

Чекман И.С., Сыровая А.О., Новикова И.В., Макаров В.А.,
Андреева С.В., Шаповал Л.Г.

АМИНОКИСЛОТЫ – НАНОРАЗМЕРНЫЕ
МОЛЕКУЛЫ:
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ

Киев – Харьков, 2014

УДК 577.112.34

ББК 28.0

А 32

Утверждено учёным советом
фармацевтического факультета
Национального медицинского
университета имени А.А. Богомольца.
Протокол №3 от 6 октября 2014 г.

Рецензенты:

Великий Н.Н. – заведующий лабораторией биохимии Института биохимии имени А.В. Палладина НАН Украины, профессор кафедры биохимии Киевского национального университета имени Тараса Шевченка, доктор биологических наук, г. Киев.

Исаев С.Г. – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры медицинской химии Национального фармацевтического университета, г. Харьков.

А 62 Чекман И.С., Сыровая А.О., Новикова И.В., Макаров В.А., Андреева С.В., Шаповал Л.Г. «Аминокислоты – наноразмерные молекулы: клинико-лабораторные исследования» / Харьков, 2014 « », 154 с.

ISBN 978-617-7225-15-6

ISBN 978-617-7225-15-6

ББК 28.072

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	4
ГЛАВА 1 АМИНОКИСЛОТЫ – НАНОРАЗЕРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ: ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ.....	6
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	24
ЛИТЕРАТУРА.....	25
ГЛАВА 2 ЛАБОРАТОРНО-КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ. НЕЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ.....	33
2.1. Аминокислоты – строительные блоки белков и пептидов.....	33
2.2. Профиль аминокислот в диагностике вторичных нарушений обмена.....	35
2.3. Незаменимые аминокислоты.....	43
2.4. Нейромедиаторы и их предшественники.....	56
2.5. Особенности обмена аминокислот в детском возрасте.....	60
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	66
ЛИТЕРАТУРА.....	67
ГЛАВА 3 ЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ.....	69
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	102
ЛИТЕРАТУРА.....	103
ГЛАВА 4 ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ.....	106
4.1. Врожденные ошибки метаболизма.....	106
4.2. Лабораторная диагностика болезней обмена аминокислот.....	123
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	128
ЛИТЕРАТУРА.....	130
ГЛАВА 5 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЕЙ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ.....	132
5.1. Методы определения уровней свободных аминокислот.....	132
5.2. Селективный скрининг мочи.....	136
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	148
ЛИТЕРАТУРА.....	150
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	152
АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ.....	153

ПРЕДИСЛОВИЕ

В последние годы в мире уделяют большое внимание развитию научных направлений, связанных с применением нанотехнологий получения различных материалов, что говорит об актуальности данной темы. Начались широкие исследования по нанонауке, нанотехнологиям и наномедицине. В 90-х годах получили развитие такие разделы нанонауки, как нанобиология и биомиметика. Нанобиология объединяет знания биологии и нанотехнологий, изучает природные наноструктуры и наномеханизмы, занимается решением биологических и медицинских задач при помощи нанотехнологий.

В Украине также проводятся широкие исследования разных аспектов этого направления. Аминокислоты, как элементарные единицы белков, ферментов и других биологически активных комплексов, также в полной мере можно отнести к природным наноразмерным молекулам.

Для биологии, медицины и фармакологии особое значение имеет выяснение роли наномеханизмов в физиологических, биохимических, физико-химических процессах организма. Биологически активные вещества (медиаторы, витамины, альбумин, АТФ, РНК, ДНК и др.) наноразмерные структуры. Аминокислоты имеют размер меньше 1 нм.

Рассматривая теоретические достижения нанонауки и внедрение разработок нанотехнологий в практическую деятельность человека, следует учитывать их влияние на психологию общества. Поэтому особое значение приобретают исследования не только положительного действия наноматериалов при их использовании в промышленности, медицине, сельском хозяйстве, но и медико-психологические аспекты развития нанотехнологий.

Применение наноматериалов в клинической практике является важным аспектом нанонауки. Продолжение исследований в нанонауке, нанобиологии, нанохимии и нанофармакологии способствует развитию новых аспектов действия и активности наноразмерных материалов и в частности аминокислот, внедрению в практическую деятельность человека не только новых приборов для медицины, а и получение эффективных лекарственных средств.

Из лекарственных препаратов особым признанием среди врачей пользуются вещества природного происхождения, которые участвуют в процессах жизнедеятельности белков, углеводов, жиров, макроэргических соединений. К ним относятся аминокислоты, пептиды, витамины, ферменты, макро- и микроэлементы и др. биологически активные вещества. Перспективными для создания лекарственных препаратов являются аминокислоты, выполняющие в организме важную пластическую и регуляторную функцию.

Аминокислоты и их производные, как препараты метаболической фармакотерапии характеризуются безвредностью, малой выраженностью побочных эффектов, отсутствием аллергизирующего влияния, что особенно важно в педиатрии.

Характерной особенностью современного этапа развития клинической медицины – это быстрый темп развития лабораторной диагностики. Особого внимания также заслуживают исследования по изучению и разработке методов лабораторно-клинического анализа, в частности аминокислот.

Специалист по клинической лабораторной диагностике активно участвует в уточнении, а иногда и в постановке диагноза, поэтому ему необходимо знание основных симптомов заболевания, его этиологии, патогенеза и патологической анатомии, гистологии, основ онкологии и принципов цитологической диагностики новообразований и т.п.

Авторы настоящей работы не ставили перед собой задачу подробно осветить роль аминокислот в жизнедеятельности организма и их участие в патологических процессах, а стремились изложить наиболее важные, на наш взгляд, сведения о химической, фармакологической активности этих природных соединений.

ГЛАВА 1

АМИНОКИСЛОТЫ – НАНОРАЗЕРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ: ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

Одним из выдающихся открытий конца XX столетия явилась разработка технологий получения и изучения свойств природных и синтетических наноматериалов размером в одном из измерений до 100 нм. Слова с приставкой «нано» – нанонаука, нанотехнологии, наноэлектроника, нанофизика, нанохимия, нанобиология, нанобиотехнологии, наномедицина, нанофармакология, нанотоксикология, нанофармация, нановетеринария – употребляют специалисты разных видов научно-практической деятельности. Это обусловлено тем, что наноразмерные структуры имеют своеобразные, часто непредвиденные, механические, техногенные, физические, химические, физико-химические, биологические, физиологические, биохимические фармакологические, токсикологические свойства, непохожие на частицы макро- и микро размеров [1, 2, 5, 10, 42, 55].

Применение методов прямой визуализации наноразмерных материалов, таких как тунельная электронная микроскопия, рентгеноструктурный анализ, а также известных спектроскопических методов, обусловило возможность более детально изучать их оригинальные свойства. Вместе с тем, основательных экспериментальных исследований по изучению физиологических, биохимических, физико-химических, молекулярных, квантово-химических механизмов взаимодействия природных и синтетических наноразмерных частиц с живыми структурами недостаточно [6, 11, 15, 16, 18, 33].

Проведение исследований в этом направлении имеет важное теоретическое и практическое значение, так как это позволит установить механизмы взаимодействия природных наночастиц с биологическими объектами (клетками макро- и микроорганизмов). Это будет способствовать выяснению их положительного или отрицательного влияния не только на живые системы, но и на внешнюю среду, способствовать поиску эффективных и безопасных лекарственных средств, а также носителей целевой доставки

медикаментов к патологическому процессу. Благодаря этим исследованиям некоторые наноматериалы и лекарственные средства (силикс – нанодисперсный кремнезем, мазь наносеребра, капсулы наножиелеза и др.) уже применяют в практической деятельности человека. Сверхтвердые сплавы металлов в технике, липосомы в медицине, фуллерены, дендримеры, аминокислоты применяют для диагностики заболеваний и целевой доставки лекарственных средств [3, 8, 55].

Методы синтеза наноразмерных структур условно делят на восходящие и нисходящие. К восходящим относят: электронно-лучевую технологию молекулярных пучков, газофазовый синтез, плазмохимический синтез, осаждение из коллоидных растворов, термическое разложение и восстановление, механосинтез, детонационный синтез и электровзрыв, высокотемпературный синтез и т. д. [8, 12]. К нисходящим методам синтеза наноразмерных материалов можно отнести: наночастицы оксида железа, которые в начале разработок нанотехнологий получали измельчением порошка этого металла в специальном устройстве в течение 3–4 месяцев.

В организме человека или животных также осуществляется синтез наноразмерных физиологически активных веществ обоими методами. Например, человек принял мясную пищу. Белок пищи распадается на аминокислоты, которые являются наноразмерными молекулами, из аминокислот синтезируются белок и ткани организма обычного размера. Роль наномеханизмов в осуществлении биохимических, физиологических, физико-химических функций практически окончательно не установлена. Вне сомнения, медиаторы, биометаллы, аминокислоты, альбумин, углеводы, липиды, адениловые нуклеотиды, оксид азота, это наноразмерные молекулы и они проявляют выраженную биологическую активность. Насколько активность биологически активных соединений зависит от их наноразмерности необходимо ещё установить в дальнейших исследованиях.

В соответствии с современными представлениями биомембрана является наноразмерной структурой живых систем, а также одним из основных

элементов существования клеток живых организмов. Эта своеобразная наноструктура окаймляет клетку, отделяет её внутреннюю среду (цитозоль) от внешней, а содержание органелл – от цитозоля. Биомембрана представлена тонкой плёнкой толщиной в среднем 3-5 нм, состоящей из белковых, липидных, углеводных молекул. Клеточная мембрана это динамическая структура, важную роль в её структуре и функционировании выполняют белки, липиды и аминокислоты. Около 30% белков, которые закодированы в геноме живых клеток, являются мембранными протеинами [49].

Анализ величин физиологически активных веществ в наноразмерах свидетельствует, что их можно разделить на несколько групп (таблица 1.1). Первую группу составляют структуры с размерами до 100 нм: лейкоциты, эритроциты, компоненты клетки (ядро, митохондрии), раковые клетки, бактерии и бактериофаги. В соответствии с современной терминологией эти структуры принадлежат к микроразмерным структурам. Ко второй группе относятся наночастицы размером от 100 нм до 10 нм. Это антитела, рибосомы, гранулы гликогена, липосомы. К третьей группе относятся структуры и молекулы размером от 10 нм до 1 нм, в частности альбумин, гемоглобин, мембрана клеток, фибриноген, рецепторы (серотониновый, β -адренорецептор и др.), инсулин, жирорастворимые витамины (эргокальциферол, ретинол), фолиевая кислота, лекарственные средства (дигоксин, кверцетин), хлорофилл растений, фуллерены. Четвертая группа – молекулы размером меньше 1 нм: аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), фруктоза, медиаторы (ацетилхолин, адреналин, норадреналин), α -адреномиметик мезатон, аминокислоты, молекулы воды, CO_2 , NO . Такие наноразмерные молекулы проявляют наиболее выраженную биологическую, физиологическую и биохимическую активность [15, 16]. Если к этому добавить то, что биомембрана, стенки капилляров, ионные каналы организма, также наноразмерные, способствуя эффективному протеканию физиологических, биохимических физико-химических процессов, в которых принимают участие биологически активные наноразмерные вещества, в том числе аминокислоты [17].

Таблица 1.1.

Размеры биологических объектов, физиологически активных веществ и лекарственных средств

Объекты	Размеры (нм)
1	2
Лейкоцит (нейтрофил)	10.000-15.000
Эритроцит	8.000-10.000
Нейрон	4.000-10.0000
Тромбоцит	2000-4.000
Ядро клетки	4.000-40.000
Митохондрия	1.500-2.000
Раковая клетка	400-500
Бактерия	330-1.000
Бактериофаг	120-150
Вирус	50-200
Липосома	50
Актин	35-45
Гранула гликогена	3-40
Циклооксигеназа-2	20
Рибосома	15-20
Антитело	10
Ангиотензинпревращающий фермент	10
Альбумин	7-10
β_1 -адренорецептор	9
Гемоглобин	7
Мембрана клеток (толщина)	6-10
Атропин	5
Фибриноген	5

продолжение табл. 1.1

1	2
Серотониновый рецептор	5
Дигоксин	2,6
Молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК (диаметр))	2,5
Инсулин	2,2
Эргокальциферол	1,6
Кверцетин	1,2
Кислота фолиевая	1,1
Хлорофилл растений	1,1
C ₆₀ фуллерены	1,0
Ретинол	1,0
АТФ	0,95
Стеариновая кислота	0,87
Фруктоза	0,8
Ацетилхолин	0,8
Адреналин	0,8
Молекула воды	0,32
Молекула кислорода	0,12
Молекула азота	0,11
Атом водорода	0,1

Изучение уникальных характеристик наночастиц позволит разработать новые нанотехнологии в технике, биологии, медицине, лекарствоведении, сельском хозяйстве и в других сферах деятельности человека.

Нанонаука исследует получение и свойства частиц, объектов, размер которых хотя бы в одном направлении составляет менее 100 нм. Такой размер

имеют физиологически активные вещества живых систем и растений: альбумин, гликоген, адениловые нуклеотиды, медиаторы и др. (см. табл. 1.1).

При этом наиболее важные эффекты наноструктур проявляются в области 5-1 нм и меньше, к которой относятся и аминокислоты. Высокая активность аминокислот обусловлена не только свойством регулировать биохимические, физиологические, иммунологические и генетические процессы в организме, она обусловлена не только их размером, но и их химической структурой, скоростью включаться в обмен веществ в организме. С помощью квантово-химических расчетов определены максимальные размеры аминокислот в водном растворе (табл. 1.2).

Таблица 1.2.

Максимальные линейные размеры аминокислот в водном растворе (квантово-химический расчет с помощью модели SM5.42/6-31G(d) [75])

Аминокислоты	Длина, нм
Глицин (Gly)	0,464
Серин (Ser)	0,471
Аланин (Ala)	0,485
Цистеин (Cys)	0,501
Валин (Val)	0,545
Пролин (Pro)	0,559
Аспарагиновая кислота (Asp)	0,596
Аспарагин (Asn)	0,602
Лейцин (Leu)	0,618
Треонин (Thr)	0,643
Изолейцин (Ile)	0,664
Метионин (Met)	0,699
Глутамин (Gln)	0,720
Гистидин (His)	0,732
Глутаминовая кислота (Glu)	0,756
Фенилаланин (Phe)	0,791
Лизин (Lys)	0,792
Аргинин (Arg)	0,832
Тирозин (Tyr)	0,872
Триптофан (Trp)	0,996

Как видно из этой таблицы, размеры всех аминокислот меньше одного нанометра. Наименьший размер у аминокислоты глицин, а наибольший – у триптофана. Необходимы дальнейшие исследования по установлению роли аминокислот, как наноструктур, в протекании физиологических и биохимических процессов в живых организмах.

Исследования аминокислот, как наноразмерных молекул открывает перспективы для создания нанокомпозитов, которые в перспективе можно применять с целью фармакотерапии различных заболеваний, а также их диагностики, доставки лекарственных средств к патологическим процессам [17].

В этом разделе монографии проанализированы свойства аминокислот, как наноразмерных молекул.

Аланин принадлежит к заменимым аминокислотам, которые регулируют функцию иммунной системы путем участия в обмене углеводов и органических кислот. α -, β -аланин входит в состав биологически активных соединений, а также большинства белков [24]. Для разработки усовершенствованных датчиков радиационного излучения перспективным считают синтез композитов на основе наночастиц золота с этой аминокислотой. Аланин влияет на однородность, стабильность, размерность наночастиц, эта аминокислота является перспективным сырьем для создания малогабаритных датчиков радиационного излучения с целью визуализации опухолей и выбора их эффективной фармакотерапии. Применение аланина в комплексе с золотом позволяет улучшить чувствительность этого нанокомпозита, как сенсора, в 3 раза по сравнению с обычными датчиками [38].

Нанокомпозит, который, кроме аланина, включает мезопористый углерод, имеет модифицированную поверхность, а также содержит гидрофильный 1-этил-3-метилимидазолин-аланин. Использование этого нанокомпозита улучшает биосовместимость, чувствительность, специфичность, как биосенсора и биокатализатора, а также его растворимость в воде [73].

При определении константы диссоциации β -фенил- α -аланина с наноразмерными частицами додецилсульфата (лаурилсульфата) натрия (амфифильное поверхностно-активное вещество) установлено, что протонированная форма β -фенил- α -аланина (H_2Phe^+) лучше, чем нейтральная, она связывается с отрицательно заряженными мицеллами наноразмерных частиц додецилсульфата натрия [32].

Аланин также может образовывать комплексы с ионами токсичных металлов, в частности свинца. Ежедневное поступление из внешней среды свинца в больших дозах в организм человека вызывает отравление. Поэтому синтез композитов аланина с биологически активными веществами как антидотов металлов имеет важное практическое значение [39].

С целью создания новых соединений, которые содержат аланин, применяют метод кристаллизации. Техника быстрой кристаллизации L-аланина в сочетании с наносеребром улучшает кристаллическую форму, размер и структуру полученных наночастиц, а рост кристаллов происходит послойно. Зависимость скорости роста от условий кристаллизации приводит к разнообразию форм роста и структуры кристаллов [21]. Аланин используют также для изготовления хирургических повязок с целью остановки кровотечения. Возможно применение аланина в самосборных молекулярных структурах, что в перспективе будет иметь лечебное значение при создании новых тканей, которые улучшат лечение больных [29].

Аргинин используют для синтеза наночастиц, например, функционализированных наночастиц кремнезема. Используя такой синтез сферических и монодисперсных наночастиц от 15 до 100 нм, производится нанесение покрытия наночастиц серебра на поверхность кремнезема [43]. Взаимодействие наночастиц серебра и золота с аргининкиназой вызывает образование наночастиц серебра 2,11 нм, наночастиц золота 2,26 нм. Аргинин влияет на электрофильные и нуклеофильные связи наночастиц вышеуказанных металлов [19].

В качестве неорганических наноматериалов широкого применения привлекает все большее внимание аргинин-модифицированный наногидроксиапатит (Arg-nHAP). nHAP – основа системы доставки лекарственных средств, поэтому изучают клеточные механизмы поглощения, внутриклеточную локализацию и биологические эффекты Arg-nHAP. Он относится к материалам, которые могут быть использованы в качестве носителя нуклеиновых кислот и лекарств [31].

Наночастицы в сочетании с аргинином проявляют высокую фармакологическую активность, что используют для исследования невирусных транспортеров генов в клетке вследствие незначительного токсического воздействия. Исследовали эффективность невирусного транспортера генов – аргинин-модифицированного полиамидаминного дендримера с помощью модели подкожных инъекций U87MG клеток мышам. У исследованных мышей, которые получали аргинин-модифицированный полиамидаминный дендример, обнаружены меньшие по размеру опухоли по сравнению с контрольными животными [26].

Аспарагиновая кислота. Проведены исследования физических механизмов свертывания α -спирали пептидов как наноструктур. Установлена возможность инициирования спирализации олигопептидной цепи кислыми аминокислотными остатками – аспартатом и глутаматом. В инициировании свертывания α -спирали пептидов ключевая роль принадлежит аминокислотным остаткам аспартата и глутамата [45]. Анализ данных, полученных методом молекулярной динамики траекторий, подтвердил важную роль кислых аминокислотных остатков в инициировании α -спирализации линейных пептидов. Для улучшения мицеллярной системы доставки лекарств с их пролонгированным высвобождением (например, доксорубицин) используют аминокислоты. Модификация мицеллярной системы доставки лекарств аминокислотами позволила увеличить загружаемость препаратами матрицы. Доксорубицин, помещенный в мицеллы, сохранил противоопухолевую активность. Метод применения мицелл с целью доставки лекарственных

средств позволяет контролировать особенности химического поведения загруженных реактивов в окружающей среде, регулировать фармакологические свойства препаратов [72].

Аспарагиновую кислоту применяют для разработки полых наносфер с целью улучшения свойств гидрофобных веществ в водных средах. Для того, чтобы сформировать полые наносферы с внутренним диаметром около 17 нм и полостями на поверхности размерами 0,7 нм применяют α -, β -полиаспарагиновую кислоту, а также β -циклодекстрин. В полученных образцах наблюдается устойчивость, снижение токсичности для линии клеток L929. Такие полые наносферы являются потенциально полезными для транспортировки препаратов в опухоли [76].

Наночастицы можно использовать не только, как носители лекарственных средств, но и также в качестве диагностических зондов с целью их клинического применения в онкологии. Разработка таких зондов является сложной задачей, требует проведения комплексных фундаментальных и прикладных исследований *in vitro* и *in vivo*. Наночастицы кремнезема, функционализированные аргинин-глицин-аспарагиновой кислотой, исследуют на первой фазе клинических испытаний [28].

Валин. Синтезированы наночастицы арамида, содержащие хиральный радикал валина – N-фталоул, которые обладают антиоксидантными свойствами, действуют на содержание цитохрома P₄₅₀ и никотинамидадениндинуклеотид-фосфата в печени, активность амидопирин- N-деметилазы, анилин-4-гидроксилазы, цитохром C-редуктазы. Влияние наночастиц арамида и CCl₄ на активность ферментов привело к снижению токсичности, что происходит за счет действия метаболита этого ксенобиотика (\bullet CCl₃) на печень путем ингибирования фермента системы цитохром P₄₅₀ [41].

Гидроксилизин в организме образуется из лизина под влиянием фермента лизилгидроксилазы. L-лизин входит в состав белка коллагена и некоторых гликопротеинов [46]. Для определения каталитической активности пиридоксаль-фосфат-зависимых ферментов используют 5-фосфогидроксил-L-

лизин, который способен влиять на реакции фосфорилирования. Исследования метаболизма гидроксилизина могут способствовать созданию функциональных молекул на основе наночастиц металлов и наночастиц полимеров [71].

Гидроксипролин. Важным является изучение свойств наночастиц полилактат-ко-гликолида, которые позволяют создавать систему доставки лекарств, например, антибиотиков к патологическому процессу [40, 69].

Гистидин используют в форме гидрохлорида аминокислоты и неорганического аниона хлора ($\text{His} \cdot \text{HCl}$). Взаимосвязи веществ в масс-спектрах, полученных в режиме бомбардировки быстрыми атомами, позволяют изучать регистрируемые серии протонированных ассоциатов гистидина с олигомерами, которые способны образовывать стабильные комплексы с аминокислотой гистидином [77].

Комплекс двуспиральной ДНК с наночастицами меди применяют для выявления гистидина. Предложенная система датчиков может применяться для идентификации биомолекул в сложных биологических системах, в том числе крови и тканях организма [54].

Гистидин используют при создании искусственных имплантатов с наночастицами серебра и другими веществами. Ионы серебра известны своими антибактериальными свойствами и должны защищать ткани от бактериального повреждения, тем не менее, некоторые бактерии способны противостоять воздействию серебра даже в больших концентрациях. Гистидин связывает ионы серебра в условиях оптимального значения pH, а также влияет на развитие защитного механизма против размножения бактерий в композитах с наночастицами серебра [25]. Комплексы гистидина в нанокапсулах с наночастицами золота, серебра, никеля и т.д. исследуют с целью получения оптимальных методов самостоятельной сборки наночастиц [66].

Синтезирован конъюгат гистидин-гиалуроновая кислота с гидрофильным сегментом гистидина и гидрофобным сегментом – 1-этил-3(3-диметиламинопропил) пальмитиновой кислоты. Полученные композиты могут применяться для целевой доставки лекарств в злокачественные опухоли [74].

Для получения эффективной, безопасной и перспективной в плане применения в клинической практике системы доставки нуклеиновых кислот в генной терапии используют полимер декстрина, модифицированный гистидином [67]. Наноконпозиты гистидина с ДНК разработаны в качестве эффективной системы доставки генов, которая поможет сохранить многофункциональные биофизические свойства биоматериалов и соответствующих наночастиц с ДНК. Комплексы сохраняют наноразмеры, низкую токсичность при условии более высокой эффективности, потенциально полезны для эффективной доставки генов [37]. Гистидин имеет свойство образовывать комплексы с $\text{Cu}(2+)$ и $\text{Au}(3+)$, влияя на свойства этих нанометаллов [57].

Глицин. С целью создания пролекарств для лечения воспалительных заболеваний и особенно ревматоидного артрита применяют аминокислоту глицин. Глицин в сочетании с преднизолоном и хондроитин сульфатом контролируемо выделяется в кровяное русло, что позволило получить активное противовоспалительное вещество для лечения артрита [59]. Образование комплексов глицина с другими соединениями катализируется глицинN-ацетилтрансферазой, но такие конпозиты являются токсичными и требуют дальнейших исследований [25, 27].

Использование глицина может найти реализацию в области нанотехнологий, поскольку важным вопросом при разработке новых биосовместимых материалов является воспроизведение внеклеточной матрицы за счет функциональных возможностей самосборки молекул.

Глутамин является условно незаменимой аминокислотой. В физиологических условиях организм человека содержит достаточное количество глутамина, который синтезируется, главным образом, в мышечной ткани, незначительные количества глутамина образуются также в легких и в головном мозге [60]. Проведена функционализация поверхности наночастиц золота L-глутамином и L-аспарагином. Для оптимизации этого свойства необходимы три важных параметра: длина капилляра; концентрация фермента,

который взаимодействует с наночастицами золота; размер L-аспарагиназы, иммобилизированной на наночастицах золота. Такие наноконъюгаты обладают свойством предупреждать развитие злокачественных новообразований [63].

Глутаминовая кислота. Уровень L-глутамата в исследуемых биологических средах определяют с помощью нанобиосенсора [35]. На основе этой аминокислоты разработаны препараты с анальгетическими и психотропными свойствами [68]. Перспективным считают развитие исследований по разработке новых лечебных терапевтических средств с целью улучшения жизни больных, у которых главной причиной болезни считается воспаление. Проводят поиск веществ, которые предупреждают гибель клеток, путем применения полиглутаминовой кислоты в комплексе с пептидом. Такой наноконъюгат ингибирует воспалительную реакцию. В исследовании проводили работы с культивируемыми тубулярными клетками, полученными от мышей. Установлено, что глутаминовая кислота в качестве наноконъюгата предотвращает развитие апоптоза. Противовоспалительные механизмы наноконъюгата QM56 заключаются в угнетении апоптоза, индуцированного экзогенными нефротоксичными препаратами, эндогенными медиаторами воспаления, другими негативными причинами, поэтому препарат на основе глутаминовой кислоты планируют использовать для клинической трансплантации [70].

Изолейцин необходим для регуляции уровня сахара в крови, он влияет на процессы энергообеспечения, повышает производительность работы, выносливость, работоспособность [30]. Авторы исследовали механизмы нефротоксичности наночастиц меди в дозах 50, 100, 200 мг/кг по сравнению с микрочастицами этого металла в дозе 200 мг/кг при применении в течение 5 дней, анализируя экспрессию генов в почках. Установлено, что наномедь вызывает некроз проксимальных канальцев почек, что может быть связано с влиянием гены, вследствие нарушения структуры валина, лейцина, изолейцина, которые входят в состав этих генов. Это обуславливает нарушение окислительного фосфорилирования, клеточного цикла, активности митоген-

активированной протеинкиназы, метаболизма глутатиона и других изменений. Результаты этого исследования дают новое понимание механизма нефротоксичности наночастиц меди. Основное значение в уменьшении токсичности наномеди обусловлено наличием в структуре гена лейцина [53].

Лейцин входит в состав энкефалинов, которые согласно современным представлениям, являются естественными наноструктурами. Энкефалины проявляют выраженную биологическую активность – анальгетическое действие [17]. Лейцин входит в состав опиоидных пептидов, называемых лейцин-энкефалинами, которые являются пентапептидами и характеризуются природным сходством с опиатами (морфин, кодеин и др.). Эти наркотические анальгетики являются своеобразными экзогенными энкефалинами. Синтезируется в организме в виде крупных молекул белков, высвобожденных в результате протеолиза (проэнкефалин, продинорфин). Энкефалины обладают многочисленными положительными фармакологическими свойствами, к которым можно отнести: анальгезирующее действие, снижение активности желудочно-кишечного тракта, влияние на эмоциональное состояние и др. Влияние лейцин-энкефалина проходит за несколько секунд после введения антагонистов морфина, например, налоксона и др. Поскольку лейцин-энкефалин не вызывает привыкания и по механизму действия напоминает опиоидные анальгетики, он может использоваться в исследованиях для обезболивания и доставки нанолекарств в мозг. Использование наночастиц хитозана, в который инкапсулировали нейропептид лейцин-энкефалин, значительно повышают противовоспалительный эффект данного наноконъюгата [47].

Наночастицы с ДНК, маннитолом, лейцином размером от 66 до 125 нм структурно стабильны, устойчивы. Получены наночастицы с содержанием ДНК для целевой доставки лекарственных средств [62]. Лейцин применяют для получения пептидных наноконъюгатов. Включение лейцина в состав липидного бислоя липосом предупреждает распад в таком конъюгате, не влияя на общую термочувствительность везикул [22].

Лизин в составе смеси аминокислот глицин+гистидин+лизин стимулирует заживление ран, способствует синтезу антител. Лизин в комплексе с аминокислотами (гистидин и глицин) оказывает стимулирующее действие на регенерацию клеток печени, улучшает рост волос, участвует в синтезе коллагена фибробластами, накоплении межклеточного вещества соединительной ткани, проявляет выраженные репаративные эффекты, иммуностроительные свойства, регенерирующие способности. Репаративные эффекты лизина, который образуется во время расщепления пептида глицин+гистидин+лизин, усиливают ранозаживляющие свойства пептидов [48].

Гидрофильный лизин выступает в качестве основного компонента, который добавляют в нанокompозит с целью внести существенные изменения в формирование определенного размера наноматериалов и нанокompозитов, содержащих лекарственные средства с анальгетическими свойствами. Такие композиты обуславливают синтез наночастиц различного строения, состава и фармакологического действия [51].

Лизин в сочетании с наночастицами золота принадлежит к наноматериалам, которые проявляют противоопухолевый эффект в отношении карциномы легких, противомикробную активность по отношению к грамотрицательным бактериям, таким как *Escherichia coli*, что подтверждает улучшение физико-химических свойств наночастиц золота с помощью лизина в сравнении с обычными наночастицами золота. Токсичность наноматериалов и биологическое применение зависит от функционализации поверхности нанозолота аминокислотой лизином [34].

Метионин. Показано, что большинство опухолевых клеток имеют повышенное поглощение аминокислот, в том числе и метионина, по сравнению с нормальными клетками. Поэтому созданы наноразмерные аналоги метионина, которые проявляют положительный противоопухолевый эффект, установленный с помощью молекулярной визуализации опухолевой ткани [44].

Нанокompозиты протеина с глицином и метионином характеризуются высоким сродством к нанозолоту. Проведена функционализация

модифицированных наночастиц золота магнитными частицами оксида железа с помощью цистеина и метионина через Au-S связи [58].

Пролин обладает антимикробной активностью в сочетании с низкой токсичностью для клеток, поэтому эту аминокислоту используют для синтеза новых антибиотических и иммуномодулирующих лекарственных препаратов с целью коррекции различных видов патологии. Разработка новых биосенсоров требует изучения взаимодействия между наночастицами металлов и биомолекулами. Учитывают структурные свойства функционализированных наночастиц золота пролином. Комплексы нанозолота с пролином имеет значение для создания новых лекарственных средств [61].

Серин. L-серин принимает участие в построении природных белков, ферментов. D-серин обладает нейромедиаторными свойствами. Синтез D-серина происходит в глиальных клетках и нейронах путем рацемизации. D-серин освобождается из депо в ответ на химическую стимуляцию глутаматом или антагонистами глутаматных рецепторов, играет важную роль в сохранении пластичности синапсов и в поиске терапии неврологических расстройств, ишемии, амиотрофического латерального склероза. Биосенсоры, в состав которых входит серин, которые получают при помощи нанотехнологий, имеют улучшенные функциональные свойства. Такие композиты в перспективе могут применяться для лечения шизофрении, поскольку уровень D-серина уменьшается при этом заболевании [65].

Тирозин. Проведены исследования по разработке методов изучения активности тирозингидроксилазы в допаминергических структурах. Метод проводится за счет сочетания антител и магнитных наночастиц. Допаминергические структуры (наиболее разнообразный тип нейронов сетчатки глаза) являются пресинапсами γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и глицина [23]. Концепция генной терапии является перспективным направлением в лечении многих заболеваний, но ограничивается возникновением значительных побочных эффектов таких медикаментов. Одним из перспективных направлений таких исследований является создание

нанокompозитов в качестве способа доставки лекарственных средств к органам-мишеням. Включение тирозина в композиты нанометаллов позволяет уменьшить их токсичность [36].

Треонин. Использование треонина относится к возможным перспективным способам для экономичного и экологически чистого метода функционализации наночастиц органического и неорганического происхождения. Микрочип содержит допамин в качестве восстановителя и мономер AuCl_4 – в качестве окислителя с целью вызвать полимеризацию и заполнения микроканала покрытием допамином и золотом. Треонин улучшает поверхность микрофлюидных чипов [52].

Триптофан. Наночастицы золота с кремнеземом функционализируют триптофаном [7, 64]. Синтезированный наноматериал на основе наночастиц золота с графеном с целью улучшения диагностики психических, метаболических, генетических, сердечно-сосудистых заболеваний [50].

Фенилаланин. Размер наночастиц полимерных материалов, степень агломерации зависит от их взаимодействия с фенилаланином. Примером таких нанокompозитов является полигаммаглутаминовая кислота в сочетании с L-фенилаланином. Данный нанокompозит может регулировать медико-биологические процессы высвобождения лекарственных средств для уменьшения токсического эффекта, который возникает от передозировки медикаментов [20].

Переход от макроразмеров к наноразмерам приводит к качественным изменениям в физических, химических, физико-химических, биологических, фармакологических, токсикологических свойствах наноматериалов [4, 9, 13, 14]. Зависимость активности от размера частиц, участвующих в реакции, может быть связана с изменением свойств частицы при взаимодействии, корреляцией между геометрической структурой и структурой электронной оболочки, симметрией орбиталей взаимодействующих молекул, а также с преобладанием волновых свойств наноматериалов над корпускулярными.

Заключение. Аминокислоты в комплексах с наночастицами органического и неорганического происхождения играют важную роль в доставке лекарственных средств к патологическим процессам, снижают токсичность наноматериалов, используемых для визуализации, физических, химических, квантовых, молекулярных, биологических исследований, диагностики, создания биосенсоров, лабораторий-на-чипе, потому является перспективным материалом для синтеза новых препаратов, средств диагностики болезней. Обобщая данные литературы, а также собственные исследования, можно утверждать, что в организме осуществляются физиологические, биохимические, физико-химические процессы, в основе которых лежат наномеханизмы, которые требуют более детальных, углублённых научных исследований. В этих процессах существенную роль отводится аминокислотам.

Не все изложенные в данном разделе монографии положения экспериментально подтверждены, они дискуссионны, требуют дальнейших всесторонних исследований специалистами различных направлений для установления роли наномеханизмов в функциях аминокислот, как наноразмерных молекул, в деятельности живых систем.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

нм – нанометр

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

Arg-nHAP – аргинин-модифицированный наногидроксиапатит

nHAP – наногидроксиапатит

ГАМК – γ -аминомасляная кислота

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисевич В.Б., Каплуненко В.Г., Косінов М.В., Борисович Б.В. і співав. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії. – К.: ВД «Авіцена», 2010. – 416 с.
2. Волков С. В., Ковальчук С. П., Генко В. М., Решетняк О. В. Нанохімія. Наносистеми. Наноматеріали. – К.: Наук. Думка, 2008. – 422 с.
3. Головенко М., Ларіонов В. Адресна доставка наносистемами лікарських засобів до головного мозку // Вісн. фармакології та фармації. – 2008. – № 4. – С. 8–16.
4. Гусев А. И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. – 2-е изд., испр. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007. – 416 с.
5. Жоаким К., Плевер Л. Нанонаука. Невидимая революция. – М.: КоЛибри, 2009. – 240 с.
6. Заячук Д.М. Нанотехнології і наноструктури: Навч. Посібник. – Львів: Вид-во Національного університету „Львівська політехніка”, 2009. – 580 с.
7. Елисеев А.А., Лукашин А.В. Функциональные наноматериалы. Под ред. Ю.Д. Третьякова. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. – 456 с.
8. Мовчан Б. А. Электронно-лучевая гибридная нанотехнология осаждения неорганических материалов в вакууме // Актуальные проблемы современного материаловедения. – К: Академперіодика, 2008. – Т. 1. – С. 227–247.
9. Наноматериалы и нанокompозиты в медицине, биологии, экологии / Под ред. А.П. Шпака, В.Ф. Чехуна // Составители П.П. Горбык, В.В. туров. – Киев: Наук. думка, 2011. – 444 с.
10. Пул Ч., Оуенс Ф. Нанотехнологии. – 2-е изд., доп. – М.: Техносфера, 2006. – 336 с.
11. Сергеев Г.Б. Нанохимия. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 2007. – 336 с.
12. Суздаев И.П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. – М.: КомКнига, 2006. – 592 с.

13. Ульберг З.Р., Грузина Т.Г., Перцев Н.В. Коллоидно-химические свойства биологических наносистем. Биомембраны. В книге „Коллоидно-химические основы нанонауки”. Академперіодика, Киев, 2005. – С. 199-237.
14. Чекман І.С. Нанотармакологія: експериментально-клінічний аспект // Лікарська справа. Врacheбное дело. – 2008. – №3-4. – С. 104–109.
15. Чекман І.С. Фармакологічні та фармацевтичні основи нанопрепаратів // Лікарська справа. Врacheбное дело. – 2010. – №1-2. – С. 3–10.
16. Чекман І.С. Нанотармакологія. – К.: Задруга. – 2011. – 424 р.
17. Чекман І.С. Сімонов П.В. Природні наноструктури і наномеханізми. – К.: Задруга. – 2012. – 104 с.
18. Чуйко А.А., Погорелый В.К., Пентюк А.А. и соавт. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния. – К.: Наукова думка, 2003. – 415 с.
19. Adeyemi O.S., Whiteley C.G. Interaction of metal nanoparticles with recombinant arginine kinase from *Trypanosoma brucei*: Thermodynamic and spectrofluorimetric evaluation // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2013. – V. 1840, (1). – P. 701–706.
20. Akagi T., Piyapakorn P., Akashi M. Formation of unimer nanoparticles by controlling the self-association of hydrophobically modified poly(amino acid)s // *Langmuir*. – 2012. – V. 28, №11. – P. 5249–5256.
21. Alabanza A.M., Pozharski E., Aslan K. Rapid Crystallization of L-Alanine on engineered surfaces using metal-assisted and microwave-accelerated evaporative crystallization // *Cryst. Growth. Des.* – 2012. – V. 12, 1. – P. 346–353.
22. Al-Ahmady Z.S., Al-Jamal W.T., Bossche J.V. et al. Lipid-peptide vesicle nanoscale hybrids for triggered drug release by mild hyperthermia in vitro and in vivo // *ACS Nano*. 2012. – V. 6, №10, 9335–9346.
23. An J.H., Oh B.K., Choi J.W. Detection of tyrosine hydroxylase in dopaminergic neuron cell using gold nanoparticles-based barcode DNA // *J. Biomed. Nanotechnol.* – 2013. – V. 9, №4. – P. 639–643.
24. Avetisova G.Ye., Melkonyan L.H., Chakhalyan A.Kh. et al. Development of new highly active *Brevi Bacterium flavum* L-alanine producers strains and

- comparative characterization of their alanin-synthesizing activity // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2013. – V. 17, №3. – 430–434.
25. Badenhorst C.P., van der Sluis R., Erasmus E., van Dijk A.A. Glycine conjugation: importance in metabolism, the role of glycine N-acyltransferase, and factors that influence interindividual variation // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. – 2013. – V. 9, №9. – P. 1139–1153.
26. Bai C.Z., Choi S., Nam K. et al. Arginine modified PAMAM dendrimer for interferon beta gene delivery to malignant glioma // Int. J. Pharm. – 2013. – V. 445, №1-2. – P. 79–87.
27. Bordallo H.N., Boldyreva E.V., Buchsteiner A. Et al. Landsgesell S. Structure-property relationships in the crystals of the smallest amino acid: an incoherent inelastic neutron scattering study of the glycine polymorphs // J. Phys. Chem. B. – 2008. – V. 112, №29. – P. 8748–8759.
28. Benezra M., Penate-Medina O., Zanzonico P.B. et al. Multimodal silica nanoparticles are effective cancer-targeted probes in a model of human melanoma // J. Clin. Invest. 2011. – V. 121, №7. – P. 2768–2780.
29. Bratzel G., Buehler M.J. Sequence-structure correlations in silk: Poly-Ala repeat of *N. clavipes* MaSp1 is naturally optimized at a critical length scale // J. Mech. Behav. Biomed. Mater. – 2012. – V. 7. – P. 30–40.
30. Campos-Ferraz P.L., Bozza T., Nicastro H. Et al. Distinct effects of leucine or a mixture of the branched-chain amino acids (leucine, isoleucine, and valine) supplementation on resistance to fatigue, and muscle and liver-glycogen degradation, in trained rats // Nutrition. – 2013. – V. 29, №11-12. – P. 1388–1394.
31. Chen Y., Yang L., Huang S. et al. Delivery system for DNazymes using arginine-modified hydroxyapatite nanoparticles for therapeutic application in a nasopharyngeal carcinoma model // Int. J. Nanomedicine. – 2013. – V. 8. – P. 3107–3718.
32. Chernyshova O.S. The binding of β -phenyl- α -alanine by sodium dodecylsulphate' nanodimensional aggregates // Kharkov University Bulletin. Chemical Series. – 2011. – V. 20 №43. – P. 187–191.

33. Christian P., Von der Kammer F. Baalousha M. Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media // *Ekotoxicology*. – 2008. – Vol. 5, №17. – P. 326–343.
34. Daima H.K., Selvakannan P.R., Shukla R. et al. V. Fine-tuning the antimicrobial profile of biocompatible gold nanoparticles by sequential surface functionalization using polyoxometalates and lysine // *PLoS One*. – 2013. – V. 8, №10, e79676.
35. Deng Y., Wang W., Ma C. et al. Fabrication of an electrochemical biosensor array for simultaneous detection of L-glutamate and acetylcholine // *J. Biomed. Nanotechnol.* – 2013. V. 9, №8. – P. 1378–1382.
36. Ditto A.J., Reho J.J., Shah K.N. et al. In vivo gene delivery with L-tyrosine polyphosphate nanoparticles // *Mol. Pharm.* – 2013. – V. 10, №5. – P. 1836–1844.
37. Gu J., Wang X., Jiang X. et al. Self-assembled carboxymethyl poly (L-histidine) coated poly (β -amino ester)/DNA complexes for gene transfection // *Biomaterials*. – 2012. – V. 33, №2. – P. 644–658.
38. Guidelli E.J., Ramos A.P., Zaniquelli M.E. et al. O. Synthesis and characterization of gold/alanine nanocomposites with potential properties for medical application as radiation sensors // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2012. – V. 4, №11. – P. 5844–5851.
39. Golovnev N.N., Vasiliev A.D., Molokeyev M.S. et al. Synthesis of the metals with beta-alanine complex compounds // *Bulletin of Krasnoyarsk state University*. – 2004. – N2. – P. 14–20.
40. Haiko H.V., Magomedov A.M., Kalashnikov A.V. et al. Features of biochemical changes in the blood serum depending on the form of progression idiopathic coxarthrosis // *Journal "Trauma"*. – 2012. – V. 13, №2. – 64–67.
41. Hassan H.H., El-Banna S.G., Elhusseiny A.F. et al. Antioxidant activity of new aramide nanoparticles containing redox-active N-phthaloyl valine moieties in the hepatic cytochrome P450 system in male rats // *Molecules*. – 2012. – V. 17, №7. – P. 8255–8275.

42. Jain K. K. Nanomedicine: application of nanobiotechnology in medical practice // Med. Princ. Pract. – 2008. – Vol. 17, № 2. – P. 89–101.
43. Joksimovic R., Altin B., Mehta S.K. et al. Synthesis of silica nanoparticles covered with silver beads // J. Nanosci. Nanotechnol. – 2013. – V. 13, №10. – P. 6773–6781.
44. Khosroshahi A.G., Amanlou M., Sabzevari O. Et al. A comparative study of two novel nanosized radiolabeled analogues of methionine for SPECT tumor imaging // Curr. Med. Chem. – 2013. – V. 20, №1. – P. 123–133.
45. Kondratyeva M.S., Kabanov A.V., Komarov V.M. Modeling of helix formation in peptides containing aspartic and glutamic residues // Computer Research and Modeling. – 2010. – V. 2, №1. – P. 83–90.
46. Krasylenko O.P., Pedachenko Yu.Ye. The treatment of neurogenic intermittent claudication syndrome caused by stenosis of spinal canal' lumbar region // International Neurology Journal. – 2011. – V. 3, №41. – 21–26.
47. Kumar M., Pandey R.S., Patra K.C. et al. Evaluation of neuropeptide loaded trimethyl chitosan nanoparticles for nose to brain delivery // Int. J. Biol. Macromol. – 2013. – V. 61. – P. 189–195.
48. Kurtseva A.A., Smakhtin M.Yu., Ivanov A.V. et al. The influence of amino acids – components of gly-his-lys peptide on skin wounds regeneration and neutrophil functions // Kurskiy scientifically-practical herald "Persons and his health". – 2008. – N3. – P. 5–10.
49. Kusumi A., Shirai Y.M., Koyama-Honda I. et al. Hierarchical organization of the plasma membrane: investigations by single-molecule tracking vs. fluorescence correlation spectroscopy // FEBS Lett. – 2010. – Vol. 584, №9. – P. 1814–1823.
50. Li J., Kuang D., Feng Y. et al. Green synthesis of silver nanoparticles-graphene oxide nanocomposite and its application in electrochemical sensing of tryptophan // Biosens. Bioelectron. – 2013. – V. 42. – P. 198–206.
51. Lee M.K., Kim S., Ahn C.H. et al. Hydrophilic and hydrophobic amino acid copolymers for nano-comminution of poorly soluble drugs // Int. J. Pharm. – 2010. – V. 384, №1-2. – P. 173–180.

52. Liang R.P., Meng X.Y., Liu C.M. et al. PDMS microchip coated with polydopamine/gold nanoparticles hybrid for efficient electrophoresis separation of amino acids // *Electrophoresis*. – 2011. – V. 32, №23. – P. 3331–3340.
53. Liao M., Liu H. Gene expression profiling of nephrotoxicity from copper nanoparticles in rats after repeated oral administration // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2012. – V. 34, №1. – P. 67–80.
54. Liu Y.R., Hu R., Liu T. Et al. Label-free dsDNA-Cu NPs-based fluorescent probe for highly sensitive detection of L-histidine // *Talanta*. – 2013. – №107. – 402–407.
55. Medina C., Santos-Martinez M. J., Radomski A. et al. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 150. – P. 552–558.
56. Mirolo L., Schmidt T., Eckhardt S. et al. pH-dependent coordination of Ag(I) ions by histidine: experiment, theory, and a model for SILE // *Chemistry*. – 2013. – V. 19, №5. – P. 1754–1761.
57. Nishimura T., Matsuo T., Sakurai K. Metal-ion induced transition from multi- to single-bilayer tubes in histidine bearing lipids and formation of monodisperse Au nanoparticles // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2011. – V. 13, 35. – P. 15899–15905.
58. Okada Y., Takano T.Y., Kobayashi N. Et al. New protein purification system using gold-magnetic beads and a novel peptide tag, "the methionine tag" // *Bioconjug. Chem.* – 2011. – V. 22, №5. – P. 887–893.
59. Onishi H., Matsuyama M. Conjugate between chondroitin sulfate and prednisolone with a glycine linker: preparation and in vitro conversion analysis // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. – 2013. – V. 61, №9. – P. 902–912.
60. Petrikov S., Zinkin V.Y., Solodov A. A. et al. Use of enteral glutamine in the structure of artificial feeding in patients with intracranial hemorrhages // *Bulletin Intensive Care*. – 2010. – N4. – P. 59–64.
61. Rai S., Singh H. Electronic structure theory based study of proline interacting with gold nano clusters // *J. Mol. Model.* – 2013. – V. 19, №10. – P. 4099–40109.

62. Raula J., Hanzlíková M., Rahikkala A. Et all. Gas-phase synthesis of solid state DNA nanoparticles stabilized by l-leucine // *Int. J. Pharm.* – 2013. – V. 444, №1-2. – P. 155–161.
63. Qiao J., Qi L., Yan H. Et all. Microchip CE-LIF method for the hydrolysis of L-glutamine by using L-asparaginase enzyme reactor based on gold nanoparticles // *Electrophoresis.* – 2013. – V. 34, №3. – P. 409–416.
64. Selvakannan P., Mantri K., Tardio J. et all. High surface area Au-SBA-15 and Au-MCM-41 materials synthesis: tryptophan amino acid mediated confinement of gold nanostructures within the mesoporous silica pore walls // *J. Colloid. Interface Sci.* – 2013. – N394. – P. 475–484.
65. Soldatkin O.O. Development of amperometric microbiosensor for D-serin determination // *Biotechnology.* – 2011. – V. 4, №3. – P. 36–42.
66. Soni S.K., Selvakannan P.R., Bhargava S.K. et all. Self-assembled histidine acid phosphatase nanocapsules in ionic liquid [BMIM][BF₄] as functional templates for hollow metal nanoparticles // *Langmuir.* – 2012. – V. 28, №28. – P. 10389–10397.
67. Thomas J.J., Rekha M.R., Sharma C.P. Unraveling the intracellular efficacy of dextran-histidine polycation as an efficient nonviral gene delivery system // *Mol. Pharm.* – 2012. – V. 9, №1. – P. 121–134.
68. Tyurenkov I.N., Bagmutova V.V., Chernysheva J.V. et all. Comparison of glutamic acid and its new derivative – hydrochloride beta phenylglutarimide acid (glutarone) psychotropic properties // *Fundamental research.* – 2013. – №3. – 167–172.
69. Trivedi R., Redente E.F., Thakur A. et all. Local delivery of biodegradable pirfenidone nanoparticles ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice // *Nanotechnology.* – 2012. – 23, №50. – e505101.
70. Ucerro A.C., Berzal S., Ocaña-Salceda C. et all. A polymeric nanomedicine diminishes inflammatory events in renal tubular cells // *PLoS One.* – 2013. – V. 8, №1. – e51992.

71. Veiga-da-Cunha M., Hadi F., Balligand T. Et all. Molecular identification of hydroxylysine kinase and of ammoniophospholyases acting on 5-phosphohydroxy-L-lysine and phosphoethanolamine // J. Biol. Chem. – 2012. – V. 287, №10. – P. 7246–7255.
72. Wang X., Wu G., Lu C. et all. A novel delivery system of doxorubicin with high load and pH-responsive release from the nanoparticles of poly (α,β -aspartic acid) derivative // Eur. J. Pharm. Sci. – 2012. – V. 47, 1. – P. 256–264.
73. Wu L., Lu X., Zhang H., Chen J. Amino acid ionic liquid modified mesoporous carbon: a tailor-made nanostructure biosensing platform // Chem. Sus. Chem. – 2012. – V. 5, №10. – 1918–1925.
74. Wu J.L., Liu C.G., Wang X.L. et all. Preparation and characterization of nanoparticles based on histidine-hyaluronic acid conjugates as doxorubicin carriers // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2012. – V. 23, №8. – P. 1921–1929.
75. Xidos J.D., Li J., Zhu T. et all. GAMESOL– version 3.1, University of Minnesota, Minneapolis, 2002. – 1347 p.
76. Zeng J., Huang H., Liu S. et all. Hollow nanosphere fabricated from β -cyclodextrin-grafted α,β -poly(aspartic acid) as the carrier of camptothecin // Colloids Surf. B. Biointerfaces. –2013. – №105. – P. 120–127.
77. Zobnina V.G., Kosevich M.V., Boryak O.A. et all. Intermolecular interaction of polyethers oligomers with amino acid histidine // Bulletin Sev. NTU. – 2011. – №113. – P. 88–93.

ГЛАВА 2

ЛАБОРАТОРНО-КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ. НЕЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

2.1. Аминокислоты – строительные блоки белков и пептидов

Аминокислоты (АК) являются строительными блоками белков и пептидов, являясь наиболее важными низко молекулярными веществами в организме человека. Название АК базируется на их химической структуре: эти вещества по большей части содержат одну или две первичные аминогруппы и одну или две карбоксильных группы.

Белки состоят из 20 разных АК, из которых половина может синтезироваться эндогенно, а другая половина (незаменимые АК) поступает в организм с пищей. Белки, преимущественно, синтезируются в печени; каждый белок характеризуется постоянным составом АК. Несмотря на то, только 20 АК принимают участие в образовании белков, имеет место множество альтернативных реакций, которые приводят к образованию «необычных АК». Классические учебники по биохимии содержат информацию более чем о 100 АК, которые экскретируются с мочой человека, а фактическое число АК и их производных значительно больше [3,4].

АК являются важными компонентами организма человека и их потери с мочой являются незначительными благодаря эффективной системе реабсорбции в почечных канальцах. Аналитический подход направлен на выявление катаболических расстройств и анаболических нарушений, и именно поэтому необходимо идентифицировать как повышение, так и снижение уровня АК. Определить снижение уровня АК в биологических жидкостях, в том числе, и уровень нейротрансмиттерных АК можно с использованием современных аналитических методов [13].

Уровни АК в биологических жидкостях исследуют как для диагностики врожденных ошибок метаболизма, так и для оценки пищевого статуса и функции органов, таких как печень, почки, кишечник и мышцы. Изменение уровней АК (вторичные), которые приводят к нарушениям работы этих

органов, могут быть незначительными, поэтому анализ профиля АК должен иметь достаточно высокий уровень точности для выявления и интерпретации результатов исследования.

АК по определению являются низкомолекулярными моно- и дикарбоновыми кислотами с одной или больше аминогруппами. Некоторые иминокислоты (пролин (ПРО), гидроксипролин (ГИПРО)) также принадлежат к этой группе биологически важных веществ.

В результате диссоциации протона карбоксильной группы АК образуется слабо отрицательный электрический заряд. С другой стороны, аминогруппы, которые имеют свободную пару электронов на атоме азота способны связывать протон, обеспечивая положительный заряд. Строение АК обеспечивает их гидрофильный характер («цвиттерион»). При исследовании уровня АК на этапе пробоподготовки необходимо учитывать, что некоторые из них слабо растворимы в воде (цистеин/ и тирозин (ТИР)).

Моноаминодикарбоновые кислоты (аспарагиновая кислота (АСП), глутаминовая кислота (ГЛЮ)) и диаминомонокрбоновые кислоты (лизин (ЛИЗ), аргинин (АРГ)) являются кислыми или основными. АК характеризуются различными (индивидуальными) изоэлектрическими точками. Эти отличия в полярности АК лежат в основе их разделения при хроматографическом анализе: нейтральные АК находятся в средней части хроматограммы; двухосновные АК выходят на хроматограмме позднее. Кроме того, длина алифатической цепи молекулы делает АК менее полярными, приводя к более позднему выходу на хроматограмме (например, у орнитина (ОРН) пять атомов углерода, и время выхода на хроматограмме предшествует его гомологу – лизину (ЛИЗ), который состоит из шести атомов углерода).

Серосодержащие АК (ЦИС и гомоцистеин), а также гетероциклическая АК триптофан (ТРП), связаны с белком. Принимая во внимание эти обстоятельства, необходимо проводить депротеинизацию биологических образцов для определения этих АК.

2.2. Профиль аминокислот в диагностике вторичных нарушений обмена

Использование АК тканями является высоко специфическим. Метаболизм АК преимущественно происходит в печени, скелетных мышцах и мозге. Связывание и метаболизм глицина (ГЛИ) обычно происходит в печени, однако его доступность снижается. Несмотря на патологию печени, АК свободно циркулируют в других тканях. Таким образом, у пациентов с патологией печени может отмечаться высокий уровень циркулирующего ГЛИ, а при введении серина (СЕР), отмечают суммарную перегрузку ГЛИ и СЕР, которые могут вызывать психотические состояния [2,13].

Для объяснения большого количества аминокислородопатий изучали профиль АК крови и/или мочи, начиная с введения методов распределительной хроматографии в 1945 [19]. Тот факт, что большое количество метаболических дефектов обусловлено обменом АК объясняют их амфотерными свойствами и большим количеством ферментативных систем, принимающих участие в метаболизме АК. Scriver et. al. нарушениям обмена АК посвятили 12 глав в издании 1995 г «The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease».

Материалом для исследования уровня АК могут являться различные образцы биологического материала, в зависимости от клинической картины аминокислородопатии/аминоацидурии и предполагаемого диагноза (табл.2.1 – 2.2.). Уровень АК в организме зависит от ряда факторов, таких как: возраст, физиологические изменения, пищевой статус, нарушения состояния здоровья и наличие патологических процессов, прием лекарственных препаратов, и влияние токсинов. Эти факторы необходимо учитывать, потому что лекарственные препараты могут быть причиной артефактов, которые интерферируют с результатами анализа или могут нарушать метаболизм АК в организме, который приводит к изменению их уровней. В результате влияния этих факторов, измененный профиль АК, может быть приобретенным состоянием.

Таблица 2.1.

Клинически значимый биологический материал [1,9]

Маркеры состояния различных органов и систем	Аминокислоты и их производные	Исследуемый материал
Незаменимые АК	Лейцин (ЛЕЙ), изолейцин (ИЛЕ), валин (ВАЛ), фенилаланин (ФЕН), ЛИЗ, треонин (ТРЕ), ТРП, МЕТ (метионин)	Плазма/сыворотка
Заменимые АК	АРГ, тирозин (ТИР), гистидин (ГИС), ГЛИ, СЕР, таурин (ТАУ)	Плазма/сыворотка
Маркеры неврологической дисфункции	ТРП, ТИР, ФЕН, МЕТ, γ -аминомасляная кислота (ГАМК)	Плазма/сыворотка
Маркеры дефицита витаминов и минералов	ГИС, ЛИЗ, ПРО/ГИПРО, ГЛУ/глутамин (ГЛН), ФЕН/ТИР, саркозин (метилглицин) /ГЛИ	Плазма/сыворотка
Маркеры костной резорбции и снижения мышечной массы	ГИПРО, гидроксизин, ЦИС, 3-метилгистдин	Моча
Маркеры кишечного дизбиоза	β -аланин	Моча

Согласно большинству публикаций, исследования уровня АК, проводят в плазме/сыворотке крови. Для исследования маркеров костной ткани и маркеров кишечного дизбиоза моча является лучшим материалом. Наследственные дефекты метаболизма характеризуются резким повышением уровня АК. Аномальный результат легко обнаружить как в крови, так и в моче. Например, при болезни с запахом мочи кленового сиропа (OMIM #248600, Maple Syrup urine disease, MSUD, Alternative titles – Branched chain ketoaciduria) отмечают повышение уровня АК с разветвленной цепью, как в крови, так и в моче [13,15,19].

Таблица 2.2.

АК и их производные как маркеры дефицита витаминов и минералов [1,9]

Аминокислота или соотношение АК	Образец	Изменение уровней АК	Витамин или кофактор
ГИС	Кровь	Снижение	Фолаты
ЛИЗ	Кровь	Снижение	Карнитин
ПРО / ГИПРО	Моча	Повышение	Витамин С
Глутамат (ГЛУ)/ глутамин (ГЛН)	Кровь	Повышение	В ₆
Саркозин (метилглицин) / ГЛИ	Кровь	Повышение	В ₁₂ , фолаты
ФЕН/ТИР	Кровь	Повышение	Железо

Уровень заменимых АК крови натошак регулируется их освобождением из мышечной ткани и поглощением клетками печени для синтеза. Количество незаменимых АК крови регулируется интенсивностью обменных процессов в тканях. Например, снижение уровня ТРП, предшественника серотонина, влечет за собой снижение его образования в мозге в качестве нейромедиатора. Важным предположением является тот факт, что функция тканей критически зависит от поступления АК, воздействуя на оптимальную концентрацию и баланс незаменимых АК. Изменение уровней специфических АК, участвующих в обмене в мышцах, а также нейротрансмиттеров, дает ценную информацию о том, на какое звено метаболизма должно быть направлено специфическое лечение. Так как определенные витамины и минералы необходимы для нормального метаболизма АК, специфические изменения их уровней является указанием на необходимость введения этих классов нутриентов (Табл.2.3.) [1,9].

Низкие уровни незаменимых АК крови могут указывать на низкокачественную белковую диету или неадекватное пищеварение и всасывание. Увеличение поглощения АК печенью для синтеза белка или снижение активности скелетных мышц также приводит к снижению уровня АК в крови. Низкие уровни ароматических АК – ТРП, ФЕН и ТИР могут указать на нарушение кислотности желудка. Соляная кислота необходима для активации

промежуточного белкового пищеварения. При выявлении множественного снижения уровней незаменимых АК в крови, положительный эффект наблюдается при назначении диеты, дополненной свободными формами АК. При синдроме тяжелой мальабсорбции обнаруживают снижение уровня АК, даже при проведении исследования после приема пищи. Низкий уровень незаменимых АК после приема пищи указывает на неадекватную их абсорбцию.

Таблица 2.3.

Нарушения метаболизма АК и их производных; коррекция нарушений [1,9]

Нарушение метаболизма	Аминокислоты	Терапия, направленная на коррекцию сниженных уровней АК	Терапия, направленная на коррекцию повышенных уровней АК
1	2	3	4
АК, используемые для синтеза полипептидов и образования энергии	ИЛЕ, ЛЕЙ, ВАЛ		В ₆ 100 мг; проверить чувствительность к инсулину
	ГИС	Фолаты, 800 мкг; гистидин, 500 г (3 р/сут)	
	ЛИЗ	Карнитин 1-2 г	Вит.С, 1г 2р/день ниацин 50мг; В ₆ 100мг; Fe 15 мг
	Амино-адипиновая кислота *		В ₆ , 100 мг; б-кетоглутарат 600 мг 2 р/день
	ТРЕ		В ₆ , 100 мг; цинк, 30 мг
	α-аминомасляная кислота **	α-кетоглутарат 600 мг 2 р/сутки; В ₆ , 100 мг	
Нейротрансмиттеры и прекурсоры	ФЕН		Железо, 30 мг; вит.С, 1г 3 р/сутки; ниацин, 50мг; низко белковая диета
	ТИР	Железо, 30 мг; тирозин, 500 мг 3р/сут, вит. С, 1 г 2 р/сут; ниацин, 50 мг	Медь, 3 мг; железо, 30 мг; вит. С, 1 г 3р/сут; В ₆ , 100 мг 2 р/сут

Продолжение таблицы 2.3.

1	2	3	4
Нейротрансмиттеры и прекурсоры	ТРП	5 ОН-триптофан, 50 мг 3 р/сутки	Ниацин, 50 мг; В ₆ 100 мг 2 р/сутки
	ГЛУ	В ₆ , 100 мг; б-кетоглутарат 600 мг 3 р/сутки	Ниацин, 50 мг; В ₆ , 100 мг 2 р/сутки
	ГАМК		б-кетоглутарат 600 мг 2 р/сутки; В ₆ , 50 мг
Глицин, серин и родственные АК	ГЛИ	ГЛИ 1000 мг 3 р/сутки	Фолаты, 800 мкг; В ₆ , 100 мг; В ₂ , 50 мг; В ₅ , 500 мг
	Сер	В ₆ , 100 мг; фолаты, 800 мкг; марганец 15 мг	
	Етаноламин ****		Магnezия, 200 мг 2р/сутки
	Фосфосерин *****		Магnezия, 200 мг 2р/сутки
	Саркозин		В ₂ , 50 мг
Поступление и выведение аминокислот (цикл мочевины)	Аланин (АЛА)		В ₆ , 100 мг
	АРГ	Отсутствует или АРГ, 500 мг 2 р/сутки	Марганец, 15 мг
	АСП	б-кетоглутарат 600 мг 2р/сутки; В ₆ , 100 мг;	Магnezия, 200 мг 2р/сутки; цинк, 30 мг
	Аспарагин (АСН)	Магний, 200 мг 2р/сутки	
	ГЛУ		а-кетоглутарат 600 мг 2 р/сутки; В ₆ , 100 мг
АК цикла мочевины	Цитруллин (ЦИТ)		Магnezия, 200 мг 2р/сутки; аспартат, 1 мг 2 р/сутки
	ОРН	АРГ 500 мг 2 р/сутки	Магnezия, 200 мг 2р/сутки; В ₆ , 100 мг; α-кетоглутарат 600 мг 2 р/сутки
АК, связанные с коллагеном	ПРО	α-кетоглутарат, 600 мг 2 р/сутки	Вит.С 1000 мг 3 р/сутки, ниацин, 50 мг
	ГИПРО		Вит.С 1000 мг 3 р/сутки; железо 15 мг
	Гидролизин		Вит.С 1000 мг 3 р/сутки; железо 15 мг

Продолжение таблицы 2.3.

1	2	3	4
Серосодержащие АК	МЕТ		В6, 100 мг, А-КГ 600 мг (2 р/ день), магнезия, 200 мг (2р/д); САМ 200мг (2р/д)
	ЦИС	НАС, 500 мг 2р/сутки	В2, 50 мг
	Гомоцистин		В6, 100 мг, фолаты, 800 мкг В12, 1000 мкг; бетаин 1-2 г, 2 р/сутки
	Цистатионин		В6, 100 мг
	ТАУ	Таурин, 300 мг 2р/сутки, В6, 100 мг	Вит Есть, 800 Мод., Вит.С 1г 2 р/сутки, в-каротен 25.000 Мод, Коэнзим Q10, 30мг, ліпоат, 200 мг
β-АК и их производные *****	β-аланин		Лакто- и бифидобактерии; В6, 100 мг
	ансерин		Цинк, 30 мг
	Карнозин		Цинк, 30 мг
	β-аминоизо-масляная кислота		В6, 50 мг
	1-метилг-истидин		Вит Е, 400 Мед., фолаты, 800 мкг В12, 1000 мкг
Маркеры повреждения тканей	3-метил-гистидин		АК с разветвленной цепью, вит.Е 800 М ед; Вит.С 1 г 3 р/сутки; в-каротен 25.000 М ед, коэнзим Q10, 30мг, ліпоат, 200 мг
	3-нитро-тирозин		вит.Е 800 Мед; Вит.С 1 г 3 р/сутки; β-каротен 25.000 МЕд, коэнзим Q10, 30мг, ліпоат, 200 мг

Примечание. Коррекцию низкого уровня АК обычно нормализуют путем введения сбалансированного питания или назначения смеси незаменимых АК

Интересно знать:

* Аминоадипиновая кислота является промежуточным метаболитом обмена лизина

** D- α -аминомасляная кислота является D-изомером α -аминомасляной кислоты. L-форма этой АК используется в биосинтезе трипептида - аналога глутатиона, в котором цистеиновая группа замещена L-2-аминобутиратом (впервые был открыт и выделен из телячьей линзы). D-форма этой АК является субстратом для D-амино-оксидазы кислоты. Существует вероятность того, что D-форма этой АК бактериального происхождения) (<http://www.hmdb.ca/metabolites/>).

*** Этаноламин - аминоспирт с аммиачным запахом; широко распространен в биологических тканях и является компонентом лецитина.

**** фосфосерин - эфир фосфорной кислоты и серина.

***** Саркозин - N-метил производное глицина. Саркозин метаболизируется до глицина при участии фермента саркозиновой дегидрогеназы.

***** Ансерин — дипептид - L-N- β -аланил-3-метил-гистидин; карнозин - дипептид аминокислот β -аланина и гистидина (β -аланил-L-гистидин): 3-аминобутановая кислота принадлежит к семейству β аминокислот и производных.

***** 3-Нитротирозин формируется в после воздействия нитрирующих и/или нитрующих агентов; белки актин и миозин содержат остатки гистидина, метилированного на стадии посттрансляционной модификации. При расщеплении этих белков образуется 3-метилгистидин, который дальше не разрушается. Количество метилгистидина в моче служит мерой деградации мышечных белков.

Гипохлоргидрия значительно ингибирует пищеварительную активность. Низкие уровни незаменимых АК также могут указывать на неадекватное функцию панкреатических ферментов. Поскольку цинк является кофактором некоторых пищеварительных ферментов, дефицит этого элемента может влиять на уровень АК крови. Специфические витамины и микроэлементы являются кофакторами обменных процессов и необходимы для метаболизма АК. Изменения в профиле АК могут быть следствием дефицита нутриентов, используемых в качестве кофакторов в метаболических реакциях.

Как отмечалось ранее, АК транспортируются через различные мембраны с помощью транспортеров. Для понимания природы дефекта, который может повлиять на любой из транспортеров, необходимо анализировать различные жидкости организма, клетки или ткани. Однако первичными образцами для исследования нарушений метаболизма АК являются образцы крови, полученные натощак.

Девять АК не синтезируются тканями человека. Их называют «незаменимыми» или «эссенциальным», так как они поступают в организм с диетическими источниками. В тканях человека АК являются источниками азота в метаболических реакциях. Гистидин является незаменимой АК у новорожденных. Взрослые обычно приобретают способность его синтезировать. Уровень АК крови натощак является отражением гомеостатического баланса, следующего после всасывания белка, поступившего с пищей. При проведении опытов на экспериментальных животных АК крови имеют характерный профиль (количество потребляемого белка можно контролировать). Уровень незаменимых АК (ТРЕ, МЕТ, ТРП, ФЕН, ТИР, ВАЛ, ИЗЕ, ЛЕЙ и ЛИЗ) снижался при уменьшении количества белка, поступающего с пищей от 21 % до 6 % от потребления. Уровень всех АК с разветвленной цепью коррелирует со снижением диетического белка. Для заменимых АК увеличение их уровня в результате пониженного потребления белка. Полученные результаты обусловлены повышенной мобилизацией АК из мышц для удовлетворения критических потребностей. По литературным

данным, в метаболическом профиле крови пациентов с синдромом мальабсорбции и мышечным истощением отмечали дефицит белка и АК: снижение уровня альбумина и общего белка. О дефиците белка судили при оценке профиля АК крови, в котором отмечали снижение уровней всех незаменимых АК, так же как и некоторых заменимых АК. В дополнение, отмечали непропорционально низкие уровни АРГ и ЛИЗ по отношению к ЛЕЙ [1,4,15,19]. Важным предположением является тот факт, что функция тканей критически зависит от поступления АК, воздействуя на оптимальную концентрацию и баланс незаменимых АК.

2.3. Незаменимые аминокислоты

ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ – АК с разветвленной цепью являются незаменимыми АК, которые поступают в организм с пищей (не синтезируются в организме человека). Они используются для синтеза белка и не являются предшественниками медиаторов или желчных кислот, подобно некоторым другим АК. ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ, включаются в состав различных белков, которые служат ферментами, переносчиками и структурными компонентами клеток. АК с разветвленной цепью составляют 35% мышечных белков. При напряженной мышечной работе, они служат источником энергии, приводя к повышению уровня АЛА и ГЛУ с последующим их преобразованием в печени и почках в глюкозу. Углеродные скелеты ИЛЕ и ВАЛ катаболизируются сукцината – ключевого промежуточного метаболита цикла Кребса. В мозге АК с разветвленной цепью играют роль в контроле АК – дериватов метаболизма нейротрансмиттеров, конкурируя с другими большими нейтральными АК (например, ТРП). Так как эти АК обладают свойством запасания азота (nitrogen-sparing effects), они используются в период восстановительного лечения в послеоперационном периоде, после травм, перенесенного сепсиса и др. Стресс-индуцированное снижение синтеза белка мышцами можно корректировать приемом сбалансированных смесей АК с разветвленной цепью [8].

Витамин В₆ (пиридоксин) является кофактором, необходимым для метаболизма АК. В виде пиридоксаль-5-фосфата, он используется в реакциях

трансаминирования. Повышение уровня АК с разветвленной цепью в крови может указывать на дефицит витамина В₆, так как пиридоксаль-фосфат зависимый фермент катализирует начальный этап метаболизма ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ. При недостаточном количестве кофакторов нарушается метаболизм АК с разветвленной цепью, которая приводит к повышению их экскреции с мочой. Для последующего метаболизма этой группы АК необходимы цинк, кофермент А, пантотеновая кислота (В₅). Кроме того, для работы фермента, который окисляет кетоформы АК с разветвленной цепью, необходимы тиамин, рибофлавин, ниацин, и липоевая кислоты. Этот фермент очень активен в скелетных мышцах, которые являются первичными сайтами катаболизма АК с разветвленной цепью. Повышение уровня ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ при нормальном потреблении белка, является маркером дефицита этих витаминов. Хронический дефицит АК с разветвленной цепью влечет за собой снижение их уровня в крови и моче и, как следствие, потерю мышечной массы и снижение синтеза белка, иногда проявляясь аллопецией [2].

Уровни АК с разветвленной цепью увеличиваются при сахарном диабете 2-го типа (неинсулин-зависимом диабете). Постоянное повышение уровней ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ, может быть причиной диабетической микроангиопатии. Наибольшее количество АК с разветвленной цепью находится в скелетных мышцах. Их ассимиляция с белком является зависимой от инсулин подобного фактора роста (IGF-1). Как инсулин, так и IGF-1 ответственные за метаболизм скелетных мышц: IGF-1 стимулирует синтез белка, в то время как инсулин ингибирует катаболизм белка, стимулируя потребление АК. В результате, как уменьшение уровня IGF-1, так и снижение чувствительности, к инсулину приводит к повышению в крови уровня АК с разветвленной цепью.

Избыточное потребление с пищей может приводить к повышению уровня этих АК в крови и моче. Концентрация ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ в крови будет зависеть от количества потребленного белка и поступления витамина В₆. Витамин В₆ удовлетворяет метаболические потребности, предопределенные большим количеством АК. Избыточное введение АК с разветвленной цепью в норме

приводит к увеличению частоты дыхания, снижению асфиксии (sleep apnea) у взрослых, и стимулирует всасывание пищи, при переходе к нормальному питанию пациентов после парентерального.

Валин (ВАЛ) – химическая формула: $C_5H_{11}NO_2$; средняя молекулярная масса 117,14; IUPAC название: 2-амино-3-метилбутановая кислота.

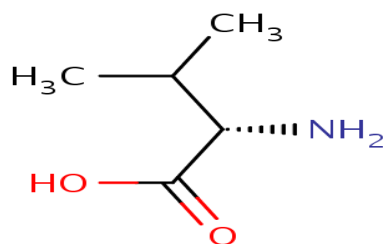


Рис. 1. Структурная формула валина [10]

Химическая таксономия: алифатические ациклические соединения, α -аминокислоты, АК с разветвленной цепью; заместители: карбоновые кислоты; первичные алифатические амины (алкиламин).

Биологическая функция: компонент биосинтеза ВАЛ, ЛЕЙ, ИЛЕ; компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, незаменимая АК/ Клеточная локализация: экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии. Тканевая локализация: фибробласты, эпидермис [10]. Метаболический путь: катаболизм ВАЛ, ЛЕЙ, ИЛЕ; метаболизм пропаноата. В метаболизме принимают участие 6 ферментов и 1 транспортер.

ВАЛ – алифатическая α -АК, одна из 20 протеиногенных АК, входит в состав практически всех известных белков. Названо в честь растения валерианы. Кодоны ВАЛ: ГУУ, ГУЦ, ГУА и ГУГ. Это незаменимая АК классифицируется как неполярная. Вместе с ЛЕЙ и ИЛЕ, ВАЛ является АК с разветвленной цепью. Эти три АК имеют решающее значение для жизни человека и особенно участие в обмене энергии, стрессе и мышечном метаболизме. Введение АК с разветвленной цепью в терапевтических целях, перорально и внутривенного, в норме и при патологических состояниях человека имеет большие перспективы. Несмотря на структурное сходство

указанных АК, разветвленные АК имеют различные метаболические пути: ВАЛ принимает участие в метаболизме углеводов, ЛЕЙ – исключительно липидов; ИЛЕ – как углеводов, так и липидов. Потребность в этих незаменимых АК в организме человека различна: 12 мг/кг, 14 мг/кг и 16 мг/кг для ВАЛ, ЛЕЙ и ИЛЕ соответственно. Кроме того, эти АК имеют различные симптомы дефицита. Дефицит ВАЛ проявляется неврологическими нарушениями, в то время как дефицит ИЛЕ сопровождается мышечным тремором.

Известны многие виды врожденных нарушений метаболизма АК с разветвленной цепью и сопровождаются различными нарушениями. Наиболее распространенной формой является болезнь с запахом мочи кленового сиропа, при которой отмечают характерным запахом мочи. Другие аномалии связаны с широким спектром симптомов, таких как умственная отсталость, атаксия, гипогликемия, спинальная мышечная атрофия, сыпь, рвота и мышечные судороги. Большинство ошибок метаболизма АК с разветвленной цепью лечат путем ограничения указанных АК в диете и введением биотина (10 мг в день).

Снижение уровня АК с разветвленной цепью отмечают у пациентов с заболеваниями печени, такими как гепатит, печеночная кома, цирроз печени, внепеченочная желчная атрезия или портокавальный шунт; уровень ароматических АК – ТИР, ТРП и ФЕН, а также МЕТ при этих состояниях увеличиваются. АК с разветвленной цепью, вероятно, конкурируют с ароматическими АК при поглощения в головном мозге. Введение АК с разветвленной цепью с витамином В₆ и цинком нормализуют соотношение АК с разветвленной цепью/ароматические АК [9]. При серповидно-клеточной анемии, L-глутаминовая кислота (ГЛУ) в 6-й позиции β-цепи глобина замещена на L-ВАЛ. Поскольку ВАЛ имеет неполярный радикал, располагающийся на поверхности молекулы, в результате этой замены растворимость гемоглобина резко падает. ВАЛ служит одним из исходных веществ при биосинтезе пантотеновой кислоты – витамина В₅ и пенициллина.

Изолейцин (ИЛЕ) – алифатическая α-АК, (C₆H₁₃NO₂), химическая формула $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$; входит в состав всех природных

белков; средняя молекулярная масса 131.17; IUPAC название: (2S,3S)-2-амино-3-метилпентановая кислота.

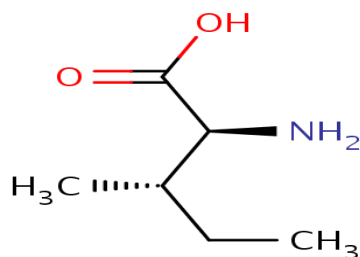


Рис. 2. Структурная формула изолейцина [10]

Химическая таксономия: алифатические ациклические соединения, α-аминокислоты, аминокислоты с разветвленной цепью; карбоновые кислоты, первичные алифатические амины (алкиламины). Биологическая функция: компонент биосинтеза ВАЛ, ЛЕЙ, ИЛЕ; компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, незаменимая АК.

Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии. Метаболический путь: катаболизм ВАЛ, ЛЕЙ и ИЛЕ [18]. В метаболизме принимают участие 6 ферментов и 1 транспортер.

ИЛЕ является незаменимой АК (не может синтезироваться в организме человека и должен поступать с пищей). Участвует в энергетическом обмене. При недостаточности ферментов, катализирующих декарбоксилирование ИЛЕ, возникает кетоацидоз. Кодоны изолейцина AUU, AUC и AUA.

ИЛЕ относится к числу гидрофобных АК, имеет углеводородную боковую цепь. Характерной особенностью боковой цепи ИЛЕ является её хиральность (второй такой АК является ТРЕ). У ИЛЕ существует четыре стереоизомера, включая два возможных диастереоизомера L- ИЛЕ. В природе ИЛЕ присутствует лишь в одной энантиомерной форме — (2S,3S)-2-амино-3-метилпентановая кислота.

Лейцин (ЛЕЙ) – АК названа от «leukos» (греч.) – «белый» – алифатическая АК с химической формулой $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; незаменимая АК. Кодоны ЛЕЙ: UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, и CUG. Средняя

молекулярная масса 131.17; IUPAC название: (2S)-2-амино-4-метилпентановая кислота.

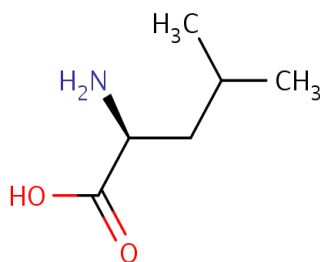


Рис. 3. Структурная формула лейцина [10]

Химическая таксономия: алифатические ациклические соединения, D-аминокислоты, α-аминокислоты, аминокислоты с разветвленной цепью; заместители: карбоксильные кислоты, первичные алифатические амины (алкиламины). Биологическая функция: компонент белка, незаменимая АК. Клеточная локализация: экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии. Метаболический путь: катаболизм ВАЛ, ЛЕЙ и ИЛЕ. В метаболизме принимают участие 7 ферментов и 1 транспортер.

ЛЕЙ – одна из самых распространенных АК в тканях млекопитающих. Он является регулятором метаболизма белка, подавляя деградацию мышечного белка. Уровень незаменимых АК крови имеет тенденцию к снижению при избытке ЛЕЙ, поскольку уменьшается скорость высвобождения АК из скелетных мышц. Входит в состав всех природных белков, применяется для лечения болезней печени, анемий и других заболеваний.

ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ включаются в состав различных белков, которые являются ферментами, переносчиками и структурными компонентами клеток. Учитывая, что эти АК выполняют функцию удерживания азота, их можно использовать в комплексе восстановительного лечения в послеоперационном периоде, после перенесенных травм, сепсиса и др. Снижение уровней АК с разветвленной цепью (ЛЕЙ, ИЛЕ и ВАЛ) может быть обусловлено низкобелковой диетой).

Лизин (ЛИЗ) – алифатическая АК с выраженными свойствами основания; незаменимая АК, входит в состав белков. Химическая формула: $C_6H_{14}N_2O_2$; средняя молекулярная масса 146,19; IUPAC название: (2S)-2,6-диаминогексановая кислота.

ЛИЗ необходим для роста, восстановления тканей, образования антител, гормонов, ферментов, альбуминов.

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; первичные алифатические амины (алкиламин), полиамин.

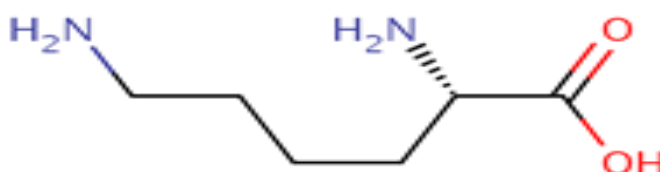


Рис. 4. Структурная формула лизина [10]

Биологическая функция: компонент биосинтеза ЛИЗ; компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, незаменимая АК. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии, ядро, пероксисомы. Метаболический путь: катаболизм ЛИЗ, метаболизм биотина, синтез карнитина. В метаболизме принимают участие 25 ферментов.

Коллаген, белок соединительной ткани, является устойчивым и усилен за счет содержания большого процента ЛИЗ, который используется для формирования перекрестных связей. ЛИЗ коллагена часто модифицируется в гидроксизин, который является маркером снижения плотности костей в результате обновления коллагена при резорбции кости. ЛИЗ также является предшественником синтеза карнитина [2,4,15].

Эта АК оказывает противовирусное действие, особенно в отношении вируса герпеса и острых респираторных инфекций. Исследования, проведенные

на животных, показали, что недостаток лизина вызывает иммунодефицитные состояния. ЛИЗ принимает участие в энергетическом обмене, играет важную роль в образовании карнитина и поддержании сердечной мышцы в норме. При приеме 5000 мг ЛИЗ в присутствии кофакторов (витамина С, тиамин (В₁) и железа) уровень карнитина, который образуется в результате метаболизма, увеличивается в 6 раз. ЛИЗ участвует в формировании коллагена и восстановлении тканей. Его применяют для лечения в восстановительном периоде после операций и спортивных травм. ЛИЗ улучшает усвоение кальция из крови и транспорт его в костную ткань, поэтому он может являться неотъемлемой частью программы лечения и профилактики остеопороза.

Совместный прием ЛИЗ и АРГ (1-2 г в сутки) повышает иммунный ответ организма, в частности, количество и активность нейтрофилов. ЛИЗ усиливает действие АРГ. ЛИЗ понижает уровень триглицеридов в сыворотке крови, в сочетании с ПРО и витамином С предупреждает образование липопротеинов, вызывающих закупорку артерий, следовательно, может рекомендоваться при лечении сердечно-сосудистых заболеваний. ЛИЗ замедляет повреждение хрусталика, особенно при диабетической ретинопатии. Дефицит ЛИЗ неблагоприятно сказывается на синтезе белка, что приводит к утомляемости, усталости и слабости, плохому аппетиту, замедлению роста и снижению массы тела, неспособности к концентрации, раздражительности, кровоизлияниям в глазное яблоко, потере волос, анемии и проблемам в репродуктивной сфере. Синтетический ЛИЗ применяют для обогащения кормов и пищевых продуктов.

Метионин (MET), $C_5H_{11}NO_2S$, – алифатическая серосодержащая α -АК, бесцветные кристаллы со специфическим неприятным запахом, растворимые в воде, является незаменимой АК. Средняя молекулярная масса 149,21; IUPAC название: (2S)-2-амино-4-(метилсульфанил) бутановая кислота.

Содержится во многих белках и пептидах (метионин-энкефалин, метионин-окситоцин). Значительное количество MET содержится в казеине.

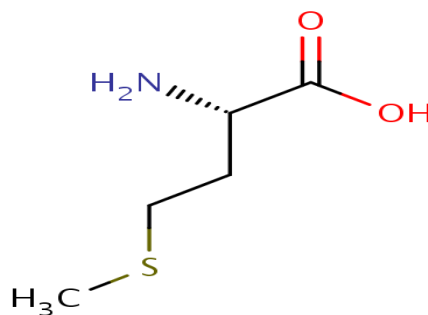


Рис. 5. Структурная формула метионина [10]

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; первичные алифатические амины (алкиламин), тиоэфир. Биологическая функция: компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, метаболизма ГЛИ, СЕР и ТРЕ, компонент метаболизма гистидина (ГИСТ), компонент метаболизма МЕТ, метаболизма селено-АК, компонент метаболизма ТИР, незаменимая АК, продукт выделения. Клеточная локализация: экстрацеллюлярный матрикс. Метаболический путь: метаболизм бетаина, МЕТ, биосинтез спермидина и спермина, метаболизм ГЛИ и СЕР. В метаболизме принимают участие 23 фермента и 1 транспортер.

МЕТ – незаменимая АК, которая является предшественником в метаболизме серосодержащих АК. Низкий уровень МЕТ может неблагоприятно влиять на этот важный путь метаболизма и может наблюдаться при низкобелковой диете. МЕТ – одна из АК, которая наиболее часто является дефицитной, так как в низко качественных источниках белка содержание МЕТ незначительно. Концентрация МЕТ крови является отображением полной утилизации ЦИС тканями организма в реакциях синтеза. Диетическое потребление танинов, найденных в овощах, увеличивает скорость утилизации МЕТ.

Нарушением метаболизма МЕТ присуща разнообразная симптоматика. Реакции метаболизма являются витамин-зависимыми (В₆, В₁₂, и фолаты). Субклинические симптомы включают чувствительность к химическим аллергенам, головные боли, быструю утомляемость глаз, мышечную слабость,

ломкость волос, облысение, миопию, умеренную миопатию, остеопороз и кардиоваскулярные нарушения. У пациентов с циррозом печени отмечают снижение уровней цистеина, глутатиона и альбумина в крови. В дополнение, у этих пациентов отмечают повышение уровня МЕТ при высокобелковой диете и снижение уровня ТАУ.

При назначении МЕТ пациентам, у которых АК поступают в организм в достаточном количестве (нормальный уровень МЕТ в крови), увеличивается образование сердечного фактора риска – гомоцистеина, если дополнительно не назначать витамины, необходимые для утилизации гомоцистеина (фолаты, В₁₂ и В₆). Эта реакция является базовой, в ответ на нагрузку МЕТ (50 мг на кг веса тела), который предшествует измерению уровня гомоцистеина крови, что позволяет выявить повышенную потребность в витаминах. Уровень МЕТ повышается при нарушениях функции печени, например при циррозе. Снижение экскреции МЕТ отмечали у пациентов после резекции желудка, илеоцекальной резекции, и при наличии патологической флоры в кишечнике.

МЕТ можно использовать при заместительной терапии хелатных соединений и при отравлении кобальтом.

МЕТ служит в организме донором метильных групп (в составе S-аденозил-метионина) при биосинтезе холина, адреналина и др., а также источником серы при биосинтезе ЦИС. МЕТ является пищевой незаменимой АК, которая необходима для нормального роста и развития человека, других млекопитающих и птиц различных видов. МЕТ является субстратом для синтеза белка, промежуточным продуктом в реакциях трансметилирования, выступает в качестве основного донора метильных групп в естественных условиях, в том числе метильных групп для промежуточных продуктов ДНК и РНК. МЕТ является метильным акцептором для 5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеин метил трансферазы (метионин-синтазы), единственной реакции, которая используется для преобразования этой формы фолиевой кислоты, а также метильный акцептор в катаболизме бетаина. МЕТ также необходим для синтеза ЦИС, так как является метаболическим предшественником ЦИС. Атом

серы с МЕТ переносится на ЦИС; углеродный скелет МЕТ переносится на серин. Существует явный консенсус в отношении потребности в нормальном поступлении серосодержащих АК. В соответствии с рекомендациями ВООЗ, потребность в МЕТ составляет 13 мг/кг в сутки для здоровых взрослых. Это количество составляет примерно двухкратное количество, которое содержится в искусственных схемах питания. При заболеваниях или после травмы, потребность в МЕТ, ЦИС и ТАУ может увеличиваться. При врожденном дефиците фермента, недоношенности или снижении функции печени, может наблюдаться гиперметионинемия или гипергомоцистеинемия; введение серосодержащих АК может быть безопасным в количествах, превышающих минимальную рекомендуемую суточную дозу в 2-3 раза. Помимо некоторых специфических состояний (например, отравлений ацетаминофеном) польза введения добавок, содержащих серосодержащие АК пока не установлена [16].

МЕТ, как известно, усугубляет психопатологические симптомы у больных шизофренией. Доказательства подобных эффектов у здоровых лиц отсутствуют. Роль МЕТ в качестве предшественника гомоцистеина является самой значительной причиной для изучения. При введении "нагрузочных доз" МЕТ (0,1 г/кг) резко увеличивался уровень плазменного гомоцистеина, что использовали в качестве индекса восприимчивости к сердечно-сосудистым заболеваниям. Хотя эта процедура приводит к сосудистой дисфункции, изменения являются обратимыми. Тем не менее, превышение дозы в 10 раз, может привести к летальному исходу. Долгосрочные исследования на взрослых не показали каких-либо неблагоприятных последствий при умеренном колебании пищевого МЕТ, но потребление выше, чем в 5 раз от нормального уровня приводит к повышению уровня гомоцистеина. Это влияние МЕТ на гомоцистеин и сосудистую функцию модулируются введением кофакторов - витаминов В₆, В₁₂, С и фолиевой кислоты. У младенцев потребление МЕТ в количествах, превышающих норму в 2 - 5 раз приводило к нарушению роста и чрезвычайно высокому уровню МЕТ в плазме, но не наблюдалось каких-либо неблагоприятных долгосрочных последствий. [16].

Треонин (TRE), $C_4H_9NO_3$.— гидрокси АК; средняя молекулярная масса 119,12; IUPAC название: (2S,3R)-2-амино-3-гидроксибутановая кислота, α -амино- β -гидроксимасляная кислота. Биологическая функция: компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, компонент метаболизма ГЛИ, СЕР и TRE, незаменимая АК. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс.

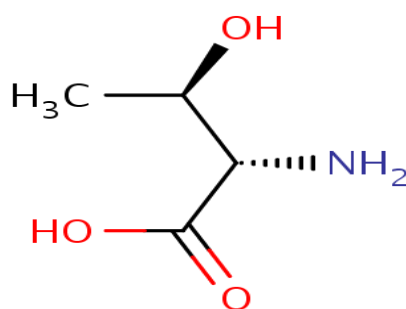


Рис. 6. Структурная формула треонина [10]

Метаболический путь: метаболизм ГЛИ и СЕР, деградация TRE и 2-оксобутаноата. В метаболизме принимают участие 8 ферментов и 1 транспортер.

Молекула TRE содержит два хиральных центра, что обуславливает существование четырёх оптических изомеров: L- и D-TRE (3D), а также L- и D-аллотреонина (3L). L- TRE вместе с 19 другими протеиногенными АК участвует в образовании природных белков. Для человека TRE является незаменимой АК. Суточная потребность в TRE для взрослого человека составляет 0,5 г; для детей — около 3 г. Химическая таксономия, заместители: 1,2-аминоспирт, бета-гидрокси кислота, карбоновая кислота, первичный алифатический амин (алкиламин), вторичный спирт.

TRE синтезируется бактериями и растениями из аспарагиновой кислоты (АСП) через стадию образования гомосерин-О-фосфата.

Среди незаменимых АК, уровень которых в крови снижается в результате дефицита пищевого белка, уровень TRE остается неизменным. Заменимые АК

крови повышаются в ответ на пищевой дефицит, главным образом, за счет увеличения выхода АК из скелетных мышц. ТРЕ не включается в этот процесс. Эти отношения ТРЕ с другими незаменимыми АК позволяют распознавать происхождение изменений уровня АК крови. Снижение уровня незаменимых АК, за исключением ТРЕ, указывает на неадекватное усвоение диетического белка. Это может быть результатом низкого потребления белка или недостаточного количества пищеварительных факторов. В противовес, снижение уровня ТРЕ крови при нормальном уровне других незаменимых АК, является результатом катаболизма, вероятно, в сочетании с увеличением уровня кортизола и снижением анаболических факторов, таких как инсулин-подобный фактор роста и тестостерон. Прием ТРЕ в дозе 7,5 г/сутки повышает его уровень в крови до верхнего нормального диапазона. Хотя ТРЕ может использоваться при образовании ГЛИ, его повышения в крови не отмечают при дополнительном введении ТРЕ. Метаболические пулы ГЛИ и СЕР имеют тенденцию к истощению в реакциях биосинтеза. Так как ТРЕ является потенциальным источником ГЛИ и СЕР, снижение уровней этих трех АК в крови указывает на нарушение детоксикации, репарации тканей и глюконеогенеза. Хроническое снижение их уровней может приводить к гипогликемическим симптомам: утомляемости, головной боли, беспокойности и шаткости между приемами еды. При выявлении низкого уровня ТРЕ и для подтверждения вышеупомянутых нарушений, необходимо проверить потенциально низкие или низко нормальные уровни ГЛИ и СЕР. Дополнительное введение ТРЕ между приемами пищи, так же, как и АК с разветвленной цепью, позволит избежать вышеупомянутых осложнений. При множественном склерозе, дополнительный прием ТРЕ является потенциально не седативным, нетоксичным методом лечения спастичности. Эффект обусловлен постсинаптическим ингибированием рефлекторной дуги спинного мозга.

ТРЕ является незаменимой АК в организме человека. Тяжелый дефицит ТРЕ вызывает неврологические дисфункции и хромоту у экспериментальных

животных. ТРЕ является иммуностимулятором, который способствует росту вилочковой железы. ТРЕ, вероятно, может способствовать функции иммунной защиты клеток. Эту АК полезно использовать в лечении генетических дефектов: спастичности и рассеянного склероза (в дозировке 1 г в день). ТРЕ в высоких концентрациях отмечают в мясных продуктах, твороге и зародышах пшеницы [9]. Содержание ТРЕ в большинстве детских молочных смесей, которые в настоящее время присутствуют на рынке, на 20 % выше, чем концентрация ТРЕ в материнском молоке. В связи с его высокой концентрацией, содержание в плазме крови недоношенных детей, которых кормили этими формулами, в два раза выше, чем у детей, которые находились на грудном вскармливании.

Катаболизм ТРЕ у млекопитающих, по-видимому, обусловлен в первую очередь (на 70-80%) активностью дегидрогеназы ТРЕ (ЕС 1.1.1.103), которая окисляет ТРЕ в 2-амино-3-оксобутират с образованием ГЛИ и ацетил-СоА, в то время как ТРЕ дегидратаза (ЕС 4.2.1.16), которая катаболизирует ТРЕ в 2-оксобутират и аммиак, значительно менее активна. Повышение концентрации ТРЕ в плазме приводит к накоплению ТРЕ и ГЛИ в головном мозге, что влияет на баланс нейротрансмиттеров, может оказывать влияние на развитие мозга в раннем послеродовом периоде [6, 9].

2.4. Нейромедиаторы и их предшественники

Ароматические АК – ФЕН, ТИР и ТРП являются прекурсорами «биогенных аминов», функция которых широко представлена в организме человека. Вышеуказанные АК преобразуются в надпочечниках, кишечнике и нервной ткани при участии ферментов в катехоламины и серотонин.

Триптофан (ТРП), $C_{11}H_{12}N_2O_2$ – ароматическая α -АК; средняя молекулярная масса 204,22; IUPAC название: (2S)- 2-амино-3-(1H-индол-3-ил) пропановая кислота.

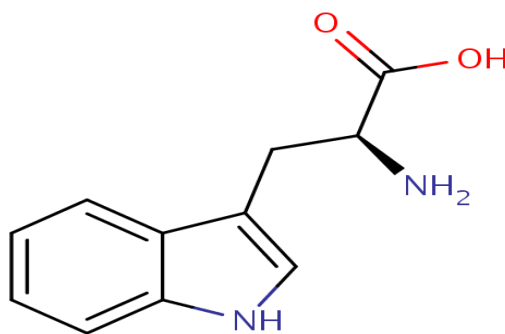


Рис.7. Структурная формула триптофана [10]

Существует в двух оптически изомерных формах — L и D и в виде рацемата (DL). L-ТРП является протеиногенной АК и входит в состав белков всех известных живых организмов. Относится к ряду гидрофобных АК, поскольку содержит ароматическое ядро индола. Участвует в гидрофобных и стэкинг-взаимодействиях.

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; первичные алифатические амины (алкиламин), индол, пиррол, триптамин, дериваты индолил карбоксиловой кислоты. Биологическая функция: компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, компонент биосинтеза ГИСТ, компонент биосинтеза индола и алкалоидов ипекакуаны, компонент метаболизма ФЕН, ТРП, ТИР, незаменимая АК. Клеточная локализация: экстрацеллюлярный матрикс. Метаболический путь: метаболизм ТРП. В метаболизме принимают участие 9 ферментов и 2 транспортера.

ТРП является незаменимой АК, предшественником серотонина. Серотонин является нейромедиатором мозга, фактором свертывания тромбоцитов и нейрогормоном. В метаболизме ТРП в серотонин принимают участие кофакторы (витамин В₆, ниацин и глутатион).

Около 10% общего количества ТРП, которое поступает с едой, обычно используется для синтеза серотонина. ТРП крови является непрямым маркером нарушений синтеза серотонина в мозге. Нейротрансмиттеры образуются в мозге и в хромафинных клетках тонкого кишечника, где играют роль в регуляции сократительной способности. Указано, что ТРП помогает в индукции сна у

людей, которые страдают бессонницей в результате увеличенного образования серотонина в мозге. Отмечают повышения уровня ТРП в крови в результате сниженного его использования при недостаточном сне. ТРП широко использовали для лечения депрессии, кроме того, он может усиливать терапевтическое действие трициклических антидепрессантов. Снижение уровня ТРП в крови отмечали у пациентов с депрессивными состояниями. Степень снижения коррелировала со степенью депрессии. Использование ТРП является эффективным средством против депрессии.

Никотиновая кислота является важным метаболитом ТРП. Диета с высоким содержанием кукурузы или другие ТРП-дефицитные диеты могут вызвать пеллагру, которая представляет собой болезнь дефицита ниацина и ТРП с симптомами дерматита, диареи и деменции. Врожденные нарушения метаболизма ТРП проявляются при избыточном образовании серотонина опухолями (карциноид). Болезнь Хартнупа - заболевание, при котором отмечают нарушение всасывания ТРП и других АК. Некоторые нарушения, связанные с избытком ТРП в крови могут приводить к развитию умственной отсталости. Оценка дефицита ТРП осуществляется путем изучения его уровня в крови, в также экскреции метаболитов ТРП с мочой. Исследование крови может быть наиболее чувствительным тестом. Повышенная экскреция фрагментов ТРП с мочой коррелирует с повышенной деградацией ТРП, которую отмечают при оральной контрацепции, депрессии, умственной отсталости, гипертонии и тревожных состояниях. Потребность в ТРП и количестве потребляемого белка с возрастом уменьшается. Минимальная суточная потребность взрослых составляет 3 мг/кг/день или около 200 мг в день. Чашка нежирного творога содержит 300 мг ТРП, а курица и индейка содержат до 600 мг на килограмм [8].

Фенилаланин (ФЕН) – ароматическая альфа-АК, $C_9H_{11}NO_2$; средняя молекулярная масса 165,189; IUPAC название: (2S)-2-амино-3-фенилпропионовая кислота.

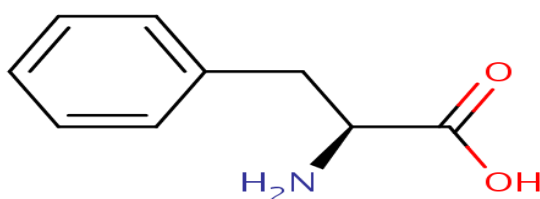


Рис.8. Структурная формула фенилаланина [10]

ФЕН существует в форме двух оптических изомеров L и D и в виде рацемата (DL). По химическому строению соединение можно представить как АЛА, у которой один из атомов водорода замещён фенольной группой.

L-ФЕН является протеиногенной АК и входит в состав белков всех известных живых организмов. Участвуя в гидрофобных и стэкинг-взаимодействиях, ФЕН играет значительную роль в фолдинге и стабилизации белковых структур, является составной частью функциональных центров.

Химическая таксономия, заместители: амфетамин или производные, карбоновые кислоты; фенилэтиламин, первичный алифатический амин (алкиламин). Биологическая функция: компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, компонент метаболизма ФЕН, биосинтеза ФЕН, ТИР и ТРП, компонент метаболизма ТИР, незаменимая АК. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии [10].

Метаболический путь: метаболизм ФЕН и ТИР. В метаболизме принимают участие 17 ферментов и 2 транспортера.

ФЕН является незаменимой АК и предшественником ТИР. Подобно ТИР, он является предшественником катехоламинов в организме (тирамина, допамина, эpineфрина и норэpineфрина). Психотропные препараты (мескалин, морфин, кодеин, папаверин) также содержат ФЕН. ФЕН является прекурсором нейромедиаторов – катехоламинов (адреналин-подобных веществ). Отмечается высокая концентрация ФЕН в мозге человека и плазме крови. В качестве кофакторов для нормального метаболизма ФЕН необходимы биоптерин, железо, ниацин, витамин В₆, медь и витамин С. В среднем взрослому человеку

необходимо 5 г ФЕН в сутки. Продукты с высоким содержанием белка, такие как мясо, творог и зародыши пшеницы содержат ФЕН в высоких концентрациях. Новым диетическим источником ФЕН являются искусственные подсластители, содержащие аспартам, поэтому следует исключать продукты, содержащие аспартам больным фенилкетонурией (ФКУ) и беременным женщинам. При ФКУ, которая обусловлена генетической ошибкой метаболизма ФЕН, отмечают повышение уровня указанной АК в плазме/сыворотке крови до 400 раз выше нормы. Легкая ФКУ может быть причиной гиперактивности, проблем с обучением, и других нарушений развития у детей.

ФЕН может являться эффективным обезболивающим. Его использование при болезни Паркинсона и предменструальном синдроме может усилить воздействие акупунктуры и электрической чрескожной стимуляции нерва [9]. ФЕН и ТИР, подобно L-допа, могут оказывать катехоламиновый эффект. Диеты с низким содержанием ФЕН использовали при определенных видах рака со смешанными результатами. Некоторые опухоли используют большее количество ФЕН (особенно, мелатонин продуцирующие опухоли - меланомы). Один их методов лечения заключается в том, чтобы исключить эту АК из рациона, т. е. соблюдение диеты как при ФКУ. Другая стратегия основана на увеличении конкурирующих АК: ТРП, ВАЛ, ИЛЕ и ЛЕЙ, за исключением ТИР [9].

2.5. Особенности обмена аминокислот в детском возрасте

Для детского возраста незаменимыми также являются АРГ и ГИС

АРГ, $C_6H_{14}N_4O_2$. – алифатическая основная α -АК; средняя молекулярная масса 174,201; IUPAC название: (2S)-2-амино-5-[(диаминометилиден)амино] пентановая кислота.

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; гуанидины, полиамины, первичные алифатические амины (алкиламин).

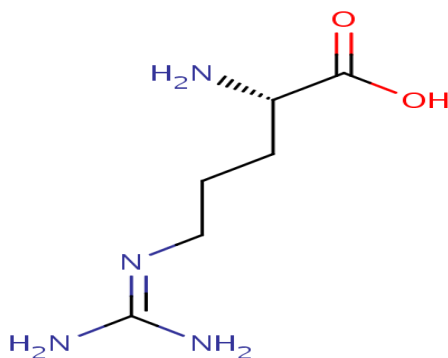


Рис.9. Структурная формула аргинина [10].

Биологическая функция: компонент метаболизма АЛА и АСП, компонент биосинтеза аминоксил-тРНК, компонент метаболизма АРГ и ПРО; метаболизма ГЛИ, СЕР и ТРЕ, незаменимая АК, полунезаменимая АК, продукт деградации. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии. Метаболический путь: цикл мочевины; метаболизм АРГ и ПРО; метаболизм ГЛИ и СЕР. В метаболизме принимают участие 25 ферментов.

АРГ оптически активен, существует в виде L- и D- изомеров. L-АРГ входит в состав пептидов и белков, особенно высоко содержание АРГ в основных белках — гистонах и протаминах (до 85 %).

АРГ является незаменимой АК, которая является физиологически активной в L-форме. У млекопитающих, АРГ формально классифицируется как полунезаменимая или условно незаменимая АК, в зависимости от стадии развития и состояния здоровья человека. Младенцы не могут эффективно синтезировать АРГ, что делает его незаменимой для новорожденных. Взрослые способны синтезировать АРГ в цикле мочевины.

АРГ может считаться основной АК, так как часть боковой цепи ближайшая к осевой цепи, длинная, углеродсодержащая и гидрофобная, а конец боковой цепи представляет собой сложную гуанидиновую группу. При $pK_a=12,48$ гуанидиновая группа имеет положительный заряд в нейтральных, кислых и большинстве основных сред. Из-за сопряжения между двойной связью неподеленной пары азота, положительный заряд делокализован. Эта группа способна образовывать множественные водородные связи. L-АРГ является АК, которая выполняет большое количество функций в организме.

АРГ принимает участие в утилизации аммиака, образовании таких соединений, как окись азота, креатин, L-ГЛУ, L-ПРО; может преобразовываться при необходимости, в глюкозу и гликоген. В больших дозах, L-АРГ также стимулирует высвобождение гормонов гормона роста и пролактина. АРГ является известным индуктором mTOR (мишени рапамицина у млекопитающих) и отвечает за индуцирование синтеза белка при метаболизме mTOR. mTOR ингибирование рапамицина частично снижает АРГ-индуцированной синтез белков [11]. Катаболические состояния, такие как сепсис, травмы и рак сопровождаются увеличением использования АРГ, которое может превышать его образование в организме в норме, что приводит к истощению АРГ. АРГ также активирует аденозинмонофосфат киназу, которая затем стимулирует окисление жирных кислот и мышечной поглощение глюкозы скелетными мышцами, увеличивая тем самым секрецию инсулина панкреатическими бета-клетками [5].

АРГ содержится в растительных и животных белках, таких как молочные продукты, мясо, птица, рыба и орехи. Соотношение L-АРГ к ЛИЗ также является важным – в соевых и других растительных белках содержится L-АРГ больше, чем в животных источниках белка [9].

Гистидин (ГИС), $C_6H_9N_3O_2$, средняя молекулярная масса 155,15; IUPAC название: (2S)-2-амино-3-(1H-имидазол-4-ил) пропионовая кислота. L-ГИС — гетероциклическая α -АК, одна из 20 протеиногенных АК.

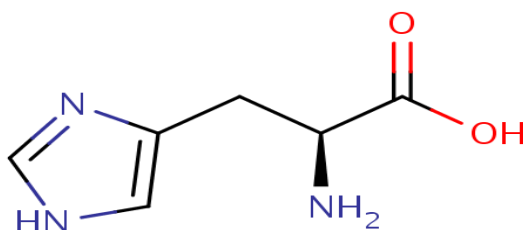


Рис.10. Структурная формула гистидина [10]

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; аминимидазол, имидазол, дериват имидазолил карбоновой кислоты, первичные алифатические амины (алкиламин). Биологическая функция: компонент метаболизма ГИС; компонент биосинтеза аминокислот-тРНК, компонент метаболизма азота, незаменимая АК, полу- незаменимая АК. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс. Метаболический путь: метаболизм гистидина; утилизация аммиака. В метаболизме принимают участие 12 ферментов и 2 транспортера [10].

Повышение уровня ГИС в крови и моче может быть результатом расщепления белка в мышцах, так как скелетные мышцы богаты на ГИС, и совмещаться с повышением уровня 3-метилгистидина.

Снижение уровня ГИС в крови может быть связано с ревматоидным артритом. Назначение ГИС (в дозе 4000 мг на сутки) приводит к повышению его уровня и редукции симптомов артрита.

Дефицит фолиевой кислоты приводит к повышению катаболизма ГИС, и появлению продуктов его деградации в моче, что предложено расценивать как функциональный маркер статуса фолатов [1,9]. Снижение уровня ГИС кроме того, является результатом его недостаточного поступления с пищей или синдрома мальабсорбции, особенно в сочетании со снижением уровня других незаменимых АК. Прием салицилатов и стероидов также приводит к снижению уровня ГИС.

ГИС является α -аминокислотой с имидазольной функциональной группой и одной из 22 протеиногенных АК. ГИС был впервые выделен немецким врачом Альбрехтом Косселем в 1896 году. ГИС является незаменимой АК в организме человека и других млекопитающих. Изначально полагали, что ГИС важен только в период раннего детского возраста, но в результате долгосрочных исследований установлено, что он играет важную роль в обмене взрослых. Потребность в ГИС у детей 4-6 месячного возраста составляет 33 мг/кг.

ГИС является предшественником гистамина и биосинтеза карнозина. Врожденные нарушения метаболизма ГИС сопровождаются повышением уровня ГИС в крови и широким спектром симптомов от задержки темпов психического и физического развития отсталости к нарушениям интеллектуальной сферы, эмоциональной неустойчивости, тремору, атаксии и психозам. ГИС и другие имидазолы обладают антиоксидантным, противовоспалительным и анти-секреторным свойствами. Эффективность L-ГИС в защите воспаленных тканей обусловлена функциональной способностью имидазольного кольца удалять активные формы кислорода, генерируемые клетками при острой воспалительной реакции [14].

ГИС при введении в терапевтических количествах способен ингибировать цитокины и факторы роста, участвующие в повреждении клеток и тканей (патент США 6150392). В результате клинических испытаний, которые изучали эффективность лечения ГИС ревматоидного артрита, было установлено, что прием ГИС в количестве 4,5 г в день является эффективным в лечении тяжелых больных. У пациентов с артритом отмечали низкий уровень ГИС в сыворотке крови, вероятно, в результате очень быстрого удаления ГИС из крови [8]. Кроме больных артритом, снижение уровня ГИС в сыворотке крови отмечали у пациентов с хронической почечной недостаточностью. Также отмечали снижение мочевого уровня ГИС у педиатрических больных с пневмонией. У больных астмой отмечали повышение сывороточного уровня ГИС в сравнении с нормальным контролем [11]. Снижение уровня сывороточного ГИС и отрицательное соотношение с воспалением и окислительным стрессом отмечали у тучных женщин. Дополнительное введение ГИС снижало резистентность к инсулину, позволяло снизить индекс массы тела и жировую массу, а также подавляло воспаление и окислительный стресс у женщин с ожирением с метаболическим синдромом. ГИС использовался для подавления провоспалительной экспрессии цитокинов, возможно, через пути NF- κ B в адипоциты (транскрипционный фактор NF- κ B - ядерный фактор «каппа-би»; англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of

activated B cells) – универсальный фактор транскрипции, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла) [7].

Низкие концентрации ГИС в плазме/сыворотке крови связаны с белково-энергетическим истощением, воспалением, окислительным стрессом и высоким процентом летальности у больных с хроническими заболеваниями почек [17]. ГИС могут быть присущи и другие функции, так как он является предшественником нейрогомона – нейротрансмиттера гистамина. ГИС влечет за собой повышение уровня гистамина в крови и, вероятно, в головном мозге. Низкий уровень гистамина в крови в сочетании с низким уровнем ГИС в сыворотке/плазме крови отмечают у больных ревматоидным артритом. Низкий уровень гистамина в крови также отмечают у пациентов психиатрических клиник при некоторых маниакальных состояниях, шизофрении, у больных с синдромом гиперактивности и повышении уровня меди. ГИС может быть использован в терапии пациентов с низким уровнем гистамина [16].

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК – аминокислота
АЛА (ALA) – аланин
АРГ (ARG) – аргинин
АСН (ASN) – аспарагин
АСП (ASP) – аспарагиновая кислота
ВАЛ (VAL) – валин
ГАМК– γ -аминомасляная кислота
ГИПРО (HYPRO) – гидроксипролин
ГИС (HIS) – гистидин
ГЛИ (GLY) – глицин
ГЛН (GLN) – глютамин
ГЛУ (GLU) – глютаминовая кислота
ИЛЕ (ILE) – изолейцин
ЛЕЙ (LEU) – лейцин
ЛИЗ (LYS) – лизин
МЕТ – метионин
ОРН– орнитин
ПРО (PRO) – пролин
СЕР (SER) – серин
ТАУ (TAU) – таурин
ТИР (TYR) – тирозин
ТРЕ (THR) – треонин
ТРП (TRP) – триптофан
ФЕН (PHE) – фенилаланин
ЦИС (CYS) – цистин
ЦИТ (CIT) – цитруллин

ЛИТЕРАТУРА

1. Вільні амінокислоти крові у діагностиці метаболічних порушень / Гречаніна О.Я., Новикова І.В./ Навчальний посібник для лікарів-інтернів. – Харків: ХНМУ, 2010. – 75 с.
2. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии – Спб.: ЭЛБИ, 2000. –688 с.
3. Западнюк В.И., Купраш Л.П. АКы в медицине. - К.:Здоровье, 1982. – 200 с.
4. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т.; пер с англ./Под ред. Л.М. Гиномдмана. - М.:Мир, 1993. - Т. 1. - 381 с; Т. 2.-414 с.
5. Arginine-induced stimulation of protein synthesis and survival in IPEC-J2 cells is mediated by mTOR but not nitric oxide.//Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010 Dec;299(6):E899-909. doi: 10.1152/ajpendo.00068.2010. Epub 2010 Sep 14.
6. Effect of increasing dietary threonine intakes on amino acid metabolism of the central nervous system and peripheral tissues in growing rats. Boehm G1, Cervantes H, Georgi G, et al.// Pediatr Res. 1998 Dec;44(6):900-6.
7. Feng RN1, Niu YC, Sun XW. et. al. Histidine supplementation improves insulin resistance through suppressed inflammation in obese women with the metabolic syndrome: a randomised controlled trial// Diabetologia. 2013 May;56(5):985-94. doi: 10.1007/s00125-013-2839-7. Epub 2013 Jan 30
8. Hammarqvist, F., et al., Stress hormone and amino acid infusion in healthy volunteers: short-term effects on protein synthesis and amino acid metabolism in skeletal muscle. Metabolism, 43(9). 1158-63, 1994.
9. <http://www.dcnutrition.com/AminoAcids/>
10. <http://www.hmdb.ca/metabolites/>
11. Jung J1, Kim SH, Lee HS, Choi GS et al. Serum metabolomics reveals pathways and biomarkers associated with asthma pathogenesis.//Clin Exp Allergy. 2013 Apr;43(4):425-33. doi: 10.1111/cea.12089
12. Linden KC, Wadley GD, Garnham AP, McConell GK. Effect of l-arginine infusion on glucose disposal during exercise in humans.//Med Sci Sports Exerc. 2011 Sep;43(9):1626-34. doi: 10.1249/MSS.0b013e318212a317.

13. Nenad Blau, Marinus Duran, K. Michael Gibson. Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics//Foreword by C. R. Scriver, 2008 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. – P 860
14. Peterson JW1, Boldogh I, Popov VL, Saini SS, Chopra AK Anti-inflammatory and antisecretory potential of histidine in Salmonella-challenged mouse small intestine//Lab Invest. 1998 May;78(5):523-34.
15. Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases/Ed. by N. Blau, M.Duran, M.E.Blaskovics. – UK: Chapman&Hall Medical, 1996. - 508p.
16. The in vivo sparing of methionine by cysteine in sulfur amino acid requirements in animal models and adult humans. Ball RO1, Courtney-Martin G, Pencharz PB. J Nutr. 2006 Jun;136(6 Suppl):1682S-1693S.
17. Watanabe M1, Suliman ME, Qureshi AR et. al. Consequences of low plasma histidine in chronic kidney disease patients: associations with inflammation, oxidative stress, and mortality//Am J Clin Nutr. 2008 Jun;87(6):1860-6
18. Wishart DS, Frolkis A, Knox C, et al., SMPDB: The Small Molecule Pathway Database. Nucleic Acids Res. 2010 Jan;38 (Database issue):D480-7; Jewison T, Su Y, Disfany FM, et al., SMPDB 2.0: Big Improvements to the Small Molecule Pathway Database Nucleic Acids Res. 2013
19. Zschocke J., Hoffman G. Vademecum Metabolicum: manual of metabolic pediatrics /Ed. by J.V.Leonard. - Stuttgart: Schattauer, 1999. - 111p.

ГЛАВА 3

ЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

Заменимые аминокислоты (АК) могут синтезироваться в организме. Однако, за счет эндогенного синтеза обеспечиваются только минимальные потребности организма, в связи с чем, удовлетворение потребности организма в заменимых АК должно в основном осуществляться за счет поступления их в составе белков пищи. Для жизнедеятельности организма необходимо 22 АК, 14 из которых могут синтезироваться в организме. Переоценить их важность для организма невозможно. Они используются различными системами и органами организма человека. АК обладают антиоксидантными свойствами, являются эндогенными сорбентами и формируют субстрат-связывающие белки, которые осуществляют непосредственный транспорт большинства активных соединений (минералов, витаминов, гормонов и т.д.) [1,2, 11,18,19].

Важной функцией белков, является их участие в регуляторных механизмах организма, которые управляют работой эндокринных желез, желудочно-кишечного тракта, печени, костного мозга.

К заменимым АК относятся аланин (АЛА), аспарагин (АСН), аспарагиновая кислота (АСП), глицин (ГЛИ), глютамин (ГЛН), глютаминовая кислота (ГЛУ); гидроксипролин (ГИПРО), пролин (ПРО), серин (СЕР), тирозин (ТИР), цистеин, цистин/цистеин (ЦИС). Заменимые АК выполняют в организме весьма важные функции, причем некоторые из них играют физиологическую роль не меньшую, чем незаменимые АК (например, ГЛУ, ЦИС, ТИР и др.).

Поскольку заменимые АК могут синтезироваться в организме, определение их суточной потребности определить сложно. Ориентировочно средняя потребность взрослого человека в основных заменимых АК может быть принята следующей: ЦИС – 2-3 г/сут, ТИР – 3-4 г/сут, АЛА -3 г/сут, СЕР - 3 г/сут, ГЛУ – 16 г/сут, АСП – 6 г/сут, ПРО – 5 г/сут, ГЛИ -3 г/сут.

Перечень заменимых АК (компонентов белка) включает в себя данные о их роли в организме человека, суточной потребности, нарушениях обусловленных их дефицитом, и недостатком в продуктах питания, в состав

которых они входят (табл.3.1). Оптимальное количество потребления заменимых АК обеспечивает правильное питание и нормальную функцию различных органов и систем человека. В мышечной ткани отмечают высокое содержание белка и АК. Структура и нормальная функция сердечной мышцы и других органов поддерживается в основном за счет АК. Связь мозга с другими органами (такими как мышцы) обеспечивается за счет нейротрансмиттерных АК. АК и их производные в качестве предшественников активных веществ выполняют важные функции в организме человека (табл.3.2).

Витамины играют важную роль в метаболизме АК. Пиридоксин (витамин В₆), является кофактором трансаминаз, которые метаболизируют АК. Рибофлавин, В₂ и ниацин (В₃) также играют важную роль в метаболизме АК. Никотиновая кислота (ниацин, витамин РР, также витамин В₃) — витамин, участвующий во многих окислительных реакциях живых клеток. Может синтезироваться в кишечнике бактериальной флорой из поступившего с пищей триптофана (из 60 мг триптофана образуется 1 мг никотиновой кислоты) при участии пиридоксина (витамина В₆) и рибофлавина (витамина В₂).

Таблица 3.1

Роль заменимых АК в организме человека [1,2,11]

Название	Продукты, содержащие заменимые АК	Функция в организме	Нарушения, обусловленные дефицитом
АЛА	молочные продукты, говядина, яблоко, сыр, лосось, овсяная крупа	Один из источников синтеза глюкозы.	
АРГ	соевые бобы, семена кунжута, подсолнечника, молоко, мясо, грецкие орехи, шоколад, мясные продукты	Участвует в ферментативных реакциях: синтезе орнитина, мочевины, креатинина и др. Активизирует работу вилочковой железы. Ускоряет заживление ран; препятствует образованию опухолей	Негативно влияет на: выработку инсулина. липидный обмен в печени; сперматогенез

Продолжение таблицы 3.1

АСП	молочные продукты, говядина лосось, сыр, пшеница	Участвует в реакциях цикла переаминирования и мочевины; синтезе пиримидинов и уринов; ускоряет выработку иммуноглобулинов; увеличивает способность переносить умственное переутомление.	
ГИС	рожь, молочные продукты, говядина, лосось рис, сыр, зерна злаковых культур	Незаменим для растущего организма, роста и восстановления тканей; исходное вещество при синтезе гистамина, пептидов мышц - ансерина, карнозина; необходим для выработки клеток крови	Ухудшает деятельность ЦНС; вызывает кожные нарушения - развитие экземы.
ГЛИ	мясные и молочные продукты, лосось, петрушка	Участвует в выработке порфиринов, пуринов; РНК и ДНК; является источником аминного азота в реакциях переаминирования; центральный нейромедиатор (передает нервное возбуждение) тормозного типа; повышает качество обменных процессов в тканях мозга.	Врожденные дефекты обмена глицина сопровождаются гипотонией, судорогами, респираторными нарушениями, экскрецией органических кислот
СЕР	молочные продукты	Необходимый компонент обмена жирных кислот и липидов.	

ГЛУ	Шпинат, мясо, молоко, рыба, сыр	Играет главную роль в азотистом обмене; принимает участие в переносе ионов калия в клетках ЦНС и обезвреживает аммиак; принимает участие в биосинтезе РНК, ДНК, фолиевой кислоты, триптофана, гистидина.	
ПРО	молочные продукты, яблоко, рыба, мясо	Составная часть адренокортикотропного гормона, инсулина и др. пептидов; принимает участие в синтезе коллагена; поддерживает нормальное состояние соединительной ткани, способствует улучшению структуры кожи; принимает участие в выработке серосодержащих АК, глицина, пиримидина, пурина, порфирина	

В состав молекул АК входят функциональные группы со слабо выраженными кислотными свойствами в сочетании с аминогруппой с основными свойствами. Однако основность или кислотность АК являются минимальными и не влияют на кислотно-щелочной баланс в организме, который поддерживается защитными буферными системами.

АК можно рассматривать как «аммонизированный уксус». Например, химическое название ГЛИ согласно классификации ИЮПАК: альфа-аминоуксусная кислота. Все АК можно рассматривать как производные ГЛИ. Как нашатырный спирт используется для приведения в чувства после обморока, а уксус улучшает вкусовые качества пищи, аналогичным образом, некоторые АК «улучшают вкус или стимулируют ум». Они также могут контролировать

депрессию или вызывать сонливость. При отщеплении кислотного остатка от АК, основные амины являются мессенджерами в нервной системе. При отщеплении аминокруппы, оставшаяся «кислота» может использоваться в качестве топлива, в процессах детоксикации, и др.

Таблица 3.2

Продукты метаболизма АК [1,2,11]

№п/п	Аминокислоты	Биологически активные вещества
1	АРГ	Спермин, спермидин, путресцин
2	АСП	Пиримидины
3	ГЛУ	Глутатион
4	ГЛИ	Пурины, глутатион, креатин, фосфокреатин, тетрапиррол
5	ГИС	гистамин, Erothioneine
6	Лизин (ЛИЗ)	Кадаверин, карнитин, аминок-апроновая кислота
7	Орнитин (ОРН)	Полиамины
8	Метионин (МЕТ)	цистеин , таурин
9	СЕР	Сфингозин, фосфосерин
10	ТИР	адреналин, норадреналин, меланин, тироксин, мескалин, тирамин, морфина (бактерии), кодеин, папаверин (бактерии)
11	Триптофан (ТРП)	Никотиновая кислота, серотонин, кинурениновая кислота, индол, скатол индолилуксусная кислота

Существуют различные типы классификации АК. В зависимости от типа и функции различных АК, представлены различные группы АК (табл.3.3) [11].

Глицин (ГЛИ), $C_2H_5NO_2$; средняя молекулярная масса 75,07; IUPAC название: 2-аминоуксусная кислота [11]. Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; первичный алифатический амин (алкиламин).

Клеточная локализация: экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии, лизосомы, пероксисомы. Метаболический путь: метаболизм АЛА; утилизация аммиака, биосинтез желчных кислот; синтез карнитина, метаболизм глутатиона, метаболизм ГЛИ и СЕР, метаболизм МЕТ, метаболизм порфиринов. В метаболизме ГЛИ принимают участие 39 фермента и 2 переносчика [11].

Таблица 3.3

Классификация аминокислот [11]

№ п/п	Группы АК	Аминокислота
1	Ароматические АК	ФЕН
		ТИР
		ТРП
2	Серосодержащие АК	ЦИС и глутатион
		Таурин
		МЕТ
		Гомоцистеин
3	АК цикла мочевины	АРГ и цитруллин
		ОРН
4	АК, производные ГЛУ	ГЛУ, ГАМК и ГЛЮ
		ПРО и ГИПРО
		АСП, АСН
5	АК – производные треонина (ТРЕ)	ТРЕ
		ГЛИ
		СЕР
		АЛА
6	АК с разветвленной цепью	Лейцин (ЛЕЙ)
		Изолейцин (ИЛЕ)
		Валин (ВАЛ)
7	АК - важные метаболиты	Лизин (ЛИЗ)
		Карнитин
		Гистидин (ГИС)

ГЛИ является простой, заменимой АК, хотя в опытах на экспериментальных животных показывали снижение темпов роста при диете с низким содержанием ГЛИ. В среднем, взрослый получает 3-5 грамм ГЛИ в день. ГЛИ принимает участие в образовании ДНК в организме, фосфолипидов и коллагена и в высвобождении энергии. Уровни ГЛИ в плазме (сыворотке) крови измеряют как у нормальных пациентов, так и у пациентов с врожденными нарушениями метаболизма ГЛИ.

ГЛИ является, третьим крупным тормозным нейромедиатором мозга; при терапии, ГЛИ легко проходит через гематоэнцефалический барьер. Благодаря его седативным свойствам, ГЛИ назначают при маниакальных эпизодах,

маниакально-депрессивных психозах, а также в лечении спастичности и эпилепсии. У пациентов с депрессией и эпилепсией часто определяются низкие уровни ГЛИ.

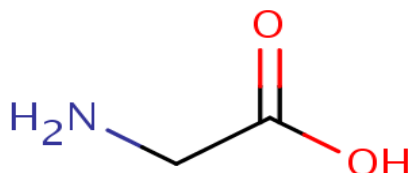


Рис.1. Структурная формула глицина [11]

Подагра, миастения, мышечная дистрофия, доброкачественная гипертрофия предстательной железы и высокий уровень холестерина могут отвечать на терапию ГЛИ. Эти данные требуют проведения дальнейших исследований. ГЛИ освобождает гормон роста при введении в высоких дозах.

ГЛИ является нетоксичной АК. ТРЕ может использоваться в качестве альтернативного источника при терапии ГЛИ.

Диметилглицин является промежуточным продуктом в метаболизме холина и ГЛИ. Эффекты диметилглицина в основном связаны с его преобразованием в ГЛИ в лечении эпилепсии, и назначении в качестве иммуностимулятора.

Некетотическая гиперглицинемия является аутосомно-рецессивным заболеванием, которое развивается в результате дефицита ферментативной активности глицинрасщепляющей ферментной системы (ЕС 2.1.1.10) [21]. Глицинрасщепляющая ферментная система катализирует окислительное превращение ГЛИ в углекислый газ и аммиак; оставшийся одноуглеродный блок переносится на фолиевую кислоту с образованием метилентетрагидрофолата. Это главный катаболический путь ГЛИ, который

также вносит вклад в одно углеродный метаболизм. У пациентов с дефицитом этой ферментной системы отмечают повышенные уровни ГЛИ в плазме/сыворотке крови, моче и спинномозговой жидкости (СМЖ), а также повышение соотношения уровня ГЛИ в СМЖ/ ГЛИ плазмы крови [23,24].

Серин (SER), $C_3H_7NO_3$; средняя молекулярная масса 105,09; IUPAC название: (2S)-2-амино-3-гидроксипропановая кислота [11].

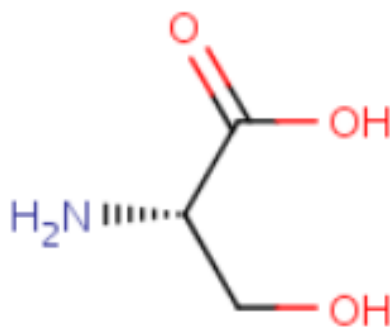


Рис.2. Структурная формула серина [11]

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; первичный алифатический амин (алкиламин), 1,2 аминспирт, β -гидроксикислота, первичный спирт. Биологическая функция: компонент биосинтеза аминокислот-тРНК; компонент метаболизма цианоамино кислот; компонент метаболизма ЦИС; компонент метаболизма ГЛИ, SER и TRE; метаболизма гликофинголипидов; метаболизма метана; компонент метаболизма MET, метаболизма селеноамино кислот. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии, пероксисомы. Метаболический путь: утилизация аммиака, метаболизм ГЛИ и SER деградация гомоцистеина, метаболизм MET, метаболизм сфинголипидов. В метаболизме SER принимают участие 19 фермента и 1 переносчик [11].

SER – заменимая АК, которая образуется из ГЛИ. Как и все АК, которые являются строительными блоками белков и пептидов, SER может при определенных условиях являться незаменимой АК, и, таким образом, играет важную роль в поддержании здоровья и профилактике заболеваний.

SER содержится в высоких концентрациях в различных клеточных мембранах; в мышечной ткани отмечают незначительную концентрацию SER.

Высокое отношение СЕР/ЦИС плазмы крови является потенциальным маркером клинического витамин В₆ и цинк зависимого психоза, который сопровождается пирролурией. Многие продукты питания низкого качества (колбасные изделия) содержат СЕР в высоких концентрациях. Продукты, которые вызывают аллергию, например, глютен, соя и арахис также являются продуктами с высоким содержанием СЕР. Дополнительный прием СЕР может вызывать такие негативные последствия, как психотические эпизоды и, возможно, повышенное кровяное давление.

Низкий уровень СЕР может отмечаться у пациентов с артериальной гипертензией; высокий уровень СЕР может отмечаться у больных аллергией. СЕР также является иммунодепрессантом, в результате чего он оказывает вредное воздействие на состояние больных раком, но потенциально полезен при аутоиммунных заболеваниях. Аналог СЕР (треосерин) также как и L-СЕР, может привести к повышению кровяного давления.

L-СЕР может поступать из четырех возможных источников: с пищей; в результате биосинтеза в реакциях гликолиза из промежуточного метаболита 3-фосфоглицерата; из ГЛИ; из белка и при деградации фосфолипидов. Существует недостаточно данных об относительном вкладе каждого из этих источников в поддержании гомеостаза L-СЕР. Основные источники L-СЕР отличаются в различных тканях и на разных этапах развития человека.

L-СЕР играет центральную роль в клеточной пролиферации; является преобладающим источником одноуглеродных групп для нового синтеза пуриновых нуклеотидов и дезокситимидинового монофосфата. В клеточных культурах L -СЕР является условно незаменимой АК, потому что не синтезируется в достаточных количествах для удовлетворения потребности клеток в его использовании. В последние годы отмечают, что L-СЕР и продукты его метаболизма необходимы не только для пролиферации клеток, но и для выполнения определенных функций в центральной нервной системе. Результаты изменения уровней СЕР и ГЛИ у больных с психическими расстройствами и тяжелыми неврологическими нарушениями у больных с

дефектами синтеза L-СЕР подчеркивают важность L-СЕР в развитии и функции мозга [9].

Цистеин (ЦИСТ), $C_3H_7NO_2S$; средняя молекулярная масса 121,158; IUPAC название: (2R)-2-амино-3 сульфанил пропановая кислота [11].

Химическая таксономия, заместители: алкилтиолы, карбоновые кислоты; первичные алифатические амины (алкиламины); тиол (сульфанильное соединение).

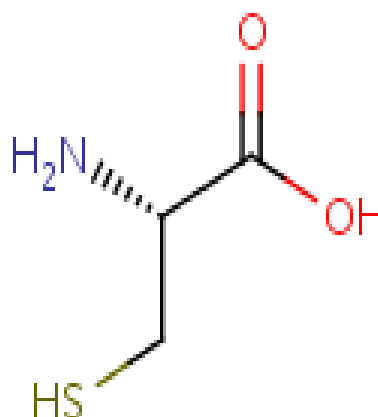


Рис.3. Структурная формула цистеина [11]

Биологическая функция: компонент метаболизма ЦИСТ, ГЛИ, СЕР и ТРЕ; метаболизма МЕТ; компонент метаболизма азота; селеноаминокислот; компонент метаболизма ТАУ и гипотаурина. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс, митохондрии. Метаболический путь: метаболизм ЦИС; метаболизм глутатиона, метаболизм ГЛИ и СЕР; метаболизма МЕТ; биосинтеза пантотенат и КоА; метаболизм ТАУ и гипотаурина; транскрипция / трансляция. В метаболизме ЦИСТ принимает участие 23 фермента и 2 переносчика [11].

ЦИСТ является естественной серосодержащей АК, которая содержится в большинстве белков в небольших количествах; уникальной среди двадцати природных АК, поскольку содержит тиольную группу. Тиольные группы могут вступать в реакции окисления/восстановления (окислительно-восстановительные) реакции; при окислении ЦИСТ может образовываться ЦИС, в котором два цистеиновых остатка соединены дисульфидной связью. Эта реакция является обратимой: при восстановлении дисульфидной связи

восстанавливаются две молекулы ЦИСТ. Дисульфидные связи ЦИСТ имеют решающее значение для определения структуры многих белков. ЦИСТ часто участвует в реакциях переноса электронов, и оказывает помощь в катализе ферментативных реакций. ЦИСТ также принимает участие в образовании антиоксиданта глутатиона. N-ацетил-L-цистеин (НАС) является одной из форм ЦИСТ, где ацетогруппа присоединена к атому азота ЦИСТ и выпускается в качестве пищевой добавки. Название ЦИСТ (как и ЦИС), происходит от греческого слова «kustis» - мочевого пузыря. ЦИС был впервые выделен из камней в почках. Так как ЦИСТ содержит сульфгидрильную группу, он может вступать в окислительно-восстановительные реакции. При окислении ЦИСТ дисульфидная связь может образовываться с другими тиолами; при дальнейшем окислении могут образовываться цистеинсульфиновая кислота ($C_3H_7NO_4S$) или сульфокислота. Тиоловая группа ЦИСТ также является нуклеофилом и может вступать в реакции присоединения и замещения. Тиоловые группы являются более реакционноспособными в ионизированном состоянии, остатки ЦИСТ в белках имеют значения pK_a ближе к нейтральному, таким образом, в клетке часто содержатся в их реактивной тиолатной форме. Тиоловые группы также обладают высоким сродством к тяжелым металлам и белкам, содержащим ЦИСТ. Они прочно связывают такие металлы, как ртуть, свинец и кадмий. В связи со способностью к окислительно-восстановительным реакциям, ЦИСТ обладает антиоксидантными свойствами. ЦИСТ является важным источником серы в обмене веществ человека, и хотя он классифицируется как заменимая АК, ЦИСТ может являться незаменимой АК для грудных детей, пожилых и лиц с некоторыми болезнями обмена веществ или с синдромом мальабсорбции. ЦИСТ играет важную роль в энергетическом метаболизме. В виде ЦИС является структурным компонентом многих тканей и гормонов. ЦИСТ имеет клиническое применение, начиная с алопеции, псориаза до предотвращения сухого кашля курильщика. В некоторых случаях, терапию ЦИСТ использовали в лечении астматиков, что позволяет отказаться от теофиллина и других лекарственных средств. ЦИСТ также усиливает эффект

местно применяемых солей серебра, олова и цинка в предотвращении кариеса. В будущем, ЦИСТ может играть определенную роль в лечении токсичности кобальта, диабета, психоза, рака и судорог [6,7,11,12].

Большее количество серы, которая содержится в пищевых продуктах находится в форме белок-связанного ЦИСТ / ЦИС; цистеин играет важную роль в образовании глутатиона. У новорожденных, находящихся на искусственной вентиляции легких (при вдыхании концентрированного кислорода) отмечают низкий уровень общего ЦИСТ. Низкий уровень ЦИСТ может указывать на нарушение клеточного синтеза таурина (ТАУ), что сопровождается снижением уровня ТАУ крови.

Цистин (L-ЦИС), $C_6H_{12}N_2O_4S_2$, средняя молекулярная масса 240,3; IUPAC название: (2R)-2-амино-3-{[(2R)-2-амино-2-карбоксиэтил]дисульфанил} пропановая кислота [11].

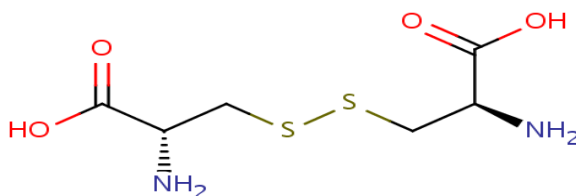


Рис.4. Структурная формула цистина [11]

Химическая таксономия, заместители: алифатические ациклические соединения; карбоновые кислоты, производные дикарбоновых кислот; органические дисульфиды; полиамины; первичные алифатические амины (алкиламины). Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс. В метаболизме ЦИС принимает участие 6 ферментов и 1 переносчик. L-ЦИС ассоциирован с 7 белками [11].

ЦИС является окисленной димерной формой ЦИСТ. Он образуется в результате соединения двух остатков ЦИСТ с помощью дисульфидной связи (цистеин-SS-цистеин) между-SH групп. ЦИС найден в высоких концентрациях

в клетках иммунной системы, скелета и соединительной тканей, кожи, пищеварительных ферментов, в волосах. Волосы и кожа содержат 10-14% ЦИС. ЦИС является предпочтительной формой ЦИСТ для синтеза глутатиона в клетках, участвующих в иммунной функции, включая макрофаги и астроциты. Лимфоциты и нейроны предпочтительно используют ЦИСТ для образования глутатиона. Оптимизация уровня глутатиона в макрофагах и астроцитах с ЦИС позволяет при необходимости этим клеткам обеспечить ЦИСТ лимфоциты и нейроны [7,11].

Гидроксипролин (ГИПРО), C_5H_9NO ; средняя молекулярная масса 131.1299; IUPAC название: (2S,4R)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновая кислота [11].

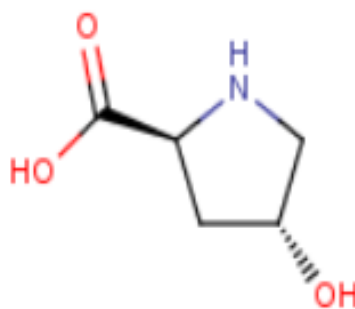


Рис.5. Структурная формула гидроксипролина [11]

Химическая таксономия, заместители: 1,2-аминоспирты; карбоновые кислоты; пирролидин; пирролидин карбоновая кислота; вторичный спирт; вторичный алифатический амин (диалкиламин). Биологическая функция: компонент метаболизма АРГ и ПРО. Клеточная локализация: митохондрии, эндоплазматический ретикулум. В метаболизме ГИПРО принимает участие 12 ферментов. ГИПРО – компонент коллагена, синтезируется из ПРО в присутствии витамина С и железа в качестве кофакторов [11].

ГИПРО отличается от ПРО наличием гидроксильной группы (-ОН), которая присоединена к гамма атому углерода. ГИПРО непосредственно не кодируется ДНК; образуется путем гидроксилирования ПРО после синтеза белка. ГИПРО является основным компонентом белка коллагена. ГИПРО и

ПРО играют ключевую роль в стабильности коллагена. Они обеспечивают стабильность трехспиральной структуры коллагена, образуя водородные связи.

4-ГИПРО (или гиПРО) является основным компонентом белка коллагена. ГИПРО получают путем гидроксилирования АК ПРО и посттрансляционного изменения. ГИПРО и ПРО играют ключевую роль в стабильности коллагена. Кроме коллагена, ГИПРО входит в состав некоторых белков. Другим белком млекопитающих, в состав которого входит ГИПРО, является эластин. Уровень ГИПРО определяют в качестве индикатора количества коллагена в тканях или биологических образцах. Увеличение уровня ГИПРО в сыворотке крови и моче отмечали при болезни Педжета [13].

Содержание ГИПРО в биологических жидкостях используется в качестве маркера катаболизма коллагена, особенно костной резорбции или деградации тканей. У тяжелобольных (прикованных к постели) и пожилых людей отмечают более высокие уровни сывороточного ГИПРО по сравнению с нормальными, активными лицами [14]. Повышенный уровень экскреции ГИПРО с мочой также свидетельствуют о повреждении мышц [19].

Повышение реактивных форм кислорода (АФК), также ускоряет деградацию коллагена. Уровни ГИПРО увеличиваются при депрессии и стрессе [15]. Кроме коллагена, ГИПРО найден в других белках. Единственным белком млекопитающих, в состав которого входит ГИПРО, является эластин. По этой причине определение содержания ГИПРО используют в качестве маркера уровня коллагена. В качестве кофактора в реакции гидроксилирования ПРО используется аскорбиновая кислота. Первые признаки отсутствия аскорбиновой кислоты в организме человека происходят при приобретенном дефекте гидроксилирования ПРО в остатках коллагена с редукцией стабильности молекулы коллагена, что проявляется нарушениями со стороны десен и волос.

Пролин (ПРО), C_5H_9NO ; средняя молекулярная масса 115,13; IUPAC название: (2S)-пирролидин-2-карбоновая кислота [11].

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; пирролидин; пирролидин карбоновая кислота; вторичный алифатический амин (диалкиламин).

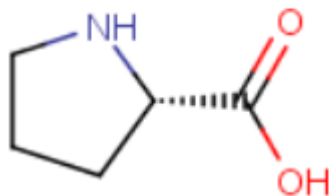


Рис.6. Структурная формула пролина [11]

Биологическая функция: компонент метаболизма АРГ и ПРО. Клеточная локализация: цитоплазма, митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, экстрацеллюлярный матрикс. ПРО ассоциирован с 30 белками. В метаболизме ПРО принимают участие 29 энзимов, 1 переносчик, в том числе, митохондриальные ферменты: пирролин -5 - карбоксилат редуктаза 1; пролиндегидрогеназа 1; пептидил - пролил цис -транс изомераза F; возможно пролин-тРНК лигаза [11].

L-ПРО является одной из двадцати АК, используемых в живых организмах как строительные блоки белков. ПРО называют имино кислотой, хотя согласно определению ИЮПАК у иминов должна быть углерод-азотная двойная связь. ПРО является заменимой АК, которая синтезируется из ГЛУ. Она является важным компонентом коллагена и имеет большое значение для нормального функционирования суставов и сухожилий.

ПРО – главный компонент коллагена и может метаболизироваться в α -кетоглутарат (α -КГ), который является важным в детоксикации аммиака и функционировании цикла Кребса. Снижение уровня ПРО может указывать на низкое качество пищевого белка, что приводит к нарушению функции соединительной ткани. ПРО, исходя из биофункции, является компонентом метаболизма АРГ и ПРО [2,10,11,18,20].

Аспарагин (АСН), $C_4H_8N_2O_3$ – алифатическое ациклическое соединение; средняя молекулярная масса 132,12; IUPAC название: (2S)-2-амино-3-карбамоилпропановая кислота [11].

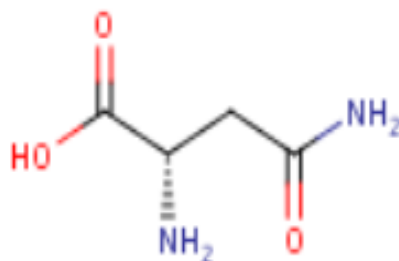


Рис.7. Структурная формула аспарагина [11]

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; карбоксамидная группа; первичный алифатический амин (алкиламин); первичный амид карбоновой кислоты. Биологическая функция: компонент метаболизма АЛА и АСП; компонент биосинтеза аминоксил-тРНК; компонент метаболизма азота. Клеточная локализация: цитоплазма, митохондрии, экстрацеллюлярный матрикс. Метаболический путь: метаболизм азота; метаболизм аспартата. АСН ассоциирован с 13 белками. В метаболизме АСН принимают участие 11 энзимов и 2 переносчика [11].

Различные ткани используют АСН для синтеза белка, обеспечивая прикрепление углеводных остатков к мембранам белков. При снижении уровня АСН в крови, его потребность для выполнения синтетической функции обеспечивается путем трансминирования оксалоацетата или АСП в АСН. Пищевой дефицит магния может проявляться нарушениями процесса образования АСП [2].

АСН – заменимая АК, которая может синтезироваться из центральных интермедиатов метаболизма в организме человека; является одной из наиболее распространенных 20 природных АК. В качестве функциональной группы, боковая цепь АСН представлена карбоксамидом. Предшественником АСН является оксалоацетат, который превращается в аспартат в присутствии трансаминаз. Фермент переносит аминогруппу от глутамата в оксалоацетат с

образованием α -кетоглутарат и аспартата. Фермент аспарагинсинтетаза принимает участие в образовании АСП, аденозинмонофосфата (АМР), ГЛЮ и пирофосфата из АСП, ГЛЮ и аденозинтрифосфата (АТФ). В реакции с участием аспарагинсинтетазы, АТФ используется для активации АСП с образованием β -аспартил-аденозинмонофосфата (АМФ). Донором аминогрупп является ГЛЮ. Аминогруппы реагируют с β -аспартил-АМФ с образованием АСП свободного АМФ. Боковые цепи АСП принимают участие в формировании водородных связей в пептидной цепи. АСН встречается практически в самом начале и в конце α -спиралей. АСН также обеспечивает ключевые сайты, связанные с N-гликозилированием, модификацией белковой цепи углеводными цепями [1].

АСН был впервые выделен в 1806 году из сока спаржи, в котором он содержится в большом количестве. Биологическая функция: АСН является компонентом: метаболизма АЛА и АСП; биосинтеза аминоксил-тРНК; метаболизма азота [11,20,24].

Глутамин (ГЛН), $C_5H_{10}N_2O_3$; средняя молекулярная масса 146,14.

IUPAC название: (2S)-2-амино-4-карбамоилбутановая кислота [11].

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; карбоксамидная группа; первичные алифатические амины (алкиламины); первичный амид карбоновой кислоты.

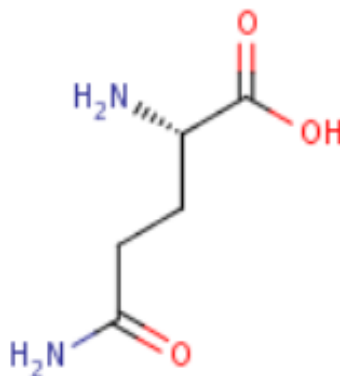


Рис.8. Структурная формула глутамина [11]

Биологическая функция: компонент метаболизма АЛА и АСП; D-ГЛН и D-ГЛЮ; компонент биосинтеза аминоксил-тРНК; компонент метаболизма аминокислот; источник энергии; компонент азотистого обмена; компонент

метаболизма ГЛУ; компонент биосинтеза пептидогликанов; компонент метаболизма пуринов; компонент РНК. Клеточная локализация: митохондрии, экстрацеллюлярный матрикс. Метаболический путь: метаболизм аминсахаров; утилизации аммиака, метаболизм ГЛУ; фенилацетата, пуринов, пиримидинов, , цикл мочевины. В метаболизме ГЛУ принимают участие 28 энзимов и 2 переносчика, в том числе, митохондриальная изоформа глутаминазы печени, митохондриальная изоформа глутаминазы почек, субъединицы В и С глутамил - тРНК митохондриальной аминотрансферазы. ГЛН ассоциирован с 32 белками [11].

ГЛН является одной из 20 АК, кодируемых с помощью стандартного генетического кода. Его боковая цепь представляет собой амид; он образован путем замены гидроксильной группы боковой цепи ГЛУ функциональной аминогруппой. ГЛН содержится в пищевых продуктах с высоким содержанием белков (рыба, красное мясо, фасоль, молочные продукты).

ГЛН является первичным сайтом удаления азота из скелетных мышц, которые являются первичным источником ГЛН. Таким образом, ГЛН является одной из наиболее концентрированных АК в плазме крови (даже в образцах крови, полученных после приема пищи).

Очень высокий процент ГЛН, усваиваются в энтероцитах кишечника и является источником энергии для энтероцитов. Этот факт является подтверждением того, что прием L-ГЛУ может улучшить целостность слизистой оболочки кишечника, что можно использовать в период восстановительного лечения после хирургического вмешательства. ГЛН является источником пополнения запасов АК в организме, которые используются при повседневной деятельности или при физических нагрузках. ГЛН является пищевой добавкой, которая используется в тяжелой атлетике, бодибилдинге для повышения выносливости и других видах спорта, а также в лечении пациентов, страдающих от мышечных судорог или болей, особенно пожилых людей. Избыточное поступление ГЛН не вызывает нарушений. Употребление ГЛН рекомендуется во время голодания, пациентам, перенесшим

физические травмы, иммунодефицитные состояния и т.д. Диета, обогащенная ГЛН, помогает в поддержании функции кишечного барьера, пролиферации и дифференцировке кишечных клеток, а также, в лечении септических заболеваний и симптомов, синдрома раздраженного кишечника. Причины таких свойств, как полагают, связаны с тем, что скорость кишечного всасывания ГЛН выше, чем других АК, и поэтому прием ГЛН может облегчить состояния, связанные с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Указанные свойства ГЛН были обнаружены при сравнении между концентрацией ГЛН плазмы в кишечнике при обогащенной и необогащенной ГЛН диете. Также известно, ГЛН обладает эффектом, направленным на сокращение времени заживления после операций. Время пребывания в больнице после абдоминальной хирургии уменьшается путем обеспечения парентеральных режимов питания, содержащих ГЛН. В результате клинических испытаний было обнаружено, что у пациентов, которые получали ГЛН в качестве дополнительного лечения, улучшался баланс азота, образование цистеинил-лейкотриенов из полиморфноядерных нейтрофилов; улучшалось восстановление лимфоцитов и кишечная проходимость у послеоперационных больных по сравнению с теми, кто не получал ГЛН в пределах режима питания [2,3,11,20].

Цитруллин (ЦИТ), $C_6H_{13}N_3O_3$; средняя молекулярная масса 175,19; IUPAC название: (2S)-2-амино-5-(карбамоиламино)-пентановая кислота [11].

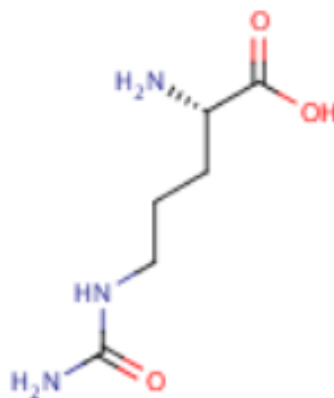


Рис.9. Структурная формула цитруллина

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; полиамид, первичные алифатические амины (алкиламины); цикл мочевины. Биологическая функция: компонент метаболизма АЛА и аспартата; компонент метаболизма АРГ и ПРО. Клеточная локализация: митохондрии. Метаболический путь: метаболизм АРГ и ПРО; АСП; цикл мочевины. В метаболизме ЦИТ принимают участие 14 ферментов, в том числе, митохондриальный орнитин карбамоилтрансфераза, эндотелиальная синтаза оксида азота [11].

ЦИТ образуется из ОРН и карбамоил фосфата в одной из центральных реакций цикла мочевины. Он также образуется из АРГ в качестве побочного продукта реакции, катализируемой ферментами семейства NO-синтетазы (NOS; EC 1.14.13.39). В этой реакции АРГ сначала окисляется в N-гидроксиаргинина, который затем окисляется далее в ЦИТ одновременно с образованием оксида азота. Название «цитруллин» является производным от латинского слова *Citrullus* - арбуз, из которого он был выделен.

ЦИТ вступает в реакцию с аспартатом для включения в завершающую стадию цикла мочевины при участии фермента в присутствии магния. Низкая скорость образования оксида азота (NO) может являться следствием инактивации синтетазы окиси азота, которую обнаруживают при снижении образования ЦИТ. Отмечают снижение уровня ЦИТ у 30 % взрослых, получающих диету, свободную от АРГ со снижением уровня потребляемого белка [11,18,24].

Аланин (АЛА), $C_3H_7NO_2$; средняя молекулярная масса 89,09; IUPAC название: (2S)-2-аминопропановая кислота [11].

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; первичные алифатические амины (алкиламины).

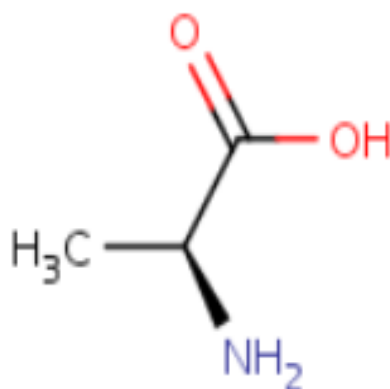


Рис.10. Структурная формула аланина [11]

Биологическая функция: компонент метаболизма АЛА и АСП; компонент биосинтеза аминоксил-тРНК; компонент метаболизма ГЛУ; метаболизм ГЛИ, СЕР и ТРЕ; компонент метаболизма ТРП. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс; митохондрии; лизосомы; пероксисомы. Метаболический путь: метаболизм АЛА; глюкозо-аланиновый цикл; метаболизм ГЛИ и СЕР; селеноаминокислот; цикл мочевины; в метаболизме АЛА принимают участие 17 ферментов, и 4 переносчика [11].

АЛА является главным переносчиком азота АК из мышц в печень, где их углеродный скелет превращается в глюкозу (в процессе глюконеогенеза). Эта транспортная роль АЛА важна, потому что метаболизм АК в скелетных мышцах составляет большую часть общего метаболизма белков. При снижении уровня АЛА крови, гипогликемические симптомы могут быть компенсированы при приеме АЛА.

АЛА является заменимой АК, которая вырабатывается в организме путем превращения углеводов в пируват или при расщеплении ДНК и дипептидов карнозина и ансерина. Наиболее высокая концентрация АЛА в мышцах. АЛА является одной из наиболее важных АК, высвобождается из мышц, функционирует в качестве основного источника энергии. Уровень АЛА плазмы часто уменьшается при дефиците АК с разветвленной цепью, что может быть связано с мышечным метаболизмом. Высокая концентрация АЛА в мясных и других высокобелковых продуктах (зародыши пшеницы, сыр и т.д.). АЛА является важным участником и регулятором метаболизма глюкозы. Уровни

АЛА крови параллельные уровню сахара как при диабете так и при гипогликемических состояниях. АЛА способствует снижению последствий, как тяжелой гипогликемии, так и кетоза при диабете. Эта АК важна для восстановления лимфоцитов и иммунитета. Обычный метаболизм АЛА, как и других АК является фермент - и кофактор - зависимым (метаболизм АЛА зависит от уровня витамина В₆). АЛА, вместе с гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК), ТАУ и ГЛИ, является тормозным нейромедиатором в головном мозге [11,18,20,24].

Глутаминовая кислота (ГЛУ), C₅H₉NO₄; средняя молекулярная масса 147,13; IUPAC название: 2-аминопентандиоевая кислота [11].

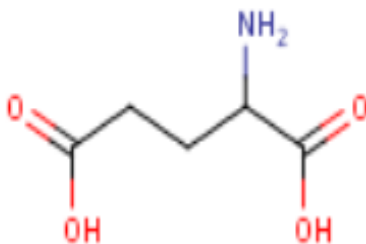


Рис.11. Структурная формула глутаминовой кислоты [11].

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; производная двухосновных карбоновых кислот, первичный алифатический амин (алкиламин). Биологическая функция ГЛУ: является компонентом метаболизма АЛА и АСП; биосинтеза аминоксил-тРНК; метаболизма аминокислот; АРГ и ПРО; бутаноата; цианоаминокислот; метаболизма цистеина; D-ГЛУ и D-ГЛУ; биосинтеза фолатов; метаболизма ГЛУ; глутатиона; ГЛИ, СЕР и ТРЕ; биосинтеза ЛИЗ; азотистого обмена; биосинтеза новобиоцина; пантотената и КоА; пептидогликана; ФЕН, ТИР и ТРП; метаболизма порфирина и хлорофилла; простагландинов и лейкотриенов; пуринов; метаболизма пиримидинов; селеноаминокислот; ТАУ и гипотаурина; ТИР; биосинтеза ВАЛ, ЛЕЙ и ИЛЕ; метаболизма витамина В₆; β-АЛА.

Клеточная локализация: экстрацеллюлярное пространство, митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум. В метаболизме ГЛУ принимают участие 92 энзима и 2 переносчика, в том числе, митохондриальные дельта-1-пирролин-5-карбоксилат дегидрогеназа, глутатионредуктаза, 4-аминобутират аминотрансфераза, АсАТ, кинуренин/ α -аминоадипат аминотрансфераза, аланин-глиоксилат аминотрансфераза 2, орнитин аминотрансфераза, глутаматдегидрогеназа 2, печеночная и почечная изоформы глутаминазы, глутаматдегидрогеназа 1, фолилполиглутамат синтаза, полуальдегид альфа-аминоадипиновой синтазы [11].

ГЛУ также известна как глутамат (ионная форма), является одной из 20 протеиногенных АК. Она не относится к числу заменимых АК. Через промежуточные метаболиты α -кетоглутарат (α -КГ) и ГЛН, ГЛУ включается в большую часть метаболических реакций человека. ГЛУ является ключевой молекулой в клеточном метаболизме. В организме человека, пищевые белки расщепляются путем гидролиза до АК, которые служат в качестве метаболического топлива или выполняют другие функции в организме. В белках животного происхождения содержится от 11 до 22 % ГЛУ, а в некоторых растительных белках – до 40 % данной АК. ГЛУ также является нейромедиаторной АК, одним из важных представителей класса «возбуждающих АК» [16]. Связывание ГЛУ со специфическими рецепторами нейронов приводит к возбуждению последних.

Низкие уровни ГЛУ крови могут влиять на большой класс нейронов в центральной нервной системе (ЦНС), которая использует ГЛУ как возбуждающий нейротрансмиттер. При избыточном поступлении пищевого белка, уровень ГЛУ крови имеет тенденцию к снижению. Этот феномен, очевидно, обусловлен реакциями, контролирующими изменение синтеза и утилизации ГЛУ и тем фактом, что малое количество пищевого ГЛУ или ГЛН достигает портальной циркуляции. ГЛУ активно окисляется и используется в образовании глутатиона в слизистой кишечника. Глутамат является наиболее распространенным быстро возбуждающим нейротрансмиттером в нервной

системе. В химических синапсах, глутамат сохраняется в везикулах. Нервные импульсы вызывают секрецию глутамата из пресинаптических клеток. В противоположной постсинаптической клетке, глутаматных рецепторах, таких как рецептор N-метил-D-аспартата (NMDA), глутамат связывается и активируется. Благодаря его роли в синаптической передаче импульсов, считается, что ГЛУ в когнитивных функциях, таких как обучение и память. Глутамат транспортеры находятся в нейронных и глиальных мембранах. Они быстро удаляют глутамат из внеклеточного пространства. При травмах или заболеваниях головного мозга, они могут работать в обратном направлении и, избыток глутамата, может накапливаться вне клетки. Этот процесс обусловлен проникновением ионов кальция в клетки через каналы NMDA - рецепторов, что приводит к повреждению нейронов и, в конечном счете, к гибели клеток. Механизмы клеточной гибели включают: повреждение митохондрий от чрезмерно высокого внутриклеточного уровня Ca^{2+} . (Glu/ Ca^{2+} - опосредованная активация транскрипционных факторов проапоптотичных генов, или снижение экспрессии транскрипционных факторов антиапоптотичного генов). Эксайтотоксичность глутамата является частью ишемического каскада и связана с инсультом и заболеваниями, такими как боковой амиотрофический склероз, латеризм, болезнь Альцгеймера. ГЛУ участвует в возникновении эпилептических приступов. Микроинъекция ГЛУ в нейроны вызывает спонтанную деполяризацию в течение одной секунды, которая подобна смещению пароксизмальной деполяризации, которую отмечают при эпилептических приступах. Эти изменения мембранного потенциала в состоянии покоя могут вызвать самопроизвольное открытие вольтаж активированных кальциевых каналов, что приводит к высвобождению глутаминовой кислоты и последующей деполяризации [2,3,11,16,18,20,24].

Аспарагиновая кислота (АСП) (синоним аспартат), $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$; средняя молекулярная масса 133,103; IUPAC название: (2S)-2-аминобутандиовая кислота [11].

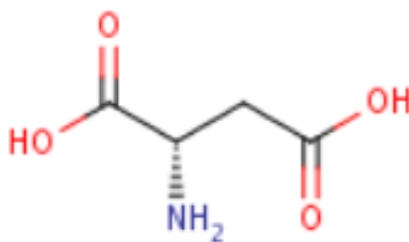


Рис.12. Структурная формула аспарагиновой кислоты [11].

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; 1,3-аминоспирты; первичные алифатические амины (алкиламины); производные двухосновных карбоновых кислот. Биологическая функция: компонент метаболизма АЛА и АСП; компонент метаболизма АРГ и ПРО; компонент метаболизма ЦИСТ; компонент метаболизма ГЛУ; компонент метаболизма ГИСТ; компонент метаболизма азота; компонент метаболизма ФЕН; компонент биосинтеза ФЕН, ТИР и ТРП; компонент метаболизма пуринов; компонент метаболизма ТИР. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярный матрикс; митохондрии. Метаболический путь: утилизации аммиака; метаболизм аргининга и пролина; метаболизм аспартата; метаболизм β-аланина, переносчик малата-аспартата; транскрипция / трансляция; цикл мочевины. В метаболизме АСП принимают участие 31 фермент и 1 переносчик [11].

АСП также известна как аспартат (название ее аниона), является одной из 20 природных протеиногенных АК которые являются строительными блоками белков. Как указывает ее название, АСП является аналогом карбоновой кислоты аспарагина. Как нейромедиатор, АСП может обеспечить устойчивость к усталости и, таким образом, повышает выносливость. АСП представляет собой заменимую АК, которая образуется из глутаминовой кислоты при участии ферментов, и витамина В₆ в качестве кофактора. АК играет важную роль в цикле мочевины и метаболизме ДНК. АСП является основным возбуждающим нейромедиатором; может отмечаться повышение уровня аспартата у пациентов с эпилепсией и после перенесенного инсульта. Снижение

уровня аспартата отмечают у пациентов с депрессией и у пациентов с атрофией мозга. Магний и цинк могут являться физическими ингибиторами некоторых реакций с участием аспарагиновой кислоты [16]. АСП с АК фенилаланин входят в состав нового натурального подсластителя, аспартама. Это подсластитель может применяться в обычных дозах при всех состояниях, кроме фенилкетонурии и является «шагом вперед» в сравнении с искусственными подсластителями. Однако эксперты еще оценивают долгосрочные эффекты на нейрогормоны мозга [6]. АСП может оказывать иммуностимулирующий эффект на тимус и может являться протектором разрушительных эффектов радиации. Учитывая относительную нетоксичность АСП, в настоящее время проводятся исследования ее фармакологического и терапевтического воздействия [2,11].

Тирозин (ТИР), $C_9H_{11}NO_3$; средняя молекулярная масса 181,19; IUPAC название: (2S)-2-амино-3-(4-гидроксифенил) пропановая кислота [11].

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; амфетамин или производное; фенэтиламины; фенол; производное фенолов; первичный алифатический амин (алкиламин).

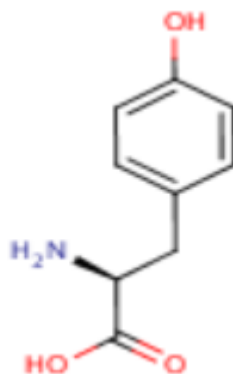


Рис.13. Структурная формула тирозина [11]

Биологическая функция: компонент биосинтеза аминоксил-тРНК; метаболизма ФЕН; биосинтеза ФЕН, ТИР и ТРП; метаболизма рибофлавина; метаболизма ТИР. Клеточная локализация: цитоплазма, экстрацеллюлярное пространство, митохондрии. В метаболизме ТИР принимают участие 15 ферментов и 2 переносчика [11].

ТИР легко проходит через гематоэнцефалический барьер. В мозге, он является предшественником нейромедиаторов дофамина, норадреналина и адреналина. Эти нейромедиаторы играют важную роль в функционировании симпатической нервной системы организма, и их концентрация в организме и мозге находятся в прямой зависимости от диетического ТИР.

ТИР содержится в невысоких концентрациях в организме человека, вероятно, потому что быстро метаболизируется. Фолиевая кислота, медь и витамин С являются кофакторами в метаболических реакциях. ТИР также является предшественником гормонов щитовидной железы, катехолэстрагенов и пигмента меланина. ТИР является важной АК во многих белках, пептидах и даже энкефалинах (природное обезболивающее организма). АК с разветвленной цепью, а также ТРП и ФЕН могут снижать абсорбцию ТИР.

Описан ряд генетических ошибок метаболизма ТИР: наиболее распространенным является повышенное количество ТИР в крови у недоношенных детей, что сопровождается снижением двигательной активности, вялостью, плохим аппетитом; а также инфекцией и задержкой темпов развития. Дополнительное назначение витамина С может редуцировать симптомы у недоношенных. При повышении уровня ТИР в крови у некоторых взрослых, также необходимо дополнительно принимать витамин С.

Терапию с назначением ТИР проводят при различных клинических состояниях, например, в условиях стресса, введение ТИР может предотвратить стресс-индуцированное истощение норадреналина, обусловленное «биохимической депрессией». Тем не менее, ТИР не рекомендуется при психозах (многие антипсихотические препараты, по-видимому, ингибируют метаболизм ТИР).

L-ДОФА, который непосредственно использовали в лечении болезни Паркинсона, изготовлен на основе ТИР.

ТИР, как амфетамин, в больших дозах уменьшает аппетит (малые дозы ТИР стимулируют аппетит). Терапия ТИР может быть полезна в лечении наркомании; являясь временным заменителем кодеина и амфетаминов.

Врачи из Гарвардской медицинской школы являлись пионерами в использовании 1-6 гр. ТИР для эффективного лечения депрессии, резистентной к лекарственным препаратам. ТИР может использоваться в качестве безопасной терапии при различных клинических состояниях: депрессии, гипертонии, болезни Паркинсона, снижении полового влечения, подавлении аппетита и терапии кокаиновой зависимости. ТИР, как и АК с разветвленной цепью, назначают в лечении стресса, так как он является предшественником адреналина [1,10,11,20,24].

Таурин (ТАУ), $C_2H_7NO_3S$; средняя молекулярная масса 125,15 IUPAC название: 2-аминоэтан-1-сульфоновая кислота [11].

Химическая таксономия, заместители: первичные алифатические амины (алкиламины).

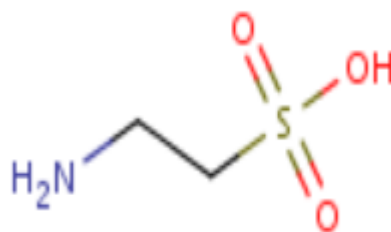


Рис.14. Структурная формула таурина [11]

Биологическая функция: компонент метаболизма ТАУ и гипотаурина; компонент белка, осмолит. Клеточная локализация: межклеточное пространство, пероксисомы. Метаболический путь: биосинтез желчных кислот; метаболизм ТАУ и гипотаурина. В метаболизме ТАУ принимают участие 11 ферментов [11].

ТАУ является серосодержащей АК подобно МЕТ, ЦИС, ЦИСТ и гомоцистеину (ГОЦИС). Она менее известная АК, так как не является структурным блоком белка. ТАУ является незаменимой АК для недоношенных новорожденных; взрослый организм может синтезировать ТАУ, но его уровень частично зависит от диетического ТАУ. ТАУ в высоких концентрациях

содержится в мозге, сердце, молочных железах, желчном пузыре и почках и играет важную роль в функционировании этих органов. ТАУ присущи различные биологические функции: нейротрансмиттерная в мозге; стабилизирует клеточные мембраны и является посредником в транспорте ионов, таких как натрий, калий, кальций и магний. ТАУ содержится в высоких концентрациях в животном и рыбном белках, которые являются полноценными источниками диетического ТАУ. Он может синтезироваться в организме из ЦИСТ, в присутствии витамина В₆. Дефицит ТАУ отмечают у недоношенных детей и новорожденных, которых кормили несбалансированными молочными формулами, а также при различных болезненных состояниях [2,3,18,20,24].

В каталоге МакКьюсик описан врожденный дефект метаболизма ТАУ с нейропсихиатрическими нарушениями, который наследовался по аутосомно-доминантному типу (OMIM #168605 Синдром PERRY – Паркинсонизм с альвеолярной гиповентиляцией и умственной депрессией). Симптомы заболевания развивались поздно, на пятом десятилетии и приводили к летальному исходу в течение 4-6 лет. К ранним симптомам относились признаки депрессии, резистентные к лечению антидепрессантами. Отмечали нарушения сна, истощение, прогрессирующую потерю веса. Позже развивался Паркинсонизм, больные поступали с респираторными нарушениями, в результате чего наступала смерть [11].

Было описано другое врожденное нарушение метаболизма ТАУ (OMIM #145350 - гипертауринурия с кардиомиопатией) с прогрессирующей формой застойной кардиомиопатии и повышенной экскрецией ТАУ с мочой (в 5 раз выше нормы). У других членов семьи отмечали поздний или голосистолический пролапс митрального клапана и повышенную экскрецию ТАУ с мочой (в 2,5 раз выше нормы) [11].

ТАУ после ГАМК, является вторым наиболее важным тормозным нейромедиатором в головном мозге. Его тормозящий эффект является одним из источников противосудорожных и седативных свойств ТАУ. Он также снижает уровень ГЛУ в головном мозге, и предварительные клинические испытания

показывают, что ТАУ может применяться при некоторых формах эпилепсии. ТАУ в головном мозге обычно ассоциируется с цинком или марганцем. АЛА и ГЛУ, а также пантотеновая кислота, ингибируют метаболизм ТАУ, в то время как витамины А и В₆, а также цинк и марганец оказывают помощь в образовании ТАУ. ЦИСТ и В₆ являются нутриентами, непосредственно участвующими в синтезе ТАУ. Отмечали значительное снижение уровня ТАУ у многих пациентов с депрессией. Вместе с тем, ТАУ часто повышался в крови больных с эпилепсией. Очень часто, трудно отличить компенсаторные изменения в биохимии человека от истинных метаболических нарушений или дефектов, связанных с авитаминозами.

Снижение уровня ТАУ отмечали у пациентов с пигментным ретинитом. Дефицит ТАУ у экспериментальных животных приводил к дегенерации светочувствительных клеток. ТАУ принимает участие во многих важных метаболических реакциях. Прием ТАУ может стимулировать секрецию пролактина и высвобождение инсулина. Паращитовидные железы образуют дипептид - гормон ГЛУ-ТАУ (демонстрирует роль ТАУ в эндокринологии). ТАУ увеличивает выведение билирубина и холестерина в желчь, что имеет важное значение для нормальной функции желчного пузыря. ТАУ ингибирует морфин и усиливает действие антагонистов опиатов.

Низкий уровень ТАУ в плазме был обнаружен при различных состояниях: депрессии, гипертонии, гипотиреозе, подагре, бесплодии, ожирении, почечной недостаточности и др. [1,2,3,10,11,18,20,24].

Гомоцистин, C₈H₁₆N₂O₄S; средняя молекулярная масса 268.354; IUPAC название: 2-амино-4-{[(3S)-3-амино-3-карбоксипропил] дисульфанил} бутановая кислота [11].

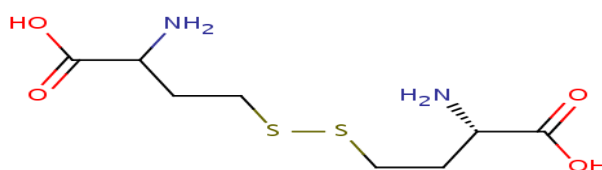


Рис.15. Структурная формула гомоцистина [11]

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; производные дикарбоновых кислот, органические дисульфиды, полиамин, первичный алифатический амин (алкиламин). Биологическая функция: синтез белков, биосинтез АК. Клеточная локализация: цитоплазма [11].

Гомоцистин является формой гомоцистеина с двойной связью, но он образуется как промежуточный продукт в реакции образования безвредного цистатионина при участии витамин В₆-зависимого фермента. Смешанные дисульфиды гомоцистина и гомоцистеин-цистеина более чем на 98% представлены общим гомоцистеином в плазме у здоровых лиц [22]. Окисление липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) считают одним из основных факторов в патофизиологии атеросклероза. Повышенные уровни гомоцистеина крови является признанным фактором риска атеросклероза, и могут влиять на окисление ЛПНП, хотя этот факт дискутируется. Тем не менее, главным тиолом в плазме является цистеин, концентрация которого примерно в 10 раз выше, чем гомоцистеина. Авторы указывают, что содержание гомоцистеина в плазме незначительно, следовательно, данный метаболит не оказывает влияние на окисление ЛПНП *in vivo* [5]. Дефекты нервной трубки связаны с генетическим дефектом в метаболизме гомоцистеина. Достаточное потребление фолиевой кислоты уменьшает риск развития дефекта путем повышения метилирования гомоцистеина и его превращения в МЕТ. Уровни гомоцистеина в плазме крови повышаются, когда уровни фолиевой кислоты в крови ниже половины от нормального диапазона [11,24].

Гомоцистеин, $C_4H_9NO_2S$; средняя молекулярная масса 135,19; IUPAC название: 2-амино-4-сульфанил бутановая кислота [11].

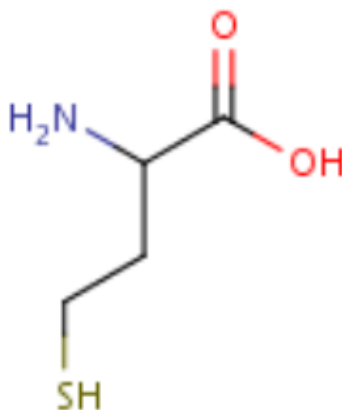


Рис.16. Структурная формула гомоцистеина [11]

Химическая таксономия, заместители: карбоновая кислота; алкилтиол, первичный алифатический амин (алкиламин); тиол (сульфанил соединения). Биологическая функция: компонент метаболизма ГЛИ, СЕР И ТРЕ; МЕТ; метаболизма селеноаминокислот; биосинтеза убихинона. Клеточная локализация: цитоплазма Метаболический путь: метаболизм бетаина, биосинтез катехоламинов, метаболизм СЕР и ГЛИ; деградация гомоцистеина, метаболизм метионина. В метаболизме ГОЦИСТ принимают участие 7 ферментов [11]. ГОЦИС является промежуточным метаболитом серосодержащей АК МЕТ, на пути преобразования в цистатионин при участии витамин B_6 -зависимых ферментов. Обмен ГОЦИС связан с метаболизмом серосодержащих АК (МЕТ, ТАУ и ЦИС) и является зависимым от витамина B_{12} , фолиевой кислоты, витамина B_6 и бетаина в качестве первичных кофакторов. Нарушения метаболизма ГОЦИС могут проявляться психозами, атеросклерозом, инсультами, инфарктами.

Концентрация ГОЦИС в плазме составляет около 10 мкмоль/л, однако даже умеренная гипергомоцистеинемия приводит к увеличению числа случаев сердечно-сосудистых заболеваний и болезни Альцгеймера. Повышение уровня ГОЦИС в крови может быть обусловлено витаминной недостаточностью, полиморфизмом ферментов, которые принимают участие в метаболизме МЕТ и заболеваниями почек. Пиридоксаль, фолиевая кислота, рибофлавин, витамин

В₁₂ принимают участие в метаболизме МЕТ, и дефицит каждого из этих витаминов приводит к повышению уровня ГОЦИС в плазме крови. Полиморфизм метилентетрагидрофолатредуктазы (С677Т), который является распространенным в большинстве популяций (частота гомозиготности 10-15%), связан с умеренной гипергомоцистеинемией, особенно при недостаточном потреблении фолиевой кислоты. Уровень ГОЦИС в плазме крови обратно пропорционален уровню креатинина плазмы крови у больных с почечной патологией, что связано с нарушением удаления ГОЦИС при данной патологии.

ГОЦИС является независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, который можно модифицировать питанием и, возможно, физическими упражнениями. ГОЦИС был впервые выявлен в качестве важного биологического соединения в 1932 году и связан с патологией в 1962 году, когда повышенные уровни ГОЦИС в моче были обнаружены у детей с задержкой психического развития. Это заболевание называется гомотеинурией, которая ассоциируется с окклюзионной кардио-васкулярной патологией (даже в детском возрасте). Эти данные позволили провести целый ряд исследований о соотношении повышенных уровней ГОЦИС и сердечно-сосудистых заболеваний в различных популяциях, в том числе, среди лиц среднего и пожилого возраста без традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [4,5,12]. Избыток ГОЦИС может быть связан с дефицитом витамина В₆ и, вероятно, дефицитом цинка, которые играют роль в способности организма к регенерации клеток.

Кроме того, S-аденозилгомотеин можно рекомендовать при терапии некоторых форм психоза. ГОЦИС, который, предположительно, накапливается в результате дефицита витамина В₆, идентифицируется как главный фактор в развитии сосудистых нарушений, вызывающих атеросклероз. Дефицит цинка также может играть определенную роль в этом процессе. Помимо лечения атеросклероза путем снижения уровня холестерина, может быть показано лечение путем уменьшения уровня ГОЦИС.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК – аминокислота
АЛА (ALA) – аланин
АРГ (ARG) – аргинин
АСН (ASN) – аспарагин
АСП (ASP) – аспарагиновая кислота
ГИПРО (HYPRO) – гидроксипролин
ГИС (HIS) – гистидин
ГЛИ (GLY) – глицин
ГЛН (GLN) – глютамин
ГЛУ (GLU) – глютаминовая кислота
ЛИЗ (LYS) – лизин
ОРН – орнитин
ПРО (PRO) – пролин
СЕР (SER) – серин
ТАУ (TAU) – таурин
ТИР (TYR) – тирозин
ТРЕ (THR) – треонин
ТРП (TRP) – триптофан
ЦИС (CYS) – цистин
ЦНС – центральная нервная система

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии – Спб.: ЭЛБИ, 2000. – 688 с.
2. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т.; пер с англ./Под ред. Л.М. Гинопмана. - М.:Мир, 1993. - Т. 1. - 381 с; Т. 2.-414 с.
3. Новикова И.В. Свободные аминокислоты крови в диагностике наследственных болезней обмена у детей высокого генетического риска: Дис. канд. мед. наук: 03.00.15.- Харьков, 2008.- 154 с.
4. Allen JW, Shanker G, Tan KH, Aschner M: The consequences of methylmercury exposure on interactive functions between astrocytes and neurons. *Neurotoxicology*. 2002 Dec;23(6):755-9. Pubmed: 12520765
5. Brosnan JT. Homocysteine and cardiovascular disease: interactions between nutrition, genetics and lifestyle. *Can J Appl Physiol*. 2004 Dec;29(6):773-80.
6. Brown AS1, Susser ES. Homocysteine and schizophrenia: from prenatal to adult life.// *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005 Sep;29(7):1175-80.)
7. Bulaj G, Kortemme T, Goldenberg DP: Ionization-reactivity relationships for cysteine thiols in polypeptides. *Biochemistry*. 1998 Jun 23;37(25):8965-72. Pubmed: 9636038
8. Cynober LA: Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition*. 2002 Sep;18(9):761-6. Pubmed: 12297216.
9. de Koning TJ, Snell K, Duran M, Berger R, Poll-The BT, Surtees R. L-serine in disease and development. *Biochem J*. 2003 May 1;371(Pt 3):653-61.
10. <http://www.dcnutrition.com/aminoacids/>
11. <http://www.hmdb.ca/metabolites/>
12. Joubert LM1, Manore MM. Exercise, nutrition, and homocysteine. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2006 Aug;16(4):341-61.
13. Kelleher P.C. Urinary excretion of hydroxyproline, hydroxylysine and hydroxylysine glycosides by patients with Paget's disease of bone and carcinoma with metastases in bone.*Chim Acta*. 1979 Mar 15;92(3):373-9.)

14. Koike K1, Li Y, Seo M, Sakurada I, Tezuka K, Uchikura K. Free 4-hydroxyproline content in serum of bedridden aged people is elevated due to fracture. *Biol Pharm Bull.* 2000 Jan;23(1):101-3.).
15. Lee KW, Kim SJ, Park JB, Lee KJ. Relationship between depression anxiety stress scale (DASS) and urinary hydroxyproline and proline concentrations in hospital workers. *J Prev Med Public Health.* 2011 Jan;44(1):9-13. doi: 10.3961/jpmph.2011.44.1.9.
16. Moloney M. G. Excitatory amino acids. // *Natural Product Reports.* 2002. P. 597—616
17. Nakano E1, Williamson MP, Williams NH, Powers HJ. Copper-mediated LDL oxidation by homocysteine and related compounds depends largely on copper ligation.// *Biochim Biophys Acta.* 2004 Jan 20;1688(1):33-42.)
18. Nenad Blau, Marinus Duran, K. Michael Gibson. *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics*//Foreword by C. R. Scriver, 2008 Springer-Verlag-Berlin - Heidelberg. – P 860
19. Nogueira Ade C1, Vale RG, Gomes AL, Dantas EH. The effect of muscle actions on the level of connective tissue damage. *Res Sports Med.* 2011 Oct;19(4):259-70. doi: 10.1080/15438627.2011.608046
20. *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*/Ed. by N. Blau, M.Duran, M.E.Blaskovics. – UK: Chapman&Hall Medical, 1996. - 508p.
21. Sakata, Y., Owada, Y., Sato, K., Kojima, K., Hisanaga, K., Shinka, T., Suzuki, Y., Aoki, Y., Satoh, J., Kondo, H., Matsubara, Y., Kure, S. Structure and expression of the glycine cleavage system in rat central nervous system. *Molec. Brain Res.* 94: 119-130, 2001. .
22. Sengupta S1, Wehbe C, Majors AK et al Relative roles of albumin and ceruloplasmin in the formation of homocystine, homocysteine-cysteine-mixed disulfide, and cystine in circulation. *J Biol Chem.* 2001 Dec 14;276(50):46896-904. Epub 2001 Oct 9.).

23. Van Hove JL, Vande Kerckhove K, Hennermann JB, et.al. Benzoate treatment and the glycine index in nonketotic hyperglycinaemia. *J Inherit Metab Dis.* 2005;28(5):651-63.)
24. Zschocke J., Hoffman G. *Vademecum Metabolicum: manual of metabolic pediatrics* /Ed. by J.V.Leonard. - Stuttgart: Schattauer, 1999. - 111p.

ГЛАВА 4

ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

4.1. Врожденные ошибки метаболизма

Наследственные болезни обмена (НБО) АК занимают особое место в большом спектре генетически обусловленной патологии детского возраста [1-5, 19,20,22,]. Эта группа патологии встречается часто, возможно, ввиду сложности биохимической организации белкового обмена и, как следствие, вероятность нарушения различных звеньев метаболизма возрастает. Типичные аминокислотнопатии – результат нарушения обмена АК в цитозоле. Дефицит некоторых митохондриальных ферментов (дегидрогеназ разветвленных кетокислот – болезнь кленового сиропа или недостаточность орнитинаминотрансферазы – извилистая атрофия радужки) – классифицируются как аминокислотнопатии [21].

У пациентов с «врожденной ошибкой метаболизма» имеет место первичный ферментативный дефект и наблюдается повышение уровня одной или более АК в крови и/или моче, что ведет к множественным нарушениям функции различных органов и систем. Избыточные уровни АК или их метаболитов, оказывают токсическое действие на организм и вызывают тяжелые клинические нарушения. Вследствие высокой чувствительности нервной ткани к дисбалансу АК, частым клиническим проявлением этих заболеваний является умственная отсталость, неонатальные судороги. НБО составляют 18% от всех синдромальных эпилепсий. Заболевания, связанные с нарушениями обмена АК, сопровождаются следующими изменениями в головном мозге: уменьшением количества миелина, астроцитозом, пористым изменением белого вещества. Метаболические нарушения, как правило, проявляются при рождении или в неонатальном периоде. Для большинства НБО характерна манифестация преимущественно в детском возрасте, однако «мягкие» формы могут проявляться в течение всей жизни больного [3,4,13]. Ранняя диагностика НБО возможна на доклиническом этапе, если врач будет

учитывать распространенные и легко определяемые признаки: черепно-лицевые дизморфии, мышечную гипотонию, судорожный синдром, необычный запах мочи, опрелости, задержку моторного развития, пренатальную гипоплазию или макросомию, ангиэктазии, пигментные пятна, изменения кожи [1,4,19,23].

Предложена следующая классификация нарушений обмена АК [13,20]:

1. Нарушения детоксикации аммиака – вещества, высоко токсичного для центральной нервной системы (ЦНС). К ним относятся дефекты ферментов цикла мочевины и другие нарушения механизмов его детоксикации, клинически проявляющиеся энцефалопатией и гипераммониемией.

2. Витамин-зависимые нарушения. Дефицит витаминов-кофакторов может затрагивать различные метаболические пути и приводить к широкому диапазону клинических признаков: энцефало-нейропатии, часто с дополнительными гематологическими нарушениями типа мегалобластной анемии и тромбоэмболических осложнений, например при гомоцистинурии (ГЦУ).

3. Недостаточность тетрагидробиоптерина BH_4 – группа заболеваний, затрагивающих обмен фенилаланина (ФЕН), биосинтез катехоламинов и серотонина. Фенотипически, в большинстве случаев, наблюдается гиперфенилаланинемия (ГФА) и недостаточность предшественников нейротрансмиттеров – L-ДОФА и 5-гидрокситриптофана. При некоторых вариантах мутаций ГФА может не наблюдаться.

4. Нарушения транспорта АК – недостаточность кишечного и/или почечного транспорта – могут быть бессимптомные формы заболеваний, а также формы с тяжелыми клиническими проявлениями.

Для некоторых заболеваний характерно сочетание умственной отсталости со следующими клиническими особенностями: с патологией зрения – при ГЦУ; с судорожным синдромом – при некототической гиперглицинемии, карнозинемии, ФКУ, нарушениях метаболизма АК цикла мочевины, гиперлизинемии; с поражением кожи – при ФКУ, наследственной

ксантуренурии, гистидинемии. При аргининемии наблюдаются поражение печени и ЦНС, при гиперпролинемии, цистатионурии – нарушения слуха. При НБО АК дети рождаются, как правило, доношенными, после нормально протекающей беременности. Динамика показателей физического развития в грудном возрасте не отличается от таковой у здоровых детей. Начальные признаки заболеваний проявляются в течение 1-го года жизни. НБО АК с ранней манифестацией начинаются с внезапного ухудшения состояния и проявлений энцефалопатии (нейро-дистресс-синдром) [18,20]. Часто нарушения функции ЦНС, возникающие в результате нарушений обмена АК, ошибочно трактуются как последствия перенесенной асфиксии, родовой травмы, нейроинфекции. В результате поздней диагностики развиваются необратимые изменения ЦНС. Своевременная диагностика и своевременно начатое лечение, в большинстве случаев предупреждают УО за счет специфической диеты и реабилитации. Наряду с задержкой психомоторного развития (ЗПМР) и неврологическими синдромами, большое значение для дифференциальной диагностики НБО АК имеют сопутствующие изменения в других органах и системах [18,20,23].

Ниже приведено описание некоторых аминокислотопатий с ранней клинической манифестацией, характеризующихся множественными нарушениями. Дефект митохондриальной орнитинтранскарбамоилазы обусловлен мутацией Хр21.1, сопровождается судорогами, угнетением ЦНС, респираторным алкалозом, рвотой, респираторными нарушениями, гепатомегалией, тремором, гипо - или гипертонусом. Тканевая локализация фермента - печень, кишечник, почки. Лабораторными маркерами заболевания являются снижение уровней мочевины, цитрулина (ЦИТ), аргинина (АРГ) крови, повышение уровней аммиака (NH_3), трансаминаз, глутамина (ГЛН), аспарагина (АСН), аланина (АЛА). С мочой экскретируются оротат, оротидин, урацил.

Аргининянтарная ацидурия обусловлена дефектом цитозольной аргининсукцинатлиазы, преимущественно локализованной в печени, почках,

фибробластах, эритроцитах, мозге. Заболевание характеризуется респираторными расстройствами, судорогами, угнетением ЦНС, гепатомегалией, гипо- или гипертонусом, коагулопатиями. При лабораторном исследовании отмечают снижение уровней мочевины, АРГ крови, повышение уровней NH_3 , трансаминаз, ГЛН, АСН, АЛА, ЦИТ, аргининянтарной кислоты (АЯК); в моче выявляют высокие уровни АЯК, оротата, оротидина, урацила. Дефект цитозольной аргининсукцинатсинтетазы, преимущественно локализованной в печени, почках, фибробластах приводит к цитруллинемии, клинически проявляющейся респираторными расстройствами, судорогами, угнетением ЦНС, гепатомегалией, интенционным тремором, гипо- или гипертонусом, коагулопатиями. Мутация локализована на хромосоме 7cen-q11.2. При лабораторном исследовании отмечают снижение уровней мочевины, АРГ крови, повышение уровней NH_3 , трансаминаз, ГЛН, АСН АЛА и, в большей мере, ЦИТ. С мочой экскретируются оротат, оротидин, урацил мочи [14,19-20,23].

К НБО АК с ранней манифестацией относят также некототическую гиперглицинемию (дефект глицин-расщепляющей системы), обусловленную мутацией 9p13. У детей отмечают судороги, мышечную гипотонию, апноэ, летаргию/кому, задержку развития. При лабораторных исследованиях выявляют повышение уровня ГЛИ крови, мочи, спинно-мозговой жидкости (СМЖ), а также соотношения ГЛИ крови/СМЖ [10].

Тирозинемия 1 типа – заболевание периода новорожденности с острым началом. Клинические признаки: желтуха, асцит, снижение веса, признаки рахита, гепатомегалия, цирроз, тубулопатия, рвота, диарея, неврологические кризы, склонностью к кровоточивости. Хромосомная локализация - 15q23 – q25. Отмечают повышение уровней тирозина (ТИР), метионина (МЕТ), альфа-фетопротеина, трансаминаз при снижении уровня рН, гемоглобина, уровней глюкозы, фосфора, лейкоцитов, тромбоцитов, факторов свертывания крови. С мочой экскретируются 4-ОН-фенилпировиноградная кислота, фениллактат, фенилацетат.

Такие заболевания, как фенилкетонурия (ФКУ), гистидинемия, пролинемия, гиперлизинемия имеют более поздние сроки манифестации. Гипераминоацидемии, которая развивается вследствие наследственных нарушений обмена АК, составляют особую группу. Как правило, гипераминоацидемия сопровождается гипераминоацидурией. В основе развития гипераминоацидурии – повышенного выведения АК с мочой, как правило, лежат нарушениями тканевого обмена АК или их транспорта на уровне клеточных мембран почечных канальцев. Выделяют несколько групп гипераминоацидурии, в зависимости от патогенеза. Представлен перечень патологических состояний, обусловленных нарушением обмена АК (табл.4.1).

Гипераминоацидурия может быть обусловлена как внепочечными, так и почечными факторами. При почечной форме основная причина увеличения количества АК в моче – нарушение их реабсорбции в почечных канальцах на фоне неизмененного метаболизма АК. Клетки проксимальных канальцев почек обладают ферментными системами, участвующими в реабсорбции АК. АК в свободной форме фильтруются в почечных клубочках и почти полностью реабсорбируются в канальцах. Органические поражения почек не всегда сопровождаются гипераминоацидурией [1-8].

Наиболее резкие нарушения обмена АК, сопровождающиеся повышением их концентрации в моче, отмечаются при поражении клубочков. К гипераминоацидурии почечного происхождения относятся наследственно обусловленные заболевания: цистиноз, цистинурия, гепатолентикулярная дегенерация (болезнь Вильсона), окуло-церебральная дистрофия, галактоземия. При цистинозе и болезни Фанкони основной метаболический дефект связан с врожденным нарушением реабсорбции почти всех АК (за исключением циклических), вследствие чего повышается экскреция АК в 5-10 раз, ЦИС – в 20-30 раз, наблюдается избирательное отложение последнего в селезенке, почках, коже.

Таблица 4.1

Патологические состояния, обусловленные нарушением обмена АК

[3,4,8,19,20,22]

Перечень патологических состояний	Биохимический механизм	Заболевания
Гипераминоацидемия, которая сопровождается гипер-аминоацидурией	Ферментативный дефект на пути превращения АК или их метаболитов	Наследственные заболевания: ФКУ, пролинемия, цитруллинемия, гистидинемия, болезнь кленового сиропа, лизинемия, гомоцистинурия, метионинемия и др.
Наследственные нарушения транспорта АК	Угнетение транспортной системы почечных канальцев	Нарушения: а) группоспецифического механизма транспорта основных АК; нейтральных АК, иминокислот и ГЛИ; б) специфического механизма транспорта лизина (ЛИЗ), ГЛИ, цистина (ЦИС)
Вторичные аминоацидурии при нормоацидемии	Обусловлены действием различных факторов на систему транспорта АК в почках	Заболевания, ведущие к нарушению синтеза или активности ферментов белкового обмена (некроз печени, тяжелые ожоги, радиационные поражения, гиповитаминозы)

Цистинурия – распространенное генетически детерминированное заболевание, при котором в 40-50 раз увеличивается выведение с мочой ЦИС, ЛИЗ, АРГ и орнитина (ОРН). Это заболевание связано с практически полным блокированием реабсорбции и частичным блокированием всасывания ЛИЗ, АРГ и ОРН в канальцах почек. Цистинурия вызывает образование камней в почках. Среди детей с дисметаболической нефропатией, больные со вторичной цистинурией составляют около 5%.

Причиной гепатолентикулярной дегенерации является генетически обусловленное нарушение синтеза церулоплазмينا. Накопление меди в почечных канальцах вторично приводит к нарушению реабсорбции АК. Комплексные соединения меди с АК не подвергаются обратному всасыванию в

канальцах. Окуло-церебральная дистрофия характеризуется резким увеличением экскреции АК с мочой, а также отставанием умственного развития и наследственной глаукомой. Непосредственной причиной гипераминоацидурии при галактоземии считают специфическое поражение ферментных систем, осуществляющих реабсорбцию АК в почечных канальцах.

Гипераминоацидурия не всегда является патологическим симптомом, она может наблюдаться при ряде физиологических состояний. У новорожденных вследствие недостаточного развития транспортных систем канальцев повышается выведение АК с мочой. Гипераминоацидурия у новорожденных может развиваться вторично, при нарушении промежуточного обмена некоторых АК. При увеличении концентрации АК в крови развивается внепочечная гипераминоацидурия, как результат изменения активности ферментов, метаболизирующих АК, или вторично, при различных формах печеночной патологии и ряде других заболеваний.

Снижение содержания АК в крови отмечается у больных с нефрозами, после введения глюкозы, инсулина, гормона роста, андрогенов.

При 5-оксопролинурии у больных с прогрессирующими неврологическими симптомами, отмечается низкая экскреция с мочой ЦИС, таурина (ТАУ), а также низкий уровень лейкоцитарного ТАУ.

Одним из наиболее часто встречающихся дефектов метаболизма АК является ФКУ. Заболевание обусловлено снижением или отсутствием фермента фенилаланингидроксилазы, отвечающего за превращение ФЕН в ТИР. При ФКУ в крови накапливаются ФЕН и патологические продукты его метаболизма, приводящие к нарушению миелинизации, повреждению паренхимы печени и целому ряду других метаболических расстройств (снижение синтеза меланина, катехоламинов, дофамина и других) [11-12,15,16,17]. При не леченных формах патологии развиваются: 1) неврологические нарушения – ЗПМР, судороги или эпи-эквиваленты, нарушения мышечного тонуса и рефлекторной сферы, аномалии поведения и т.д.; 2) поражение желудочно-кишечного тракта – рвота, снижение аппетита,

умеренное увеличение печени; 3) почек - вторичная тубулопатия, обусловленная выведением патологических продуктов метаболизма, придающих специфический запах моче; 4) кожные изменения – дерматиты, экзема, гипопигментация кожи и ее дериватов. Длительное время существовала концепция о ФКУ, как о болезни, контролируемой одним геном. Было известно, что тяжесть заболевания, степень поражения интеллекта колеблется от незначительной до тяжелой. Наряду с «классической» формой ФКУ, обусловленной мутацией гена, контролирующего синтез ФА-4-гидроксилазы (локализован в 12q 22-24.2), что ведет к дефициту этого фермента, выделено еще 11 типов мутаций. В настоящее время известно около 400 мутаций в гене, кодирующем ФА-4-гидроксилазу, в результате чего развивается ФКУ или ГФА [9,15-17]. В результате поражения различных генов, контролирующих разные звенья одного и того же метаболического процесса, развивается общая клиническая картина. Таким образом, ФКУ – это группа моногенных рецессивных заболеваний со сходным патогенезом и клиникой. Можно выделить 3 главных, общих для них признака: 1) повышение уровня ФА в крови; 2) аутосомно-рецессивный тип наследования; 3) начало в раннем детском возрасте. Концентрация ФЕН крови, превышающая терапевтическую, может приводить к проблемам с успеваемостью в школе, нарушениям исполнительной деятельности у детей, изменениям белого вещества мозга, снижению IQ, а также оказывать тератогенное влияние на плод в период беременности женщин с ФКУ. У детей с ФКУ в соответствии с рекомендациями в США поддерживают концентрацию ФЕН крови в интервале 120-360 мкмоль/л (от 0-13 лет); до 900 мкмоль/л (старше 13 лет). В Европе допустимый уровень ФЕН у взрослых составляет 1200 мкмоль/л. Для получения допустимого уровня ФЕН крови были предприняты поиски альтернативных способов снижения уровня этой АК. Дополнительно назначают L-эритро-5,6,7,8-тетрагидро-биоптерин (ВН₄) в лечении ФКУ. Отмечено, что у пациентов с «мягкой» ФКУ, «мягкой» миссенс-мутацией на одном аллеле, назначение ВН₄ приводило к значительному снижению уровня ФЕН крови.

Опыт применения ВН_4 показал, что около 50 % пациентов реагируют на ВН_4 , но только около 10% нуждаются в монотерапии, остальные 40 % пациентов, реагирующих на введение ВН_4 , требуют дополнительно диеты с ограничением ФЕН [1-5,11-13].

Интерес к возможности больших нейтральных АК (БНАК) снижать уровень ФЕН в мозге появился в 1976 году с работы Oldendorf. Было доказано, что для транспорта АК через гемато-энцефалический барьер необходим переносчик белка [15]. Большие нейтральные АК и катионные АК (ФЕН, ТИР, триптофан (ТРП), треонин (ТРЕ), изолейцин (ИЛЕ), лейцин (ЛЕЙ), валин (ВАЛ), МЕТ, ЛИЗ, АРГ и гистидин (ГИС)) конкурируют между собой, используя общий белок-переносчик через гематоэнцефалический барьер. Было доказано, что перенос БНАК через гемато-энцефалический барьер зависит от аффинности каждой АК к белку-переносчику. Дальнейшие исследования направлены на изучение гемато-энцефалического барьера и снижение уровня ФЕН в мозге [15-17].

Нарушения обмена серосодержащих АК оказывают патологическое действие на жизненно важные органы и системы. Увеличение уровня гомоцистина (ГЦ) в крови приводит к образованию некротически-дегенеративных участков в почках, селезенке, слизистой оболочке желудка, костной системе, сосудах. Гомоцистинурия (ГЦУ) характеризуется умственной отсталостью, очаговой неврологической симптоматикой, эктопией хрусталиков, скелетными деформациями, тромбоэмболией и сердечнососудистой патологией. Заболевание варьируется по возрасту и клиническим признакам, чаще всего манифестирует в детском и юношеском возрасте. Изменения со стороны сердечнососудистой системы встречаются часто у молодых людей (до 30 летнего возраста) и характеризуются нарушением обменных процессов в миокарде, развитием тромбоэмболий в артериальных сосудах мелкого и среднего калибра. Ограничение поступления с пищей МЕТ, начатое в неонатальном периоде, предупреждает умственную отсталость, снижает степень эктопии хрусталиков, появления первичной тромбоэмболии. На примере ГЦУ I

типа, обусловленной дефектом цистатионин β -синтазы, представлены клинические признаки заболевания: тромбоз, остеопороз, дислокация хрусталиков, марфаноподобные аномалии, часто умственную отсталость. При лабораторном исследовании отмечают повышение уровня МЕТ крови, ГЦ крови и мочи. Диета с ограничением МЕТ, обогащенная ЦИС и В₆, дает возможность предупредить развитие заболевания [19,20,23].

ЦИС является предшественником тиюэтаноламинового фрагмента кофермента А и ТАУ, образующего конъюгаты с желчными кислотами. ТАУ играет важную роль в развитии ткани мозга и сетчатки глаз, участвует в передаче нервных импульсов, поддержании структуры клеточной и субклеточной мембран, осморегуляции, способствует сократительной функции миокарда. ТАУ – тормозной нейротрансмиттер. При проведении опытов на животных установлено, что самановая и каиновая кислоты, вызывающие судороги, повышают уровень ТАУ в 2-4 раза. В отсутствие судорог выброса ТАУ не наблюдается, так как данная АК противоположна действию эпилептогенных аспарагиновой (АСП) и глутаминовой (ГЛУ) кислот. Тауринурия отмечается у лиц, страдающих камптодактилией, с аутосомно-доминантным типом наследования [1,5,7].

Нарушения катаболизма АК цикла мочевины приводят к образованию аммиака, высокотоксичного для ЦНС. Клиническими симптомами, общими для всех нарушений цикла мочевины, являются рвота, отвращение к богатой белками пище, нарушение координации движений, раздражительность, сонливость и умственная отсталость (табл. 4.2). В качестве лечения назначают ограничение белка, прием пищи часто, небольшими порциями [14].

Метаболические нарушения катаболизма АЛА, ГЛН и АСН не описаны, вероятно, из-за того, что любой дефект в функционировании трансаминаз оказывается несовместимым с жизнью. β -АЛА является, в основном, продуктом катаболизма урацила, карнозина и ансерина. Редкое метаболическое нарушение гипер- β -аланинемия характеризуется повышением уровня

свободного β -АЛА, ТАУ и β -аминобутирата в плазме, СМЖ и моче, а также в тканях мозга, печени почек и в скелетных мышцах [23].

Таблица 4.2

НБО, обусловленные дефектами ферментов цикла мочевины [7,14,19,20]

Заболевание, дефектный фермент	Биохимические изменения	Тканевая локализация	Хромосомная локализация
Гипераммониемия, тип 1 карбоамилфосфатсинтаза	Повышение уровня NH_3 крови	Печень, кишечник (митохондрии)	2p
Гипераммониемия, тип 2 орнитинтранс карбоамилаза	Повышение уровня ГЛН крови, мочи	Печень, кишечник, почки (митохондрии)	Xp21.1
Цитруллинемия аргининосукцинат синтаза	Цитруллинемия/урия	Печень, почки, фибробласты (цитозоль)	9q34
Аргининянтарная ацидурия аргининсукцинат лиаза	Экскреция азотсодержащих метаболитов	Печень, почки, фибробласты, эритроциты, мозг (цитозоль)	7cen-q11.2
Гипераргининемия аргиназа	Повышение уровня АРГ в крови и смж, ГИПЕРАМИНО АЦИДУРИЯ	Печень, почки, эритроциты, (цитозоль)	6q23

ТРЕ является незаменимой АК, дезаминируется до α -кетомасляной кислоты и распадается до янтарной через образование пропионовой кислоты. НБО ТРЕ сопровождаются повышением его уровня в крови и моче, характеризуются эпизодическими судорогами и отставанием развития.

Нарушения катаболизма ГИС обусловлено дефицитом фермента гистидазы. Тип наследования заболевания – аутосомно-рецессивный. У больных отмечается повышение уровня ГИС в крови и моче, а также возрастание экскреции имидазолпирувата. Клинически патология проявляется умственной отсталостью, дефектами речи.

ТИР относится к ароматическим АК, он принимает участие в образовании ацетил-СоА без промежуточного образования пирувата. Для нарушений катаболизма ТИР характерны тяжелые клинические нарушения. Тирозинемия 1 типа (тирозиноз), обусловлена дефицитом фумарилацетоацетат-гидролазы и малеилацетоацетатгидролазы.

При острой форме для периода новорожденности характерны понос, рвота, «капустный запах» мочи, задержка развития. В возрасте 6-8 месяцев наступает летальный исход от печеночной недостаточности. Хроническая форма характеризуется менее выраженной симптоматикой. При биохимическом исследовании отмечают повышение уровня ТИР, МЕТ и некоторых других АК крови. Лечение состоит в назначении диеты с ограничением ТИР, ФЕН, иногда и МЕТ.

Тирозинемия 2 типа (синдром Ричнера-Хангарта) обусловлена недостаточностью тирозинтрансаминазы. Заболевание проявляется умственной отсталостью, ладонным и подошвенным точечным гиперкератозом, герпетиформными язвами роговиц без нарушения функции печени и почек. Характерно повышение уровня ТИР крови и повышенная экскреция ТИР и его метаболитов с мочой. Лечение состоит в ограничении поступления с пищей ТИР и ФЕН. Тирозинемия новорожденных (недостаточность *p*-ОН-фенилпируватгидроксилазы), сопровождается повышением уровня ТИР и ФЕН в сыворотке крови. Течение заболевания преимущественно бессимптомное, но иногда могут наблюдаться летаргия, снижение двигательной активности. Изменения корректируются после приема витамина С. Дефицит фермента гомогентизат оксидазы клинически проявляется алкаптонурией, для которой характерны охроноз (пигментация соединительной ткани), артриты, повышенная экскреция гомогентизата с мочой. Для хокинсинурии (тирозилурия), заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования, характерны выраженный метаболический ацидоз, отставание в росте. При биохимическом исследовании отмечают непостоянное повышение уровня ТИР крови, повышенную экскрецию органических кислот с мочой. В результате

дефекта образования меланина развивается альбинизм, для которого известно 6 вариантов. Различные формы патологии клинически характеризуются нарушением рефракции, страбизмом, нистагмом, светобоязнью, локализованными участками депигментации, снижением остроты зрения, нейтропенией, склонностью к пиогенным инфекциям, геморрагическим диатезам, гипопигментацией, фиброматозом десен, спастичностью, атетоидными движениями [19,20,23].

К нарушениям метаболизма пролина (ПРО) относится гиперпролинемия 1 типа, обусловленная дефицитом фермента – пролиноксидазы. У больных отмечают повышение уровня ПРО крови. Клиническая картина характеризуется вариабельностью и непостоянством: от бессимптомного течения до нарушений в виде глухоты, патологии почек, тяжелой умственной отсталости, судорожного синдрома. Пролинемия 2 типа, обусловлена дефектом фермента пролиндегидрогеназы и сопровождается повышением уровня ПРО, гидроксипролина (ГИПРО). Заболевание характеризуется судорогами, снижением IQ, реже – угнетением ЦНС, парезами, параличами.

ТРП был одной из первых АК, отнесенных к незаменимым, так как он участвует в многообразных метаболических реакциях. К нарушениям обмена ТРП относят болезнь Хартнупа, которая характеризуется появлением пеллагроподобной сыпи на коже, перемежающейся мозжечковой атаксией и умственной отсталостью. С мочой экскретируются повышенные количества индолацетата и ТРП. На фоне генерализованной гипераминоацидурии отмечают нормальный уровень АК крови за исключением сниженного содержания ТРП, что обусловлено нарушением абсорбции данной АК в кишечнике. При выявлении умеренного повышения уровня ТРП крови, триптофанурии без гипераминоацидурии у больных диагностируют триптофанию, характеризующуюся умственной отсталостью, карликовостью, мозжечковой атаксией и пеллагроподобной сыпью. Частичный дефект фермента кинуренингидроксилазы, принимающего участие в метаболизме ТРП, клинически проявляющийся склеродермией, классифицируется как

кинуруенинурия. Так как пиридоксальфосфат является коферментом многих реакций, вовлеченных в процессы метаболизма АК, введение больших доз пиридоксина может снижать клинические проявления нарушений и оказывать положительную динамику.

Учитывая структурное сходство таких АК, как ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАЛ, первые этапы обмена идут по общему пути. Известны 4 заболевания, связанных с нарушениями катаболизма этих АК с разветвленной цепью. Данные дефекты сопровождаются повышением уровня ЛЕЙ, ИЗО, ВАЛ крови и мочи, часто гипогликемией. Различают классическую, интермиттирующую, умеренно выраженную и тиамин зависимую формы болезни кленового сиропа. Острая форма проявляется рвотой, летаргией и комой на первой неделе жизни ребенка. У большинства детей отмечают судороги. Неврологические изменения сходны с таковыми, как при сепсисе или менингите. Нарушение процесса переаминирования ВАЛ с образованием α -кетоизовалерата приводит к гипервалинемии и сопровождается повышением содержания этой АК в крови, задержкой умственного развития и роста. При лейцин-изолейцинемии отмечают повышение уровня ПРО, ВАЛ, ЛЕЙ, ИЗО крови, что клинически проявляется умственной отсталостью, судорогами, дегенерацией сетчатки, нейрогенной глухотой, снижением массы тела.

Промежуточными метаболитами АК с разветвленной цепью являются органические кислоты (ОК), повышенный уровень которых вызывает выраженный метаболический ацидоз. Общими клиническими признаками данной группы заболеваний являются: отказ от пищи, рвота, ацидоз, дегидратация, нейтропения. Органические ацидемии (ОА) не ограничиваются дефектами путей катаболизма АК с разветвленной цепью. ОК накапливаются в организме в результате нарушений метаболизма некоторых АК (ЛИЗ, ГЛИ, ТИР и других АК), жирных кислот и других промежуточных метаболитов.

При метаболических нарушениях L-ЛИЗ в результате первичного нарушения обмена блокируется превращение α -кетоглутарата в сахаропин. При периодической гиперлизинемии потребление белка вызывает повышение

концентрации ЛИЗ в тканях и, как следствие, вторичную гипераммониемию. В период приступов у больных может повышаться уровень АРГ и ЦИТ в плазме. Симптомы стойкой гиперлизинемии переменны: от бессимптомных форм до выраженной умственной отсталости, задержки физического развития, «разболтанности суставов», судорог.

Вследствие нарушения реабсорбции ГЛИ в канальцах почек, развивается глицинурия. У больных отмечают повышенную экскрецию ГЛИ с мочой при нормальном содержании последнего в крови. Сочетание дефекта фермента глицинтрансминазы и нарушения окисления глиоксилата в формиат приводят к первичной гипероксалурии, которая сопровождается повышенной экскрецией оксалатов с мочой, и прогрессирующим двусторонним образованием оксалатных камней в мочевыводящих путях, нефрокальцинозом.

Появление новых диагностических методов дало возможность зарегистрировать около 60 заболеваний и их вариантов, характеризующихся накоплением ОК в крови и в моче. Симптомкомплекс, называемый «кетотической гиперглицинемией», не представляет собой единой нозологической формы, а служит проявлением различных ОА, при которых ОК ингибируют ферментные системы, участвующие в расщеплении ГЛИ. Повышение уровня ГЛИ крови наблюдается при различных ОА, например при пропионовой, метилмалоновой, изовалериановой ацидемиях, дефиците кетотиолазы. В патогенезе некетотической гиперглицинемии важную роль играет токсическое действие ГЛИ на ЦНС. Заболевания манифестируют в неонатальном периоде и характеризуются глубокой умственной отсталостью, судорогами, мышечным гипертонусом, респираторными расстройствами [9,22].

Серин (СЕР) расходуется для синтеза ГЛИ, ЦИС, пуринов и тимина. Он образуется из 3-фосфоглицерата и дегидратируется до пирувата. Серин-гидрокси-метилтрансфераза, при использовании тетрагидрофолата, как источник метильных групп, превращает СЕР в ГЛИ. Заболевания, связанные с недостаточностью СЕР – редко встречающаяся заболевания, с недостаточно изученной клиникой. Они характеризуются тяжелыми неврологическими

нарушениями: врожденной микроцефалией, ЗПМР, эпилепсией, иногда спастическим тетрапарезом. Описаны случаи катаракты, нарушения функции пищеварительного тракта, гипогонадизма и гипоплазии половых органов. Указанные заболевания сопровождаются снижением уровня СЕР крови при исследовании натошак; уровень ГЛИ крови может быть снижен или находиться в пределах нормы. Различают патологические состояния, связанные с недостаточностью 3-фосфоглицерат-дегидрогеназы; дефектом 3-фосфосеринфосфатазы и синдромом Williams (отсутствие эпилепсии, нормальный уровень ГЛИ крови); неизвестным энзиматическим дефектом, сочетающимся с задержкой роста, полинейропатией, ихтиозом.

В литературе [7,8,19,20] описаны случаи НБО, при которых наблюдается нарушение обмена щавелевой кислоты, сопровождающееся повышенной экскрецией этаноламина (ЭА) и фосфоэтаноламина (ФЭА). Реакция образования ФЭА из ЭА является магнием зависимой. Высокий уровень ЭА, сочетающийся с низким уровнем ФЭА может быть маркером дефицита магния. Следует отметить, что ФЭА является активным участником процессов, контролируемых межнейрональные взаимоотношения. ЭА является предшественником синтеза нейротрансммиттера – ацетилхолина, таким образом, повышение его уровня отражает снижение синтеза ацетилхолина. Кроме того, ЭА оказывает влияние на синтез ДНК, независимый от ФЭА, принимающего участие в формировании липидной мембраны.

Дефицит незаменимых АК в организме может приводить к замедлению роста, к специфическим метаболическим нарушениям (табл. 4.3) [6].

Помимо 20 АК, из которых строятся белки, в тканях человека найдены еще около 100 АК, многие из которых играют важную роль в обмене веществ. В организме встречаются алифатические моноаминокарбоновые АК – α -аминомасляная кислота (ААМ); производные ЛИЗ – α -аминоадипиновая (ААД), α -аминопимелиновая кислоты.

В составе коллагена обнаружен гидроксизин (ГИЛИЗ). Метилглицин или саркозин, метилгистидин, метилтриптофан, метиллизин обнаружены в

составе ядерных белков – гистонов. γ -аминомасляная кислота (ГАМК) играет важную роль в функционировании нервной системы. Концентрация в плазме отражает уровни ГАМК в СМЖ. У пациентов с депрессией могут наблюдаться низкие уровни ГАМК крови [20].

Таблица 4.3.

Проявления дефицита незаменимых аминокислот [6,19,20,23]

АК	Симптомы недостаточности
ГИС	Дерматит, анемия, снижения продукции гистамина, ухудшение умственной деятельности
ИЛЕ, ЛЕЙ	Поражение почек и щитовидной железы, анемия, гипопроотеинемия
ЛИЗ	Анемия, миодистрофия, остеопороз, поражение печени и легких, головная боль, повышенная чувствительность к шуму
МЕТ (С ЦИС)	Ожирение и некрозы печени, атеросклероз, надпочечниковая недостаточность, геморрагическое поражение почек, дефицит холина и адреналина, облысение
ФЕН (С ТИР)	Нарушения тиреоидной функции и недостаточность функции мозгового вещества надпочечников
АРГ	Дефект ферментов, принимающих участие в цикле мочевины, нарушение сперматогенеза
ТРП	Пеллагра, катаракта, помутнение роговицы, анемия, облысение, гипопроотеинемия, атрофия семенников, рассасывание плода, гиперплазия слизистой желудка
ВАЛ	Расстройство координации движений, гиперестезии
ТРЕ	Отеки, снижение веса

Анализ данных литературы указывает, что НБО АК сопровождаются накоплением промежуточных метаболитов, влекущих за собой тяжелые клинические изменения, затрагивающие различные органы и системы [7,13,20,23]. Токсические продукты обмена поражают в первую очередь ЦНС, что приводит к тяжелой инвалидизации детей. Часто НБО могут иметь сходные клинические изменения, которые может «распознать» только опытный генетик – специалист по метаболическим нарушениям, поэтому диагностика НБО, основанная на учете клинических особенностей ребенка с предполагаемым нарушением, практически невозможна. Вместе с тем, проведение метаболической коррекции, которая направлена на снижение токсического

воздействия метаболитов возможно на основании выявления их избыточного или недостаточного количества в биологических жидкостях организма.

4.2. Лабораторная диагностика болезней обмена аминокислот

Новые генетические технологии и методы диагностики дают возможность выявлять наследственные заболевания, ранее не диагностируемые, и заставляют пересматривать подходы к их профилактике, лечению и реабилитации [19,22]. Врожденные ошибки метаболизма суммарно встречаются примерно у каждого 500-го новорожденного. Путь в обеспечении диагностики и последующего лечения лежит через организацию «метаболических центров», в которых необходимо проводить селективный скрининг, подтверждение диагноза и биохимический контроль лечения НБО [23]. Программа биохимической диагностики НБО включает в себя скрининг тесты (качественные методы анализа с целью выявления патологических метаболитов), а также методы подтверждающей диагностики: одно- и двухмерная тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), методы газожидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, энзимодиагностику, ДНК-анализ. В большинстве развитых стран мира существуют программы массового скрининга, позволяющие выявлять некоторые НБО у новорожденных в первые недели жизни. Для исследования используется капиллярная кровь, взятая на специальную хроматографическую бумагу. Программы скрининга новорожденных позволяет рано, на бессимптомной стадии начать лечение, предупредить необратимые поражения нервной системы и другие тяжелые последствия патологии. Если результаты скрининга отрицательные, но клиническая картина заставляет заподозрить одно из заболеваний, выявляемых при скрининге, необходимо повторное проведение теста.

Для диагностики НБО рекомендуется проводить оценку клинических показателей и исследование биохимических маркеров биологических жидкостей с использованием как рутинных, так специализированных методов (табл. 4.4) [4,5,8,19,20,23].

Таблица 4.4

Лабораторные исследования при подозрении на НБО с острым началом
[4,5,8,19,20,23]

Предполагаемые нарушения	Исследование крови	Исследование мочи
Нарушения метаболизма АК	Количественный анализ АК, протромбиновое время (ПВ), частичное тромбопластиновое время (ЧТВ)	Качественные скрининг-методы, тонкослойная хроматография АК
Митохондриальные болезни	Лактат, пируват, креатинкиназа	Не проводится
Нарушения β -окисления	Мочевая кислота, креатинкиназа, карнитин, ацилкарнитины	Ацилглицин
Нарушения метаболизма углеводов	ПВ, ЧТВ, триглицериды, холестерин, мочевая кислота	Скрининг-методы, тонкослойная хроматография
Пероксисомные болезни	ПВ, ЧТВ, жирные кислоты с очень длинной цепью, фитиновая, пипеколиновая кислота, плазмалогены эритроцитов	Не проводится
Нарушения метаболизма жирных кислот	ПВ, ЧТВ, желчные кислоты	Желчные кислоты
Все больные	Общий анализ крови, кислотно-щелочное состояние, электролиты, мочевина, глюкоза, фосфор, кальций, аммиак, АСТ и АЛТ, лактат, полуколичественные методы исследования АК (тонкослойная хроматография)	Общий анализ мочи, кетоновые тела, редуцирующие вещества, АК, ОК

Современные методы ДНК-анализа в настоящее время находят широкое применение в различных областях клинической медицины, в первую очередь в диагностике наследственных болезней человека. Метод ПЦР был предложен в 1983 г. американским ученым К. Муллисом. Первый этап анализа - выделение ДНК - в процессе обработки биологического материала происходит расщепление двойной спирали ДНК. Для осуществления амплификации ДНК используются так называемые ДНК-матрицы. В основе амплификации ДНК лежит естественный процесс репликации ДНК, который осуществляется путем

удвоения единичной цепочки ДНК. Количество копий ДНК увеличивается в режиме цепной реакции. Таким образом, амплификация ДНК представляет собой многократное увеличение числа копий ДНК, которые являются высокоспецифичными. Этапы амплификации происходят при различных температурных режимах. Для проведения анализа используется программируемое оборудование - амплификатор, которое автоматически осуществляет смену температурного режима. На последнем этапе ПЦР анализа проводится детекция результатов с помощью различных методов (гель-электрофорез, детекция в режиме реального времени (Real-time), флюоресцентная детекция и др.). В результате специфической амплификации ДНК при участии полимеразы синтезируются комплементарные цепи ДНК. В качестве матрицы можно использовать любые образцы ДНК; количество копий изучаемого фрагмента ДНК можно многократно увеличить, что позволяет визуализировать заданный фрагмент ДНК на электрофореграмме, или использовать продукт амплификации для дальнейшего изучения с помощью других методов ДНК анализа. Таким образом, методы ДНК диагностики, позволяют выявить мутацию гена или предрасположенность к развитию той или иной патологии (генетический полиморфизм) [9].

Определение уровня АК в биологических жидкостях с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) помогает исключить у пациентов нарушения обмена АК, нарушения цикла мочевины а также является дополнительным методом диагностики ОА и митохондриальных заболеваний. Исследуя уровень карнитина можно косвенно диагностировать нарушения метаболизма жирных кислот, ОА.

Снижение уровня карнитина обычно отмечается в период острых метаболических расстройств, но может проявляться и на фоне хорошего самочувствия ребенка. Определение ацилкарнитина методом масс-спектрометрии необходимо для диагностики нарушений окисления жирных кислот и нарушений метаболизма ОК [1,3,23]. Экспресс-тесты мочи, как первый этап обследования больного позволяют быстро выявить ряд веществ и

являются «ключом» к дальнейшему исследованию. Тест на кетоновые тела будет положительным при нарушении метаболизма ОК и митохондриальных болезнях. Отсутствие или низкий уровень кетоновых тел в ответ на гипогликемию свидетельствует о нарушении β -окисления жирных кислот или о гликогенозе 1 типа.

Для диагностики ГЦУ и цистинурии применяют цианид-нитропруссидный тест. Динитрофенилгидразиновый тест на α -кетокислоты будет положительным при болезни кленового сиропа, нитрозонафтоловый тест позволяет выявить нарушения метаболизма ТИР при различных формах тирозинемии. Определение АК крови и мочи проводят методами ТСХ или высоковольтного электрофореза (качественный метод) с последующим исследованием методами ВЭЖХ. При подозрении на нарушения обмена АК, ОК, митохондриальные болезни проводят количественное исследование уровней АК. ОК определяют при подозрении на НБО АК и ОК, окисления жирных кислот и митохондриальные болезни. Большая группа НБ представлена ОА, которые обусловлены нарушениями метаболизма АК, углеводов, липидов, дефектами функции пероксисом, а также транспорта электронов в дыхательной цепи. Для диагностики нарушений цикла мочевины определяют оротовую кислоту в моче. Ацилкарнитин и ацилглицин образуются при связывании промежуточных продуктов метаболизма с карнитином и гли и обнаруживаются в период острых метаболических расстройств. Определение АК в СМЖ является важным для диагностики гипергликемии без кетоацидоза у грудных детей с тяжелой мышечной гипотонией, эпилепсией, задержкой развития. Диагностическим признаком является повышение отношения уровня гли смж/крови. При митохондриальных болезнях в результате повышение уровней лактата и пирувата отмечается повышение уровня АЛА крови.

Ввиду того, что при подозрении на НБО необходимо обнаружение продуктов промежуточного метаболизма, большое значение имеет забор пробы в остром периоде. После нескольких часов инфузионной терапии содержание продуктов промежуточного метаболизма уменьшается настолько, что их уже

невозможно определить. Если исследование в остром периоде невозможно или результаты обследования отрицательны, применяют нагрузочные пробы или пробы с голоданием, проводящиеся в условиях стационара. Дефицит того или иного фермента подтверждают при исследовании эритроцитов, лейкоцитов, фибробластов или клеток печени. Диагностику врожденных, генетически обусловленных ферментопатий проводят путем установления факта отсутствия или низкой активности определенного фермента, либо путем исследования промежуточных или конечных продуктов реакции, катализируемой данным ферментом. При неотложных состояниях и угрозах смерти необходимо произвести сбор образцов крови на фильтровальную бумагу. Кроме того, рекомендуется заморозить образцы сыворотки (плазмы) крови и мочи для исследования. В случае гибели ребенка, точный диагноз важен для прогноза потомства.

Таким образом, ранняя диагностика и своевременно начатое лечение, направленное на снижение токсического влияния метаболитов на организм ребенка, помогут предотвратить тяжелые последствия многих НБО веществ. Даже при отсутствии лечения, точная диагностика имеет большое значение для генетического консультирования членов семьи.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК – аминокислота
АЛА (ALA) – аланин
АРГ (ARG) – аргинин
АСН (ASN) – аспарагин
АСП (ASP) – аспарагиновая кислота
АЯК – аргинянтарная кислота
ААМ – α -аминомасляная кислота
ААД – α -аминоадипиновая кислота
БНАК – большие нейтральные аминокислоты
ВАЛ (VAL) – валин
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ВН₄ – биоптерин
ГАМК – γ -аминомасляная кислота
ГИПРО (HYPRO) – гидроксипролин
ГИС (HIS) – гистидин
ГЛИ (GLY) – глицин
ГЛН (GLN) – глютамин
ГЛУ (GLU) – глютаминовая кислота
ГФА – гиперфенилаланинемия
ГЦУ – гомоцистинурия
ЗПМР – задержка психомоторного развития
ИЛЕ (ILE) – изолейцин
ЛЕЙ (LEU) – лейцин
ЛИЗ (LYS) – лизин
МЕТ – метионин
НБО – наследственные болезни обмена
ОА – органические ацидурии
ОК – органические кислоты
ОРН – орнитин

ПРО (PRO) – пролин

СЕР (SER) – серин

СМЖ – спинномозговая жидкость

ТАУ (TAU) – таурин

ТИР (TYR) – тирозин

ТРЕ (THR) – треонин

ТРИ (TRP) – триптофан

ТСХ – тонкослойная хроматография

ФЕН (PHE) – фенилаланин

ФКУ – фенилкетонурия

ФЭА (PEA) – фосфоэтаноламин

ЦИС (CYS) – цистин/цистеин

ЦИТ (CIT) – цитруллин

ЦНС – центральная нервная система

ЛИТЕРАТУРА

1. Берман Р.Е., Воган В.К. Руководство по педиатрии: В 8 т. - М.: Медицина. - 1991. - Т. 2. - 540 с.
2. Бочков Н.П., Захаров А.Ф., Иванов В.И. Клиническая генетика. - М.: Медицина, 1997. - 288 с.
3. Бышевский А. Ш., Терсенов О. А. Биохимия для врача. - Екатеринбург: Издат.-полиграф. предприятие "Уральский рабочий", 1994. - 384 с.
4. Гречанина О.Я. Клініка, діагностика, лікування метаболічних хвороб/ Ультразвукова перинатальна діагностика.- Харків, 2001. - №14. - С.12-30.
5. Гречанина О.Я. Проблеми клінічної генетики. Метаболічні хвороби – підходи до діагностики та лікування//3-й з'їзд медичних генетиків України: Зб. тез і допов. – Львів, 2002. – С. 17.
6. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии – Спб.:ЭЛБИ, 2000. – 688с.
7. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т.; пер с англ./Под ред. Л.М. Гиномана. - М.: Мир, 1993. - Т. 1. - 381 с; Т. 2.-414 с.
8. Новикова И.В. Свободные аминокислоты крови в диагностике наследственных болезней обмена у детей высокого генетического риска: Дис. канд. мед. наук: 03.00.15.- Харьков, 2008.- 154 с.
9. Иллариошкин С.Н. ДНК- диагностика и медико-генетическое консультирование М.: МИА, 2004, - 207 с.
10. Applegart D.A. at all. Molecular genetic and potential biochemical characteristics of patients with T-protein deficiency as a cause of glycine encephalopathy (NKH)// Mol Genet Metab. 2003 Aug;79(4):272-80.
11. Biopterin responsive phenylalanine hydroxylase deficiency/Matalon R, Koch R, Michals-Matalon K, et al. - Genetics in Medicine № 6. - 2004. – p. 27-32.
12. Blau N., Ugarte M. BH4 responsive hyperphenylalaninemia//37-th Meet. of European metabolic group. - Prague, 2005. – P.29-37.
13. Inherited Metabolic disease/G.F. Hoffmann, W.L. Nyhan, J. Zschoche et.al. – Philadelphia, 2002. – P.435.

14. Leonard JV1, Morris AA. Urea cycle disorders//Semin Neonatol. 2002 Feb;7(1):27-35.
15. Matalon R. et all. Large Neutral Amino Acids in the Treatment of Phenylketonuria //The Amer. J.of Hum.Gen.-2005.-23 P.
16. Matalon R et.all. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase mutations//J.Inher.Metab.Dis 25.-2003.–p.23.
17. Matalon R. et.all. Effect of LNAA on blood phenylalanine in PKU//J. Inherit Metab. Dis. 28. – 2005. – 21 p.
18. Shih A.E. et.al/ Metabolic screening Test.//Techniques in Diagnostics Human Biochemical Genetics. A labor. manual.- Ed.by F.A.Hommes,1991.– P.45–69
19. Morris A.M. Management of illness at home in patient at risk metabolic decompensation //Inborn error review series. – London, 2002. - №12. – P.4.
20. Nenad Blau, Marinus Duran, K. Michael Gibson. Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics//Foreword by C. R. Scriver, 2008 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. – P 860
21. Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases/Ed. by N. Blau, M.Duran, M.E.Blaskovics. – UK: Chapman&Hall Medical, 1996. - 508p.
22. Podkarbi T., Shin Y.S. Laboratory work-up and therapy of patients with phenylketonuria, classical galactosemia and fabry disease//Ультразвукова перинатальна діагностика. – Харків, 2003. - №16. - С. 125-130.
23. Zschocke J., Hoffman G. Vademecum Metabolicum: manual of metabolic pediatrics /Ed. by J.V.Leonard. - Stuttgart: Schattauer, 1999. - 111p.

ГЛАВА 5

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЕЙ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

5.1. Методы определения уровней свободных аминокислот

В настоящее время предложено много способов количественного определения аминокислот (АК), которые можно обнаружить на хроматограммах, но только немногие из них имеют достаточную точность и практическую ценность. Определение отдельных АК, аминокислотного состава белка и свободных АК проводят методами хроматографии, что позволяет количественно определять малые их количества с применением эталонных образцов этих соединений в качестве «свидетелей» или стандартов [1,11].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) - метод разделения веществ, основанный на принципах жидкостной хроматографии, при котором используются колонки малого диаметра с размерами частиц твердого носителя не более 50 мкм. В качестве наполнителей колонки используют поверхностно-пористые насадки, состоящие из тонкого пористого слоя сорбента, который не деформируется при высоком давлении. По мере прохождения с подвижной фазой через колонку исследуемые вещества адсорбируются на насадке, а затем элюируются. Подвижная фаза прокачивается через колонку с высокой объёмной скоростью (около 1-5 мл/мин). Для количественного определения АК чаще всего используют спектрофотометрию в ультрафиолетовой (УФ) области. Проблемы при анализе АК методами ВЭЖХ обусловлены большим различием отдельных АК в полярности, а также низкими коэффициентами их поглощения в УФ области. С этой целью АК переводят в подходящие производные, либо до, либо после хроматографического разделения. В ряде случаев дериватизацию проводят с целью повышения чувствительности или селективности определения.

Автоматический анализ АК посредством жидкостной хроматографии впервые был использован в аналитической лаборатории университета Рокфеллера в 1958 году [3,11]. Хроматографическое разделение смеси АК было

основано на катионном обмене с использованием серии буферов с возрастающим значением pH, постколоночной дериватизации с нингидрином и калориметрировании. Современное оборудование позволяет использовать ВЭЖХ для анализа АК в лабораториях, проводящих большое количество исследований. Указывается, что метод ВЭЖХ на три порядка чувствительней, чем тонкослойная хроматография (ТСХ) и допускает количественную оценку результатов. Используемые методы автоматического анализа АК разделяют на 2 категории: ионообменная хроматография с постколоночной дериватизацией; обращено-фазное разделение предварительно полученных производных АК. Из всех вариантов обращенно-фазная хроматография применяется в настоящее время наиболее широко. В отличие от других, ранее применявшихся систем, неподвижная фаза менее полярная, чем подвижная, что дало название способу разделения. Совершенно неизвестное вещество невозможно идентифицировать только с помощью ВЭЖХ. Для идентификации используют методы масс-спектрометрии [6,8-10].

Ионообменная хроматография, описанная Спакманом, с постколоночной модификацией нингидрином, флуорескаминам или фталевым альдегидом использовалась для разделения АК. Нингидрин реагировал не только с α -АК, но и с другими аминами. При этом появлялось голубое окрашивание, но без выделения оксида углерода (IV) (CO_2), что являлось индикатором участия α -АК в реакции. С помощью реактива Фолина (1,2 нафтохинон-сульфоновокислый натрий) производили дезаминирование АК азотной кислотой с газометрическим определением их производных по Ван-Слайку. При реакции АК с формалином блокировалась их аминная группа. Получающееся соединение обладало кислотными свойствами и его количественное определение осуществляли путем нейтрализации щелочью (формалиновое титрование по Серенсену).

В.Стейн и С.Мур показали, что АК в гидролизате можно разделять с помощью ионообменной хроматографии на колонке с сульфонируемым полистиреном и рассчитывать количественно по их реакции с нингидрином.

Концентрация АК в растворе пропорциональна оптической плотности раствора после нагревания с нингидрином. Для количественного исследования АК разрабатывали методы, основанные на реакции с флюорескамином, который вступал в реакцию с аминогруппами АК, формируя высокофлюоресцентные продукты. Как и нингидрин, он образовывал комплекс не только с АКами, но и с другими аминами. Остатки АК белка формировали стабильные ковалентные связи с флюородинитробенzenом и могли быть проанализированы. Метод основан на реакции динитрофторбензола со свободными аминогруппами белка или пептида в щелочной среде с образованием динитрофенилпроизводных (ДНФ). ДНФ АК подвергались полному кислотному гидролизу. Из гидролизата выделяли ДНФ-производные и идентифицировали их с помощью хроматографии. Однако в этих условиях полностью разрушались ТРП, ЦИС, МЕТ, ТИР. Содержание сер и ТРЕ также оказывалось заниженным, причем в большей мере при более длительном проведении гидролиза.

В результате реакции АК с дансилхлоридом, который являлся специфическим реагентом, получали производные с более интенсивным окрашиванием. Он формировал с АК высоко флюоресцирующие сульфонамиды.

В 1952 г. С.Акабори предложил гидразиновый метод определения С-концевых АК. Метод состоял в том, что белок или пептид обрабатывали безводным гидразином. При этом происходило полное расщепление белка с образованием гидразидов всех АК, кроме концевой, которая оставалась свободной. После удаления избытка гидразина свободные АК отделяли от гидразидов и идентифицировали их хроматографически.

Предколоночную модификацию фталевым альдегидом часто использовали для определения АК в биологических жидкостях и белковых гидролизатах. Флуоресцирующие производные получали путем взаимодействия нефлуоресцирующего реагента с первичными аминогруппами в присутствии восстановителя, (например меркаптоэтанола). Этим методом невозможно определять ПРО, а ЦИС давал слабый сигнал.

В 1961 году Г. Эдман разработал автоматическую процедуру последовательного отщепления и идентификации N-концевых остатков АК в виде их фенилтиогидантоиновых производных. Автоматическая деградация по Эдману намного более быстрая по сравнению с предыдущими методами. Прямой анализ последовательности АК производился с изотиоцианатом [4-6]. Фенилизотиоцианат (ФИТЦ) в слабо щелочной среде реагировал с аминогруппами. Если подвергнуть АК, входящую в состав белка, действию ФИТЦ, то ее можно выделить и идентифицировать в форме фенилтиогидантоинового (ФТГ) производного. Этот метод позволял идентифицировать концевые АК белка, аминогруппы которых свободны. Образование ФТГ АК не требовало гидролиза остальной части белка. Фирмы производители выпускают приборы, позволяющие проводить полностью автоматизированное определение до 30-40 АК за один прогон. Идентификацию ФТГ производных проводили с помощью ВЭЖХ. Метод анализа физиологических жидкостей является «расширенным» вариантом анализа белковых гидролизатов, что дает возможность разделять более 50 АК и их производных, тогда как при анализе белковых гидролизатов определяют 20 АК, входящих в состав белка. На воспроизводимость результатов, полученных с помощью хроматографии, влияют многие факторы. Кроме приборных, включающих колонку, температуру, подвижную фазу, отклик детектора, могут влиять сбор, хранение и приготовление анализируемых проб. Сложные биологические смеси, такие, как сыворотка, моча и жидкости полости тела содержат широкий спектр составных компонентов. Некоторые из них очень нестойкие, что затрудняет анализ методами хроматографии. Однако при тщательном сборе, хранении, и приготовлении образцов их анализ эффективен и воспроизводим.

Определение содержания свободных АК хроматографическими методами позволяет контролировать процессы метаболизма и общее состояние организма. Диагностика НБО АК базируется на выявлении патологических уровней АК и их метаболитов в биологических жидкостях организма.

5.2. Селективный скрининг мочи

Качественные реакции позволяют выявить избыточные концентрации субстратов блокированной ферментной реакции или их производных, которые накапливаются при наследственных нарушениях обмена веществ. Различают качественные пробы универсальные (выявляется группа заболеваний, класс веществ; например, тест с динитрофенилгидразином (ДНФГ-тест) для выявления кетокислот) и специфические (на выявление цистина - гомоцистина, пролина и др.). Материал для исследований - утренняя моча, доступная и легкая для получения. Наиболее распространены качественные тесты с мочой, которые используются в лабораторной диагностике для выявления метаболических нарушений, представленные ниже [2,4,7,10,11,12].

Выявление белка в моче.

Принцип метода: белок осаждается сульфосалициловой кислотой. Помутнение указывает на наличие белка в моче.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать, отцентрифугировать. Собирать биологический материал в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Моча должна иметь кислую реакцию. Мочу щелочной реакции подкисляют несколькими (2-3) каплями уксусной кислоты (5 - 10 %).

Моча должна быть прозрачной. Помутнение устраняется методом фильтрования через бумажный фильтр. Если помутнение остается, добавляют тальк или жженую магнезию (около 1 чайной ложки на 100 мл мочи), взбалтывают и фильтруют.

Качественную пробу следует проводить в двух пробирках, одна из них - контрольная.

Оценивать помутнение следует на черном фоне в проходящем свете.

Реактивы: сульфосалициловая кислота, 20 %-ный раствор в H₂O дистиллированной.

Процедура выполнения анализа: к 2 мл мочи добавить 4 капли 20% раствора сульфосалициловой кислоты. Если в моче присутствует белок, появляется помутнение, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации белка.

Интерференция: щелочная реакция мочи и мутность мешает определению белка в моче.

Контроль качества: используется контрольный раствор, который исследуется с каждой партией образцов. Контрольный раствор содержит белок в концентрации 50 мг/дл. Также может использоваться контрольная моча, которая представляет собой образцы мочи человека с известными компонентами.

Нормы: небольшое количество белка может обнаруживаться у здоровых людей. Малоподвижный образ жизни, стресс или несбалансированная диета с высоким содержанием мяса могут вызвать появление в моче белка. Перед менструацией и после принятия горячей ванны также экскретируется белок с мочой.

Клиническое значение: протеинурия наблюдается при нефротическом синдроме, гломерулонефрите, синдроме Фанкони, саркоидозе, миеломной болезни, инфекционных болезнях мочевыводящих путей, тубулопатиях, системных заболеваниях соединительной ткани.

Определение pH мочи.

Принцип метода: метод основан на изменении цвета смешанного кислотно - основного индикатора с переходом от оранжевой окраски через желтую, зеленую к синей в диапазоне pH 5-9.

Требования к биологическому образцу.

Свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать, НЕ центрифугировать! Собирать образец в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: тест полоски с нанесенными на них реагентами (метиловый красный 0,71 % , бромтимоловый синий 12,1 %).

Процедура выполнения анализа: полоску опустить на 1-2 сек. в опытную мочу так, чтобы реагентная зона была смочена образцом.

Промокнуть тест полоску фильтровальной бумагой (по бокам) и оставить в горизонтальном положении.

Через 1 минуту оценить результат согласно цветовой шкале.

Линейность / расчеты: визуальная оценка с точностью до 0,5 единиц pH.

Интерференция: после долгого стояния моча разлагается бактериями.

Нормы: pH мочи может колебаться в пределах 4,5-8,4. При нормальных условий жизни и питания у взрослых и детей старшего возраста pH мочи является слабокислой или нейтральной. У новорожденных pH мочи более кислая (5,4-5,9). На 2-4 день после рождения pH быстро растет и при грудном вскармливании находится в пределах 6,9-7,8. При искусственном вскармливании pH составляет 5,4-6,9.

Клиническое значение: повышение pH (более 7) может наблюдается при метаболическом и дыхательном алкалозе, хронической почечной недостаточности, первичной и вторичной гиперфункция паращитовидных желез, длительной рвоте, инфекциях мочевыделительной системы, гиперкалиемии.

Снижение (pH около 5): метаболический и дыхательный ацидоз, гипокалиемия, сахарный диабет.

Выявление кетокислот с магниевым реактивом.

Принцип метода: треххлористе железа в присутствии HCl, соединяясь с кетокислотами, образует специфически окрашенные соединения.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собирать образец в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: магниевый реактив: 11 г хлорида магния ($MgCl_2$) растворить в 20 мл концентрированного раствора NH_4OH и довести объем до 1л дистиллированной водой; соляная кислота (HCl), 10 % раствор; железо треххлористе ($FeCl_3$), 10% раствор в H_2O .

Процедура выполнения анализа: к 4 мл мочи добавить 1 мл магниевого реактива (для удержания фосфатов, мешающих реакции), тщательно перемешать. Через 5 мин отфильтровать. К фильтрату добавить 2 капли 10 % раствора HCl и 2 капли 10 % раствор FeCl_3 .

Развитие окраски наблюдают в течение 5-7 мин. Появляется различная окраска, которая указывает на присутствие в моче ряда веществ (табл.5.1). Положительный результат выявляют при достаточно серьезных нарушении обмена, которые сопровождаются чрезмерном образованием кетокислот из соответствующих аминокислот.

Интерференция: проведению реакции мешают фосфаты.

Контроль качества: используется контрольный раствор, который исследуют с каждой партией образцов. Контрольный раствор содержит фенилпировиноградную кислоту. Также может использоваться контрольная моча, которая представляет собой образцы мочи человека с известными компонентами.

Референтные значения: в норме кетокислоты не определяются.

Клиническое значение: проба с магниевым реактивом позволяет выявлять кетокислоты, которые в большом количестве обнаруживаются в моче при наследственных и приобретенных заболеваниях (фенилкетонурия, тирозиноз, гистидинемия, диабет и др.); при наличии фенольных производных (при отравлении); при экскреции 3-гидроксиантрахиновой кислоты (нарушение обмена триптофана) и др.

Проба Фелинга.

Принцип метода: треххлористое железо в присутствии HCl образует с кетокислотами специфически окрашенные соединения.

Реактивы: 10 % водный раствор железа треххлористого ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); 1N раствор соляной кислоты (HCl).

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собирать в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Таблица 5.1

Интерпретация результатов реакции с магниевым реактивом [1,4,12]

Окраска	Химическое вещество	Заболевание
Сине-зеленая	Фенилпировиноградная кислота, кетоизовалериановая кислота, конъюгованный билирубин	Фенилкетонурия, болезнь кленового сиропа
Сине-зеленая, которая быстро выцветает	Парагидроксифенилпировиноградная кислота	Тирозиноз, тирозинурия
Серо-зеленая		Гистидинемия
Синяя	кетозиокапроновая кислота	Болезнь кленового сиропа
Желтая	Пировиноградная, кетометилвалериановая, кетоизовалериановая кислоты	Болезнь кленового сиропа, пировиноградная ацидемия
Пурпурная, переходящая в красно-коричневую	β -кетомасляная кислота	Нарушения абсорбции метионина
Серая	Молочная кислота, гидразид изоникотиновой кислоты	Молочный ацидоз
Коричневая (появляется сразу)	3-гидроксиантраниловая, ксантуреновая кислоты	Пиридоксин-зависимость
Зеленая, которая быстро выцветает	Гомогентизиновая кислота	Алкаптонурия
Красно-коричневая	Ацетоуксусная, парааминосалициловая кислоты	Диабет и другие заболевания
Серый преципитат, переходящий в черный	Меланин	
Фиолетовая	Производные фенола	
Пурпурная стойкая	Фенотиазиновые производные (салицилаты)	
Густо-зеленая, позже - бурая	Ксантуреновая кислота	
Красно-коричневая, переходящая в красно-лиловую	Ванилиновая кислота	

Процедура выполнения анализа: к 3 мл мочи добавить 1 каплю 1N раствора HCl, встряхнуть. После этого добавить 6 капель 10 % водного

раствора FeCl_3 . Наличие сине-зеленого или серо-зеленого окрашивания указывает на положительный результат. Через 5-10 мин зеленый цвет постепенно бледнеет и исчезает, поэтому результаты реакции необходимо оценивать сразу после добавления к моче реактива.

Результат положительный при уровне фенилаланина в моче более 15 мг%.

Интерференция: проба с FeCl_3 дает около 5 % ложноположительных результатов. Так, зеленый цвет может образоваться и при наличии в моче билирубина, ацетона, адреналина, норадреналина, салицилатов, хлорпромазина. Однако зеленый цвет в этих реакциях в отличие от гипераминоацидурии со временем не исчезает.

Контроль качества: используется контрольный раствор, который исследуетсяотносится с каждой партией образцов. Контрольный раствор содержит фенилпировиноградну кислоту. Также может использоваться контрольная моча, которая представляет собой образцы мочи человека с известными компонентами.

Нормы: в норме фенилпировиноградна кислота не экскретируется с мочой.

Клиническое значение: наиболее отчетливо реакция выражена при фенилкетонурии, при других заболеваниях - гипераминоацидурии, гистидинемии, болезни кленового сиропа, тирозинозе, гиперглицинемии - ее результаты менее демонстративные.

Проба с 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФГ) для выявления кетокислот при лейцинозе.

Принцип метода: кетокислоты образуют с 2,4 - динитрофенилгидразином окрашенные гидразоны.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собрать в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: 0,4 % раствор 2,4-ДНФГ в 1 N соляной кислоте. 4 г 2,4 - ДНФГ растворить в 1 литре 1N соляной кислоты (82,6 мл концентрированной HCl довести до 1л дистиллированной водой), нагреть на водяной бане в течение 12 часов. Полученную жидкость после охлаждения отфильтровать; натр едкий, 1 N раствор.

Процедура выполнения анализа: смешать равные количества мочи (1 мл) и 0,4 % раствора 2,4 - ДНФГ в 1 N соляной кислоте (реактив готовится аналогично предыдущему методу).

Сразу же после смешивания смесь мочи с реактивом прозрачная, имеет бледно-оранжевый цвет. Если проба отрицательная, ее цвет не меняется. При положительной реакции через 1-5 мин. смесь приобретает ярко – желтое окрашивание и теряет прозрачность.

К раствору добавить 1 мл 1 N раствора едкого натра. При отрицательной пробе появляется красно - коричневая окраска, которая быстро переходит в желтую. При положительной пробе сохраняется устойчивая темно-красная окраска раствора.

Клиническое значение: тест позитивный при нарушениях метаболизма лейцина, изолейцина и валина.

Выявление ксантуреновой кислоты.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собирать образец в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: Натрия гидрокарбонат (NaHCO_3), порошок или концентрированный раствор; 5 % раствор железа треххлористого (FeCl_3) в 96 % этиловом спирте.

Процедура выполнения анализа: 2–4 мл мочи подщелочить концентрированным раствором гидрокарбоната натрия (можно сухим порошком) до прекращения выделения "пузырьков" газа. Затем добавить 10-15 капель (0,5 мл) 5% раствора треххлористого железа в 96 % этиловом спирте. В случае положительной реакции образуется осадок зеленого цвета.

Интерференция: ложноотрицательные результаты могут быть при применении пероральных контрацептивов, гидралазина, D-пенициллина, изониазида.

Нормы: ксантуреновая кислота не определяется качественными тестами.

Клиническое значение: положительная реакция наблюдается при нарушениях метаболизма триптофана (болезнь Хартнупа), при синдроме Кнапп - Комровера (наследственная витамин В₆ зависимая ксантуренурия).

Определение гомогентизиновой кислоты.

Принцип метода: в щелочной среде гомогентизиновая кислота окисляется с образованием соединений сине-фиолетового цвета.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собирать в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: 10 % водный раствор едкого натра (NaOH); 5% водный раствор серебра азотнокислого (AgNO₃), 10 %-ный водный раствор аммиака.

Процедура выполнения анализа: к 0,5 мл мочи добавить несколько капель 10 % раствора NaOH. Реакцию оценивают как положительную при появлении сине-фиолетовой окраски через 1-2 мин (вариант 1); к 0,5 мл мочи добавить 5 мл 5 % раствора AgNO₃ и несколько капель 10% раствора аммиака. Положительная реакция сопровождается черной окраской (вариант 2).

Нормы: в норме содержание гомогентизиновой кислоты в моче менее 0,01 мг/л, которое не определяется качественной пробой.

Клиническое значение: используется для диагностики алкаптонурии. Алкаптонурия – редкое врожденное нарушение метаболизма аминокислот фенилаланина и тирозина, обусловлено мутацией в гене 1,2 - диоксигеназы гомогентизиновой кислоты. Сопровождается накоплением этой кислоты в организме и развитию клинических проявлений заболевания в виде триады симптомов: потемнение мочи, охроноз и артрит.

Выявление серосодержащих аминокислот.

Принцип метода: аминокислоты с сульфгидрильными (S-H) и дисульфидными (S-S) группами (цистин, гомоцистин, цистеин, гомоцистеин и др.) образуют с нитропруссидом натрия красную окраску различной степени интенсивности (от розовой до малиновой).

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собирать в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: аммиак концентрированный, 10 % водный раствор ацетонциангидрина (хранить в холодильнике герметично закрытым); 5 % водный раствор натрия нитропруссид (готовить *ex tempore*).

Процедура выполнения анализа: к 1 мл мочи добавить 1-2 капли концентрированного аммиака, 0,4 мл 10 % раствора ацетонциангидрина. Через 10 мин. добавить 1-2 капли 5% раствора нитропруссиду натрия. Нижняя граница чувствительности для гомоцистина – 0,3 мг/мл. Реакцию оценивают как положительную при окраске различной степени интенсивности (от розовой до малиновой).

Интерференция: моча должна иметь нейтральную pH. Кислая реакция pH мочи может приводить к ложноположительным результатам. Положительный тест также дают наличие ацетона в моче и прием лекарств, имеющих в своем составе серу (N-ацетилцистеин, 2-меркаптоэтансульфонат, 2-меркаптопропионилглицин, каптоприл, пеницилламин и большое количество синтетических метаболитов пенициллина и ацетоацетата). Бактериальное загрязнение может также дать ложноположительные результаты.

Контроль качества: используется контрольный раствор, который исследуется с каждой партией образцов. Контрольный раствор содержит цистин с концентрацией 0,3 мг/мл.

Норма: бледно-розовое окрашивание пробы может быть и в нормальной моче, но каждый положительный результат требует дальнейшего исследования.

Клиническое значение: у детей при наличии цистинурии обнаруживают задержку физического развития, что связано с дефицитом незаменимых

аминокислот (табл.5.2). У подростков и взрослых заболевание манифестирует с развития мочекаменной болезни, которая составляет 8% от всех конкрементов.

Интерпретация: экскреция серосодержащих кислот (дисульфидов) с мочой.

Обнаружение пролина.

Принцип метода: изатин образует с некоторыми аминокислотами специфически окрашенные соединения.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собрать образец в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Таблица 5.2

Экскреция серосодержащих кислот с мочой [1,4,10,12].

№ п/п	Вещество	Нарушение / причины
1	Цистин	Цистинурия, гипераргининемия, генерализованная гипераминоацидурия
2	Гомоцистин	Классическая гомоцистинурия, дефицит кобаламина, цистатионинурия (бактериальные инфекции мочевых путей)
3	Глутатион	Нарушение γ - глютамилового цикла
4	Лекарства	N-ацетилцистин, пеницилламин, каптоприл, ампициллин и др.

Реактивы: раствор изатина в ацетоне, 0,2 %. Хранить при температуре 2-80°C. Изатиновый реактив: к 9,6 мл 0,2 % раствора изатина в ацетоне добавить 0,4 мл ледяной уксусной кислоты (готовить ex tempore!); 1 N раствор соляной кислоты.

Процедура выполнения анализа: фильтровальную бумагу смочить в изатиновом растворе. Высушить бумагу при комнатной температуре. Нанести 1 каплю мочи, после чего бумагу положить в сушильный шкаф при температуре 100° С в течение 10 мин. Затем промыть бумагу 1 N раствором HCl, затем в дистиллированной воде.

При появлении окраски от голубой до синей оценивают результат как положительный. Характер окраски определяется избытком следующих аминокислот: пролин – от голубого до синего; фенилаланин – сине-серое окрашивание, триптофан – коричневое; смесь различных аминокислот – пурпурное. Реакция на пролин положительная при концентрации его в моче не менее 0,1 мг/мл.

Нормы: в норме пролин и другие аминокислоты не выявляются.

Клиническое значение: пролинурия возможна при патологии почек и как симптом наследственного нарушения обмена.

Проба Обермейера (на индикан).

Принцип метода: преобразование индикана в индоксил после гидролиза эфирной связи сильной минеральной кислотой и последующее окисление индоксила треххлористым железом с образованием окрашенного соединения.

Требования к биологическому образцу: свежесобранную утреннюю мочу без консервантов хорошо перемешать. НЕ центрифугировать! Собрать образец в чистую посуду без следов моющих и дезинфицирующих средств.

Реактивы: 0,4 % раствор железа треххлористого в концентрированной соляной кислоте (FeCl_3 в HCl конц.); хороформ; 20 % водный раствор натрия гипосульфита ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

Процедура выполнения анализа: к 2 мл мочи добавить 2 мл 0,4 % раствора FeCl_3 в HCl конц. Затем к содержимому пробирки добавить 2-3 мл хороформа и хорошо перемешать путем 10-кратного встряхивания пробирки, закрытой пробкой. Если появляется голубое окрашивание нижнего слоя, его отбирают в другую пробирку и добавляют несколько капель 20 % раствора гипосульфита натрия. Проба положительна, если окраска хороформенного слоя не исчезает при добавлении гипосульфита натрия (стойкий синий слой на границе двух растворов).

Интерференция: наличие уротропина в моче мешает определению индикана. Нормы: в моче здорового человека содержатся следы индикана (20-60 мг в сутки), которые не определяются качественной пробой. Окраска

хлороформенного слоя при положительной реакции может быть, не только синего или голубого, но и, редко, красного цвета. Клиническое значение: индиканурия встречается при заболеваниях, связанных с усиленным распадом белка или усиленным гниения белковых веществ в кишечнике. Повышенная экскреция индикана с мочой является важным симптомом болезни Хартнупа. Значительное количество индикана в моче также наблюдается при таких заболеваниях как сахарный диабет, подагра, бирмеровская анемия, экссудативные ограниченные гнойники, гангрена и т.д. Для проведения внутреннего контроля качества необходимо приготовить стандартную смесь: (вариант 1) к 100 мл 0,9% раствора NaCl добавить 10 мг фенилпирува, 50 мг α -кетоглутарата, 15 мг цистина, 30 мг ацетоацетата и 1 г глюкозы. Раствор стабилен в течение 3 месяцев в холодильнике (табл.5.3).

Таблица 5.3

Контроль качества скрининг-тестов мочи [4, 10]

№ п/п	Ингредиенты	Количество вещества на 100 мл
1	Хлорид кальция	0,45 г
2	Глюкоза	0,5 г
3	Белок (альбумин)	0,5 г
4	Ацетон	0,5 мл
5	Хлорид кальция 10% (в ампулах)	10,0 мл
6	Фруктоза	0,1 г
7	Фенилаланин, гистидин, тирозин, лейцин, β -аминомасляная кислота, триптофан	0,15 г каждого реактива
8	Пролин	0,01 г
9	Цистин	0,03 г
10	Аскорбиновая кислота	0,004 г
11	Креатинин	0,05 г

Качественные тесты чувствительны, просты в применении, отличаются низкой себестоимостью и не дают ложноотрицательных результатов, а информация, полученная с их помощью, позволяет с высокой долей вероятности заподозрить заболевание у пациента. Однако на результаты этих тестов влияет применение ряда лекарственных препаратов и их метаболитов, а также некоторых пищевых добавок.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК	– аминокислота
АЛА (ALA)	– аланин
АРГ (ARG)	– аргинин
АСН (ASN)	– аспарагин
АСП (ASP)	– аспарагиновая кислота
ВАЛ (VAL)	– валин
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ГИПРО (HYPRO)	– гидроксипролин
ГИС (HIS)	– гистидин
ГЛИ (GLY)	– глицин
ГЛН (GLN)	– глютамин
ГЛУ (GLU)	– глютаминовая кислота
ГФА	– гиперфенилаланинемия
ГЦУ	– гомоцистинурия
ЗПМР	– задержка психомоторного развития
ИЛЕ (ILE)	– изолейцин
КАРН (CARN)	– карнозин
ЛЕЙ (LEU)	– лейцин
ЛИЗ (LYS)	– лизин
МЗ	– метаболические заболевания
МЕТ	– метионин
НБ	– наследственные болезни
НБО	– наследственные болезни обмена
ОА	– органические ацидурии
ОК	– органические кислоты
ОРН	– орнитин
ПРО (PRO)	– пролин
ПС	– программы скрининга
СЕР (SER)	– серин

СМЖ – спинномозговая жидкость
ТАУ (TAU) – таурин
ТИР (TYR) – тирозин
ТРЕ (THR) – треонин
ТРП (TRP) – триптофан
ТСХ– тонкослойная хроматография
ФЕН (PHE) – фенилаланин
ФИТЦ– фенилизотиоцианат
ФКУ – фенилкетонурия
ФСЕР (PSER) – фосфосерин
ФЭА (PEA) – фосфоэтаноламин
ЦИС (CYS) – цистин
ЦИСТ (CYST) – цистатионин
ЦИТ (CIT) – цитруллин
ЦНС – центральная нервная система

ЛИТЕРАТУРА

1. Вільні амінокислоти крові у діагностиці метаболічних порушень / Гречаніна О.Я., Новікова І.В./ Навчальний посібник для лікарів-інтернів. – Харків: ХНМУ, 2010. – 75 с.
2. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ. Справочное пособие для врачей. М: РОО Центр социальной адаптации и реабилитации детей «Фохат» 2005; 364.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т.; пер с англ./Под ред. Л.М. Гиномана. - М.:Мир, 1993. - Т. 1. - 381 с; Т. 2.-414 с.
4. Спадкові захворювання і остеопороз // Под ред. Гречаніної Ю.Б., Гречаніної О.Я., Романенко О.П. .- Харків: ХНАДУ, 2011 – 616 с.
5. Analysis of Amino Acids using pre-column derivatization with Phenylisothiocyanate/Cohen,S.A., Tarvin T.L., Bidlingmeyer B.A., Tarr G.E.//Amer. Lab. - 1994. – P. 277-283.
6. Biondi P.A., Negri A., Toppolo A. High-performance liquid chromatographic de-termination of taurine in formulations as the dancyl derivative//J. of Chromatogr. - 1996.- №. 369.- P.431-434
7. Heinrikson R.L., Meredith S.C. Amino Acid Analysis by reversephase high-performens liquid chromatography: Precolumn derivatization with Phenylisothiocyanate. Analytical biochemistry, 1984. – 27 p.
8. Lukacs Z. The Introduction of MS/MS Screening in Northern Germany. A Joined Effort of Four Metabolic Centers/Univ.Hosp.Hamburg. – Germany. – 2003. – 15 p.
9. Metabolic medicine: new developments in diagnosis and treatment of inborn errors of metabolism/ Hoffmann J., Lindner M., Shahbek N., Barić I., Al Thani, Hoffmann G.// World J. Pediatr., Vol 2 No 3. - 2006. – P.169-176
10. Metabolic screening Test/A.E. Shih, R.Mandel et.al.//Techniques in Diagnostics Human Biochemical Genetics. A labor. manual.- Ed.by F.A.Hommes,1991.– P.45–69

11. Nenad Blau, Marinus Duran, K. Michael Gibson. Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics//Foreword by C. R. Scriver, 2008 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. – P 860
12. Zschocke J., Hoffman G. Vademecum Metabolicum: manual of metabolic pediatrics /Ed. by J.V.Leonard. - Stuttgart: Schattauer, 1999. - 111p.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный в монографии материал по изучению наноструктур, к которым можно отнести аминокислоты, как структурные единицы белков, говорит о важности и перспективности данного направления в науке.

Среди биологически активных веществ в организме белки занимают одно из важных мест. Белками являются ферменты и коферменты, лекарственные препараты, а аминокислоты, входящие в их структуры и последовательность аминокислот определяет их биологический статус. Аминокислоты также входят в состав многих небелковых компонентов – фосфолипидов, медиаторов, витаминов, гормонов, играют самостоятельную роль в организме, участвуют в процессах трансаминирования, дезаминирования, декарбоксилирования. Аминокислоты оказывают влияние на функционирование различных органов и систем живого организма, стимулируют действие одних и угнетают действие других.

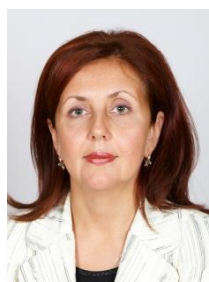
Высокая биологическая активность аминокислот определяет возможность и необходимость использования их в виде лекарственных препаратов, как самостоятельных, так и комплексных.

Лабораторные исследования являются полезным и важным инструментом в повседневной работе врача практической медицины. Они открывают современные возможности в подходе к лабораторным анализам и находят своё применение в лабораторной диагностике. Клинический опыт показывает, что определение, например, свободных аминокислот в сыворотке крови и моче больных при ряде заболеваний (инфаркт миокарда, гипертоническая болезнь, заболевания печени, почек, лёгких и др.) имеют не только диагностическое значение, но и являются важным прогностическим признаком, определяющим лечебную тактику и исход заболевания.

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ:



Чекман Иван Сергеевич – член-корреспондент НАН и НАМН Украины, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Национального медицинского университета имени А. А. Богомольца.



Сыровая Анна Олеговна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской и биоорганической химии Харьковского национального медицинского университета.



Новикова Ирина Владимировна – кандидат медицинских наук, заведующая многопрофильной клинико-диагностической лаборатории КУОЗ «Областная клиническая больница – Центр экстренной медицинской помощи и медицины катастроф»



Макаров Владимир Александрович – кандидат химических наук, доцент кафедры медицинской и биоорганической химии Харьковского национального медицинского университета.



Андреева Светлана Викторовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры медицинской и биоорганической химии Харьковского национального медицинского университета.



Шаповал Людмила Григорьевна – кандидат технических наук, доцент кафедры медицинской и биоорганической химии Харьковского национального медицинского университета.

Чекман И.С., Сыровая А.О., Новикова И.В., Макаров В.А.,
Андреева С.В., Шаповал Л.Г.

**«Аминокислоты – наноразмерные молекулы:
клинико-лабораторные исследования»**

Монография

Видавництво ТОВ «Щедра садиба плюс»
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:
серія ДК №4666 від 18.12.2013 р.

Підписано до друку 06.11.2014. Формат 60×84/16.
Папір офсетний. Ум.друк.арк.6,5. Обл.-вид.арк. 9,36.
Наклад 300 пр. Зам. №06/112014

Друк ФОП Томенко Ю.І.
Харків, м. Рудєва, 4
(057) 757-93-82