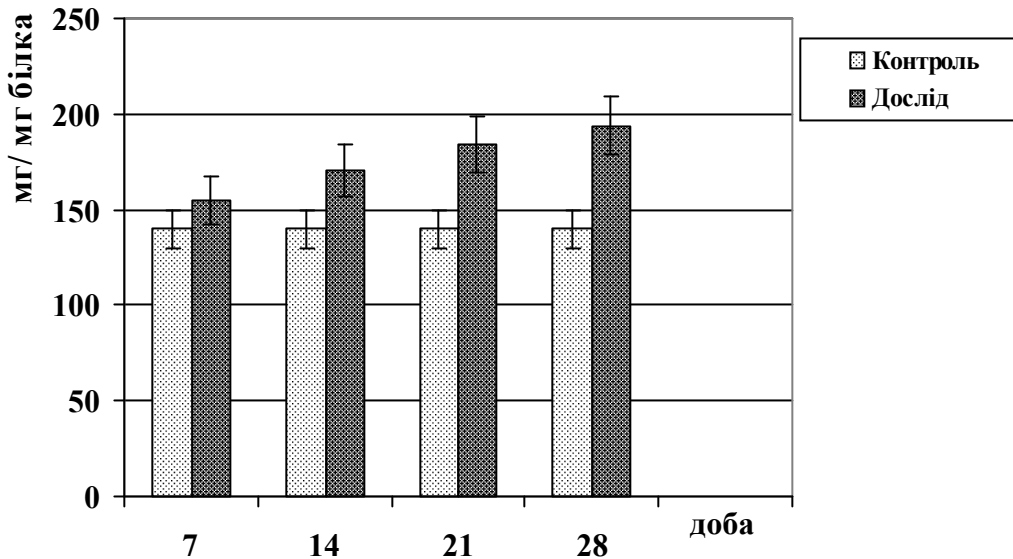


Рис. 4. Вміст відновленої форми вітаміну С в гомогенаті печінки щурів за умови 28-ми добового введення глютамату натрію дозі 30 мг/кг маси тіла.

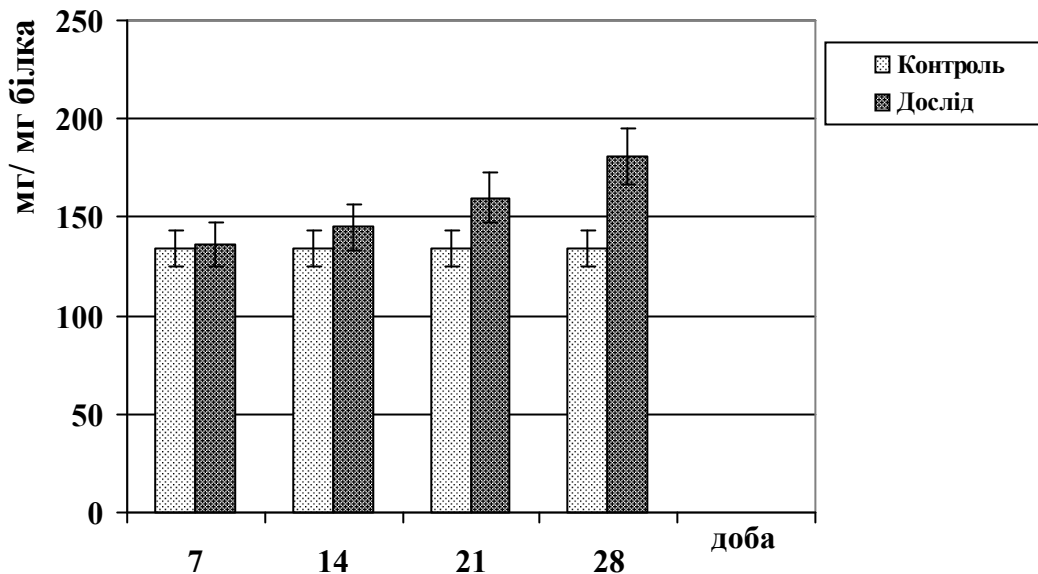


Рис. 5. Вміст α -токоферолу в гомогенаті печінки щурів за умови 28-добового введення глютамату натрію дозі 30 мг/кг маси тіла.

Отже, з отриманих результатів слідує, що в захисті тканин від окислювального пошкодження першочергове значення мають системи низькомолекулярних антиоксидантів з високим відновним потенціалом, такі як відновлений глутатіон, вітамін С і вітамін Е, рівень яких в гомогенаті печінки залишається високим протягом експерименту. Тоді як вміст церулоплазміну в крові та печінці тварин знижується після чотирьохтижневого введення 3% розчину глутамату натрію, що може призвести до зміни антиоксидантного статусу організму при тривалій дії, цієї харчової добавки. Такі зміни можна розглядати як адаптивну реакцію організму тварин на тривале вживання харчової добавки – глутамату натрію.

Висновки

1. Встановлено, що тривале введення 3 % розчину глутамату натрію щурам в дозі 30 мг/кг маси тіла протягом 4-х тижнів призводить до вірогідного підвищення в гомогенаті печінки вмісту відновленого глутатіону, вітамінів С та Е на 42, 50 і 60 % відповідно порівняно з контролем.

2. Вміст церулоплазміну в крові та печінці тварин знижується після чотирьохтижневого введення глутамату натрію на 18% і 20% відпо-

відно порівняно з контрольною групою щурів.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується дослідити стан прооксидантно-антиоксидантної системи крові та печінки щурів за умови тривалого введення глутамату натрію.

Література

1. Ivanov A. Opposing role of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in regulation of the extracellular signal-regulated kinases activity in cultured rat hippocampal neurons / A. Ivanov, C. Pellegrino, S. Rama, I. Dumalska // J. Physiol. – 2006. – Vol. 572, № 3. – P. 789–798.
2. Салига Н.О. Активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту в щурів за дії L-глутамінової кислоти / Н.О. Салига // Український біохімічний журнал. - 2013. - Т. 85, № 4. - С. 40-47.
3. Мальцев А.И. Этическая оценка методик проведения исследований / В.И. Мальцев, Д.Ю. Белоусов // Ежедневная аптека. – 2001. – № 4. – С. 35
4. Курбат М.Н. L-Глутамат: современный взгляд на известную аминокислоту / М.Н. Курбат // Нейрохимия. – 2009. – Т. 26, № 3. – С. 202–207.
5. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: справочное пособие / А.М. Горячковский. – Одесса : Экология, 2005. – С. 407–408.
6. Lowri O.H. Protein measurement with Folin phenol reagent / O.H. Lowri, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 123, № 1. – P. 265–273.
7. Харченко В. В. Природні біоантиоксиданти та печінка / В. В. Харченко // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – № 6. – С. 79-85.

Реферат

НЕФЕРМЕНТАТИВНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Бевзо В.В.

Ключевые слова: глутамат натрия, церулоплазмин, восстановленный глутатион, витамин С, витамин Е, сыворотка крови, печень, крысы.

Известным усилителем вкуса, аромата и заменителем соли является глутамат натрия. Несмотря на то, что около 25% населения Земли чувствительны к глутамату натрия, он остается широкоупотребляемой пищевой добавкой. Поэтому исследование влияния глутамата натрия на уровень неферментативных антиоксидантов организма в условиях длительного употребления глутамата натрия является актуальным, что и было целью наших исследований. Установлено, что длительное введение 3% раствора глутамата натрия крысам в дозе 30 мг/кг массы тела в течение 4-х недель приводит к достоверному повышению содержания восстановленного глутатиона, витамина С и витамина Е в гомогенате печени. Тогда как содержание церулоплазмينا в крови и печени животных, получавших глутамат натрия, достоверно снижается на 28 сутки эксперимента, что может привести к изменению антиоксидантного статуса организма при длительном воздействии этой пищевой добавки.

Summary

NON-ENZYMATIC ANTIOXIDANT SYSTEM OF BLOOD AND LIVER IN RATS UNDER PROLONGED CONSUMPTION OF SODIUM GLUTAMATE

Bevzo V.V.

Key words: sodium glutamate, ceruloplasmin, reduced glutathione, C vitamin, E vitamin, blood serum, liver, rat.

Sodium glutamate is known as flavour and aroma enhancer as well as salt substitute. Despite the fact that about 25% of the population is sensitive to sodium glutamate, it is still remaining to be one of the most widely used food additive. The purpose of the work presented was to study of the effect of sodium glutamate produced on the level of non-enzymatic antioxidants in the body under long-term consumption of monosodium glutamate. It has been found out the long-term consumption of 3% sodium glutamate by rats at a dose of 30 mg / kg body weight for 4 weeks resulted in a significant increase in the content of reduced glutathione, C vitamin and E vitamin E in the liver homogenate. While the content of ceruloplasmin in the blood and liver of animals given sodium glutamate, significantly decreased on the 28th day of the experiment. This suggests the long-term consumption of this food additive may lead to a change in the antioxidant status of the organism.