

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.05.089>

УДК 57.085.19

**М.П. Рудик¹, В.В. Позур¹, Є.В. Опейда¹, Д.О. Воєйкова¹,
Н.М. Храновська², О.Г. Федорчук³, Т.В. Берегова¹, Л.І. Остапченко¹**

¹ ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету ім. Тараса Шевченка

² Національний інститут раку, Київ

³ Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
E-mail: rosiente@gmail.com

Модуляторні ефекти глутамату натрію на функції циркулюючих фагоцитарних клітин щурів *in vivo* та *in vitro*

Представлено членом-кореспондентом НАН України С.П. Сидоренко

*Досліджено функціональний стан і спрямованість метаболізму фагоцитів периферичної крові дорослих самців щурів, яким вводили глутамат натрію в дозі 20 мг на тварину в ранньому постнатальному періоді. Для характеристики функцій фагоцитів проаналізовано їх оксидативний метаболізм і фагоцитарну активність методом проточної цитофлюориметрії. У тварин, які отримували глутамат натрію, у дорослому віці зареєстровано ожиріння, яке було асоційоване з прозапальною спрямованістю метаболізму циркулюючих гранулоцитів, про що свідчив високий рівень киснезалежного метаболізму та низька поглинальна активність клітин. Оброблення фагоцитів периферичної крові дорослих інтактних щурів глутаматом натрію *in vitro* в концентраціях 20, 2,00, 0,20 та 0,02 мг/мл спричиняло протизапальну спрямованість їх метаболізму.*

Ключові слова: *глутамат натрію, ожиріння, циркулюючі фагоцити, оксидативний метаболізм, фагоцитарна активність.*

Зростаюче використання глутамату натрію, широко відомої харчової добавки (в тому числі для дитячого харчування) і складового компонента деяких вакцинних препаратів, викликає занепокоєння у зв'язку з потенційним впливом на здоров'я людини. Досліди на тваринах показали, що глутамат натрію, введений у ранньому постнатальному періоді, призводить до порушення енергетичного балансу та метаболічних ускладнень, що супроводжуються підвищенням сироваткового рівня кортикостероїдів, холестерину, тригліцеридів, зниженням концентрації адипонектину, підвищенням у жировій тканині рівня лептину [1, 2]. Такі метаболічні зміни є частиною численних нейроендокринних порушень, що супроводжують глутамат-індуковане ожиріння, і розглядаються як наслідок руйнування дугоподібних ядер гіпоталамуса.

© М.П. Рудик, В.В. Позур, Є.В. Опейда, Д.О. Воєйкова, Н.М. Храновська, О.Г. Федорчук,
Т.В. Берегова, Л.І. Остапченко, 2017

Під час розвитку ожиріння, незалежно від його генезу, відзначаються зміни у функціонуванні імунної системи як на локальному рівні – у гіпертрофованій жировій тканині, так і на системному, що було описано як індукований ожирінням стан хронічного запалення низького рівня – “метазапалення” [3, 4]. Такі порушення асоційовані з підвищенням тканинної та сироваткової концентрації прозапальних цитокінів (TNF α , IL-1b, IL-6, IFN γ , MCP-1), активацією клітин вродженого імунітету (макрофагів та нейтрофілів, що інфільтрують жирову тканину) й адаптивного імунітету (підвищення кількості CD4+ Т-лімфоцитів, переключення з Т-регуляторного типу на Т-хелпер 1 тип клітинних реакцій, дисфункція В-регуляторних клітин) [5–7]. При цьому нормальна протипухлинна та протиінфекційна імунна відповідь організму виявляються пошкодженими. Провідну роль в індукованому ожирінням запальному процесі відіграють резидентні макрофаги жирової тканини, кількість яких зростає, як і продукція ними прозапальних молекул. У нормі в жировій тканині переважають альтернативно активовані (M2) резидентні макрофаги з протизапальним фенотипом, чії функції полягають у підтримці тканинного гомеостазу [5, 8]. Виявлено, що при ожирінні макрофаги жирової тканини активуються за прозапальним фенотипом (M1) і залучені в розвиток інсулінової резистентності. Важлива роль в активації макрофагів під час індукованого ожирінням запального процесу належить нейтрофілам, що інфільтрують жирову тканину [5, 9, 10]. Основна кількість накопичених експериментальних даних щодо змін імунної реактивності при ожирінні стосується досліджень дієт-індукованої патології. Однак механізми, у тому числі й імунопатогенетичні, розвитку глутамат-індукованого ожиріння залишаються не вивченими. Припускається, що вплив глутамату натрію на клітини імунної системи, крім опосередкованого нейроендокринними ефектами, може включати прямі активуючі або цитотоксичні ефекти внаслідок специфічних поверхневих рецепторів [11].

У зв'язку з цим ми ставили за мету встановити вплив застосування глутамату натрію в ранньому постнатальному періоді на функціональну активність гранулоцитів та моноцитів периферичної крові щурів, а також визначити ефекти глутамату натрію на вказані популяції клітин інтактних дорослих щурів *in vitro*.

Матеріали і методи. Дослідження *in vivo* проводилися на самцях щурів лінії Wistar розведення віварію ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Для моделювання ожиріння глутамат натрію у дозі 4 мг/г маси тіла (20 мг на тварину) вводили новонародженим щурам (8 тварин) в об'ємі 8 мкл/г маси підшкірно, починаючи з другої доби після народження, з інтервалом 2 доби протягом 10 діб [1]. Контрольним щурам (8 тварин) підшкірно вводили фізіологічний розчин в об'ємі 8 мкл/г маси в аналогічному режимі. Розвиток ожиріння контролювали шляхом оцінки масового індексу жирової тканини різної локалізації. Дослідження метаболічного профілю фагоцитів периферичної крові щурів здійснювали у тварин 4-місячного віку. Евтаназію проводили шляхом декапітації із застосуванням ефірного наркозу. Усі дослідження виконано у відповідності до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України № 3447 IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” (Протокол № 8 від 02.11.2015 засідання комісії з питань біоетики ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету ім. Тараса Шевченка).

У дослідженнях *in vitro* використовували гепаринізовану периферичну кров інтактних щурів лінії Wistar, самців масою 220–250 г, віком 3–5 місяців. Глутамат натрію, розчинений у фізіологічному розчині, додавали до проб клітин у концентраціях 20 мг/мл (яка відповідає разовій дозі для індукування ожиріння у щурів), 2,00, 0,20 та 0,02 мг/мл й інкубували протягом 30 хв при 37 °С. Усі варіанти досліду виконувалися в трьох повторах.

Фагоцитарну активність і внутрішньоклітинну продукцію реактивних форм кисню (РФК) гранулоцитів та моноцитів периферичної крові досліджували методом проточної цитофлюориметрії [12]. Об'єктом фагоцитозу були мічені флюоресцеїнізотіоціанатом (ФІЦ) інактивовані бактерії *Staphylococcus aureus* Cowan I у концентрації $1 \cdot 10^7$ клітин/мл. Рівень РФК визначали шляхом інкубування проб з 2'7'-дихлородигідрофлюоресцеїн діацетатом (ДФФ-ДА) ("Sigma Aldrich", США). Для стимуляції метаболізму та аналізу метаболічного резерву фагоцитів застосовували форбол 12-меристат-12-ацетат (ФМА) ("Sigma Aldrich", США) у концентрації 0,1 мк/мл. Моноцити і гранулоцити гейтували за прямим і бічним розсіюванням.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики, для визначення відмінностей показників між дослідом та контролем використовували *t*-критерій Стьюдента. Статистично достовірними вважали відмінності між показниками при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено, що підшкірне ведення новонародженим щурам глутамату натрію в дозі 20 мг на тварину призводило до розвитку глутамат-індукованого ожиріння, яке на 4-му місяці життя проявлялося в значному прирості білої жирової тканини різної локалізації (таблиця). Загальна маса білої жирової тканини у тварин з ожирінням втричі перевищувала аналогічний показник контрольних тварин і становила четверту частину маси тіла. При цьому після введення глутамату натрію у щурів з'являлися підшкірні жирові депо, масовий показник яких становив в середньому 8 % загальної маси тіла, а маса вісцеральної жирової тканини зростала більше ніж вдвічі і становила 19 % маси тіла тварин. Наведені дані свідчать про те, що глутамат натрію при підшкірному введенні в ранньому постнатальному періоді спричиняв розвиток ожиріння, оскільки відбувалася гіпертрофія жирової тканини підшкірної та вісцеральної локалізації.

Циркулюючі фагоцити є важливими ефекторними клітинами системної імунної реакції. В умовах системного запального процесу ці клітини набувають прозапального метаболічного профілю. Одразу після відкриття феномену метаболічної поляризації фагоцитів

Масові показники білої жирової тканини у щурів, яким вводили глутамат натрію

Жирові депо	Контрольні тварини ($n = 8$)		Тварини, яким вводили глутамат натрію ($n = 8$)	
	Абсолютна маса, г	Масовий індекс, % від маси тіла	Абсолютна маса, г	Масовий індекс, % від маси тіла
Загальна біла жирова тканина	25,6 ± 2,06	7,8 ± 0,19	76,5 ± 4,07 *	26,3 ± 1,40 *
Підшкірна жирова тканина	Не виявлено		21,0 ± 4,46 *	7,18 ± 1,40 *
Вісцеральна жирова тканина	25,6 ± 2,06	7,8 ± 0,19	55,5 ± 6,64 *	19,1 ± 2,30 *

Примітка. Дані наведено у вигляді середніх значень ± SD.* $p < 0,05$, порівняно з відповідним показником контрольної групи.

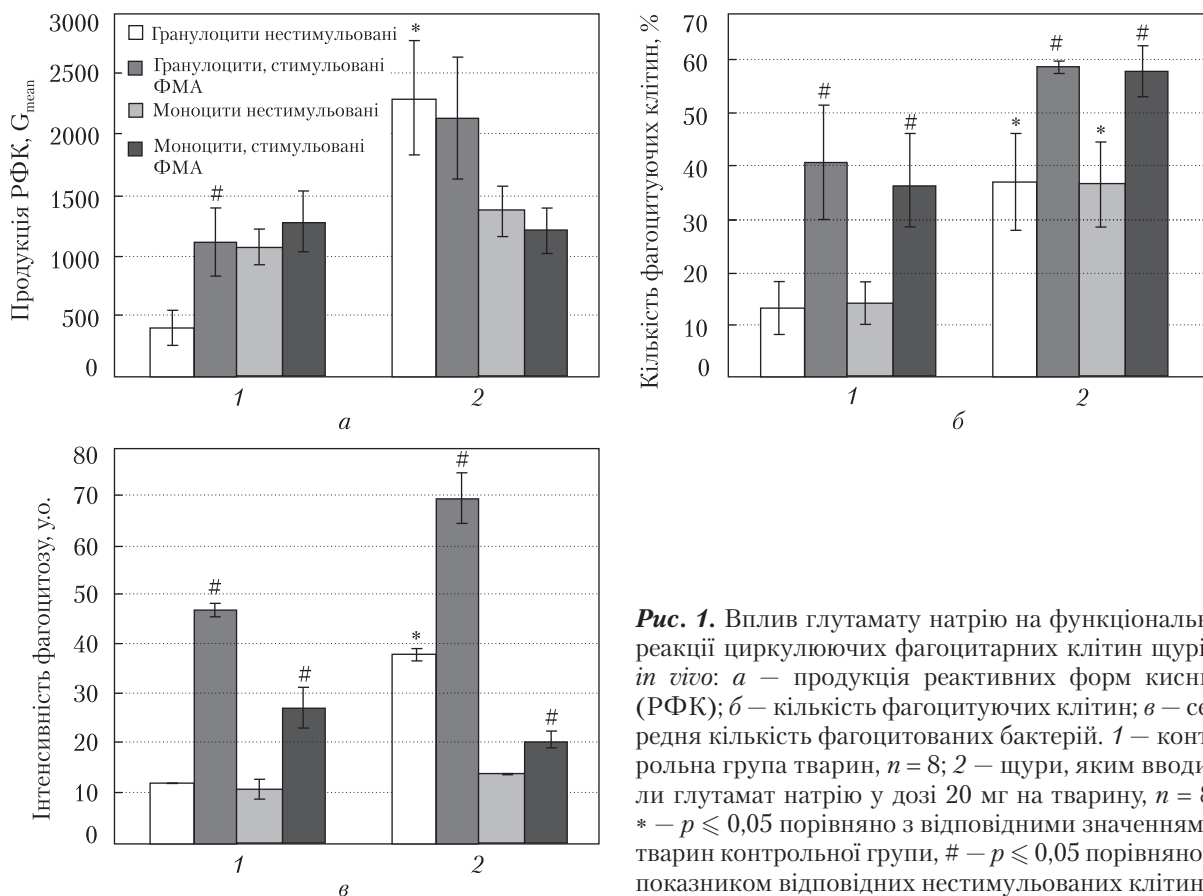


Рис. 1. Вплив глютамату натрію на функціональні реакції циркулюючих фагоцитарних клітин щурів *in vivo*: а – продукція реактивних форм кисню (РФК); б – кількість фагоцитуючих клітин; в – середня кількість фагоцитованих бактерій. 1 – контрольна група тварин, $n = 8$; 2 – щури, яким вводили глютамат натрію у дозі 20 мг на тварину, $n = 8$. * – $p \leq 0,05$ порівняно з відповідними значеннями тварин контрольної групи, # – $p \leq 0,05$ порівняно з показником відповідних нестимульованих клітин

основним критерієм віднесення клітин до того чи іншого функціонального профілю була спрямованість метаболізму аргініну. Однак за останні роки перелік маркерів класичної та альтернативної поляризації фагоцитів поповнився. До їх числа увійшли ендоцитарна активність і оксидативний метаболізм. Гранулоцити та моноцити з прозапальним профілем (класично активовані) характеризуються підвищеним рівнем прозапальних цитокінів та хемокінів, а також посиленням продукції РФК, які є потужними прозапальними медіаторами і сигнальними молекулами. Фагоцити з протизапальною (альтернативною) функціональною поляризацією мають регуляторні властивості і характеризуються підвищеною фагоцитарною активністю та надекспресією рецепторів очищення, залучених у цей процес [12–14]. Позитивною ознакою в характеристиці функціонального стану клітин є наявність метаболічного резерву, що визначався за умов додавання стимулятора ФМА. Відсутність функціонального резерву у клітин можна інтерпретувати по-різному: його відсутність у разі занижених спонтанних показників свідчить про функціональне виснаження клітини в цілому або їх окремої функції; відсутність функціонального резерву у клітин у разі підвищених спонтанних показників вказує на стан максимальної їх активації.

Нами було виявлено різкі статистично достовірні зміни метаболічного профілю циркулюючих фагоцитів щурів при глютамат-індукованому ожирінні, характер яких відрізнявся у моноцитів і поліморфноядерних лейкоцитів (рис. 1). Внутрішньоклітинна продукція РФК

гранулоцитами периферичної крові щурів з ожирінням зростала у 5,8 раза порівняно з контрольними значеннями, що свідчило про активацію киснезалежного метаболізму цих клітин (див. рис. 1, а). Додавання стимулятора оксидативного метаболізму ФМА не викликало змін показників продукції РФК гранулоцитами дослідних щурів, тоді як гранулоцити контрольних тварин характеризувалися наявністю функціонального резерву кисневого метаболізму, рівень якого зростав у 2,8 раза при додаванні ФМА. Для циркулюючих моноцитів щурів з глутамат-індукованим ожирінням відзначалася лише незначна тенденція до інтенсифікації киснезалежного метаболізму, а додавання ФМА не впливало на цей показник.

Показники фагоцитарної активності — кількість клітин, здатних поглинати бактерії, та інтенсивність фагоцитозу, циркулюючих гранулоцитів щурів, яким вводили глутамат натрію, зростали у 2,8 та 3,2 раза відповідно порівняно з контролем (див. рис. 1, б, в). Відносна кількість фагоцитуючих моноцитів у крові щурів з ожирінням підвищувалася у 2,6 раза, тоді як інтенсивність фагоцитозу достовірно не відрізнялася від контрольних значень. При цьому стимуляція ФМА *in vitro* аналізованого пулу клітин тварин з ожирінням викликала збільшення кількості фагоцитуючих клітин обох субпопуляцій, а також рівень їх поглинальної здатності. Хоча рівень активації клітин за умов додавання ФМА був дещо нижчим порівняно з відповідними показниками контрольної групи. Так, у контрольній групі індекс стимуляції фагоцитарної активності становив 215 % для гранулоцитів і 164 % для моноцитів, а в групі щурів з ожирінням — 59 % для обох популяцій циркулюючих фагоцитів. Моноцити щурів з ожирінням також характеризувалися нижчим порівняно з гранулоцитами функціональним резервом поглинальної здатності. Такі дані вказують на наявність у складі аналізованих зразків неактивних клітин, здатних до фагоцитозу за ступенем зрілості, зумовлену активацією міграції попередників з кісткового мозку.

Таким чином, розвиток глутамат-індукованого ожиріння у щурів супроводжувався стимуляцією досліджуваних функціональних характеристик циркулюючих фагоцитарних клітин. При цьому, зважаючи на значну інтенсифікацію продукції РФК гранулоцитами та порівняно нижчий рівень стимулювання їх фагоцитарної активності, можна припустити, що спрямованість метаболізму цих клітин була прозапальною. Водночас циркулюючі моноцити характеризувалися метаболічно нейтральним станом, оскільки досліджувані показники (оксидативний метаболізм та фагоцитарна активність) даної популяції клітин практично не відрізнялися від контрольних значень.

На наступному етапі досліджень оцінювали вплив глутамату натрію в різних концентраціях на метаболічну спрямованість фагоцитів крові інтактних щурів в умовах *in vitro*. Зазначимо, що спрямованість модуляторної дії глутамату натрію на функції циркулюючих фагоцитів в умовах *in vivo* та *in vitro* відрізнялася. Аналіз отриманих результатів (рис. 2) свідчить про те, що характер модуляторних ефектів глутамату натрію на метаболічну активність фагоцитів не мав чіткої дозової залежності. В умовах *in vitro*, як і при застосуванні *in vivo*, глутамат натрію не впливав на продукцію РФК моноцитами (див. рис. 2, а). Відсутність змін у внутрішньоклітинній продукції РФК моноцитами була асоційована з достовірним посиленням їх фагоцитарної функції: кількість фагоцитуючих клітин зростала в 15–20 разів, з максимальним показником при застосуванні глутамату в концентрації 0,2 мг/мл (див. рис. 2, б). Інтенсивність фагоцитозу також статистично достовірно збільшувалася (див. рис. 2, в).

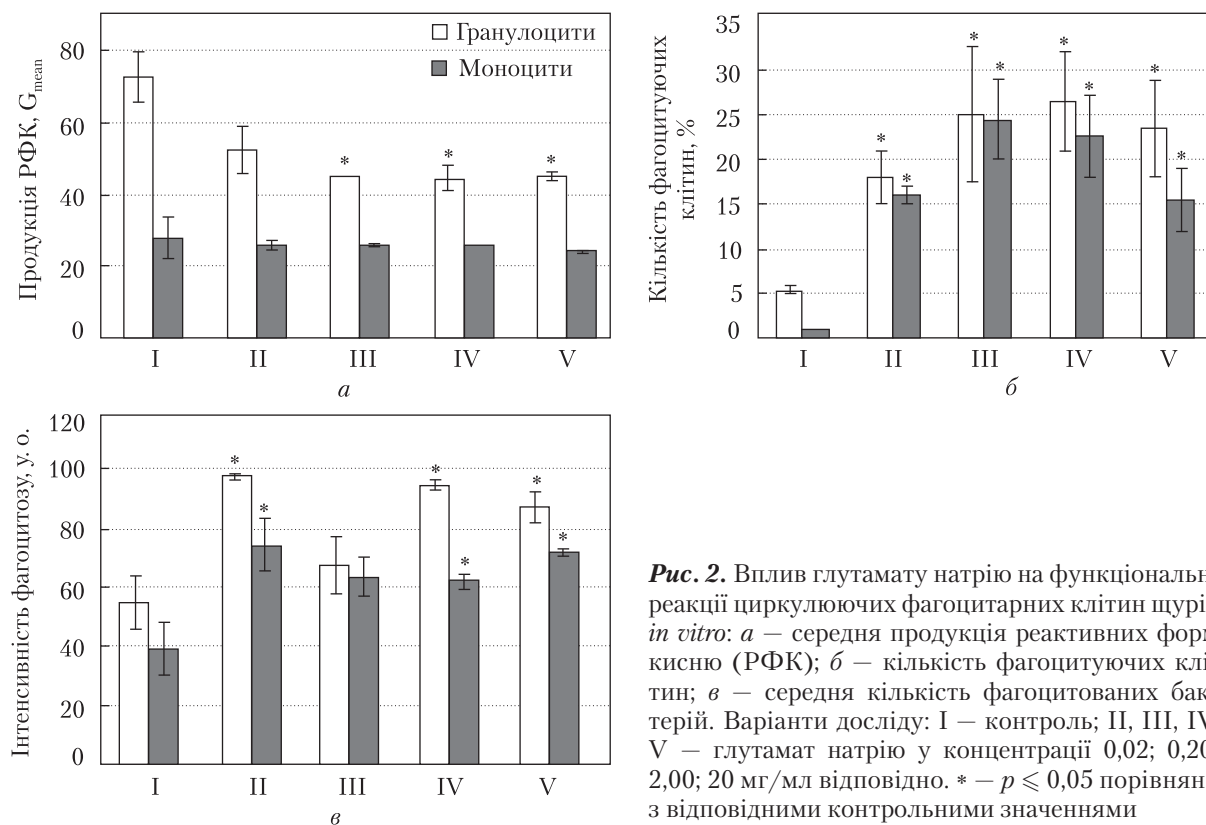


Рис. 2. Вплив глютаму натрію на функціональні реакції циркулюючих фагоцитарних клітин щурів *in vitro*: а – середня продукція реактивних форм кисню (РФК); б – кількість фагоцитуючих клітин; в – середня кількість фагоцитованих бактерій. Варіанти дослід: I – контроль; II, III, IV, V – глютаму натрію у концентрації 0,02; 0,20; 2,00; 20 мг/мл відповідно. * – $p \leq 0,05$ порівняно з відповідними контрольними значеннями

Реакція гранулоцитів на глютаму натрію в умовах *in vitro* дещо відрізнялася від такої при застосуванні *in vivo*. Обробка клітин препаратом *in vitro* спричиняла зниження інтенсивності продукції ними РФК на 30–40 %. Зниження інтенсивності оксидативного метаболізму супроводжувалося значною інтенсифікацією фагоцитарної активності гранулоцитів. Відносна кількість фагоцитуючих клітин зростала в 4 рази за умов інкубування з високими концентраціями глютаму (20–0,2 мг/мл), а у пробах з найнижчою концентрацією глютаму (0,02 мг/мл) були зареєстровані найвищі рівні поглинальної здатності фагоцитів.

Відмінності в реакції фагоцитів на глютаму натрію в умовах *in vitro* та *in vivo* можуть бути наслідком його здатності чинити прямий (шляхом взаємодії з рецепторними структурами) і опосередкований (шляхом впливу на системну продукцію біологічно активних медіаторів) вплив на функції цих клітин.

Застосування глютаму натрію *in vivo* в ранньому постнатальному періоді викликало на момент досягнення тваринами 4-місячного віку розвиток ожиріння. Розвиток ожиріння був асоційований з помірною зміною спрямованості метаболізму циркулюючих гранулоцитарних фагоцитів за прозапальним типом і відсутністю виразних змін показників метаболізму моноцитів. У попередніх дослідженнях нами встановлено, що глютаму-індуковане ожиріння у самців щурів супроводжується зміною спрямованості метаболізму перитонеальних макрофагів за класичною прозапальною спрямованістю [15]. Виявлена нами прозапальна метаболічна активація циркулюючих гранулоцитів у тварин з даною патологією свідчить про системне поширення локальної запальної реакції імунної системи при глюта-

мат-індукованому ожирінні. Чинниками зміни метаболічної поляризації циркулюючих фагоцитів можуть бути біологічно активні медіатори прозапальної спрямованості, зростання продукції яких в умовах розвитку глутаматного ожиріння зареєстровано як у наших попередніх дослідженнях, так і іншими дослідницькими групами [1, 2].

Безпосередній вплив глутамату натрію на циркулюючі фагоцити дорослих щурів в умовах *in vitro* є наслідком його взаємодії з мембранними та/або внутрішньоклітинними рецепторними структурами цих клітин, ідентифікація яких все ще знаходиться на стадії дослідження. Результатом такого безпосереднього впливу була протизапальна спрямованість метаболізму фагоцитів, більш виразна у випадку гранулоцитів.

На підставі результатів проведених досліджень можна зробити такі висновки. Застосування глутамату натрію *in vivo* у самців щурів у ранньому постнатальному періоді викликає по досягненні тваринами дорослого віку розвиток ожиріння зі значною гіпертрофією жирової тканини і прозапальною активацією циркулюючих гранулоцитарних фагоцитів. Оброблення циркулюючих фагоцитів дорослих інтактних щурів-самців глутаматом натрію в умовах *in vitro* спричиняє протизапальну метаболічну активацію цих клітин, більш виразну у гранулоцитів.

Таким чином, глутамат натрію здатний чинити модуляторний вплив на функції циркулюючих фагоцитів самців щурів як при застосуванні *in vivo*, так і в умовах *in vitro*. Спрямованість модуляторної дії залежала від характеру впливу (прямий або опосередкований). Більш чутливими до модуляторного впливу глутамату натрію як в умовах *in vitro*, так і при застосуванні *in vivo*, були гранулоцитарні фагоцити, що, імовірно, пов'язано з їх вищим порівняно з моноцитами ступенем функціональної зрілості.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Savcheniuk O.A., Virchenko O.V., Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Babenko L.P., Lazarenko L.M., Demchenko O.M., Bubnov R.V., Spivak M.Y. The efficacy of probiotics for monosodium glutamate-induced obesity: dietology concerns and opportunities for prevention. *EPMA J.* 2014. **5**, № 1. P. 2.
2. Roman-Ramos R., Almanza-Perez J.C., Garcia-Macedo R., Blancas-Flores G., Fortis-Barrera A., Jasso E.I., Garcia-Lorenzana M., Campos-Sepulveda A.E., Cruz M., Alarcon-Aguilar F.J. Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2011. **108**, № 6. P. 406–413.
3. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005. **115**, № 5. P. 911–919.
4. Dixit V. D. Adipose-immune interactions during obesity and caloric restriction: reciprocal mechanisms regulating immunity and health span. *J. Leukoc. Biol.* 2008. **84**, № 4. P. 882–892.
5. Chawla A., Nguyen K. D., Goh Y. P. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2011. **11**, № 11. P. 38–49.
6. Sell H., Habich C., Eckel J. Adaptive immunity in obesity and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2012. **8**, № 12. P. 709–716.
7. Nishimura S., Manabe I., Takaki S., Nagasaki M., Otsu M., Yamashita H., Sugita J., Yoshimura K., Eto K., Komuro I., Kadowaki T., Nagai R. Adipose natural regulatory B cells negatively control adipose tissue inflammation. *Cell Metab.* 2013. pii: S1550-4131(13)00386-0
8. Fischer-Posovszky P., Wang Q.A., Asterholm I.W., Rutkowski J.M., Scherer P.E. Targeted deletion of adipocytes by apoptosis leads to adipose tissue recruitment of alternatively activated M2 macrophages. *Endocrinology.* 2011. **152**, № 8. P. 3074–3081.
9. Kawanishi N., Niihara H., Mizokami T., Yada K., Suzuki K. Exercise training attenuates neutrophil infiltration and elastase expression in adipose tissue of high-fat-diet-induced obese mice. *Physiol. Rep.* 2015. **3**, № 9. pii: e12534

10. Lumeng C.N., Deyoung S.M., Bodzin J.L., Saltiel A.R. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*. 2007. **56**, № 1. P. 16–23.
11. Boldyrev A.A., Kazey V.I., Leinsoo T.A., Mashkina A.P., Tyulina O.V., Johnson P., Tuneva J.O., Chittur S., Carpenter D.O. Rodent lymphocytes express functionally active glutamate receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. **324**, № 1. P. 133–139.
12. Skivka L.M., Fedorchuk O.G., Rudyk M.P., Pozur V.V., Khranovska N.M., Grom M.Y., Nowicky J.W. Antineoplastic drug NSC631570 modulates functions of hypoxic macrophages. *Tsitol. Genet.* 2013. **47**, № 5. P. 70–82.
13. Shapiro H., Lutaty A., Ariel A. Macrophages, meta-inflammation, and immuno-metabolism. *Scientific World J.* 2011. **11**. P. 2509–2529.
14. Beyrau M., Bodkin J.V., Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity. *Open Biol.* 2012. **2**, № 11. 120134.
15. Позур В.В., Рудик М.П., Сергійчук Т.М., Святецька В.М., Акуленко І.В., Янковський Д.С., Димент Г.С., Берегова Т.В., Остапченко Л.І. Вплив мультипробіотика “Симбігер ацидофільний” на мікрофлору кишечника та функціональну активність перитонеальних макрофагів щурів із глутаматним ожирінням. *Біологічні студії*. 2016. **10**, №1. С. 61–74.

Надійшло до редакції 25.10.2016

REFERENCES

1. Savcheniuk, O. A., Virchenko, O. V., Falalyeyeva, T. M., Beregova, T. V., Babenko, L. P., Lazarenko, L. M., Demchenko, O. M., Bubnov, R. V. & Spivak, M. Y. (2014). The efficacy of probiotics for monosodium glutamate-induced obesity: dietology concerns and opportunities for prevention. *EPMA J.*, 5, No 1, pp. 2.
2. Roman-Ramos, R., Almanza-Perez, J. C., Garcia-Macedo, R., Blancas-Flores, G., Fortis-Barrera, A., Jasso, E. I., Garcia-Lorenzana, M., Campos-Sepulveda, A. E., Cruz, M. & Alarcon-Aguilar, F. J. (2011). Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 108, No. 6, pp. 406-413.
3. Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 115, No. 5, pp. 911-919.
4. Dixit, V. D. (2008). Adipose-immune interactions during obesity and caloric restriction: reciprocal mechanisms regulating immunity and health span. *J. Leukoc. Biol.*, 84, No. 4, pp. 882-892.
5. Chawla, A., Nguyen, K. D. & Goh, Y. P. (2011). Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 11, No. 11, pp. 38-49.
6. Sell, H., Habich, C. & Eckel, J. (2012). Adaptive immunity in obesity and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 8, No. 12, pp. 709-716.
7. Nishimura, S., Manabe, I., Takaki, S., Nagasaki, M., Otsu, M., Yamashita, H., Sugita, J., Yoshimura, K., Eto, K., Komuro, I., Kadowaki, T. & Nagai, R. (2013). Adipose natural regulatory B cells negatively control adipose tissue inflammation. *Cell Metab.*, S1550-4131(13)00386-0
8. Fischer-Posovszky, P., Wang, Q. A., Asterholm, I. W., Rutkowski, J. M. & Scherer, P. E. (2011). Targeted deletion of adipocytes by apoptosis leads to adipose tissue recruitment of alternatively activated M2 macrophages. *Endocrinology*, 152, No. 8, pp. 3074-3081.
9. Kawanishi, N., Niihara, H., Mizokami, T., Yada, K. & Suzuki, K. (2015). Exercise training attenuates neutrophil infiltration and elastase expression in adipose tissue of high-fat-diet-induced obese mice. *Physiol. Rep.*, 3, No. 9, e12534.
10. Lumeng, C. N., Deyoung, S. M., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R. (2007). Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*, 56, No. 1, pp. 16-23.
11. Boldyrev, A. A., Kazey, V. I., Leinsoo, T. A., Mashkina, A. P., Tyulina, O. V., Johnson, P., Tuneva, J. O., Chittur, S. & Carpenter, D. O. (2004). Rodent lymphocytes express functionally active glutamate receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 324, No. 1, pp. 133-139.
12. Skivka, L.M., Fedorchuk, O.G., Rudyk, M.P., Pozur, V.V., Khranovska, N.M., Grom, M. Y. & Nowicky, J. W. (2013). Antineoplastic drug NSC631570 modulates functions of hypoxic macrophages. *Tsitol. Genet.*, 47, No. 5, pp. 70-82.
13. Shapiro, H., Lutaty, A. & Ariel, A. (2011). Macrophages, meta-inflammation, and immuno-metabolism. *Scientific World J.*, 11, pp. 2509-2529.

14. Beyrau, M., Bodkin, J. V. & Nourshargh, S. (2012). Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity. *Open Biol.*, 2, No. 11, 120134.
15. Pozur, V.V., Rudyk, M.P., Serhiychuk, T.M., Svyatetska, V.M., Akulenko, I.V., Yankovsky, D.S., Dymant, G.S., Beregova, T.V. & Ostapchenko, L.I. (2016). The effect of multiprobiotic "symbiter acidophilus" on the intestinal microflora and functional activity of peritoneal macrophages in rats with glutamate-induced obesity. *Studia Biologica*, 10, No. 11, pp. 61-74 (in Ukrainian).

Received 25.10.2016

М.П. Рудык¹, В.В. Позур¹, Е.В. Опейда¹, Д.А. Воейкова¹,
Н.Н. Храновская², А.Г. Федорчук³, Т.В. Береговая¹, Л.И. Остапченко¹

¹ УНЦ "Институт биологии" Киевского национального университета
им. Тараса Шевченко

² Национальный институт рака, Киев

³ Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

E-mail: rosiente@gmail.com

МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА ФУНКЦИИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ФАГОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК КРЫС *IN VIVO* И *IN VITRO*

Исследовали функциональное состояние и направленность метаболизма фагоцитов периферической крови взрослых самцов крыс, которым вводили глутамат натрия в дозе 20 мг на животное в раннем постнатальном периоде. Для характеристики функций фагоцитов анализировали их оксидативный метаболизм и фагоцитарную активность методом проточной цитофлюориметрии. У животных, которые получали глутамат натрия, во взрослом состоянии зарегистрировано ожирение, которое было ассоциировано с провоспалительной направленностью метаболизма циркулирующих гранулоцитов, о чем свидетельствовал высокий уровень оксидативного метаболизма и сниженная поглотительная активность клеток. Обработка фагоцитов периферической крови взрослых интактных крыс глутаматом натрия *in vitro* в концентрациях 20, 2,00, 0,20 та 0,02 мг/мл вызывала противовоспалительную направленность их метаболизма.

Ключевые слова: глутамат натрия, ожирение, циркулирующие фагоциты, оксидативный метаболизм, фагоцитарная активность.

M.P. Rudyk¹, V.V. Pozur¹, I.V. Opeida¹, D.O. Voieikova¹,
N.M. Khranovska², O.G. Fedorchuk³, T.V. Berehova¹, L.I. Ostapchenko¹

¹ ESC "Institute of Biology", Taras Shevchenko National University of Kiev

² National Cancer Institute, Kiev

³ R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology
and Radiobiology of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: rosiente@gmail.com

MODULATORY EFFECTS OF SODIUM GLUTAMATE ON FUNCTIONS OF RAT'S CIRCULATING PHAGOCYtic CELLS *IN VIVO* AND *IN VITRO*

The functional state and metabolic patterns of peripheral blood phagocytes from adult male rats, which were injected with sodium glutamate a the dose of 20 mg/animal during the early postnatal period, are investigated. For the characteristic of phagocyte functions, their oxidative metabolism and phagocytic activity are analyzed by flow cytometry. The animals treated with sodium glutamate developed obesity in adulthood. The obesity was associated with the pro-inflammatory metabolic profile of circulating granulocytes, as evidenced by increased oxidative metabolism along with decreased phagocytic activity of these cells. The treatment of peripheral blood phagocytes from adult intact rats with sodium glutamate at concentrations of 20, 2.00, 0.20 and 0.02 mg/ml *in vitro* caused their antiinflammatory metabolic changes.

Keywords: sodium glutamate, obesity, circulating granulocytes, circulating monocytes, reactive oxygen species, phagocytosis activity.