

УДК 577.112.384:612.35].084.086

Бевзо В. В.

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНА, КАТАЛАЗНА Й ЗАГАЛЬНА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТІ КРОВІ ТА ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці

bevzo61@mail.ru

Показано, що щоденне споживання глутамату натрію в дозі 30 мг/кг маси тіла протягом 28 днів призвело до підвищення загальної антиоксидантної активності на 7, 14 і 21 доби експерименту у порівнянні з контролем та зниження досліджуваного показника на 28 добу як в гемолізаті крові так і в гомогенаті печінки тварин до рівня контролю. Встановлено вірогідне підвищення каталазної та супероксиддисмутазної активностей в гемолізаті крові та гомогенаті печінки щурів на 7 і 14 доби експерименту та зниження ферментативних активностей після чотирьохтижневого введення харчової добавки порівняно з контролем.

Ключові слова: глутамат натрію; загальна антиоксидантна активність; каталаза; супероксиддисмутаза; кров; печінка; щури.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом НДР «Стрес-індуковані морфофункціональні та біохімічні зміни хроноперіодичної та гепаторенальної систем у свавців», № державної реєстрації 0114U002472.

Вступ. Глутамат натрію – це натрієва сіль глютамінової кислоти яка сама по собі є необхідною й корисною для нашого організму. Однак, після того як навчилася синтезувати штучний глутамат натрію, його стали використовувати при виробництві продуктів харчування.

Сумніви, що до безпеки вживання харчової добавки глутамату натрію, почались в 1968 році після публікацій в англійському медичному журналі даних про те, що натрієва сіль глютамінової кислоти може бути причиною багатьох хвороб [4]. Після цих публікацій протягом 40 років аж до сьогодні навколо даного питання продовжуються дискусії. Не дивлячись на значну кількість робіт, що присвячені цій проблемі, єдиної думки відносно безпечної дози харчової добавки глутамату натрію немає.

В Україні глутамат натрію став легальною харчовою добавкою лише в 2000 році і кількість його вживання практично неконтрольований процес, що обумовлює необхідність контролю за його використанням, а також пошук засобів профілактики нега-

тивного впливу даної добавки на організм людини [5]. Це дозволить розширити спектр негативних аспектів впливу цієї харчової добавки на деструктивні процеси в організмі.

В ряді робіт показано [8, 10], що тривале вживання глутамату натрію призводить до оксидативного стресу та посилення вільнорадикального окислення ліпідів і білків в організмі. Надлишковій генерації активних форм кисню, яка лежить в основі багатьох патологічних станів, протистоїть антиоксидантна система захисту. Інгібування процесів вільнорадикального окислення значною мірою залежить від активності ензимів антиоксидантного захисту, значну роль при цьому відіграють ферменти супероксиддисмутаза і каталаза.

Метою роботи було дослідження супероксиддисмутазної, каталазної й загальної антиоксидантної активностей гемолізату крові та гомогенату печінки щурів при тривалому введенні глутамату натрію.

Матеріал та 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 I Національним конгресом України з біоетики [2]. Тварини були поділені на дві групи: інтактні та дослідні щури, які щодня отримували *per os* 3 % водний розчин глутамату натрію по 1 мл в розрахунку 30 мг/кг маси тіла протягом 28 днів. Така доза відповідала 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 [3].

Препарат являє собою натрієву сіль глютамінової кислоти з молекулярною масою 187,13 Да. 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 тварин проводили на 7, 14, 21 та 28 доби експерименту. Після

завершення дослідів декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом.

Для досліджень використовували гемолізат крові, який отримували шляхом розведення цільної крові дистильованою водою у співвідношенні 1:50 та подальшого центрифугування при 900 g, протягом 15 хв. Показники антиоксидантного стану печінки щурів визначали у постядерному супернатанті 5% гомогенату печінки, отриманому після центрифугування при 900 g, який готували на 50 мМ трис-НСІ-буфері (рН 7,4).

У гемолізатах крові та гомогенатах печінки щурів визначали загальну антиоксидантну активність, супероксиддисмутазу (Е. Е. Дубинина и соавт., 1983) і каталазу (М. А. Корольок и соавт., 1988) активності. Визначення загального білка в гомогенаті печінки та гемолізаті крові тварин проводили за методом Лоурі [1]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартного пакету програм Microsoft Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента. Вірогідною вважалась різниця, якщо значення $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Дослідження токсодинаміки глутамату натрію за умов тривалого внутрішньошлункового введення 1 мл 3% водного розчину щурам у дозі 30 мг/кг маси тіла показало, що глутамат натрію викликав вірогідне підвищення загальної антиоксидантної активності крові та печінки протягом всього періоду експерименту порівняно з контролем (рис. 1). Така динаміка змін даного показника може свідчити про посилення оксидативних процесів у організмі тварин. Максимальне зростання загальної АОА в сироватці крові відмічали на 14 добу, тоді як після чотирьохтижневого введення глутамату натрію

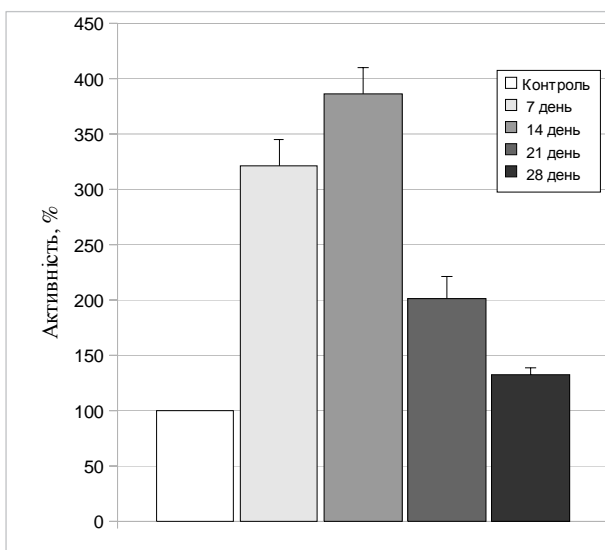


Рис. 1. Загальна антиоксидантна активність крові щурів за умови 28-ми добового перорального введення 3% розчину глутамату натрію.

реєстрували різке зниження показника порівняно з 14 та 21 добами, при цьому залишалася вірогідною різниця порівняно з контрольною групою тварин.

Схожа динаміка змін загальної антиоксидантної активності спостерігалась і в гомогенаті печінки дослідних тварин. Проте різке зростання загальної антиоксидантної активності реєстрували як на 14 так і на 21 доби експерименту у порівнянні з контролем. Тоді як на 28 добу дії глутамату натрію на організм тварин даний показник відповідав рівню контролю (рис. 2).

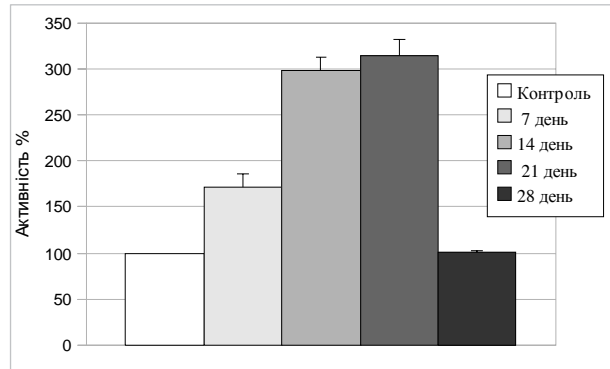


Рис. 2. Загальна антиоксидантна активність печінки щурів за умови 28-ми добового перорального введення 3% розчину глутамату натрію.

Таким чином, тривале введення глутамату натрію призводить до дисбалансу у функціонуванні антиоксидантної захисної системи крові та печінки тварин, що проявляється у вигляді активації антиоксидантної системи протягом трьохтижневого експерименту та значному пригніченні антиоксидантного захисту організму після чотирьохтижневої дії харчової добавки на організм щурів.

Супероксиддисмутаза та каталаза є одними із найважливіших ферментів антиоксидантного захисту. На фоні підвищення загальної антиоксидантної активності крові дослідних тварин зростала каталазна та супероксиддисмутазна ферментативні активності гемолізату крові на початкових етапах експерименту.

Так, вірогідне зростання як каталазної так і супероксиддисмутазної активностей гемолізату крові щурів реєстрували починаючи з 7-ї по 21-шу добу. Після чотирьохтижневого введення глутамату натрію дослідним тваринам спостерігали різке вірогідне зниження досліджуваних активностей в гемолізаті крові. Встановлені зміни досліджуваних показників крові підтверджуються дослідженнями [7, 6, 11, 12] (рис. 3, 4).

Амплітуда змін каталазної активності в гемолізаті крові дослідних тварин була більшою порівняно з супероксиддисмутазною активністю, однак тенденція змін була ідентичною. Така ж динаміка змін активності антиоксидантних ферментів спостерігалась і в гомогенаті печінки дослідних щурів,

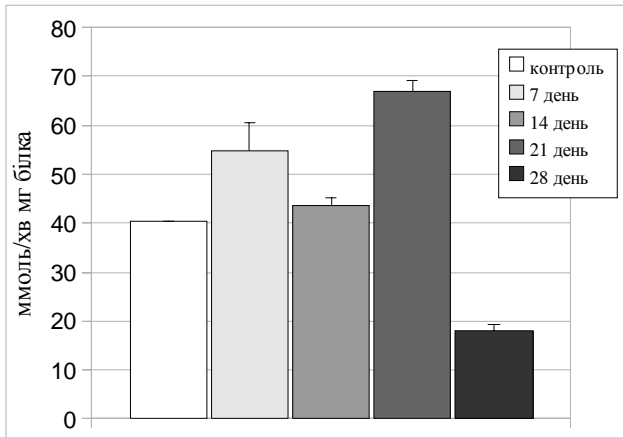


Рис. 3. Каталазна активність гемолізату крові щурів за умови 28-ми добового перорального введення 3% розчину глутамату натрію.

проте суттєве зниження ферментативних активностей каталази і супероксиддисмутази відмічали дещо раніше, починаючи з 21 доби, при чому максимальне зменшення активностей реєстрували на 28 добу експерименту на 64% та 40% відповідно порівняно з контролем (рис. 5, 6).

Каталаза має чотири субодиниці, кожна з яких містить гемову групу в активному центрі і NADPH як стабілізуючий компонент. Каталаза без NADPH змінює свою акумуляцію, перетворюючись в неактивну форму ферменту. Зменшення каталазної активності, можливо, може бути результатом зниження пулу NADPH в печінці, основним місцем утворення якого є пентозофосфатний шлях окислення глюкози. Підтвердженням цього є встановлене авторами [11] зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – ключового ферменту цього циклу розщеплення глюкози, за умови введення глутамату натрію в дозі 4 г/кг маси тіла щурів протягом десяти днів експерименту [9].

Крім того зниження активності антиоксидантних ферментів можливо обумовлені їх інактивацією

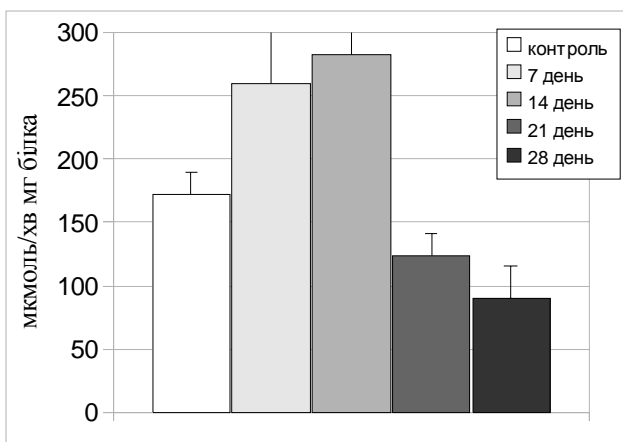


Рис. 5. Каталазна активність гомогенату печінки щурів за умови 28-ми добового перорального введення 3% розчину глутамату натрію.

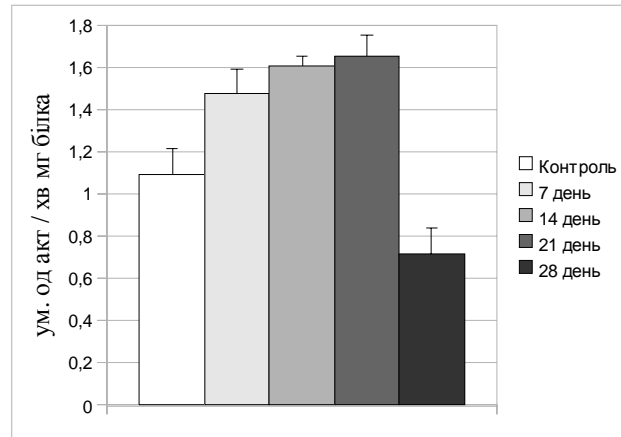


Рис. 4. Супероксиддисмутазна активність гемолізату крові щурів за умови 28-ми добового перорального введення 3% розчину глутамату натрію.

АФК чи їх глікозилуванням продуктами окислення глюкози. Так як з літератури відомо [9], що рівень глюкози в крові тварин зростає після введення глутамату натрію в дозі 4 г/кг маси тіла щурів протягом десяти днів досліджень.

Зменшення активності антиоксидантних ферментів в гомогенаті печінки може бути як наслідком зниження їх синтезу так і підвищенням деградації молекул каталази і супероксиддисмутази за участю АФК – супероксиданіону, гідроксильних радикалів і пероксиду водню, кількість яких зростає при оксидативному стресі, що підтверджується даними літератури за умови тривалої дії глутамату натрію в дозі 8 мг/кг маси тіла щурів протягом одного місяця [8].

Таким чином, зниження загальної антиоксидантної, каталазної та супероксиддисмутазної активностей в гемолізаті крові та печінці дослідних щурів може свідчити про індукцію глутаматом натрію оксидативного стресу і зв'язаний ним ефект ендогенної інтоксикації після чотирьохтижневого його введення в дозі 30 мг/кг маси тіла. Зниження каталітичної активності антиоксидантних ферментів, мож-

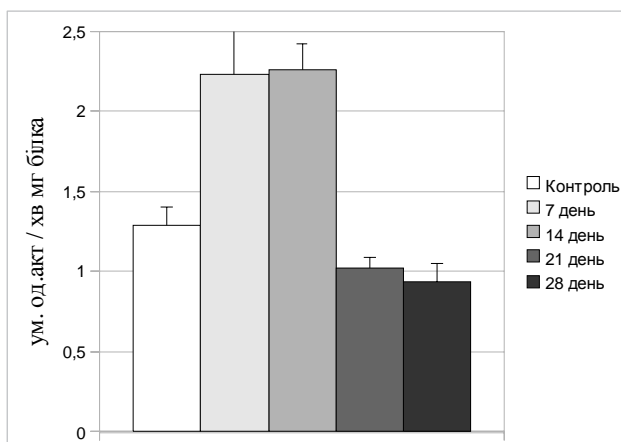


Рис. 6. Супероксиддисмутазна активність гомогенату печінки щурів за умови 28-ми добового перорального введення 3% розчину глутамату натрію.

ливо, обумовлені їх інактивацією АФК чи їх глікозилюванням продуктами окислення глюкози, рівень яких, як відомо, зростає при тривалій дії глутамату натрію як харчової добавки.

Висновки. Тривале внутрішньошлункове введення щурам 3 % розчину глутамату натрію щодня протягом чотирьох тижнів призводить до вірогідного підвищення загальної антиоксидантної активності на 7,14 і 21 доби у порівнянні з контролем та зниження досліджуваного показника на 28 добу експерименту як в гемолізаті крові так і в гомогенаті печінки тварин до рівня контролю. Встановлено

вірогідне підвищення каталазної та супероксиддисмутазної активностей в гемолізаті крові та гомогенаті печінки щурів після двотижневої дії глутамату натрію та суттєве зниження ферментативних активностей, починаючи з 21 доби. При цьому максимальне зменшення активності антиоксидантних ферментів реєстрували після чотирьохтижневого введення харчової добавки порівняно з контролем.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується дослідити стан прооксидантно-антиоксидантної систем крові та печінки щурів за умови тривалого введення глутамату натрію.

Література

1. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: справочное пособие / А. М. Горячковский. – Одесса : Экология, 2005. – С. 407–408.
2. Мальцев А. И. Этическая оценка методик проведения исследований / А. И. Мальцев, Д. Ю. Белоусов // Ежедневная аптека. – 2001. – № 4. – С. 35.
3. Молекулярні механізми прояву токсичності моносодій глутамату Спецпроект: аналіз наукових досліджень: матеріали VII Міжнар. наук.-практ. конф., 14–15 черв. 2012 р.: у 7 т. – Дніпропетровськ : Біла К. О., 2012. – С. 3–9.
4. 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.
5. Стан системи пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в парієтальних клітинах в умовах розвитку екстремального хронічного атрофічного гастриту / [О. В. Дробінська, Л. М. Гайда, К. О. Дворщенко та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 5. – С. 85–91.
6. Addison A. The Monosodium Glutamate Story: The Commercial Production of MSG and Other Amino Acids / A. Addison // Journal of Chemical Education. – 2004. – Vol. 81, № 3. – P. 347–355.
7. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review / M. Freeman // J. Am. Acad. Nurse Pract. – 2006. – Vol. 18, № 10. – P. 482–486.
8. Okwudiri O. O. Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats / Onyema Oscar Okwudiri, Alisi Chinwe Sylvanus, Ihetuge Adaeze Peace // International Journal of Biochemistry Research & Review. – 2012. – Vol. 1, № 2. – P. 1–11.
9. Onyema O. Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats / O. O. Onyema, C. S. Alisi, A. P. Ihetuge // International Journal of Biochemistry Research & Review. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 1–11.
10. Singh K. Biochemical changes in cardiac tissue upon monosodium glutamate administration in hypercholesteremic mice / Kuldip Singh, Arvid Preet Kaur, Pushpa Ahluwalia // International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases. – 2012. – Vol. 2, № 3. – P. 217–222.
11. Williams A. N. Monosodium glutamate 'allergy': menace or myth? / A. N. Williams, K. M. Woessner // Clin. Exp. Allergy. – 2009. – Vol. 39, № 5. – P. 640–646.
12. Yang W. H. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study / W. H. Yang, M. A. Drouin, M. Herbert [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 1997. – Vol. 99, № 3. – P. 757–762.

References

1. Goryachkovskiy AM. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike: spravochnoye posobiye. Odessa: Ekologiya, 2005. 407–8.
2. Mal'tsev AI, Belousov DYU. Eticheskaya otsenka metodik provedeniya issledovaniy. Yezhenedel'naya apteka. 2001;4:35.
3. Molekulyarni mekhanizmi proyavu toksichnosti mononatriy glutamatu Spetsproyekt: analiz naukovikh doslidzhen': materialy VII Mizhnar. nauk.-prakt. konf., 14–15 cherv. 2012 r.: u 7 t. Dnipropetrovs'k: Bila K. O.; 2012:3–9.
4. Saliga NO. Aktivnist' glutatiónovoï sistemi antioksidantnogo zakhistu v shchuriv za diï L-glutamínovoï kisloti. Ukraïns'kiy biokhímichniy zhurnal. 2013;85(4):40–7.
5. Drobíns'ka OV, Gayda LM, Dvorshchenko KO, ta in. Stan sistemi peroksidnogo okislennya lípidív ta antioksidantnogo zakhistu v paríétal'nikh klítinakh v umovakh rozvitku yekstremal'nogo khroníchnogo atrofičnogo gastritu. Ukr. biokhím. zhurn. 2010;82(5):85–91.
6. Addison A. The Monosodium Glutamate Story: The Commercial Production of MSG and Other Amino Acids. Journal of Chemical Education. 2004;81(3):347–55.
7. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review. J Am Acad Nurse Pract. 2006;18(10):482–6.

8. Onyema Oscar Okwudiri, Alisi Chinwe Sylvanus, Ihetuge Adaeze Peace. Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*. 2012;1(2):1–11.
9. Onyema OO, Alisi CS, Ihetuge AP. Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*. 2012;2(1):1–11.
10. Kuldip Singh, Arvid Preet Kaur, Pushpa Ahluwalia. Biochemical changes in cardiac tissue upon monosodium glutamate administration in hypercholesteremic mice. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. 2012;2(3):217–22.
11. Williams AN, Woessner KM. Monosodium glutamate 'allergy': menace or myth? *Clin Exp Allergy*. 2009;39(5):640–6.
12. Yang WH, Drouin MA, Herbert M, et al. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Allergy Clin Immunol*. – 1997. – Vol. 99, № 3. – P. 757–762.

УДК 577.112.384:612.35].084.086

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНАЯ, КАТАЛАЗНАЯ И ОБЩАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТИ КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Бевзо В. В.

Резюме. Показано, что ежедневное потребление глутамата натрия в дозе 30 мг/кг массы тела в течение 28 суток привело к повышению общей антиоксидантной активности на 7, 14 и 21 сутки эксперимента по сравнению с контролем и снижению исследуемого показателя на 28 сутки как в гемолизате крови так и в гомогенате печени животных до уровня контроля. Установлено достоверное повышение каталазной и супероксиддисмутазной активностей в гемолизате крови и гомогенате печени крыс на 7 и 14 сутки эксперимента и снижение ферментативных активностей после четырехнедельного введения пищевой добавки по сравнению с контролем.

Ключевые слова: глутамат натрия; общая антиоксидантная активность; каталаза; супероксиддисмутаза; кровь; печень; крысы.

UDC 577.112.384:612.35].084.086

SUPEROXIDE, CATALASE AND GENERAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLOOD AND LIVER OF RATS BASED ON ACTION OF MSG

Bevzo V. V.

Abstract. Monosodium glutamate is a sodium salt of glutamic acid which by itself is an essential and useful for human body. MSG in Ukraine became legal food supplement in 2000 and the number of its use is an uncontrolled process that necessitates control over its use. Number of studies has been shown that prolonged use of monosodium glutamate leads to oxidative stress and increased free radical oxidation of lipids and proteins in our body. Surplus generation of reactive oxygen species, which underlies many pathological conditions, resists antioxidant protective system. The inhibition of free radical oxidation process principally depends on the activity of antioxidant enzymes. Significant role is played by enzymes of superoxide dismutase and catalase.

The *aim* of study was to figure out superoxide dismutase, catalase and total antioxidant activity of blood hemolysate and liver homogenate of a rat with prolonged administration of sodium glutamate.

Materials and methods. The work was carried on 90 white nonlinear rats with 120–160 g of body weight, which were divided into two groups: the first group contained experimental rats and the second one included intact rats that received daily aqueous solution of 3% sodium glutamate in 1 ml for 30 mg/kg of body weight for 28 days. This dose corresponded to 2 g of sodium glutamate to the average person.

Results. It is shown that a daily intake of MSG at a dose of 30 mg/kg of body weight for 28 days caused increase in total antioxidant activity on 7, 14 and 21 days of the experiment compared to the control and reduction of the studied parameters after 28 days as in blood hemolysate as in liver homogenate to control level. Established significant increase of catalase and superoxide dismutase activities in rats' blood hemolysate and liver homogenate in 7 and 14 days of experiment and reduced enzymatic activity after 4-weeks administration of food supplement compared to control. The maximum decrease in the activity of antioxidant enzymes which were established after the introduction of food supplements compared to control.

Conclusion. Thus, reduction of total antioxidant, superoxide dismutase and catalase activities in blood and liver hemolysate of experimental rats may indicate MSG induction of oxidative stress and bound with that effect of endogenous intoxication after 4-weeks administration in dosage 30 mg/kg of body weight.

Keywords: monosodium glutamate; the total antioxidant activity; catalase; superoxide dismutase; blood; liver; rats.

Стаття надійшла 12.03.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування