

## Т- І В-КЛІТИННИЙ ІМУНІТЕТ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ L-ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ

Н. Салига

*Інститут біології тварин НААН  
вул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: unosyt@yahoo.com*

Досліджували вплив різних доз глутамінової кислоти (285 мг/кг – перша дослідна група, 715 мг/кг – друга дослідна група) на показники Т- і В-клітинного імунітету щурів метом розеткоутворення. Встановлено, що кількість загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів у тварин другої дослідної групи та В-лімфоцитів у двох дослідних груп була вищою порівняно з контрольною групою тварин.

*Ключові слова:* L-глутамінова кислота, імунітет, Т-лімфоцити, В-лімфоцити.

Існує стійке уявлення про взаємозв'язок нервової та імунної систем, спільну роботу яких можна розглядати як єдиний захисний механізм, що забезпечує адаптаційні реакції організму. Відомо, що L-глутамінова кислота виконує низку важливих функцій у центральній нервовій системі (ЦНС) [6, 11]. Вона є основним збудливим медіатором, забезпечує хімічну передачу електричних сигналів у синапсах, безпосередньо бере участь у формуванні пам'яті, ембріогенезі, регулює ріст і розвиток нейронів [12]. Дія глутамінової кислоти в ЦНС опосередкована глутаміновими рецепторами різних типів (GluRs). Традиційно їх поділяють на іонотропні, які формують іонні канали, і метаботропні, які індують зміну метаболічних процесів у нейронах за участю G-білків [7, 15]. На сьогодні стає очевидною експресія глутаматних рецепторів не лише на нервових клітинах. Незважаючи на те, що роль глутамінової кислоти поза нервовою системою ще недостатньо вивчена, її можна розглядати як регуляторну молекулу широкого спектра дії, функції якої не обмежені ЦНС. Рецептори різних нейромедіаторів виявлені на мембранах імунокомпетентних клітин [3]. Зокрема, дослідження показали, що глутаматні рецептори, які експресуються на лімфоцитах, беруть участь у процесах активації даного типу клітин. Було показано існування на поверхні лімфоцитів, специфічних глутамінових рецепторів, близьких за своїми характеристиками до іонотропних GluRs у ЦНС. За допомогою кон'югатів міченої та неміченої глутамінової кислоти з декстраном показано, що рецептори [<sup>3</sup>H]Glu локалізовані на зовнішньому боці плазматичної мембрани Т-лімфоцитів [2]. Наявність рецепторів глутамінової кислоти на клітинах імунної системи дає змогу вважати глутамінову кислоту не лише нейро-, але й імуномодулятором [1, 8]. Можливо, з'ясування регуляторних взаємозв'язків між нервовою та імунною системами дасть змогу виявити нові підходи в боротьбі зі стресами та лікуванні низки захворювань. У зв'язку з цим важливими є дослідження впливу L-глутамінової кислоти на функціональну активність Т- і В-лімфоцитів, з'ясування механізмів, задіяних у цьому процесі, оскільки глутамінова кислота, окрім важливої ролі нейромедіатора, виконує ще деякі не менш важливі функції в організмі. Глутамінова кислота є одним із основних енергетичних складових усіх тваринних тканин, тобто джерелом  $\alpha$ -кетоглутарату – компонента циклу Кребса [5, 10, 14]. Вона є проміжним метаболітом розщеплення таких амінокислот, як пролін, гістидин, аргінін і орнітин [13]. Ця амінокислота знешкоджує аміак з утворенням глутаміну. Цей процес – єдиний спосіб знешкодження аміаку в

головному мозку. Глутамінова кислота відіграє одну з основних ролей в азотному обміні, при стресових станах вона здатна перетворюватися в аміномаєляну кислоту, яка є гальмівним нейромедіатором [11, 17]. Ця кислота бере участь у білковому і вуглеводному обміні, стимулює окиснювальні процеси, перешкоджає зниженню окисно-відновного потенціалу, підвищує стійкість організму до гіпоксії, покращує обмін речовин, змінюючи функціональний стан нервової та ендокринної систем, впливає на процеси гліколізу у тканинах, проявляє гепатопротекторну дію [11, 12, 16]. Ця кислота відіграє важливу роль у діяльності скелетних м'язів. При пероральному застосуванні глутамінова кислота добре всмоктується. Швидко елімінується з крові, накопичуючись переважно у м'язовій і нервовій тканинах, у печінці та нирках, проникає через гематоенцефалічний бар'єр і клітинні мембрани. Утилізується у процесі метаболізму, 4–7% виводиться нирками в незмінному вигляді. У здоровому організмі глутамінова кислота синтезується і використовується для забезпечення функцій клітин з високою проліферативною активністю, зокрема, для клітин імунної системи [14].

У зв'язку з вищесказаним актуальним є з'ясування впливу L-глутамінової кислоти на стан Т- і В-клітинного імунітету, що і є метою цього дослідження.

#### Матеріали та 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. Тваринам дослідних груп вводився водний розчин глутамінової кислоти в дозі 285 мг/кг (Д1) та 715 мг/кг (Д2) відповідно (1 раз на добу, перорально). Щурам контрольної групи упродовж 30-ти днів перорально вводили відповідну кількість дистильованої води. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Після закінчення досліду тварин усіх груп за анестезії ефіром декапітували.

Імунологічну реактивність організму оцінювали за такими показниками: загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) – визначали в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана, В-лімфоцити – в реакції розеткоутворення в присутності комплементу (ЕАС-РУЛ), Т-хелпери – в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана після інкубації з теофіліном, Т-супресори розраховували як різницю між загальними Т-лімфоцитами і Т-хелперами, імунорегуляторний індекс (ІРІ) розраховували за співвідношенням Т-хелпери/Т-супресори (Тх/Тс) (Чумаченко В.Е., Высоцкий Н.А., 1990). Активність розеткоутворення визначали за щільністю рецепторів: 3–5 – лімфоцити з низькою щільністю рецепторів; 6–10 – лімфоцити зі середньою щільністю рецепторів; “Морула” >10 – лімфоцити з високою щільністю рецепторів. Лімфоцити виділяли у градієнті густини фікол-верографіну.

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

#### Результати і їхнє обговорення

Здатність організму відповідати практично на будь-який антиген забезпечується наявністю великої кількості різних популяцій лімфоцитів, кожна з яких має специфічні рецептори для певних антигенів. **Т-лімфоцити** захищають організм за двома напрямками: з одного боку, допомагають В-лімфоцитам впізнати чужорідний фактор (антиген) і стимулюють їх до синтезу імуноглобулінів, а з іншого боку, Т-лімфоцити після антигенної активації здатні самі знищувати чужорідні клітини безпосередньо.

Результати наших досліджень показали (див. таблицю), що при введенні глутамінової кислоти у дозі 715 мг/кг змінюється рецепторний апарат Т-лімфоцитів, зокрема,

кількість лімфоцитів зі середньою (6–10) щільністю рецепторів. Таким чином, у тварин другої дослідної групи вірогідно зростає кількість загальних Т-розеткоутворювальних лімфоцитів ( $p < 0,01$ ) порівняно з контрольною групою тварин. Ці дані узгоджуються з літературними даними [2, 4] про позитивний вплив амінокислот, зокрема глутамінової кислоти на окремі ланки імунної відповіді, що є особливо важливим у практиці парентерального харчування, при стресах, різних захворюваннях, а також у осіб з імунодефіцитними станами. При недостатньому вмісті глутамінової кислоти в організмі спостерігається зниження резистентності до інфекцій, а додаткове її введення сприяє підвищенню активності лімфоцитів, збільшенню синтезу ІЛ-2, ФНП- $\alpha$  і  $\gamma$ -інтерферону, що супроводжується зниженням частоти інфекційних захворювань [9].

Показники Т- і В-клітинного імунітету щурів  
після застосування глутамінової кислоти ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Показник	Групи тварин		
	Д1	Д2	Контроль
	Загальні Т-лімфоцити (Е – РУЛ)		
3–5	38,00 $\pm$ 3,30	41,60 $\pm$ 1,44	39,40 $\pm$ 1,33
6–10	23,20 $\pm$ 1,59	29,00 $\pm$ 0,37***	21,00 $\pm$ 1,14
“Морула”	3,00 $\pm$ 0,45	2,80 $\pm$ 0,37	3,00 $\pm$ 0,31
Т-загальні, %	64,00 $\pm$ 3,90	73,40 $\pm$ 1,66**	63,40 $\pm$ 1,86
	Теofilінерезистентні Т-хелпери		
3–5	26,60 $\pm$ 1,03*	30,40 $\pm$ 0,75***	22,80 $\pm$ 1,02
6–10	13,40 $\pm$ 1,08	22,20 $\pm$ 1,46***	11,40 $\pm$ 1,07
“Морула”	3,20 $\pm$ 0,37	4,20 $\pm$ 0,58	2,60 $\pm$ 0,24
Т-хелпери, %	43,20 $\pm$ 2,33	56,80 $\pm$ 1,39***	36,80 $\pm$ 1,98
Т-супресори, %	20,80 $\pm$ 1,46*	16,6 $\pm$ 0,81***	26,60 $\pm$ 1,59
Т-х/Т-с	1,48 $\pm$ 0,16	3,42 $\pm$ 0,37**	1,72 $\pm$ 0,09
	В-лімфоцити		
3–5	21,00 $\pm$ 0,71***	19,00 $\pm$ 1,41	15,60 $\pm$ 0,75
6–10	7,20 $\pm$ 0,58**	9,00 $\pm$ 1,04**	4,00 $\pm$ 0,54
“Морула”	1,00	2,00	2,00 $\pm$ 0,31
В-лімфоцити, %	29,20 $\pm$ 0,37***	30,00 $\pm$ 1,91**	21,60 $\pm$ 1,28

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

Результати наших досліджень показали, що кількість Т-хелперів вірогідно зростала у тварин другої дослідної групи, яким вводили водний розчин глутамінової кислоти у дозі 715 мг/кг ( $p < 0,001$ ). У тварин першої дослідної групи спостерігалось незначне зростання цієї популяції лімфоцитів, але ці дані не були вірогідними. Нами відзначено, що глутамінова кислота впливала на функціональну активність Т-хелперів, про що може свідчити вірогідне збільшення Т-хелперів із низькою щільністю рецепторів у тварин двох дослідних груп відповідно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) та середньою щільністю рецепторів у щурів другої дослідної групи ( $p < 0,001$ ) порівняно з контрольною.

Кількість В-лімфоцитів вірогідно зростає у тварин першої дослідної групи ( $p < 0,001$ ) і у тварин другої дослідної групи порівняно з контролем (див. таблицю). Це зростання відбувається за рахунок В-лімфоцитів зі середньою щільністю рецепторів. Застосування глутамінової кислоти зумовлює підвищення індексу співвідношення Т-хелперів до цитотоксичних Т-лімфоцитів, відносний вміст яких вірогідно вищий у тварин другої дослідної групи ( $p < 0,001$ ) стосовно контролю. Кількість Т-супресорів вірогідно знижувалась у тварин двох дослідних груп відповідно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ).

Аналіз результатів досліджень показав, що введення глутамінової кислоти впливає на Т- і В- клітинну ланку імунітету. Глутамінова кислота у дозі 715 мг/кг сприяє підвищенню захисних сил організму, про що може свідчити вірогідне збільшення Т-хелперів із низькою

та середньою щільністю рецепторів. Зростання кількості теофілінрезистентних Т-хелперів у крові впливало на активацію В-лімфоцитів, кількість яких зростала у тварин першої та другої дослідних груп.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Болдырев А. А.* Матриксная функция биологических мембран // Сорос. образов. журн. 2001. № 4. С. 2–9.
2. *Костянян И. А., Наволоцкая Е. В., Нуриева Р. И.* и др. Взаимодействие L-глутаминовой кислоты с Т-лимфоцитами человека // Биоорганическая химия. 1997. Т. 23. № 10. С. 805–808.
3. *Лисьяный Н. И.* Классификация иммунных нарушений при нервных болезнях и их характеристика // Нейроиммунология. 2004. № 2. С. 61–62.
4. *Calder P. C., Yaqoob P.* Glutamine and the immune system // *Amino Acids*. 1999. Vol. 17. N 3. P. 227–241.
5. *DeSilva Tara M., Kabakov Anatoli Y., Goldhoff Patricia E.* et al. Regulation of Glutamate Transport in Developing Rat Oligodendrocytes // *J. Neurosci*. 2009. Vol. 29. N 24. P. 7898–7908.
6. *Dingledine R., Conn J. P.* Peripheral glutamate receptors: molecular biology and role in taste sensation // *J. Nutr*. 2000. Vol. 130. P. 1039–1042.
7. *Duigou C., Holden T., Kullmann D.* Short- and long-term depression at glutamatergic synapse hippocampal interneurons by group I mGluR activation // *Neuropharmacol*. 2011. Vol. 60. Is. 5. P. 748–756.
8. *Hansen A. M., Caspi R. R.* Glutamate joins the ranks of immunomodulators // *Nat. Med*. 2010. Vol. 16. N 8. P. 856–858.
9. *Kew S., Wells S., Yaqoob P.* et al. Dietary glutamine enhances murine T-lymphocyte responsiveness // *J. Nutr*. 1999. Vol. 129. N 8. P. 1524–1531.
10. *Kirstein C. L., Coopersmith R., Bridges R. J., Leon M.* Glutathione levels in olfactory and non-olfactory neural structures of rats // *Mol. Aspects Med*. 2009. Vol. 30. N 1–2. P. 99–110.
11. *Kuhar M. J.* Neuropeptides in the CNS // Elsevier, 1990. 550 p.
12. *Meldrum B. S.* Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain // *J. Nutrition*. 2000. Vol. 130. P. 1007–1015.
13. *Newsholme P., Procopio J., Lima M. M.* et al. Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function // *Cell Biochem. Funct*. 2003. Vol. 21. P. 1–9.
14. *Newsholme P., Lima M., Procopio J.* et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites // *Braz. J. Med. Biol. Res*. 2003. Vol. 36. P. 153–163.
15. *Platt S. R.* The role of glutamate in central nervous system health and disease // *Vet. J*. 2007. Vol. 173. N 2. P. 278–286.
16. *Roth E.* Nonnutritive effects of glutamine // *J. Nutr*. 2008. Vol. 138. P. 2025–2031.
17. *Stylianou Michalakis, Zong Xiangang, Becirovic Elviretall.* The Glutamic Acid-Rich Protein Is a Gating Inhibitor of Cyclic Nucleotide-Gated Channels // *J. Neurosci*. 2011. Vol. 31. N 1. P. 133–141.

Стаття: надійшла до редакції 25.11.11

доопрацьована 09.02.12

прийнята до друку 10.02.12

## T- AND B-CELL IMMUNITY UNDER CONDITIONS OF L-GLUTAMIC ACID INTAKE

N. Salyha

*Institute of Animal Biology NAAS  
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: ynosyt@yahoo.com*

Effect of glutamic acid intake by rats in various doses (285 mg/kg – the first experimental group, 715 mg/kg – the second experimental group) on the values of T- and B-cell immunity was investigated. It was found that number of T-total lymphocytes and T-helpers in animals of the second experimental group and B-lymphocytes of both experimental groups was higher than in the control group of animals.

*Keywords:* L-glutamic acid, immunity, T-lymphocytes, B-lymphocytes.

## Т- И В-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Н. Салыга

*Институт биологии животных НААН  
ул. Стуса, 38, Львов 79034, Украина  
e-mail: ynosyt@yahoo.com*

Исследовали влияние различных доз глутаминовой кислоты (285 мг/кг – первая опытная группа, 715 мг/кг – вторая опытная группа) на показатели Т- и В-клеточного иммунитета крыс методом розеткообразования. Установлено, что количество общих Т-лимфоцитов, Т-хелперов у животных второй опытной группы и В-лимфоцитов у животных двух опытных групп было выше по сравнению с контрольной группой животных.

*Ключевые слова:* L-глутаминовая кислота, иммунитет, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.