



Роль глутамата в энергетическом метаболизме тимуса

И. А. Никитина

Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

Резюме

Цель исследования. Провести анализ энергетической роли глутамата в тимocyтах и тканях тимуса на разных этапах его возрастной инволюции.

Материалы и методы. Исследования проведены на белых крысах-самцах. Состояние энергетического обмена определяли по скорости потребления кислорода тканями тимуса и тимocyтами с использованием полярографического метода.

Результаты. Установлено, что в тканях тимуса 4-, 5- и 6-месячных крыс скорость потребления кислорода постоянна и значимо не изменяется в ответ на введение глутамата. Тимocyты — иммунокомпетентные клетки тимуса животных 3- и 8-месячного возраста, несмотря на сходные уровни потребления кислорода на эндогенных субстратах, по-разному реагируют на действие глутамата. В тимocyтах 3-месячных животных действие глутамата оказывает более выраженный стимулирующий эффект на биоэнергетические процессы по сравнению с 8-месячными. Есть основание полагать, что снижение эффективности действия глутамата по мере взросления животных обусловлено процессами возрастной инволюции тимуса.

Заключение. Глутамат стимулирует аэробное дыхание в тимocyтах 3- и 8-месячных животных, при этом величина стимулирующего эффекта в тимocyтах более молодых животных выше. Одновременно с этим глутамат не вызывает значимых изменений скорости потребления кислорода в тканях тимуса 4-, 5- и 6-месячных животных.

Ключевые слова: тимус, тканевое дыхание, тимocyты, глутамат, амитал, инволюция тимуса, кислород, полярографический метод

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Никитина ИА. Роль глутамата в энергетическом метаболизме тимуса. Проблемы здоровья и экологии. 2022;19(4):87–94. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2022-19-4-12>

Role of glutamate in thymic energy metabolism

Irina A. Nikitina

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To analyze the energetic role of glutamate in thymocytes and tissues of the thymus at different stages of its age-related involution.

Materials and methods. The studies were performed on white male rats. The state of energy metabolism was determined by the rate of oxygen consumption by thymus tissues and thymocytes using a polarographic method.

Results. It was found that in the thymus tissues of 4, 5 and 6-month-old rats the rate of oxygen consumption is constant and does not significantly change in response to glutamate administration. Thymocytes - the immunocompetent thymus cells of 3- and 8-month-old animals, despite similar levels of oxygen consumption on endogenous substrates, respond differently to glutamate action. In thymocytes of 3-month-old animals, the action of glutamate has a more pronounced stimulating effect on bioenergetic processes compared to 8-month-old animals. There is a reason to believe that the decrease in the efficiency of glutamate action as the animals grow older is caused by the processes of age-related involution of the thymus

Conclusion. Glutamate stimulates aerobic respiration in the thymocytes of 3- and 8-month-old animals, with a greater stimulating effect in the thymocytes of younger animals. At the same time, glutamate does not cause significant changes in the rate of oxygen consumption in the thymus tissues of 4-, 5-, and 6-month-old animals.

Key words: thymus, tissue respiration, thymocytes, glutamate, amytal, thymus involution, oxygen, polarographic method

Conflict of interests. Author declares no conflict of interest.

Funding. This study was conducted without sponsorship.

For citation: Nikitina IA. Role of glutamate in thymic energy metabolism. Health and Ecology Issues. 2022;19(4):85–92. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2022-19-4-12>

Введение

Глутамат (соль глутаминовой кислоты) — известный усилитель вкуса, способный вызывать посредством активации вкусовых рецепторов и системы вторичных посредников, в первую очередь Ca^{2+} , ощущение вкуса «умами», признанного на сегодняшний день пятым вкусовым ощущением [1]. В связи с этим уже не одно десятилетие продолжается использование соли глутаминовой кислоты в качестве пищевой добавки и столько же — дискуссия о безопасности этого соединения [2]. Основное беспокойство вызвала возможность повышения уровня глутамата в тканях мозга и нарушение функциональной активности нейронов вследствие того, что глутаминовая кислота является одним из основных возбуждающих нейротрансмиттеров в центральной нервной системе. Однако недавние исследования свидетельствуют о незначительном и непродолжительном по времени росте концентрации в крови уровня глутаминовой кислоты в ответ на повышенное ее поступление с пищей и, как результат, низкой вероятности токсического действия на ткани мозга [3–6].

С другой стороны, глутаминовая кислота является одной из наиболее распространенных аминокислот в организме человека и вместе с аланином они составляют более 60 % от их общего количества [7, 8]. Помимо синтеза белка глутаминовая кислота участвует во многих других метаболических процессах во всех органах и тканях: связывает метаболизм белков и углеводов через цикл трикарбоновых кислот, участвует в синтезе нуклеотидов, метаболизме аммиака, служит донором азота для процессов синтеза заменимых аминокислот и т. д. Кроме этого, надо отметить важную роль глутаминовой кислоты в энергетическом обмене некоторых тканей. Окисляясь в цикле Кребса, продукт окислительного дезаминирования глутамата участвует в синтезе АТФ за счет митохондриального окисления [9].

Степень вовлечения глутаминовой кислоты в энергетический метаболизм во многом обусловлена активностью систем ее транспорта в клетку [10, 11] и активностью митохондриальной глутаматдегидрогеназы (ГДГ) [12]. В зависимости от изоформы ГДГ (GLUD_1 и GLUD_2) предпочтительное направление катализируемой этим ферментом реакции может быть направлено как в сторону окислительного дезаминирования, так и восстановительного аминирования [12]. В первом случае метаболизм связан с митохондриальным окислением и получением энергии, а во втором — с синтезом аминокислот и с процессом выведения аммиака. Таким образом, в разных тканях вклад глутаминовой кислоты в энергетический обмен клеток может отличаться. К настоящему времени

опубликован ряд работ, описывающих активное использование аминокислот, в том числе глутаминовой, в энергетических процессах в клетках печени [13], кишечника [14], нейронов и миоцитов сердца, особенно в условиях ишемии [15]. Переход на альтернативные источники энергии в условиях дефицита кислорода способствует увеличению выживаемости клеток [15].

Также показано, что глутаминовая кислота оказывает положительное влияние на клеточный иммунитет [8], повышает метаболическую активность некоторых клеточных линий [16], проявляет цитопротекторные и антиоксидантные свойства в условиях окислительного стресса [8, 17] и способствует восстановлению общего клеточного гомеостаза [9]. Все это позволяет рассматривать глутаминовую кислоту в качестве важного метаболического субстрата [15].

Тимус обеспечивает формирование клеточного иммунитета. По мере взросления организма он подвергается дегенеративным процессам, результатом которых является снижение активности периферического звена иммунной системы. Возрастная инволюция тимуса сопровождается морфологическими изменениями, связанными, в первую очередь, с увеличением доли соединительной ткани [18]. Усиление энергетического обмена в секреторных тимусных эпителиальных клетках может оказать положительное влияние на процессы формирования тимоцитов, а значит, и на все звено периферической иммунной системы.

Значение глутаминовой кислоты в энергетическом обмене различных органов и тканей как в норме, так и при возникновении нарушений исследовано не в полной мере. Поэтому представляет определенный интерес экспериментальный анализ роли данного метаболита в процессах окислительного фосфорилирования в тканях тимуса на фоне инволюции этого органа.

Цель исследования

Провести анализ энергетической роли глутамата в тимocyтах и тканях тимуса на разных этапах его возрастной инволюции.

Материалы и методы

Исследования проведены на белых крысах-самцах. Контрольные и экспериментальные животные содержались в условиях вивария на стандартном рационе. В эксперименте использовали белых беспородных крыс-самцов следующих возрастов: 3, 4, 5, 6 и 8 месяцев, по 6–7 особей (n) каждого возраста. Периоду полового созревания и максимального развития тимуса соответствует 3-месячный возраст. С этого возраста начинают развиваться первые морфологические изменения, сопровождающие

процессы возрастной инволюции тимуса [18]. Животные старших возрастных групп характеризуются наличием возрастных изменений различной степени выраженности [18]. При проведении экспериментальных исследований были учтены все требования Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях (2012).

Состояние энергетического обмена определяли по скорости потребления кислорода тканями тимуса и тимоцитами, регистрируемой полярографическим методом [19]. Исследуемые образцы помещали в полярографическую ячейку объемом 2 см³ для тканевых и 1 см³ для клеточных препаратов. Определение концентрации кислорода в системах проводилось с использованием закрытого платинового электрода Кларка и установки Record 4 (ИТЭБ РАН, Пущино, Россия) и выражалось в нмоль O₂/мин на 1 мг белка исследуемой ткани или нмоль O₂ за 1 мин на 10⁷ клеток. Чувствительность метода позволяет определять концентрацию кислорода до 1 нМ/л. Для интерпретации полученных данных руководствовались рекомендациями [20, 21]. Количество повторностей измерений (n) составляло 1–3 на каждое животное.

Ткани тимуса для исследований получали путем механической пермеабилзации тимуса в среде Хэнкса в течение первых 30 мин после тимэктомии [22]. Пермеабилзацию проводили с целью беспрепятственного доступа глутамата к клеточным структурам.

Выделение тимоцитов также проводилось в среде Хэнкса. Тимус фрагментировали пинцетом на мелкие кусочки, которые суспендировали и фильтровали через двойной слой марли. Полученный фильтрат концентрировали путем центрифугирования в течение 5 мин при 1000 об/мин, что давало возможность вносить в ячейку определенное число тимоцитов: в пределах 1–5 × 10⁷. Для расчета количества клеток использовали камеру Горяева.

Полярографические исследования тимоцитов сопровождалась предварительной химической пермеабилзацией клеточных мембран 0,005-процентным раствором дигитонина [20]. К суспензии тимоцитов добавляли 2 мМ дигитонина и инкубировали в течение 3 минут. Данный способ подготовки к исследованиям позволяет глутамату свободно поступать в клетки, что дает возможность получить достоверную оценку *in situ* энергетического состояния системы тканевого дыхания тимоцитов [23].

Скорость поглощения кислорода тканевыми препаратами оценивали на эндогенных субстратах (V_{энд}) и при добавлении в полярографи-

ческую ячейку 10 мМ глутамата натрия (V_{глу}). Определение белка в тканях тимуса проводили биуретовым методом [24].

Скорость поглощения кислорода клеточными препаратами оценивали на эндогенных субстратах и при добавлении в полярографическую ячейку 5 мМ глутамата натрия. Наряду с этим оценивали параметры тканевого дыхания при ингибировании первого комплекса дыхательной цепи 5 мМ амиталя натрия (V_{ам}) и при действии 50 мкМ физиологического стимулятора системы тканевого дыхания — АДФ (ВАДФ).

Для оценки относительного вклада митохондриального дыхания в суммарное потребление кислорода тимоцитами использовали ингибитор четвертого комплекса дыхательной цепи — азид натрия [20, 25]. Титриметрическим методом одномолярный раствор азидата натрия вносили в ячейку, добиваясь максимального снижения скорости потребления кислорода. Обычно требовалось добавить в ячейку 4–5 порций азидата натрия по 3 мкл для достижения максимального эффекта [26]. Величина митохондриального дыхания определялась как разница между V_{энд} и азидрезистентным дыханием.

Для более полной характеристики состояния энергетического обмена рассчитывали относительную величину — коэффициент стимулирующего действия (СД) глутаминовой кислоты:

$$СД_{глу} = V_{глу}/V_{энд}.$$

Полученные данные после проверки на соответствие закону нормального распределения с использованием критерия хи-квадрат Пирсона представлены медианой и границами верхнего и нижнего квартилей. Сравнение разных выборок проводили с помощью критерия Манна — Уитни (для независимых переменных) и критерия Вилкоксона (для зависимых). Различия признавались статистически значимым при $p < 0,05$. Для выявления статистически значимого различия в выборочных характеристиках параметров дыхания в тканях тимуса животных 4-, 5- и 6-месячного возраста использовали тест ANOVA Краскела — Уоллиса. Статистический анализ данных проводили с помощью пакета «Statistica» 6.0 и электронных таблиц Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показывают (рисунк 1), что ткани тимуса интактных половозрелых крыс характеризуются относительно высоким уровнем тканевого дыхания, превышающем более чем в два раза показатели миокарда (2,45 (1,97–3,22) нмоль O₂/мин на 1 мг белка), и сопоставимым со скоростью поглощения кислорода печенью — 6,66 (5,54–7,61) нмоль O₂/мин на 1 мг белка [27]. Скорость потребления кислорода,

отражающая уровень аэробного обмена, зависит от многих факторов: наличия эндогенных субстратов в клетках, активности электрон-транспортной цепи, уровня энергопотребления ткани и т. д. Высокий уровень энергетического метаболизма в ткани тимуса необходим для поддержания активно протекающих здесь процессов

пролиферации, роста, дифференцировки и созревания клеток иммунной системы. Несмотря на значительные возрастные морфофункциональные изменения в тимусе [28], не выявлено изменений в уровне тканевого дыхания в этом органе у животных 4-, 5- и 6-месячного возраста (тест Kruskal - Wallis ANOVA; $p > 0,05$).

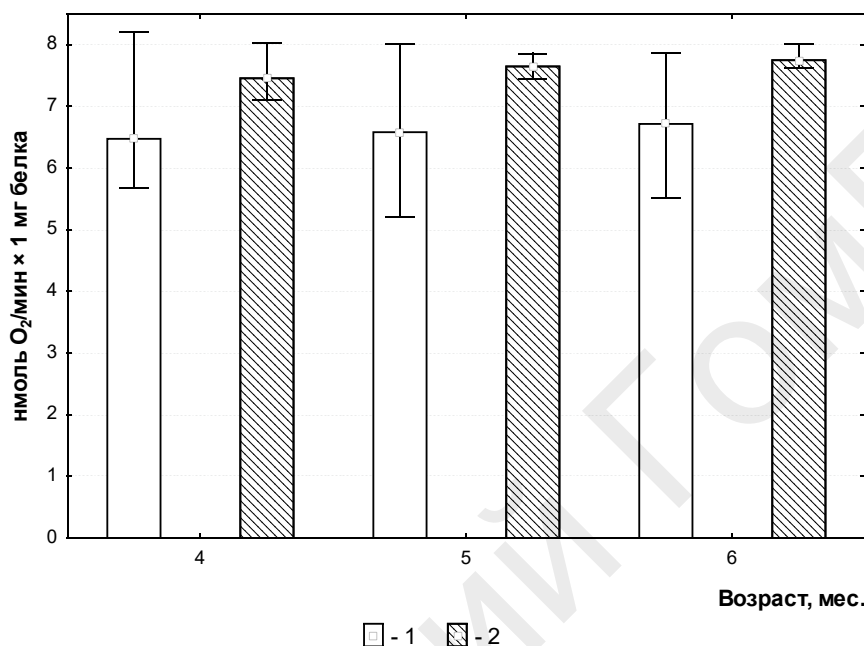


Рисунок 1. Параметры тканевого дыхания тимуса крыс разных возрастных групп:

1 — скорость дыхания на эндогенных субстратах ($n = 6$, $m = 3$);

2 — скорость дыхания в присутствии глутамата ($n = 6$, $m = 1$)

Figure 1. Parameters of tissue respiration of thymus tissues in rats of different age groups

1 — the rate of endogenous substrate oxidation ($n = 6$, $m = 3$)

2 — the rate of oxidation after glutamate addition ($n = 6$, $m = 3$)

Примечание. Данные приведены в формате: медиана (нижний квартиль – верхний квартиль)

Введение в среду инкубации тканей тимуса глутамата натрия, субстрата первого комплекса дыхательной цепи не вызывает значимых изменений в уровне потребления кислорода (критерий Манна — Уитни; $p > 0,05$). Одновременно с этим необходимо отметить некоторое увеличение медианных значений скорости дыхания при введении в систему глутамата в сравнении с дыханием на эндогенных субстратах. Обращает на себя внимание практически одинаковый уровень верхнего квартиля этих показателей, что указывает на отсутствие значимых изменений не только медианы уровня потребления кислорода, но и статистического распределения в целом. Наблюдаемое явление можно объяснить тем, что первый комплекс дыхательной цепи в данном структурно-функциональном состоянии при использовании эндогенных субстратов функционирует с максимальной активностью. Исследова-

ния Brodsky V. Y. и др. [29] указывают на способность глутамата стимулировать энергозатратные процессы в клетках некоторых тканей стареющих животных, а значит активировать энергетический обмен. В наших экспериментах уровень потребления кислорода в тканях тимуса животных 4-, 5- и 6-месячного возраста в ответ на действия глутамата натрия существенно не изменялся.

Для более детального анализа энергетического метаболизма тимуса и возможного влияния на него глутаминовой кислоты был отдельно проанализирован уровень потребления кислорода непосредственно тимоцитами в различных режимах функционирования электрон-транспортной цепи. Для анализа использовали животных двух возрастных групп: ювенильные (3 месяца) и молодые (8 месяцев).

На предварительных этапах анализа энергетического метаболизма тимоцитов была про-

ведена оценка резистентной к действию азида скорости потребления кислорода. Введение азида, полностью ингибирующего работу митохондриальной дыхательной цепи, показывает потребление кислорода в других метаболических путях. В условиях характерного для тимоцитов низкоактивного микросомального окисления [30] потребляемый ими в присутствии азида кислород включается преимущественно в перекисные процессы. Для тимоцитов 3- и 8-месячных животных интенсивность азидрезистентного дыхания значимо не отличалась и не превышала 30 % от полного потребления кислорода. В дальнейшем анализе митохондриальное потребление кислорода (азидчувствительное дыхание) оценивалось по разности между общим и азидрезистентным дыханием.

Скорость митохондриального потребления кислорода на эндогенных субстратах тимоцитами 3- и 8-месячных животных (таблица 1) не имеет статистически значимых различий (Kruskal - Wallis ANOVA; $p > 0,05$), как и в случае с тканями тимуса животных разного возраста. Добавление в среду инкубации глутамата значимо повышает скорость потребления кислорода митохондриями тимоцитов животных обеих возрастных групп. При этом скорость потребления кислорода тимоцитами животных 3-месячного возраста увеличивается в 1,5 раза в сравнении с дыханием на эндогенных субстратах, а аналогичное повышение $V_{\text{глю}}$ у 8-месячных крыс не столь выражено.

Таблица 1. Скорость потребления кислорода тимоцитами животных разного возраста (нмоль O_2 /мин $\times 10^7$ клеток)

Table 1. The rate of oxygen consumption by thymocytes of animals of different ages (nmol O_2 /min $\times 10^7$ cells)

Возраст, месяцев	$V_{\text{энд}}$	$V_{\text{глю}}$	$V_{\text{АДФ}}$	$V_{\text{ам}}$
3-месячные	<u>5.8</u> (4,97–7,11)	<u>8.93⁺*</u> (7,43–12,59)	10,07 ⁺ (9,71–10,94)	5,1 [*] (3,45–8,20)
8-месячные	<u>5.7</u> (4,56–6,65)	<u>5.9[*]</u> (5,38–7,27)	<u>7.2</u> (6,66–7,63)	<u>4.1[±]</u> (3,54–4,58)
N $\times$ m	7 $\times$ 2	7 $\times$ 1	7 $\times$ 1	7 $\times$ 1

+ Различия статистически значимы в сравнении с соответствующим параметром другой возрастной группы ($p < 0,05$; критерий Манна — Уитни).

* Различия статистически значимы в сравнении со скоростью дыхания на эндогенных субстратах ($p < 0,05$; критерий Вилкоксона).

± Различия статистически значимы в сравнении со скоростью дыхания, стимулированного АДФ ($p < 0,05$; критерий Вилкоксона).

Для понимания причин данных различий в поведении системы митохондриального окисления проанализировано дальнейшее изменение скорости потребления кислорода тимоцитами животных разного возраста в присутствии повышенной концентрации АДФ. В этом случае незначительное увеличение скорости потребления кислорода тимоцитами 3- и 8-месячных животных указывает на максимальную активность дыхательной цепи после добавления глутамата и невозможности усилить потребление кислорода даже в ответ на действие АДФ, являющегося физиологическим стимулятором системы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Надо отметить, что, несмотря на отсутствие значимого ответа системы тканевого дыхания в ответ на введение АДФ, уровень потребления кислорода в тимоцитах 3-месячных животных остается достоверно выше в сравнении с аналогичным показателем в тимоцитах животных 8-ме-

сячного возраста. Это позволяет предположить наличие повышенных резервных возможностей дыхательной цепи митохондрий тимоцитов у более молодых животных.

Введение в систему амитала натрия — ингибитора первого комплекса дыхательной цепи — снижает скорость потребления кислорода тимоцитами животных ювенильного возраста приблизительно на 50 %, что указывает на значительный вклад NAD-зависимого окисления в биоэнергетические процессы. Действие амитала натрия на систему тканевого дыхания тимоцитов молодых животных приводит к менее выраженному снижению скорости потребления кислорода: порядка 40 %. Уровень снижения скорости потребления кислорода в присутствии амитала указывает на интенсивность работы первого комплекса дыхательной цепи и на его вклад в систему тканевого дыхания. Полученные нами экспериментальные данные указывают на

снижение роли первого комплекса в работе дыхательной цепи тимоцитов с возрастом. Этим можно объяснить менее выраженный рост $V_{\text{глу}}$ тимоцитов 8-месячных крыс в сравнении с более значительным ростом аналогичного показателя у 3-месячных. Таким образом, несмотря на относительное сходство в уровнях потребления кислорода на эндогенных субстратах тимоцитами животных разного возраста, уровень стимулирующего действия глутамата обусловлен, по-видимому, возрастным снижением активности первого комплекса дыхательной цепи.

Для более полного анализа действия глутамата на ткани тимуса и тимоциты животных разного возраста были рассчитаны коэффициенты

стимулирующего действия этого метаболита. Оценки, приведенные в таблице 2, позволяют корректно сравнить стимулирующий эффект глутамата как на ткани тимуса, так и на тимоциты. Проведенный анализ показал, что глутаминовая кислота оказывает незначительное стимулирующее действие на аэробный энергетический обмен тканей тимуса в целом и тимоцитов 8-месячных крыс. Коэффициенты стимулирующего действия глутамата на ткани тимуса составляют 1,2 для всех возрастных групп (таблица 2). Стимулирующее действие глутамата на тимоциты 8-месячных крыс сопоставимо с действием этого вещества на дыхание тканей тимуса животных 4-, 5- и 6-месячного возраста.

Таблица 2. Коэффициенты стимулирующего действия глутаминовой кислоты на тканевое дыхание тимуса и тимоцитов крыс разного возраста

Table 2. Stimulation factor of glutamic acid on tissue respiration of the thymus and thymocytes in rats of different ages

Объект	Тимоциты		Тимус		
Возраст, мес.	3	8	4	5	6
Сдглу	<u>1,5</u> (1,4–1,6)	<u>1,1</u> (1,06–1,11)**	<u>1,2</u> (1,1–1,2)	<u>1,2</u> (1,1–1,2)	<u>1,2</u> (1,1–1,2)
N × m	7 × 1	7 × 1	6 × 1	6 × 1	6 × 1

** Различия статистически значимы в сравнении с соответствующим параметром другой возрастной группы ($p = 0,001$; критерий Манна — Уитни)

Наиболее высокий стимулирующий эффект глутамата натрия на потребление кислорода тимоцитами выявлен у животных 3-месячного возраста. Коэффициент стимулирующего действия при этом значимо выше аналогичных показателей у 8-месячных крыс. Данное явление, как уже отмечалось выше, обусловлено как более высокой активностью первого комплекса, так и суммарными резервными возможностями всей дыхательной цепи в тимоцитах более молодых животных. По-видимому, возрастная инволюция тимуса приводит к угнетению активности системы тканевого дыхания тимоцитов в целом и первого комплекса дыхательной цепи в частности, что проявляется и в снижении стимулирующего действия глутамата.

Заключение

Экспериментально показано, что скорость потребления кислорода на эндогенных субстратах как в тканях тимуса крыс, так и в иммунокомпетентных клетках — тимоцитах — в возрастном диапазоне 3–8 месяцев не претерпевает существенных изменений.

Глутамат натрия не вызывает значимых изменений скорости потребления кислорода тканями тимуса 4-, 5- и 6-месячных животных.

Тимоциты 3-месячных животных отвечают на введение в среду глутамата натрия полуторакральным увеличением уровня аэробного дыхания, тогда как у 8-месячных животных подобное явление не наблюдается, что можно объяснить процессами возрастной инволюции тимуса, приводящей к перестройке системы тканевого дыхания.

Список литературы

1. Kinnamon SC. Umami taste transduction mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(3):753S–755S. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462K>
2. Hermanussen M, García AP, Sunder M, Voigt M, Salazar V, Tresguerres JaF. Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(1):25–31. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602263>

3. Plaitakis A, Kalef-Ezra E, Kotzamani D, Zaganas I, Spanaki C. The glutamate dehydrogenase pathway and its roles in cell and tissue biology in health and disease. *Biology (Basel).* 2017;6(1):E11. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology6010011>
4. Tsai PJ, Huang PC. Circadian variations in plasma and erythrocyte glutamate concentrations in adult men consuming a diet with and without added monosodium glutamate. *J Nutr.* 2000;130(4S Suppl):1002S–1004S. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.1002S>

5. Tomé D. The Roles of dietary glutamate in the intestine. *Ann Nutr Metab.* 2018;73(Suppl 5):15-20.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000494777>
6. Loï C, Cynober L. Glutamate: a safe nutrient, not just a simple additive. *Ann Nutr Metab.* 2022;78(3):133-146.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000522482>
7. Krishnamurthy RV, Suryawanshi YR, Essani K. Nitrogen isotopes provide clues to amino acid metabolism in human colorectal cancer cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):2562.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02793-y>
8. Салига Н. Дія L-глутамінової кислоти та піридоксину на імунологічні й гематологічні показники за дії епінефрин-індукованого стресу в щурів. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки.* 2019;3(387):131-136.
DOI: <https://doi.org/10.1038/2617-4723-2019-387-131-136>
9. Piccirillo S, Castaldo P, Macri ML, Amoroso S, Magi S. Glutamate as a potential "survival factor" in an in vitro model of neuronal hypoxia/reoxygenation injury: leading role of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Cell Death Dis.* 2018;9(7):731.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0784-6>
10. Dall'Asta V, Gazzola GC, Franchi-Gazzola R, Bussolati O, Longo N, Guidotti GG. Pathways of L-Glutamic acid transport in cultured human fibroblasts. *J Biol Chem.* 1983;258(10):6371-6379. [дата обращения 2022 июль 06]. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6133863>
11. Magi S, Piccirillo S, Amoroso S. The dual face of glutamate: from a neurotoxin to a potential survival factor-metabolic implications in health and disease. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(8):1473-1488.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-018-3002-x>
12. Treberg JR, Banh S, Pandey U, Weihrauch D. Intertissue differences for the role of glutamate dehydrogenase in metabolism. *Neurochem res.* 2014;39(3):516-526.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11064-013-0998-z>
13. Jungas RL, Halperin ML, Brosnan JT. Quantitative analysis of amino acid oxidation and related gluconeogenesis in humans. *Physiol Rev.* 1992;72(2):419-448.
DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.2.419>
14. Burrin DG, Janeczko MJ, Stoll B. Emerging Aspects of Dietary Glutamate metabolism in the developing gut. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17(Suppl 1):368-371.
DOI: <https://doi.org/10.6133/APJCN.2008.17.S1.92>
15. Piccirillo S, Magi S, Castaldo P, Preziuso A, Lariccia V, Amoroso S. NCX and EAAT transporters in ischemia: At the crossroad between glutamate metabolism and cell survival. *Cell Calcium.* 2020;86:102160.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102160>
16. Griffiths JB. The Effects of adapting human diploid cells to grow in glutamic acid media on cell morphology, growth and metabolism. *J Cell Sci.* 1973;12(2):617-629.
DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.12.2.617>
17. King N, McGivan JD, Griffiths EJ, Halestrap AP, Suleiman MS. Glutamate loading protects freshly isolated and perfused adult cardiomyocytes against intracellular ROS generation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2003;35(8):975-984.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(03\)00182-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(03)00182-2)
18. Brelinska R, Malendowicz LK, Malinska A, Kowalska K. Characteristics of age-related changes in rat thymus: morphometric analysis and epithelial cell network in various thymic compartments. *Biogerontology.* 2008;9(2):93-108.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-007-9117-3>
19. Lewis MT, Levitsky Y, Bazil JN, Wiseman RW. Measuring mitochondrial function: from organelle to organism. *Methods Mol Biol.* 2022;2497:141-172.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2309-1_10
20. Gnaiger E. Mitochondrial pathways and respiratory control: An Introduction to OXPHOS Analysis. 5th Ed. Bioenergetics Communications; 2020.
DOI: <https://doi.org/10.26124/bec:2020-0002>
21. Brown GC. Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem J.* 1992;284(Pt 1):1-13.
DOI: <https://doi.org/10.1042/bj2840001>
22. Клаус Д, ред. Лимфоциты: методы. Пер с англ. Москва: Мир; 1990.
23. Wenchich L, Drahota Z, Honzík T, Hansíková H, Tesarová M, Zeman J, et al. Polarographic evaluation of mitochondrial enzymes activity in isolated mitochondria and in permeabilized human muscle cells with inherited mitochondrial defects. *Physiol Res.* 2003;52(6):781-788. [дата обращения 2022 июль 06]. Режим доступа: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/52/52_781.pdf
24. Кочетков ГА. Практическое руководство по энзимологии. 2-е изд, доп и перераб. Москва: Высшая школа; 1980.
25. Pon LA. Mitochondria. 2nd ed, add. and revised. Santa Barbara. Univ. of California: Elsevier; 2006.
26. Brown GC. Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem J.* 1992;284(Pt 1):1-13. [дата обращения 2022 июль 06]. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1132689/?page=1>
27. Сергеев СМ, Коваль АН, Жадейко РР, Никитина ИА, Грицук АИ. Тканевое дыхание миокарда, печени и тимуса белых крыс после внешнего облучения в дозе 1 Гр. В: Сб. науч. ст. Росс. науч. конф. с международным участием «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии»; 2011 19-20 мая; СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2011;141. [дата обращения 2022 июль 06]. Режим доступа: https://rep.polessu.by/bitstream/123456789/25837/1/Otsrochennye_jeffekty.pdf
28. Демьяненко СВ, Чистякова ВА, Водопьянов АС, Брень АБ. Возрастные изменения тимусзависимого звена иммунной системы. *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* 2012;(1):17-29. [дата обращения 2022 июль 06]. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/vozrastnye-izmeneniya-timuszavisimogo-zvena-immunnoy-sistemy>
29. Brodsky VY, Malchenko LA, Butorina NN, Lazarev Konchenko DS, Zvezdina ND, Dubovaya TK. Glutamic acid as enhancer of protein synthesis kinetics in hepatocytes from old rats. *Biochemistry (Mosc).* 2017;82(8):957-961.
DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297917080119>
30. Estonius M, Forsberg L, Danielsson O, Weinander R, Kelner MJ, Morgenstern R. Distribution of microsomal glutathione transferase 1 in mammalian tissues. *Eur J Biochem.* 1999;260(2):409-413.
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00165.x>

References

1. Kinnamon SC. Umami taste transduction mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(3):753S-755S.
DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462K>
2. Hermanussen M, García AP, Sunder M, Voigt M, Salazar V, Tresguerres JaF. Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(1):25-31.
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602263>
3. Plaitakis A, Kalef-Ezra E, Kotzamani D, Zaganas I, Spanaki C. The glutamate dehydrogenase pathway and its roles in cell and tissue biology in health and disease. *Biology (Basel).* 2017;6(1):E11.
DOI: <https://doi.org/10.3390/biology6010011>
4. Tsai PJ, Huang PC. Circadian variations in plasma and erythrocyte glutamate concentrations in adult men consuming a diet with and without added monosodium glutamate. *J Nutr.* 2000;130(4S Suppl):1002S-1004S.
DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.1002S>
5. Tomé D. The Roles of dietary glutamate in the intestine. *Ann Nutr Metab.* 2018;73(Suppl 5):15-20.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000494777>
6. Loï C, Cynober L. Glutamate: a safe nutrient, not just a simple additive. *Ann Nutr Metab.* 2022;78(3):133-146.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000522482>

7. Krishnamurthy RV, Suryawanshi YR, Essani K. Nitrogen isotopes provide clues to amino acid metabolism in human colorectal cancer cells. *Sci Rep*. 2017;7(1):2562. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02793-y>
8. Salyha, N. Effect of L-glutamic acid and pyridoxine on immunological and hematological parameters under the action of epinephrine- induced stress in rats. Lesya Ukrainka Eastern European National University Scientific Bulletin. Series: *Biological Sciences*. 2019;387(3):131-136. (In Ukr.) DOI: <https://doi.org/10.29038/2617-4723-2019-387-131-136>
9. Piccirillo S, Castaldo P, Macri ML, Amoroso S, Magi S. Glutamate as a potential "survival factor" in an in vitro model of neuronal hypoxia/reoxygenation injury: leading role of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Cell Death Dis*. 2018;9(7):731. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0784-6>
10. Dall'Asta V, Gazzola GC, Franchi-Gazzola R, Bussolati O, Longo N, Guidotti GG. Pathways of L-Glutamic acid transport in cultured human fibroblasts. *J Biol Chem*. 1983;258(10):6371-6379. [date of access 2022 July 06]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6133863>
11. Magi S, Piccirillo S, Amoroso S. The dual face of glutamate: from a neurotoxin to a potential survival factor-metabolic implications in health and disease. *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(8):1473-1488. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-018-3002-x>
12. Treberg JR, Banh S, Pandey U, Weihrauch D. Intertissue differences for the role of glutamate dehydrogenase in metabolism. *Neurochem Res*. 2014;39(3):516-526. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11064-013-0998-z>
13. Jungas RL, Halperin ML, Brosnan JT. Quantitative analysis of amino acid oxidation and related gluconeogenesis in humans. *Physiol Rev*. 1992;72 (2):419-448. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.2.419>
14. Burrin DG, Janeczko MJ, Stoll B. Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17(Suppl 1):368-371. DOI: <https://doi.org/10.6133/APJCN.2008.17.S1.92>
15. Piccirillo S, Magi S, Castaldo P, Prezioso A, Lariccia V, Amoroso S. NCX and EAAT transporters in ischemia: At the crossroad between glutamate metabolism and cell survival. *Cell Calcium*. 2020;86:102160. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102160>
16. Griffiths JB. The Effects of adapting human diploid cells to grow in glutamic acid media on cell morphology, growth and metabolism. *J Cell Sci*. 1973;12(2):617-629. DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.12.2.617>
17. King N, McGivan JD, Griffiths EJ, Halestrap AP, Suleiman MS. Glutamate loading protects freshly isolated and perfused adult cardiomyocytes against intracellular ROS generation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2003;35(8):975-984. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(03\)00182-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(03)00182-2)
18. Brelinska R, Malendowicz LK, Malinska A, Kowalska K. Characteristics of age-related changes in rat thymus: morphometric analysis and epithelial cell network in various thymic compartments. *Biogerontology*. 2008;9(2):93-108. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-007-9117-3>
19. Lewis MT, Levitsky Y, Bazil JN, Wiseman RW. Measuring mitochondrial function: from organelle to organism. *Methods Mol Biol*. 2022;2497:141-172. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2309-1_10
20. Gnaiger E. Mitochondrial pathways and respiratory control: An Introduction to OXPHOS Analysis. 5th Ed. Bioenergetics Communications; 2020. DOI: <https://doi.org/10.26124/bec:2020-0002>
21. Brown GC. Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem J*. 1992;284(Pt 1):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj2840001>
22. Klaus D, ed. Limfocity: metody. Ttranslated from English. Moskov; 1990. (In Russ.)
23. Wenchich L, Drahota Z, Honzik T, Hansíková H, Tesarová M, Zeman J, et al. Polarographic evaluation of mitochondrial enzymes activity in isolated mitochondria and in permeabilized human muscle cells with inherited mitochondrial defects. *Physiol Res*. 2003;52(6):781-788. [date of access 2022 July 06]. Available from: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/52/52_781.pdf
24. Kochetkov GA. Prakticheskoe rukovodstvo po jenzimologii. 2-e izd. dop. i pererab. Moskov; 1980. (In Russ.)
25. Pon LA. Mitochondria. 2nd ed., add. and revised. Santa Barbara. Univ. of California: Elsevier; 2006.
26. Brown GC. Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem J*. 1992;284(Pt 1):1-13. [date of access 2022 July 06]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1132689/?page=1>
27. Sergeenko SM, Koval' AN, Zhadejko RR, Nikitina IA, Gricuk AN. Tkanevoe dyhanie miokarda, pecheni i timusa belyh krysov posle vneshnego obлучeniya v doze 1 Gr. V: Sb. nauch. st. Ross. nauch. konf. s mezhdunarodnym uchastiem «aktual'nye problemy toksikologii i radiobiologii»; 2011 19-20 maja; SPb.: OOO «Izdatel'stvo Foliant»; 2011; 141. [date of access 2022 July 06]. Available from: https://rep.polessu.by/bitstream/123456789/25837/1/Otsrochennyye_jeffekty.pdf (In Russ.)
28. Dem'janenko SV, Chistjakova VA, Vodop'janova AS, Bren' AB Age Changes Thymus-Dependent Part of Immune System. *Zhurnal fundamental'noj medicyny i biologii*. 2012;(1):17-29. [date of access 2022 July 06]. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/voznrastnye-izmeneniya-timuszavisimogo-zvena-immunnyy-sistemy> (In Russ.)
29. Brodsky VY, Malchenko LA, Butorina NN, Lazarev (Konchenko) DS, Zvezdina ND, Dubovaya TK. Glutamic acid as enhancer of protein synthesis kinetics in hepatocytes from old rats. *Biochemistry (Mosc)*. 2017;82(8):957-961. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297917080119>
30. Estonius M, Forsberg L, Danielsson O, Weinander R, Kelner MJ, Morgenstern R. Distribution of microsomal glutathione transferase 1 in mammalian tissues. *Eur J Biochem*. 1999;260(2):409-413. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00165.x>

Информация об авторе / Information about authors

Никитина Ирина Александровна, к.б.н., заведующий кафедрой биологической химии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5871-440X>
e-mail: nikitina@gmail.com

Irina A. Nikitina, Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Biological Chemistry, Gomel State Medical University
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5871-440X>
e-mail: nikitina@gmail.com

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Никитина Ирина Александровна
e-mail: nikitina@gmail.com

Nikitina Irina Alexandrovna
e-mail: nikitina@gmail.com

Поступила в редакцию / Received 09.07.2022

Поступила после рецензирования / Accepted 27.07.2022

Принята к публикации / Revised 19.11.2022