

## АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ МЕТАБОЛИТЫ В КРОВИ И МОЧЕ ПРИ МИНИМАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ

Л.С. КОЛЕСНИЧЕНКО<sup>1</sup>, В.И. КУЛИНСКИЙ<sup>2</sup>, А.С. ГОРИНА<sup>3</sup>,

<sup>1</sup> Кафедры биоорганической химии и <sup>2</sup> биохимии Иркутского медицинского университета, <sup>3</sup> Областная детская клиническая больница.  
факс - (395)224-2056, Ел. почта: kulinsky@pp.irkutsk.ru

При минимальной церебральной дисфункции у детей выявлены гипоаминоацидемия и гипоаминоацидурия со снижением в крови и моче концентраций глутамата и аспартата, их амидов, метионина и серина, в крови - лизина, таурина, тирозина, катехоламинов и серотонина; увеличены в крови ГАМК и глицин, а в моче - ксантуреновая кислота, пролин и цистеин; отношение возбуждающие/тормозящие медиаторные аминокислоты значительно уменьшено. В крови снижались отношение незаменимые/заменимые аминокислоты и концентрации аминокислот, транспортируемых системами  $\text{X}^{\text{AG}}$ ,  $\beta$  и A/ASC; в почках большинство транспортных систем функционировало усиленно. При успешном лечении выявленные нарушения обмена аминокислот исчезали или сглаживались.

**Ключевые слова:** аминокислоты и их метаболиты, церебральная дисфункция.

**ВВЕДЕНИЕ** Аминокислоты - основные как возбуждающие (глутамат, аспартат), так и тормозящие (ГАМК, глицин) медиаторы головного и спинного мозга. Аминокислоты являются предшественниками нейромедиаторов-аминов (тирозин → катехоламины, триптофан → серотонин, гистидин → гистамин, серин → ацетилхолин),  $\text{NO}^+$  (аргинин) и нейропептидов. В результате аминокислоты прямо или опосредовано регулируют все основные нервные процессы: возбуждение и торможение, бодрость и сон, агрессию и тревогу, синаптическую пластичность, эмоции, поведение, память, обучение [1-3]. Нарушения в содержании аминокислот и их производных в организме являются одной из причин возникновения различных патологических процессов, проявляющихся в дисфункциях нервной системы и способствующих развитию ряда нервных и психических заболеваний и синдромов, особенно в детском возрасте. Выдвинута гипотеза о повреждающем действии дисбаланса аминокислот на развивающийся мозг [1-3].

Биохимические аспекты синдрома минимальной церебральной дисфункции (МЦД) пока неясны, а сдвиги аминокислот и их метаболитов почти не изучены. Поэтому в настоящей работе мы провели комплексное исследование аминокислот и их метаболитов в крови и моче при МЦД у детей.

**МЕТОДИКА.** В работе обследовано 22 здоровых ребенка и 30 детей с МЦД в возрасте 3-7 лет. Аминокислоты после депротенинизации 3% сульфосалициловой кислотой определяли на аминокислотном анализаторе AAA-881 фирмы Novo, Чехия. Общий белок, мочевину, креатин и креатинин в сыворотке крови определяли на анализаторе Ciba Corning, Англия. Исследование мочевины, креатина и креатинина в моче проводили с использованием наборов фирм Serva (Германия) и Lachema (Чехия) на спектрофотометре фирмы Hitachi, Япония. В сыворотке крови и

моче определяли катехоламины методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [4], в сыворотке крови - серотонин [5], в моче - 5-ОИУК [6] и кинурениновые метаболиты [7]. Наши данные для контрольной группы здоровых детей хорошо соответствовали литературе как по аминокислотам [8,9], так и по другим показателям [10]. Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия  $t$  и корреляционного анализа по программам Statgraph.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** У детей с МЦД при поступлении в клинику при отсутствии изменений концентраций мочевины и креатинина в крови и моче обнаружены гипопроteinемия (в среднем -25%), гипоаминоацидемия и гипоаминоацидурия (-13 и -12%). Отношение незаменимых аминокислот к заменимым снижалось в крови (с 0,67 до 0,56) и не изменялось в моче (0,62 и 0,64).

В обеих биологических жидкостях концентрации большинства аминокислот (14 из 23 в крови и 12 из 21 в моче) снижались (рис.1, табл.1). В сыворотке крови это было наиболее выражено для метионина, лизина и тирозина (на 58-55%), затем - глутамата, аспартата, серина и таурина (на 49-40%); умеренно снижались аспарагин, глутамин, валин, треонин и триптофан (на 36-26%) и лишь слегка - фенилаланин (на 10%). Не изменялись концентрации аргинина, изолейцина, лейцина и цистина и увеличивались аланин, орнитин (+ 16%), глицин (+ 25%) и ГАМК (+ 47%).

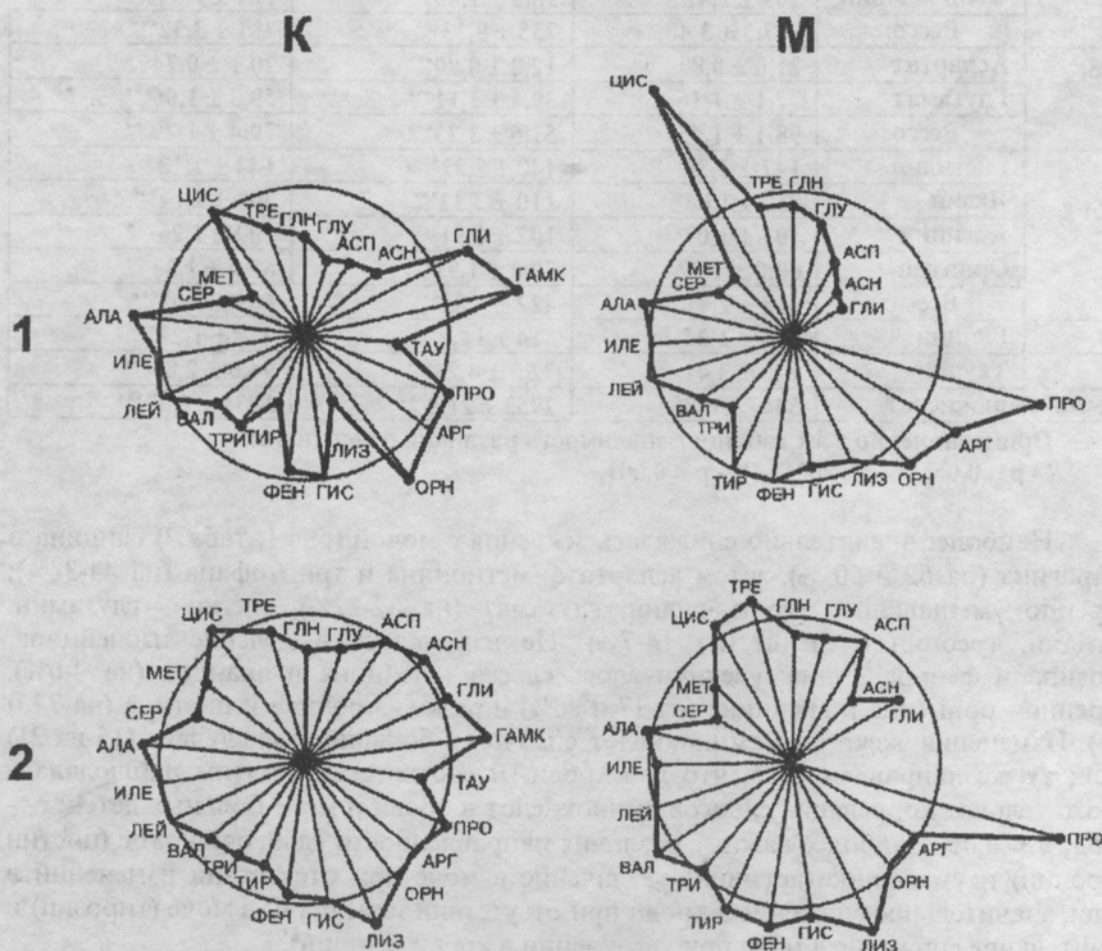


Рисунок 1.

Относительные (%%) изменения концентраций аминокислот в крови (К) и их экскреции с мочой (М) у детей с синдромом минимальной церебральной дисфункции до (1) и после (2) лечения.

Примечание: на рис. 1 и 2 - • - значимые ( $P < 0,05$ ) различия с контролем.

Таблица 1. Концентрация в сыворотке крови аминокислот, принадлежащих к разным транспортным системам, у детей с минимальной церебральной дисфункцией (мкмоль/л)

Транспортные системы аминокислот		Здоровые дети	Больные дети	
			До лечения	После лечения
A/ASC:	Аланин	440 ± 1,53	509 ± 3,63***	484 ± 2,26***
	Аспарагин	46,6 ± 0,92	30,0 ± 1,32***	50,0 ± 0,84*
	Глутамин	450 ± 1,0	289 ± 4,50***	315 ± 2,33***
	Метионин	28,4 ± 0,93	12,0 ± 1,14***	23,4 ± 1,16**
	Серин	141 ± 1,85	83,6 ± 2,84***	108 ± 1,21***
	Треонин	180 ± 1,68	134 ± 7,66***	160 ± 1,16***
	Цистин	96,2 ± 1,65	100 ± 3,22	102 ± 1,21*
	Всего:	1382 ± 3,74	1158 ± 10,66***	1242 ± 4,11***
L:	Валин	254 ± 1,53	184 ± 8,15***	208 ± 1,72***
	Изолейцин	138 ± 1,41	138 ± 1,91	135 ± 1,63
	Лейцин	217 ± 1,37	220 ± 2,66	217 ± 1,14
	Тирозин	80,0 ± 1,11	36,3 ± 2,42***	60,0 ± 1,02***
	Триптофан	79,3 ± 1,45	58,7 ± 1,39***	60,0 ± 0,83***
	Фенилаланин	109 ± 1,42	98,3 ± 1,45***	101 ± 1,54***
	Всего:	877,3 ± 3,40	735 ± 9,33***	781 ± 3,32***
X <sub>AG</sub> :	Аспартат	21,0 ± 0,87	12,2 ± 0,90***	20,1 ± 0,74
	Глутамат	77,1 ± 1,16	39,4 ± 3,11***	59,3 ± 1,06***
	Всего:	98,1 ± 1,45	51,6 ± 3,23***	79,4 ± 1,29***
y <sup>+</sup> :	Гистидин	147 ± 1,39	140 ± 2,27*	144 ± 1,13
	Лизин	250 ± 1,05	110 ± 3,32***	303 ± 2,14***
	Аргинин	101 ± 1,07	102 ± 1,91	100 ± 1,26
	Орнитин	60,0 ± 1,27	70,0 ± 1,93***	62,0 ± 1,33
	Всего:	558 ± 2,41	422 ± 4,85***	609 ± 3,03***
Gly:	Глицин	411 ± 1,35	514 ± 14,2***	428 ± 1,27***
β:	Таурин	120 ± 3,41	72,0 ± 4,24***	94,0 ± 2,87***
Сумма аминокислот		3447 ± 6,85	2953 ± 21,3***	3234 ± 6,97***

Примечание: Во всех таблицах значимость различий с контролем:

\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

Наиболее значительно снижалась экскреция с мочой (рис.1, табл.2) глицина и аспарагина (на 62 и 60 %), затем аспартата, метионина и триптофана (на 44-38%); умеренно уменьшались серин, валин, глутамат (на 32-22%), слегка - глутамин, гистидин, треонин и лизин (на 14-7%). Не изменялось выделение изолейцина, тирозина и фенилаланина; увеличивалось слегка - лейцина и аланина (на 4-6%), умеренно - орнитина и аргинина (на 17 и 28%) и резко - пролина и цистина (на 72 и 92%). Изменения экскреции аминокислот с мочой в большинстве случаев (15 из 21) имели ту же направленность, что и в крови. В соответствии с этим наблюдалась положительная корреляция сдвигов аминокислот в крови и моче больных детей:  $r_s = + 0,53$ ,  $p < 0,05$ . Наиболее важные различия направленности сдвигов: резкое (цистин и пролин) и умеренное (аргинин) увеличение в моче при отсутствии изменений в крови, значительное снижение в крови при отсутствии изменений в моче (тирозин) и значительное снижение в моче при увеличении в крови (глицин).

При классификации по транспортным системам [11] в сыворотке крови (табл.1) больше всего снижались аминокислоты, транспортируемые системами X<sub>AG</sub>- (глутамат и аспартат) и β (таурин), умеренно - системами y<sup>+</sup> (основные), A/ASC (малые нейтральные) и L (большие нейтральные). Уровень же глицина (система Gly) и ГАМК (тоже имеющей отдельный транспортер в головном мозге) увеличен



(рис. 2). Ввиду конкуренции за транспортный белок аминокислот одной и той же системы аланин и цистин могут проникать легче за счет метионина, орнитин - за счет лизина, лейцин и изолейцин - за счет тирозина и триптофана.

Таблица 2. Экскреция с мочой аминокислот, принадлежащих к разным транспортным системам, у детей с минимальной церебральной дисфункцией (мкмоль/сут)

Транспортные системы аминокислот		Здоровые дети	Больные дети	
			До лечения	После лечения
A/ASC:	Аланин	231 ± 4,00	244 ± 2,55*	239 ± 1,35*
	Аспарагин	40,0 ± 1,36	16,0 ± 1,22***	22,6 ± 0,72***
	Глутамин	676 ± 0,94	582 ± 5,42***	586 ± 2,92***
	Метионин	31,1 ± 1,17	17,4 ± 1,76***	23,4 ± 1,06***
	Серин	144 ± 1,44	97,3 ± 2,57***	255 ± 1,53***
	Треонин	90,2 ± 1,12	80,6 ± 1,77***	103 ± 1,17***
	Цистин	131 ± 0,87	252 ± 2,63***	142 ± 1,23***
	Всего:	1343 ± 4,92	1289 ± 7,56***	1371 ± 4,15***
L:	Валин	40,4 ± 1,13	30,8 ± 1,43***	46,0 ± 1,06**
	Изолейцин	143 ± 1,4	144 ± 3,43	139 ± 0,93*
	Лейцин	368 ± 1,26	381 ± 3,68	366 ± 1,18
	Тирозин	71,5 ± 1,29	72,1 ± 2,24	79,0 ± 1,64**
	Триптофан	150 ± 0,74	93,2 ± 2,37***	146 ± 1,13*
	Фенилаланин	26,0 ± 0,93	26,0 ± 1,66	30,0 ± 1,01*
	Всего:	799 ± 2,91	747 ± 6,38***	806 ± 2,89*
X <sub>AG</sub> :	Аспартат	62,0 ± 1,15	36,0 ± 1,84***	60,7 ± 0,94
	Глутамат	121 ± 0,91	94,0 ± 2,85***	106 ± 1,25***
	Всего:	183 ± 1,47	130 ± 3,39***	166,7 ± 1,56***
y <sup>+</sup> :	Гистидин	481 ± 1,0	421 ± 4,31***	500 ± 1,61***
	Лизин	100 ± 1,62	93,2 ± 3,05	126 ± 1,53***
	Аргинин	106 ± 1,84	136 ± 2,00***	102 ± 1,70
	Орнитин	51,1 ± 1,57	60,0 ± 1,80 **	49,0 ± 1,06
	Всего:	738 ± 30,8	710 ± 5,90***	777 ± 3,00***
Gly:	Глицин	579 ± 1,18	219 ± 4,64***	481 ± 2,14***
Сумма аминокислот		3642 ± 6,76	3095 ± 12,9***	3601 ± 6,45***

Таблица 3. Содержание катехоламинов в сыворотке крови (пмоль/л) и в суточной моче (нмоль/сут) у детей с минимальной церебральной дисфункцией.

Катехоламины	СЫВОРОТКА КРОВИ		
	Норма	До лечения	После лечения
Адреналин	350 ± 26,4	263 ± 11,8**	312 ± 24,4
Норадреналин	625 ± 10,6	518 ± 18,2***	432 ± 15,2***
Дофамин	560 ± 20,0	486 ± 28,4*	497 ± 18,6*
МОЧА			
Адреналин	74,6 ± 3,40	58,2 ± 9,81	66,4 ± 4,64
Норадреналин	112 ± 4,26	108 ± 8,45	95,4 ± 7,46*
Дофамин	746 ± 30,6	622 ± 23,7**	684 ± 32,3

Экскреция с мочой (табл.2) аминокислот, принадлежащих ко всем транспортным системам снижена: резко - глицина, умеренно - системы X<sub>AG</sub> и слегка - остальных систем. Сопоставление сдвигов в крови и моче позволяет предположить, что в почках почти все системы выведения аминокислот функционируют усиленно, так как снижение экскреции выражено меньше, чем концентрация в крови.



Наоборот, активность системы Gly, вероятно, ослаблена. Очевидно, экскреция аминокислот с мочой зависит от двух разных факторов: концентрации аминокислот в крови и активности транспортных систем почек. Последнее определяет то, что корреляция сдвигов аминокислот в крови и моче достигает лишь средней силы ( $r = +0,53$ ).

Снижение в крови глутамата и аспартата с параллельным увеличением ГАМК и глицина приводит к значительному снижению отношения возбуждающие/тормозящие аминокислоты: от 0,24 до 0,10, то есть в 2,4 раза. Это может привести к сдвигу в головном мозге в сторону тормозящих аминокислот. Очевидно, что такое нарушение баланса функционально противоположных медиаторов может иметь патогенетическое значение - снижать активность центральной нервной системы.

В сыворотке крови снижалась концентрация всех трех катехоламинов (на 25-13%), а экскреция с мочой уменьшалась только для дофамина (на 17%) (табл.3). В крови снижалась также (табл. 4) концентрация серотонина (на 45%), а в моче - экскреция его метаболита 5-гидроксииндолилуксусной кислоты (-23%), но увеличивалась экскреция кинуренина (+19%) и особенно резко ксантуреновой кислоты (+201%), то есть происходила выраженная активация кинуренинового пути метаболизма триптофана.

Таблица 4. Содержание триптофана и его метаболитов в крови (мкмоль/л) и моче (мкмоль/сут) у детей с минимальной церебральной дисфункцией.

Показатели	Здоровые дети	Больные дети	
		До лечения	После лечения
Триптофан (кровь)	$79,3 \pm 1,45$	$58,7 \pm 1,39^{***}$	$60,0 \pm 0,83^{***}$
Серотонин (кровь)	$0,84 \pm 0,04$	$0,46 \pm 0,03^{***}$	$0,69 \pm 0,01^{***}$
Триптофан (моча)	$150 \pm 0,74$	$93,2 \pm 2,37^{***}$	$146 \pm 1,13^*$
5-ОИУК (моча)	$26,5 \pm 2,42$	$20,5 \pm 1,16^*$	$22,2 \pm 2,17$
Кинуренин(моча)	$29,3 \pm 1,54$	$35,0 \pm 1,25^{**}$	$27,0 \pm 0,62$
Кинуреновая кислота (моча)	$29,9 \pm 1,05$	$30,1 \pm 1,30$	$27,0 \pm 4,23$
Ксантуреновая кислота (моча)	$13,7 \pm 1,0$	$41,2 \pm 2,60^{***}$	$13,5 \pm 4,04$

Таким образом, при МЦД в крови происходит снижение большинства аминокислот, которые сами (глутамат, аспартат) или через свои метаболиты (тирозин, триптофан) влияют на функциональное состояние головного мозга; повышаются только тормозящие медиаторы ГАМК и глицин. Параллельно снижаются и активные метаболиты этих аминокислот - нейромедиаторы возбуждающие - катехоламины и преимущественно тормозящие - серотонин и таурин. Все это может не только снижать активность головного мозга, но и тормозить его развитие в онтогенезе, способствовать возникновению церебральной дисфункции, которая клинически проявляется в отставании детей в эмоционально-волевом, речевом и интеллектуальном развитии. Важное значение может иметь и резкое накопление ксантуреновой кислоты, так как подобные патологические эффекты кинуренинов уже известны [12].

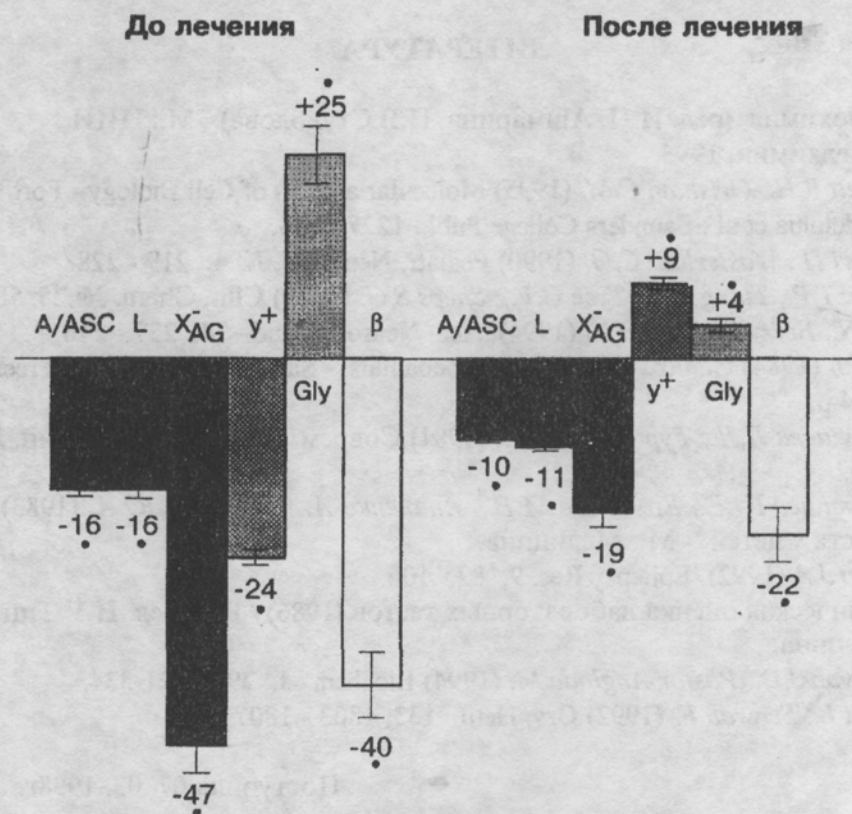


Рисунок 2.

Относительные (%%) изменения в крови концентраций аминокислот, принадлежащих к разным транспортным системам, у детей с минимальной церебральной дисфункцией (мкмоль/л).

В результате лечения большинство характерных для МЦД сдвигов сглаживалось: уменьшались гипопроteinемия (от -25 до -8%) и гипоаминоацидемия (от -13 до -5%), исчезла гипоаминоацидурия (с -12 до +2%), коэффициенты незаменимые/заменимые аминокислоты увеличились до нормы. Уменьшилось как количество аминокислот, концентрации которых снижены в крови и в моче, так и в большинстве случаев степень изменений (в крови - 16 аминокислот из 23, в моче - 11 из 21). Это очень четко видно на рис. 1: неправильные фигуры, характерные для детей до лечения, сильно приблизились к кругу, соответствующему нормальным величинам. Значительно (ГАМК, глутамат, тирозин) или резко (аспартат и глицин) уменьшились сдвиги аминокислот, имеющих наибольшее функциональное значение; увеличилось отношение возбуждающие/гормонизирующие аминокислоты (с 0,10 до 0,19). Частично (таурин и серотонин крови, триптофан мочи) или полно (адреналин крови, дофамин, кинуренин и ксантуриновая кислота мочи) нормализовались другие нейромодуляторы. Установленные нами обратимость нарушений и параллелизм клинического и биохимического улучшения свидетельствуют о важном значении аминокислот и их метаболитов в патогенезе МЦД.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Нейрохимия (ред. И.П. Ашмарина, П.В.Стуколова). М.: НИИ биомедхимии, 1996.
2. Garrett R.H., Grisham C.M. (1995) Molecular aspects of Cell Biology.- Fort Worth, Philadelphia et al.: Saunders College Publ., 1227-1243.
3. Hattori H., Wasterlain C.G. (1990) *Pediatr. Neurol.* 6, № 4. 219 - 228.
4. Moyer T.P., Tiang N.S., Tyce G.V., Sheps S.G. (1979) *Clin. Chem.* № 25. 581 - 584.
5. Anis N., Berry S., Burton N. (1994) *Acta Neurol. Scand.* 74. 237 - 246.
6. Korf J. (1984) Clinical chemistry of monoamins. - San Francisco.: W.H. Freeman and Co. 94 p.
7. Вахрушева Л.Л., Турилкина Т.Б. (1981) *Соврем. вопр. дет. эндокрин.* № 4. 10 - 12.
8. Вельтищев Ю.Е., Ермолаев М.В., Ананенко А.А., Князев Ю.А. (1983) *Обмен веществ у детей.* - М.: Медицина.
9. Каурр J.A (1992) *Epilepsy Res.* 9, 82 - 106.
10. Клиническая оценка лабораторных тестов (1986) / Под ред. Н.У.Тиц. - М.: Медицина.
11. McGivan J.D., Pastor-Anglada M. (1994) *Biochem. J.* 299, 321-334.
12. Vecsei L., Schwab F. (1992) *Orv. Hetil.* 133, 1803 - 1807.

Поступила 07. 03. 1998г.

## AMINO ACIDS AND THEIR METABOLITES IN BLOOD AND URINE IN THE MINIMAL CEREBRAL DYSFUNCTION

L.S. KOLESNICHENKO<sup>1</sup>, V.I. KULINSKY<sup>2</sup>, A.S. GORINA<sup>3</sup>

Departments of <sup>1</sup>Bioorganic Chemistry and <sup>2</sup>Biochemistry, Irkutsk State Medical University;

<sup>3</sup>Region Children Clinical Hospital. Irkutsk, Russia. Fax: (395)224-2056,

E-mail: kulinsky@pp.irkutsk. ru

The following changes were found in children in the minimal cerebral dysfunction: the hypoaminoacidemia and hypoaminoaciduria with decrease of glutamate and aspartate, their amides, methionine and serine in the blood and urine; decrease of lysine, taurine, tyrosine, catecholamines and serotonin in the blood; increase of GABA and glycine in the blood; increase of xanthurenate, proline and cysteine in the urine. The ratio excitatory/inhibitory mediatory amino acids decreased significantly. The ratio essential/nonessential amino acids and concentrations of amino acids, transporting by  $\chi_{AG}$ ,  $\beta$  and A/ASC systems, decrease in the blood; majority of transporting systems in the kidney functions augmently. Disturbances of amino acids metabolism disappear or decrease in successful treatment.

**Key Words:** amino acids and their metabolites, cerebral dysfunction.